

Mecanismos de resposta das plantas à clorose férrica: uma revisão

MARIBELA PESTANA⁽¹⁾

PEDRO JOSÉ CORREIA⁽¹⁾

AMARILIS DE VARENNES⁽²⁾

EUGÉNIO DE ARAÚJO FARIA⁽¹⁾

RESUMO

O termo clorose férrica é aplicado a plantas nas quais os processos fisiológicos em que participa o ferro se encontram reduzidos ou inactivos, especialmente a síntese clorofilina. Devido à baixa mobilidade do ferro na planta, a clorose diagnostica-se, inicialmente nas folhas mais jovens, pelo aparecimento de um fino reticulado no qual apenas as nervuras permanecem verdes. A clorose férrica influencia a qualidade do fruto e a produção agrícola, que em casos extremos pode ser drasticamente afectada, obrigando a aplicações massivas de quelatos férricos sintéticos ao solo. A alternativa à correcção da clorose férrica passa pela utilização de material vegetal tolerante à clorose férrica, o que ainda não é possível em muitas espécies vegetais.

Neste trabalho apresenta-se a informação actualmente disponível sobre os mecanismos de resposta das plantas à clorose férrica, que julgamos necessária à caracterização e selecção de espécies vegetais tolerantes à deficiência de ferro. São descritos os distintos comportamentos que as espécies vegetais apresentam face à deficiência de Fe e os processos bioquímicos e fisiológicos associados a cada mecanismo de adaptação, quer ao nível da parte aérea quer ao nível da raiz. No final apresenta-se uma breve discussão sobre o grau de tolerância das diferentes espécies vegetais à clorose férrica.

Palavras-chave: Clorose férrica; Deficiência de ferro; Estratégias I e II; Tolerância.

ABSTRACT

Iron chlorosis is a term applied to plants in which the physiological processes in which iron participates are reduced or inactivated, especially chlorophyll synthesis. Due to the small mobility of

⁽¹⁾ Faculdade de Engenharia de Recursos Naturais, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal.

⁽²⁾ Instituto Superior de Agronomia, Departamento de Química Agrícola e Ambiental, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal.

iron in plants, iron chlorosis becomes apparent in young leaves where there is a fine reticulate with a yellow colouration, while the veins remain green. Iron chlorosis can reduce yield and quality of fruits, and in extreme cases the effects can be severe. This justifies the need for massive applications of synthetic ferric chelates to soils. The alternative approach to this requires the use of plant material tolerant of iron deficiency, but this is not yet possible in many species.

In this work, the information available on the mechanisms of response to iron chlorosis that is need for the characterization and selection of plants tolerant to iron deficiency was presented. The behaviour of plants faced with iron deficiency, and the physiological and biochemical processes associated with each adaptation mechanism, both in shoots and roots, were described. Finally, the degree of tolerance of several species was briefly discussed.

Keywords: Iron chlorosis; Iron deficiency; Strategies I and II; Tolerance.

1. Introdução

O Fe é um elemento essencial para as plantas superiores, na medida em que, quando não se encontra disponível em quantidades suficientes, é susceptível de limitar severamente as produções agrícolas. O Fe desempenha funções como micronutriente em diversos processos metabólicos, associadas à sua capacidade de mudar de valência e de formar complexos octaédricos estáveis com vários ligandos naturais (Marschner, 1995; Welch, 1995).

O processo de absorção do Fe nas dicotiledóneas inicia-se pela sua redução na membrana plasmática (Buckhout *et al.*, 1989; Brüggemann *et al.*, 1990; Holden *et al.*, 1994; Holden *et al.*, 1992; Holden *et al.*, 1991), através da acção de uma quelato de Fe(III)-redutase, cuja actividade decresce rapidamente para valores de pH acima de 6,5. Uma vez no simplasto do sistema radicular, o Fe(II) é oxidado e complexado pelo ácido cítrico originando Fe(III)-citrato, forma em que é translocado, *via* xilema, para a parte aérea (Brown & Jolley, 1989). O transporte do Fe para os tecidos jovens, especialmente para os ápices caulinares em crescimento, pode ser efectuado através do floema ou do xilema (Kosegarten *et al.*, 1999). O Fe(III)-citrato transportado pela seiva xilémica, das raízes para as folhas, pode passar para o floema (Stephan & Scholz, 1993). O passo crucial nesta troca é o transporte do Fe através da membrana plasmática, que é iniciado pela redução do Fe(III). Esta redução pode ocorrer ao longo do sistema vascular, nas interfaces apoplasto/simplasto. O Fe^{2+} que entra no citoplasma é complexado pela nicotianamina e nesta forma é uniformemente distribuído no simplasma, permitindo a sua participação nos diversos processos metabólicos.

