

**EVALUACION DE LA APLICACION DE ACIDOS HUMICOS  
MAS SULFATO FERROSO EN LA CORRECCION DE  
CLOROSIS FERRICA EN VID (*Vitis vinifera* L.)**

**JULIO CÉSAR MOLINA MACÍAS**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS



**Universidad Autónoma Agraria  
“Antonio Narro”  
Unidad Laguna**

SUBDIRECCION DE POSTGRADO

Torreón, Coahuila, México.

Junio de 2006.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”  
UNIDAD LAGUNA**

SUBDIRECCION DE POSTGRADO  
**EVALUACION DE LA APLICACION DE ACIDOS HUMICOS MAS  
SULFATO FERROSO EN LA CORRECCION DE CLOROSIS FERRICA EN  
VID (*Vitis vinifera L.*)**

TESIS POR

**JULIO CÉSAR MOLINA MACÍAS**

Elaborada bajo la supervisión del H. comité particular y aprobada como  
requisito parcial, para optar el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS**

**COMITÉ PARTICULAR**

Asesor principal:

\_\_\_\_\_  
Ph.D. Angel Lagarda Murrieta.

Asesor:

\_\_\_\_\_  
Dr. Esteban Favela Chavez.

Asesor:

\_\_\_\_\_  
Dr. Eduardo Madero Tamargo.

\_\_\_\_\_  
**Dr. José Alberto Delgadillo Sánchez**  
Jefe del Programa Docente de  
Postgrado en Ciencias Agrarias

\_\_\_\_\_  
**M.C. Gerardo Arellano Rodríguez**  
Jefe del Departamento de Postgrado

Torreón, Coahuila, Junio de 2006.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (unidad laguna), por haberme formado como profesionista a nivel licenciatura y ahora como maestro en ciencias, jamás voy a dejar de reconocer tu noble labor en la formación profesional de este hijo tuyo.

A mis maestros, colegas y amigos, de quienes recibí incondicionalmente durante mi estancia en la universidad y fuera de ella, el conocimiento, el consejo y sobre todo su amistad, espero no decepcionarlos nunca.

A mis asesores PhD. Ángel Lagarda M., Dr. Esteban Favela Ch. y al Dr. Eduardo Madero T., que supieron tener paciencia para orientar y transmitir sus conocimientos para bien de la investigación, de mi formación como alumno y como profesionista.

A Met-Mex Peñoles, por haberme brindado un paréntesis dentro de mis obligaciones laborales, para terminar mi tesis y presentar el examen de grado, especialmente al Ing. Salvador E. Araiza Moreno.

## DEDICATORIA

Gracias Dios mío por haberme regalado la vida y permitirme coincidir en ella con personas tan valiosas, que me ayudaron a sumar un objetivo más a mi proyecto de vida.

A mis padres, Herminia Macías B. y Martín Molina G., por haberme brindado un hogar, que ante la adversidad siempre emanó cariño, comprensión, apoyo y confianza, estos y otros valores son los que mantienen viva nuestra necesidad de ser cada día y en todos los ámbitos, una mejor persona.

A mi esposa Ma. Concepción Macías, quien ha sabido corresponder con creces al amor depositado en nuestro matrimonio, del cual nació el ser que probablemente sin estar conciente de ello, ha representado la motivación para ir escalando peldaños en la vida; para ti Julio David, con todo mi amor de padre.

A mis hermanos Martín, Adrián, Luis Alberto y a sus hijos, por todos los momentos que hemos compartido, con mucho cariño.

En memoria de mi abuelita Margarita Barraza, de quien aprendí a ver siempre hacia el frente, sobre cualquier adversidad.

Adriancillo, espero nunca defraudar tu cariño y confianza.

## **COMPENDIO**

### **EVALUACION DE LA APLICACION DE ACIDOS HUMICOS MAS SULFATO FERROSO EN LA CORRECCION DE CLOROSIS FERRICA EN VID (*Vitis vinifera* L.)**

**Por**

**Julio César Molina Macías**

**MAESTRIA EN CIENCIAS AGRARIAS**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”  
UNIDAD LAGUNA**

**Torreón, Coahuila, Junio de 2006**

El estudio de campo se realizó en la pp “Tierra Blanca”, municipio de Viezca, Coahuila, México, durante la primavera de 1998 y 1999 en cultivo de vid (*Vitis vinifera* L.) de la variedad “Málaga Roja”, establecidos a una densidad de plantación de 1500 plantas/Ha. con una distancia entre hileras de 3.3 m. y 2 m. entre plantas, con sistema de plantación de cordón bilateral con espaldera de tipo “pérgola inclinada” (triangular) y sistema de riego por goteo superficial, considerando como unidad experimental tres plantas con evidente manifestación de clorosis férrica en el follaje.

El diseño experimental utilizado fue en bloques al azar, con un arreglo en parcelas subdivididas, con dos fechas de aplicación, dos productos y seis repeticiones. Las plantas seleccionadas se muestrearon inicialmente para

tener una referencia de las condiciones nutrimentales del cultivo, aunque visualmente manifestaban una severa clorosis férrica.

Los tratamientos consistieron en dos fechas de aplicación (Abril y Mayo de 1998) de tres dosis de quelatos sintéticos a base de Fe-EDDHA (ácido etilen-diamino-dihidroxifenil-acético), correspondientes a 0, 10 y 20 gr./planta, contra la aplicación de una combinación de ácidos húmicos con sulfato ferroso, en proporción de 1:1, utilizando 0, 300 y 600 gr./planta.

Se muestrearon hojas del cuarto, octavo y doceavo nudo, tanto al inicio del experimento como a los 12 meses posteriores a la aplicación de los tratamientos, para analizar fierro, cobre, manganeso, zinc y fósforo. Con la información de resultados, se procesó el análisis estadístico utilizando el programa de cómputo SAS (Statistical Analysis System).

No se detectaron diferencias estadísticas significativas entre productos para fierro, cobre, manganeso, zinc y fósforo, sin embargo la tendencia de incremento en el contenido de fierro en el follaje entre los dos productos, muestran que hay una mayor eficiencia para la combinación de ácidos húmicos con el sulfato ferroso.

No se detectaron diferencias estadísticas significativas entre dosis para fierro, cobre, manganeso, zinc y fósforo, a pesar de este resultado, se pudo apreciar que la dosis media de la combinación de ácidos húmicos con

sulfato ferroso (300 gr./planta), tuvo un mayor incremento en el contenido foliar de hierro, sobre la dosis alta de Fe-EDDHA (20 gr./planta).

En cuanto a fechas de aplicación, presento efectos estadísticos altamente significativos para hierro, cobre, manganeso, zinc y fósforo, mostrando una clara tendencia a incrementar el contenido de hierro independientemente de su aplicación durante el mes de Abril o Mayo.

## **ABSTRACT**

# **EVALUATION OVER THE APPLICATION OF HUMIC ACIDS PLUS IRON SULFATE IN THE CORRECTION OF IRON CHLOROSIS ON GRAPE VINES (*Vitis vinifera* L.)**

**By**

**Julio Cesar Molina Macías**

**MASTER IN AGRARY SCIENCE**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**Torreón , Coahuila, June 2006**

The field research was carried out on the property Tierra Blanca, county of Viezca, Coahuila, México, during the spring of 1998 and 1999 on “Red Malaga” grape vine (*Vitis vinifera*, L.). Established on a plantation density of 1500 plants/ha., with a distance of 3.3 m. And 2 m. Between rows, with a planting system of bilateral rope with leaning type “inclined pergola” (triangular) and a sprinkling system by superficial dripping, considering as an experimental unit during three plants with evident iron chlorosis manifestation on the foliage.



The experimental design was blocks at random with adjusted subdivided plots, two applying dates, two products and six repetitions. The selected plants were initially sampled to have a reference about the nourishing conditions of the crop, even they visually manifested as severe iron chlorosis.

The treatments consisted of two applying dates (April and May, 1998), three doses of synthetic chelates having as a base Fe-EDDHA (etilen-diamine-dihidroxiiphenil-acetic acid), corresponding to 0, 10, and 20 grams/plant, contrasted to the application of a combination of humic acids with iron sulphate, in the proportion of 1:1, using 0, 300 and 600 grams/plant.

Leaves from the fourth, eighth, and twelfth knot, were sampled, at the beginning of the experiment and twelve months after the application of the treatments, to analyse iron, copper, manganese, zinc and phosphorus. With the information of the results, a statistic analysis using the computer programs SAS (Statistical Analysis System) was processed.

Meaningful statistic differences were not detected among products for iron, cupper, manganese, zinc, and phosphorus, however, the trend to increase the content of iron on the foliage between the two products, show that there is a major efficiency on the combination of humic acids with iron sulphate.

Meaningful statistic differences among doses for iron, copper, manganese, zinc and phosphours, wets not detected, in the spite of this result, it could be observed that the media dose of the combination of humic acids with iron sulphate (300 grams per plant) had a major increase on the iron content of the foliage, over the high dose of Fe-EDDHA (20 grams per plants).

As to the application dates, it presented statistic effects highly meaningful for iron, cupper, manganese, zinc, and phosphorus, showing a clear trend to increase the content of iron, without considering the application during the months of April and May.

## CONTENIDO

	Pag.
COMPENDIO.....	v
ABSTRACT.....	viii
INTRODUCCION .....	1
REVISION DE LITERATURA .....	4
<b>EL FIERRO EN LAS PLANTAS .....</b>	<b>4</b>
ABSORCIÓN DE FIERRO POR LA PLANTA .....	5
<b>MECANISMO DE LA ESTRATEGIA I.....</b>	<b>7</b>
<b>MECANISMO DE LA ESTRATEGIA II.....</b>	<b>9</b>
TRANSLOCACIÓN DE FIERRO EN LA PLANTA .....	12
<b>SINTOMAS DE DEFICIENCIA DE FIERRO EN LAS PLANTAS .....</b>	<b>13</b>
FACTORES QUE AFECTAN LA SOLUBILIDAD DEL FIERRO EN EL SUELO .....	17
BAJO NIVEL DE FIERRO EN LA DISOLUCIÓN.....	17
POTENCIAL HIDROGENO (pH). .....	20
ELEMENTOS ESENCIALES DE MAYOR RELACIÓN CON DEFICIENCIAS DE FIERRO .....	20
INTERACCIÓN CON EL NITRÓGENO.....	21
INTERACCIÓN CON EL FÓSFORO.....	21
INTERACCIÓN CON EL POTASIO.....	22
INTERACCIÓN CON EL ZINC.....	23
INTERACCIÓN CON EL MANGANESO.....	23
INTERACCIÓN CON EL MOLIBDENO.....	24
INTERACCIÓN CON EL COBRE.....	25
EFECTO DE ELEVADAS CONCENTRACIONES DE METALES PESADOS ....	25
EXTREMOS DE HUMEDAD.....	26
REACCIÓN CON EL OXÍGENO.....	26
TEMPERATURA DEL SUELO.....	27
SALINIDAD.....	27

PRESENCIA DEL IÓN CARBONATO Y BICARBONATO.....	28
ADICIÓN DE MATERIA ORGÁNICA A SUELOS INUNDADOS.....	30
FACTORES CAUSANTES DE LA CLOROSIS FERRICA EN PLANTAS .....	31
CONCENTRACIÓN CRÍTICA DE NUTRIMENTOS EN EL FOLLAJE DE VID. ....	31
IMPORTANCIA DE LA MATERIA ORGÁNICA Y HUMUS EN LA NUTRICIÓN VEGETAL.....	32
PROPIEDADES QUÍMICAS GENERALES DE LAS SUSTANCIAS HÚMICAS.....	36
IMPORTANCIA DE LOS AGENTES QUELATANTES EN LA NUTRICIÓN VEGETAL.....	39
ESTRATEGIAS UTILIZADAS EN LA CORRECCIÓN DE LA CLOROSIS FÉRRICA.....	40
COMPUESTOS INORGÁNICOS DE FIERRO.....	41
COMPUESTOS ORGÁNICOS.....	42
ENMIENDAS ACIDIFICANTES DEL SUELO.....	43
QUELATOS DE FIERRO SINTÉTICOS.....	44
ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS INTERCALADOS.....	47
ASPERSIONES FOLIARES DE SOLUCIONES FÉRRICAS....	47
INYECCIONES DE SALES Y SOLUCIONES DE FIERRO EN RAMAS Y TALLOS .....	48
CORRECCIÓN DE CLOROSIS FÉRRICA EN VID.....	48
APLICACIÓN DE QUELATOS EN CAJETE.....	48
APLICACIÓN DE QUELATOS EN BANDA.....	48
ASPERSIONES DE PRODUCTOS SINTÉTICOS AL FOLLAJE.....	49
MATERIALES Y METODOS .....	51
DESCRIPCION GEOGRAFICA DEL SITIO EXPERIMENTAL .....	51
CARACTERISTICAS DEL CLIMA.. .....	51
CONDICIONES DEL SUELO .....	52
UNIDAD EXPERIMENTAL.... .....	52
CARACTERÍSTICAS DE LA VARIEDAD MALAGA ROJA.....	53
TRATAMIENTOS.....	53
ÉPOCA DE APLICACIÓN.....	53
MUESTRAS DE SUELO.....	54

METODO DE MUESTREO FOLIAR.....	54
FECHAS DE MUESTREO FOLIAR.....	54
FECHAS DE APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS.....	55
DETERMINACION DE FIERRO, COBRE, MANGANESO Y ZINC .....	55
DETERMINACION DE FOSFORO .....	55
DISEÑO EXPERIMENTAL .....	56
ANALISIS DE RESULTADOS.....	56
VARIABLES A EVALUAR.....	56
RESULTADOS Y DISCISION.....	57
PRODUCTOS.....	57
DOSIS.....	58
FECHAS DE APLICACIÓN.....	60
FECHAS Vs PRODUCTO.....	61
FECHAS Vs DOSIS.....	62
CONCLUSIONES.....	62
PRODUCTOS.....	62
DOSIS.....	62
FECHAS DE APLICACIÓN.....	62
BIBLIOGRAFÍA.....	63

## INDICE DE CUADROS

NUM		PAG
1	CONCENTRACIÓN CRÍTICA DE NUTRIMENTOS EN EL FOLLAJE DE VID "MÁLAGA ROJA" COOK ET AL. (1978).....	32
2	POSICIÓN ELEMENTAL MEDIA Y LOS GRUPOS FUNCIONALES DE UN MODELO DE ÁCIDOS HÚMICOS (AH) Y FÚLVICOS (AF) (SCHNITZER, 1977)..... .....	38
3	FUENTES DE FIERRO USADAS COMO FERTILIZANTES HAGSTROM (1984).....	41
4	CONDICIONES FISICOQUÍMICAS DE SUELO, PREVALECIENTES EN EL LUGAR DONDE SE LLEVÓ ACABO EL EXPERIMENTO.....	52



## INDICE DE FIGURAS

NUM		PAG
1	CLASIFICACIÓN DE LAS PLANTAS SEGÚN DESARROLLEN O NO MECANISMOS DE RESPUESTA A LA CLOROSIS FÉRRICA (LINDSAY, 1984).....	6
2	MODELO DE LAS RESPUESTAS ANTE LA DEFICIENCIA DE FE DE LAS RAÍCES DE LAS PLANTAS QUE DESARROLLAN LA ESTRATEGIA I. R= REDUCTASA; TR= TRANSPORTADOR DE FE(II) (MARSCHNER ET AL., 1995).....	8
3	REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LAS DINÁMICAS DE LOS FITOSIDERÓFOROS, BIOSÍNTESIS, SECRECIÓN, QUELATACIÓN, ABSORCIÓN Y DEGRADACIÓN.....	11
4	ESTRUCTURAS DE LOS LIGANDO FITOSIDERÓFOROS LLAMADOS ÁCIDO MUGINEICO Y ÁCIDO AVÉNICO. LOS CUATRO ÁTOMOS DE OXÍGENO Y LOS ÁTOMOS DE NITRÓGENO DEL ÁCIDO MUGINEICO QUE SE COMBINA CON EL $FE^{3+}$ SE INDICAN MEDIANTE FLECHAS. LOS ÁTOMOS DEL ÁCIDO AVÉNICO QUE SE COMBINAN CON EL $FE^{3+}$ AÚN NO HAN SIDO IDENTIFICADOS, PERO NÓTENSE LAS SIMILITUDES ESTRUCTURALES DE LOS DOS ÁTOMOS. (SALISBURY ET AL., 1994).....	12
5	ESTRUCTURAS DE CONDUCCIÓN VEGETAL. (ÁLVAREZ, 2000).....	13
6	PLANTAS DE VID ( <i>VITIS VINIFERA</i> L.) EN EL SITIO EXPERIMENTAL MOSTRANDO SÍNTOMAS CARACTERÍSTICOS DE CLOROSIS FÉRRICA...	14
7	FORMAS DE FIERRO EN EL SUELO (UREN, 1984).....	19
8	PRINCIPALES EFECTOS DE LA ALTA CONCENTRACIÓN DE $HCO_3^-$ EN LA TOMA, TRANSLOCACIÓN Y EL USO DEL FIERRO POR LAS PLANTAS (MARSCHNER, 1995).....	30
9	EL MODELO CONCEPTUAL DE LOS PROCESOS QUE SIGUEN LOS MATERIALES ORGÁNICOS DESDE SU INCORPORACIÓN AL SUELO Y DE LAS INTERRELACIONES QUE SE PRODUCEN (TATE, 1987).....	35
10	UNIÓN HIDROXILFENÓLICO-IÓN (FE) SE PRODUCE UN QUELATO.....	38
11	<b>GRÁFICA DE ESTABILIDAD DE 9 AGENTES QUELATANTES BAJO DIFERENTES NIVELES DE PH. (NORVELL, 1983).....</b>	45
12	UBICACIÓN DEL SITIO DONDE SE REALIZÓ EL EXPERIMENTO P.P. "TIERRA BLANCA", MEDIANTE IMAGEN SATELITAL (GOOGLE EARTH, 2006).....	51



13	TENDENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE FIERRO, PARA LOS PRODUCTOS APLICADOS EL MES DE ABRIL EN VID "MÁLAGA ROJA".....	58
14	TENDENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE FIERRO, PARA LOS PRODUCTOS APLICADOS EL MES DE MAYO EN VID "MÁLAGA ROJA".....	58
15	CONCENTRACIÓN DE FIERRO EN FOLLAJE DE VID "MALAGA ROJA", CON LA APLICACIÓN DE DIFERENTES DOSIS.....	60
16	CONCENTRACIÓN DE FIERRO EN EL FOLLAJE DE VID "MÁLAGA ROJA" PARA FECHAS (ABRIL Y MAYO/98), CON RESPECTO A FECHAS DE MUESTREO (1998 Y 1999).....	61

## INTRODUCCIÓN.

El hierro (Fe) es el elemento más abundante en el planeta; ocupa el cuarto lugar como constituyente de las rocas de la corteza terrestre (Krauskopf, 1983) y aproximadamente 5% del peso total de ésta (Mengel et al., 1987). Clark (1991) señala que el contenido promedio de hierro en los suelos varía entre 2 y 6%; no obstante, la proporción de hierro soluble es extremadamente baja, debido a lo cual la deficiencia de hierro es la más extendida de las deficiencias minerales de las plantas y es considerada como una de las de más difícil corrección (Bates, 1982).

En términos generales, se ha asociado a la deficiencia de hierro en las plantas con suelos de tipo calcáreo (Mengel et al., 1986), los cuales cubren aproximadamente 30% de la superficie terrestre y se ubican principalmente en las regiones áridas y semiáridas del planeta (Chen et al., 1982). En los suelos, el hierro se encuentra principalmente en forma de óxidos e hidróxidos férricos, cuya solubilidad determina la disponibilidad de este micronutriente para las plantas (Lindsay et al., 1982). La solubilidad de tales compuestos es altamente dependiente del pH del suelo; se ha estimado que una concentración mínima suficiente de hierro en la solución del suelo para un abastecimiento adecuado a las plantas sólo puede ser obtenida a un pH de 3; al aumentar este valor a un poco más de pH 4, sólo se obtendrá 1% del hierro demandado por los cultivos (Lyndsay, 1983).

