

HIERRO EN EL SISTEMA SUELO-PLANTA.

JUÁREZ, M.; CERDÁN, M.; SÁNCHEZ-SÁNCHEZ, A.

Depto. Agroquímica y Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante. 03080. ALICANTE

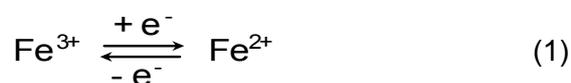
margarita.juarez@ua.es

Introducción.....	1
Hierro en el suelo.....	2
Toma de hierro por la planta.....	4
Transporte de hierro en la planta.....	11
Funciones del hierro en la planta.....	12
Causas de la deficiencia de hierro.....	17
A. Disponibilidad de hierro en el suelo.....	17
B. Concentración de ión bicarbonato.....	20
C. Otros factores.....	20
Síntomas de deficiencia y toxicidad.....	21
Bibliografía.....	22

INTRODUCCIÓN.

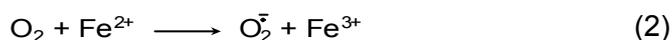
El hierro es uno de los nutrientes vegetales que más problemas presenta en cuanto a la nutrición de los cultivos. Esto se debe en gran medida a que, en sistemas aireados en el rango de los pH fisiológicos, la concentración de los iones Fe^{3+} y Fe^{2+} es inferior a 10^{-15} M, insuficiente para cubrir las necesidades del vegetal. Por tanto, en los suelos y disoluciones nutritivas son los quelatos de Fe(III) y ocasionalmente los de Fe(II) las formas predominantes de hierro soluble. Por regla general, el vegetal toma el Fe(II) con preferencia al Fe(III), si bien esto también depende de la especie vegetal (Estrategia I o II). Mientras el transporte a lo largo del xilema, predominan los complejos de Fe(III).

El hierro es un elemento de transición que se caracteriza por la relativa facilidad con la que puede cambiar su estado de oxidación,

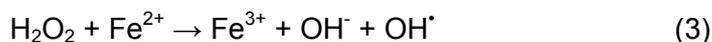


y por su capacidad para formar complejos octaédricos con distintos ligandos. Con una gran variación en el potencial redox de Fe(II)/Fe(III) dependiendo del ligando. Esta variabilidad le confiere una especial importancia en los sistemas redox biológicos. La alta afinidad del hierro por diferentes ligandos, como ácidos orgánicos o fosfatos, hace poco probable que Fe^{2+} o Fe^{3+} sean muy importantes en el transporte a corta o larga distancia en las plantas. Además, en sistemas aerobios muchos quelatos de hierro de bajo peso molecular y el hierro libre en particular, tanto como Fe^{3+} o como Fe^{2+} , son muy eficaces para la producción de

radicales oxígeno e hidroxilo (Halliwell y Gutteridge, 1986) y compuestos relacionados, por ejemplo:



o en la reacción Fenton:



Estos radicales son responsables de la oxidación de los ácidos orgánicos poliinsaturados de las membranas lipídicas. Para prevenir los daños oxidativos por hierro, éste ha de estar fuertemente unido a estructuras orgánicas como las proteínas hemo y no hemo, que permiten controlar la reacción reversible de oxidación reducción (Ecuac 1)

HIERRO EN EL SUELO.

El hierro es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre después de Si, O y Al, representa el 5,1% de su peso total, su contenido en suelo se estima en un 3,8% (Lindsay, 1979). La mayoría del hierro se presenta en las estructuras cristalinas de numerosos minerales. Al igual que para el resto de nutrientes el punto de partida del Fe en el suelo son los minerales primarios (Fig.1), que incluyen silicatos ferromagnéticos, como olivino, augita, hornblenda y biotita; estos minerales junto con las biotitas constituyen la mayor fuente de hierro en las rocas ígneas. A partir de la meteorización de los minerales primarios se libera Fe soluble a la disolución, que podrá ser utilizado por los organismos, unirse a distintos ligandos orgánicos, o bien ser transformado a minerales secundarios tales como sulfuros, carbonatos, minerales de arcilla, pero fundamentalmente óxidos e hidróxidos de distinta composición y grados de cristalización, que serán los que controlen principalmente la solubilidad de este elemento en el suelo (Murad y Fischer, 1988; Lindsay, 1979).

En la meteorización de las rocas del suelo se producen las siguientes reacciones de hidrólisis y oxidación:



los electrones son tomados por el oxígeno atmosférico:



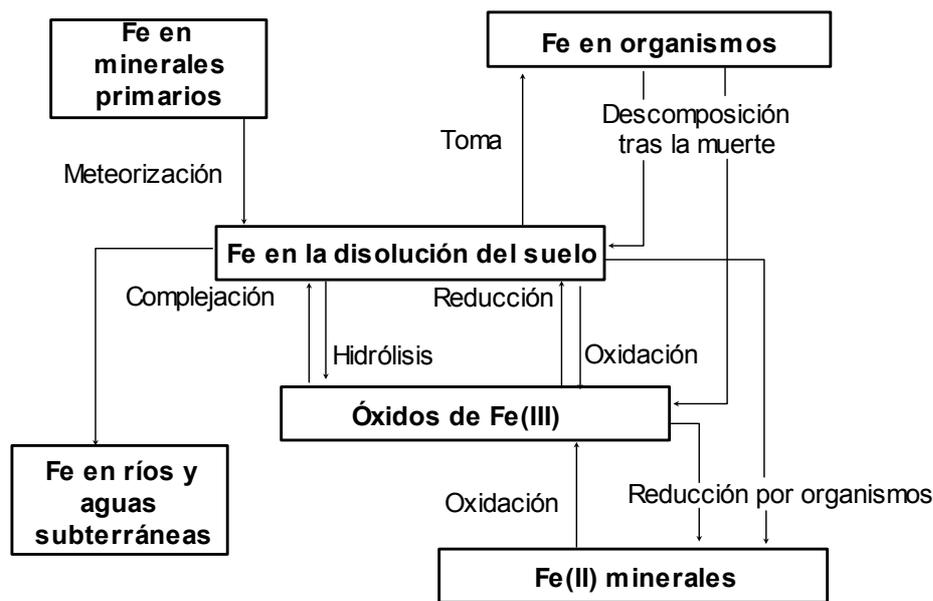


Fig. 1.- Ciclo del hierro en el suelo (Adaptada de Murad y Fischer, 1988).

Debido a la extremadamente baja solubilidad de los óxidos de Fe^{3+} en el rango de pH normal en suelos, el hierro liberado precipitará rápidamente como óxido o hidróxido. Sólo una pequeña parte del hierro oxidado se incorporará a silicatos laminares secundarios (arcillas) y/o es complejado por la materia orgánica (Schwertmann y Taylor, 1989). La reversibilidad de la reacción de oxidación-reducción del hierro juega un papel importante en su comportamiento en los suelos (Schwertmann y Taylor, 1989; Schwertmann, 1991). Bajo condiciones de anaerobiosis, los microorganismos pueden utilizar los óxidos de Fe^{3+} como aceptores finales de electrones para realizar la descomposición oxidativa de la materia orgánica, lo que da lugar a la reducción del Fe^{3+} a Fe^{2+} , que generalmente es más soluble y facilita la solubilidad de los óxidos (Schwertmann y Taylor, 1989). A pesar de su baja concentración en suelos, los óxidos de hierro tienen un alto poder pigmentante y determinan el color de muchos suelos, por encontrarse recubriendo muchas de las partículas de éstos (Allen y Hajek, 1989). Así, el color del suelo, debido al tipo y distribución de los óxidos de hierro en el perfil, es una valiosa ayuda en la génesis y clasificación de los mismos. Estos compuestos son muy eficaces en la retención de aniones como fosfato, molibdato y silicato, y elementos traza como Cu, Pb, V, Zn, Co, Cr y Ni (Schwertmann y Taylor, 1989), algunos de los cuales son esenciales para la nutrición de las plantas. Esta propiedad se debe a su naturaleza química y a la, por lo general, gran superficie específica de los mismos. También poseen, los óxidos de hierro, poder cementante que les permite influir en la estructura de los suelos (Schwertmann y Taylor, 1989; Schwertmann, 1991; Allen y Hajek, 1989).

La goethita es el óxido de hierro más frecuente en los suelos, debido a que es el que mayor estabilidad presenta, bajo las condiciones de este medio, por lo que se encuentra en muchos tipos de suelos y regiones climáticas, y es responsable del color ocre de muchos de ellos (Schwertmann y Taylor, 1989). Le sigue en frecuencia la hematita, con quién aparece asociada en muchas ocasiones; pero mientras la primera parece no estar restringida a una región climática dada, la hematita se da en áreas tropicales donde las condiciones de temperatura y pH favorecen su formación. Es de color rojo y posee un gran poder de pigmentación (Schwertmann y Taylor, 1989). De acuerdo con Chen y Barak (1982) la solubilidad de los óxidos e hidróxidos de hierro disminuye en el orden siguiente: $\text{Fe}(\text{OH})_3$ amorfo > $\text{Fe}(\text{OH})_3$ del suelo > $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ maghemita > $\gamma\text{-FeOOH}$ lepidocrocita > $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ hematita > goethita.

TOMA DE HIERRO POR LA PLANTA.

De los dos estados de oxidación en que se presenta el hierro en el suelo: férrico ($\text{Fe}(\text{III})$) y ferroso ($\text{Fe}(\text{II})$), está aceptado que la planta toma preferentemente el $\text{Fe}(\text{II})$, para ello se ve obligada a reducir la forma predominante de hierro en los suelos aerobios ($\text{Fe}(\text{III})$). Este proceso lo realiza un enzima reductasa (Fig. 2), situada en la membrana plasmática de la raíz (Bienfait, 1985; Römheld, 1987) que es capaz de reducir aceptores externos de electrones de alto potencial como el ferricianuro (+360 mV) y posiblemente O_2 (+280 mV), así como moléculas de quelatos férricos sintéticos con potenciales menores (entre +100 y +250 mV) (Nikolić, 1998). Este enzima alcanza su máxima actividad a pH entre 4 y 5 (Schmidt y Bartels, 1997). Por otro lado, las temperaturas extremas (muy por encima o por debajo de 25°C), los valores de pH mayores de 7,5 y la presencia de metales pesados afectarán su actividad (Lucena, 2000).

En situaciones en las que existe una carencia de hierro en el medio, las plantas superiores han desarrollado una serie de mecanismos para aumentar la disponibilidad del Fe en la disolución del suelo. Dichas plantas se dividen en dos grupos dependiendo del modelo de respuesta que desarrollen bajo este déficit, plantas de Estrategia I y de Estrategia II (Marschner et al., 1986; Brown y Jolley, 1988; Hopkins et al., 1992).

La **Estrategia I** la presentan las plantas di- y monocotiledóneas, excepto las gramíneas. Se caracteriza por al menos dos subestrategias, presentándose una tercera en muchos casos (Fig. 3).

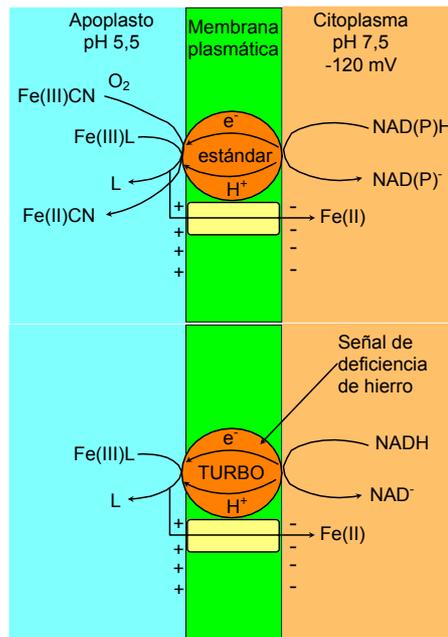


Fig. 2.- Sistema estándar de reducción de hierro.

