

## ABSORCION Y TRANSPORTE DE HIERRO A PARTIR DE FUENTES ORGANICAS DE DISTINTO PESO MOLECULAR

J. Patricio Miravé, Juan C. Lobartini y Gustavo A. Orioli

Cátedra de Nutrición Mineral y Relación Suelo-Planta, Departamento de Agronomía, CERZOS, Universidad Nacional del Sur, (8000) Bahía Blanca, Argentina

### RESUMEN

Se determinó la absorción y transporte de Fe, en plantas de girasol cultivadas en hidroponia, comparando cuatro fuentes marcadas con  $Fe^{59}$ : Fe-humato completo (Fe-AH), fracciones de peso molecular alto (Fe-AH alto) y medio (Fe-AH medio) y Fe-EDTA. Los resultados mostraron una distinta absorción de Fe a partir de las fuentes estudiadas.

Con Fe-AH medio como fuente de hierro, las plantas absorbieron y transportaron más hierro que con Fe-AH y a su vez esta fuente de Fe produjo una mayor absorción que Fe-AH alto. A las 48 y 96 horas, las absorciones de Fe-EDTA y Fe-AH medio fueron superiores a Fe-AH y Fe-AH alto.

Palabras claves: nutrición vegetal, Fe-humato, fraccionamiento, absorción, transporte.

### IRON ABSORPTION AND TRANSPORT FROM ORGANIC SOURCES OF DIFFERENT MOLECULAR WEIGHT

#### ABSTRACT

Absorption and transport of iron were measured using sunflower plants cultured in nutrient solution with  $Fe^{59}$  as tracer. Different iron sources were evaluated: Fe-HA with complete humic acid, Fe-HA medium with the medium molecular weight fraction, Fe-HA high with the high molecular weight fraction and Fe-EDTA. Results showed different Fe absorption among the sources studied. Plants absorbed more iron from Fe-HA medium than from Fe-Ha, which in turn was more efficient than Fe-HA high. After 48 and 96 hours there were not differences between Fe-Edta and Fe-Ah medium, and both sources were better than Fe-Ha and Fe-Ha high.

Key words: plant nutrition, Fe-humate, fractionation, absorption, transport.

## INTRODUCCION

Las sustancias húmicas del suelo afectan directa e indirectamente el crecimiento y desarrollo vegetal, principalmente por acciones físicas, fisiológicas y químicas (Schnitzer y Khan, 1978 y Stevenson, 1982). Las acciones físicas tienen una influencia indirecta sobre los vegetales debido a que la materia orgánica humificada del suelo afecta la estabilidad de agregados y las condiciones de aireación y drenaje del medio edáfico. El efecto fisiológico, que ha sido y es tema de estudio de numerosos investigadores, se relaciona con la existencia de fracciones húmicas con estructuras similares a las sustancias fisiológicamente activas (Vaughan y Mac Donald, 1971, O'Donnell, 1973 y Vaughan, 1974).

Con respecto a las acciones químicas de las sustancias húmicas, ácidos flúvico y húmico, éstas son de diferente naturaleza. Por un lado hay un aporte de nutrientes a los vegetales dado por la constitución molecular de las sustancias húmicas —caso del nitrógeno en particular— (Tan y Norpamornbodi, 1979); por otra parte hay una acción quelante sobre iones metálicos, generalmente muy poco solubles en el suelo, formando complejos relativamente estables. Así, las sustancias húmicas jugarían un importante rol afectando la disponibilidad de micronutrientes para las plantas (Schnitzer y Khan, 1972, Stevenson y Ardanaki, 1972, Fortun y López-Fando, 1982 y Stevenson, 1982).

Sin embargo poco es conocido aún acerca de la disponibilidad que los complejos formados entre las sustancias húmicas y micronutrientes presentan para el sistema radical de las plantas (Lobartini y Orioli, 1980). Debido a que las sustancias húmicas son heterogéneas y poseen diferencias estructurales en las distintas fracciones de pesos moleculares (Flaig *et al*, 1975), es necesario realizar un estudio referido al efecto de diferentes fracciones húmicas—con distintos contenidos de grupos funcionales, con diferente capacidad de acomplejamiento de cationes y distintas solubilidades— sobre la disponibilidad de nutrientes.