La gran cantidad de factores que afectan la disponibilidad del hierro podría conducir a deficiencias de este micronutriente en la generalidad de los suelos, de no ser por la existencia de factores modificantes que incrementan su solubilidad y por lo tanto, su disponibilidad para las plantas (Brown et al., 1961).

La amplia variabilidad genética de las especies vegetales, ha permitido que éstas, muestren diversos grados de potencialidad para adquirir el hierro presente en el medio de crecimiento (Mengel et al., 1987). La inadecuada disponibilidad del hierro en los suelos ha inducido mecanismos de adaptación en las plantas; la estructura, morfología y fisiología de las raíces pueden cambiar significativamente (Landsberg, 1984). Es aquí donde surgen los conceptos relacionados con la eficiencia en la utilización del hierro. De esta forma son conocidas como Fe-eficientes (calcícolas), aquellas plantas cuyas modificaciones radicales conducen a incrementar la solubilidad, absorción y transporte del hierro (Römheld, 1987), a diferencia de éstas, las plantas Fe-ineficientes (calcífugas) no muestran respuestas adaptativas, manifestando fácilmente la clorosis (Kannan et al., 1982).

Desde un punto de vista cualitativo, los mecanismos adaptativos pueden ser clasificados en por lo menos dos grupos principales, los cuales han sido denominados Estrategias I y II; estudios recientes indican que la primera de estas estrategias se presenta en la mayoría de las plantas,

mientras que la segunda se ha observado exclusivamente en gramíneas (Römheld, 1987).

La participación del hierro en diversas fases anabólicas de la biosíntesis de la clorofila y en el mantenimiento del sistema receptor de la energía luminosa, hacen de la clorosis y de la disminución de la capacidad fotosintética los síntomas más evidentes de la deficiencia de hierro en las plantas. Dentro de las especies que se cultivan en las regiones áridas de nuestro país, la vid es considerada como susceptible a las deficiencias de hierro, cuyos efectos pueden reducir considerablemente el rendimiento (Clark, 1991; Cortinas, 1985).

### **Objetivo.**

Determinar el grado de corrección de la clorosis férrica en vid Málaga Roja mediante la aplicación de ácidos húmicos mas sulfato ferroso.

### **Hipótesis.**

Existen diferentes productos que corrigen la deficiencia férrica en vid “Málaga Roja”.

### **Meta.**

Presentar al productor una alternativa económica y eficaz en la corrección de clorosis férrica en vid “Málaga Roja”.

## REVISION DE LITERATURA

### **El fierro en las plantas.**

El año de 1860, los científicos J. Sachs y W. Knop realizaron un descubrimiento que vendría a revolucionar el estudio de la nutrición vegetal y éste consistió en la observación de que las plantas podían crecer satisfactoriamente en sales minerales y agua. No eran necesarios ni el suelo ni la materia orgánica. Sachs adicionaba de tres a seis gotas de la “solución medicinal de cloruro férrico” por litro de solución de cultivo. Debido a estos experimentos, Sachs recibió el crédito del descubrimiento de los primeros 10 elementos reconocidos como esenciales para el desarrollo de las plantas, uno de los cuales fue el fierro, Stout (1983).

Las investigaciones acerca del papel del fierro en el metabolismo de las plantas, comienza con la observación hecha por Gris en 1944, de que este elemento es necesario para el mantenimiento de la clorofila en las plantas, Price (1983). Interviniendo como un co-factor para una o varias enzimas que intervienen en la producción de clorofila, Wallace (1961); Price (1983); y Galván (1985).

El fierro también interviene en la composición de compuestos pigmentosos, involucrados en el transporte de electrones en el proceso de fotosíntesis. Este elemento también constituye un factor esencial de la ferredoxina y aunque de manera no totalmente comprobada, de la reductaza nítrica, enzima participante en la reducción de nitratos a iones de amonio,

según Salisbury et al. (1969), y Galván (1985), así como de otras proteínas que contienen hierro como la catalasa, ferrocromoperoxidasa e hidrogenasa succínica.

### **Absorción de hierro por la planta.**

Las plantas calcícolas crecen principalmente en suelos con un gran contenido de carbonatos de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), mientras que las plantas calcífugas no pueden estar presentes en estos suelos, ya que su distribución natural se encuentra en suelos ácidos (Figura 1). Las plantas calcífugas son incapaces de desarrollar algún mecanismo de respuesta cuando en el sustrato en el que se desarrollan los elementos como hierro, fósforo u otros micronutrientes se encuentran insolubles, y no pueden disponer de estos y mantenerlos metabólicamente activos en suficiente cantidad en suelos calizos (Kinzel, 1982.; Tyler, 1996). Por el contrario, las plantas calcícolas han desarrollado numerosos mecanismos para convertir en disponibles algunas formas de hierro, ya que en los suelos calizos las concentraciones de hierro intercambiable y soluble son mucho menores que las necesarias para un adecuado crecimiento de las plantas (Lindsay, 1984).

Según los mecanismos que desarrollen las plantas en su adaptación a la clorosis férrica se clasifican en plantas de "Estrategia I": dicotiledóneas y monocotiledóneas no gramíneas. Su respuesta a la clorosis férrica suele consistir fundamentalmente en la mejora de la capacidad de reducción del  $\text{Fe}^{3+}$  y una mayor liberación de protones. Además, frecuentemente se

produce una excreción de agentes reductores, principalmente compuestos fenólicos, y cambios morfológicos de la raíz. El otro mecanismo de respuesta lo utilizan las plantas de “Estrategia II” que suelen ser gramíneas. Es un mecanismo más eficaz que el de las plantas de “Estrategia I”, ya que en muchas ocasiones las plantas no llegan a presentar ningún síntoma de clorosis férrica. Las plantas de “Estrategia II” suelen liberar aminoácidos no proteinogénicos llamados fitosideróforos que forman complejos muy estables con el  $Fe^{3+}$ .

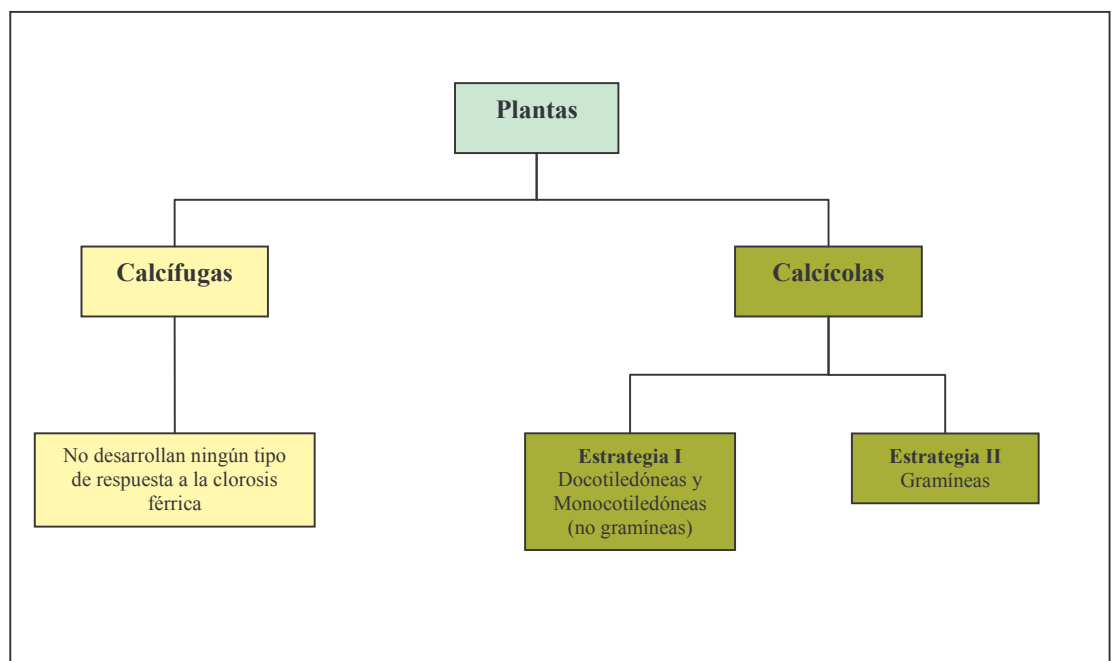


Figura 1.- Clasificación de las plantas según desarrollen o no mecanismos de respuesta a la clorosis férrica (Lindsay, 1984).

### **Mecanismo de la estrategia I.**

Las raíces de las plantas de esta estrategia incrementan la actividad de  $Fe^{3+}$ -reductasa (R) (Marschner et al., 1986), exudan grandes cantidades

de H<sup>+</sup> (hidrógeno) y sustancias reductoras como ácidos orgánicos (Olsen et al., 1980), azúcares reductores y fenoles (Olsen et al., 1982), aunque estas últimas sustancias no están posiblemente implicadas en la reducción de Fe (III) (Römheld et al., 1983). Entre los ácidos orgánicos exudados por las raíces se encuentran principalmente ácidos di y tricarbónicos, especialmente ácido cítrico y oxálico, los cuales son potentes quelatantes de hierro y solubilizadores de fósforo (Tyler et al., 1995). El citrato solubiliza mucha más cantidad de hierro que la fracción del suelo fácilmente intercambiable (extraída con BaCl<sub>2</sub>) y que los agentes quelatantes sintéticos como el EDTA (Zohlen et al., 2000).

La respuesta más sensible y típica es el incremento de la actividad de la reductasa en las membranas celulares rizodérmicas (Figura 2), así en las plantas de tomate se observó que la actividad de estas enzimas aumentaba siete veces cuando la planta presentaba deficiencia de hierro (Buckhout et al., 1989), en cebada seis veces y en cacahuate fue 20 veces mayor (Römheld et al., 1983). Las raíces tienen dos tipos de reductasas: una es capaz de reducir los quelatos de hierro y ferricianuro (turbo reductasa) y otra que únicamente puede reducir ferricianuro (reductasa estándar), la turbo reductasa está localizada en la epidermis de las raíces laterales jóvenes que crecen bajo deficiencia de hierro, mientras que la reductasa estándar estaba presente en todas las células radiculares (Bienfait, 1985).



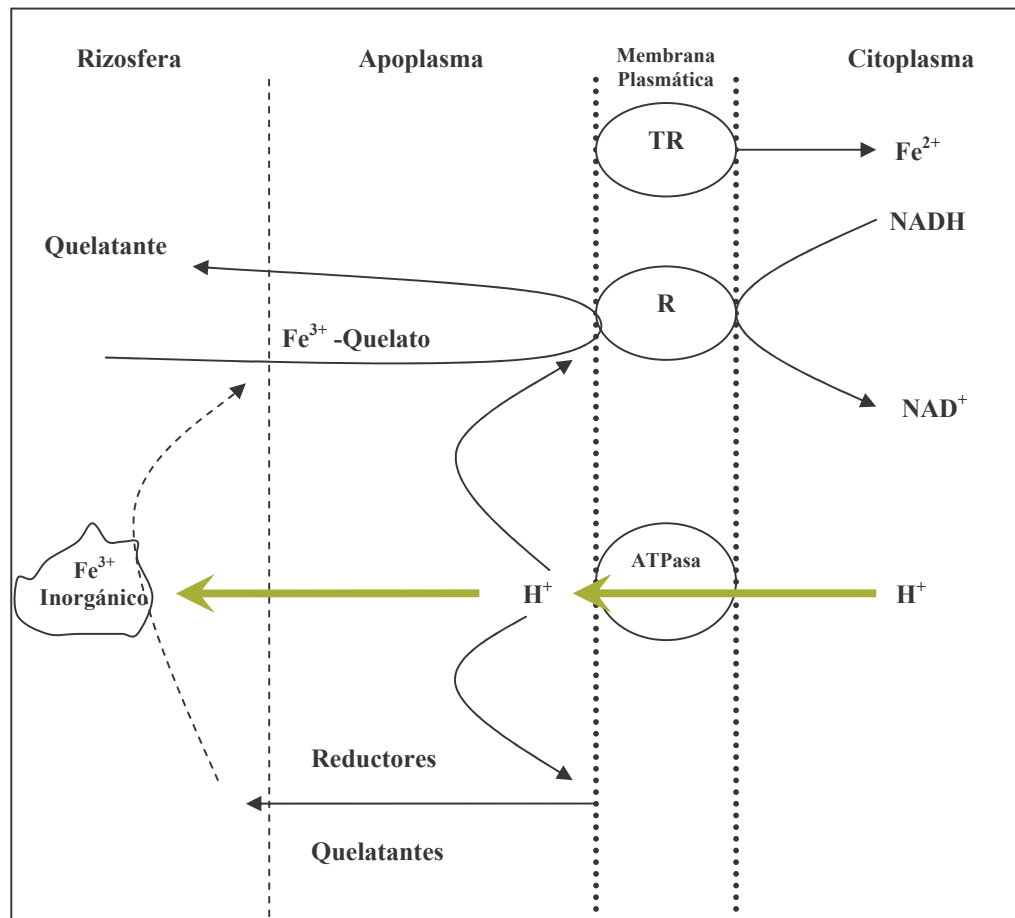


Figura 2. Modelo de las respuestas ante la deficiencia de Fe de las raíces de las plantas que desarrollan la estrategia I. R= Reductasa; TR= Transportador de Fe(II) (Marschner et al., 1995).

La actividad de la reductasa (R) es fuertemente estimulada a pH bajos, de manera que la mejora en la excreción de protones por la ATPasa es importante para una eficaz reducción de Fe(III). El efecto de la deficiencia férrica en plantas de *Arabidopsis thaliana* (Yi et al., 1994). Las altas concentraciones de bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ) responsables de la clorosis inducida por carbonatos contrarrestan las respuestas de las plantas de Estrategia I. la capacidad, que tienen la ATPasa para bajar el pH de la

rizosfera y facilitar la solubilización de hierro, está restringida a las puntas radiculares, donde tienen lugar la formación de las células de transferencia (Landsberg, 1986); esta enzima además actúa rápidamente, por ejemplo plantas de girasol deficientes de hierro pueden disminuir el pH, pasando de 8.0 a 3.7 en pocas horas (Olsen et al., 1981), sin embargo, en otros cultivos como las plantas de garbanzos (*Cicer arietinum* L.) la extrusión de protones en respuesta a la deficiencia de hierro tiene lugar en un plazo de tiempo más largo (de 5 a 6 días) después del comienzo de la deficiencia de hierro (Ohwaki et al., 1997), por lo general esta acidificación de la rizosfera en respuesta a la deficiencia de hierro va a depender del balance en la absorción catión/anión y el metabolismo del nitrógeno (Marschner et al., 1983).

### **Mecanismos de estrategia II.**

Las gramíneas son las plantas que utilizan estos mecanismos para atenuar los efectos de la clorosis férrica. La respuesta principal de estas plantas a la deficiencia de hierro es, como ya dijimos, la liberación de aminoácidos no proteinogénicos denominados fitosideróforos (Takagi et al., 1984). En 1972, Takagi observó por primera vez la liberación de fitosideróforos en plantas de arroz deficientes en hierro. Los sistemas radiculares de las plantas de arroz producían sustancias solubilizadoras de hierro. Tras este descubrimiento, compuestos similares fueron investigados en otras gramíneas: cebada (*Avena sativa*) (Fushiya et al., 1980), centeno (*secale cereale*) (Nomoto et al., 1979), y trigo (*Triticum aestivum*). Nomoto et

al. (1987) observaron este tipo de compuestos en la cebada para cerveza (*Hordeum vulgare cv distichom*). Se identificaron las estructuras químicas de los fitosideróforos para el ácido mugineico (MAS) (Takemoto et al., 1978), ácido avénico (AVA) (Fushiya et al., 1980), ácido 3-hidroximugineico (HMA) (Nomoto et al., 1979), 3-epihidroxymugineico (DMA) (Nomoto et al., 1987) y ácido disticónico (Nomoto, 1987).

Otro componente de los mecanismos de la estrategia II es la proteína transportadora (Figura 3), que está presente en la membrana plasmática de las células radiculares de las gramíneas (Römheld et al., 1990) y que permite el paso del Fe (III)-MA hacia el citoplasma, esta proteína no está presente en las plantas que se desarrollan los mecanismos de Estrategia I. las características de la proteína transportadora fueron investigados por Mihashi et al. (1989) y Mihashi et al. (1991) y los resultados les llevaron a sugerir que el transporte de la Fe(III)-MA dependía del gradiente de los iones  $H^+$  o  $K^+$  producidos por la actividad de la ATPasa y que el lugar activo de la proteína transportadora podía contener grupos sulfhídricos libres.

Con respecto a la biosíntesis de los fitosideróforos (Figura 3), Kawai et al. (1987) y Mori et al. (1987) llevaron a cabo separaciones de ácido mugineico (MAS) por HPLC usando un radio-analizador (Mori, 1981) para la detección de  $C^{14}$  en los MAS y sus precursores. La conclusión a la que llegaron fue que la metionina era el único precursor del MAS.

Análisis de los MAS en plantas de cebada deficientes en hierro, mostraron MAS en tallos y raíces. En las raíces se localizaron los niveles más altos. MAS fueron también detectados en la savia del xilema, y para el arroz, también en el floema (Mori et al., 1991). En las plantas de maíz deficientes en hierro el lugar de la biosíntesis de los MAS son las puntas radiculares (Mori, 1994).

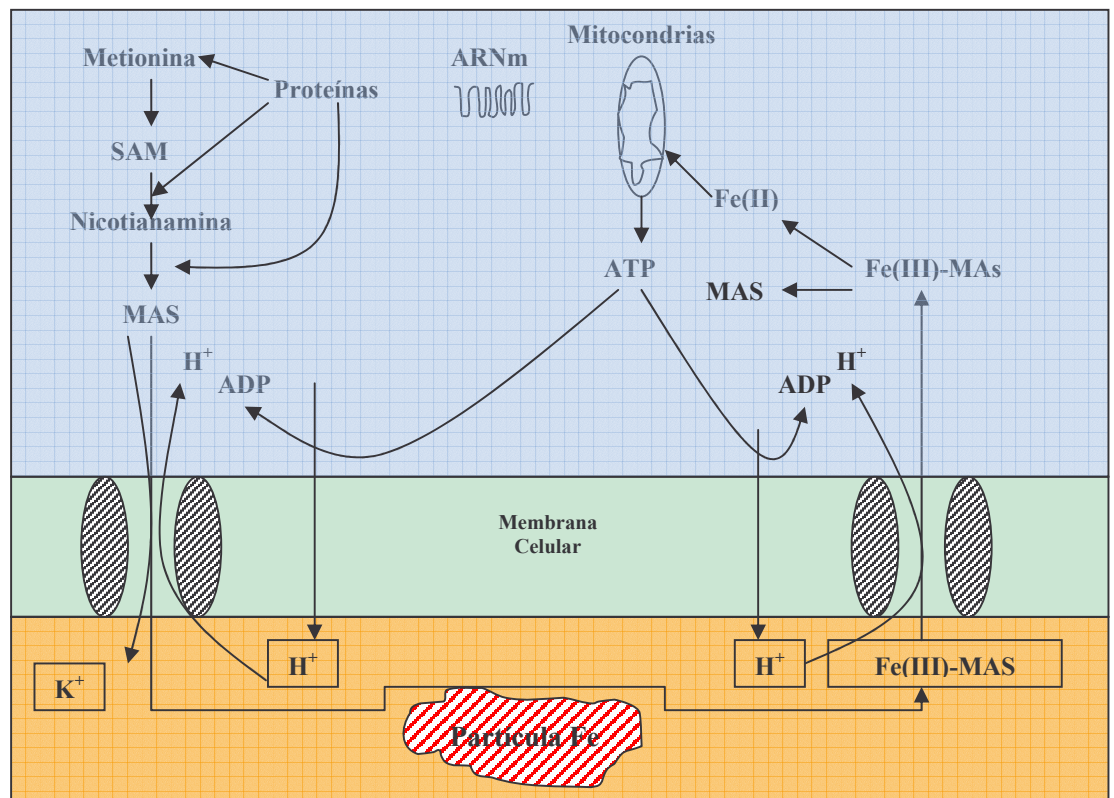


Figura 3. Representación esquemática de las dinámicas de los fitosideróforos, biosíntesis, secreción, quelatación, absorción y degradación.