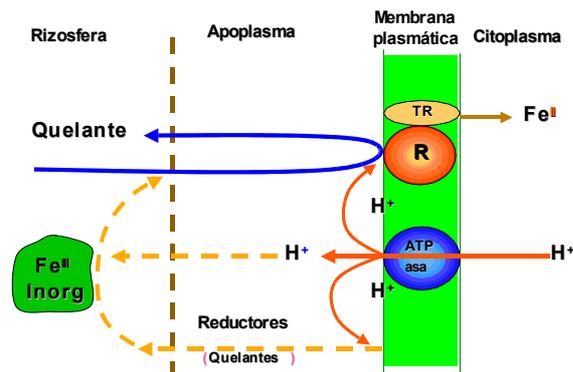


Fig. 3.- Modelo de respuesta de las plantas de Estrategia I a la deficiencia de hierro.

La subestrategia uno, consiste en un aumento de la actividad de una reductasa unida a la membrana plasmática en las células de la rizodermis (Fig. 3 (R)), responsable de la reducción del Fe^{3+} , lo que da lugar a un aumento de la velocidad de descomposición de los quelatos de Fe^{3+} y consiguiente toma del hierro reducido por la planta. Se trata de un enzima transmembrana (reductasa de quelatos férricos), capaz de reducir el Fe con electrones provenientes de NADPH citoplasmático (Moog y Brüggemann, 1994; Rabotti y Zocchi, 1994; Susin et al., 1996; Rombolà et al., 2002). Esta disociación de los quelatos es el principal mecanismo de la Estrategia I. Esto hace que las células radiculares de las plantas de Estrategia I posean dos sistemas de reducción de Fe^{3+} (Fig. 2), la reductasa estándar y la

reductasa turbo, siendo su capacidad reductora unas 20 veces mayor que la del sistema estandar (Moog y Brüggemann, 1994).

La subestrategia dos consiste en la expulsión de H^+ por las raíces a la rizosfera. Esta subestrategia es menos frecuente y sólo la presenta algunas dicotiledóneas (Marschner et al., 1986; Zocchi y Cocucci, 1990; Toulon et al., 1992). Aunque la bomba redox transmembrana puede contribuir a la excreción neta de protones, el fuerte aumento en la excreción neta de protones en deficiencia de hierro es más probable que se deba a una mayor actividad de la bomba de expulsión de protones de la membrana plasmática (Fig. 3) (ATPasa) que a la reductasa. La acidificación de la rizosfera además de contribuir a la solubilización del hierro del suelo, mejora la actividad de la reductasa (reductasa de quelatos férricos) que se ve muy estimulada por pH bajo, y mejora la afinidad por el sustrato de dicha reductasa, lo que puede atribuirse a una neutralización de la carga negativa de las superficie celulares y por tanto impedir la repulsión de las quelatos de hierro cargados negativamente por los lugares de reducción (Schmidt, 2006). La liberación de H^+ va unida a cambios morfológicos en las raíces de las plantas, como el incremento de raíces laterales, pelos radiculares y células de transferencia (Kramer et al., 1980; Landsberg, 1982; Marschner et al., 1986; López-Millán et al., 2001a). Estas células rizodérmicas de transferencia son probablemente centros de flujo de H^+ en las raíces con deficiencia de hierro. Una vez que se suministra hierro, las células de transferencia degeneran en uno o dos días con la consiguiente disminución de la liberación de H^+ (Römheld y Marschner, 1986).

La tercera subestrategia se pone en marcha en ciertas especies, como consecuencia de la acidificación de la rizosfera, consistente en la liberación por las raíces de sustancias reductoras, principalmente de naturaleza fenólica. Uno de estos reductores, el ácido caféico, se ha encontrado en plantas de tomate (Olsen et al., 1981). Sin embargo, parece que la importancia de estos compuestos radica más en su poder quelante que en su capacidad reductora. La expulsión de estas sustancias aumenta al disminuir el pH, de ahí, su relación con la segunda subestrategia. Las plantas que presentan Estrategia I se caracterizan por la inducción de un sistema de transporte de Fe^{2+} en la membrana plasmática (Young y Terry, 1982; Fox et al., 1996; Fox y Guerinot, 1998). Estudios llevados a cabo con plantas de pepino muestran que existen dos sistemas de transporte de Fe distintos (uno de alta y otro de baja afinidad). En condiciones de suficiencia de hierro, el sistema de baja afinidad es el que aporta hierro a la planta mientras que cuando se producen deficiencias de este elemento, es activado el sistema de alta afinidad (Zaharieva y Römheld, 2000).

Las responsables del transporte del hierro reducido (Fe(II)) al citoplasma parecen ser proteínas unidas a la reductasa (Fig. 3 (TR)) (Schmidt, 2006). La transformación del estado nutricional en hierro de las células a señales para la activación de los mecanismos de respuesta en la membrana plasmática parece deberse a proteínas de la familia LEA (late embryofenesis abundant) con capacidad para unirse al hierro (Schmidt, 2006).

La **Estrategia II** está confinada a gramíneas y caracterizada, por un aumento inducido por la deficiencia de hierro, de la liberación de aminoácidos no proteicos, los denominados fitosideróforos (Takagi et al., 1984; Takagi, 1993). La liberación sigue un ritmo diurno característico (Fig. 4) y es rápidamente reducida con el reaporte de hierro (Marschner, 1995). El ritmo diurno en la liberación de fitosideróforos en las plantas deficientes en hierro está relacionado inversamente con el volumen de un tipo particular de vesículas en el citoplasma de las células corticales (Nishizawa y Mori, 1987).

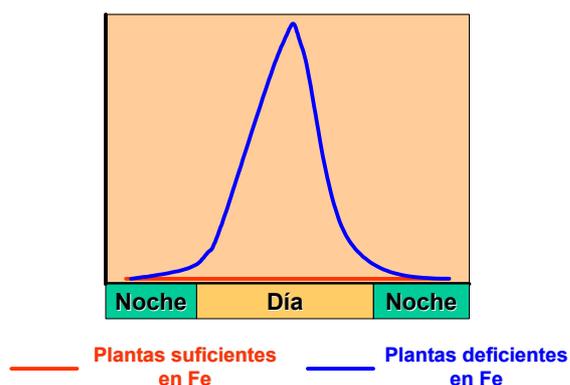


Fig. 4.- Esquema de liberación de fitosideróforos por cebada.

Fitosideróforos como el ácido mugineico (Fig. 5), forman complejos muy estables con el Fe(III), la constante de estabilidad en agua es del orden de 10^{33} (Murakami et al., 1989). En la membrana plasmática de las células radiculares de las gramíneas está presente, como un segundo componente de la Estrategia II, un sistema de transporte altamente específico para los complejos Fe(III)-fitosideróforo (Transportador (Tr), Fig. 6) (Römheld y Marschner, 1990), que transfiere el Fe(III)-fitosideróforo al citoplasma. En las especies vegetales con Estrategia I este sistema de transporte está ausente. Aunque los fitosideróforos forman también complejos con otros metales pesados como el cinc, cobre y manganeso (Fig. 6), el transportador en la membrana plasmática tiene sólo una baja afinidad por los correspondientes complejos. Sin embargo, la liberación de fitosideróforos puede aumentar indirectamente la velocidad de toma de estos otros metales por aumento de su movilidad en

la rizosfera y en el apoplasto radicular (Zhang et al., 1991a,b,c). Bajo deficiencia de hierro no sólo aumenta la liberación de fitosideróforos sino también la velocidad de toma del complejo Fe(III)-fitosideróforo, indicando una mayor capacidad de transporte debido tanto a un incremento en el número como en la velocidad de recambio del transportador (Marschner, 1995).

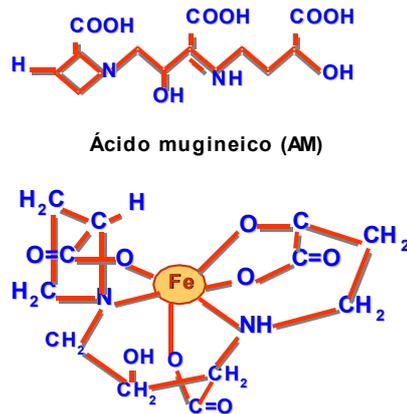


Fig. 5.- Estructura de fitosideróforo del ácido mugineico.

Aunque este sistema de fitosideróforos es similar al sistema sideróforo de los microorganismos (Winkelmann, 1986), la afinidad por los fitosideróforos en los vegetales es dos o tres veces mayor que por los sideróforos procedentes de los microorganismos, o por los quelatos sintéticos de hierro como FeEDDHA (Marschner, 1995).

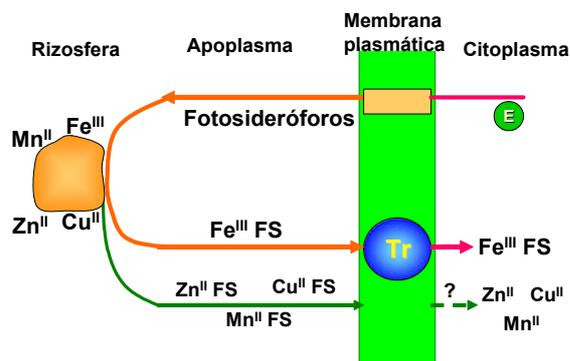


Fig. 6.- Modelo de respuesta de las plantas de Estrategia II a la deficiencia de hierro.

Tabla I.

GENES IMPLICADOS EN LA TOMA Y DISTRIBUCIÓN DE HIERRO EN PLANTAS DE ESTRATEGIA I. (Schmidt, 2006)				
Gen	Función	Respuesta a la deficiencia de Fe	Mayor expresión	Localización subcelular
<i>AtFRO2</i>	Movilización Fe	Inducida	Epidermis	
<i>AtFRO3</i>	Movilización Fe	Inducida	n i	n i
<i>PsFRO1</i>	Movilización Fe	Inducida	Epidermis	n i
<i>LeFRO1</i>	Movilización Fe	Inducida	n i	Membrana plasmática
<i>AtIRT1</i>	Toma Fe	Inducida	Epidermis	Membrana plasmática
<i>AtIRT2</i>	Secuestro Fe	Inducida	Epidermis	Membrana intercelular
<i>PsIRT1</i>	Toma Fe	Inducida	n i	n i
<i>LeIRT1</i>	Toma Fe	Inducida	Epidermis	Membrana plasmática
<i>LeIRT2</i>	No clara	No afectada	Epidermis y parénquima vascular	n i
<i>AtYSL2</i>	Movimiento lateral de metales en el sistema vascular.	Baja regulación	Diferentes tipos de células	Membrana plasmática
<i>AtOPT3</i>	Transporte de metal	Inducida	Tejido vascular	n i
<i>AtCCC1</i>	Movilización de metales del citosol a las vacuolas.	n i	n i	Vacuola
<i>AtNRAMP3</i>	Movilización de los metales de la vacuola	Inducida	Tejido vascular	Vacuola
<i>AtNRAMP4</i>	No clara	Inducida	Tejido vascular	Vacuola
<i>LeNRAMP1</i>	Adquisición o redistribución.	Inducida	Epidermis, cortex, tejido vascular	Vesículas intercelulares
<i>LeNRAMP3</i>	No claro	Ligeramente Inducida	n i	Difuso
<i>GmDMT1</i>	Homeostasis de Fe de nódulos	n i	Nódulos	PMB
<i>AtAHA1,2,4,7</i>	Movilización Fe?	Inducida	Epidermis	Membrana plasmática
<i>CsHA1</i>	Movilización Fe?	Inducida	n i	n i
<i>AtFRD3</i>	Carga del xilema	Inducida	Periciclo, cilindro vascular	Membrana plasmática (?)
<i>LeFER</i>	Regulación del Fe	Ligera regulación baja	Epidermis, cortex, tejido vascular	Núcleo
<i>AtFIIT/AtFRU</i>	Regulación del Fe	Inducida	Epidermis	
<i>AtFER1</i>	Almacén del Fe	Baja regulación	Endodermos radicular.	n i

n i: No indicado.

