

Nutrición mineral de líneas de frijol bajo clorosis férrica

Ibar Felipe Tlatilpa-Santamaría¹
Ranferi Maldonado-Torres^{2§}
Manuel Sandoval-Villa¹
María Edna Álvarez-Sánchez²

¹Programa de Edafología-Instituto de Recursos Naturales-Colegio de Postgraduados. Carretera México- Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. CP. 56230. Tel. 595 9520200. ²Departamento de Suelos-Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México- Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México. CP. 56230. Tel. 595 9521500.

§Autor para correspondencia: ranferimt@yahoo.com.mx.

Resumen

La deficiencia de hierro existe en casi todos los cultivos del mundo y la habilidad para absorber el hierro varía ampliamente entre especies de plantas. Existen grupos de plantas que se caracterizan por su capacidad para crecer en suelos con baja disponibilidad de hierro, denominadas Fe-eficientes. En este experimento se cultivaron en invernadero plantas de frijol, en una solución nutritiva con concentraciones subóptimas y óptimas de Fe. El objetivo fue evaluar los mecanismos de tolerancia, concentración y distribución del Fe en líneas de frijol. Se establecieron seis líneas de frijol (tres tolerantes y tres susceptibles a deficiencia de hierro). Se evaluó la concentración nutrimental y unidades SPAD en hojas jóvenes y raíces, volumen radical y materia seca. Los resultados obtenidos determinaron alto índice de desbalance nutrimental (IDN), coeficiente de transferencia, la relación P/Fe y K/Ca, concentración de K, Ca, Mg, Mn, Zn, Cu y B en hojas jóvenes de frijol en hojas con clorosis férrica. En ausencia de Fe la línea 496 presentó menos clorosis, incrementó la relación P/Mg y la concentración de P y K. Cuando el Fe estuvo presente en la solución nutritiva, las líneas 496 y 33 tuvieron índices nutrimentales bajos y mayor producción de materia seca. La línea T₂ fue susceptible a clorosis férrica, pero con una concentración de 1 mg L⁻¹ de Fe en la solución nutritiva, presentó mayor producción de materia seca, volumen radical y no manifestó clorosis férrica. La línea 33 fue susceptible y en ausencia de Fe en la solución, aumentó las relaciones N/P, B/P, Ca/P y disminuyó la concentración de P, K y B. La adición de 1 mg L⁻¹ de Fe en la solución nutritiva aumentó la concentración de N, P, K y Fe, mientras que en ausencia incrementó la concentración de Mn, Zn y Cu en raíz. Las diferencias encontradas en la clorosis férrica de frijol en plantas tolerantes y susceptibles no obedecen a la concentración de Fe sino a mecanismos internos, relacionados con otros elementos minerales que afectan su metabolismo.

Palabras clave: deficiencia de hierro, estrategia I, estrategia II, estrés por hierro, nutrición vegetal.

Recibido: enero de 2023

Aceptado: marzo de 2023

Introducción

El hierro (Fe) es un elemento abundante en la corteza terrestre (Frey *et al.*, 2012) y esencial para las plantas, aunque su disponibilidad es insuficiente para mantener un crecimiento óptimo. Es un nutrimento que participa en la fotosíntesis, respiración, síntesis de ADN (Rout *et al.*, 2015), componente de la cadena de transporte de electrones, cofactor de enzimas y síntesis de clorofila (Schmidt *et al.*, 2020), debido a su capacidad para donar y aceptar electrones (Parrilla *et al.*, 2019). Las plantas son la fuente primaria de Fe para animales y humanos, lo que origina que dos terceras partes de la población mundial tenga riesgo de anemia por deficiencia de Fe (Buccio *et al.*, 2004).

Su solubilidad y disponibilidad para las plantas es baja en condiciones aeróbicas, particularmente a pH alto y en suelos calcáreos ((Tripathi *et al.*, 2018). Aunque el Fe está en concentraciones altas en los minerales primarios del suelo, sufre oxidación y precipita como compuestos de baja solubilidad, limitando su disponibilidad para las plantas (Mielki *et al.*, 2016).

Las plantas absorben Fe del suelo mediante dos estrategias (Tripathi *et al.*, 2018), las cuales se conocen como estrategia I o reductora y la estrategia II o quelante. La diferencia entre ellas radica en el estado de oxidación del Fe cuando es absorbido por la planta: Fe²⁺ para la Estrategia I y Fe³⁺ para la estrategia II (Connorton *et al.*, 2017). La estrategia I consiste en exudar H⁺ disminuir el pH del suelo por extrusión de H⁺ para aumentar la solubilidad del Fe³⁺, por medio de ATPasas, después se da una reducción de Fe³⁺ a Fe²⁺ en la superficie de la raíz por una reductasa de quelato férrico unida a la membrana plasmática y finalmente una absorción de Fe²⁺ en las células de la raíz por el transportador de alta afinidad de Fe AtIRT1 (Wairich *et al.*, 2019).

En la estrategia II las plantas secretan fitosideróforos (ácido desoximugineico) de alta afinidad con el Fe. Los fitosideróforo-Fe³⁺ son importados por el transportador de oligopéptidos YS1 (Connorton *et al.*, 2017). La deficiencia de Fe provoca clorosis férrica en plantas que crecen en suelos calcáreos (López-Millán *et al.*, 2013), la cual es una limitación importante para el desarrollo de las plantas que repercute en el rendimiento y calidad de los cultivos (Li *et al.*, 2017).

La deficiencia de Fe provoca degradación de cloroplastos y disminución de la síntesis de clorofila, también disminuye el peso fresco y la tasa fotosintética de la planta (Li *et al.*, 2021). Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar las variedades de frijol sensibles a la clorosis férrica y su influencia en la concentración y distribución de nutrimentos en el tejido vegetal.

Materiales y métodos

El experimento se realizó en invernadero con luz natural, donde se germinaron en charolas con vermiculita como sustrato, semillas de 6 líneas de frijol (tres tolerantes y tres susceptibles). Se utilizaron plántulas de frijol con igual vigor, desarrolladas hasta la primera hoja trifoliada. Se utilizó la solución Universal de Steiner, constituida por 9 me L⁻¹ Ca (NO₃)₂·4H₂O, 3 me L⁻¹ KNO₃, 3 me L⁻¹ K₂SO₄, 1 me L⁻¹ KH₂PO₄, 4 me L⁻¹ MgSO₄, 9 μM L⁻¹ MnSO₄·3H₂O, 45 μM L⁻¹ H₃BO₃, 0.3 μM L⁻¹ CuSO₄, 0.7 μM L⁻¹ y ZnSO₄·7H₂O, con y sin 18 μM L⁻¹ o 1 mg L⁻¹ Fe-EDDHA.