El mecanismo de síntesis de los fitosideróforos está bajo un control estrictamente genético y los cromosomas responsables de la regulación, por ejemplo, de la transformación del ácido 2'-deoximugineico hacia ácido mugineico ya han sido identificados (Mori et al., 1989).



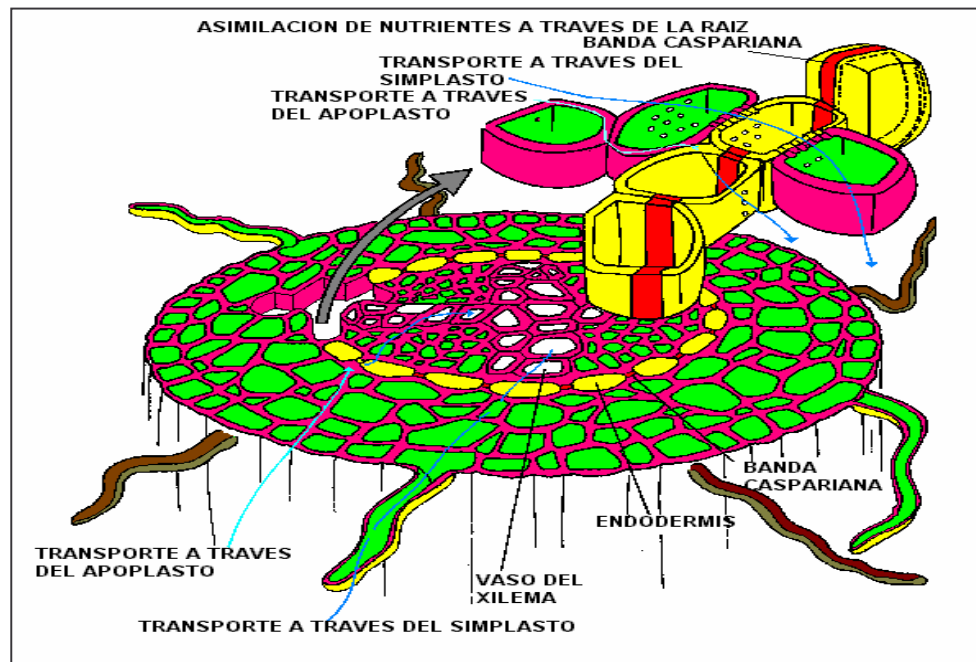


Figura 5.- Estructuras de conducción vegetal. (Álvarez, 2000).

Rogers et al. (1932) y Tiffin (1983), propusieron que sí los ácidos orgánicos mantienen soluble al hierro en las soluciones externas, podría tener la misma función dentro de la planta. La información actual indica que el citrato es el principal compuesto involucrado en mantener el hierro móvil en las plantas. Los resultados han revelado que el hierro en exudados de xilema está presente en formas cargadas negativamente, Tiffin et al. (1959,1961).

### **Síntomas de deficiencia de hierro en las plantas.**

Clorosis significa falta de clorofila en un órgano vegetal, que se traduce en pérdida del color verde, puede ser causada por deficiencia en el suministro de elementos esenciales como (Fe, Mn, Mg, Zn, N, etc), por la existencia de un estrés hídrico o por el ataque de insectos, hongos, bacterias

y virus. Si nos referimos a la clorosis férrica, debemos tomar en cuenta que ésta afecta principalmente a manzanos, durazneros, ciruelos, cerezos, vid, almendros, olivos y cítricos (Sanz et al., 1992). Tampoco debemos olvidar los efectos que produce sobre cultivos como arroz, tomate, maíz, etc (Marschner, 1995). Se manifiesta como un amarillamiento entre las nervaduras de las hojas jóvenes por causa de una insuficiente síntesis de clorofila, en plantas sanas, el 60% de todo el hierro en las hojas esta concentrado en los cloroplastos, reportado por Yona (1982).

Los agricultores que no aplican hierro en aquellas zonas donde existe clorosis férrica, tienen que afrontar pérdidas en la producción y calidad de las cosechas (Tagliavini et al., 1998), y a largo plazo, una muerte temprana de la planta o el árbol afectados por la deficiencia de hierro (Sanz et al., 1992).



Figura 6. Plantas de vid (*Vitis vinifera* L.) en el sitio experimental mostrando síntomas característicos de clorosis férrica.



En muchas ocasiones, el contenido de hierro en las hojas cloróticas es similar o incluso superior al de las hojas verdes; la causa puede ser la inactivación de este elemento en la planta por un alto suministro de fósforo o de distintas formas de nitrógeno en suelos calizos o por limitaciones que se producen en el crecimiento vegetal (Marschner, 1995), a este hecho se le denominó “chlorosis paradox” (Römheld, 1997). Otros autores (Tosellini et al., 2000), consideran la idea de que la concentración de hierro similar en hojas sanas y cloróticas era consecuencia del menor tamaño de las hojas que sufrían clorosis. Sin embargo, los descensos en los contenidos de clorofilas, mientras aumentaba el contenido foliar de hierro, llevaron finalmente a los autores a sugerir que el desarrollo de la clorosis estaba asociado con una inactivación del hierro en el apoplasto de la hoja. Esa inactivación probablemente es debida a una alcalinización del apoplasto, que perjudica la reducción de  $Fe^{3+}$  (Kosegarten et al., 1994), un prerrequisito para la absorción de  $Fe^{2+}$  por la célula de la hoja (Brüggermann et al., 1993). En estos casos las hojas recuperan el color verde con la pulverización de las soluciones diluidas de ácido sulfúrico, ácido cítrico y ácido ascórbico (Tagliavini et al., 2000).

El hierro está presente en numerosos constituyentes de los sistemas redox. Forma parte de hemo-proteínas como los citocromos, que son constituyentes de los sistemas redox de los cloroplastos, en las mitocondrias, y también un componente en la cadena redox en la nitrato-reductasa. Otras hemo-enzimas son la catalasa y las peroxidasa. Bajo condiciones de



deficiencia de hierro, la actividad de ambas enzimas declina. La catalasa juega un papel en la fotorespiración y en el ciclo de Calvin. Las peroxidasas son necesarias en la biosíntesis de la lignina y suberina (Marschner, 1995). En las raíces deficientes en hierro, la actividad de la peroxidasa disminuye de forma importante (Sijmons et al., 1985) y se produce la acumulación de grupos fenólicos en la rizodermis al no producirse la síntesis de lignina y Suberina (Römheld et al, 1981).

También debemos considerar otras proteínas como las fierro-azufre-proteínas, en las que el fierro está coordinando al grupo tiol de la cisteína y/o al azufre inorgánico. La más conocida es la ferredoxina que actúa como un transmisor de los electrones en numerosos procesos metabólicos. La ferredoxina la encontramos en cloroplastos y mitocondrias (Droillard et al., 1990). En las plantas dicotiledóneas con deficiencia de hierro se produce una acumulación de riboflavina (Welkie et al., 1989), posiblemente como resultado de las alteraciones en el metabolismo de las purinas debido al deterioro de la oxidasa xantina (Schlee et al., 1968), otra enzima con uniones fierro-sulfuro como grupo prostético.

Otras deficiencias de nutrimentos pueden causar clorosis, pero estas no responden a las aplicaciones de fierro. La siguiente prueba sencilla, puede determinar si la clorosis de fierro es el problema: llenar un depósito de aspersor con sulfato de fierro (una cuchara cafetera por cuatro litros de agua) o soluciones de quelato de fierro asperjado parcialmente sobre la planta. Las

hojas asperjadas con fierro, se tornarán verdes en 24 a 48 horas. Para tomar una referencia, marcar las ramas asperjadas con cinta y comparar con las ramas que no se asperjaron.

### **Factores que afectan la solubilidad del fierro en el suelo.**

Las causas, que originan la clorosis férrica, son múltiples y de distinta naturaleza. A continuación veremos los motivos que consideramos más influyentes en este problema nutricional ampliamente extendido entre las plantas.

La clorosis férrica, es un problema típico de los suelos de origen calcáreo que se encuentran situados en regiones de baja precipitación pluvial, típicamente áridas y semiáridas. La cantidad de fierro requerido para un cultivo durante una estación de crecimiento es de aproximadamente de 5 a 10 Kg. por hectárea (menor de 5 ppm en la capa arable), se estima que la mayoría de los suelos contienen unas 40,000 veces más fierro en la capa arable, que el necesario para la mayoría de los cultivos, Lindsay (1974); Olsen et al (1981), y Galván (1985), su disponibilidad es reducida al mínimo por una serie de factores que tienden a formar complejos insolubles para su aprovechamiento, Krauskopf (1983), los cuales se mencionan a continuación:

### **Bajo nivel de hierro en la disolución.**

Son muchos y diversos los factores que afectan a la solubilidad del hierro en los suelos (pH, complejación, propiedades redox). Los minerales primarios del suelo que contienen Fe (II) son, por lo general, inestables y se descomponen lentamente en presencia del oxígeno atmosférico. El Fe (II) liberado se oxida a Fe (III) y precipita como óxidos e hidróxidos férricos, formándose inicialmente hidróxido de hierro (III) amorfo, el cual presenta elevada superficie específica.

Con el tiempo, este hidróxido férrico amorfo evoluciona a una forma más cristalina y menos soluble llamado Fe-suelo (Álvarez. 2000). Este hipotético mineral es el que controla la solubilidad del Fe (III) en la disolución de suelos y podría corresponder con la ferrihidrita (Lindsay, 1995). Sin embargo, por suerte en sistemas acuosos, el Fe (III) reacciona para formar especies hidrolizadas muy estables que hacen que el hierro total en la disolución del suelo alcance valores superiores al Fe (III) en equilibrio con el Fe-suelo. Entre pH 5-7.5 la especie predominante es  $\text{Fe}(\text{OH})_2^+$ , sin embargo su concentración disminuye con el pH, en el punto de que a partir de pH 7.5 la especie predominante es  $\text{Fe}(\text{OH})_4^-$ .

Por otro lado, los complejos de hierro con compuestos orgánicos de bajo peso molecular contribuyen a aumentar considerablemente el hierro en la disolución del suelo (Lobartini et al., 1988). Estos compuestos pueden proceder de:

1. la degradación de la materia orgánica: ácidos fúlvicos, aminoácidos.
2. Exudados de raíces (ácidos orgánicos, aminoácidos no-proteinogénicos).
3. Excretados por microorganismos (sideróforos).

Uren (1984), clasificó las distintas formas en las que el hierro puede encontrarse en el suelo (Figura, 7), entre ellas vemos que se encuentran las formas móviles, que serían los principales constituyentes del hierro soluble y que por lo tanto puede usar la planta de manera inmediata.

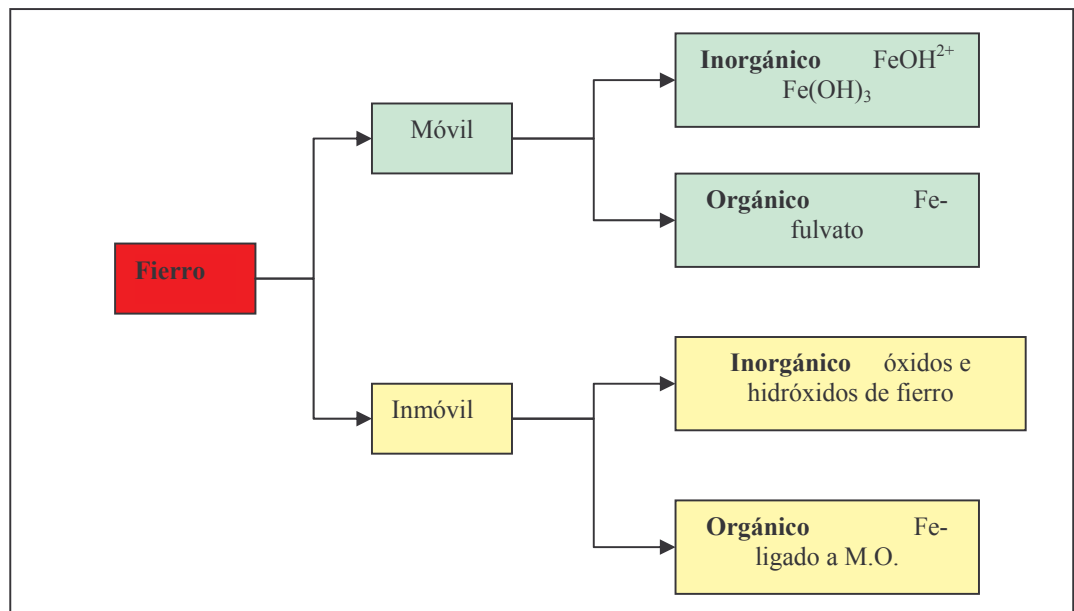


Figura 7. Formas de hierro en el suelo (Uren, 1984).

Las concentraciones de hierro del suelo son mayores de las esperadas termodinámicamente, debido a la presencia de ácidos fúlvicos, sideróforos producidos por la flora microbiana del suelo que van a formar quelatos con el hierro (manteniéndolo en la disolución del suelo) y a los procesos que

realizan las plantas, a través de diferentes mecanismos que veremos más adelante, y que mejoran la disponibilidad del hierro en el suelo.

### **Potencial hidrógeno (pH).**

El  $\text{Fe}^{3+}$ , inorgánico total en solución, varía con el pH y alcanza un mínimo en el rango de 6.5 a 8. Si el  $\text{Fe}^{3+}$  es el ion que se acumula activamente en las plantas, es fácil de visualizar porque la captación de  $\text{Fe}^{3+}$  se reduce a valores de pH superiores. La actividad de  $\text{Fe}^{3+}$  en solución disminuye 1000 veces por cada unidad de incremento de pH.

### **Elementos esenciales de mayor relación con la deficiencia de hierro.**

Macronutrientes, micronutrientes y metales pesados influyen en la gravedad de la clorosis férrica. Son muchas las investigaciones que podemos encontrar que estudian las relaciones de los distintos nutrientes con la deficiencia de hierro.

Las elevadas concentraciones de zinc, fósforo, manganeso, molibdeno y cobre, tienden a inhibir la actividad del  $\text{Fe}^{3+}$  en la solución del suelo. Estas interacciones sugieren que la absorción de hierro es extremadamente sensible a la influencia de otros iones y esto explica también la amplia variación encontrada en la deficiencia de hierro en las plantas, descrito por Kannan (1969) y Moore (1983).

Las interacciones entre nutrimentos quizá ocurran por las siguientes causas: (1) un nutrimento compite con otro en el sitio de cierta función en los lugares de actividad, (2) un nutrimento puede sustituir a otro y (3), un nutrimento es requerido para la asimilación o metabolismo de otro, Robson et al. (1983).

### **Interacción con el nitrógeno.**

La relación amonio/nitrato en la disolución nutritiva o en la disolución del suelo tiene una fuerte influencia en la incidencia de la clorosis férrica (Wallace et al., 1976). Por ejemplo, la deficiencia de hierro en las plantas de garbanzos (Alloush et al., 1990) se agravó cuando se usó  $\text{N-NO}_3$  como fuente principal de nitrógeno. Los resultados llevaron a la hipótesis de que el  $\text{NO}_3^-$  podía provocar la precipitación de hierro en las raíces y en el apoplasto de las hojas, además de disminuir la disponibilidad de hierro en la síntesis de clorofila.

### **Interacción con el fósforo.**

El fósforo se encuentra en las plantas, formando parte de los ácidos nucleicos, fosfolípidos de las coenzimas adenina nicotinamida (NAD) di nucleótido de adenina nicotinamida fosfatado (NADP) y lo que es más importante como parte integrante del ATP (Devlin 1980). Las concentraciones elevadas de fósforo inhiben el movimiento de hierro dentro de la planta. La inhibición es mayor cuando las plantas crecen a un valor de

pH de 7 o superior a éste, comparado con valores de pH más bajos Bilduph (1953), y Olsen et al. (1983). Las plantas mostrando clorosis de hierro inducida por niveles elevados de fósforo muestran generalmente una concentración normal de hierro en los tejidos (chlorosis paradox), pero la relación de fósforo/hierro es mayor en plantas cloróticas. Dichos datos sugieren que la capacidad de la planta para absorber y mantener hierro en forma soluble y móvil disminuye a medida que se incrementa la concentración de fósforo en la planta, De Kock (1955); Brown *et al.* (1959).

La deficiencia de hierro puede ser inducida en las plantas desarrolladas en suelos calizos en los que haya habido un gran suministro de fertilizantes fosforados. Mengel et al. (1984) y Kovanci et al. (1978).

### **Interacción con el potasio.**

McCallister et al. (1989), observaron que la aplicación de KCl, KNO<sub>3</sub> y K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reducía la clorosis, este fenómeno se atribuyó a la mejora del balance catión/anión y a la exudación de protones. Por otro lado, altos niveles de potasio en suelo pueden ir en detrimento de la clorosis, de manera similar al sodio, debido a su influencia en la dispersión de las arcillas montmorilloníticas y el deterioro de la estructura del suelo, de las relaciones suelo-agua, y de la aireación bajo condiciones de humedad (Loeppert et al., 1994). Belkhodja et al. (1998) observaron altas concentraciones de potasio en hojas y flores de durazneros deficientes en hierro, los autores sugirieron que los aumentos foliares de potasio podrían ser una consecuencia de

incremento de la actividad de las ATPasas implicadas en la excreción de los protones de la membrana plasmática radicular durante la época de crecimiento; en este ensayo estos autores encontraron que las hojas cloróticas tenían un menor contenido de calcio, y apenas una mayor concentración de magnesio, mientras el manganeso y el zinc aumentaban en las hojas afectadas por la deficiencia de hierro (Welkie et al., 1993).

### **Interacción con el zinc.**

Interviene en la biosíntesis de la auxina llamada ácido indol-3-acético (IAA). Además de participar como activador de enzimas (Devlín 1980). Rosell et al. (1964), citados por Olsen et al. (1983), reportaron 917 ppm de hierro en hojas de betabel con bajo contenido de zinc. La adición de zinc a niveles de 0 a 12 ppm, disminuyó la concentración de 917 a 94 ppm. En el presente, la deficiencia de hierro, es considerada como un desorden nutricional menor para la mayoría de los agricultores dedicados principalmente a la explotación de frutales, sin embargo, esto puede cambiar en el futuro si los productores no detienen la indiscriminada aplicación de Zinc en sus huertas.

### **Interacción con el manganeso.**

Puede comprobarse que el manganeso es un factor esencial para la respiración y el metabolismo del nitrógeno. En ambos procesos actúa como catalizador enzimático. Cualquier forma de añadir hierro, ya sea como sales



inorgánicas o como un quelato Morghan (1980); Robson et al. (1983), disminuyen la absorción de Manganeso por las plantas. La multicitada interacción entre fierro y manganeso en las plantas, quizá sea resultado mas bien por efectos de absorción, que por antagonismo dentro de la planta Wallihan, et al. (1968); por otro lado, Lucas et al. (1983), obtuvieron deficiencias severas de manganeso en árboles de aguacate mediante aspersiones con Fe-EDDHA.

Si hablamos de manganeso, es difícil distinguir la clorosis férrica, de la clorosis producida por este elemento, sobre todo en aquellos casos en los que las hojas cloróticas tienen mayor contenido de fierro que las hojas verdes (chlorosis paradox). Polle et al. (1992) supusieron que la deficiencia de Magnesio y manganeso podían causar colapsos en el floema, llevando a una acumulación de fotosintatos en las hojas y una carencia de aceptores terminales para el transporte electrónico fotosintético. Como resultado, los electrones serían transferidos en grandes cantidades al O<sub>2</sub>, produciendo un estrés fotooxidativo y necesitando un incremento en la capacidad de desintoxicación de superóxidos y peróxidos. Por tanto, ya que el ascorbato es imprescindible para la desintoxicación, su concentración debería aumentar Thomas et al. (1998).

