

**FACULTAD DE
CIENCIAS AGRONÓMICAS
Y DE LOS ALIMENTOS**



**PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE
VALPARAÍSO**

TALLER DE TÍTULO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Efecto de vivianita versus quelato de hierro EDDHA, sobre la disponibilidad de hierro activo en suelos calcáreos, para disminuir el problema de clorosis férrica

RODRIGO FERNANDO BARRA ZÚÑIGA

QUILLOTA, CHILE

2018

Índice

1. Introducción	1
2. Hipótesis	2
3. Objetivos	3
3.1. Objetivo general	3
3.2. Objetivo específico	3
4. Antecedentes del problema	3
4.1. Origen de los suelos calcáreos	3
4.2. Plantas de estrategia I y II	3
4.3. Efecto de bicarbonatos en el suelo sobre la planta	5
4.4. Clorosis férrica	6
4.5. Situación mundial y nacional	7
5. Enunciado de problema	8
6. Antecedentes de la solución	8
5.1. Posibles soluciones	8
5.1.1. Sulfato ferroso	8
5.1.2. Ácido sulfúrico	8
5.1.3. Cultivares resistentes	9
5.1.4. Quelatos de hierro	9
5.1.5. Vivianita	10
7. Metodología	10
6.1. Ubicación del estudio	10
6.2. Material vegetal y suelo	10
6.3. Diseño experimental	11
6.4. Manejo del cultivo de tomate	11
6.4. Aplicación de hierro EDDHA	12
6.5. Preparación y aplicación de vivianita	12
6.6. Variables respuesta	13
6.7.1. Clorofila en hojas	13
6.7.2. Densidad radicular	14
6.7.3. Hierro activo	14
8. Bibliografía	16
9. Plan de trabajo	23

10. Resultados esperados	25
11. Cargos y funciones	25
12. Presupuesto	22
11.1. Presupuesto total por cuenta (\$)	26
13. Anexos	23
A. Detalle recursos humanos.....	27
B. Detalle gasto de inversión	27
C. Detalle costo de operación	28
E. Detalle costo de administración	29

Resumen

El hierro es el micronutriente que se encuentra en mayor concentración en el suelo. Sin embargo, su forma disponible y activa para las plantas, es Fe^{II} , el cual se ve limitado a ciertas condiciones del suelo.

Las altas concentraciones de bicarbonato presentes en suelos calcáreos, limitan la absorción de Fe^{II} por parte de las plantas, convirtiéndose en la principal causa de clorosis férrica en diversos cultivos.

Actualmente, la solución más utilizada para corregir o disminuir la clorosis férrica, es el quelato de hierro EDDHA. No obstante, esta medida resulta ser muy costosa y posee un acotado periodo de acción, debido a su rápida degradación en el suelo.

Por estos motivos, surge como una oportunidad de investigación, el uso de vivianita, un fosfato de hierro, que se sintetiza a partir de una mezcla en agua, entre fosfato diamónico y sulfato ferroso. Es una alternativa de bajo costo, fácil preparación y de largo periodo de acción.

Para determinar la eficiencia de esta solución, se dispondrán en un invernadero de la PUCV, plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) en macetas con suelo calcáreo, bajo el mismo régimen de riego y fertilización. Se establecerán dos ciclos de cultivo en el transcurso de un año y recibirán dosis únicas de vivianita y Fe-EDDHA.

Se compararán los efectos de vivianita versus Fe-EDDHA, sobre la disponibilidad de hierro activo en suelo calcáreo. Para comparar estas soluciones, serán utilizadas como variables respuesta, concentración de clorofila, hierro activo en hojas y densidad de raíces.

Se espera obtener como resultado, conocimiento del efecto de una aplicación de vivianita sobre la disponibilidad de hierro activo en suelos calcáreos, para disminuir la clorosis férrica en tomate. Además, se espera una publicación de artículo científico.

1. Introducción

Las propiedades del suelo muchas veces pueden afectar a la nutrición de las plantas, de este modo, la presencia de bicarbonatos en suelos calcáreos limita la absorción de hierro en su forma biodisponible o activa. A pesar de que el hierro es el cuarto elemento más abundante sobre la corteza terrestre, el alto pH generado por el bicarbonato, superior a 7,5, inhibiría mecanismos de absorción de hierro por las raíces, debido a su efecto buffer o tapón, regulando el pH frente a cambios bruscos en el suelo, afectando a la mayor parte de las plantas de estrategia I (monocotiledóneas y dicotiledóneas), exceptuando a las de estrategia II (gramíneas) (Marschner, 2012). Los suelos calcáreos están ampliamente distribuidos en el mundo, comunes en zonas áridas y semiáridas, trayendo consigo problemas para la agricultura, como es el caso de la clorosis férrica inducida por carbonatos y bicarbonatos presentes en dichos suelos. Se ha demostrado en diversos estudios que la clorosis férrica afecta a la potencialidad productiva de los cultivos, disminuyendo sus rendimientos considerablemente (Tagliavini *et al.*, 2000; Sotomayor, 2014) sobre todo en plantas de estrategia I. Por ello se hace necesario tomar las medidas adecuadas para mitigar este problema.

Existen diversas soluciones diferenciadas por su efectividad y eficiencia, considerando la efectividad como la capacidad para solucionar el problema y la eficiencia como los distintos factores involucrados para solucionar el problema de la forma más eficaz y conveniente posible.

Las aplicaciones de sulfato ferroso vía fertirriego son una alternativa que se ha rechazado ampliamente, ya que el hierro aplicado es rápidamente oxidado y precipitado en el suelo.

El uso de ácido sulfúrico en el suelo podría ser una alternativa efectiva para aumentar la disponibilidad de Fe en el suelo, no obstante, requiere de una alta inversión por hectárea, debido a los altos volúmenes necesarios para bajar el pH del suelo (Ruiz, 2006) y la poca investigación existente, respecto al estado estructural y biótico del suelo. Sin embargo, el uso de sulfato ferroso en soluciones ácidas a bajas dosis, ha ayudado a superar clorosis férrica en sorgo (*Sorghum spp.*) (Lee *et al.*, 1998), solución que, a pesar de disminuir el costo generado por ácido sulfúrico, aún necesita de mayor investigación en las dosis

utilizadas (Imas, 2000). El uso de variedades tolerantes o resistente es una alternativa que está en constante investigación por los genetistas, pero resulta ser una solución para cultivos de alto valor, donde la extensa investigación sea justificada, disminuyendo las opciones para los productores.