El diseño de tratamientos fue la combinación de los factores: 1) concentración de Fe-EDDHA (0 y 1 mg L⁻¹), pH (6 y 8.5) y 2) genotipo de frijol (6). El diseño experimental fue en bloques completos aleatorizados, con cuatro repeticiones. La unidad experimental fue una maceta, la cual contenía dos

plantas. Las plántulas se trasplantaron a macetas con capacidad de 3 L con solución nutritiva, aireando cada hora 15 min durante 33 días. La solución nutritiva se cambió cada siete días y el pH se ajustó cada tres. Las variables evaluadas fueron: concentración nutrimental (hojas jóvenes y raíz), lecturas SPAD, volumen radical y materia seca.

En la concentración nutrimental se tomaron muestras de hojas jóvenes y raíces limpias, sin daños físicos, químicos o biológicos. Las muestras se colocaron en bolsas de papel. Cada muestra se lavó y secó a 70 °C durante 48 h en estufa con circulación forzada de aire antes de ser molida (malla 20) en un molino de acero inoxidable. La digestión del material se realizó con mezcla diácido (4 ml HNO₃:2 ml HClO₄) a 203 °C. En el digerido del material vegetal se determinó P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu y B, por espectrofotometría AES-ICP, en un equipo Varian, Liberty II. Para el N la digestión del material se realizó con una mezcla de ácido salicílico y sulfúrico, se determinó por el método de Kjeldahl (NOM-021-RECNAT-2000, 2000).

Con los resultados del análisis químico se obtuvieron las relaciones nutrimentales (N/P, P/Mg, Cu/P, B/P, Ca/P, Mn/Ca, B/Mg, Mn/Fe, P/Fe, K/Ca, K/Fe, Cu/Fe, Zn/Fe). Las lecturas SPAD se obtuvieron mediante el lector de clorofila portátil Minolta SPAD-502. Este instrumento analítico proporciona una estimación cuantitativa del color verde de la hoja, lo cual representa una ventaja al sustituir las escalas visuales. Para materia seca se cortó la planta en dos partes (raíz y parte aérea) y éstas se colocaron en la estufa a 70 °C durante 48 h con circulación forzada de aire y posteriormente se pesaron. Los datos se analizaron mediante el programa estadístico SAS V8 por comparación entre medias con la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

Resultados y discusión

Lecturas SPAD

En la Figura 1 se muestran las lecturas SPAD de la interacción línea y Fe en la solución. Cuando no se agregó Fe a la solución, la línea 496 tuvo lecturas SPAD mayores que la 33 y la T₂. La mayor lectura SPAD sin adición de Fe correspondió a la línea T₂, estadísticamente similar a la 496 pero superior a la línea 33. Esto muestra que la línea 496 tiene una mejor capacidad de adaptación a la clorosis férrica, mientras que la línea T₂ responde favorablemente sólo cuando hay Fe presente en la solución nutritiva, pero negativamente cuando está ausente. La línea 33 tiene el mayor grado de susceptibilidad de todas las líneas estudiadas, tanto en presencia como ausencia de Fe.

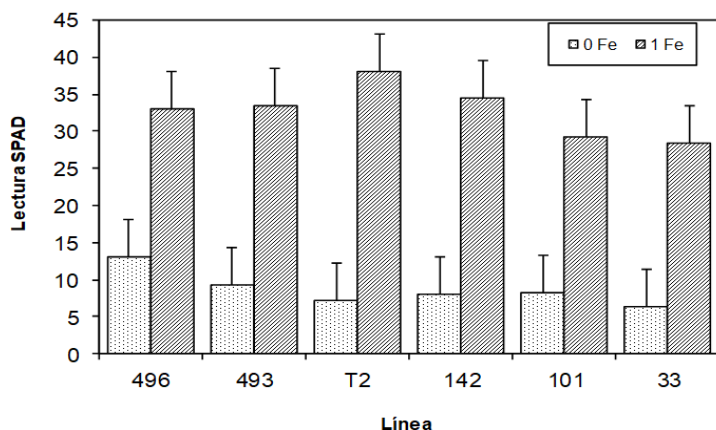


Figura 1. Lecturas SPAD foliares de líneas de frijol y Fe en la solución.

El síntoma de deficiencia de Fe en el follaje es un amarillamiento (clorosis) de hojas jóvenes. Autores como Dell'Orto *et al.* (2003) encontraron en plantas de *Parietaria diffusa* cultivadas en ausencia de Fe, mostraron una clorosis y reducción del crecimiento. La clorosis férrica causa un decremento en la capacidad fotosintética, afectando los pigmentos en diferentes magnitudes (Abadía y Abadía, 1993). La reducción de la clorofila puede deberse a la inhibición de la síntesis o degradación de pigmentos o sus precursores (Bertamini y Nedunchezian, 2005).

En plantas de remolacha susceptibles a esta fisiopatía, disminuye la concentración de clorofila en la hoja, en mayor grado con respecto a las tolerantes (Campbell y Nishio, 2000). El amarillamiento es debido a un enriquecimiento en carotenoides (xantofilas). La síntesis de xantofilas funciona en plantas Fe-deficientes, pero no en otros amarillamientos, también ocurre en materiales enriquecidos de carotenoides; plantas etioladas u hojas senescentes (Abadía *et al.*, 2000). En condiciones de campo la intensidad de los síntomas no siempre correlaciona con baja concentración de Fe en la hoja y en ocasiones esta es mayor en hojas cloróticas que en verdes, debido a una inactivación del Fe en el apoplasto (Morales *et al.*, 1998; Römheld, 2000; López-Millán *et al.*, 2013).

Concentración nutrimental de hojas jóvenes

En el Cuadro 1 se muestran los resultados de la composición mineral de hojas jóvenes expuestas a 0 y 1 mg L⁻¹ de Fe y pH 6 y 8.5. Con una concentración de Fe de 1 mg L⁻¹ en la solución nutritiva, aumentó la concentración de Fe, pero cuando fue de 0 mg L⁻¹ aumentó el K, Ca, Mg, Mn, Zn, Cu y B foliar. La deficiencia de Fe estimula la acumulación de K (Marschner, 1995; Maldonado-Torres *et al.*, 2006), Mg (Belkhodja *et al.*, 1998), Mn, Zn y Cu (Jolley *et al.*, 2004) en hojas jóvenes.