### **Interacción con el molibdeno.**

La deficiencia de molibdeno, siempre conduce a una disminución de ácido ascórbico en la planta, según Agarwala (1954); Hewitt et. al. (1950) y

Devlin (1980), por otro lado, Arnon (1959) y Devlin (1980), han sugerido que el ácido ascórbico puede tener un papel protector sobre el cloroplasto. Además de que por mucho tiempo se le ha relacionado con la fijación de nitrógeno gaseoso, con la asimilación de nitratos y la acidificación de la rizosfera en plantas de estrategia II, influyendo directamente en la absorción de hierro Hanger (1965) y Olsen et al. (1983).

### **Interacción con el cobre.**

El cobre actúa como componente de las fenolasas, de la lacasa y de la oxidasa del ácido ascórbico. Nelsh (1939) y Devlin (1980), reportaron que los cloroplastos de trébol contienen la mayor parte de cobre en la planta. La aplicación de hierro reduce considerablemente la captación y concentración de cobre en las plantas, según Cheshire, et al. (1967).

### **Efecto de elevadas concentraciones de metales pesados.**

Los metales pesados inducen la clorosis férrica en diferentes especies vegetales, afectando la inmovilización y toma de hierro (Alcántara et al., 1994). Los resultados de estos autores mostraban que los metales pesados inhibían la inducción y funcionamiento de la Fe(III)-reductasa en la raíz en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.). níquel a 20  $\mu\text{M}$  y cobre y cadmio en concentraciones de 5  $\mu\text{M}$  o superiores, inhibieron de manera severa la inducción de la Fe(III)-reductasa radicular, mientras que el manganeso, plomo, zinc y molibdeno tenían un efecto muy limitado incluso a

concentraciones superiores a 20  $\mu\text{M}$ . La inhibición de esta enzima va a estar en función del cultivo tratado y de las concentraciones de estos metales, así Schmidt et al. (1997) observaron una estimulación en la actividad de la Fe(III)-reductasa en la zona radicular en *Plantago lanceolata* L. cuando se suministraba de manera adicional  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  0,5  $\mu\text{M}$  y 1  $\mu\text{M}$ . En el caso del cobre, cuando se añadía en concentración de 0,7  $\mu\text{M}$  se estimulaba la reducción de Fe(III), y cuando la concentración era de 5  $\mu\text{M}$  la inhibición de la actividad de la enzima llegaba a ser de un 98% en aquellas plantas cloróticas.

#### **Extremos de humedad.**

Aunque se puede concluir que un exceso de humedad incrementa el Fe (II), este exceso en suelos calcáreos, es una causa común de clorosis de hierro (Lindsay et al., 1954; Ryan, et al., 1967). Thorn et al, (1989) estimaron que el 50% de la clorosis observada en el estado de Utah podría ser prevenida por condiciones de humedad apropiadas en el suelo. Marschner (1995) ha llevado a cabo numerosos estudios que muestran que las sequías de verano son un factor importante que mata las plántulas susceptibles a la clorosis de hierro. Fue probablemente a través de esa selección natural que se desarrollaron variedades suficientemente tolerantes o resistentes.

### **Reacción con el oxígeno.**

Inskeep et al. (1986) concluyeron que la porosidad y el potencial matricial son parámetros importantes que van a influir en la composición de la fase gaseosa y concentración del bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) en la disolución del suelo, y por lo tanto van a tener un impacto significativo en la incidencia de la clorosis producida por la deficiencia férrica.

Al hablar de la materia orgánica ya hemos hablado como un gran contenido de agua en el suelo puede favorecer la extensión de la clorosis. Otro aspecto, sería el efecto de dilución que puede producirse por un encharcamiento en el suelo, lo que va a repercutir en los mecanismos de respuesta de las plantas de estrategia I y de estrategia II, lo cual provoca una respuesta menos eficaz de la planta a la situación de estrés férrico.

### **Temperatura del suelo.**

Tanto bajas como altas temperaturas del suelo pueden incrementar la clorosis en distintos cultivos Römheld et al. (1986) e Inskeep et al. (1986) notaron que la clorosis en el trébol se incrementaba cuando la temperatura del suelo bajaba de  $22^\circ\text{C}$  o subía por encima de esa temperatura. Esto se debe a la influencia de la temperatura sobre la actividad microbiana o sobre la estabilidad de los sideróforos (Awad et al., 1988).

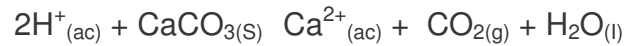
### **Salinidad.**

Altas concentraciones de cloruro de sodio (NaCl) en el medio en el que se desarrollan las plantas inducen la clorosis férrica (Kramer 1983). A pesar de que todavía no se han descubierto los mecanismos de la clorosis férrica inducida por la salinidad, algunas experiencias parecen indicar que altas concentraciones de NaCl pueden influir en la estabilidad de los quelatos de hierro (Nabhan et al., 1977). El aumento de la fuerza iónica en los suelos con gran salinidad suele inhibir la movilización del hierro por el ácido caféico (Römheld et al., 1986) y los fitosideróforos (Awad et al., 1988). Aunque autores como Römheld et al., (1986) afirman que es poco probable que una fuerza iónica elevada inhiba la acción de la Fe(III)-reductasa y por tanto los procesos de transporte en la membrana, esta posibilidad no ha sido del todo descartada por algunos autores como Loeppert et al. (1994). Altas concentraciones de sodio en el suelo, suelen provocar dispersión de las arcillas, lo que se refleja en un deterioro de la estructura del suelo y de las relaciones suelo-agua y de la fase gaseosa, incrementando la susceptibilidad a la clorosis férrica.

### **Presencia del ión carbonato y bicarbonato.**

Un suelo calizo puede ser definido como: aquel cuyo pH está controlado por los carbonatos de la fase sólida (Loeppert, et al., 1994). La concentración del ión bicarbonato en la solución del suelo ha sido correlacionada con la incidencia de la clorosis férrica (Loeppert et al., 1994).

El pH de la disolución y la concentración de  $\text{HCO}_3^-$  son controlados por las reacciones de equilibrio de carbonato en fase sólida:



En la reacción esquematizada arriba, Marschner (1995) resume los efectos que el ión bicarbonato tiene sobre el hierro. Un alto contenido en  $\text{HCO}_3^-$  en la disolución del suelo regula y aumenta el pH y de este modo disminuye la concentración de hierro soluble [mecanismo (1)]. El mayor pH del medio va a afectar a los principales mecanismos de respuesta de las plantas a la deficiencia de hierro: La liberación de protones se ve inhibida, al producirse un deterioro de la bomba que segrega estos iones y que son neutralizados por el bicarbonato [mecanismo (2)]. La alcalinización provoca también una menor secreción de compuestos fenólicos (X) [mecanismo (3)] y dificulta la reducción de Fe (III) en la membrana plasmática [mecanismo (4)] (Römheld et al., 1986). Por tanto, la alta concentración de  $\text{HCO}_3^-$  lleva a un amplio descenso en la toma y transporte de hierro hacia la planta (Kolesch et al., 1984; Dockendorf et al., 1990).

En las raíces con un alto contenido en  $\text{HCO}_3^-$ , la fijación del  $\text{CO}_2$  y la síntesis de ácidos orgánicos aumenta, particularmente en las plantas calcífugas (aquellas que son especialmente sensibles a la clorosis férrica) (Lee et al., 1969). No está del todo claro que la acción complejante del hierro

por ciertos ácidos orgánicos en las vacuolas [mecanismo (5)] contribuya a la inhibición del transporte del hierro a los tallos [mecanismo (6)]. El transporte del hierro en las hojas puede verse especialmente perjudicado (Rutland et al., 1971), y en la distribución de hierro en los tejidos foliares puede ser desigual [mecanismo (7)] (Rutland, 1971). Estos efectos al parecer están relacionados con la alcalinización de los tejidos (Mengel et al., 1981) y del citoplasma en particular (Kolesch et al., 1984). Los altos contenidos de hierro en hojas que sufren clorosis inducida por carbonatos, puede ser una consecuencia del limitado crecimiento de la hoja y de los cloroplastos [mecanismo (8)] o de los menores contenidos en clorofila (Marschner, 1995) (Figura 8).

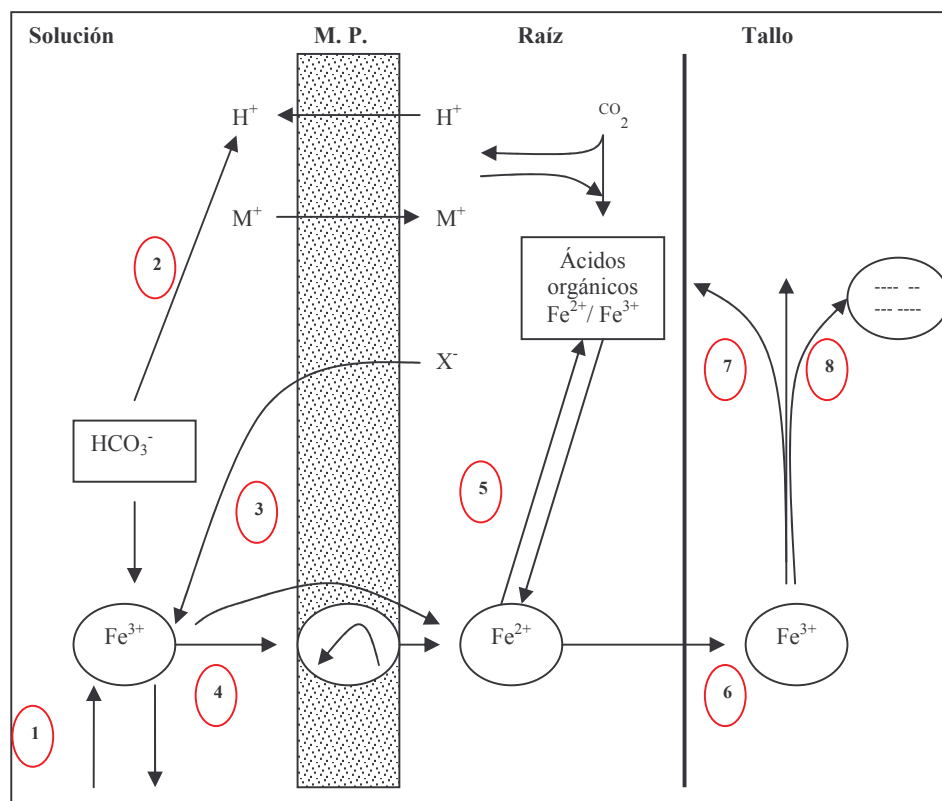


Figura 8. Principales efectos de la alta concentración de  $\text{HCO}_3^-$  en la toma, translocación y el uso del hierro por las plantas (Marschner, 1995).

### **Adición de materia orgánica a suelos inundados.**

Aunque siempre se estudian los efectos positivos de la materia orgánica en la toma de hierro por la planta, debido a la formación de quelatos orgánicos, o a efectos indirectos como la activación de la flora microbiana en el suelo, que mejora la movilización del hierro en el suelo, también hay que tomar en cuenta que la materia orgánica en determinadas circunstancias puede incrementar la clorosis férrica. Esto sucede cuando la materia orgánica se añade a suelos muy húmedos o encharcados, afectando especialmente a dicotiledóneas, ya que se produce un incremento en el consumo de  $\text{CO}_2$ , provocando un aumento en los niveles de bicarbonato en la rizosfera (Loeppert et al. 1994).

### **Factores causantes de la clorosis férrica en plantas.**

En resumen, entre los factores ambientales que contribuyen a la clorosis férrica en las plantas, se pueden citar los siguientes:

- Bajo contenido del elemento en la Disolución.
- pH del suelo.
- Interacción con otros elementos.
- Concentración de metales pesados.
- Extremos de humedad.
- Reacción con el oxígeno.
- Temperatura del suelo.
- Salinidad del suelo.



- Elevados niveles de carbonatos y bicarbonatos.
- Adición de materia orgánica a suelos inundados.

### **Concentración crítica de nutrimentos en el follaje de vid.**

Las características físicas de las plantas, pueden manifestar la posible deficiencia de algún (os) elemento (s), o el efecto del medio ambiente, sin embargo, es importante realizar pruebas de laboratorio que nos indiquen de una manera precisa la concentración de los diversos elementos en el cultivo, y así poder establecer una comparación entre los niveles detectados en el análisis y las concentraciones críticas del cultivo en cuestión (Lagarda, 1985).

Refiriéndose concretamente al abonado del viñedo, cabe citar algunas leyes sobre fertilización que incluyen la evaluación correlativa de los elementos del suelo.

1. Ley del mínimo: la insuficiencia de un elemento, reduce el potencial productivo de cualquier cultivo.
2. Ley del máximo: el exceso de un elemento provoca un desequilibrio metabólico, que igualmente reduce el potencial productivo de las cosechas.
3. Ley de la restitución: es indispensable restituir al suelo, todos los elementos que las cosechas extraen.

Cuadro 1. Concentración crítica de nutrimentos en el follaje de vid “Málaga Roja” Cook et al. (1978).

elemento	Nivel de Concentración [%]		
	Bajo	Suficiente	Alto
N	1.50-1.99	2.00-2.30	>2.40
P	0.22-0.29	0.30-0.40	>0.40
K	1.00-1.29	1.30-1.40	>1.40
Ca	1.50-1.99	2.00-2.50	>2.50
Mg	0.20-0.24	0.25-0.50	>0.50
		[ppm]	
B	20-24	25-70	>70
Cu	3-4	5-50	>50
<b>Fe</b>	<b>50-59</b>	<b>60-175</b>	<b>&gt;175</b>
Mn	25-29	30-300	>300
Mo	0.10-0.14	0.15-0.35	>0.35
Zn	18-24	25-100	>100

### **Importancia de la materia orgánica y humus en la nutrición vegetal.**

Una gran parte de los conocimientos disponibles sobre los componentes orgánicos se ha adquirido por el estudio de los suelos forestales. En este ámbito, el estudio de la materia orgánica ha merecido una gran atención ya desde el siglo XIX. Ello ha sido así por haberse reconocido su importancia en el funcionamiento de los ecosistemas. Interviene de forma activa en la formación del suelo, condiciona su comportamiento con relación al crecimiento de las plantas y microorganismos, al influir el movimiento y almacenamiento de agua, intercambio catiónico, y constituir una fuente de nutrientes, entre otros aspectos (Porta, 1994).

En suelos agrícolas en ocasiones no se valora suficientemente el papel de la materia orgánica, por tener estos suelos menores contenidos y por considerar que los fertilizantes sintéticos pueden desempeñar su papel, lo que sólo resulta parcialmente cierto (Porta, 1994).

El término humus se utiliza en un sentido amplio, para indicar las sustancias orgánicas que resultan de los procesos de humificación (descomposición, degradación y síntesis), y puede definirse como:

- Un constituyente de la fase sólida del suelo, formado por biomoléculas (compuestos de estructura molecular específica) y por sustancias húmicas (compuestos de estructura no específica).
- Su color es oscuro

Las sustancias húmicas proceden de:

- ◆ Degradación química y biológica de residuos y restos de plantas y animales.
- ◆ De actividades de síntesis llevadas a cabo por los microorganismos del suelo.

La descomposición de la materia orgánica no humificada (restos de plantas y animales) o de productos bioquímicos de síntesis incorporados al suelo hace que de un 60 – 80% de carbono orgánico sea devuelto a la atmósfera como CO<sub>2</sub>, tras una mineralización rápida que puede tener lugar en un año.

La mineralización consiste en la transformación de un elemento desde una forma orgánica a una inorgánica, como resultado de la actividad de los microorganismos (figura, 9).

El Carbono orgánico no mineralizado en forma rápida sigue un proceso de oxidación mucho mas lento y tras profundas transformaciones, pasa a formar parte de la biomasa microbiana o queda relativamente estabilizado como sustancias húmicas.

El proceso de humificación implica cambios en la complejidad química de la materia orgánica que hace aumentar su resistencia a la biodegradación (Tate, 1987). Existen procesos de humificación directa, de compuestos orgánicos sencillos a sustancias húmicas y de humificación lenta, de biomasa microbiana a sustancias húmicas.

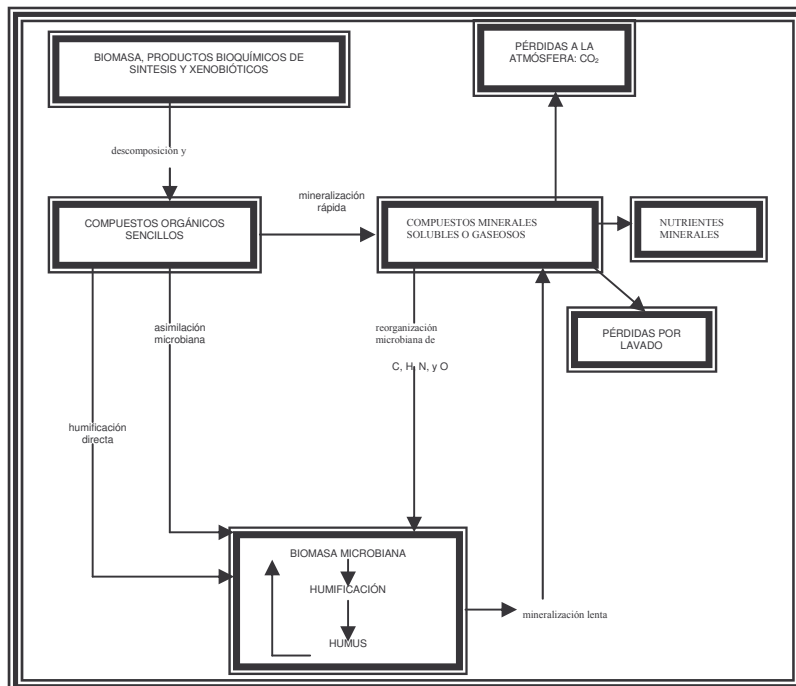


Figura 9. El modelo conceptual de los procesos que siguen los materiales orgánicos desde su incorporación al suelo y de las interrelaciones que se producen (Tate, 1987).

El producto final en ambos casos son los ácidos fúlvicos, ácidos húmicos y las huminas, cuyas proporciones relativas dependerán de factores internos: composición química de los materiales aportados y de factores externos o características ecológicas del medio:

- Tipo, cantidad y actividad de microorganismos.
- Textura.
- pH.
- Humedad relativa.
- Régimen de temperatura.
- Régimen de humedad.
- Alternancia desecación/humectación.
- Manejo del suelo.

#### *Propiedades químicas generales de las sustancias húmicas.*

Las propiedades químicas de los ácidos húmico y fúlvico en la terminología clásica, el *ácido húmico* es el material que puede extraerse del suelo por soluciones alcalinas y precipitarse por subsecuente acidificación. El *ácido fúlvico* es el material soluble en álcali que permanece en solución. Los científicos alemanes hacen una clasificación del ácido húmico en dos grupos llamados *Braunhuminsäure* (coagulado con electrolitos bajo condiciones alcalinas) y *Graunhuminsäure* (no coagulado por electrolitos) (Kononova 1967).

La capacidad de los ácidos húmicos y fúlvicos de formar complejos estables con iones metálicos se debe, indudablemente, a su elevado contenido de grupos funcionales que presentan oxígeno, incluyendo COOH y

grupos fenólicos, alcohólicos y enólicos-OH, y estructuras C=O de varios tipos. Los grupos amino e imino también pueden estar involucrados (Stevenson et al., 1983).