A clorose férrica é um problema nutricional muito frequente nos pomares estabelecidos em solos calcários (Chen & Barak, 1982). Nestes solos, a deficiência de Fe resulta do efeito do ião bicarbonato na absorção, translocação e biodisponibilidade deste elemento na parte aérea. Na folha, o aumento do pH apoplástico conduz à imobilização fisiológica do Fe (Terry & Zayed, 1995), que

resulta num decréscimo dos pigmentos fotossintéticos e no aparecimento dos sintomas característicos de clorose férrica (Abadía *et al.*, 1989; Abadía, 1992; Abadía & Abadía, 1993; Terry & Abadía, 1986). Devido à pouca mobilidade do Fe na planta, os sintomas desta deficiência manifestam-se inicialmente nas folhas mais jovens e caracterizam-se pelo aparecimento de um fino reticulado no qual apenas as nervuras permanecem verdes. A clorose do limbo parece ser devida, sobretudo, ao facto do Fe ser essencial para a formação das membranas dos tilacóides (Abadía, 1992; Millard, 1995).

Nestas condições, quando a absorção de Fe é baixa, os genótipos Fe-eficientes desencadeiam mecanismos de resposta ao nível da parte aérea e/ou radicular que incluem alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas (Marschner & Römheld, 1995; Schmidt, 1999; Terry & Zayed, 1995). As diferentes espécies vegetais e por vezes algumas cultivares, dentro de dada espécie, apresentam comportamentos distintos face à clorose férrica o que permite classificá-las, em espécies eficientes, pela sua capacidade de adaptação à deficiência de Fe e espécies não eficientes que, por não apresentarem qualquer mecanismo de resposta, morfológico ou fisiológico, desenvolvem os sintomas característicos da clorose férrica (Bienfait *et al.*, 1985; Marschner & Römheld, 1995; Marschner *et al.*, 1986; Marschner & Godbold, 1995; Römheld, 1987b).

2. Mecanismos de resposta à clorose férrica

Os diferentes mecanismos de resposta que contribuem para um melhor estado nutricional em Fe e portanto para uma maior tolerância à clorose férrica, actuam através da mobilização do Fe na rizosfera e do aumento da taxa de absorção e de translocação deste elemento na planta (Brown & Jolley, 1989).

Segundo Römheld (1987a), os vários processos que promovem a solubilidade e disponibilidade do Fe na rizosfera podem ser classificados como mecanismos não específicos, quando estão presentes na planta independentemente do estado nutricional do Fe e como mecanismos específicos, quando surgem sempre que a concentração de Fe nos tecidos vegetais decresce abaixo do nível crítico, sendo desactivados assim que é alcançado o nível de Fe necessário para a planta, de modo a evitar a absorção excessiva deste nutriente (Tabela 1).

2.1. Mecanismos não específicos

Os mecanismos não específicos estão sempre presentes nas plantas superiores e podem favorecer a absorção do Fe, independentemente da planta se encontrar em deficiência.

Tabela 1

Mecanismos específicos e não específicos, que aumentam a absorção do ferro (Römheld, 1987b).

A — Mecanismos não específicos

- Decréscimo do pH devido a uma absorção preferencial de cátions.
- Exsudação de ácidos orgânicos, conduzindo a um decréscimo do pH e/ou complexação do ferro.
- Aumento da actividade microbiana na rizosfera devido à exsudação radicular, o que afecta o pH e deste modo a redução do Fe (III) e concentração de quelatos.
- Simbiose com microrganismos que sejam altamente eficientes na absorção de ferro.

B — Mecanismos específicos

- Redução do Fe (III). (Redutase induzida)
- Libertação de prótons. (ATPase induzida e dependente da bomba protónica)
- Exsudação de compostos fenólicos. (Agentes redutores e quelatantes)
- Exsudação de substâncias quelatantes específicas para o ferro. (Fitossideróferos)
- Síntese de sistemas específicos para absorção do ferro. (Proteínas de transporte)

A acidificação da rizosfera pode ser motivada pela absorção catiónica (K^+ e NH_4^+), uma vez que para manter o potencial eléctrico das células é necessário que simultaneamente ocorra extrusão de prótons (Marschner & Römheld, 1995; Römheld *et al.*, 1984).

Os compostos orgânicos libertados pelas raízes podem ser agrupados em compostos de elevado peso molecular, como a mucilagem que protege as raízes da dessecação e aumenta as zonas de contacto entre a raiz e o solo, e em compostos de baixo peso molecular (aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos, fenóis) que para além de complexarem o Fe podem ser uma fonte de carbono para os microrganismos (Masalha *et al.*, 2000; Marschner *et al.*, 1997).