El método más utilizado actualmente para remediar la clorosis férrica, es la aplicación quelatos de hierro al suelo, resultando ser la medida más eficaz para solucionar este problema, sin embargo, también son muy caros y es necesario realizar reiteradas aplicaciones, no solucionando el problema principal que es la disponibilidad de hierro activo en el suelo limitado por la presencia de bicarbonatos.

En la búsqueda de alternativas más económicas y afables con el medio ambiente, la vivianita surge como una posible solución a la clorosis férrica generada por suelos calcáreos. Es un fosfato de hierro ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) capaz de liberar Fe a largo plazo en condiciones de suelo calcáreo, puesto que tiene la propiedad de convertirse en ferrihidrita o lepidocrita poco cristalina, siendo la principal fuente de hierro en este tipo de suelos (del Campillo y Torrent, 1992). Han surgido diversos estudios en diferentes especies, como garbanzo y lupín (Eynard et al., 1992), olivo (Rosado *et al.*, 2000), peral (Iglesias *et al.*, 2000), kiwi (Rombolá *et al.*, 2002), vides (Díaz *et al.*, 2010), limonero (Ammari *et al.*, 2011) y fresa (de Santiago *et al.*, 2013), determinando que la aplicación de vivianita es efectiva para corregir clorosis férrica. La mayoría de estos estudios se han realizado en especies frutales, evidenciando la falta de pruebas en cultivos de desarrollo herbáceo como las hortalizas, a raíz de esto el presente trabajo busca investigar el comportamiento de una única aplicación de vivianita a través del tiempo para evitar las deficiencias de Fe activo en cultivos de estrategia I sobre suelos calcáreos en comparación al uso común de quelatos de hierro.

2. Hipótesis

La vivianita es más eficiente en comparación a quelato de hierro EDDHA para corregir el problema de clorosis férrica de cultivos en suelos calcáreos.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Comparar la eficiencia del uso de vivianita versus quelato de hierro EDDHA, para solucionar el problema de clorosis férrica en cultivos de estrategia I, sobre suelos calcáreos.

3.2. Objetivo específico

Evaluar la eficiencia de única aplicación de vivianita, para disminuir el problema de clorosis férrica en cultivos de estrategia I, sobre suelos calcáreos.

4. Antecedentes del problema

4.1. Origen de los suelos calcáreos

Los suelos calcáreos son muy comunes en zonas semiáridas y climas áridos del mundo (Marschner, 2012) y tienen origen en la formación de rocas sedimentarias, estas se forman por una acumulación constante de minerales que han sido transportados por movimiento de agua, viento, hielo o por la acción de la gravedad y posteriormente cementados (Casanova, 2004). Dentro de las rocas sedimentarias está la roca caliza constituida fundamentalmente de CaCO_3 , (carbonato de calcio), presencia que determina un elevado pH entre 7,5 a 8,5 (Marschner, 2012).

La presencia de carbonato de calcio en suelos más agua y dióxido de carbono dan origen a bicarbonatos de calcio (Chaney, 1984), siendo la principal razón de las limitaciones nutricionales de hierro, zinc, manganeso entre otros (Marschner, 2012).

4.2. Plantas de estrategia I y II

Existen dos tipos de estrategias desarrolladas por las plantas frente a la deficiencia de hierro, las cuales pueden ser diferenciadas filogenéticamente (Marschner, 2012). Las plantas de estrategia I y las plantas de estrategia II (Figura 1). Las primeras están asociadas a las monocotiledóneas y dicotiledóneas exceptuando a las gramíneas, las cuales presentan estrategia II. Estas estrategias son mecanismos que están relacionados estrechamente con la zona de crecimiento radicular, por lo tanto, luego de que el suministro de hierro diario sea compensado, cesarían su actividad (Marschner, 2012).

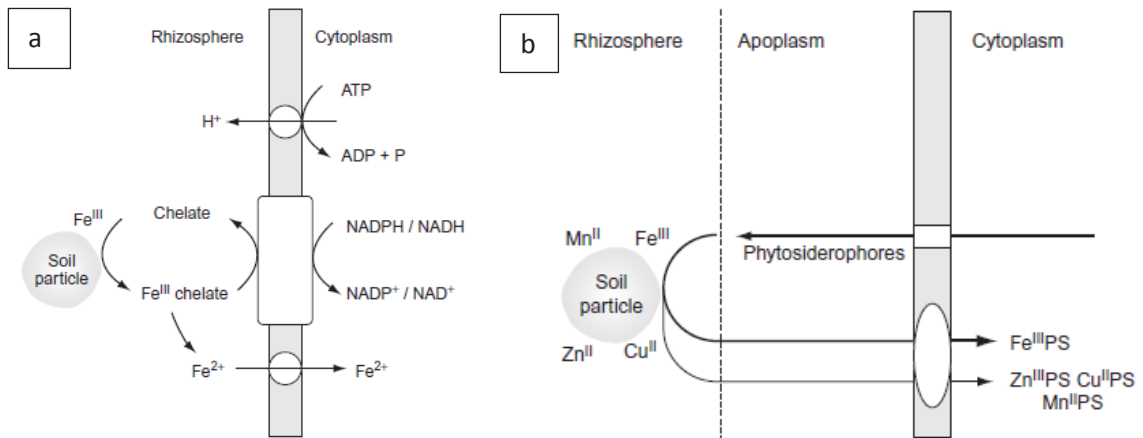


Figura 1. Mecanismos de absorción de Fe en plantas de estrategia I (a) y plantas de estrategia II (b). (Marschner, 2012).

Las plantas de estrategia I poseen dos sub-estrategias, la sub-estrategia uno consiste en un aumento de la actividad de la reductasa férrica, asociada a la membrana plasmática de las raíces, responsable de la reducción de Fe^{+3} a Fe^{+2} con la ayuda de electrones de NADPH citoplasmático (Rombolá *et al.*, 2002). La sub-estrategia dos responde a un aumento en la excreción de protones por las raíces, acidificando la rizosfera facilitando la reducción de hierro y por consiguiente su absorción, además la expulsión de protones va unida a cambios morfológicos de las raíces, como el aumento de raíces laterales y pelos radiculares (Marschner, 2012). La acidificación de rizosfera permite la liberación de compuestos fenólicos como ácido cafeico en plantas de tomate (Olsen *et al.*, 1981), funcionando como agente reductor y quelante.

En cuanto a las plantas de estrategia II, gramíneas, liberan aminoácidos no proteicos llamados fitosideróforos, que son estables con el Fe^{III} , por tanto ante una deficiencia de

Fe, aumenta la liberación de estos componentes, junto con la capacidad de transporte de hierro hacia la planta, incluso en suelos con bicarbonatos (Marschner, 2012).