Cuadro 1. Concentración nutrimental foliar de frijol expuestas a 0 y 1 mg L⁻¹ Fe y pH 6 y 8.5.

	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
	(mg g ⁻¹)					(mg kg ⁻¹)				
Fe										
0	43.3 a	7.1 a	37.7 a	35.7 a	8 a	142 b	783.5 a	132 a	22.7 a	312.4 a
1	42.8 a	7.1 a	22.7 b	28.6 b	6.3 b	185.2 a	216.2 b	88.9 b	8.7 b	185 b
DMS	3.5	0.6	2.5	3.5	0.5	19.3	79.9	12.6	2.6	26.2
pH										
6	43.3 a	6.7 b	28.4 b	29.8 b	7.2 a	158.3 a	552.3 a	117.6 a	17.9 a	232.5 b
8.5	42.8 a	7.6 a	32 a	34.5 a	7.2 a	168.9 a	447.4 b	103.3 b	13.4 b	264.9 a
DMS	3.5	0.6	2.5	3.5	0.5	19.3	79.9	12.6	2.6	26.2

Los valores con la misma letra, dentro de la columna, son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).

El aumento de K en las hojas es consecuencia de una mayor actividad de la ATPasa de la membrana plasmática de la raíz involucradas en la extrusión de protones (Alcántara *et al.*, 1991; Marschner, 1995; Blekhodja *et al.*, 1998). Welkie *et al.* (1993) han asociado la alta concentración de K con la acumulación de ácidos orgánicos en plantas deficientes en Fe. Thomas *et al.* (1998) encontraron una mayor concentración de K en árboles de roble cloróticos respecto a los no cloróticos. Por su parte, en dicotiledóneas y monocotiledóneas no gramíneas con deficiencia de Fe que usan la estrategia I, Alam *et al.* (2001); Marschner, (1988) han determinado una mayor movilización y absorción de Mn.

En la solución nutritiva con pH 6 aumentó la concentración foliar de Mn, Zn y Cu, mientras que a 8.5 se incrementaron P, K, Ca y B. La concentración de N, Mg y Fe no fueron afectadas. A pH bajo en la rizósfera, las raíces absorben más cationes que aniones (Schaller, 1987; Schmidt *et al.*, 2020). Cuando se absorben cationes en exceso respecto a los aniones se origina acidificación de la rizósfera (Curtin y Wen, 2004). El pH de una solución nutritiva afecta las reacciones de disociación, complejación y precipitación, lo que impacta significativamente la especiación y disponibilidad de elementos esenciales, especialmente los cationes metálicos (Rijck y Schrevens, 1997).

En el Cuadro 2 los resultados muestran que donde no se agregó Fe, la línea 33 de frijol presentó la más baja concentración de P, K y B, mientras que la 493 presentó una mayor concentración de P y K. En las líneas donde se agregó Fe, no hubo diferencias significativas en la concentración nutrimental foliar. Aun cuando las líneas 496 y 33 tuvieron la misma concentración de Fe, la línea 33 tuvo un mayor grado de clorosis (Figura 1), siendo indicativo de que es poco eficiente en la utilización de Fe.

Cuadro 2. Macro y micro nutrientes en hojas jóvenes en líneas con 0 y 1 mg L⁻¹ de Fe.

Fe	Línea	(mg g ⁻¹)					(mg kg ⁻¹)				
		N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
0	496	4.4 a	7.9 a	36.1 ab	33 abc	7.4 abc	160.2 abc	735.3 a	145.7 a	20.4 ab	272.9 bcd
0	493	5 a	7.8 a	41.8 a	27.9 bc	7.4 abc	117.9 bc	863.1 a	129.8 abcd	27 a	342.4 ab
0	T2	4.1 a	7.4 ab	41.9 a	44.4 a	8.3 ab	157.5 abc	896.5 a	132 abc	27.1 a	383.9 a
0	142	4.1 a	6.9 ab	40.3 ab	33.7 abc	9 a	125.5 bc	940.9 a	134.7 ab	23.8 a	329.9 ab
0	101	4 a	7.3 ab	35.1 abc	40.7 ab	8.8 a	181.8 abc	621.9 a	138.8 ab	16.8 abc	287.8 abc
0	33	4.4 a	5.3 b	31.3 bcd	34.4 abc	7 abc	109.1 c	643.2 a	111 abcde	21.1 ab	257.6 bcd
1	496	4.3 a	7.2 ab	21.7 de	26.4 bc	5.9 c	179.5 abc	174.1 b	81.6 cde	8.6 c	173.9 d
1	493	4.5 a	7 ab	23.3 de	24.1 c	5.7 c	169.7 abc	190.6 b	75.6 e	7.6 c	177.3 d
1	T2	3.8 a	6.2 ab	19.3 e	33.9 abc	6.6 bc	196.3 ab	240 b	87.9 bcde	8 c	202.7 cd
1	142	4.6 a	8.1 a	22.9 de	32.7 abc	7.2 abc	219.8 a	217.2 b	116.4 abcde	8.8 c	180.2 cd
1	101	4.5 a	7.3 ab	25.3 cde	28.6 bc	6.4 bc	161.5 abc	264.1 b	93.6 abcde	10.7 bc	183.2 cd
1	33	4 a	6.9 ab	23.4 de	25.7 c	6.3 bc	184.5 abc	211.4 b	78.5 de	8.2 c	192.8 cd
	DMS	1.5	2.4	10.5	14.6	2.2	80	331.9	52.4	10.8	108.8

Los valores con la misma letra, dentro de la columna, son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).

Las hojas con clorosis presentan alteraciones fisiológicas, como una baja en la concentración de clorofilas, captura de radiación y capacidad fotosintética. La luz absorbida y no utilizada en la fotosíntesis puede foto-inhibir procesos y foto-oxidar compuestos (Abadía *et al.*, 2000; Rout y Sahoo, 2015). En hojas cloróticas el Fe se acumula en formas poco disponibles (Marschner, 1991).

Las células de hojas cloróticas presentan una capacidad limitada para la absorción de Fe y éste podría ser acumulado en el apoplasto, lo cual puede ser amplificado en condiciones de campo. Así, esta acumulación en hojas cloróticas sería la consecuencia del enriquecimiento de Fe en hojas cuando la planta ya no tiene la capacidad para utilizarlo (Bohórquez *et al.*, 2001).