Se han realizado numerosos intentos por elucidar las fórmulas estructurales de los ácidos húmicos y fúlvicos pero, como puntualizaron (Dubach y Mehta, 1963), no existen dos moléculas de “humus” que presenten una estructura idéntica precisa. Para el ácido húmico, algunos investigadores contemporáneos están de acuerdo con la teoría del tipo de molécula consistente en micelas de naturaleza polimérica, la estructura básica es un anillo aromático del tipo di o trihidroxifenol unido por puentes – O- , -NH-, -N=, -S-, y otros grupos, conteniendo además grupos OH libres y dobles enlaces de quinonas. El color oscuro típico de los ácidos húmicos y su capacidad de formar complejos estables con metales, es consistente con este concepto. En el estado natural, la molécula puede contener residuos de proteínas y carbohidratos unidos, los cuales también forman complejos estables con metales.

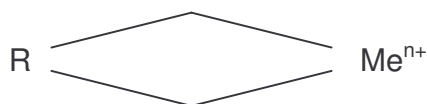
Es evidente de lo anteriormente mencionado que los ácidos húmicos y fúlvicos pueden ligar iones metálicos a través de fuerzas electrostáticas (atracción de un ion metálico cargado positivamente a un grupo COOH ionizado) y compartiendo pares de electrones (formación de enlaces covalentes). Quiere decir entonces, que los iones de metales en la fase de solución del suelo, están presentes principalmente como complejos metal -

materia orgánica (Hodgson *et al.*, 1965, 1966; Geering y Hodgson, 1969; Geering, Hodgson y Sdano, 1969), citados por Stevenson *et al.* (1983) (Figura,10).

La expresión complejo órgano-mineral describe el resultado de una reacción (complexación) entre un anión complexante orgánico y un elemento mineral del suelo (ion, por ejemplo):



El anión complexante se suele denominar ligando. En aquellos casos en que dos o más grupos funcionales de un mismo ligando se unen con un ion metálico en un complejo, éste se denomina quelato (Sposito, 1989). Un quelato puede formularse a nivel general:



Cuadro 2. La composición elemental media y los grupos funcionales de un modelo de ácidos húmicos (AH) y fúlvicos (AF) (Schnitzer, 1977) es:

Elementos	AH	AF
C	56.2	45.7
H	4.7	5.4
N	3.2	2.1
S	0.8	1.9
O	35.5	44.8
GRUPOS FUNCIONALES (meq/g)		
Acidez total	6.7	10.3
Carboxílico (COOH)	3.6	8.2
Fenólico (OH)	3.9	3.0
Alcohólico (OH)	2.6	6.1

Quinónico (C=O) y Cetónico (C=O)	2.9	2.7
Metoxílico (OCH <sub>3</sub> )	0.6	0.8
E <sub>4</sub> / E <sub>6</sub>	4.8	9.6

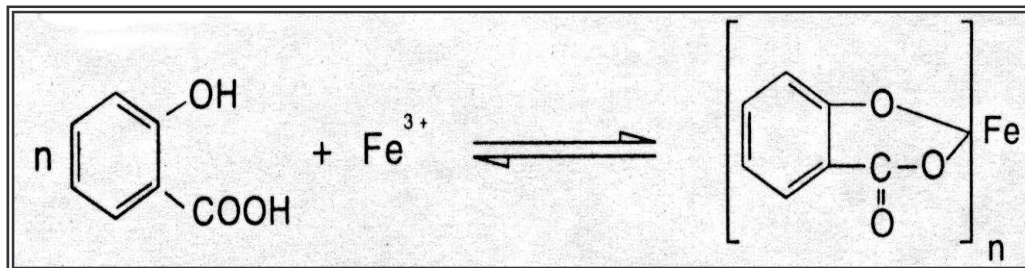


Figura 10. Unión hidroxilfenólico-ión (Fe) se produce un quelato.

La estabilidad de un complejo depende del tipo de enlace entre la fracción orgánica y la mineral. Se pueden dar diferentes tipos de enlaces, los más importantes por orden son:

- De tipo iónico por atracción electrostática debida a fuerzas de Coulomb: complejos estables.
- Dipolares por efecto de fuerzas de van der Waals: complejos metaestables.
- Coordinados por puentes de hidrógeno: complejos inestables.

**Las características importantes de los complejos organo-metálicos son:**

- Estabilidad variable.
- Solubilidad: depende de la carga mineral, pH, nivel y tipo de materia orgánica.
- Tamaño relativamente pequeño.
- Unión: formación de un quelato con Fe, Al (o Zn, Mn, Cu, Ni, generalmente aportados por vertidos).
- Importante en procesos de translocación, así como de inmovilización de metales tóxicos procedentes de vertidos, fangos de depuradora, etc.



- Finalmente, debe mencionarse la capacidad de los ácidos húmicos de reducir formas oxidadas de ciertos iones metálicos, por ejemplo en la adición al sistema  $\text{Fe}^{3+} \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$ , (Szilágyi, 1971).

La materia orgánica no es una entidad sencilla. Su complejidad explica el interés en fraccionarla, para poder estudiar partes más homogéneas, si bien con ello quizá solo se llegue a tener un reflejo de lo que debe ser el todo.

### **Importancia de los agentes quelatantes en la nutrición vegetal.**

Los micronutrientes catiónicos como fierro y en menor grado, el Zinc, manganeso y cobre, son relativamente insolubles en soluciones nutritivas si se suministran como sales inorgánicas comunes, y también lo son en la mayoría de los suelos. Esta insolubilidad es muy marcada si el pH es mayor de 5, como ocurre en casi todos los suelos del oeste de los Estados Unidos, México y muchas otras regiones con baja precipitación. En estas condiciones, los micronutrientes catiónicos reaccionan con iones hidroxilo hasta que se forma un precipitado de óxido metálico hidratado insoluble. En la reacción siguiente, se muestra un ejemplo en que la forma férrica del fierro precipita un óxido de color café-rojizo (oxidado) (Salisbury et al., 1994):



A causa de ésta y otras reacciones que contribuyen a su insolubilidad, estos micronutrientes deben ser mantenidos en solución por otros agentes. Un tipo importante de agente es el denominado ligando (o agente

quelatante). La reacción entre un ion metálico divalente o trivalente y un ligando da por resultado un quelato (de la palabra griega que significa “semejante a un garfio”).

Un quelato es el producto soluble que se forma cuando ciertos átomos de un ligando orgánico ceden electrones al catión. Los grupos carboxilo, de carga negativa, así como los átomos de nitrógeno, poseen electrones que pueden compartirse de esta forma (Salisbury et al., 1994).

### **Estrategias utilizadas en la corrección de la clorosis férrica.**

Existen numerosas recomendaciones, para el control de la clorosis férrica, de las cuales se mencionan a continuación las más efectivas, junto con un breve análisis de sus ventajas y desventajas.

Durante más de 50 años, muchas investigaciones han pretendido determinar los métodos más eficaces y económicos para corregir la clorosis férrica. Muchas fuentes de fierro y métodos de aplicación han sido probados durante años, sin embargo todavía no se ha encontrado la tecnología que sea completamente efectiva y económica Hagstrom (1984) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Fuentes de hierro usadas como fertilizantes Hagstrom (1984).

<b>FUENTE</b>	<b>FORMULA</b>	<b>% Fe</b>
Sulfato ferroso	FeSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O	20
Sulfato férrico	Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> •4H <sub>2</sub> O	23
Sulfato ferroso amónico	FeSO <sub>4</sub> (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> •6H <sub>2</sub> O	14
Quelatos de hierro	FeEDTA	5-14
	FeHEDTA	5-12
	FeDTPA	10
	FeEDDHA	6
	FeEDDHMA	6
Lignosulfatos de hierro		4-8
Fenoles (Fe)		6-8
Poliflavoides (Fe)		9-11

### **Compuestos inorgánicos de hierro.**

La fuente inorgánica más común para controlar la clorosis férrica es el sulfato ferroso (FeSO<sub>4</sub>) para las aplicaciones al suelo de hierro inorgánico sean eficaces es necesario aplicar grandes cantidades (Mortvedt, 1991). Así, para lograr los máximos rendimientos en sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) es necesario aplicar entre 200 Kg./ha y 560 Kg./ha (Kannan, 1984). Las fuentes de hierro inorgánicas son transformadas de manera rápida a formas no asimilables por la planta, sobre todo en suelos calizos. Las aplicaciones de hierro en banda son más eficaces que las aplicaciones a toda la superficie ya que el contacto fertilizante-suelo está mas limitado con la aplicación en banda (Mortvedt, 1986). Para evitar esta conversión, se usan algunos métodos en los que se aplica ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al suelo, sulfato ferroso (FeSO<sub>4</sub>) con residuos orgánicos y/o fertilizantes ácidos (Mortvedt, 1991).

### **Compuestos orgánicos.**

La aplicación al suelo de residuos orgánicos enriquecidos con hierro ha sido evaluada como una medida de corrección de la clorosis férrica para muchas especies vegetales. Mostaghimi et al. (1988) pulverizó  $\text{FeSO}_4$  sobre numerosas especies vegetales las cuales posteriormente fueron cosechadas y secadas. La siguiente primavera estos materiales vegetales enriquecidos con hierro fueron incorporados a suelos con deficiencia férrica en proporciones de 29 Ton/ha de forma previa al momento de la plantación. La clorosis férrica disminuyó, especialmente con la aplicación de *Helianthus annuus* L. y *Amaranthus hybridus* L. enriquecidos con hierro en suelos calizos. Parsa et al. (1979) encontraron que residuos orgánicos de algunas especies vegetales aplicados al suelo fueron eficaces para suministrar hierro a plantas de sorgo cuando se aplicaban 30 Ton/ha.

Parsa et al. (1979) encontraron que la aplicación de altos niveles de lodos de depuradora de estiércol (30 ton/ha) podrían corregir la clorosis inducida por carbonatos en sorgo.

Según Wallace (1991) existen tres procedimientos mediante los cuales los materiales orgánicos pueden contribuir a prevenir o corregir la clorosis férrica:

1. Consideremos la posibilidad quelatante de la materia orgánica. El hierro como sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4$ ) puede ser añadido al material orgánico,

formándose quelatos férricos lo suficientemente estables para mantener el hierro en disolución. En sus estudios la materia orgánica enriquecida con hierro disminuyó los efectos de la clorosis férrica, sin embargo la aplicación del mismo material orgánico sin hierro incrementó los efectos de la clorosis inducida por carbonatos.

2. Los compuestos orgánicos pueden actuar como un transportador de hierro, manteniéndolo en una forma intercambiable. Las raíces crecen libremente hacia la matriz orgánica donde absorben el hierro necesario (Chen et al., 1982; Horesh et al., 1986).
3. La materia orgánica tiene carácter acidificante, lo que facilita la solubilización de hierro (Wallace, 1988). Para evitar la inactivación de las formas de hierro en suelos con alto contenido de carbonato, la materia orgánica tiene que ser aplicada en grandes cantidades.

### **Enmiendas acidificantes del suelo.**

La aplicación de ácidos minerales puede ser un procedimiento eficaz para prevenir o corregir la clorosis inducida por caliza en cultivos desarrollados en riego por goteo. Janjic et al., (1987) corrigieron la clorosis en perales con una mezcla de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ), cloruro de potasio (KCl), y ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) aplicados con sistemas de riego por goteo.

Los fertilizantes tipo ácido son productos comerciales relativamente nuevos que se obtienen mezclando soluciones de urea con ácido fosfórico

( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) y/o ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) Los productos resultantes tienen distintas propiedades de los componentes por separado. Por ejemplo, la urea- $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Urea ácida) no es tan corrosivo como el  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sólo. Debido a su alta acidez, estos fertilizantes pueden solubilizar o transportar micronutrientes del suelo (Mortvedt, 1991).

El uso de urea ácida o urea- $\text{H}_3\text{PO}_4$  (urea fosfato) en riego por goteo ha demostrado que solubiliza fósforo, hierro, manganeso en suelos calizos. Altas concentraciones de hierro y manganeso en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fueron encontradas cuando se aplicó urea ácida, aunque los rendimientos en materia seca no se vieron incrementados (Mikkelsen et al., 1987).

#### **Quelatos de hierro sintéticos.**

La deficiencia de hierro, caracterizada por la falta de clorofila (clorosis), es un problema muy difundido en el ámbito mundial en suelos calcáreos y con frecuencia este problema se resuelve o reduce agregando hierro al suelo o a las hojas en forma de un quelato comercial denominado Fe-EDDHA—ácido FE-etilendiamino di(o-hidroxifenil) acético—y que se vende bajo el nombre comercial de Sequestrene Fe-138 o Sprint 138. Otro quelato de hierro es el Fe-EDTA, ácido Fe-etilendiaminotetraacético (con el nombre comercial de Versenato), pero este también quelata fuertemente iones  $\text{CA}^+$ , por lo que no es eficaz en suelos calcáreos.

Su aplicación comenzó a mediados del siglo pasado con Carpena et al. (1957). El agente quelatante de uso más común para la obtención de quelatos es el EDTA. Sin embargo en el caso concreto del Fe-EDTA, solo es estable en condiciones ácidas, por lo que fue necesario diseñar nuevos quelatos de fierro con diferentes ligandos que permitieran su uso en condiciones neutras o alcalinas; por lo general se trata de ácidos poliaminocarboxílicos:

EDTA  $\longrightarrow$  Ácido etilendiaminotetraacético.

DTPA  $\longrightarrow$  Ácido etilentriaminopentaacético.

EDDHA  $\longrightarrow$  Ácido etilendiamino-di-(o-hidroxifenilacético).

EDDHMA  $\longrightarrow$  Ácido etilendiamino-di-(o-hidroxi-p-metilfenilacético).

El Fe-DTPA y el Fe-HEDTA son estables tanto en condiciones ácidas como neutras, mientras que el Fe-EDDHA y el Fe-EDDHMA son estables en condiciones ácidas, neutras y alcalinas (Figura, 11).

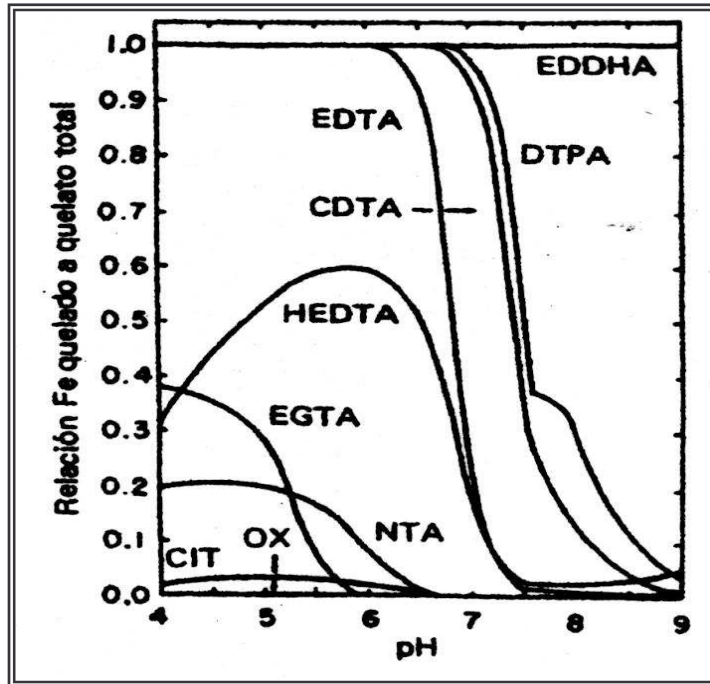


Figura 11. Gráfica de estabilidad de 9 agentes quelatantes bajo diferentes niveles de pH. (Norvell, 1983).

Las constantes de estabilidad ( $\log K$ ) de los quelatos que se forman entre el hierro y los agentes quelatantes son según Lindsay et al., 1982 y Ahrlund et al., 1990: 26,5 (Fe-EDTA), 29,2 (Fe-DTPA), 35,3 (Fe-HEDTA), 37,9 (Fe-EDDHA) y 37,9 (Fe-EDTA) en sorgo cultivados en suelos calizos; la deficiencia de hierro en el suelo disminuyó en este orden FeEDDHA > FeDTPA > FeEDTA. Estos resultados probaron la disponibilidad de hierro basada en la estabilidad de estos quelatos, disminuyendo la eficacia conforme disminuye el  $\log K$  de los quelatos.

El quelato sintético Fe-EDDHA ha sido el más eficaz para la corrección de la clorosis férrica inducida por carbonatos durante más de 30 años (Wallace, 1983). Sin embargo, uno de los mayores problemas es su excesivo costo para un uso general.



Los productos que se declaren como quelatos deben ser productos solubles en agua obtenidos por combinación química de fierro con un agente quelatante, han de presentar un mínimo de un 5% de fierro soluble en agua y al menos 8/10 partes del contenido de fierro declarado debe estar en forma quelatada, es decir, han de tener como mínimo un 4% de fierro quelatado, y ha de especificarse el tipo de agente quelatante de entre la lista de los autorizados que son ácidos o sales de sodio, potasio o amonio de EDDHA, EDTA, DTPA, HEDTA, EDDHMA, EDDCHA.

### **Establecimiento de cultivos Intercalados.**

Otra alternativa para corregir la deficiencia de fierro es cultivar conjuntamente dos especies que responden de distinta manera a la clorosis férrica. Por lo general, se utiliza una especie vegetal de estrategia II, que se caracteriza por una mayor eficacia en la absorción de fierro, que se cultivará junto a una especie de estrategia I que suele acusar de manera más intensa los efectos de la clorosis (Zuo et al., 2000). Los resultados obtenidos intercalando plantas de Maíz (estrategia II) con plantas de cacahuate (estrategia I), mejoran la nutrición férrica y el contenido de clorofila. Los autores sugirieron que esta mejora era causada por las interacciones en la rizosfera entre las plantas. Römheld et al. (1987) observaron que las plantas de sorgo (estrategia I) absorbían el fierro y lo utilizaba de manera más eficaz cuando se cultivaba mezclado con la cebada (estrategia II).

### **Aspersiones foliares de soluciones férricas.**

Tiene una excelente rapidez de respuesta a la formación de clorofila en las hojas cloróticas Wallíhan (1966) y Tiffin (1983). Sin embargo, ésta puede entrar en áreas pequeñas, dando una apariencia verde manchada, a la hoja parcialmente recuperada. En tales casos es necesaria una mayor cobertura del follaje existente y aspersiones repetidas para exponer las hojas nuevas, ya que la movilización del fierro absorbido por la planta hacia los nuevos brotes es mínima.

### **Inyecciones de sales y soluciones de fierro en ramas y tallos.**

Esta práctica ha sido más efectiva que el método anteriormente mencionado, pero los costos elevados y los posibles riesgos debido a daños causados por la sal y el propiciar infecciones, han limitado su uso, Wallíhan (1966) y Tiffín (1983).

### **Corrección de clorosis férrica empleada en vid.**

Para corregir la clorosis férrica en vid, se recomienda aplicar al suelo de 20 a 35 gr. De Sequestrene Fe 138, por parra en la zona radical. Este tratamiento corrigió completamente esta deficiencia por un periodo de dos años y se sugiere dos formas de aplicación (SARH, 1983):

### **Aplicación de quelatos en cajete.**

Se mezclan 20 a 25 gr. del producto en 15 a 20 litros de agua y se vierte la suspensión en un cajete alrededor del tallo, tapándose inmediatamente después y se sugiere este método cuando se presentan manchones aislados.

### **Aplicación de quelatos en banda.**

Se realiza una zanja ubicada en la máxima cantidad de raíces. Se requiere para su aplicación un tractor, un tanque con capacidad de 400 a 600 litros dotado de un buen sistema de agitación y un regulador de flujos. Se calibra el equipo para aplicar 20-25 gr. de producto por planta. Después de la aplicación se cubre la zanja con un paso de rastra. La aplicación en banda es mas rápida y "económica que la de cajete. Este método se recomienda cuando la deficiencia esta presente en todo el viñedo.