4.3. Efecto de bicarbonatos en el suelo sobre la planta

La presencia de bicarbonato (HCO_3^-) en suelos calcáreos es el principal responsable de la deficiencia de hierro, causando clorosis férrica (Schinas y Rowell, 1977). Los posibles efectos del bicarbonato sobre las plantas son diversos y algunos de sus mecanismos de acción aún no son del todo claros.

Según Marschner (2012), son ocho los principales mecanismos de acción del bicarbonato que podrían afectar a la absorción, traslocación y metabolismo del hierro en las plantas, los cuales se describirán a continuación:

- 1) Altas concentraciones de bicarbonatos en el suelo generan un efecto amortiguador o buffer del pH, reduciendo la cantidad de Fe inorgánico soluble.
- 2) Los altos niveles de pH provocan un deterioro en el sistema de bomba de protones generado por las raíces en plantas de estrategia I, neutralizando la actividad del protón liberado que acidifica el ambiente cercano a la zona de absorción para captar el hierro inorgánico.
- 3) Existe una reducción de la liberación de los compuestos fenólicos, estos tienen capacidad de ser antioxidantes por lo que pueden reducir moléculas de Fe^{III} a Fe^{II} .
- 4) Inhibición del proceso de reducción de Fe III en la membrana plasmática. El ingreso de Fe a las raíces es limitado por las altas concentraciones de bicarbonatos, debido al efecto buffer del pH, por ello en plantas de estrategia I, la acidificación del rizoplasma y el apoplasto es fundamental para reducir el Fe^{III} a Fe^{II} y así ser utilizado como hierro metabólicamente activo para la planta.
- 5) Las altas concentraciones de bicarbonatos aumentan la fijación de CO_2 y la síntesis de ácidos orgánicos en las raíces (Lee y Woolhouse, 1969) los que son responsables de secuestrar el Fe en las vacuolas, no obstante, este mecanismo

no es claro en qué medida los ácidos orgánicos son responsables de encapsular el Fe en las vacuolas.

- 6) El secuestro de hierro en las vacuolas inhibe el transporte de Fe hacia los brotes.
- 7) El transporte de Fe a las hojas en desarrollo o expansión se ve afectado por el mecanismo anterior, además la distribución de Fe dentro del tejido de la hoja puede ser desuniforme (Rutland y Bukovac, 1971), pudiéndose apreciar por la amarillez en algunas zonas de la superficie de la hoja (Nikolic, 2002).
- 8) Las altas concentraciones de bicarbonatos podrían afectar indirectamente a la formación de cloroplastos, ya que las altas concentraciones de HCO_3^- en la zona de enraizamiento inhiben el crecimiento de las raíces, por tanto, la respiración de la raíz disminuye y por consiguiente la exportación de soluto es impulsado vía xilema. El poco desarrollo de las raíces disminuye la producción de citoquininas que son necesarias para la síntesis de proteínas y el desarrollo de cloroplastos (Werner y Schmülling, 2009).

4.4. Clorosis férrica

La clorosis férrica es un problema muy común en suelos calcáreos, generada por la deficiencia de hierro soluble o activo (Fe^{II}) en presencia de una alta concentración de bicarbonatos (Marschner, 2012; Briat *et al.*, 2015, López, 2018) o por el exceso de agua en el suelo (Schenkeveld *et al.*, 2008). Los síntomas mayormente reconocibles son la amarillez intervenal de hojas jóvenes y menor tamaño de brotes (Tagliavini, 2000; Baveresco *et al.*, 2003).

Cabe destacar que la concentración total de Fe en la hoja no tiene correlación con la clorosis férrica (Römheld, 1982; Abadía, 1992; Tagliavini, 2000; Lucena, 2007; Marschner, 2012), ya que la concentración de hierro podría ser igual o incluso mayor tanto en una hoja clorótica como en una hoja normal (Chen y Barak, 1982; Nikolic y Römheld 2002, Marschner, 2012), lo que sería un indicador de una inactivación fisiológica del hierro (Marschner, 2012).

Existen diversas causales a la clorosis férrica. Entre ellas están la competencia entre micronutrientes catiónicos como Cu, Mn, Ni y Zn incluso en suelos ácidos, induciendo a clorosis férrica (Marschner, 2012). Además, factores del suelo como pH alcalino, exceso de humedad, baja temperatura, HCO_3^- elevado, sales solubles y la pobre aireación reducen la solubilidad del Fe (Lindsay, 1979; Lucena, 2000; Schenkeveld *et al.*, 2008; Bloom *et al.*, 2011). De las causas anteriores, la presencia de altas concentraciones de HCO_3^- y el exceso de humedad en el suelo son las causas más frecuentes ante la aparición de clorosis férrica.

La clorosis férrica inducida por altas concentraciones de HCO_3^- podría ser designada como “clorosis de hierro permanente”, mientras que la clorosis férrica inducida por exceso de humedad en el suelo se le puede llamar “clorosis de hierro eventual”.

Respecto a la clorosis férrica inducida por exceso de humedad en el suelo, se le asigna el calificativo de eventual, debido a que suele aparecer en épocas invernales. Al proliferar las lluvias, se genera una condición de anegamiento en suelos bien aireados, que aportan el CO_2 para reaccionar y formar ácido carbónico (H_2CO_3). El ácido carbónico dará origen posteriormente al ion bicarbonato (HCO_3^-), que será el responsable de producir clorosis férrica en especies hierro-eficientes o con estrategia I.

4.5. Situación mundial y nacional

Según la base de referencia para los suelos del mundo, de siglas en inglés, WRB (World reference base), propuesto por la FAO y la UNESCO, los suelos calcáreos pertenecen al grupo calcisoles. Están ampliamente distribuidos en el mundo, pero es difícil cuantificar exactamente las zonas en las que se encuentra, no obstante, el área total de calcisoles puede llegar sin problemas a mil millones de hectáreas. La mayor parte de esta superficie corresponde al área subtropical árida y semiárida de ambos hemisferios (FAO, 2008). Algunos países en que son frecuentes los suelos calcáreos son España, oeste de Estados Unidos, sur de África, sur de Rusia, países del mediterráneo y en zonas específicas de India, Kenia y Japón (Fernández *et al.*, 1994), Además un boletín de la FAO (1973) reporta doce países de medio oriente que poseen cultivos en suelos calcáreos.