1. todos los genes correspondientes a la reductasa férrica (*AtFRO2*, *LeFRO1* y *PsFRO1*) dan lugar a polipéptidos de entre 712 y 725 aminoácidos con un peso

molecular entre 80,5 y 81,5 KDa, cuyas proteínas contienen lugares para la unión de FAD y NADPH, en concordancia con la transferencia de electrones desde núcleos de piridina citosólica al quelato férrico en el lado opuesto de la membrana plasmática (Robinson et al., 1999; Waters et al., 2002; Li et al., 2004).

2. La regulación de los genes de reductasa (LeFRO1) es diferente en raíces y en hojas, lo que indica importancia distinta de la etapa de reducción en la toma de hierro por las hojas (Schmidt, 2006).
3. La principal ruta para la entrada de hierro en las células radiculares es IRT1, una proteína de la familia ZIP, que además de hierro transporta otros metales, pero con una afinidad mayor por el hierro. Su expresión está inducida en la epidermis radicular por la deficiencia de hierro. Con el aporte de hierro la proteína se degrada impidiendo que se produzca una toma de hierro a niveles tóxicos. Una regulación similar se ha encontrado para el enzima reguladora de la reducción de hierro (*AtFRO2*) (Schmidt, 2006).
4. La activación de la proteína H⁺-ATPasa en la membrana plasmática, no se produce en todas las especies de Estrategia I, y en las que se produce, depende de distintos factores como, el equilibrio en la toma catión/anión, exudados radiculares, y de la forma en que sea tomado el nitrógeno.

TRANSPORTE DE HIERRO EN LA PLANTA.

Tras la toma, el exceso de hierro es complejado o secuestrado en las células para evitar el efecto tóxico debido a la generación de radicales libres vía efecto Fenton producida por el Fe(II) (Ecuac 3), tanto las plantas de Estrategia I como de Estrategia II, distribuyen el hierro intra y extracelularmente con ayuda de la nicotinamina que forma complejos estables con el Fe (II) y protege a las células de los daños oxidativos.

El ión ferroso se transporta a través del córtex radicular vía simplasto por medio de los plasmodemos, al parecer en forma de Fe(II)-nicotinamida (Pich et al., 1997; Stephan, 2002). A continuación y todavía en el simplasto del sistema radicular, el Fe(II) sufre una oxidación a Fe(III). Una vez en forma de Fe(III) se transporta a las partes superiores de la planta vía xilema, en forma de un complejo soluble de dicitrato (Tiffin, 1970; Cambell y Redinbaugh, 1984; López-Millán et al., 2000a; Mengel y Kirkby, 2001; Stephan, 2002). Una vez el Fe llega a las hojas, debe atravesar de nuevo la membrana plasmática de las células foliares. Este paso requiere de nuevo la reducción de Fe(III) a Fe(II) proceso que es llevado a cabo por un enzima reductasa similar al de la raíz (Brüggemann et al., 1993; de la Guardia y Alcántara, 1996; González-Vallejo et al.; 1998, 1999, 2000; Rombolà et al., 2000). Aunque el transporte se realiza vía xilema, también se ha encontrado Fe en el floema. La capacidad

para transportar este ión está relacionada con la respuesta de las plantas ante carencias de Fe. El transporte de Fe(III) en el floema se realiza como Fe(III)-nicotinamina (Becker et al., 1992; Stephan y Scholz, 1993). Se ha de tener en cuenta que la existencia de altas concentraciones de Fe(II) en el citoplasma celular tienen efectos tóxicos (Mengel y Kirkby, 2001). Por este motivo, el Fe debe ser rápidamente oxidado a Fe(III). Para ello el ión ferroso es transportado hasta los cloroplastos donde es oxidado a Fe(OOH) y acumulado en forma de una fosfoproteína denominada fitoferritina, proteína multimérica que actúa secuestrando más de $4 \cdot 10^3$ átomos de Fe en forma mineral estable dentro de un recubrimiento proteínico (Theil, 1987; Andrews et al., 1992; Laulhere y Briat, 1993), constituyendo una reserva de Fe no tóxica en la célula. La fitoferritina se encuentra principalmente en los cloroplastos pero no está confinada únicamente en este orgánulo, ya que también se ha encontrado en el xilema y en el floema (Smith, 1984). Este compuesto es muy abundante en la semillas y se va degradando tras la germinación, probablemente catalizada por la liberación de Fe(II), y la generación de radicales hidroxilos que destruyen el recubrimiento proteico (Bienfait, 1989; Lobreaux y Briat, 1991), también puede actuar como almacén de Fe en los nódulos de las leguminosas (Ko et al., 1987). Ante situaciones de deficiencia de Fe, el ión férrico es reducido de nuevo a ión ferroso, que en forma de Fe-nicotinamida podría ser transportado a través de las células (Mengel y Bübl, 1983; Laulhere y Briat, 1993).

El transporte de hierro en plantas de Estrategia II, a través de la raíz y del xilema se realiza en forma de Fe-fitosideróforo (Mori et al., 1991; Alam et al., 2001; Kawai et al., 2001)

FUNCIONES DEL HIERRO EN LA PLANTA.

La facilidad del hierro para cambiar de estado de oxidación y formar quelatos estables y solubles hace que esté implicado en un gran número de funciones fisiológicas (Fig. 8).

Este elemento se presenta en los vegetales formando parte de numerosos sistemas enzimáticos (Marschner et al., 1986; Terry y Zayed, 1995; Mengel y Kirkby, 2001), que se pueden dividir en hemídicos y no hemídicos. Dentro de los sistemas enzimáticos hemídicos se encuentra en: citocromos, complejos proteicos hierro-porfirínicos, que son constituyentes de los sistemas redox de los cloroplastos, las mitocondrias y en la cadena redox de la nitrato reductasa (Clarkson y Hanson, 1980; Marschner, 1995). Leghemoglobina, enzima implicada en el proceso de fijación del nitrógeno (Marschner, 1995). Catalasas que intervienen en la fotorespiración y en el ciclo de Calvin o vía glicolítica y facilitan la dismutación de H_2O_2 en H_2O y O_2 en los cloroplastos (Bar-Akiva et al., 1978; Römheld y Marschner, 1991). Peroxidasas son abundantes en plantas y al igual que las catalasas catalizan varios

procesos. Por un lado, favorecen la eliminación de H_2O_2 en los cloroplastos y por otro, catalizan la polimerización de fenoles a lignina en la rizodermis y endodermis de las raíces. También interviene en la biosíntesis de lignina y suberina (Marschner, 1995). El hierro juega un papel muy importante en la fotosíntesis, no sólo por su acción en la síntesis de clorofilas (Miller et al., 1984) también, por su influencia en la morfología de los cloroplastos (Terry y Abadía, 1986; Marschner, 1995).

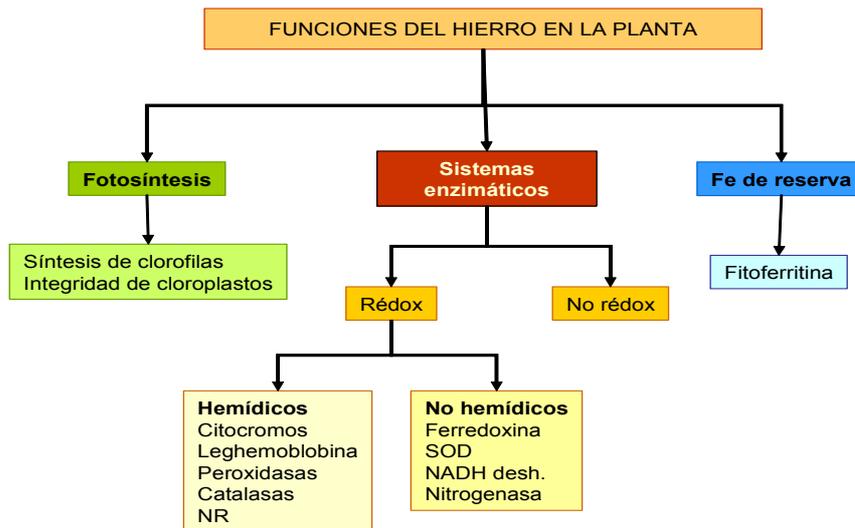


Fig. 8. Funciones del Fe en la planta (Álvarez-Fernández, 2000).

Los sistemas enzimáticos no hemídicos se caracterizan porque el Fe está coordinado con un grupo tiol de cisteína o con S inorgánico formando enlaces Fe-S o con ambos (Römheld y Marschner, 1991). El más conocido de los componentes de los sistemas no hemídicos es la ferredoxina, proteína férrica que actúa comoceptor final de electrones en un gran número de procesos metabólicos como son la fotosíntesis, la reducción de nitrato y de sulfato (Mengel y Kirkby 2001; Marschner, 1995). Su alto potencial redox le permite reducir sustancias como $NADP^+$, nitrato, oxígeno, sulfato. La acotinasa es una enzima con hierro no hemídico que cataliza la isomerización de citrato a isocitrato en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (Hsu y Miller, 1968; Beinert y Kennedy, 1989; Marschner, 1995). Otros enzimas con hierro no hemídico son las riboflavinas, se acumulan en las plantas deficientes de Fe unas 200 veces más que en plantas que crecen en medios con suficiencia de este elemento (Welkie y Miller, 1989). Esta acumulación de riboflavina se produce porque la deficiencia de Fe da lugar a alteraciones en el metabolismo de las purinas, ya que el enzima xantina oxidasa se ve fuertemente dañado (Schlee et al., 1968). Otros sistemas de hierro no hemídicos son las isoenzimas superóxidodismutasa, que eliminan los radicales libres

aniónicos superóxido, se trata de isoenzimas comunes en cloroplastos pero también pueden encontrarse en mitocondrias, peroxisomas y citoplasma (Droillard y Paulin, 1990), o la xantina oxidasa que tienen funciones en procesos metabólicos tales como la fotosíntesis, la respiración mitocondrial, la fijación de N_2 , la reducción de SO_4^{2-} a SO_3^{2-} , etc. El Fe también activa una serie de enzimas tales como ácido aminolevulínico sintetasa, coproporfirinógeno oxidasa, y juega un papel importante en las síntesis de RNA (Römheld y Marschner, 1991).

Hay una serie de enzimas menos conocidas en las que el hierro actúa bien como un componente metálico en reacciones redox o como un elemento de unión entre enzima y sustrato (Marschner, 1995). Entre ellas están las lipoxigenasas que regulan la peroxidación de lípidos, por lo que están implicadas en la senescencia celular y de tejidos y en las combinaciones huésped – patógeno y por tanto, en la resistencia a las enfermedades (Nagarathana et al., 1992).