Aplicación en polvo: cuando no se dispone de equipo para aplicar en forma líquido, se colocan los 20-25 gr. del producto directamente en la zanja y se tapa posteriormente.

En los tres casos se recomienda aplicar un riego inmediatamente después de la aplicación del quelato para acelerar su distribución en la zona radicular y la absorción del producto en la planta.

### **Aspersiones de productos sintéticos al follaje.**

Para corregir la deficiencia de hierro, por medio de aplicaciones al follaje, se recomienda cualquiera de los siguientes productos:

- a) Sequestrene Fe 138; 600 gr. en 100 litros de agua.
- b) Sequestrene Fe 330; 600 gr. en 100 litros de agua.
- c) Sulfato ferroso 330 gr. mas ácido cítrico 50 gr. mas adherente dispersante en 100 litros de agua.
- d) Rayplex Fe; 600 gr. en 100 litros de agua.

Esta forma de control es también efectiva cuando la clorosis es leve o se presenta en forma temporal (aparece y desaparece en el transcurso del mismo ciclo vegetativo) (SARH, 1983).

Las aplicaciones deben ser lo mas temprano posible (durante la primavera) evitando las aplicaciones durante la floración. Se debe dar un mínimo de 3 aplicaciones con intervalos de 5 a 7 días entre cada una de ellas, se debe de mojar perfectamente en el follaje (SARH, 1983).

El efecto de las aplicaciones foliares es mas rápido, pero menos duradero que el de las aplicaciones al suelo, por lo que en casos críticos, además de las aplicaciones al suelo se puede complementar con aplicaciones foliares (SARH, 1983).

## MATERIALES Y METODOS.

### Descripción geográfica del sitio experimental.

El presente trabajo, se llevó acabo en la Región Lagunera, específicamente en la p.p. "Tierra Blanca", la cual se localiza en el municipio de Matamoros, Coahuila, ubicado geográficamente en el paralelos  $25^{\circ} 25' 21''$  de latitud norte y el meridiano  $103^{\circ} 18' 58''$  de longitud oeste, con una altura de 1131 metros sobre el nivel del mar (figura 12).



Figura 12.- Ubicación del sitio donde se realizó el experimento p.p. "Tierra Blanca", mediante imagen satelital (Google Earth, 2006).

### Características del clima.

El clima clasificado como muy seco, con deficiencias de lluvia durante todo el año, la cual registra un promedio de 242 mm., concentrados durante los meses de mayo hasta septiembre, con una acumulación de grados calor promedio de 3,051 °C, ubicada dentro de las regiones productoras de uva según la clasificación de California en la región 5 (mas de 2,205 °C) con una temperatura media anual de 26°C donde los meses más calientes son desde mayo hasta agosto y los mas fríos de diciembre a febrero.

### Condiciones de suelo.

Las condiciones fisicoquímicas encontradas en suelo del área del experimento, presentan características propicias para provocar la insolubilidad del fierro como nutrimento para las plantas (cuadro, 4) (Berner, 1969).

Cuadro 4. Condiciones fisicoquímicas de suelo, prevalecientes en el lugar donde se llevó acabo el experimento.

Condición	Profundidad			
	0-30	30-60	60-90	90-120
Profundidad	0-30	30-60	60-90	90-120
pH	8.80	8.70	8.69	8.72
Materia orgánica	1.65	1.07	0.80	0.75
Carbonatos totales (%)	21.3	18.0	12.4	15.9
C. E. (mmhos/cm <sup>2</sup> )	1.29	1.26	1.20	1.23

### Unidad experimental.

La investigación se realizó en una plantación de vid (*Vitis vinifera* L.) de la variedad "Málaga roja", establecidos a una densidad de plantación de 1500

plantas/Ha. con una distancia entre hileras de 3.3 m. y 2 m. entre plantas, con sistema de plantación de cordón bilateral con espaldera de tipo “pérgola inclinada” (triangular) y sistema de riego por goteo superficial, considerando como unidad experimental tres plantas con evidente manifestación de clorosis férrica en el follaje.

### **Características de la variedad “Málaga Roja.**

Es una variedad muy solicitada para consumo en fresco. Inicia su brotación en la tercera a cuarta semana de marzo y su floración se presenta la tercera semana de abril. Su época de cosecha se inicia a partir de la primera y segunda semana de agosto, con un rendimiento promedio de 11.4 ton/ha (SARH, 1993).

### **Tratamientos.**

Se evaluaron dos productos, representados por el quelato de fierro (Fe-EDDHA) de nombre comercial “Sprint 138” con una concentración al 6% de fierro, y una mezcla de ácidos húmicos “Humiplex 50 G” mas sulfato ferroso en proporción 1:1, con dos diferentes dosis:

Producto	Tratamiento
Fe-EDDHA	Testigo
	10 gr.
Ac. Húmicos + FeSO <sub>4</sub> •5H <sub>2</sub> O	20 gr.
	Testigo
	300 gr.
	600 gr.

La aplicación de los tratamientos, se realizó a doble banda, en dirección paralela a la hilera de plantación, a una distancia del tallo de 10 cm., y una

longitud de la zanja de 1 m. con 5 cm de profundidad, procediendo a tapar la zanja después de la aplicación.

El material aplicado se ubicó en el bulbo de humedad del sistema de riego de la huerta, el cual consistía en goteo superficial.

### **Época de aplicación.**

La primera fecha de aplicación de tratamientos, fue el día 24 de abril de 1998, época en que según el proceso de desarrollo de la planta, se encuentra en inicio de floración, la segunda fecha de aplicación, se realizó el día 26 mayo de 1998, etapa en que se presenta el inicio de crecimiento del fruto (SARH, 1993).

### **Muestras de suelo.**

Se realizaron tres muestreos, distribuidos dentro del área del experimento, a profundidades de 0-30, 30-60, 60-90 y 90-120 cm, con la finalidad de obtener una muestra compuesta de cada profundidad y proceder a realizar una caracterización físico química de cada estrato mediante análisis de laboratorio, utilizando para pH el método de relación 1:2 con H<sub>2</sub>O, (Jackson, 1964); para determinación de materia orgánica, la metodología de Walkley y Black (Jackson, 1964); y para la concentración de carbonatos de calcio, se utilizó el método para carbonatos alcalinotérreos (Chapman, 1981).



### **Método de muestreo foliar.**

Las hojas que se consideraron para el muestreo, fueron las encontradas en el cuarto, octavo y doceavo nudo en cada brote de la planta muestreada, colocándose en bolsas previamente identificadas el pecíolo y lamina foliar juntos, luego se sometieron a lavar con agua corriente hasta en tres ocasiones para posteriormente colocarlas en bolsas de papel canela perforadas e identificadas, para proceder a secarlas a temperatura ambiente.

El molido de la muestra, se realizó en un molino eléctrico, diseñado para realizar análisis bromatológicos, el cual era desarmado y limpiado después de moler cada una de las muestras compuestas de cada tratamiento, con la finalidad de no contaminar el resto del tejido, colocando la muestra molida en bolsas de plástico previamente identificadas.

### **Fechas de muestreo foliar.**

Aquí se consideraron dos fechas de muestreo para cada una de las fechas de aplicación de los tratamientos quedando distribuidos de la siguiente forma:

Para la primer fecha de aplicación, la primer fecha de muestreo se realizó el día 23 de Mayo de 1998 y el segundo el 20 de Junio de 1998.

Para la segunda fecha de aplicación, el primer muestreo se llevó acabo el día 25 de Abril de 1998 y el segundo el 20 de Junio de 1999.

### **Fechas de aplicación de tratamientos.**

La aplicación de tratamientos se llevaron acabo en dos fechas, la primera fue el día 24/04/98 y la segunda el 26/05/99.

### **Determinación de fierro, cobre, manganeso y zinc.**

Para determinar la concentración de los micronutrientes, se empleó la metodología de solubilización por medio de digestión con ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) y ácido perclórico ( $\text{HClO}_4$ ) en relación 2:1, para lo cual se utilizó 0.5 gr. de muestra vegetal, colocándola en un matraz Erlen Meyer de 50 ml. añadiendo 10 ml. de la mezcla de ácido nítrico y perclórico (2:1), se realizó una pre-digestión por 12 horas, corriendo blancos de reactivos. Realizando luego la digestión colocando los tubos, en una unidad digestora a  $150^\circ\text{C}$  hasta obtener una muestra cristalina, una vez obtenida, se aforo con agua destilada, de donde se extrajo 10 ml y se colocaron en tubos de ensaye cerrándolos herméticamente.

La determinación de éstos elementos, se realizó en el espectrofotómetro de absorción atómica, tomando la lectura directa de la muestra, haciendo diluciones sólo en aquellas que no estuvieron dentro de la curva de calibración del aparato (Allan, 1971).

### **Determinación de fósforo.**

Para determinar el fósforo, se pipetea una alícuota de 0.3 Mg. de P, se toman 2 ml y se colocan en un matraz aforado de 50 ml, se adiciona agua

destilada hasta tener aproximadamente 40 ml. Se adicionan 7.5 ml de reactivo vanadomolibdico, se aforo con agua y se agita. Se esperan 20 minutos y se lee la absorción de luz por el complejo fosfovanadomolibdico a 470 nm. Se prepara la curva de calibración y se procede a leer las muestras, calibrando el blanco cada dos lecturas (Allan, 1971).

### **Diseño experimental.**

El diseño experimental utilizado fue en bloques al azar, con un arreglo en parcelas subdivididas, con dos fechas de aplicación, dos productos y seis repeticiones.

### **Análisis de resultados.**

La información de resultados se proceso utilizando el programa de computo SAS (Statistical Analysis System) y se procesaron pruebas de comparación de medias con Diferencia Mínima Significativa (DMS) a un nivel de probabilidad de 0.05 y 0.01.

### **Variables a evaluar.**

Concentración de fierro, cobre, zinc y manganeso en tejido vegetal.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Productos

En concentración de fierro en tejido vegetal, no se encontró diferencia estadísticamente significativa para fierro, cobre, manganeso y zinc, sin embargo se observó una tendencia interesante referente a la concentración de fierro, inducido con la aplicación de ácidos húmicos mas sulfato ferroso, ya que tuvo un comportamiento superior al quelato comercial hecho a base de Fe-EDDHA, que participa en el mercado agrícola hace más de 30 años (Wallace, 1983), y el cual ha demostrando ser hasta el día de hoy, la mejor opción en cuanto a la corrección de clorosis férrica en suelos con un pH alcalino (figuras 13 y 14 ).

La combinación de ácidos húmicos y sulfato ferroso, fue superior al producto quelatado con Fe-EDDHA, lo anterior fortalece la teoría que el efecto quelatante de las sustancias orgánicas tiene una estabilidad equiparable bajo diferentes condiciones de pH que el mejor quelato de origen sintético (Wallace, 1991).

El resto de los productos cobre, manganeso y zinc, tampoco tuvieron efectos estadísticos significativos.

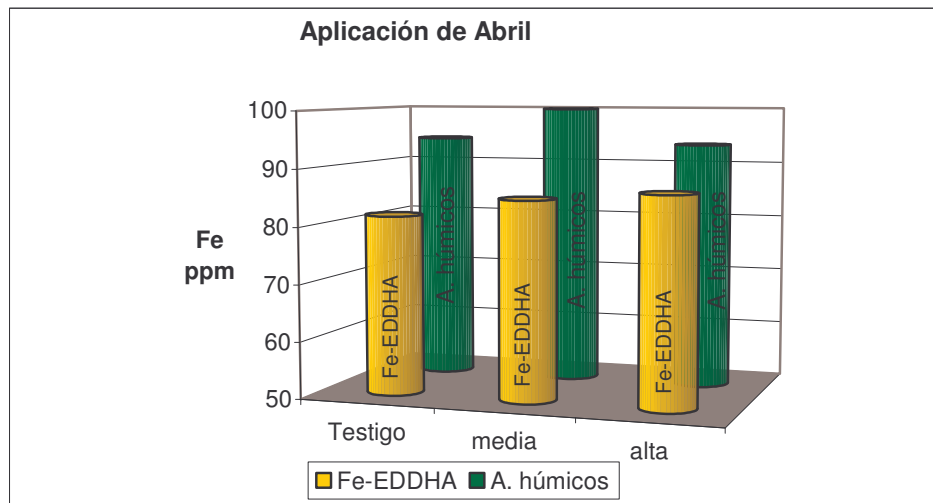


Figura 13.- Tendencia de la concentración de fierro, para los productos aplicados el mes de Abril en vid “Málaga Roja”.

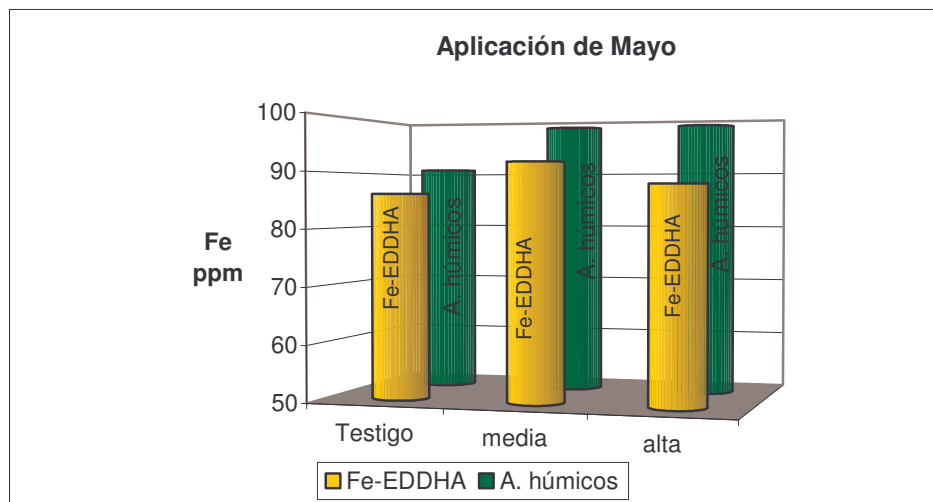


Figura 14.- Tendencia de la concentración de fierro, para los productos aplicados el mes de Mayo en vid “Málaga Roja”.

Los gráficos de la parte superior muestran la tendencia obtenida en cuanto a concentración de fierro en el follaje de vid “Málaga Roja”, con aplicaciones en Abril y Mayo de 1998, y con un análisis foliar en Abril y Mayo de 1999 (12 meses después de cada tratamiento).

## Dosis

El análisis de varianza para el efecto en la concentración de hierro, no tuvo diferencia estadística significativa, incluso se pudo observar que la concentración de este elemento estaba en el rango de suficiencia para el tratamiento testigo, lo anterior es un fenómeno conocido como “chlorosis páradox” (Römheld, 1997), lo anterior demuestra que la clorosis férrica observada en el sitio experimental, no es inducida por deficiencia del elemento en el follaje, sino por la acción de un agente antagónico al interior de la planta (Gray et al., 1974), esa inactivación también puede ser inducida por una alcalinización del apoplasto, que perjudican la reducción de  $Fe^{3+}$  (Kosegarten et al, 1999).

El efecto observado para la dosis media de ácidos húmicos mas sulfato ferroso (300 gr./planta), fue superior a la dosis alta de quelato de fierro (20 gr./planta) (figura, 15), lo que en términos económicos representa un ahorro importante para el agricultor, ya que la corrección de la clorosis férrica en la agricultura, es uno de los problemas nutricionales mas costosos y complejos de corregir, y los resultados obtenidos en este trabajo, representan una alternativa económica y eficaz para este problema específico.

Haciendo un pequeño análisis económico, tenemos que para el caso de los ácidos húmicos y sulfato ferroso, en una dosis de 300 gr./planta, éste representa un costo de \$2.80 pesos, contra los \$5.80 pesos que representa aplicar 20 gr./planta de quelatos de fierro Fe-EDDHA .

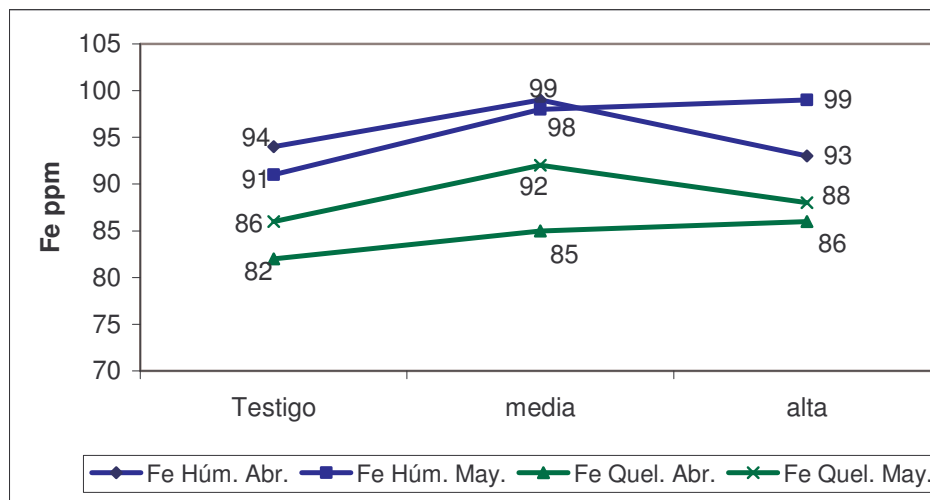


Figura 15.- Concentración de hierro en follaje de vid “Malaga Roja”, con la aplicación de diferentes dosis.

### Fechas de Aplicación

El análisis estadístico de fechas para los elementos fierro, presento una diferencia significativa, mostrando una clara tendencia a incrementar la concentración de este elemento con los tratamientos aplicados (figura, 16), de acuerdo al estudio que se realizó al inicio del experimento contra el análisis foliar realizado 12 meses después de la aplicación de tratamientos, esto nos muestra que independientemente de los productos y dosis aplicadas, la tendencia a incrementar la concentración al follaje tuvo un comportamiento similar para las dos fechas de aplicación, sin embargo, es importante señalar que siendo el fierro un elemento importante en el metabolismo de la planta, es mas recomendable hacer su aplicación en las primeras etapas de brotación coincidiendo con la etapa fenológica donde se presenta el mayor desarrollo de raíz, lo cual favorece a la asimilación de los productos aplicados al suelo

durante esta época (Godoy, 1977), asegurando así que todas y cada una de sus fases de crecimiento tengan el suministro suficiente de este elemento a lo largo del ciclo fenológico.

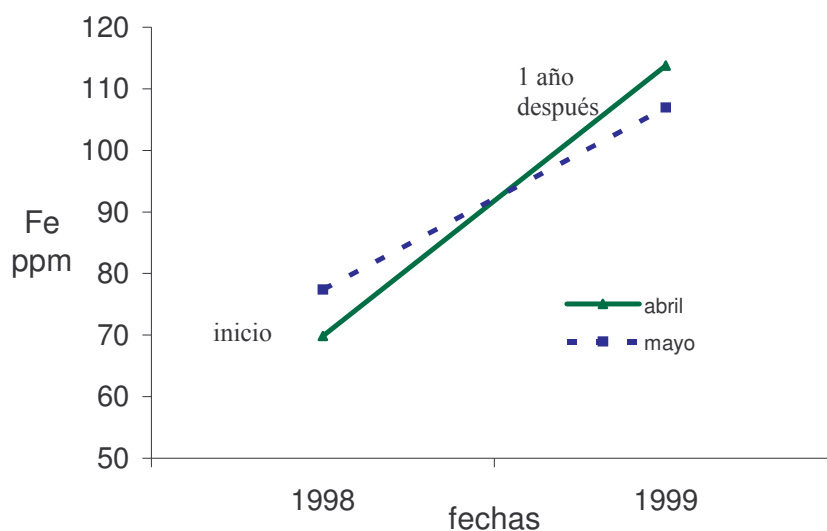


Figura 16. Concentración de fierro en el follaje de vid “Málaga Roja” para fechas (abril y mayo/98), con respecto a fechas de muestreo (1998 y 1999).