La clorosis férrica en cultivos sobre suelos calcáreos, es un problema de gran importancia a nivel mundial. Actualmente existen datos de rendimientos asociados a clorosis férrica, según una comparación de rendimientos de soya (*Glycine max*) en North Dakota, Estados

Unidos, de una producción normal de 2,28 ton/ha según USDA-NASS (2016), hubo una disminución de rendimiento del 32%, 740 kg/ha aproximadamente (Chatterjee *et al.*, 2018). Existen estudios sobre materia seca y cantidad de clorofila en girasol (*Helianthus annuus*), indicando que a medida que aumentan las concentraciones de bicarbonatos en el sustrato, el peso seco por brote y el nivel de clorofila disminuyen (Römheld, 1982).

En Chile no existen registros específicos de las zonas o superficies inherentes a suelos calcáreos, sin embargo, según la descripción climática dada por la base de suelos WRB, podrían distribuirse desde la zona central hasta la zona norte del país. Según estudios de Sierra (2006), suelos entre la III y IV región presentan altos pH y altas concentraciones de Carbonatos de calcio, específicamente entre Ovalle y Copiapó. En la zona central, la Región de Valparaíso registra estudios por deficiencia de hierro en paltos (*Persea americana*) cultivados en suelos calcáreos ubicados en San Pedro, Pochay (ambos pertenecientes a la provincia de Quillota) y Cabildo comuna correspondiente a la provincia de Petorca (Neaman, 2007, 2009). En la región metropolitana se registran en la zona norte: Batuco, Lampa y Polpaico. Mientras que en la zona sur: Talagante y Melipilla (Sierra, 2018).

5. Enunciado del problema

Suelos con altas concentraciones de carbonatos de calcio -suelos calcáreos- pueden interferir con la absorción, translocación o metabolismo del hierro en diversos cultivos de estrategia I, causando clorosis férrica.

6. Antecedentes de la solución

6.1. Posibles soluciones

6.1.1. Sulfato ferroso

Una de las prácticas más comunes para tratar la deficiencia de Fe en las plantas con clorosis férrica, es el uso de fertilizantes de Fe, aplicados al suelo o al follaje. El sulfato ferroso o sulfato de hierro II se presenta como la única sal inorgánica de Fe soluble, no obstante, el uso de sales de Fe sería ineficiente, debido a las condiciones amortiguantes de pH (Porta *et al.*, 2003), propias de los suelos calcáreos, generando una rápida precipitación del hierro (López., et al 2018).

6.1.2. Ácido sulfúrico

Las aplicaciones de ácido sulfúrico podrían ser efectivas para corregir la clorosis férrica en cultivos sobre suelos calcáreos. Lee (1998), determinó que la mezcla de sulfato ferroso con ácido sulfúrico aforado comercial corrigió la clorosis férrica en sorgo, mientras que a dosis de 20 kg/ha-1 de sulfato ferroso con 15 L/ha-1 de ácido sulfúrico industrial a diferentes frecuencias fue el método con mejores resultados tanto a nivel de maceta como de campo.

Si viene cierto las aplicaciones de ácido tendrían implicancia a nivel de captación de hierro por las raíces y de acidificación del apoplasto para reducción del hierro inactivo (Fe III). A pesar de ello los volúmenes de ácido dependerían de la cantidad de bicarbonatos presentes en el suelo, aumentando los costos significativamente (Ruiz, 2006). Adicionalmente, no existen datos actuales sobre las posibles repercusiones en la actividad productiva, biótica y ambiental del suelo por el uso constante de ácido sulfúrico, pudiendo ser una oportunidad de investigación sobre las dosis y frecuencia de ácido en un mayor periodo de tiempo.

6.1.3. Cultivares resistentes

Según un estudio de Dasgán (2003), se obtuvo una variedad de tomate resiste a suelos calcáreos, sin embargo, se señala que no fue posible estabilizar los genes de la variedad madre, siendo necesario más pruebas de segregación. La limitante de esta solución radica en la baja oferta de especies tolerantes, necesitando mayor en el tiempo.

6.1.4. Quelatos de hierro

Los quelatos de Fe sintéticos están formados por agentes quelantes, derivados de ácidos poliaminocarboxílicos (ácido etilendiaminotetraacético, EDTA), ácidos poliaminofenilcarboxílicos (etilendiamina-N-N'bis) como ácido (2-hidroxifenil) (EDDHA)) o N-N'bis (ohydroxyphenyl) ethylendiamine-N-N'-ácido diacetilo (HBED) de afinidad media al hierro (Nadal et al., 2009).

Dentro de los quelatos de hierro, el Fe-EDDHA es el más utilizado en la actualidad para corregir la clorosis férrica (Díaz et al., 2010; Ammari et al., 2011; Chatterjee et al, 2018; López et al., 2018). Sin embargo, su efectividad tiene un tiempo limitado, puesto que se degradaría y/o se asociaría a otros micronutrientes presentes en el suelo, como el cobre, desplazado al hierro y formando otros complejos Cu-EDDHA (Schenkeveld *et al.*, 2012).

Además, tendría riesgos ambientales debido a su movilidad a lo largo del perfil de suelo, tanto en suelos calcáreos como no calcáreos, pudiendo alcanzar la capa cercana a aguas subterráneas (Rambolá *et al.*, 2002; Abadía *et al.*, 2004), además son un elemento muy costoso para la producción (Ammari *et al.*, 2011; Covarrubias *et al.*, 2014; Rajaie *et al.*, 2017).

6.1.5. Vivianita

La vivianita es un fosfato ferroso de fórmula $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$. Se forma naturalmente en ambientes reductores, asociado a materia orgánica, arcillas anegadas, suelos con turba y sedimentos (Eynard *et al.*, 1992; Rothe *et al.*, 2016). Este fosfato ferroso ha demostrado ser eficiente para suministrar Fe activo a las plantas para prevenir la clorosis férrica en diversos cultivos frutales como en perales (Del campillo *et al.*, 1998), olivos (Rosado *et al.*, 2002), kiwis (Rombolá *et al.*, 2003), vid (Díaz *et al.*, 2010), limonero (Ammari *et al.*, 2011), fresa (de Santiago *et al.*, 2013).

Según Eynard (1992), algunas de las razones que justifican el uso de vivianita son: El alto contenido de Fe (alrededor de un 32% y un 25% en estado de hierro ferroso o activo). Es ligeramente soluble a pH normales, sin embargo, la absorción del fosfato por la planta, la adsorción a superficies minerales y la precipitación por parte de los cationes del suelo favorecerían su disolución. Parte de la vivianita se oxida formando ferrihidrita (hidróxido de hierro), resultando ser poco cristalino y una fuente de hierro para las plantas. Su preparación o síntesis es simple y económica, pudiendo ser una alternativa a otros métodos más costosos o inasequibles.