La deficiencia de hierro en plantas de Estrategia I da lugar a considerables cambios morfológicos y fisiológicos en la raíz, aumento en el diámetro de la zona apical radicular, y abundante formación de pelos radiculares (Römheld y Marschner, 1981; Chaney et al., 1972; López-Millán et al., 2001a; Dell'Orto et al., 2003), estos cambios están asociados a la formación de células de transferencia que forman parte del mecanismo de Estrategia I para la toma de hierro. Con el reaporte de hierro desaparecen estos cambios (Römheld y Marschner, 1981; López-Millán et al., 2001a). Sin embargo en gramíneas (Estrategia II) no tienen lugar estos cambios (Marschner, 1995).

En raíces de plantas deficientes en hierro se han encontrado distintos cambios metabólicos que incluyen: a) acumulación de ácidos orgánicos, principalmente citrato y malato (de Kock y Morrison, 1958; Brown, 1966; de Vos et al., 1986; López-Millán et al., 2001b; Rombolà et al., 2002; Abadía et al., 2002; Ollat et al., 2003); b) cambio en el estado de oxidación del citoplasma (Sijmons et al., 1984; Schmidt y Schuck, 1996). Zaharieva y Abadía (2003) y Zaharieva et al., (2004) han encontrado, en raíces de remolacha azucarera deficientes en hierro, aumento de la concentración de ácido ascórbico y glutatión reducido (GSH), y cambios en la actividad de los enzimas ascorbato reductasa de radicales libres (AFR-R), ascorbato peroxidasa (APX), y glutatión reductasa (GR), que como componentes del ciclo ascórbico-glutatión participan en la defensa antioxidante de las células; c) aumento en la actividad de la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC) y de varios enzimas del ciclo de los ácidos tricarbóxicos (Huffaker et al., 1959; Landsberg, 1986; Miller et al., 1990; Pich y Scholz, 1993; Rabotti et al., 1995; Rombolà 1998; López-Millán et al., 2001a; Agnolon et al., 2002; Rombolà et al., 2002; Andaluz et al., 2002; Ollat et al., 2003). Debido a que la

acumulación de ácidos orgánicos en las raíces inducida por deficiencia de hierro coincide con el aumento de la liberación de protones y la actividad reductasa de quelatos férricos en diferentes especies (Landsberg, 1986; Marschner et al., 1987; Rabotti y Zochi, 1994; Brancadoro et al., 1995), se ha propuesto que la alcalinización del citoplasma asociada con la liberación de protones podría activar la PEPC (Yang et al., 1994; Rabotti et al., 1995) lo que puede alimentar el ciclo de los ácidos tricarbóxicos conduciendo a la acumulación de ácidos orgánicos (Landsberg, 1986; Miller et al., 1990). El enzima PEPC cataliza la incorporación de bicarbonato en un ácido orgánico C₃, fosfoenol piruvato, generando oxalacetato, que es transformado a malato por malato deshidrogenasa (Lance y Rustin, 1984; Rombolà, et al., 2005). Estos ácidos orgánicos podrían mantener el equilibrio iónico y de pH en el citoplasma de las células radiculares (Teoría pH-stat, Davies, 1986). Todos estos hechos parecen conducir en las raíces de plantas deficientes en hierro, a una mayor disponibilidad de aminoácidos libres, en particular aspartato y glutamato, que daría lugar a un aumento en la síntesis tanto de proteínas como de RNA (Pontiggia et al., 2003).

El principal efecto de la deficiencia de hierro en hojas se produce en los cloroplastos que ven alterada su estructura y funciones. Se reduce el número de tilacoides y granas, y se altera la estructura del tilacoide (Spiller y Terry, 1980; Terry y Abadía, 1986; Terry y Zayed 1995, Soldatini et al., 2000). La reducción en la membrana del tilacoide va acompañada de una disminución en todos los pigmentos que recogen la luz: clorofilas a y b y carotenos, si bien los carotenos disminuyen en menor proporción que las clorofilas, (Terry, 1980; Terry y Abadía, 1986; Abadía, 1992; Terry y Zayed, 1995; Soldatini et al., 2000; Donnini et al., 2003). El característico color amarillo de las hojas cloróticas es una consecuencia del desequilibrio entre los contenidos de clorofila y carotenos (Abadía, 1992; Terry y Zayed, 1995). También se ve reducido el transporte fotosintético de electrones; el hierro es uno de los constituyentes de muchos transportadores de electrones (Terry y Abadía, 1986; Abadía, 1992; Terry y Zayed, 1995; Soldatini et al., 2000; Donnini et al., 2003). Estos hechos conducen a una reducción en la capacidad fotosintética de la planta que se traduce en una disminución de azúcares, almidón, algunos aminoácidos y acumulación de otros, con la consiguiente alteración en la síntesis de proteínas (Terry y Abadía, 1986; Abadía, 1992; Terry y Zayed, 1995), y enriquecimiento de los lípidos en ácidos grasos insaturados (Terry y Abadía, 1986; Abadía, 1992; Terry y Zayed, 1995). Al igual que las raíces, en hojas y savia del xilema se acumulan ácidos orgánicos, principalmente citrato y malato, (Iljin, 1951; Palmer et al., 1963; Bindra, 1980; Landsberg, 1981; Young y Terry, 1982; Welkie y Miller, 1993; Thoiron et al., 1997; López-Millán et al., 2001b), y se incrementa la actividad de PEPC y de distintos enzimas del ciclo de los ácidos tricarbóxicos como malato deshidrogenasa (MDH), aconitasa, fumarasa, citrato sintetasa, isocitrato deshidrogenasa (López-Millán et al.,

2001b). El incremento en ácidos orgánicos en las hojas deficientes en hierro no es probable que se deba a un aumento en la fijación foliar de carbono, ya que como se ha indicado anteriormente, tiene lugar en hojas con una maquinaria fotosintética muy alterada (Winder y Nishio, 1995), que da lugar a una marcada disminución en la concentración de clorofila, una muy baja tasa fotosintética (Terry y Abadía, 1986; Abadía y Abadía, 1993; López-Millán et al., 2001b), y un bajo contenido en azúcares (Arulananthan et al., 1990). El incremento observado en las actividades de los enzimas implicados en la síntesis de ácidos orgánicos (PEPC y MDH) es menor que el aumento encontrado en citrato y malato (López-Millán et al., 2001b). Esto indica que malato y citrato serán proporcionados a las hojas por las raíces vía xilema (López-Millán et al., 2001b), posiblemente asociado con el aumento de la fijación anaplerótica del CO₂ en las raíces de las plantas deficientes en hierro a través del enzima PEPC (Landsberg, 1986; Bialczyck y Lechowski, 1992; Rabotti et al., 1995; López-Millán et al., 2000b; Rombolà et al., 2002). Es muy probable que los aniones orgánicos jueguen un importante papel en el transporte de hierro desde las raíces a las hojas (Tiffin, 1966a, b; Brown et al., 1971; White et al., 1981; Cataldo et al., 1988; López-Millán et al., 2000a). Las hojas de girasol deficientes en hierro presentan una acumulación significativa de H₂O₂ y una reducción significativa de la actividad del enzima ascorbato peroxidasa (APX) y del ácido ascórbico, esto indica que la acumulación de H₂O₂ puede ser debida tanto a un aumento en su producción, como a una disminución en la capacidad de la hoja para eliminarlo, provocada por la disminución en las actividades de los enzimas eliminadores de radicales libres oxigenados y que tienen como componente o cofactor al hierro, ascorbato oxidasa (ASA), APX y peroxidasas (POD) (Ranieri et al., 2003).

Cuando las plantas se desarrollan en hidroponía, se encuentra que tras el análisis foliar, existe una correlación entre el contenido de clorofilas y de Fe en las hojas, dando lugar a contenidos de hierro total bajos en las hojas cloróticas. Es decir, a medida que aumenta la concentración de Fe se incrementa el contenido en clorofilas y viceversa (Terry, 1980; Terry y Low, 1982; Kolesch et al., 1984; Abadía, 1992). Sin embargo, cuando las plantas se desarrollan en el campo, no se encuentra una relación entre estos dos parámetros, ya que las hojas cloróticas suelen contener una concentración de Fe igual o superior a la de las hojas verdes (Chen y Barak, 1982; Hamze y Nimah, 1982; Mengel y Malissiovas, 1982; Mengel y Bübl, 1983; Mengel et al., 1984; Abadía et al., 1985; Abadía et al., 1989; Abadía, 1992; Morales et al., 1998). El hecho de que las hojas cloróticas deficientes en Fe, con frecuencia tengan una concentración de Fe mayor que las verdes se denomina paradoja de la clorosis férrica (chlorosis paradox) (Römhheld, 2000). Esto sugiere que, en deficiencia de hierro, parte del hierro tomado desde el suelo por la reductasa de

hierro quelado se inmoviliza y acumula como formas inactivas de hierro en alguna parte de la hoja (Morales et al., 1998).

CAUSAS DE LA DEFICIENCIA DE HIERRO.

Las causas de la deficiencia de hierro son múltiples y de distinta naturaleza, destacan: disponibilidad de hierro y concentración de ión bicarbonato en el medio de desarrollo, y otros factores como: interacción entre el Fe y otros nutrientes, humedad, enmienda orgánica, y temperaturas extremas.

A. Disponibilidad de hierro en el suelo.

La deficiencia de hierro, normalmente, no se produce porque la concentración total de Fe en el suelo sea baja, ya que es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre después de oxígeno, silicio y aluminio (Lindsay, 1979), sino porque existen varios factores tales como: pH, potencial redox, tipo de mineral al que está asociado el hierro, ..., que hacen que la cantidad que permanece en disolución sea muy baja.

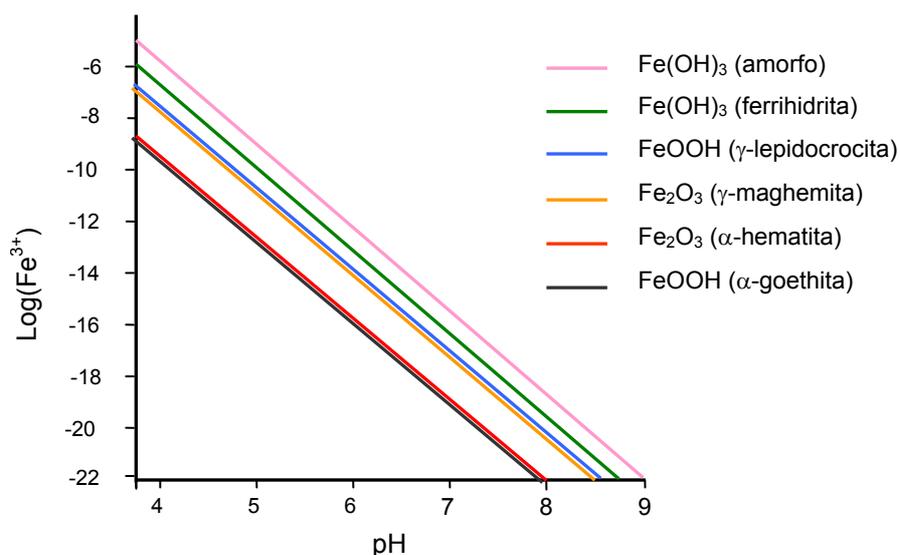


Fig. 9.- Actividad del Fe^{3+} en varios óxidos e hidróxidos férricos presentes en suelos en función del pH (Lindsay, 1979).