Algunas especies cloróticas reverdecen cuando se aplica ácido diluido en el pecíolo y cuando las hojas son tratadas con compuestos que promueven el funcionamiento de las ATPasas de la membrana plasmática (Kosegarten, 1999). En plantas deficientes de Fe se ha reportado pH alto en el citoplasma y esto se asocia a la inmovilización (Abadía, 1992).

La concentración de Mn en vástago y raíz sigue una relación inversa con Fe, la movilización y absorción de Mn se incrementa durante la deficiencia de Fe en plantas que usan el mecanismo I (Alam *et al.*, 2001). En la Figura 2 las plantas con solución nutritiva sin Fe muestran un índice de desbalance nutricional (IDN) generalmente mayor, pero donde se agregó Fe, las líneas 496 y 33 tuvieron los índices más bajos mientras que en T₂ fue mayor.

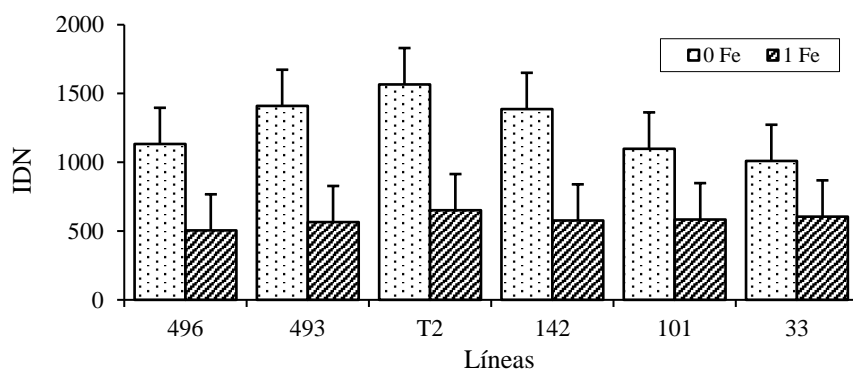


Figura 2. Interacción de líneas de frijol y Fe en el índice de desbalance nutricional (IDN).

Esto resultó contrario a las lecturas SPAD, en donde los valores de T₂ fueron mayores. Aun cuando no se aplicó Fe, la línea T₂ tuvo el mismo grado de clorosis (Figura 1) que la 33 pero mostró un mayor IDN. De manera contraria se presentó cuando se aplicó Fe, dado que T₂ tuvo mayor IDN y lecturas SPAD, mientras que en la 33 el IDN y las lecturas SPAD fueron menores, por lo que T₂ se adaptó mejor a la deficiencia de Fe que la 33.

Respecto a las relaciones nutrimentales, se encontró que donde no se agregó Fe, las relaciones N/P, B/P y Ca/P fueron mayores en la línea 33 (Cuadro 3), lo cual indicó que en esta hubo una mayor cantidad de P en las hojas jóvenes, mientras que la línea 496 fue menor. Altas concentraciones de P en el medio o en la planta incrementa la clorosis férrica (Clark, 1991). Keshirad *et al.* (1978) sugieren que dosis elevadas de P interfieren la absorción y translocación de Fe, inactivando y precipitándolo en el apoplasto de las plantas cloróticas, impidiendo su translocación a las células del mesófilo.

Cuadro 3. Relaciones nutrimentales obtenidas en líneas de frijol.

Fe (mg L ⁻¹)	Línea	N/P	P/Mg	Cu/P	B/P	Ca/P	Mn/Ca	B/Mg	Mn/Fe
0	496	5.8b	1.15 abc	1.19 c	35.2 bcd	4.3 bcde	22 abc	40.4 ab	5.1 bcd
0	493	7 ab	1.1 abc	1.48 c	43.7 ab	3.7 cde	31.9 a	47.6 a	7.7 ab
0	T2	6 b	0.89 bcd	1.11 c	54.5 a	6.1 ab	20.7 bc	46.6 a	5.9 abc
0	142	6.2 b	0.78 d	1.34 c	48.3 ab	4.9 bcde	29.8 ab	37.9 ab	8.9 a
0	101	5.7 b	0.84 cd	1.11 c	39 abc	5.6 abc	16.9 cde	33.2 bc	4 cde
0	33	8.9 a	0.77 d	1.24 c	52.1 a	6.9 a	18.7 cd	37.6 ab	5.9 abc

Fe (mg L ⁻¹)	Línea	N/P	P/Mg	Cu/P	B/P	Ca/P	Mn/Ca	B/Mg	Mn/Fe
1	496	6.2 b	1.22 a	4.23 a	24.1 cd	3.7 cde	6.6 f	29.3 bc	1 e
1	493	6.4 ab	1.26 a	2.41 bc	25.5 cd	3.4 e	7.9 ef	31.9 bc	1.1 e
1	T2	6.3 b	0.95 abcd	3.5 ab	33.4 bcd	5.4 abcd	7.2 ef	31.2 bc	1.2 e
1	142	5.8 b	1.14 abc	3.88 ab	22.2 d	4 cde	6.6 f	25.1 c	1 e
1	101	6.3 b	1.17 ab	3.97 ab	25 cd	3.9 cde	9.7 def	28.8 bc	1.7 de
1	33	6 b	1.15 abc	2.53 bc	27.6 cd	3.6 de	8.1 ef	31.6 bc	1.1 e
	DMS	2.6	0.31	1.7	15.7	1.9	10.1	12.1	3.6

Los valores con la misma letra, dentro de la columna, son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).

En plantas cloróticas las relaciones P/Fe, K/Ca, K/Fe, Mn/Fe, Cu/Fe y Zn/Fe fueron mayores (Cuadro 4). Esto indica una menor cantidad de Fe respecto a otros cationes (K, Mn, Cu y Zn) y mayor cantidad de K, P y Mn, lo cual coincide, al menos para la relación P/Fe ya que Köseoglu (1995) y Maldonado-Torres *et al.* (2006) encontraron que esta relación es mayor en hojas cloróticas que en hojas verdes. Se ha encontrado en hojas de peral con clorosis férrica (Abadía *et al.*, 1989), durazno (Belkhodja *et al.*, 1998) y limón mexicano (Maldonado-Torres *et al.*, 2006) que la relación K/Ca es alta.

Cuadro 4. Relaciones nutrimentales con tratamientos de Fe en líneas de frijol.