7. Metodología

7.1. Ubicación del estudio

El estudio se realizará en la estación experimental de la Pontificia Universidad Católica, ubicado en el valle de Quillota, Región de Valparaíso, a 130 msnm. Este valle posee un clima templado con estación seca prolongada, con una temperatura máxima promedio de 24°C en los meses cálidos y una temperatura mínima promedio de 12°C en los meses fríos.

7.2. Material vegetal y suelo

Se obtendrán plantines de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Patron®, en portainjeto Marxifort®, comúnmente utilizado en invernaderos de la zona de Quillota. Se trasplantará en el mes octubre a un contenedor de polietileno con 25 kg de suelo calcáreo y serán cultivados durante aproximadamente 6 meses. El suelo será recolectado desde la parcela San Jorge, ubicada en Pochochay, perteneciente a la comuna de La Cruz, parcela que ha presentado en reiteradas oportunidades problemas de clorosis férrica en cultivos como soya (*Glycine max*) y apio (*Apium graveolens*). Según estudio realizado por CIREN (2014,), presentan pH elevados de 7,9-8,4.

Las unidades de muestreo corresponderán a las hojas de brotes escogidos al azar por cada planta del estudio.

Las raíces serán muestreadas y evaluadas al final de cada temporada, para determinar densidad radicular.

7.3. Diseño experimental

Duración de proyecto 1 año. Desde julio 2019 a junio 2020 y una temporada de cultivo por año de proyecto cumplido.

Se realizará un diseño experimental con contenedores completamente al azar distribuidos en el invernadero, cinco tratamientos (incluyendo testigo) y seis replicas por cada uno. Todos los contenedores recibirán la misma fertilización base y manejos, según curva de extracción del tomate (Dumas, 2005) y manual de tomate bajo invernadero INIA (2017).

7.4. Manejo del cultivo de tomate

Tomate con habito de crecimiento indeterminado (ápice caulinar que crece en forma consecutiva), con poda a un eje central, eliminando los brotes axilares de las hojas.

Entutorado: El tomate es una planta decumbente, puesto que no soporta su propio peso. Debido a esto, tomates de crecimiento indeterminado deben ser guiados o entutorados. El procedimiento se fundamenta en atar un cordón o rafia en la base del plantín, que estará sujeto en su extremo a una portería o alambre que soportará el peso de la planta.

Poda de brotes laterales: Eliminación de brotes laterales o secundarios a lo largo de la planta, para mantener el eje principal. Este manejo se realizará periódicamente a lo largo del cultivo, antes de que los brotes superen los 10 cm para disminuir el tamaño de la cicatriz y evitar enfermedades. El procedimiento se realizará entre las 11:00 y 14:00 con temperaturas entre 20-25 °C para acelerar la cicatrización de heridas.

Poda de brote apical: Se realizará poda de la yema apical luego de la formación del séptimo racimo floral, para detener el crecimiento en altura de la planta. Se mantendrán 3 o 4 hojas sobre el racimo para protegerlo del golpe de sol.

Poda de hojas: Para mejorar la entrada de luz, se podarán hojas y serán guardadas en bolsas de polietileno y se enviarán a laboratorio para determinar peso de materia seca. El procedimiento consta de cortar la hoja desde la base del peciolo.

Raleo de frutos: Para disminuir la sobrecarga de frutos se ralearán las flores menos vigorosas distales del racimo floral, dejando cinco flores por racimo.

Polinización: La ausencia de viento y polinizadores dificultan la polinización. Por ello, para asegurar el proceso de autopolinización, se vibrarán manualmente las plantas, desde el alambre o portería que sostiene la planta.

7.5. Tratamientos

T1: contenedor control (sin suministro de Fe).

T2: contenedor con Fe-EDDHA a dosis de 1 g/L, aplicado sólo al primer ciclo de cultivo.

T3: contenedor con Fe-EDDHA a dosis 1 g/L, aplicado a los dos ciclos de cultivo.

T4: contenedor con vivianita a dosis de 0,5 g * kg de suelo equivalente a 240 ml de solución acuosa de vivianita.

7.6. Aplicación de hierro EDDHA

Aplicación 1,6 g por litro de agua de Fe-EDDHA Basafer® por contenedor pre-trasplante.

La aplicación se realizará una vez por temporada.

7.7. Preparación y aplicación de vivianita

La preparación de vivianita será según la metodología de Rosado (2000).

- Se disolverá en 10,5 L de agua 262,5 g de fosfato monoamónico más 787,5 g de sulfato ferroso.
- Se obtendrá 525 g de vivianita en suspensión.
- Por tanto, 20 ml de la solución de vivianita, corresponderán 1g • kg de suelo.
- Se aplicará en 4 puntos al contenedor alrededor de la planta.

7.8. Variables respuesta

7.8.1. Clorofila en hojas

La concentración de clorofilas en las hojas se obtendrá por medio de espectrofotometría UV-visible. Es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez la cantidad de luz absorbida depende en forma lineal de la concentración (Lichtenthaler y Wellburn, 1983).

Para esta medición es necesario un espectrofotómetro. Posee la capacidad de seleccionar la longitud de onda de la luz, que pasa por una solución preparada previamente, con la muestra y un solvente orgánico. Finalmente, el espectrofotómetro mide la cantidad de luz absorbida por la solución, luego el valor obtenido se ingresa a una fórmula específica para clorofila "a" y "b".

Procedimiento:

1. Preparación de etanol al 80%.
2. Pesar 0.05 g de hojas de tomate verde más oscuro y 0.05 g de hojas verde más claro.
3. Colocar las hojas en dos morteros y en cada caso adicionar 10 ml de etanol 80%

4. Macerar hasta obtener una solución uniforme y homogénea.
5. El extracto generado, debe pasar a un tubo de ensayo y centrifugar a 5000 rpm durante dos minutos. Transferir el sobrenadante a una celda y leer la absorbancia a 645 y 663 nm en el espectrofotómetro usando etanol 80% como blanco.
6. Calcular la concentración de clorofilas mediante las siguientes ecuaciones:
 - Clorofila a = $(12,7 * A663) - (2,69 * A645)$
 - Clorofila b = $(22,9 * A645) - (4,68 * A663)$

Dónde: A645 = lectura de la absorbancia a 645 nm.

A663 = lectura de la absorbancia a 663 nm.

7.8.2. Densidad de raíces

Una forma rápida y efectiva para medir raíces es por su densidad. Se puede calcular mediante la siguiente fórmula (Marschner, 2012).

$$\text{Densidad de raíces} = \frac{\text{Largo de la raíz (centímetros)}}{\text{Volumen de suelo (centímetros cúbicos)}}$$

Las muestras serán extraídas al final de cada ciclo de cultivo. Se medirá el largo de la raíz con una regla, mientras que el volumen de suelo se calculará según las medidas del contenedor.