Como se ha mencionado en el apartado “hierro en el suelo”, en la mayoría de los minerales primarios del suelo el hierro se encuentra como Fe (II), que durante la meteorización en medios aerobios precipita como óxidos e hidróxidos de Fe(III) muy insolubles. Este hecho hace que en los suelos puedan coexistir óxidos e hidróxidos de hierro con distintas composiciones y grados de cristalización y por tanto, con distinta solubilidad.

Los estudios realizados por Lindsay (1979, 1991), en relación a la distinta solubilidad de los diferentes óxidos e hidróxidos de hierro en el suelo (Fig. 9), ponen de manifiesto que: i) el óxido de Fe amorfo sería el más soluble mientras la goethita sería la de menor solubilidad. ii) La solubilidad de los óxidos e hidróxidos de Fe(III) presentes en el medio está muy relacionada con el pH del suelo, de este modo la solubilidad desciende 1000 veces por cada unidad que aumenta el pH, reduciendo la concentración de Fe soluble a valores inferiores a 10^{-20} M para un valor de pH entorno a 7,5. iii) La región de mínima solubilidad del hierro corresponde al rango de pH entre 7,5 y 8,5 (Fig. 10), que coincide con el de los suelos calizos. La concentración de Fe para este intervalo de pH es de $10^{-10,4}$ M aproximadamente, cantidad insuficiente para el óptimo crecimiento de las plantas, que requieren un intervalo de Fe soluble entre 10^{-9} y 10^{-4} M en el medio (Guerinot y Yi, 1994). Estudios realizados por Römheld y Marschner (1986) muestran que en suelos bien aireados, la cantidad de hierro en disolución a valores de pH superiores a 4, es inferior al requerido por la mayoría de los vegetales, provocando que en las plantas cultivadas sobre estos suelos se den deficiencias de hierro (Fig. 10).

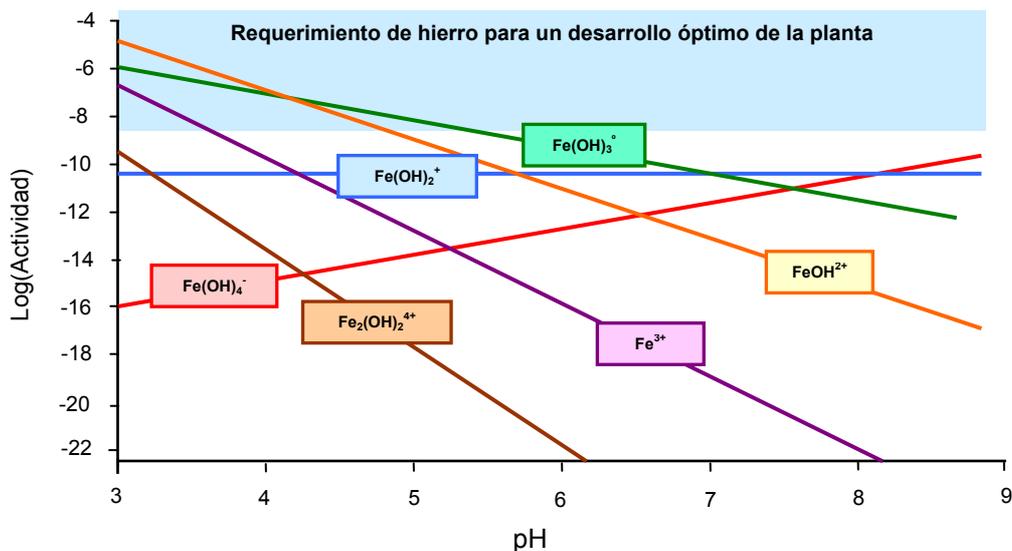


Fig. 10.- Especies hidrolizadas de Fe(III) en equilibrio con el Fe-suelo (Lindsay, 1979).

Puesto que el hierro puede presentar dos estados de oxidación, el potencial redox del suelo es otro de los factores que influye en el contenido de este nutriente en disolución. En suelos bien aireados, condiciones en las que se encuentran normalmente los suelos de cultivo, el Fe(III) no se ve alterado por el potencial redox, siendo las especies hidrolizadas y la fase sólida las que controlan la solubilidad (Fig. 9) (Lindsay y Schwab, 1982).

Con respecto al Fe (II), presenta distintas especies dependiendo del pH del suelo. Así, a valores inferiores a 6,7, la especie predominante es el Fe^{2+} mientras que a valores de pH superiores, la especie principal es FeOH^+ (Fig. 11). En condiciones aeróbicas estas especies son inestables, sin embargo, cuando se dan condiciones reductoras, estas dos especies son las más abundantes y las que controlan el hierro disponible para las plantas (Lindsay, 1991).

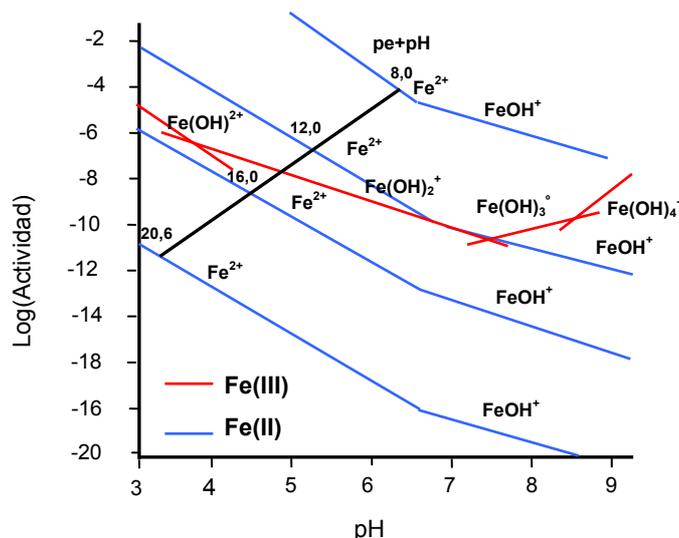


Fig. 11.- Efecto del potencial redox sobre las especies Fe^{2+} y Fe(OH)^+ en comparación con las especies hidrolizadas de Fe(III) en equilibrio con el Fe-suelo (Lindsay y Schwab, 1982).

En suelos que estén altamente reducidos, la solubilidad del hierro estará aparentemente controlada por la siderita (FeCO_3). Incrementos en la concentración de CO_2 del suelo producirán un descenso de la solubilidad del Fe^{2+} , pero la presencia de siderita asegurará una adecuada disponibilidad de hierro para las plantas (Lindsay y Schwab, 1982).

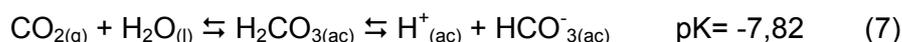
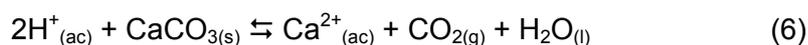
En consecuencia, la regla general para la solubilidad del Fe, es que en condiciones aeróbicas y con pH neutros o alcalinos el Fe precipitará en formas insolubles mientras que a pH ácidos y condiciones reductoras la concentración de Fe soluble será mayor.

La solubilidad del Fe en un suelo también depende del contenido en materia orgánica del mismo. Así, la asociación del hierro con los agentes quelantes de la materia orgánica da lugar a la formación de complejos que incrementan considerablemente la concentración y la movilidad de este nutriente en la disolución del suelo (Lobartini y Orioli, 1988; Cesco et al., 2000). Estos agentes quelantes tienen distinta procedencia tales como la transformación de

la materia orgánica (ácidos fúlvicos, aminoácidos,...), los compuestos exudados por las raíces del vegetal (fitosideróforos), y los segregados por los microorganismos (sideróforos). La capacidad que tenga los quelantes del suelo para formar complejos con el Fe depende de la presencia en los mismos de grupos carboxilo, fenol o carbonilo.

B. Concentración de ión bicarbonato.

En los suelos calizos el pH de la disolución del suelo y la concentración de ión bicarbonato están controlados por las reacciones:



Esto hace que la mayoría de los suelos calizos tengan un valor de pH que oscila entre 7,5 y 8,5; pudiendo llegar incluso a valores superiores a 9 cuando en los suelos existen contenidos apreciables de NaHCO_3 disuelto. A estos pH la concentración de Fe soluble es bastante baja (Lindsay, 1979, 1991; Lindsay y Schwab, 1982) y por tanto se dificulta la nutrición férrica del vegetal. Además, se ven perjudicados los principales mecanismos de respuesta de la planta a la deficiencia de hierro: se neutralizan los protones liberados por el vegetal, la alcalinización reduce la secreción de compuestos fenólicos y dificulta la reducción de Fe(III) en la membrana plasmática (Römheld y Marschner, 1986). Todo ello conduce a una disminución en la toma y transporte de hierro por la planta.

C. Otros factores.

1. *Temperaturas extremas.*

Las bajas temperaturas disminuyen el desarrollo radicular y por tanto, provocan una reducción en la capacidad de absorción del Fe por la planta (Chaney, 1984). Lahav y Turner (1984) estudiaron el efecto de la temperatura en el proceso de absorción del Fe en plataneras. Estos autores encontraron que el máximo de absorción se producía por encima de los 37/30°C (temperatura día/noche) y que cuando las temperaturas descendían hasta los 17/10°C, la absorción era dos o tres veces menor que en el óptimo de temperatura.

2. *Competencia del Fe con otros iones por los centros de toma.*

La presencia de elevadas concentraciones de macronutrientes, micronutrientes y metales pesados pueden afectar el grado de clorosis desarrollado por los cultivos.

En relación a los macronutrientes, Loeppert et al. (1994) observaron que altos niveles de **Na** y **K** provocaban un incremento de la clorosis en el vegetal debido al deterioro que

generan en la estructura del suelo, en las relaciones suelo-agua y en la aireación bajo condiciones de humedad.

Por otro lado, la presencia de elevadas concentraciones de metales como **Cu, Zn, Cd, Ni...** en el medio, también pueden afectar a la respuesta de las plantas frente a situaciones de estrés férrico, y a que pueden inhibir considerablemente el funcionamiento de la reductasa férrica de la raíz. Cabe señalar que la inhibición que sufre esta enzima va a depender del cultivo y de las concentraciones en las que los metales se encuentren en la disolución del suelo.

Además estos iones también compiten con el Fe^{2+} a nivel absorción. Así, cuando el Zn está presente en altas concentraciones puede competir con el Fe^{2+} por las zonas de transporte o bien, producir una menor afinidad de dicho ión por esos sistemas de transporte debido a que se producen alteraciones estructurales o bioquímicas (Zaharieva y Römheld, 2000).

3. Aumento de la concentración de CO_2 en los suelos

En los suelos encharcados se produce una acumulación de CO_2 debido a la menor velocidad de difusión de los gases en el agua. Este exceso de CO_2 provoca la aparición de bicarbonato y protones de acuerdo con la reacción 7; con los efectos indicados en el apartado B:

SÍNTOMAS DE DEFICIENCIA Y TOXICIDAD.

La deficiencia de Fe es la sintomatología más fácil de reconocer de las provocadas por otros micronutrientes ya que produce un tipo de clorosis realmente característica. Los síntomas van a variar dependiendo de la edad de la hoja, de la gravedad de la deficiencia y en ocasiones de las condiciones del medio.

En términos generales la evolución es la siguiente:

Si la deficiencia es ligera, se nota solamente un color pálido de las hojas más jóvenes de los brotes que puede llegar a ser confundido con la deficiencia de N. En el estado siguientes, el más común, la clorosis aparece entre los nervios de las hojas. Los nervios permanecen verdes y se destacan claramente en relación al tejido verde pálido o amarillento del resto de la hoja. Esta falta de clorofila comienza siempre en las hojas más jóvenes. En un estado grave los nervios más finos se vuelven amarillos, seguido de los nervios más gruesos hasta que toda la hoja queda totalmente clorótica.