Fe	P/Fe	K/Ca	K/Fe	Mn/Fe	Cu/Fe	Zn/Fe
0	0.055 a	1.2 a	0.31 a	6.23 a	0.18 a	1.01 a
1	0.04 b	0.9 b	0.13 b	1.19 b	0.05 b	0.46 b
DMS	0.007	0.2	0.04	0.87	0.02	0.11

Los valores con la misma letra, dentro de la columna, son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).

Se ha verificado a menudo que los órganos cloróticos presentan concentraciones altas de K (Loué, 1988), este efecto se atribuye a que el exceso de K en las hojas puede desplazar al Fe de las superficies metabólicas de las enzimas (El-Kassas, 1984), pero la deficiencia de K es considerada como una susceptibilidad a la clorosis férrica. El K favorece la absorción de Fe como resultado de la acidificación del suelo de la rizósfera y a un aumento en la planta del ácido cítrico que transporta Fe dentro de la planta (Marschner, 1995).

Composición mineral en raíz

La adición de 1 mg L⁻¹ de Fe a la solución nutritiva influyó en el aumento de la concentración de N, P, K y Fe (Cuadro 5). En las raíces de las plantas que no recibieron Fe se incrementó el Mn, Zn y Cu, mientras que la concentración de Ca, Mg y B no fueron influenciadas. Alhendawi *et al.* (1997) examinaron que la concentración de K⁺ y NO₃⁻ en las raíces es disminuida por el HCO₃⁻, debido a un aumento de flujo de estos iones hacia el medio. Altas concentraciones de CO₃²⁻ y HCO₃⁻ (pH alcalino) inducen una baja disponibilidad de nutrimentos como Fe y algunas veces de P (Dell'Orto *et al.*, 2003; Parrilla y Schmidt, 2019).

Cuadro 5. Concentración nutrimental promedio en tejido de raíz de plantas de frijol (mg L⁻¹).

	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
Fe										
0	35.5 b	15.1 b	34 b	14.1 a	13.2 a	1125.5 b	1887.7 a	478.9 a	248 a	185.1 a
1	41.7 a	22.1 a	37 a	12.5 a	13.4 a	1427.8 a	983.1 b	189.8 b	42.3 b	166.8 a
DMS	1.5	2.4	2.2	1.6	1.3	284.1	213.8	67.4	25.6	32.1
pH										
6	39.1 a	20.6 a	35.4 a	12 b	12.7 a	1245.7 a	1340.9 a	320.8 a	146.3 a	173 a
8.5	38 a	16.5 b	35.6 a	14.7 a	13.8 a	1307.6 a	1529.9 a	347.8 a	144 a	178.9 a
DMS	1.5	2.4	2.2	1.6	1.3	284.1	213.8	67.4	25.6	32.1

Los valores con la misma letra, dentro de la columna, son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).

Alhendawi *et al.* (1997) mencionan que al incrementar la concentración de HCO_3^- disminuye el contenido y concentración de Fe en las raíces y en un porcentaje similar en el vástago. Esto indica que la reducción de Fe inducida por el HCO_3^- en el vástago no es un efecto específico de translocación de Fe de la raíz hacia el vástago, sino en la absorción de Fe por la raíz. Alam *et al.* (2001) hallaron que la concentración de Mn es mayor que en raíz en plantas con y sin Fe. El pH de seis en la solución incrementó la concentración de P y a pH 8.5 aumentó la de Ca. La concentración de otros nutrimentos fue afectada por el pH.

La línea T₂ alcanzó mayor concentración de N y B las raíces de las plantas sin aplicación de Fe (Cuadro 6). Respecto a K, la línea 496, 493 y 33 fueron las que obtuvieron mayor concentración y T₂ la menor. La concentración de Fe y Mg fue mayor en la línea 496. La línea 142 tuvo mayor concentración de Mn y Zn, pero fue menor en Fe, lo cual concuerda con diferentes autores que mencionan que la concentración de Mn y Fe siguen una relación inversa (Roomizadeh y Karimian, 1996; Foy *et al.* 1998; Ghesemi-Fasaei *et al.*, 2003). La línea 493 presentó la mayor concentración de Fe en raíz cuando éstas recibieron Fe. Sin embargo, el grado de clorosis fue el mismo que el de las líneas con menor magnitud (Figura 1).

Cuadro 6. Composición mineral de raíz de frijol con 0 y 1 mg L⁻¹ de Fe en la solución nutritiva.

Fe Línea		(mg g ⁻¹)					(mg kg ⁻¹)				
		N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
0	496	34.4 f	15.7 def	37.1 ab	12.6 ab	15.8 a	1886.8 ab	1989.9 ab	406.6 b	241.1 a	148.6 b
0	493	34.9 ef	17.9 cdef	36.2 ab	13 ab	14.5 ab	1418.7 bc	2170.1 a	509.6 ab	253.7 a	164.3 ab
0	T ₂	38.5 cde	12.8 f	29.6 c	14.1 a	14.5 ab	685.9 de	1868.2 ab	517.3 ab	238.7 a	198.9 a
0	142	33.6 f	15.3 def	32.9 abc	14.1 a	10.8 cd	461.4 e	2162.5 a	619.8 a	269.8 a	171.5 ab
0	101	35 ef	13.7 ef	32 bc	15.3 a	10 d	704.8 de	1469.9 bc	411.8 b	235.7 a	169.3 ab
0	33	36.3 def	15 def	36.5 ab	15.5 a	13.6 abc	1595.4 bc	1665.5 ab	408 b	249 a	169.7 ab
1	496	41.1 abc	24.5 ab	37.5 ab	12.1 ab	14.4 ab	1548.6 bc	1013.6 cd	196.9 c	44.9 b	187.1 ab
1	493	41.4 abc	26.3 a	36.9 ab	13.4 ab	13.7 abc	2295.9 a	1040.2 cd	170.4 c	38.4 b	148.1 b
1	T ₂	41.4 abc	20.6 abcd	38.1 a	13.4 ab	14.4 ab	1017.9 cde	967.1 cd	209.1 c	36.1 b	163 ab
1	142	44.1 a	22.1 abc	36 ab	13 ab	12.4 bcd	945.8 cde	1017.5 cd	182.8 c	36.6 b	181.4 ab

Fe Línea		(mg g ⁻¹)					(mg kg ⁻¹)				
		N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
1	101	42.4 ab	20 bcd	37.5 a	10.1 b	13.4 abc	1490.1 bc	868.5 d	173.5 c	33.3 b	170.3 ab
1	33	39.6 bcd	19 bcde	35.9 ab	13.3 ab	11.8 bcd	1268.3 bcd	992.1 cd	205.9 c	64.6 b	150.9 b
	DMS	3.6	5.8	5.4	4	3.1	695.9	523.7	165	62.8	41.7

Los valores con la misma letra, dentro de la columna, son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).