7.8.3. Hierro activo en hoja

Para el análisis de hierro en la hoja hay que recalcar que la concentración total de hierro no es representativa para diagnosticar una deficiencia de hierro o clorosis férrica (Abadía *et al.*, 2004). Por ello, para determinar el hierro metabólicamente activo en hojas, se utilizará el método de extracción de hierro activo con fenantrolina 1.10 M a pH 3 muestras

frescas, que ha demostrado ser eficiente en la determinación de hierro activo (Fe II), siendo el estado biodisponible para la planta (Zohlen et al., 2000; Razeto y Valdés, 2006).

Según un estudio en palto (*Persea americana*) para determinar el hierro activo (Neaman y Aguirre, 2007), la fenantrolina al 1,5% o 1.10 M, fue el mejor método de extracción para la determinación del estado nutricional de hierro para hojas frescas de palto.

Procedimiento

- 1 g de hojas frescas estabilizar a pH 3 con HCl.
- Luego pasar a un matraz Erlenmeyer de 250 ml con 10 ml de fenantrolina 1.10 M.
- Remojar durante 16 horas y filtrar con papel whattman.
- Medir extracto con espectrofotometría de absorción atómica para determinar la concentración de Fe II.

6.9. Análisis estadístico

- Se realizará un análisis de varianza (ANDEVA), para comparación de tratamientos.
- Luego se aplicará el test de Tukey con un nivel de confianza del 95%, para determinar si hay diferencias significativas entre tratamientos.
- El análisis estadístico se realizará Mediante el software Minitab 18®.

8. Bibliografía

Abadía, J. 1992. Leaf responses to Fe deficiency: A review. *Journal of Plant Nutrition* 15: 1699–1713.

Abadía, J., A. Álvarez – Fernández, A. Rombolà, M. Sanz, M. Tagliavini, and A. Abadía. 2004. Technologies for the diagnosis and remediation of Fe deficiency. *Soil Science and Plant Nutrition* 50 (7): 965 – 971.

Ammari, T. Tahboub, A. Abu-Zahra, T. 2009. Management of iron deficiency stress in citrus through soil application of vivianite to a calcareous soil. *International Journal of Botany* 5 (2) 186-189.

Ammari, T. 2011. Effectiveness of Vivianite to Prevent Lime-Induced Iron Deficiency in Lemon Trees Grown on Highly Calcareous Soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 42:2586–2593.

Bavaresco, L., E. Giachino, and R. Colla. 1999. Iron chlorosis paradox in grapevine. *Journal of Plant Nutrition* 22 (10): 1589 – 1597.

Bloom, P.R., G.W. Rehm, J.A. Lamb, and A.J. Scobbie. 2011. Soil nitrate is a causative factor in iron deficiency chlorosis in soybeans. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 75:2233–2241.

Briat, J.F., Dubos, C., Gaymard, F., 2015. Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends Plant Sci.* 20, 33–40.

Casanova, M. Elizondo, W. Luzio, W. Salazar, O. Edafología, guía de clases prácticas. Universidad de Chile, Santiago, Chile. Disponible en https://www.grn.cl/MANUAL%20EDAFOLOGIA%20_2004.pdf. Leído 19 mayo 2018.

Chaney, R.L., 1984. Diagnostic practises to identify iron deficiency in higher plants. *J. Plant Nutrition*. 7, 47–67.

Chatterjee, A. Lovas, S. Rasmussen, H. Goos, R. 2018. Foliar application of iron fertilizers to control. Dep. of Soil Science, North Dakota State Univ., Fargo. American Society of Agronomy. Crops & Soils magazine.

Chen, Y. P, Barak. 1982. Iron nutrition of plants in calcareous soils. *Advances in Agronomy*. 35: 217 – 240.

CIREN, 2014. Uso actual de suelos V Región de Valparaíso. (2014). Centro de Información de Recursos Naturales CIREN.

Covarrubias, J. Pisi, A. Rombolá, D. 2014. Evaluation of sustainable management techniques for preventing iron chlorosis in the grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 20, 149–159.

Dasgan, H. Y., Ozturk, L., Abak, K. and Cakmak, I. (2003). Activities of iron-containing enzymes in leaves of two tomato genotypes differing in their resistance to Fe chlorosis. *J. Plant Nutr.* 26, 1997–2007.

Del Campillo, M.C., Torrent, J., 1992. Predicting the influence of iron chlorosis in calcareous soils of southern Spain. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 23, 399-416.

De Santiago, A. and A. Delgado. 2007. Effect of humic substances on iron nutrition of lupin. *Biology and Fertility of Soils* 43 (6): 829 - 836.

Díaz, I. Barrón, V. Del Campillo, M. Torrent, J. Testing the ability of vivianite to prevent iron deficiency in pot-grown grapevine. *Scientia Horticulturae* 123 (2010) 464-468.

Dumas, Y. 2005. INRA Centre de Recherches d' Avignon, France.

Eynard, A., M. Campillo, V. Barron, and J. Torrent. 1992. Use of vivianite ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) to prevent iron chlorosis in calcareous soils. *Fertilizer Research* 31: 61–67.

FAO, 1973. Calcareous soils. *FAO soils bulletin*. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/017/aq284e/aq284e.pdf>. Leído 10 octubre 2018.

FAO, 2008. Base referencial mundial del recurso de suelo, Un marco conceptual para la clasificación, correlación y comunicación internacional. Roma, Italia. 128 p.

Fernández, J. Ruiz, L. Fernández, J. 1994. La nutrición férrica de las plantas. El problema de la clorosis. Secretario de publicaciones e intercambio científico. Universidad de Murcia. España. 75p.

Fernández, V., Orera, I., Abadía, J., & Abadía, A. 2009. Foliar iron-fertilization of fruit trees: present knowledge and future perspectives – a review. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84(1), 1–6. doi:10.1080/14620316.2009.11512470

Iglesias, I.; Dalmau, R.; Marce´. 2000. X. Fertilization with iron (II)-phosphate effectively prevents iron chlorosis in pear trees *Pyrus communis* L. In Proc. 2nd Conf. (Sub) trop. Fruits; Blanke, M., Pohlen, J., Eds.; Acta Hort. Leuven, Belgium; 2000, 531, 65–72.

Imas, P. 2000. Integrated nutrient management for sustaining crop yields in calcareous soils. In GAU – PRIL – IPI National Symposium on: Balanced nutrition of groundnut and other field crops grown in calcareous soils of India. Junagadh, Gujarat, India. 19 – 22.