### Fecha Vs Producto

El análisis realizado para fierro, no reflejó efectos estadísticos significativos, lo cual nos indica que el efecto de fechas, no fue un factor importante que pudiera afectar la respuesta de los materiales utilizados para incrementar la concentración de dicho elemento en el follaje, si observamos que la concentración de fierro fue mas alta en las dos fechas para el producto de ácidos húmicos con el  $\text{FeSO}_4$ , podemos concluir que dicho



material presenta una gran estabilidad de respuesta para las diferentes fechas de aplicación.

Para los elementos restantes como el manganeso, zinc y fósforo, no se observaron resultados estadístico significativos.

### **Fecha Vs Dosis**

La interacción entre estos factores, no provocó resultados estadísticos significativos para el elemento fierro, lo cual nos indica que la tendencia en cuanto a concentración de este elemento, provocada por las diferentes dosis, no fue afectado por fechas de aplicación. De igual forma para el resto de los elementos cobre, manganeso y zinc

## **CONCLUSIONES**

### **Productos**

- La combinación de ácidos húmicos mas sulfato ferroso, fue mejor al Fe-EDDHA.

### **Dosis**

- La dosis media de ácidos húmicos mas sulfato ferroso (300 gr./planta), fue la que mostró mas eficiencia en el incremento de fierro en el follaje.

### **Fechas de aplicación**

- Se observaron efectos favorables para las dos fechas de aplicación.

## BIBLIOGRAFIA

- AGARWALA, S. C. AND E. J. HEWITT. 1954. MOLIBDENUM AS A PLANT NUTRIENT. IV. THE INTERRELATIONSHIP OF MOLIBDENUM AND NITRATE SUPPLY IN CHLOROPHYLL AND ASCORBIC ACID FRACTIONS IN CAULIFLOWER PLANTS GROWN IN SAND CULTURE. J. HORT. SCI. 29-291.
- AHRLAND, S., DAHLGREN, A., PERSSON, I. 1990. STABILITIES AND HYDROLISIS OF SOME IRON (III) AN MANGANESE (II) COMPLEXES WITH CHELATING LIGANDS. ACTA AGRIC. Scand 40, 101-111.
- ALCÁNTARA, E., ROMERA, F. J., CAÑETE, M., de la GUARDIA, M. 1994. EFFECTS OF HEAVY METALS ON BOTH INDUCTION AND FUNCTION OF ROOT Fe(III) REDUCTASE IN Fe-DEFICIENT CUCUMBER (*Cucumis sativus* L.) PLANTS. JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY. 45: (281): 1893-1898.
- ALLAN, J. E. 1971. THE PREPARATION OF AGRICULTURAL SAMPLES FOR ANALYSIS BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY. VARIAN TECHTRON. WALNUT CREEK, CALIFORNIA.
- ALLOUSH, G. A., LE-BOT, J., SANDERS, F. F., KIRKHY, F. A. 1990. MINERAL NUTRITION OF CHICKPEA PLANTS SUPLPLIED WITH NO<sub>3</sub><sup>-</sup> O NH<sub>4</sub>-N. IONIC BALANCE IN RELATION TO IRON STRESS. JOURNAL PLANT NUTRITION. 13:1575.
- ÁLVAREZ. A. 2000. CALIDAD Y EFICACIA DE QUELATOS FÉRRICOS (Fe-EDDHA, Fe-EDDHMA, Fe-EDDHSA Y Fe-EDDCHA) COMO FERTILIZANTES. TESIS DOCTORAL. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. Pp. 325-327.
- ARNON, D. I. 1959. CHLOROPLASTS AND PHOTOSYNTESIS. IN: PHOTOCHEMICAL APPARATUS-ITS STRUCTURE AND FUNCTION. 11-181.
- AWAD, F., RÖMHELD, V., MARSCHNER, H. 1988. MOBILIZATION OF FERRIC IRON FROM A CALCAREOUS SOIL BY PLANT-BORNE CHELATORS. JOURNAL PLANT NUTRITION. 11:701.
- BATES, G. W. 1982. PARALLELS IN PLANT AND HUMAN IRON NUTRITION. JOURNAL OF PLANT NUTRITION. 5 (4-7): 269-276.
- BELKHODJA, R., MORALES, F., SANZ, M., ABADÍA, A., ABADÍA, J. 1998. IRON DEFICIENCY IN PEACH TREES: EFFECTS ON LEAF CHLOROPHYLL AND NUTRIENT CONCENTRATIONS IN FLOWERS AND LEAVES. PLANT AND SOIL. 203:257-268.

- BERNER, R. A. 1969. IRON CHAPT. 26, SEC. G-L. IN: K.H. WEDEPOHL (ED.) HANDBOOK OF GEOCHEMISTRY, VOL. 11-1- SPRINGER-VERLAG.
- BILDUPH, O. 1953. TRANSLOCATION OF RADIOACTIVE MINERAL NUTRIENTS IN PLANTS. KAN. AGR. EXP. STA. REP. 4, PP 48-58.
- BIENFAIT, H. F. 1985. REGULATED REDOX PROCESSES AT THE PLASMALEMMA OF PLANT ROOT CELLS AND THEIR FINCTION IRON UPTAKE. J. BIOENERG. BIOMEMBER. 17:73-83.
- BROWN, J. C., L. O. TIFFIN, R. S. HOLMES, A. W. SPECH, AND J. W. RESNICKY. 1959. INTERNAL INACTIVATION OF IRON IN SOYBEANS AS AFFECTED BY ROOT GROWTH MEDIUM. SOIL SCIENCE, 87: 89-94.
- BROWN, J. C. Y McDANIEL, M.E. 1978. FACTORS ASSOCIATED WITH DIFFERENTIAL RESPONSE OF OAT CULTIVARS TO IRON STRESS. CROP SCIENCE. 18: 551-556.
- BROWN, J. C. 1961. IRON CHLOROSIS IN PLANTS. ADVANCES IN AGRONOMY. 13:329-369.
- BRÜGGERMANN, W., MAAS-KANTEL, K., MOOG, P. R. 1993. IRON OPTAKE BY LEAF MESOPHYLL CELLS: THE ROLE OF THE PLASMA MEMBRANE-BOUND FERRIC-CHELATE REDUCTASE. PLANT. 190:151-155.
- BUCKHOUT, T. J., BELL, P. F., LUSTER, D. G., CHANEY, R. L. 1989. IRON STRESS-INDUCED REDOX ACTIVITY IN TOMATO (*LYCOPERSICON ESCULENTUM* MILL.) IS LOCALIZED ON THE PLASMA MEMBRANE. PLANT PHYSIOLOGIC. 90:151.
- CARPEÑA, O., SÁNCHEZ, J. A., GUILLÉN, M. G. 1957. LA CLOROSIS FÉRRICA DEL LIMONERO. I. AN. EDAFOL. XVI: 259-272.
- CHAPMAN, H. D. 1981. METODOS DE ANALISIS PARA SUELOS, PLANTAS Y AGUAS, 3<sup>A</sup> REIMPRESION, EDITORIAL TRILLAS, MEXICO 13, DF P 149.
- CHEN, Y. AND P. BARAK. 1982. IRON NUTRITION OF PLANTS IN CALCAREOUS SOILS. ADVANCES IN AGRONOMY. 35: 217-240.
- CLARK, R. B. 1991. IRON: UNLOCKING AGRONOMIC POTENTIAL. SOLUTIONS 35(3): 24-28.
- CORTINAS E., H. M. 1985. DETERMINACION DEL GRADO DE CLOROSIS Y SU RELACIÓN CON CARACTERÍSTICAS AGRONÓMICAS DEL FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) TESIS MC. UAAAN. SALTILLO, COAH.

- COOK A. J. Y D. W. WHEELER. 1978. USE OF TISSUE ANALYSIS IN VITICULTURE. EN SOIL AND PLANT-TISSUE TESTING IN CALIFORNIA. DIVISION OF AGRICULTURAL SCIENCES. UNIVERSITY OF CALIFORNIA. PP 14 Y 15.
- De KOCK, P. C. 1955. IRON NUTRITION OF PLANTS HIGH Ph. SOIL SCIENCE; 79: 167-175.
- DEVLIN, R. M. 1980. FISILOGIA VEGETAL, 3<sup>a</sup> EDICION, EDITORIAL OMEGA, S.A. BARCELONA ESPAÑA. PP 305, 312-315.
- DOCKENDORF, H., HÖFNER, W. 1990. EINFLUSS VON BIKARBONAT AUF DIE SUBZELLULÄRE VERTEILUNG VON BLATT-UND WURZELAPPLIZIERTEM EISE BEI SONNENBLUMEN (*Helianthus annuus* L.). Z. PFLANZENERNÄHR. BODENK. 153:313-317.
- DROILLARD, M. J., PAULIN, A. 1990. ISOENZYMES OF SUPEROXIDE DISMUTASE IN MITOCHONDRIA AND PEROXISOMES ISOLATED FROM PETALS OF CARNATION (*Dianthus caryophyllus*) DURING SENESCENCE. PLANT PHYSIOLOGY 94:1187-1192.
- FUSHIYA, S., SATO, Y., NOZOE, S., NOMOTO, K., TAKEMOTO, T., TAKAGI, S. 1980. AVENIC ACID A, A NEW AMINO ACID POSSESING AN IRON-CHELATING ACTIVITY. TETRAHEDRON, PP 21:3071.
- GALVAN, C.F. 1985. LA DEFICIENCIA FERRICA EN LAS PLANTAS. PUBLICADO POR LA SOCIEDAD MEXICANA DE LA CIENCIA DEL SUELO, DELEGACION LAGUNA PP 3-5.
- GODOY A. C. 1977. EFECTO DEL ABATIMIENTO DE HUMEDAD EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ DE LA VID. MATAMOROS, COAHUILA. MEXICO. SARH, INIA, CIAN. INFORME DE INVESTIGACIÓN AGRÍCOLA.
- GOOGLE EARTH. 2006. <http://earth.google.com/>
- GRAY, C.; ANDERSON, W. B. Y WELCH, C. D. 1974. IRON AND ZINC DEFFICIENCIES IN FIELD CROPS. TEXAS AGRICULTURAL EXTENSION SERVICE. THE TEXAS A AND M UNIVERSITY SYSTEM. L-435.
- HAGSTROM, G. R. 1984. CURRENT MANAGEMENT PRACTICES FOR CORRECTING IRON DEFICIENCY IN PLANTS WITH EMPHASIS ON SOIL MANAGEMENT. J. PLANT NUTRITION. 7:23-46.
- HEWITT, E. J., S. C. AGARWALA, AND E. W. JONES. 1950. EFECT OF MOLIBDENUM STATUS ON THE ASCORBIC ACID CONTENT OF PLANTS IN SAND CULTURE. NATURE 166: 1119.

- INSKEEP, W. P., BLOOM, J. C. 1986. THE CHEMICAL STATUS OF BEAN PLANTS AFFLICTED WITH BICARBONATE-INDUCED CHLOROSIS. BOT. GAZ. 113:373.
- JACKSON, M. L. 1964. ANALISIS QUIMICO DE SUELOS. TRADUCCION AL ESPAÑOL POR J. BELTRAN M. OMEGA, BARCELONA ESPAÑA.
- JANJIC, V., OLAR, P. 1987. EFFECT OF COMPOUNDS FOR TREATMENT OF ALKALINE SOILS ON IRON CHLOROSIS AND GROWTH OF POTTED PEARS. JUGOLS. VOCARSTVO. 21:3-10.
- KANNAN, S. 1969. FACTORS RELATED TO IRON ABSORTION BY ENZYMICALLY ISOLATED LEAF CELLS. PHYSIOLOGY PLANT. 20: 911-919.
- KANNAN, S. AND D. P. PANDEY. 1982. ABSORPTION AND TRANSPORT OF IRON OF SOME CROP CULTIVARS. JOURNAL OF PLANT NUTRITION. 5(4-5): 395-403.
- KANNAN, S. 1984. PROBLEMS OF IRON DEFICIENCY IN DIFFERENT CROP PLANTS IN INDIA: CAUSATIVE FACTORS AND CONTROL MEASURES. J. PLANT NUTRITION. 7:187-200.
- KAWAI, S. SATO, Y., TAKAGI, S., NOMOTO, K. 1987. SEPARATION AND DETERMINATION OF MUGINEIC ACID AND ITS ANALOGUES BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY. J. CHROMATOGR. 391:325.
- KOLESCH, H., OKTAY, M., HÖFNER, W. 1984. EFFECT OF IRON CHLOROSIS INDUCING FACTORS ON THE Ph OF THE CYTOPLASM OF SUNFLOWER (*Helianthus annus*). PLANT SOIL. 82:215-221.
- KONONOVA, M. M. 1967. SOIL ORGANIC MATTER: ITS NATURE, ITS ROLE IN SOIL FORMATION AND IN SOIL FERTILITY. OXFORD, PERGAMON PRESS, PP 544.
- KOSEGARTEN, H., ENGLISCH, G. 1994. EFFECT OF VARIOUS NITROGEN FORMS ON THE Ph IN LEAF APOPLAST AND ON IRON CHLOROSIS OF GLYCINE MAX. BONDENK. 157:401-405.
- KOVANCI, I., HAKERLERLER, H., HÖFNER, W. 1978. BACTERIAL HUMIC-LIKE COMPOUNDS THEIR EFFECT ON PLANTS AND INTERACTION WITH HERBICIDES. STUDIES ABOUT HUMUS. PROC. TRANS. INT. SYMP. HUMUS ET PLANT. VII:444-449.

- KRAMER, 1983. D. GENETICALLY DETERMINED ADAPTATION IN ROOT TO NUTRITIONAL STRESS: CORRELATION OF STRUCTURE AND FUNCTION. PLANT SOIL. 72:167.
- KRAUSKOPF, K. B. 1983. GEOQUIMICA DE LOS MICRONUTRIENTES. EN: MICRONUTRIENTES EN LA AGRICULTURA. EDITADO POR J.J. MORVEDT, 1ª EDICION EN ESPAÑOL. A.G.T. EDITOR. S.A. MEXICO DF. PP 18 Y 23.
- LAGARDA M. A., 1985. GIA TECNICA DEL NOGALERO, EDITADO POR C.I.A.N.-LAGUNA; S.A.R.H. E I.N.I.A. PUBLICACIÓN ESPECIAL NO. 15 P 59.
- LANSBERG, E. C. 1984. REGULATION OF IRON-STRESS RESPONSE BY WHOLE-PLANT ACTIVITY. JOURNAL OF PLANT NUTRITION. 7(1-5): 609-621.
- LEE, J. A., WOOLHOUSE, H. W. 1969. A COMPARATIVE STUDY OF BICARBONATE INHIBITIONS OF ROOT GROWTH IN CALCICOLE AND CALCIFUGE GRASSES. NEW PHYTOL. 68:1-11.
- LINDSAY, W. L. AND A. P. SCHWAB. 1982. THE CHEMISTRY OF IRON IN SOILS AND ITS ABAILABILITY TO PLANTS. JOURNAL OF PLANT NUTRITION. 5(4-7): 821-840.
- LINDSAY, W. L. 1983. EQUILIBRIO DE LA FASE INORGANICA DE LOS MICRONUTRIENTES EN SUELOS. EN: MICRONUTRIENTES EN LA AGRICULTURA. EDITADO POR J.J. MORVEDT, 1ª EDICION EN ESPAÑOL. A.G.T. EDITOR. S.A. MEXICO DF. PP 43 Y 48.
- LINDSAY, W. L. 1984. SOIL AND PLANT RELATIONSHIPS ASSOCIATED WITH IRON DEFICIENCY WITH EMPHASIS ON NUTRIENT INTERACTIONS. J. PLANT NUTRITION. 7:489-500.
- LINDSAY, W. L. 1974. ROL OF CHELATION IN MICRONUTRIENT AVAILABILITY. IN : THE PLANT ROOT AND ITS ENVIROMENT. EDITADO POR E.W. CARSON. UNIVERSITY PRESS OF VIRGINIA. PP 507-524.
- LINDSAY, W. L. AND D.W. THORNE. 1954. BICARBONATE ION AND OXIGEN LEVEL AS RELATED TO CHLOROSIS. SOIL SCI. 77: 345.
- LINDSAY, W. L. 1995. CHEMICAL REACTIONS IN SOILS THAT AFFECT IRON AVAILABILITY TO PLANTS. A QUANTITATIVE APPROACH. IN IRON NUTRITION IN SOILS AND PLANTS. J. ABADÍA (Ed). KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS. THE NETHERLANDS. PP 25-75.

- LOBARTINI, J., ORIOLI, G. 1988. ABSORTION OF IRON HUMATE IN NUTRIENT SOLUTIONS BY PLANTS. PLANT SOIL. 106:153-157.
- LOEPPERT, R. H., WEI, L. C., OCUMPAUGH, R. 1994. SOIL FACTORS INFLUENCING THE MOBILIZATION OF IRON IN CALCAREOUS SOILS. PP 343-360. IN BIOCHEMISTRY OF METAL MICRONUTRIENTS IN THE RHIZOSPHERE. J. A. MANTHEY.
- McCALLISTER, D. J., WIESE, R. A., SOLEMAN, N. J. 1989. EFFECT OF POTASSIUM SLTS ON ALLEVIATION OF LIME-INDUCED CHLOROSIS IN SOYBEAN. J. PLANT NUTRITION. 12:1153.
- MARSCHNER, H., RÖMHELD, V. 1983. *IN VIVO* MEASUREMENT OF ROOT INDUCED pH CHANGES AT THE SOIL-ROOT INTERFACE: EFFECT OF PLANT SPECIES AND NITROGEN SOURCES. Z. PFLANZENPHYSIOL. 111:241.
- MARSCHNER, H. 1986. MINERAL NUTRITION OF PLANTS. INSTITUTE OF PLANT NUTRITION, FEDERAL REPUBLIC OF GERMANY. ACADEMIC PRESS. INC. LONDON L.T.D. PP 276.
- MARSCHNER, H. 1995. MINERAL NUTRITION OF HIGHER PLANTS. 2<sup>nd</sup> EDITION. ACADEMIC PRESS INC. LONDON. PP 313-324.
- MENGEL, K., MALISSIOVAS, N. 1981. PRINCIPLES OF PLANT NUTRITION. 4<sup>th</sup> EDITION. INTERNATIONAL POTASH INSTITUTE. PP 2-12.
- MENGEL, K., SCHERER, H. W. 1984. IRON DISTRIBUTION IN VINE LEAVES WITH  $\text{HCO}_3^-$  INDUCED CHLOROSIS. J. PLANT NUTRITION. 7:715-724.
- MENGEL, K. AND G. GEURTZEN. 1986. IRON CHLOROSIS, A WORLD WIDE PROBLEM. THE RELATION OF CHLOROPHYLL BIOSYNTESIS TO IRON. JOURNAL OF PLANT NUTRITION. 7(1-5): 1-22.
- MENGEL, K. Y E. A. KIRBY. 1987. PRINCIPLES OF PLANT NUTRITION PUBLISHER INTERNATIONAL POTASH INSTITUTE. WORBLEA WORBAUFEN-BERN / SWITZERLAND PP 505-506
- MIKKELSEN, R. L., JARRELL, W. M. 1987. APPLICATION OF UREA PHOSPHATE AND UREA SULFATO TO DRIP-IRRIGATED TOMATOES GROWN IN CALCAREOUS SOIL. SOIL SCI. SOC. AM. J. 51:464-468.
- MOORE, D. P. 1983. MECANISMOS DE CAPTACION DE MICRONUTRIENTES POR LAS PLANTAS. EN: MICRONUTRIENTES EN LA AGRICULTURA. EDITADO POR J.J. MORVEDT, 1<sup>a</sup> EDICION EN ESPAÑOL. A.G.T. EDITOR. S.A. MEXICO DF. PP 204 Y 205.