El coeficiente de transferencia de todos los nutrientes aumentó en hojas cloróticas (Cuadro 7), por lo que la deficiencia de Fe incrementa la translocación de éstos hacia las hojas jóvenes. La raíz y el vástago interactúan transfiriendo nutrientes entre vasos del xilema que nutren las hojas y esos hacia el tallo (Jeschke y Hartung, 2000).

Cuadro 7. Coeficiente de transferencia de nutrimentos entre hojas jóvenes y raíz de frijol.

	Fe	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
0	1.24 a	0.53 a	1.18 a	2.77 a	0.69 a	0.26 a	0.47 a	0.52 a	0.25 a	1.94 a	
1	1.03 b	0.36 b	0.64 b	2.4 b	0.5 b	0.16 b	0.25 b	0.34 b	0.1 b	1.3 b	
	DMS	0.11	0.07	0.11	0.34	0.09	0.09	0.07	0.07	0.03	0.27

Los valores con la misma letra, dentro de la columna, son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).

El contenido y concentración de Fe en cebada, sorgo y maíz, en todas las partes de la planta son significativamente reducidos por niveles elevados de bicarbonato (Alhendawi *et al.*, 1997). Alhendawi *et al.* (1997) observaron que el suministro de bicarbonatos resulta en una acumulación de ácidos orgánicos en raíces y una disminución en la absorción y translocación de Fe. Se ha encontrado que el bicarbonato evita la translocación de Fe hacia órganos jóvenes y el transporte de Fe del apoplasto dentro del citoplasma al nivel de ápice (Mengel, 1994), aunque no es una tesis general (Römheld, 2000). Toulon *et al.* (1992); Susin *et al.* (1996) han demostrado que la reducción de Fe³⁺ en el apoplasto de raíces intactas ocurre a pH bajos.

Volumen radical

En las plantas sin Fe no hubo diferencia estadísticamente significativa (Figura 3), pero donde el Fe estuvo presente, la línea 496 y 33 tuvieron mayor volumen radical, mientras que en la línea 101 éste fue menor. La deficiencia de Fe produce respuestas fisiológicas en la raíz (Abadía *et al.*, 2000; Tripathi *et al.*, 2018), las cuales incluyen transformación de raíces epidérmicas en células transfer (Schmidt y Bartels, 1996), acidificación de la rizosfera (Alcántar *et al.*, 1991) e incremento en la capacidad de reducción férrica de las raíces (Robinson *et al.*, 1999).

El desarrollo de cambios morfológicos y fisiológicos en raíz es otra respuesta encontrada en dicotiledóneas deficientes de Fe. La proliferación de pelos radicales es una modificación inducida por deficiencia de Fe, en plantas que realizan la estrategia I (Landsberg, 1996). En *Causarian glauca* la deficiencia de Fe es uno de los principales factores, además del P, en la inducción la formación de raíces cluster (proteoides) inclusive revirtiendo la formación de raíces cluster por deficiencia de P debido a la adición de Fe al medio nutritivo. Además, la formación de este tipo de raíces parece ser una respuesta morfológica eficiente al estrés por Fe (Arahou y Diem, 1997; Connorton *et al.*, 2017).

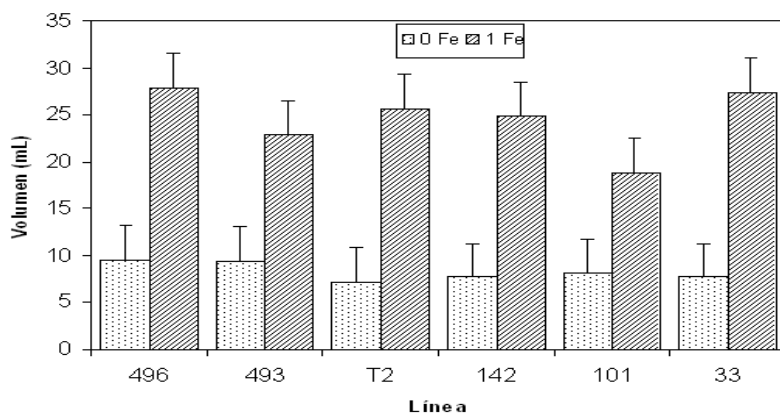


Figura 3. Efecto de línea de frijol y concentración de hierro sobre el volumen radical.

Campbell y Nishio (2000) localizaron que plantas bajo deficiencia de Fe disminuye el crecimiento de la punta radical, retardamiento de crecimiento de tejido radical y producción de raíces laterales, además de la formación de numerosos pelos radicales que correlaciona con un descenso significativo de clorofila. Estas raíces producen y excretan fosfatasa y ácidos orgánicos que acidifican el suelo y quelatan los minerales movilizando P y otros micronutrientes. El detrimento de la adquisición de Fe puede ser una consecuencia de la inhibición del crecimiento radical (Alhendawi *et al.*, 1997).

Los bicarbonatos absorbidos a través de las raíces llegan a ser utilizados en la síntesis de ácidos orgánicos, siendo fijados *in situ* por fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPasa) para formar oxalacetato, el cual es reducido para producir malato (Cramer *et al.*, 1993). En arroz, la inhibición del crecimiento radical por la alta concentración de bicarbonatos está relacionada con altas concentraciones de ácidos orgánicos en las raíces (Wairich *et al.*, 2019).

Materia seca

No se presentaron diferencias significativas en materia seca en las plantas que crecieron sin suministro de Fe (Figura 4). Cuando se adicionó Fe, las líneas 496, 33 y T₂ produjeron más materia seca y el menor valor correspondió a la línea 101. Esto concuerda con el volumen radical, ya que tienen la misma tendencia, así un buen sistema radical influye en una mayor producción de biomasa. Sin embargo, sólo en T₂ las lecturas SPDAD fueron mayores. Belkhodja *et al.* (1998; Connorton *et al.*, 2017) mencionan que la disminución en la concentración de clorofila no es siempre debido a la deficiencia de Fe, sino a un efecto de dilución; y que puede ser resultado de dos procesos; a dilución de la clorofila causada por el crecimiento y subsecuente inhabilidad para producir o estabilización en las membranas de los tilacoides nuevas moléculas.