INIA, 2017. Manual de cultivo del tomate bajo invernadero. Disponible en: <http://www.inia.cl/wpcontent/uploads/ManualesdeProduccion/12%20Manual%20de%20Tomate%20Invernadero.pdf>. Leído 15 de noviembre 2018.

Lee, V., M. Beltrán, J. Lerma, y M. Licón. 1998. Aplicación de ácido sulfúrico en el riego corrige la clorosis férrica de los cultivos en suelos calcáreos. *Terra* 16 (2): 149 – 161.

Lee, J. A. and Woolhouse, H. W. 1969. Root growth and dark fixation of carbon dioxide in calcicoles and calcifuges. *New Phytol.* 68, 247–255.

Lichtenthaler, H. and Wellburn, A. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophyll *a* and *b* of leaf extract in different solvents. *Biochemical Society Transaction* 603: 591 - 592.

Lindsey, W. 1981. Solid Phase-Solution Equilibria in Soils. P. 183-202. Contribution from the Colorado State Univ. Exp. Stn., Fort Collins, and published as scientific series paper no. 25. 1981 American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, 677 S. Segoe Road, Madison, WI 53711. *Chemistry in the Soil Environment*.

López-Rayó, S. Sanchis-Pérez, I. Ferreira, B. Lucena, J. [S,S]-EDDS/Fe: A new chelate for the environmentally sustainable correction of iron chlorosis in calcareous soil. *Science of the Total Environment* 647 (2019) 1508–1517.

Lucena, C., F. Romera, C. Rojas, M. García, E. Alcántara, and R. Pérez – Vicente. 2007. Bicarbonate blocks the expression of several genes involved in the physiological responses to Fe deficiency of Strategy I plants. *Functional Plant Biology*. 34 (11): 1002 – 1009.

Marschner, P. 2012. *Mineral nutrition of higher plants*. 651 p. third ed. Academic Press Elsevier, Oxford, UK.

Nadal, P., Hernández-Apaolaza, L., Lucena, J.J., 2009. Effectiveness of N,N'-bis(2 hydroxy- 5-methylbenzyl) ethylenediamine-N,N'-diacetic acid (HJB) to supply iron to dicot plants. *Plant Soil* 325, 65–77.

Neaman, A. Aguirre, L. 2007. Comparison of different methods for diagnosis of iron deficiency in avocado. *Journal of Plant Nutrition* 30: 1097 – 1108.

Neaman, A. Espinosa, G. 2009. ADVANCES IN DIAGNOSIS OF IRON DEFICIENCY IN AVOCADO. *Journal of Plant Nutrition*, 33:1, 38-45.

Nikolic, M., and R. Kastori. 2000. Effect of bicarbonate and Fe supply on FE nutrition of grapevine. *Journal of Plant - Nutrition* 23 (11 – 12): 1619 – 1627.

Nikolic, M., and V. Römheld. 2002. Does high bicarbonate supply to roots change availability of iron in the leaf apoplast. *Plant and Soil* 241: 67 – 74. Razeto, B. y G. Valdés. 2004. Análisis de hierro soluble en tejidos para diagnosticar el déficit de hierro en nectarino. *Agricultura Técnica* 66 (2): 216 – 220.

Olsen, R. Clark, R. Bennett, J. 1981. The enhancement of soil fertility by plants roots. *Am. Sci.* 69:378.

Padilla, F. M., Peña-Fleitas, M. T., Gallardo, M., & Thompson, R. B. (2014). Threshold values of canopy reflectance indices and chlorophyll meter readings for optimal nitrogen nutrition of tomato. *Annals of Applied Biology*, 166(2), 271–285.

Porta, J., M. Lopez – Acevedo, y C. Roquero. 2003. *Edafología para la agricultura y el medio ambiente*. 929 p. Ediciones Mundiprensa, Madrid, España.

Rajaie, M. Tavakoly, A. 2017. Iron and/or Acid Foliar Spray Versus Soil Application of Fe-EDDHA For Prevention of Iron Deficiency in Valencia Orange Grown on a Calcareous Soil. *Journal of Plant Nutrition*.

Razeto, B., and g. Valdés. 2006. Análisis de hierro soluble en tejidos para diagnosticar el déficit de hierro en nectarino. *Agricultura Técnica (Chile)* 66:216-220.

Rodríguez, V., M. Beltrán, J. Lerma, y M. Licón. 1998. Aplicación de ácido sulfúrico en el riego corrige la clorosis férrica de los cultivos en suelos calcáreos. *Terra* 16 (2): 149 – 161.

Rothe, M.Kleeberg, A. Hupfer, M. 2016. The occurrence, identification and environmental relevance of vivianite in waterlogged soils and aquatic sediments. *Earth-Science Reviews* 158 (2016) 51–64.

Römheld, V., H. Marschner, and D. Kramer. 1982. Responses to Fe deficiency in roots of “Fe – efficient” plant species. *Journal of Plant Nutrition* 5 (4 – 7): 489 – 498.

- Rombolà, A.D., Brüggemann, W., López-Millán, A.F., Tagliavini, M., Abadía, J., Marangoni, B. and Moog, P.R. 2002. Biochemical responses to iron deficiency in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Tree Physiology* 22, 869–875.
- Rombolà, A., Baldi, E., Franceschi, A., Ammari, T., Minguéz, J. and Tagliavini, M. 2003. Prevención de la clorosis férrica de la actinidia (*Actinidia deliciosa*) mediante consociación temporal con especies gramíneas. *Atti del convegno nazionale 'Actinidia, la novità frutticola del XX secolo'*; 21 November 2003; Verona, Italy (Camera di Commercio Industria Artigianato et Agricoltura di Verona: Verona, Italy) pp. 249–254.
- Rosado, R., Del Campillo, M., Barrón, V., Torrent, J. 2000. Inyección de vivianita al suelo para corregir clorosis férrica en olivo. *Edafología*. Volumen 7-2. mayo 2000. pag 57-66.
- Rosado, R., M. Campillo, M. Martínez, V. Barrón, and J. Torrent. 2002. Long – term effectiveness of vivianite in reducing iron chlorosis in olive trees. *Plant and Soil* 241: 139 – 144.
- Ruíz, R. 2006. Manejo de suelo y nutrición en suelos con problemas de aireación. p. 20. INIA, 2006. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Seminario Manejo del riego y suelo en el cultivo del palto, Quillota, 27 – 28 de septiembre de 2006. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuaria, Santiago, Chile.
- Rutland, R. B. and Bukovac, M. J. (1971). The effect of calcium bicarbonate on iron absorption and distribution by *Chrysanthemum morifolium* (Ram.). *Plant Soil* 35, 225–236.
- Sierra, C., A. Lancelloti, y I. Vidal. 2007. Azufre elemental como corrector del pH y la fertilidad de algunos suelos de la III y IV región de Chile. *Agricultura Técnica* 67(2): 173 – 181.
- Sierra, C. 2018. Es recomendable el ácido sulfúrico en el suelo. *Revista el Campo*. Disponible en: <https://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Análisis/2017/10/17/Es-recomendable-la-aplicacion-de-acido-sulfurico-en-el-suelo.aspx>. Leído 10 de octubre 2018.