Generalmente los trabajos realizados hasta la fecha, optaron por una simplificación del sistema de nutrición mineral y relación suelo-planta, eliminando así una serie de variables que pueden afectar los resultados finales del ensayo (Hernando *et al*, 1969, Vaughan, 1974 y Mylonas y McCants, 1980). Se ha trabajado en sistemas hidropónicos, con soluciones nutritivas completas, carentes o en niveles subnormales de alguno o varios micronutrientes, agregando al medio humato

de sodio (dada la insolubilidad del ácido húmico). Posteriormente se determinaba el contenido total de nutrientes en planta entera, el peso seco total, el porcentaje de transporte, índices de crecimiento, etc.. Así se observó que las sustancias húmicas, a distintas concentraciones, afectaron las variables analizadas concluyéndose que se producía un acomplejamiento de micronutrientes en la solución nutritiva y se alteraban las absorciones de éstos por las plantas.

Sin embargo mucho más escasos son los resultados presentados sobre la absorción de micronutrientes a partir del humato del respectivo catión (Lobartini y Orioli, 1980). El objetivo del presente trabajo ha sido el de determinar en ensayos de corta duración, la absorción de hierro a partir de humatos de hierro completo y de pesos moleculares alto y medio —mayor de 100.000 y entre 10.000 y 100.000 daltons, respectivamente—, comparando los datos de absorción y transporte con los obtenidos con Fe-EDTA, sustrato usualmente empleado en las soluciones nutritivas. Las determinaciones de absorción y transporte se realizaron usando plantas de girasol como material vegetal.

## MATERIALES Y METODOS

Los ácidos húmicos se extrajeron del horizonte  $a_1$  de un suelo Argiudol típico de la EERA INTA Balcarce, con 5,5% de materia orgánica, textura franca y pH 5,9. El método de extracción y purificación de los ácidos húmicos fue el usado corrientemente en este laboratorio (Lobartini *et al*, 1982).

El fraccionamiento de ácidos húmicos se hizo por ultrafiltración usando una celda AMICON y membranas PM 10 y XM 100 A —con poros de extrusión de 10.000 y 100.000 daltons respectivamente—. El pH se ajustó previamente al proceso de ultrafiltración, llevándolo a 6 con NaOH 0,1 N y luego de cada ciclo de filtración se agregó agua destilada hasta alcanzar el volumen inicial. Las fracciones una vez obtenidas se concentraron y liofilizaron.

Los humatos de hierro fueron preparados usando una técnica de intercambio iónico. A tal efecto, 50 ml de resina débilmente ácida tipo carboxilo (Amberlite IRC 50) fueron colocados en una columna de vidrio de 2,5 cm de diámetro. Luego la resina se saturó con  $Fe^{+2}$  y posteriormente se lavó con agua destilada hasta falta de reacción de Fe libre en el eluyente. A continuación se pasó por la columna así preparada, 50 ml de una solución de ácido húmico completo, de alto o

medio peso molecular con una concentración de 1% y un pH 2,7 (Lobartini *et al.*, 1982). La determinación del contenido de hierro se hizo mediante una técnica colorimétrica, previa digestión húmeda de los humatos de hierro con mezcla ternaria  $\text{HO}_3\text{N}$ ,  $\text{HClO}_4$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  en proporciones de 10:3:1 respectivamente— (Johnson y Ulrich, 1969).

Para los ensayos de absorción y transporte se utilizaron plantas de girasol crecidas durante 15 días en hidropinia y con condiciones controladas de luz, temperatura y humedad relativa (16/8 horas día/noche,  $100 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ; 25/15°C; 70-80% HR). Se utilizó la solución nutritiva de Steimberg (1941), a fin de evitar la precipitación de los ácidos húmicos en soluciones con alto contenido de calcio, como por ejemplo la solución de Hoagland (1950). Las soluciones se completaron con el Fe -humato respectivo o con Fe-EDTA, marcados con  $\text{Fe}^{59}$  como trazador, con una concentración de Fe de  $2 \cdot 10^{-5}$  M.

Las plantas de girasol se colocaron en frascos color caramelo de 250 ml con burbujeo constante de aire en cada frasco. Se colocaron cinco frascos con dos plantas por cada tiempo de absorción—24, 48, 72 y 96 horas— y por cada fuente de hierro, quedando así definidas las diez repeticiones por cada tratamiento.