Se reportó en cebada, sorgo y maíz que incrementos en la concentración de iones bicarbonato en el medio nutritivo propicia clorosis férrica, disminuye notablemente la biomasa seca de raíz y vástago (Alhendawi *et al.*, 1997; Jia *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2021). Bertamini y Nedunchzian, 2005; Riaz *et al.*, 2021) encontraron una reducción del 37% de biomasa seca en hojas de uvas deficientes de Fe.

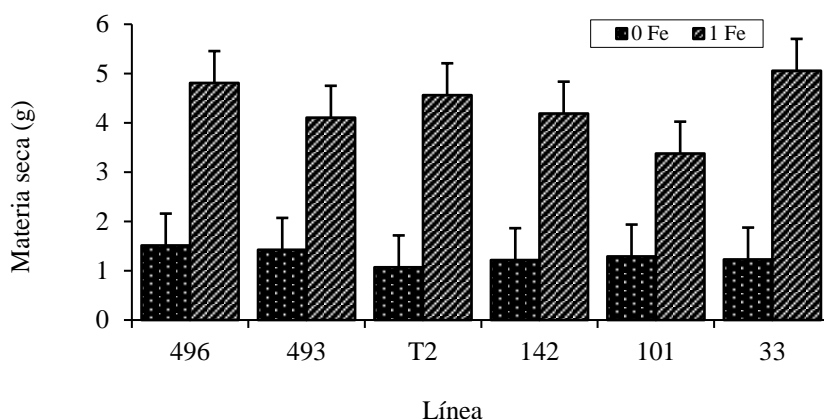


Figura 4. Producción biomasa seca de líneas de frijol expuestas a deficiencia y suministro de Fe.

Conclusiones

La clorosis férrica aumenta el IDN, el coeficiente de transferencia, la relación P/Fe y K/Ca y la concentración de K, Ca, Mg, Mn, Zn, Cu y B en hojas jóvenes de frijol. En ausencia de Fe la línea 496 presenta menor clorosis, incrementa la relación P/Mg y la concentración de P y K. Cuando el Fe está presente en la solución nutritiva, mientras que las líneas 496 y 33 presentaron índices nutrimentales bajos y mayor producción de biomasa seca.

La línea T₂ resultó susceptible a deficiencia de Fe, pero con dosis de 1 mg L⁻¹ en la solución tuvo mayor producción de biomasa seca, volumen radical y no presentó clorosis férrica. La línea 33 fue clasificada como susceptible y aumentó las relaciones N/P, B/P, Ca/P y disminuyeron la concentración de P, K y B. La adición de 1 mg L⁻¹ de Fe aumentó la concentración de N, P, K y Fe y sin abasto de Fe incrementó la concentración de Mn, Zn y Cu en raíz.

Literatura citada

- Abadía, B. A.; Sanz, E. M.; Rivas, J. and Abadía, B. J. 1989. Photosynthetic pigments and mineral composition of iron deficient pear leaves. *J. Plant Nutr.* 12(7):827-838.
- Abadía, B. J. 1992. Leaf responses to Fe deficiency: a review. *J. Plant Nutr.* 15(10):1699-1713.
- Abadía, B. J. and Abadía, B. A. 1993. Iron and plant pigments. *In: iron chelation in plants and soil microorganisms.* Ed. Academic press, New York. 327-343 pp.
- Abadía, B. J.; Morales, I. F. and Abadía, B. A. 2000. Photosystem II efficiency in low chlorophyll, iron-deficiency leaves. *Plant and Soil.* 215(1):183-192.
- Alhendawi, R. A.; Volker, R.; Kirkby, E. A. and Marschner, H. 1997. Influence of increasing bicarbonate concentrations on plant growth, organic acid accumulation in roots and iron uptake by barley, sorghum, and maize. *J. Plant Nutr.* 20(12):1731-1753.
- Arahou, M. and Diem, H. G. 1997. Iron deficiency induce cluster (proteoid) root formation in *Casuarina glauca*. *Plant and Soil.* 196(1):71-79.
- Belkhodja, R. F.; Morales, I. F.; Sanz, E. M.; Abadía, B. A. and Abadía, B. J. 1998. Iron deficiency in peach trees: effects on leaf chlorophyll and nutrient concentrations in flowers and leaves. *Plant and Soil.* 203(1):257-268.

- Bertamini, M. and Nedunchzhin, N. 2005. Grapevine growth and physiological response to iron deficiency. *J. Plant Nutr.* 28(5):157-163.
- Bohórquez, J. M.; Romera, F. J. Alcántara, V. E. 2001. Effect of Fe³⁺, Zn²⁺ and Mn²⁺ on ferric reducing capacity and regreening process of the peach rootstock Nemaguard (*Prunus persica* (L.) Batsch). *Plant and Soil.* 237(1):157-163.
- Campbell, S. A. and Nishio, J. N. 2000. Iron deficiency studies of sugar beet using an improved sodium bicarbonate-buffered hydroponic growth system. *J. Plant Nutr.* 23(6):741-757.
- Clark, R. B. 1991. Iron: unlocking agronomic potential. *Solutions.* 35(3):24-28.
- Connorton, J. M.; Balk, J. and Rodríguez, C. J. 2017. Iron homeostasis in plants an overview in. *Metallomics.* 9(7):813-823.
- Cramer, M. D. O.; Lewis, A. M. and Lips, S. H. 1993. Inorganic carbon fixation and metabolism in maize roots as affected by nitrate and ammonium nutrition. *Physiol. Plant.* 89(3):632-639.
- Curtin, C. H. and Wen, G. Z. 2004. Plant cation-anion balance as affected by the ionic composition of the growing medium. *Plant Soil.* 267(1/2):109-115.
- Dell'Orto, M. X.; Nisi, P. D.; Pontiggia, A. and Zocchi, G. 2003. Fe deficiency response in *Parietaria diffusa*: a calcicole plant. *J. Plant Nutr.* 26(10):2057-268.
- Foy, C. D. M.; Farina, P. W. and Oakes, A. J. 1998. Iron manganese interactions among clones of nilegrass. *J. Plant Nutr.* 21(5):987-1009.
- Jia, X. M.; Zhu, Y. F.; Hu, Y.; Cheng, L.; Zhao, T. and Wang, Y. 2018. Tolerance to iron-deficiency stress of three apple rootstock species in hydroponic system. *Agric. Sci. Technol.* 19(1):21-30.
- Kassas, S. E. 1984. Effect of iron nutrition on the growth, yield, fruit quality and leaf composition of seeded balady lime stress grown on sandy calcareous soil. *J. Plant Nutr.* 11(1-5):677-690.
- Keshirad, A. A.; Bassiri, A. and Kheradnan, M. 1978. Responses of cowpeas to applications of P and Fe in calcareous soils. *Agron. J.* 70(1):67-70.
- Kosegarten, H.U.; Hoffmann, B. and Mengel K. 1999. Apoplastic pH and Fe³⁺ reduction in intact sunflower leaves. *Plant Physiol.* 121(4):1069-1079.
- Köseoglu, A. T. 1995. Effect of iron chlorosis on mineral composition of peach leaves. *J. Plant Nutr.* 18(4):765-776.
- Landsberg, E. C. 1996. Hormonal regulation of iron-stress response in sunflower roots: a morphological and cytological investigation. *Protoplasma.* 194(1):60-80.
- Li, J.; Cao, X.; Jia, X. Liu, L.; Cao, H.; Qin, H. and Li, M. 2021. Iron deficiency leads to chlorosis through impacting chlorophyll synthesis and nitrogen metabolism in *Areca Catechu* L. *Front Plant Sci.* 12(710093):1-17.
- López-Millán, Ana-Flor; Grusak, M. A; Abadía B. A. and Abadía B. J. 2013. Iron deficiency in plants: an insight from proteomic approaches. *Front. Plant Sci.* 4 (254) 1-7.
- Loué, A. 1988. Los micronutrientos en la agricultura. Traductor: Domínguez, A. V. Mundi-Prensa. Madrid, España. 200-354 pp.
- Maldonado, T. R.; Etchevers, B. J. D.; Alcántar, G. J.; Rodríguez, A. J. and Colinas, L. M. T. 2006. Morphological changes in leaves of Mexican lime affected by iron chlorosis. *J. Plant Nutr.* 29(4):615-628.
- Marika, B.; Maria, L. B.; Simona, C.; Tanja, M.; Stefano, C.; Youry, P.; Emidio, A. and Daniele, D.B. 2015. Iron deficiency in barley plants: phytosiderophore release, iron translocation, and DNA methylation. *Front. Plant Sci.* 6(514):1-12.
- Marschner, H. 1988. Mechanisms of manganese acquisition by roots from soils. *In: manganese in soils and plants.* (Ed). Kluwer academic publishers. Boston. 191-204 pp.