En el caso de la gramíneas y las plantas de hoja estrecha, los síntomas son más difíciles de identificar ya que se pueden confundir con los del magnesio debido a que se presentan en forma de bandas entre nervios, amarillas alternadas con nervios verdes. En las plantas perennes la clorosis grave puede presentar zonas necróticas.

Se ha de tener en cuenta que la clorosis en muchas ocasiones es un problema de movilidad del Fe más que de deficiencia de este elemento por eso no es extraño encontrar que en una misma planta hay zonas que presentan clorosis férrica y otras no.

A la hora de analizar los efectos de la toxicidad de Fe en el vegetal debemos tener en cuenta que de los dos estados de oxidación que presenta el Fe, es el ión ferroso el que puede causar esta sintomatología. Como se ha indicado a lo largo del tema en condiciones aeróbicas es muy extraño que se produzca una acumulación de Fe(II) en el suelo, sin embargo, en condiciones anaeróbica, el Fe(III) se reducirá a Fe(II) siendo esta la especie más abundante e incrementando la solubilidad de Fe en el suelo. Por lo que la toxicidad de hierro no se conoce en condiciones normales de cultivos, sin embargo en los arrozales esta situación es muy común por lo que la toxicidad del Fe(II) puede ser un aspecto nutricional importante que se debe controlar. En el arroz dicha toxicidad se denomina “Bronzing”, y se inicia con pequeños puntos rojizos a marrones sobre la base de las hojas que acaba propagándose a toda la hoja, que pardea. Las hojas de arroz contienen entonces más de 300ppm de Fe.

BIBLIOGRAFÍA.

ABADÍA, J.; NISHIO, J. N.; MONGE, E.; MONTAÑÉS, L.; HERAS, L. 1985. Mineral composition of peach tree leaves affected by iron clorosis. *J. Plant Nutr.* 8: 697-708.

ABADÍA, A. SANZ, M.; DE LAS RIVAS, J.; ABADÍA, J. 1989. Pear yellowness: an atypical iron clorosis? *Acta Hort.* 256: 177-181.

ABADÍA, J. 1992. Leaf responses to Fe deficiency: a review. *J. of Plant Nutrition.* 15: 1699-1992.

ABADÍA, J.; ABADÍA, A. 1993. Iron and plant pigments. In *Iron chelation in plants and soil microorganisms* (L. L. Barton, B. C. Hemming, eds). Academic Press. New York. ISBN 0-12-079870-0: 327-343.

ABADÍA, J.; LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; ROMBOLÀ, A; ABADÍA, A. 2002. Organic acids and iron deficiency: a review. *Plant and Soil.* 241: 75-86.

AGNOLON, F.; SANTI, S.; VARANINI, Z.; PINTON, R. 2002. Enzymatic responses of cucumber roots to different levels of Fe supply. *Plant and Soil.* 241: 35-41.

ALAM, S.; KAMEI, S.; KAWAI, S. 2001. Effect of iron deficiency on the chemical composition of the xylem sap of barley. *Soil Sci. Plant Nutr.* 47 (3): 643-649.

ALLEN, B. L.; HAJEK, B. F. 1989. Mineral occurrence in soil environments. In Mineral in soil environments (2nd Edition) (J. B. Dixon; S. B. Weed eds). Soil Science Society of America. 677 South Segoe Road. Madison. WI 53711. USA. SSA Book Series. N^o. 1: 199-278.

ÁLVAREZ-FERNÁNDEZ, A. M. 2000. Calidad y eficacia de los quelatos férricos (FeDDHA, FeEDDHMA, FeEDDHSA, FeEDDHCA) como fertilizantes. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.

ANDALUZ, S.; LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; PELEATO, M. L.; ABADÍA, J.; ABADÍA, A. 2002. Increases in phosphoenolpyruvate carboxylase activity in iron-deficient sugar beet roots: analysis of spatial localization and post-translational modification. *Plant and Soil*. 241: 43-48.

ANDREWS, M.; MORTON, J. D.; LIEFFERING, M.; BISSET, L. 1992. The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of a range of temperate cereals and pasture grasses. *Annals of Botany* 70: 271-276.

ARULANANTHAM, A. R.; RAO, I. M.; TERRY, N. 1990. Limiting factors in photosynthesis. IV. Regeneration of ribulose 1,5-bisphosphate limits photosynthesis at low photochemical capacity. *Plant Physiol*. 93: 1466-1475.

BAR-AKIVA, A. MAYNARD, D. N.; ENGLISH, J. E. 1978. A rapid tissue test for diagnosing iron deficiencies in vegetable crops. *HortScience*. 13: 284-285.

BECKER, R.; GRÜN, M.; SCHOLZ, G. 1992. Nicotinamine and the distribution of iron in the apoplast and symplast of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Planta*. 187: 48-52.

BEINERT, H.; KENNEDY, M. C. 1989. Engineering of protein bound iron-sulfur clusters. A tool for the study of protein and cluster chemistry and mechanisms of iron-sulfur enzymes. *Eur. J. Biochem*. 186: 5-15.

BIALCZYCK, J.; LECHOWSKI, Z. 1992. Absorption of HCO₃⁻ by roots and its effects on carbon metabolism of tomato. *J. Plant Nutr*. 15: 293-312.

BIENFAIT, H. F. 1985. Regulated redox processes at the plasmalemma of plant root cells and their function iron uptake. *J. Bioenerg. Biomember*. 17:73-83.

BIENFAIT, H. F. 1989. Prevention of stress in iron metabolism of plants. *Acta Bot. Neerl*. 38: 105-129.

BINDRA, A. 1980. Iron chlorosis in horticultural and field crops. *Annu Rev Plant Sci* 2: 221-312.

BRANCADORO, L.; RABOTTI, G.; SCIENZA, A.; ZOCCHI, G. 1995. Mechanisms of Fe-deficiency in roots of vitis spp. in response to iron-deficiency stress. *Plant and Soil*. 171: 229-234.

BROWN, J. C. 1966. Fe and Ca uptake as related to root-sap and stem-exudate citrate in soybeans. *Physiologia Plantarum*. 19: 968-976.

BROWN, J. C.; CHANEY, R. L. AMBLER, J. E. 1971. A new tomato mutant inefficient in the transport of iron. *Physiol Plant*. 25: 48-53.

- BROWN, J. C.; JOLLEY, V. D. 1988. Strategy I strategy II mechanism affecting iron availability to plants may be established too narrow or limited. *J. Plant Nutr.* 11: 1077-1098.
- BRÜGGEMANN, W.; MAAS-KANTEL, K.; MOOG, P. R. 1993. iron uptake by leaf mesophyll cells: The role of the plasma membrane-bound ferric-chelate reductase. *Planta.* 190: 151-155.
- CAMBELL, W. H.; REDINBAUGH, M. G. 1984. Ferric-citrate reductase activity of nitrate reductase and its role in iron assimilation by plants. *J. Plant Nutr.* 7: 799-806.
- CATALDO, D. A.; McFADDEN, K. M.; BARLAND, T. R.; WILDUNG, R. E. 1988. Organic constituents and complexation of nickel (II), iron (III), cadmium (II) and plutonium (IV) in soybean xylem exudates. *Plant Physiol* 50: 208-213.
- CESCO, S.; RÖMHELD, V.; VARANINI, Z.; PINTON, R. 2000. solubilization of iron by water-extractable humic substances. *J. Plant. Nutr. Soil Sci.* 163: 285-290.
- CHANEY, R. L.; BROWN, J. C.; TIFIN, L. O. 1972. Obligatory reduction of ferric chelates in iron uptake by soybeans. *Plant Physiology.* 50: 208-213.
- CHANEY, R. L. 1984. Diagnostic practises to identify iron deficiency in higher plants. *J. Plant Nutr.* 7: 47-67.
- CHEN, Y.; BARAK, P. 1982. Iron nutrition of plants in calcareous soils. *Adv. Agron.* 35: 217-240.
- CLARKSON, D. T.; HANSON, J. B. 1980. The mineral nutriton of higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31: 239-298.
- DAVIES D. D. 1986. The fine control of cytosolic pH. *Physiol. Plant.* 67: 702-706.
- De KOCK,, P. C.; MORRISON, R. I. 1958. the metabolism of chlorotic leaves. *Journal of Biochemistry.* 70: 272-277.
- De la GUARDIA, M. D.; ALCÁNTARA, E. 1996. Ferric chelate reduction by sunflower (*Helianthus annuus* L.) leaves: influence of light, oxygen, iron-deficiency and leat age. *J. Exp. Bot.* 47 (298): 669-675.
- DELL'ORTO, M.; DE NISI, P.; PONTIGGIA, A.; ZOCCHI, G. 2003. Fe deficiency responses in *Parietaria diffusa* a calcicole plant. *J. Plant Nutrition.* 26: 2057-2068.
- De VOS, C. R.; LUBBERDING, H. J.; BIENFAIT, H. F. 1986. Rhizosphere acidification as a response to iron deficiency in bean plants. *Plant Physiology.* 81: 842-846.
- DONNINI, S.; CASTAGNA, A.; GUIDI, L.; ZOCCHI, G.; RANIERI, A. 2003. Leaf responses to reduced iron availability in two tomato genotypes: T3238FER (iron efficient) and T3238fer (iron inefficient). *J. of Plant Nutrition.* 26: 2137-2148.
- DROILLARD, M. J.; PAULIN, A. 1990. Isoenzymes of superoxide dismutase in mitochondria and superoxide isolated from petals of carnation (*Dianthus caryophyllus*) during senescence. *Plant Physiol* 94: 1187-1192.
- FOX, T. C.; SHAFF, J. E.; GRUSAK, M. A.; NORVELL, W. A.; CHEN, Y.; CHANEY, R. L.; KOCHIAN, L. V. 1996. Direct measurement of ^{59}Fe -labeled Fe^{2+} influx in roots of pea using a chelator buffer system to control free Fe^{2+} in solution. *Plant Physiol.* 111: 93-100.

FOX, T. C.; GUERINOT, M. L. 1998. Molecular biology of cation transport in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 49: 669-676.

GONZÁLEZ-VALLEJO, E. B.; SUSIN, S.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. 1998. Changes in sugar beet leaf plasma membrane Fe(III)-chelate reductase activities mediated by Fe deficiency, assay buffer composition, anaerobiosis and the presence of flavins. Protoplasma. 205: 163-168.

GONZÁLEZ-VALLEJO, E. B.; ABADÍA, A.; GONZÁLEZ-REYES, J. A.; LUCENA, J. J.; ABADÍA, J. 1999. Reduction of ferric chelates by leaf plasma membranes from Fe-deficient by Fe deficient and Fe-suficiency, assay buffer sugar beet. Aust. J. Plant Physiol 26: 601-611.

GONZÁLEZ-VALLEJO, E. B.; MORALES, F.; CISTUÉ, L.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. 2000. Iron deficiency decreases the Fe(III)-chelate reducing activity of leaf protoplasts. Plant Physiology. 122: 337-344.

GUERINOT, M. L., YI, Y. 1994. Iron: nutritious, noxious, and not readily available. Plant Physiol. 104:815-820.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. 1986. Iron and free radical reactions: two aspects of antioxidant protection. Trends Biochem. Sci. 11: 372-375.