Schenkeveld, W.D.C., R. Dijcker, A.M. Reichwein, E.J.M. Temminghoff, and W.H. Van Riemsdijk. 2008. The effectiveness of soil-applied FeEDDHA treatments in preventing iron chlorosis in soybean as a function of the o,o-FeEDDHA content. *Plant Soil* 303.

Schenkeveld, W.D.C., Hoffland, E., Reichwein, A.M., Temminghoff, E.J.M., Van Riemsdijk, W.H., 2012. The biodegradability of EDDHA chelates under calcareous soil conditions. *Geoderma* 173–174, 282–288.

Schinas, S. and Rowell, D. L. (1977). Lime-induced chlorosis. *J. Soil Sci.* 28, 351–368.

Tagliavini, M., J. Abadía, A. Rombolà, A. Abadía, C. Tsipouridis, and B. Marangoni. 2000. Agronomic means for the control of iron deficiency chlorosis in deciduous fruit trees. *Journal of Plant Nutrition* 23 (11 – 12): 2007 – 2022.

USDA-NASS. 2016. Annual crop production summary. USDA, Natl. Agric. Stat. Serv., Washington, DC.

A, Werner T, Schmülling T. 2009. Metabolism and signal transduction of cytokinin. In *Plant Hormone Signalling, Annual Plant Reviews*. Edited by Hedden P, Thomas S. Blackwell Publishing Ltd.; 2006:93-123.

Zohlen, A. 2000. Use of 1,10-phenanthroline in estimating metabolically active iron in plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 31:481-500.

9. Plan de trabajo

Las actividades del proyecto de investigación se encuentran detalladas en la Carta Gantt adjuntada. Estas actividades se llevarán a cabo en un periodo de 1 año, que abarca desde julio del 2019 hasta junio del 2020. A continuación, se exponen las etapas correspondientes.

Etapa 1. Logística de proyecto (1 de julio): Compra de materiales e insumos

- Instauración del cultivo (1 de agosto): Se dispondrán dentro del invernadero los tratamientos ya designados. Adición de suelo calcáreo a contenedores, fertilización base, aplicación de vivianita y quelato de hierro, trasplante.
- Manejos culturales (entutorado, desbrote, poda).
- Toma de muestras y análisis Fe activo y clorofila: Se tomarán muestras de hojas a 60 días post-trasplante, en cada ciclo de cultivo. Luego se enviarán a laboratorio para determinar las correspondientes concentraciones de clorofila y hierro activo.
- Cosecha: La cosecha comenzará a partir de 90 días de trasplante y terminará a los 150 a 180 días.
- Arranque de plantas, medición de raíces (15 de enero): Término de la producción, se efectuará el arranque de plantas. Se efectuará un lavado de suelo, para quitar exceso de sales. Posteriormente se realizará un análisis de suelo para evaluar su estado y programar un nuevo plan de fertilización.

12. Presupuesto

12.1. Presupuesto total por cuenta (\$)

	Cuenta proyecto (1 año)	Aporte empresa	Aporte PUCV
		Pecuniario	No pecuniario
A.	Total recursos humanos	3.000.000	3.000.000
B.	Total gastos de inversión	0	3.000.000
C.	Total gastos de operación	1.954.650	0
D.	Total gastos de Administración (Overhead PUCV)	874.350	0
	Porcentaje de Aporte (%)	49 %	51 %

TOTAL (\$)	5.829.000	6.000.000
-------------------	------------------	------------------

13. Anexos

A. Detalle recursos humanos

Concepto	Aporte		Valor unitario (CLP)	Unidad	Cantidad	Meses/año	Costo por año (CLP)	Costo 1 años (CLP)
Ph.D. en Ciencias del Suelo (Profesor guía)		N	250.000	persona/mes	1	12	0	3.000.000
Ingeniero Agrónomo	P		250.000	persona/mes	1	12	0	3.000.000

Subtotal			6.000.000
----------	--	--	-----------

P: Pecuniario N: No pecuniario

B. Detalle gastos de inversión

Concepto	Aporte		Valor unitario (CLP)	Unidad	Cantidad	Costo (CLP)
Uso de invernadero		N	1.000.000	–	1	1.000.000
Laboratorio suelo		N	2.000.000		1	2.000.000
Subtotal						3.000.000

P: Pecuniario N: No pecuniario

C. Detalle gastos de operación

Concepto	Aporte		Valor unitario (CLP)	Unidad	Cantidad	Costo (CLP)
Contenedor de mezcla	P		3.000	\$/Contenedor	1	3.000
Contenedores polietileno	P		100	\$/contenedor	25	2.500
Plantines tomate Patron®	P		700	\$/planta	50	35.000
Saco de escombro 25 kg	P		150	\$/saco	25	3.750
Muestreo suelo calcáreo	P		100.000	\$/día	1	100.000
Análisis de suelo	P		20.000	\$/análisis	2	60.000
Análisis de hierro activo	P		20.000	\$/muestra	40	800.000
Análisis de clorofila	P		20.000	\$/muestra	40	800.000

Fosfato monoamónico	P		300	\$/kg	1	300
Sulfato ferroso	P		230	\$/kg	1	230
Combustible	p		30.000	\$/día	1	30.000
Basafer plus®	P		15.000	\$/kg	1	15.000
Urea	P		1.500	\$/kg	3	4.500
Super fosfato triple	P		3.790	\$/kg	3	11.370
Nitrato de potasio	P		3.000	\$/kg	3	9.000
Insecticida	P		50.000	\$/producto	1	50.000
Jabón potásico	P		8.000	\$/Litro	1	8.000
Alambre para sostener tutores	P		5.000	\$/kg	1	5.000
Rafia para guiado	P		2.000	\$/unidad	1	2.000
Tijeras de podar	P		15.000	\$/tijera	1	15.000
Subtotal						1.954.650

P: Pecuniario N: No pecuniario

D. Detalle gastos de administración

Concepto	Aporte	Valor unitario (CLP)	Unidad	Cantidad	Costo (CLP)
Overhead PUCV	P	-	-	-	874.350
Subtotal					874.350

P: Pecuniario N: No pecuniario