Terminados los tiempos de absorción establecidos, se lavaron las raíces y las plantas enteras se secaron en

estufas a 70°C, determinando posteriormente el peso seco de la parte aérea y de las raíces. Para determinar la absorción y transporte de Fe, se colocaron las partes vegetales en tubos de radioinmunoensayo prensando las muestras contra el fondo del tubo con un trozo de algodón. La actividad de  $\text{Fe}^{59}$  de las muestras se midió con un espectrómetro Alfa nuclear modelo MOS unido a un contador de pozo con cristal de centelleo de NaI (T1) de 2 x 2 pulgadas. Las condiciones de trabajo fueron 400 voltios de nivel de canal, discriminador abierto y atenuación por dos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Las curvas de absorción versus tiempo mostraron que, en las condiciones en que se desarrolló el ensayo, hacia las 96 horas las absorciones de hierro de los cuatro tratamientos llegan a una meseta. Es por ello que en beneficio de la claridad de la presentación y discusión de los resultados sólo se presentan aquí los datos obtenidos a las 48 y 96 horas de absorción (Tabla N° 1).

El análisis estadístico del peso seco de las plantas completas, y de la parte aérea y raíz por separado (Tabla N° 1, columnas 1, 2 y 3), no mostró diferencias significativas. Por su parte la cantidad de hierro absor-

Tabla 1. Absorción de hierro a 48 y 96 horas a partir de distintas fuentes por plantas de girasol crecidas en condiciones hidropónicas. Los resultados son promedio de diez plantas. Las medias seguidas por igual letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente usando un nivel de significación del 5 por ciento de probabilidad según Tuckey.

Tratamiento	Peso seco (mg)			$\mu\text{g Fe}$ absorbidos			% Fe total		$\mu\text{g Fe} \cdot \text{g}^{-1}$ Peso seco		
	P. aérea	Raíz	Total	P. aérea	Raíz	Total	P. aérea	Raíz	P. aérea	Raíz	Total
<b>48 horas</b>											
Fe - EDTA	142 a	42 a	184 a	17,8 a	30,0 a	47,8 a	36,5 b	63,5 a	125 a	714 a	260 a
Fe - AH	169 a	43 a	212 a	9,7 b	16,4 b	26,1 c	37,2 b	62,8 a	57 b	381 b	123 c
Fe - AH medio	167 a	47 a	214 a	20,7 a	16,0 b	36,7 b	56,4 a	43,6 b	124 a	340 b	171 b
Fe - AH alto	163 a	45 a	208 a	8,3 b	8,3 b	16,6 d	50,0 s	50,0 b	51 b	184 c	80 d
Promedio Gral.	160	43	205	14,1	17,8	31,8	55,0	45,0	89	405	159
<b>96 horas</b>											
Fe - EDTA	274 a	60 a	334 a	18,8 b	39,8 a	58,6 a	32,1 c	67,9 a	69 b	663 a	175 a
Fe - AH	271 a	57 a	328 a	19,9 b	20,1 b	40,0 c	46,7 b	54,3 c	73 b	353 b	122 b
Fe - AH medio	247 a	69 a	316 a	28,0 a	21,1 b	49,1 b	57,0 a	43,0 c	113 a	306 b	156 a
Fe - AH alto	220 a	62 a	282 a	9,4 c	10,7 c	20,1 d	49,0 b	51,0 b	43 c	173 c	71 c
Promedio Gral.	253	62	315	19,0	22,9	42,0	46,0	54,0	75	374	131

bido por las plantas de girasol (Tabla N° 1, columnas 4, 5 y 6), aumentó cuando el tiempo se incrementó de 48 a 96 horas.

A 48 horas las cuatro fuentes de hierro presentaron diferencias significativas en la cantidad total de Fe absorbido. Los valores más elevados se obtuvieron a partir de Fe<sup>59</sup>-EDTA como fuente, seguido por el complejo de Fe<sup>59</sup> con la fracción de ácido húmico de peso molecular medio, y posteriormente Fe<sup>59</sup>-AH y Fe<sup>59</sup>-AH de alto peso molecular. Sin embargo las diferencias entre Fe<sup>59</sup>-EDTA y Fe<sup>59</sup>-AH medio y entre Fe<sup>59</sup>-AH y Fe<sup>59</sup>-AH alto desaparecieron en los  $\mu\text{g}$  de Fe determinados en la parte aérea. Tanto Fe<sup>59</sup>-EDTA como Fe<sup>59</sup>-AH medio duplicaron los valores de concentración de Fe que presentaron los otros dos tratamientos (Tabla N° 1, columna 11). Por otra parte, la concentración encontrada en el sistema radical de las plantas que absorbieron Fe<sup>59</sup>-EDTA (Tabla N° 1, columna 10), fue muy superior al resto de los tratamientos, lo que produjo la diferencia apuntada cuando se analizó estadísticamente la planta entera.