A fauna microbiana pode aumentar a absorção de Fe de diversas formas, nomeadamente através da libertação de agentes complexantes (ácidos orgânicos, açúcares e sideróferos) e da formação de pequenas zonas anaeróbias, favoráveis à redução do Fe (Cress *et al.*, 1986; Lindsay, 1991; Jurkevitch *et al.*, 1992; Awad *et al.*, 1995).

A simbiose com micorrizas aumenta a zona de contacto entre o solo e a raiz (Treeby, 1992) e permite a acumulação de sideróferos na rizosfera, compostos muito eficientes na complexação e solubilização do Fe (Marschner *et al.*, 1997). No entanto, Treeby (1992), salientou que a simbiose com micorrizas apenas melhorou o fornecimento de Fe para a parte aérea do hospedeiro (plântulas de citrinos) em ambientes ácidos e não na presença de $CaCO_3$.

Os efeitos benéficos da simbiose com rizobactérias (Ex.: *Pseudomonas*) está também relacionada com a capacidade destes microrganismos para produzirem sideróferos (Bar-Ness *et al.*, 1991; Walter *et al.*, 1994). No entanto, os microrganismos podem ter um efeito negativo na absorção deste elemento, competindo pelo Fe disponível na rizosfera, decompondo os compostos complexantes de Fe existentes na rizosfera e produzindo fitotoxinas que inibem o crescimento radicular (Marschner *et al.*, 1986).

A capacidade de troca catiónica radicular (CTCR) é uma característica presente em todas as espécies vegetais que pode permitir a adsorção de catiões e de quelatos férricos, processo prévio à absorção do Fe (Bakker & Nys, 1999). As espécies calcícolas têm uma CTCR superior à das espécies calcífugas (Chen & Barak, 1982), tendo Hamzé *et al.* (1980) observado que dos porta-enxertos de citrinos estudados, os mais tolerantes apresentavam uma CTCR superior, apesar de não ser uma característica desencadeada pela clorose férrica.

2.2. Mecanismos específicos

Os mecanismos específicos estão dependentes do estado nutricional da planta no que diz respeito ao Fe. Um “sinal”, provavelmente na forma de auxinas, induz alterações bioquímicas e morfológicas que ocorrem a nível radicular e que permitem regular a absorção de Fe (Bienfait *et al.*, 1983; Grusak & Pezeshgi, 1996; Landsberg, 1984; Römheld & Marschner, 1986b; Rubinstein & Luster, 1993).

Resultados obtidos por Romera *et al.* (1996; 1999) indicam que o etileno, através do seu precursor, ácido carboxílico 1-aminociclopropano (ACC), está também envolvido na regulação destes mecanismos de resposta. Schmidt (1999) refere ainda a existência de um sistema hormonal múltiplo e complexo, uma vez que as auxinas e as citocininas estimulam a produção de etileno e, por sua vez, as giberelinas afectam a expansão radial das raízes, processo regulado pelo etileno. A natureza transitória das respostas radiculares à deficiência de Fe em espécies eficientes apontam ainda para a existência de um mecanismo de retroacção (“feedback”) activado após o reverdecimento das folhas cloróticas (Schmidt, 1999; Schmidt & Bartels, 1996).

Face a uma situação de deficiência de Fe, as espécies eficientes desenvolvem diferentes mecanismos específicos de resposta, que podem ser divididas em: Estratégia I, encontrada nas dicotiledóneas e em algumas monocotiledóneas e Estratégia II, característica das gramíneas.

2.2.1. Estratégia I

Conforme descrito por diversos autores (Grusak *et al.*, 1999; Jolley & Brown, 1994; Jolley *et al.*, 1995; Marschner *et al.*, 1986; Römheld, 1987a; Römheld, 1987b; Römheld & Marschner, 1986a; Schmidt, 1999; Welch, 1995), a Estratégia I é genericamente caracterizada por apresentar, conjuntamente com alterações morfológicas da raiz, exsudação protónica, libertação de compostos redutores e/ou complexantes e aumento da redução do Fe (III).

Em situações de deficiência de Fe, a **acidificação da rizosfera** e do apoplasto das células radiculares resulta da excreção de hidrogeniões originados pelo aumento da actividade das ATPases existentes na membrana plasmática, distinguindo-se da acidificação não específica anteriormente descrita uma vez que ocorre em zonas localizadas do sistema radicular (Welkie, 1993; Serrano, 1989; Susín *et al.*, 1994; Vos *et al.*, 1986).

Este mecanismo de acidificação favorece a libertação de substâncias redutoras e/ou complexantes do Fe para a rizosfera, tais como compostos fenólicos, flavinas, ácidos orgânicos e polipéptidos, que favorecem a solubilização dos compostos férricos inorgânicos e a absorção do Fe (Vempati *et al.*, 1995; Buckhout *et al.*, 1989; Bienfait *et al.*, 1983; Marschner *et al.*, 1986; Römheld, 1987b; Römheld, 1987a).