- MORGHAN, J. T. 1980. DISTRIBUTION OF SELECTED ELEMENTS WITHIN FLAX PLANTS AS AFFECTED BY Fe-EDDHA. PLANT AND SOIL 54: 153-158.
- MORI, S. 1981. A NEW CONTINUOUS FLOW MONITORING SYSTEM FOR RADIOACTIVE AMINO ACIDS. AGRIC. BIOL. CHEM. 45:1881.
- MORI, S., NISHIZAWA, N. 1987. METHIONINE AS A DOMINANT PRECURSOR OF PHYTOSIDEROPHORES IN GRAMINACEOUS PLANTS. PLANT CELL PHYSIOLOGY. 28:1081.
- MORI, S., HACHISUKA, M., KAWAI, S., TAKAGI, S., NISHIZAWA, N. K. 1988. PEPTIDES RELATED TO PHYTOSIDEROPHORE SECRETION BY Fe-DEFICIENT BARLEY ROOTS. J. PLANT NUTRITION. 11:653.
- MORI, S., NISHIZAWA, N. 1989. IDENTIFICATION OF BARLEY CHROMOSOME No 4, POSSIBLE ENCODER OF GENES OF MUGINEIC ACID SYNTHESIS FROM 2'-DEOXYMUGINEIC ACID USING WHEAT-BARLEY ADDITION LINES. PLANT CELL PHYSIOL. 37:149-156.
- MORI, S., NISHIZAWA, N., HAYASHI, H., CHNIO, M., YOSHIMURA, E., ISHIHARA, J. 1991. WHY ARE YOUNG RICE PLANTS HIGHLY SUSCEPTIBLE TO IRON DEFICIENCY? PLANT SOIL. 130:143.
- MORI, S. 1994. MECHANISMS OF IRON ACQUISITION BY GRAMINACEOUS (STRATEGY II) PLANTS. BIOCHEMISTRY OF METAL MICRONUTRIENTS IN THE RHIZOSPHERE. LEWIS PUBLISHERS. PP. 225-249.
- MORTVETD, J. J. 1986. GRAIN SORGHUM RESPONSE TO BANDED ACID-TYPE FERTILIZERS IN IRON-DEFICIENT SOIL. J. PLANT NUTRITION. 11:1297-1310.
- MORTVETD, J. J. 1991. CORRECTING IRON DEFICIENCIES IN ANNUAL AND PERENNIAL PLANTS: PRESENT TECHNOLOGIES AND FUTURE PROSPECTS. IRON NUTRITION AND INTERACTIONS IN PLANTS. Y. CHEN, Y. HADAR. KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS. PP 315-321.
- MOSTAGHIMI, S., MATOCHA, J. E. 1988. EFFECT OF NORMAL AND Fe-TREATED ORGANIC MATTER ON Fe CHLOROSIS AND YIELDS OF GRAIN SORGHUM. COMMUN. SOIL SCI. PLANT. 19:1415-1428.
- NABHAN, H. M., VANDERDELLEN, J., COTTENIE, A. 1977. CHELATE BEHAVIOR IN SALINE-ALKALINE SOIL CONDITIONS. PLANT SOIL. 46:603.

- NELSH, A. C. 1939. STUDIES ON CHLOROPLAST. 11. THEIR CHEMICAL COMPOSITION AND THE DISTRIBUTION OF CERTAIN METABOLITES BETWEEN THE CHLOROPLASTS AND REMAINDER OF THE LEAF. *BIOCHEM. J.* 33: 300.
- NOMOTO, K., YOSHIOKA, H. TAKEMOTO, T., FUSHIYA, S., NOZOE, S., TAKAGI, S. 1979. A NEW AMINO ACID POSSESSING Fe-CHELATING ACTIVITY SECRETED FROM GRASSES. IN 22<sup>nd</sup> SYMP. CHEMISTRY OF NATURAL PRODUCTS. FUKUOKA. JAPAN. PP 619.
- NOMOTO, K., SUGIURA, Y., TAKAGI, S. 1987. MUGINEIC ACID, STUDIES ON PHYTOSIDEROPHORES. *CHAMP.* 22. IN IRON TRANSPORT IN MICROBES, PLANTS AND ANIMALS. G. VCH PUBLISHERS. WEINHEIM. GERMANY. PP 321-356.
- NORVELL, W. A. 1983. EQUILIBRIO DE LOS QUELATOS METALICOS EN SOLUCIONES DEL SUELO. EN: MICRONUTRIENTES EN LA AGRICULTURA. EDITADO POR J.J. MORVEDT, 1<sup>a</sup> EDICION EN ESPAÑOL. A.G.T. EDITOR. S.A. MEXICO DF. PP 127-128, 133-136.
- OHWAKI, Y., SUGAHARA, K., SUZUKI, K., MORIYAMA, H., FUKUHARA, T., NITTA, T. 1997. IRON STRESS RESPONSE IN CHICKPEA (*Cicer arietinum* L.): MORPHOLOGICAL CHANGES AND LEVELS OF H<sup>+</sup>-ATPase mRNA IN ROOTS TIPS. PLANT NUTRITION FOR SUSTAINABLE FOOD PRODUCTION AND ENVIRONMENT. KLUWER ACADEMIC PUBLISHER. JAPAN. PP 261-262.
- OLSEN, R. A., BROWN, J. C. 1980. FACTORS RELATED TO IRON UPTAKE BY DICOTYLEDONOUS AND MONOCOTYLEDONOUS PLANTS. THE REDUCTION OF Fe<sup>3+</sup> AS INFLUENCED BY ROOTS AND INHIBITORS. *J. PLANT NUTRITION.* 2:629-645.
- OLSEN, R. A., CLARK R. B., BENNET, J. H. 1981. THE ENHANCEMENT OF SOIL FERTILITY BY PLANT ROOT. *AMERICAN SCIENTIST.* 60: 378-384.
- OLSEN, R. A., BROWN, J. C., BENNETT, J. H., BLUME, D. 1982. REDUCTION OF Fe<sup>3+</sup> AS IT RELATES TO Fe CHLOROSIS. *J. PLANT NUTRITION.* 5:433-445.
- OLSEN, R. A., TIFFIN, L. O. 1983. INTERACCION DE LOS MICRONUTRIENTES. EN: MICRONUTRIENTES EN LA AGRICULTURA. EDITADO POR J.J. MORVEDT, 1<sup>a</sup> EDICION EN ESPAÑOL. A.G.T. EDITOR. S.A. MEXICO DF. PP 279, 282-285.
- PARSA, A. A., WALLACE, A. 1979. ORGANIC SOLID WASTES FROM URBAN ENVIRONMENT AS IRON SOURCES FOR SORGHUM. *PLANT AND SOIL.* 53:455-461.

- POLLE, A., CHAKRABARTI, K., SCHRAMMEL, P. 1992. ANTIOXIDANTS AND MANGANESE DEFICIENCY IN NEEDLES OF NORWAY SPRUCE (*Picea abies* L.) TREES. PLANT PHYSIOLOGY 99:1084-1089.
- PORTA J. S. 1994. EDAFOLOGIA PARA LA AGRICULTURA Y EL MEDIO AMBIENTE. 3ª EDICIÓN. EDITADO POR MUNDI-PRENSA, MADRID ESPAÑA. PP 167-182.
- PRICE, C. A. 1983. FUNCIONES DE LOS MICRONUTRIENTES EN LAS PLANTAS. EN: MICRONUTRIENTES EN LA AGRICULTURA. EDITADO POR J.J. MORVEDT, 1ª EDICION EN ESPAÑOL. A.G.T. EDITOR. S.A. MEXICO DF. PP 256.
- ROBSON, A. D. Y M. G. PITMAN. 1983. INTERACTIONS BETWEEN NUTRIENTS IN HIGHER PLANTS. IN: INORGANIC PLANT NUTRITION. IN: ENCICLOPEY OF PLANT PHYSIOLOGY VOL. 15: PP 153, 155, 158-164.
- ROGERS, C. H., Y J. W SHIVE. 1932. FACTORS EFFECTING THE DISTRIBUTION OF IRON IN PLANTS. IN: PLANT PHISIOLOGY 7: 227-252.
- RÖMHELD, V. 1987. DIFFERENT STRATEGIES FOR IRON ACQUISITION IN HIGHER PLANTS. PHYSIOLOGY OF PLANT. 70: 231-234.
- RÖMHELD, V., MARSCHNER, H. 1983. MECHANISM OF IRON UPTAKE BY PEANUTS PLANTS 1. Fe<sup>3+</sup> REDUCTION, CHELATE SPLITTING AND RELEASE OF PHENOLICS. PLANT PHYSIOLOGY. 71:949-954.
- RÖMHELD, V., MARSCHNER, H. 1981. RHITHMIC IRON STRESS REACTIONS IN SUNFLOWER AT SUBOPTIMAL IRON SUPPLY. PHYSIOLOGY PLANTS. 53: 347-353.
- RÖMHELD, V., MARSCHNER, H. 1986. MOBILIZATION OF IRON IN THE RHIZOSPHERE OF DIFFERENT PLANT SPECIES. ADVANCES IN PLANT NUTRITION. VOL. 2. PRAEGER SCIENTIFIC PUBLUSHER. NY. PP 155-204.
- RÖMHELD, V., MARSCHNER, H. 1990. GENOTYPICAL DIFFERENCES AMONG GRAMINACEOUS SPECIES IN RELEASE OF PHYTOSIDEROPHORES AND UPTAKE OF IRON PHYTOSIDEROPHORES. PLANT SOIL. 123:147-153.
- RÖMHELD, V. 1997. THE CHLOROSIS PARADOX: Fe INACTIVATION IN LEAVES AS A SECONDARY EVENT IN Fe DEFICIENCY CHLOROSIS. ABSTRACTS 9<sup>th</sup> INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON IRON NUTRITION AND INTERACTIONS IN PLANTS. HOHENHEIM. STUTTGART, GERMANY. PP 10.

- RUTLAND, R. B. 1971. RADIOISOTOPIC EVIDENCE OF IMMOBILIZATION OF IRON IN *Azalea* BY EXCESS CALCIUM CARBONATE. J. AM. SOC. HORTIC. SCI. 96:653-655.
- RYAN, P., J. LEE, AND T. F. PEEBLES. 1967. TRACE ELEMENT PROBLEMS IN RELATIN TO SOIL UNITS IN EUROPE. WORLD SOIL RESOURSERS REP. F.A.O., ROME ITALY.
- SANZ, M., CAVERO, J., ABADÍA, J. 1992. IRON CHLOROSIS IN EBRO RIVER BASIN, SPAIN. J. PLANT NUTRITION. 15:1971-1981.
- SARH. 1983. GUIA TECNICA DEL VITICULTOR. EDITADO POR EL CAMPO AGRICOLA EXPERIMENTAL DE LA LAGUNA. MATAMOROS, COAHUILA, MEXICO. PP 1-35.
- SALISBURY, F. B. Y ROSS, C. W. 1994. NUTRICIÓN MINERAL. AGENTES QUELATANTES. EN: FISILOGIA VEGETAL. 1ª EDICION EN ESPAÑOL. PP 139-141.
- SALISBURY, F. B. AND ROSS, C. W. 1969. MINERAL NUTRITION OF PLANTS. PLANT PHYSIOLOGY. WADSWORTH PUBLISHING COMPANY. INC. PP 191-208.
- SCHMIDT, W., BARTELS, M., TITTEL, J., 1997. PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF COPPER ON IRON ACQUISITION PROCESSES IN PLANTAGO. NEW PHYTOL. 135:659-666.
- SCHLEE, D., REINBOTHE, D., FRITSCH, W. 1968. INFLUENCE OF SOIL HUMIC SUBSTANCES AND HERBICIDES ON THE GROWTH OF PEA (*Pisum sativum* L.) IN NUTRIENT SOLUTION. J. PLANT NUTRITION 17:493-500.
- SCHNITZER, M. 1977. RECENT FINDINGS ON THE CHARACTERIZATION OF HUMIC SUBSTANCES EXTRACTED FROM SOIL WIDELY DIFFERING CLIMATIC ZONES. PROC. SYMP. SOIL ORG. MATTER 3<sup>rd</sup>, BRAUNSCHWEIG. INT. ATOMIC ENERGY AGENCY, VIENNA, AUST. PP 177-132.
- SIJMONS, P. C., KOLATTUKUDY, P. E., BIENFAIT, H. F. 1985. IRON-DEFICIENCY DECREASES SUBERIZATION IN BEAN ROOTS THROUGH A DECREASE IN SUBERIN,SPECIFIC PEROXIDASE ACTIVITY. PLANT PHYSIOL. 78:115-120.
- SPOSITO, G. 1989. THE CHEMISTRY OF SOILS. OXFORD UNIVERSITY PRESS. PP 277.
- STEVENSON F. J. Y M. S. ARDAKANI. 1983. REACCIONES DE LA MATERIA ORGANICA QUE INVOLUCRAN A LOS MICRONUTRIENTES EN LOS

- SUELOS. EN: MICRONUTRIENTES EN LA AGRICULTURA. EDITADO POR J.J. MORVEDT, 1ª EDICION EN ESPAÑOL. A.G.T. EDITOR. S.A. MEXICO DF. PP 95-102.
- STOUT, P. R. 1983. INTRUDUCCIÓN DE: MICRONUTRIENTES EN LA AGRICULTURA. EDITADO POR J.J. MORVEDT, 1ª EDICION EN ESPAÑOL. A.G.T. EDITOR. S.A. MEXICO DF. PP 1.
- SZILÁGYI, M. 1971. REDUCTION OF  $Fe^{3+}$  ION BY HUMIC ACID PROPERTIES. SOIL SCI. III:233-235.
- TAGLIAVINI, M., ABADÍA, J., ROMBOLA, A. D., MARANGONI, B. 2000. AGRONOMIC MEANS FOR THE CONTROL OF IRON CHLOROSIS. J. PLANT NUTRITION. IN PRESS. PP 156:520-532.
- TAKAGI, S., NOMOTO, K. 1984. PHYSIOLOGICAL ASPECT OF MUGINEIC ACID, A POSSIBLE PHYTOSIDEROPHORE OF GRAMINACEOUS PLANTS. J. PLANT NUTRITION. 7:469-477.
- TAKEMOTO, T., NOMOTO, K., FUSHIYA, S. 1978. STRUCTURE OF MUGINEIC ACID, A NEW AMINO ACID POSSESING AN IRON-CHELATING. L. PROC. JPN. ACADEMY. 54-B-469.
- TATE, R. L. 1987. SOIL ORGANIC MATTER. BIOLOGICAL AND ECOLOGICAL EFFECTS. NEW, YORK USA. PP 291.
- THOMAS, F. M., BRANDT, T., HARTMANN, G. 1998. LEAF CHLOROSIS IN PEDUNCULATE OAKS (*Quercus robur* L.) ON CALCAREOUS SOILS RESULTING FROM LIME-INDUCED MANGANESE/IRON DEFICIENCY: ANGEW. BOT. 27: 28-36.
- THORN, K., FOLAN, D. 1989. CHARACTERIZATION OF THE IHSS STANDARD AND REFERENCE FULVIC AND HUMIC ACIDS BY SOLUTION STATE CARBON-13 AND HIDROGEN-1 NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROMETRY. WATER RESOURCES INVESTIGATIONS. US GEOLOGICAL SURVEY, DENVER, COLORADO. 89:4196.
- TIFFIN, L. O. 1983. TRANSLOCACION DE MICRONUTRIENTES EN PLANTAS. EN: MICRONUTRIENTES EN LA AGRICULTURA. EDITADO POR J.J. MORVEDT, 1ª EDICION EN ESPAÑOL. A.G.T. EDITOR. S.A. MEXICO DF. PP 225 Y 232.
- TIFFIN, L. O. AND J. C. BROWN. 1961. SELECTIVE ABSORPTION OF IRON FROM IRON CHELATES BY SOIBEAN PLANTS. PLANT PHYSIOLOGY. 36: 710-714.

- TIFFIN, L. O. AND J. C. BROWN. 1959. ABSORPTION OF IRON FROM IRON CHELATE BY SUNFLOWER ROOTS. SCIENCE 130: 274-275.
- TOSELLINI, M., MARANGONI, B., TAGLIAVINI, M. 2000. IRON CONTENT IN VEGETATIVE AND REPRODUCTIVE ORGANS OF NECTARINS TREES IN CALCAREOUS SOILS DURING THE DEVELOPMENT OF CHLOROSIS. EUROP. J. AGRONOMY. 13:279-286.
- TYLER, G., STRÖM, L. 1995. DIFFERING ORGANIC ACID EXUDATION PATTERN EXPLAINS CALCIFUGE PLANTS. ANN. BOT. 75:75-78.
- TYLER, G. 1996. MINERAL NUTRIENT LIMITATIONS OF CALCIFUGE PLANTS IN PHOSPHATE SUFFICIENT LIMESTONE SOIL. ANN. BOT. 77: 649-656.
- UREN, N. C. 1984. FORMS, REACTIONS AND AVAILABILITY OF IRON IN SOILS. J. PLANT. NUTRITION. 7(1-5):165:176).
- WALLACE, T. 1961. THE DIAGNOSIS OF MINERAL DEFFICIENCIES IN PLANTS. 2<sup>nd</sup>. EDITION. CHEMICAL PUBLISHING CO. INC. NEW YORK, USA.
- WALLACE, A., WOOD, R. A., SOUFI, S. M. 1976. CATION-ANION BALANCE IN LIME-INDUCED CHLOROSIS. COMMUN. SOIL. SCI. PLANT. 7:5.
- WALLACE, A., 1983. CLAY FIXATION OF METAL CHELATES AS A FACTOR IN THEIR USABILITY BY SOIL APPLICATION TO CORRECT MICRONUTRIENT DEFICIENCES. J. PLANT NUTRITION. 6:439-446.
- WALLACE, A. 1988. ACID AND ACID-IRON FERTILIZERS FOR IRON-DEFICIENCY CONTROL IN PLANTS. J. PLANT NUTRITION. 11:1311-1319.
- WALLACE, A. 1991. RATIONAL APPROACHES TO CONTROL OF IRON DEFICIENCY OTHER THAN PLANT BREEDING AND CHOICE RESISTANT CULTIVARS. PP 324-330.
- WALLIHAN H. E., AND E .R MILLER. 1968. FOREST SOILS. THEIR PROPERTIES AND RELATION TO SILVICULTURE. THE RONALD PRESS Co. NEW, YORK USA. PP 537.
- WELKIE, G. W., MILLER, G. 1989. SUGAR BEET RESPONSES TO IRON NUTRITION AND STRESS. J. PLANT NUTRITION. 12:1041-1054.
- WELKIE, G. W., MILLER, G. 1993. PLANT IRON UPTAKE PHYSIOLOGY BY NONSIDEROPHORE SYSTEMS. PLANTS AND SOIL MICROORGANISM. ACADEMIC PRESS INC. NY. PP 345-370.

- WHATLEY, F. R., ORDIN, L. AND ARNON, D. I. 1951. PLANT PHYSIOLOGY. 26: 414-418.
- YONA, CH. 1982. IRON NUTRITION OF PLANTS IN CALCAREOUS SOILS. IN: ADVANCES IN AGRONOMY. VOL. 35. BY ACADEMIC PRESS INC. PP 222.
- YI, Y., SALEEBA, J. A., GUERINOR, M. L. 1994. IRON UPTAKE IN *Arabidopsis thaliana*. BIOCHEMISTRY OF METAL MICRONUTRIENTS IN THE RHIZOSPHERE. LEWIS PUBLISHERS. MIAMI, FLORIDA. PP. 295-307.
- ZOHLN, A., TYLER, G. 2000. IMMOBILIZATION OF TISSUE IRON ON CALCAREOUS SOIL: DIFFERENCES BETWEEN CALCICOLE AND CALCIFUGE PLANTS. OIKOS. 89:95-106.
- ZUO, Y., ZHANG, F., LI, X. 2000. STUDIES ON THE IMPROVEMENT IN IRON NUTRITION OF PEANUT BY INTERCROPPING WITH MAIZE ON A CALCAREOUS SOIL. PLANT AND SOIL. 220:13-25.