HAMZE, M.; NIMAH, M. 1982. Iron content during lime-induced chlorosis with two citrus rootstocks. J. Plant Nutr. 5: 797-804.

HOPKINS, B. G.; JOLLEY, V. D.; BROWN, J. C. 1992. Plant utilization of iron solubilized by oat phytosiderophore. J. Plant Nutr. 15: 1599-1612.

HSU, W.; MILLER, G. W. 1968. Iron in relation to aconitase hydratase activity in *Glycine max.* Merr. Biochim. Biophys. Acta. 151: 711-713.

HUFFAKER, R. C.; HALL, D. O.; SHANNON, L. M.; WAKKACE, A.; RHOADS, W. A. 1959. Effects of iron and chelating agents on dark carboxylation reactions in plant homogenates. Plant Physiology. 34: 335-449.

ILJIN, W. S. 1951. Metabolism of plants affected with lime induced chlorosis. II. Organic acids and carbohydrates. Plant Soil. 3: 339-351.

KAWAI, S.; KAMEI, S.; MATSUDA, Y.; ANDO, R.; KOND, S.; ISHIZAWA, A.; ALAM, S. 2001. Concentrations of iron and phytosiderophores in xylem sap of iron-deficient barley plants. Soil Sci. Plant Nutr. 47 (2): 265-272.

KOBAYASHI, T.; SUZUKI, M.; INOUE, H.; ITAI, R. N.; TAKAHASHI, M.; NAKANISHI, H.; MORI, S.; NISHIZAWA, N. K. 2005. Expression of iron-acquisition-related genes in iron-deficient rice is co-ordinately induced by partially conserved iron-deficiency-responsive elements, J. Exp. Bot. 56: 1305-1316.

KOBAYASHI, T.; NISHIZAWA, N. K.; MORI, S. 2006. Molecular analysis of iron-deficient graminaceous plants. In Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. (L. L. Barton; J. Abadía (eds)). Springer. ISBN-10 1-4020-4742-8 (HB). Netherlands. 395-435.

- KO, M. P.; JUANG, P. Y.; HUANG, J. S.; BARKER, K. R. 1987. The occurrence of phytoferritin and its relationship to effectiveness of soybean nodules. *Plant Physiol.* 83: 299-305.
- KOLESCH, H.; OKTAY, M.; HOTNER, W. 1984. Effect of iron chlorosis-inducing factors on the pH of the cytoplasm of sunflower (*Helianthus annuus*). *Plant Soil.* 82: 215-221.
- KRAMER, D. RÖMHELD, V.; LANDSBERG, E. C.; MARSCHNER, H. 1980. Induction of transfer-cell formation by iron deficiency in the root epidermis of *Helianthus annuus* L. *Planta.* 147: 335-339.
- LAHAV, E.; TURNER, D. W. 1984. The effect of temperature on the iron content of banana suckers. *J. Plant Nutr.* 7 (1-5): 725-732.
- LANCE, C.; RUSTIN, P. 1984. The central role of malate in plant metabolism. *Physiol. Vég.* 22: 265-641.
- LANDSBERG, E. C. 1982. Transfer cell formation in the root epidermis: a prerequisite for Fe-deficiency? *Journal of Plant Nutrition.* 5: 415-432.
- LANDSBERG, E. C. 1981. Organic acid synthesis and release of hydrogen ions in response to Fe deficiency stress of mono- and dicotyledoneous plant species. *J. Plant Nutr.* 3 : 579-591.
- LANDSBERG, E. C. 1986. Function of rhizodermal transfer cells in the Fe stress response mechanisms of *Capsicum annuum* L. *Plant Physiology.* 82 : 511-517.
- LAULHERE, J. P.; BRIAT, J. F. 1993. Iron release and uptake by plant ferritin: effects of pH, reduction and chelation. *Biochem. J.* 290: 693-699.
- LI, L.; CHENG, X.; LING, H. Q. 2004. Isolation and characterization of Fe(III)-chelate reductase gene *LeFRO1* in tomato. *Plant Mol. Biol.* 54: 125-136.
- LINDSAY, W. L. 1979. *Chemical equilibria in soils.* Ed. John Wiley and Sons. N. Y. ISBN: 0-471-02704-9
- LINDSAY, W. L., SCHWAB, A. P. 1982. The chemistry of iron in soils and its availability to plants. *J. Plant Nutr.* 5:821-840.
- LINDSAY, W. L. 1991. pp. 89-112. *In: Micronutrients in agriculture.* J. J. Mortvedt (Ed.). Soil Science Society of America. Madison.
- LOBARTINI, J., ORIOLI, G.. 1988. Absorption of iron humate in nutrient solutions by plants. *Plant Soil.*106:153-157.
- LOBREAU, S. BRIAT, J. F. 1991. Ferritin accumulation and degradation in different organs of pea (*Pisum sativum*) during development. *Biochem. J.* 274: 601-606.
- LOEPPERT, R. H.; WEI, L. C.; OCUWPAUGH, R. 1994. Soil factors influencing the mobilization in calcareous soils. *In: Biochemistry of metal micronutrients in the rizosphere.* J. a. Maethey, D. E. Crowley y D. g. Luster (Eds). Lewis Publishers. Florida, USA: 343-360.
- LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; MORALES, F.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. 2000a. Effects of iron deficiency on the composition of the leaf apoplastic fluid and xylem sap in sugar beet. Implications for iron and carbon transport. *Plant Physiol.* 124: 873-884.

- LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; MORALES, F.; ANDALUZ, S.; GOGORCENA, Y.; ABADÍA, A.; DE LAS RIVAS, J.; ABADÍA, J. 2000b. Responses of sugar beet roots to iron deficiency: changes in carbon assimilation and oxygen use. *Plant Physiol* 124: 885-897.
- LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; MORALES, F.; GOGORCENA, Y.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. 2001a. Iron resupply-mediated deactivation of Fe-deficiency stress responses in roots of sugar beet. *Aust. J. Plant Physiol.* 28: 171-180.
- LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; MORALES, F.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. 2001b. Changes induced by Fe deficiency and Fe resupply in the organic acid metabolism of sugar beet (*Beta vulgaris*) leaves. *Physiologia Plantarum.* 112: 31-38.
- LUCENA, J. J. 2000. Effect of bicarbonate, nitrate and other environmental factors on iron deficiency chlorosis. A review. *J. Plant Nutr.* 23(11-12):1591-160.
- MARSCHNER, H., RÖEMHELD, V., KISSEL, M. 1986. Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron. *J. Plant Nutr.* 9: 695-713.
- MARSCHNER, H., RÖEMHELD, V., KISSEL, M. 1987. Localization of phytosiderophore release and of iron uptake of iron. *Journal Plantarum.* 71: 157-162.
- MARSCHNER, H. 1995. Mineral nutrition in higher plants. Academic Press. ISBN 0-12-473542-8 (HB). ISBN 0-12-473543-6 (PB).
- MENGEL, K.; MALISSIOVAS, N. 1982. Light dependent proton excretion by roots of entire vine plants (*Vitis vinifera* L.). *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 145: 261-267.
- MENGEL, K.; BÜBL, W. 1983. Verteilung von Eisen in Blättern von Weinreben mit HCO₃⁻ induzierter Chlorose. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 146: 560-571.
- MENGEL, K.; BÜBL, W.; SCHERER, H. W. 1984. Iron distribution in vine leaves with HCO₃⁻ induced chlorosis. *J. Plant Nutr.* 7: 715-724.
- MENGEL, K. KIRKBY, A. E. 2001. principles of plant nutrition. Kluwer academic Publishers. ISBN 0-7923-7150-K (HB). ISBN 1-4020-0008-1 (PB).
- MILLER, R. W.; PUSHNIK, J. C.; WELKIE, G. W. 1984. Iron chlorosis, a world wide problem, the relation of chlorophyll biosynthesis to iron. *J. Plant Nutr.* 7: 1-22.
- MILLER, G. W.; SHIGEMATSU, A.; WELKIE, G. W.; MOTOJI, N.; SZLEK, M. 1990. Potassium effect on iron stress in tomato. II. The effects on root CO₂-fixation and organic acid formation. *Journal of Plant Nutrition.* 13: 1355-1370.
- MOOG, P. R., BRÜGGEMANN. 1994. Iron reductase system on the plant plasma membrane-A review. *Plant Soil.* 165:241-260.
- MORALES, F.; GRASA, R.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. 1998. Iron Chlorosis paradox in fruit trees. *J. Plant Nutr.* 21: 815- 825.
- MORI, S.; NISHIZAWA, N.; HAGASHI, H.; CHIMO, M.; YOSHIMURA, E.; ISHIHARA, J. 1991. Why are young rice plants highly susceptible to iron deficiency? *Plant Soil.* 130: 143-156.

- MURAD, E.; FISCHER, W. R. 1988. The geobiochemical cycle of iron. In Iron in soils and clay minerals. (J. W. Stucki, et al. Eds). D. Reidel Publishing Company: 1-18 pp.
- MURAKAMI, T., ISE, K., HAYAKAWA, M., KAMIE, S., TAKAGI, S. 1989. Stabilities of metal complexes of mugineic acids and their specific affinities for iron(III). Chem. Lett. 2137.
- NAGARATHANA, K. C.; SHETTY, A.; BHAR, S. G.; SHETTY, H. S. 1992. The possible involvement of lipoxygenase in downy mildew resistance in pearl millet. J. Exp. Bot. 43: 1283-1287.
- NIKOLIĆ, M. 1998. The role of the redox systems in uptake and translocation of iron by higher plants. Lugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta. 34 (2): 479-489.
- NISHIZAWA, N.; MORI, S. 1987. The particular vesicle appearing in the barley root cells and its relation to mugineic acid secretion. J. Plant Nutr. 10: 1013-1020.
- OLSEN, R.A., CLARK, R. B., BENNETT, J.H. 1981. The enhancement of soil fertility by plants roots. Am. Sci. 69:378.
- OLLAT, N.; LABORDE, B.; NEVEUX, M.; DIAKOU-VERDIN, P.; RENAUD, C.; MOING, A. 2003. Organic acid metabolism in roots of various grapevine (*vitis*) rootstocks submitted to iron deficiency and bicarbonate nutrition. J. of Plant Nutrition. 26: 2165-2176.
- PALMER, M. J.; KOCK, P. C.; BACON, J. S. D. 1963. Changes in concentration of malic acid, citric acid, Ca and K in the leaves during the growth of normal and iron deficient mustard plants. J. Biochem 86: 484-493.
- PICH, A.; SCHOLZ, G. 1993. The relationship between the activity of various iron-containing and iron-free enzymes and the presence of nicotianamine in tomato seedlings. Physiologia Plantarum. 88: 172-178.
- PICH, A.; HILLMER, S.; MANTEUFFEL, R.; SCHOLZ, G. 1997. First immunohistochemical localization of the endogenous Fe²⁺-chelator nicotianamine. Luornal of Experimental Botany. 48: 759-767.
- PONTIGGIA, A.; DE NISI, P.; ZOCCHI, G. 2003. Effect of iron deficiency on RNA and protein synthesis in cucumber roots. J. of Plant Nutrition. 26: 2177-2186.
- RABOTTI, G.; ZOCCHI, G. 1994. Plasma membrana-bound H⁺-ATPase and reductase activities in Fe-deficient cucumber roots. Physiologia Plantarum. 90: 779-785.
- RABOTTI, G.; de NISI, P.; ZOCCHI, G. 1995. Metabolic implications in the biochemical responses to iron deficiency in cucumber (*Cucumis sativus* L.) roots. Plant Physiology. 107: 1195-1199.
- RANIERI, A.; CASIAGNA, A.; BALDAN, B.; SEBASTIANI, L.; SOLDATINI, G. F. 2003. H₂O₂ accumulation in sunflower leaves as a consequence of iron deprivation. J. of Plant Nutrition. 26: 2187-2196.
- ROBINSON, N.; PROCTER, C.; CONNOLLY, E.; GUERINOT, M. L. 1999. A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils. Nature 397: 694-697.
- ROMBOLÀ, A. D. 1998. Aspetti fisiologici e biochimici della nutrizione ferrica in actidia (*A. deliciosa*). PhD thesis, Università degli Studi di Bologna.