A las 96 horas de tratamiento se mantuvo la diferencia en los  $\mu\text{g}$  de Fe absorbidos total y en raíz (Tabla N° 1, columnas 5 y 6) entre las cuatro fuentes. A su vez la cantidad de Fe absorbida y transportada a la parte aérea (Tabla N° 1, columna 4) fue superior para Fe<sup>59</sup>-AH medio, lo que lo hace una mejor fuente de micronutrimiento que el Fe<sup>59</sup>-EDTA y Fe<sup>59</sup>-AH y Fe<sup>59</sup>-AH alto, los que a su vez transportan menos

del 50% del hierro absorbido (Tabla N° 1, columna 7).

De los resultados presentados surge una marcada diferencia entre las fuentes de hierro analizadas. El hierro acomplejado por las tres fracciones húmicas, presentó una disponibilidad diferencial para las plantas, lo que quedó demostrado por las cantidades absorbidas desde las tres fuentes de AH y, por ende, en las distintas concentraciones del nutriente en el tejido vegetal. El Fe suministrado como Fe-AH alto peso molecular fue el menos disponible para las plantas y consecuentemente fue menor la concentración de Fe determinado en las plantas que tuvieron dicho tratamiento nutricional. Sin embargo es descatable el alto valor de transporte de Fe en condiciones de baja disponibilidad, lo que concuerda con datos obtenidos por Tiffin (1966) y Tiffin *et al* (1960).

Cuando los compuestos orgánicos son evaluados como fuente de hierro en términos de  $\mu\text{g}$  de Fe total absorbido por gramo de peso seco, a las 96 horas el Fe<sup>59</sup>-AH medio igualó al Fe<sup>59</sup>-EDTA. Se podría postular entonces, que el Fe-AH medio y fracciones de menor peso molecular sean las fuentes orgánicas más importantes en los procesos nutricionales de este micronutrimiento. Es decir que parte del hierro presente en el suelo está acomplejado a fracciones de ácidos húmicos y fúlvicos, los que al presentar diferentes complejidades estructurales, distintas movilidades edáficas y constantes de equilibrio de formación de dichos complejos, determinarán una disponibilidad diferencial para las plantas.

#### REFERENCIAS

- Flaig, W., Beutelspacher, H. y E. Rietz, 1975. Chemical composition and physical properties of humic substances. En: Soil Components. Vol. 1. Organic Components, J. E. Gieseking (Ed), Spring-Verlag, New York, Inc. 1-212 pp.
- Fortun, C. y A. Polo, 1982. Efectos de algunos tipos de compuestos húmicos sobre el crecimiento de las raíces de *Zea Mays*. *Agrochimica* 36: 44-54.
- Hernando, V., M. P. Sánchez Conde y B. C. Ortega, 1969. Acción del humato sódico sobre el desarrollo de diversas plantas. *An. Edaf. y Agrobiol.* 28: 791-809.
- Hoagland, D. R. y D. I. Arnon, 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Circular 347, Univ. of California, Berkeley.
- Johnson, C. M. y A. Ulrich, 1969. Analytical methods for use in plant analysis. Bulletin 766, Div. Agr. Sci., Univ. of California, Berkeley.
- Lobartini, J. C., N. R. Curvetto y G. A. Orioli, 1982. Labelling of humic acids with radioiodine. *Int. J. Appl. Radiot. Isot.* 33: 1331-1334.
- Mylonas, V. A. y C. B. McCants, 1980. Effects of humic and fulvic acids on growth of tobacco. 1. Root initiation and elongation. *Plant and Soil* 54: 485-490.
- O'Donnell, R. W., 1973. The auxin like effects of humic preparations from leonardite. *Soil Sci.* 116: 196-206.
- Schnitzer, M. y S. U. Khan, 1972. Humic substances in the environment. Marcel Dekker Inc., New York.
- Schnitzer, M. y S. U. Khan, 1978. Soil Organic Matter. Development in Soil Science 8. Elsevier Sci., Pub. Co., Amsterdam.
- Steimberg, R. A., 1941. Use of *Lemma* for nutrition studies on green plants. *J. Agr. Res.* 62: 423-430.
- Stevenson, F. J., 1982. Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions. John Wiley and Sons, New York.