- Marschner, H. 1991. Symposium summary and future research areas. Ed. Iron nutrition and interaction in plants. Kluwer academic publisher. The Netherlands. 365-372 pp.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic press. London. 313-324 pp.
- Morales, I. F.; Grasa, R.; Abadía, B. A. and Abadía, B. J. 1998. Iron chlorosis paradox in fruit trees. *J. Plant Nutr.* 21(4):815-825.
- Parrilla, L. and Schmidt, W. 2019. Iron acquisition strategies in land plants: not so different after all. *New Phytologist.* 224(1):11-18.
- Rijck, C. and Schrevens, E. 1997. Ph influenced by the elemental composition of nutrient solutions. *J. Plant Nutr.* 20(7-8):911-923.
- Riaz, N. and Guerinot, M. L. 2021. All together now: regulation of the iron deficiency response. *J. Exp. Bot.* 72(6):2045-2055.
- Robinson, N. J.; Procter, C. M.; Connolly, E. L. and Guerinot, M. L. 1999. A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils. *Nature.* 397(6721):694-697.
- Römheld, V. 2000. The chlorosis paradox: Fe inactivation as a secondary event in chlorotic leaves of grapevine. *J. Plant Nutr.* 23(11-12):1629-1643
- Rout, G. R. and Sunita, S. 2015. Role of iron in plant growth and metabolism. *Reviews Agric. Sci.* 3(1-2):1-24.
- Schaller, G. 1987. pH changes in the rhizosphere in relation to the pH-buffering of soils. *Plant Soil.* 97(3):439-444.
- Schmidt, W. and Bartels, M. 1996. Formation of root epidermal transfer cell in *Plantago*. *Plant Physiol.* 110(1):217-225.
- Schmidt, W.; Thomine, S. and Buckhout, T. J. 2020. Iron nutrition and interactions in plants. *Front. Plant Sci.* 10(670)1-4.
- Susin, S. A.; Abadía, J. A.; González-Reyes, J.; Lucena, J. J. and Abadía, B. J. 1996. The pH requirements for *in vivo* activity of the iron deficiency-induced 'Turbo' ferric chelate reductase: a comparison of the iron deficiency induced iron reductase activities of intact plants and isolated plasma membrane fractions in sugar beet. *Plant Physiol.* 110(1):111-123.
- Thomas, F. M.; Brandt, T. and Hartmann, G. 1998. Leaf chlorosis in Pedunculate oaks (*Quercus robur* L.) on calcareous soils resulting from lime induced manganese/iron deficiency: soil conditions and physiological reactions. *Angew. Bot.* 72(1-2):28-36.
- Toulon, V.; Sentenac H.; Thibaud, J.B.; Davidian, J. C.; Moulineau, C. and Grignon, C. 1992. Role of apoplastic acidification by H⁺ pump: effect on the sensitivity to pH and CO₂ of iron reduction by roots of *Brassica napus* L. *Planta.* 186(2):212-218.
- Tripathi, D. K.; Singh, S.; Gaur, S.; Singh, S.; Yadav, V.; Liu, S.; Singh; Sharma, S.; Srivastava, P.; Prasad; S.; Dubey; N. K.; Chauhan, D. K. and Sahi, S. 2018. Acquisition and homeostasis of iron in higher plants and their probable role in abiotic stress tolerance. *Front. Environ. Sci.* 5(86):1-15.
- Wairich, A.; Oliveira, B. N.; Arend, E. B.; Duarte, G. L.; Ponte, L. R.; Sperotto, R. A.; Ricachenevsky, F. K. and Fett, J. P. 2019. The combined strategy for iron uptake is not exclusive to domesticated rice (*Oryza sativa*). *Scientific Reports.* 9(16144):1-17.
- Welkie, G. W. and Miller, G. W. 1993. Plant iron uptake physiology by nonsiderophore system. *In: iron chelation in plants and soils microorganisms.* Ed. Barton, L. L. and Hemming, B. C. Academic press. New York. 345-370 pp.
- Yang, X.; Römheld, V. and Marschner, H. 1994. Effect of bicarbonate on root growth and accumulation of organic acids in Zn-inefficient and efficient rice cultivars *Oriza sativa* L. *Plant and Soil.* 164(1):1-7.