- ROMBOLÀ, A. D.; BRÜGGEMANN, W.; TAGLIAVINI, M.; MARANGONI, B.; MOOG, P. R. 2000. Iron source affects iron reduction and re-greening of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) leaves. *J. of Plant Nutrition*. 23: 1751-1765.
- ROMBOLÀ, A. D.; BRÜGGEMANN, W.; LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; TAGLIAVINI, M.; ABADÍA, J.; MARANGONI, B.; MOOG, P. R. 2002. Biochemical responses to iron deficiency in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Tree Physiology*. 22: 869-875.
- ROMBOLÀ, A. D.; GOGORCENA, Y.; LARBI, A.; MORALES, F.; BALDI, E.; MARANGONI, B.; TAGLIAVINI, M.; ABADÍA, J. 2005. Iron deficiency-induced changes in carbon fixation and leaf elemental composition of sugar beet (*Beta vulgaris*) plants. *Plant and Soil*. 271: 38-45.
- RÖMHELD, V., MARSCHNER, H. 1981. Thythmic iron stress reactions in sunflower at suboptimal iron supply. *Physiol Plant*. 53: 347-354.
- RÖMHELD, V., MARSCHNER, H. 1986. Mobilization of iron in the rhizosphere of different plant species. pp. 155-204. *In Advances in plant nutrition*. Vol. 2. B. Tinker, A. Läuchli (Eds.). Praeger Scientific. NY.
- RÖMHELD, V. 1987. Existence of two difference strategies for the acquisition of iron in higher plants. pp. 353-374. *In Iron transport in microbes, plant and animals*. G. Winkelmann, D. van der Helm, J. B. Neiland. VCH-Verlag. Weinheim.
- 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., MARSCHNER, H. 1991. Functions of micronutrients in plants. *In Micronutrients in agriculture* (J. J. Mordvedt; F. R. Cox; L. M. Snuman; R. M. Welch, eds). SSSA Book Series. Madison, WI. USA. 297-328.
- RÖMHELD, V. 2000. The chlorosis paradox: Fe inactivation in leaves as a secondary event in Fe deficiency chlorosis. *J. Plant Nutr.* 23: 1629-1643.
- SCHLEE, D.; REINBOTHE, D.; FRITSCH, W. 1968. Der Einfluss von Eisen auf den Purinstoffwechsel und die Riboflavinbildung von *Canadida guilliermondii* (cast). *Lang et G. Allg. Mikrobiol* 8: 127-138.
- SCHMIDT, W.; SCHUCK, C. 1996. Pyridine nucleotide pool size changes in iron-deficient *Plantago lanceolata* roots during reduction of external oxidants. *Physiologia Plantarum*. 98: 215-221.
- SCHMIDT, W.; BARTELS, M. 1997. Topography of the NADH-linked ferri-chelate (turbo) reductase in plasma membrane from *Plantago* roots. Abstracts of the IX International Symposium on iron nutrition and interactions in plants. University of Hohenheim. Stuttgart. Germany. pp: 58.
- SCHMIDT, W. 2006. Iron stress responses in roots of strategy I plants. *In Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms*. (L. L. Barton; J. Abadía (eds)). Springer. ISBN-10 1-4020-4742-8 (HB). Netherlands. 229-250.
- SCHWERTMANN, U.; TAYLOR, R. M. 1989. Iron oxides. *In Mineral in soil environments* (2nd Edition) (J. B. Dixon; S. B. Weed eds). Soil Science Society of America. 677 South Segoe Road. Madison. WI 53711. USA. SSA Book Series. N^o. 1: 379-438.

SCHWERTMANN, U. 1991. Solubility and dissolution of iron oxides. In Iron nutrition and interactions in plants. (Y. Chen; Y. Hadar). Kluwer Academic Publishers ISBN 0-7923-1095-0: 3-27.

SHOJIMA, S.; NISHIZAWA, N. K.; FUSHIYA, S.; NOZOE, S.; IRIFUNE, T.; NORI, S. 1990. Biosynthesis of phytochelatins *in Vitro* biosynthesis of 2'-deoxymugineic acid from L-methionine and nicotianamine. Plant Physiology. 93 (4): 1497-1503.

SIJMONS, P. C.; VANDENBRIEL, W.; BIENFAIT, H. F. 1984. Cytosolic NADPH is the electron donor for extracellular Fe-III reduction in iron-deficient bean roots. Plant Physiology. 75: 219-221.

SMITH, B. N. 1984. Iron in higher plants: storage and metabolic rate. J. Plant Nutr. 7: 759-766.

SOLDATINI, G. F.; TOGNINI, M.; CASTAGNA, A.; BALDAN, B.; RANIERI, A. 2000. Alterations in thylakoid membrane composition induced by iron starvation in sunflower plants. J. of Plant Nutrition. 23: 1717-1732.

SPILLER, S. C.; TERRY, N. 1980. Limiting factors in photosynthesis. II. Iron stress diminishes photochemical capacity by reducing the number of photosynthetic units. Plant Physiol. 65: 121-125.

STEPHAN, U. W.; SCHOLZ, G. 1993. Nicotinamine: mediator of transport of iron and heavy metals in the phloem? Physiol. Plant. 88: 522-529.

STEPHAN, U. W. 2002. Intra- and intercellular iron trafficking and subcellular compartmentation within roots. Plant and Soil 241: 19-25.

SUSÍN, S.; ABADÍA, A.; GONZÁLEZ-REYES, J. A.; LUCENA, J. J.; ABADÍA, J. 1996. The pH requirement 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 Physiology. 110: 111-123.

TAKAGI, S.; NOMOTO, K.; TAKEMOTO, T. 1984. Physiological aspect of mugenic acid, a possible phytochelatone of graminaceous plants. J. Plant Nutr. 7: 469-477.

TAKAGI, S. 1993. Production of phytochelatones. In: Iron chelation in plants and soil microorganisms. (L. L. Barton; B. C. Hemming Eds). Academic Press. CA (USA): 111-131.

TERRY, N. 1980. Limiting factors in photosynthesis I. Use of iron stress to control photochemical capacity *in vivo*. Plant Physiol. 65: 114- 120.

TERRY, N.; LOW, G. 1982. Leaf chlorophyll content and its relation to the intracellular localization of iron. J. Plant Nutr. 5: 301-310.

TERRY, N.; ABADÍA, J. 1986. Functions of iron in chloroplasts. J. of Plant Nutrition. 9: 609-646.

TERRY, N.; ZAYED, A. M.; 1995. Physiology and biochemistry of leaves under iron deficiency. In Iron Nutrition in Soils and Plants. (J. abadía ed). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. ISBN: 0-7923- 2900-7: 283-294.

- THEIL, E. C. 1987. Ferritin: structure, gene regulation, and cellular function in animals, plants and microorganisms. *Annu. Rev. Biochem.* 56: 289-315.
- THOIRON, S.; PASCAL, N.; BRIAT, J. F. 1997. Impact of iron deficiency and iron re-supply during the early stages of vegetative development in maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Environ.* 20: 1051-1060.
- TIFFIN, L. O. 1966a. Iron translocation I. Plant culture, exudate sampling, iron citrate analysis. *Plant Physiol.* 41: 1051-1060.
- TIFFIN, L. O. 1966b. Iron translocation II. Citrate/iron ratios in plant stem exudates. *Plant Physiol.* 41: 515-518.
- TIFFIN, L. O. 1970. Translocation of iron citrate and phosphorous in xylem exudate of soybeans. *Plant Physiol.* 45: 280-283.
- TOULON, V.; SENTENAC, H. THIBAUD, J. B.; DAVIDIAN, J. C.; MOULINEAU, C.; GRIGNON, C. 1992. Role of apoplast acidification by the H⁺ pump. Effect on the sensitivity of pH and CO₂ of iron reduction by roots of *brassica napus* L. *Planta.* 186: 212-218.
- WATERS, B. M.; BLEVINS, D. G.; EIDE, D. J. 2002. Characterization of FRO1, a pea ferric-chelate reductase involved in root iron acquisition. *Plant Physiol* 129: 85-94.
- WELKIE, G. W.; MILLER, G. W. 1989. Sugar beet responses to iron nutrition and stress. *J. Plant Nutr.* 12: 1041-1054.
- WELKIE, G. W.; MILLER, G. W. 1993. Plant iron uptake physiology by nonsiderophore systems. In: *Iron chelation in plants and soil microorganisms.* (L. L. Barton; B. C. Hemming eds). Academic Press. San Diego, CA. ISBN 0-12-079870-0: 345-369.
- WHITE, M. C.; BAKER, F. D.; CHANEY, R. L. DECKER, A. M. 1981. Metal complexation in xylem fluid. II. Theoretical equilibrium model and computational computer program. *Plant Physiol.* 67: 301-310.
- WINDER, T.; NISHIO, J. 1995. Early iron deficiency stress response in leaves of sugar beet. *Plant Physiol* 108: 1487-1494.
- WINKELMANN, G. 1986. Iron complex products (siderophores). In *Biotechnology.* Vol 4 (H. J. Rehm; G. Reed eds): 216-243. VCH Verlagsgesellschaft. Weinheim.
- YANG, X.; RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H. 1994. Effect of bicarbonate on root growth and accumulation of organic acids in Zn-inefficient and Zn-efficient rice cultivars *Oryza sativa* L. *Plant and Soil.* 164: 1-7.
- YOUNG, T. F., TERRY, N. 1982. Transport of iron into leaves following iron resupply to iron-stressed sugar beet plants. *J. Plant Nutr.* 5:1273-1283.
- ZAHARIEVA, T. B.; RÖMHELD, V. 2000. Specific Fe²⁺ uptake system in strategy I plant inducible under Fe deficiency. *J. Plant Nutr.* 23 (11&12): 1733-1744.
- ZAHARIEVA, T. B.; ABADÍA, J. 2003. Iron deficiency enhances the levels of ascorbate, glutathione, and related enzymes in sugar beet roots. *Protoplasma.* 221: 269-275.
- ZAHARIEVA, T. B.; GOGORCENA, Y.; ABADÍA, J. 2004. Dynamics of metabolic responses to iron deficiency in sugar beet roots. *Plant Science.* 166: 1045-1050.

ZHANG, F.; RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H. 1991a. Release of zinc mobilizing root exudates in different plant species as affected by zinc nutritional status. *J. Plant Nutr.* 14: 675-686.

ZHANG, F.; RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H. 1991b. Diurnal rhythm of release of phytosiderophores and uptake rate of zinc in iron-deficient wheat. *Soil Sci. Plant Nutr. (Tokyo)* 37: 671-678.

ZHANG, F.; RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H. 1991c. Role of the root apoplasm from iron acquisition by wheat plant. *Plant Physiol.* 97: 1302-1305.

ZOCCHI, G.; COCUCCHI, S. 1990. Fe uptake mechanism in Fe-efficient cucumber roots. *Plant physiol.* 92: 908-911.