Os **compostos fenólicos** libertados, diferem entre espécies vegetais, sendo os mais comuns o ácido cafeico, o ácido fenólico e o ácido clorogénico (Alcaraz *et al.*, 1985; Römheld & Kramer, 1983). A síntese destes compostos ocorre devido à inibição da actividade da enzima peroxidase, motivada pela deficiência de Fe, resultando numa menor suberificação da raiz e na acumulação dos precursores aromáticos dos fenóis (Sijmons *et al.*, 1984). A acumulação e a excreção radicular de **flavinas** foram detectadas em pimenteiro (Welkie *et al.*, 1990) e em beterraba sacarina (Susín *et al.*, 1996b; Susín *et al.*, 1996a; Susín *et al.*, 1993; Susín *et al.*, 1994). Segundo Susín *et al.* (1994) a libertação de flavinas ocorre apenas quando o pH da rizosfera desce, uma vez que em condições alcalinas estes compostos acumulam-se nas raízes chegando a alcançar concentrações de 1 mM. A sua função nas raízes não está esclarecida, sabendo-se apenas que em presença de NADH ou NADPH têm capacidade de reduzir compostos férricos e interagir com a enzima quelato de ferro (III)-redutase (QF-R) (González-Vallejo *et al.*, 1998).

A acumulação de **ácidos orgânicos** a nível radicular, como os ácidos cítrico e málico, foi comprovada por diversos autores (Fournier *et al.*, 1992; Rombolà *et al.*, 1998; Alhendawi *et al.*, 1997) e parece estar associada ao aumento da actividade da enzima fosfoenolpiruvato-carboxilase (PEPC) (Abadía *et al.*, 2002; Andaluz *et al.*, 2002; Rabotti & Zocchi, 1994), conjuntamente com outras enzimas como sejam: gliceraldeído 3-fosfato-desidrogenase, formato-desidrogenase, ascorbato-peroxidase (Abadía *et al.*, 2002; Abadía, 1998; González-Vallejo *et al.*, 1998; López-Millán *et al.*, 2000b; López-Millán *et al.*, 2001b; López-Millán *et al.*, 2001a; López-Millán *et al.*, 2000a). Estes ácidos orgânicos favorecem não só a redução e a

translocação do Fe para a parte aérea como a regulação do pH celular (Abadía *et al.*, 2002).

Numa situação de deficiência de Fe, as espécies vegetais incluídas na Estratégia I, apresentam maiores taxas de redução do Fe (III) ligado aos quelatos, motivadas pelo aumento da actividade da QF-R, localizada na membrana plasmática, referenciada por diversos autores como redutase induzida ou “**turbo-redutase**” (Brüggemann *et al.*, 1990; López-Millán *et al.*, 2000a; Moog & Brüggemann, 1994; Moog & Brüggemann, 1995; Romera *et al.*, 1991). As raízes de plantas deficientes em Fe podem apresentar uma capacidade de reduzir o Fe (III) existente no meio de cultivo até 10 a 20 vezes superior aos valores do controlo (Moog & Brüggemann, 1994; Susín *et al.*, 1996b). O potencial redutor acoplado a esta enzima ainda não está esclarecido. Enquanto Sijmons *et al.* (1984) propuseram o NADPH como dador de electrões, Moog & Brüggemann (1994) verificaram que, em membranas isoladas, a QF-R recebia os electrões preferencialmente do NADH.

De acordo com os resultados obtidos por diversos autores (Bagnaresi & Pupillo, 1995; Schmidt & Schuck, 1996; Susín *et al.*, 1996b), a QF-R parece interagir com os componentes da membrana plasmática como parte de uma cadeia de transporte de electrões. Robinson *et al.* (1999) identificaram uma flavoproteína necessária à actividade da QF-R em *Arabidopsis*.

A localização deste sistema enzimático na raiz parece depender da espécie vegetal (Grusak *et al.*, 1999). Algumas plantas apresentam actividade redutora na zona subapical das raízes (Chaney *et al.*, 1992; Marschner *et al.*, 1982), enquanto que noutras espécies ocorre ao longo de toda a raiz (Grusak *et al.*, 1993). Por vezes esta actividade está confinada ao pêlos radiculares (Römheld, 1987a; Römheld, 1987b), associação no entanto nem sempre encontrada (Moog & Brüggemann, 1994).

Exceptuando-se os resultados obtidos por Susín *et al.* (1994) em beterraba sacarina, o aumento da actividade da QF-R está dependente da existência de pequenas quantidades de Fe no meio (Schmidt, 1999; Romera *et al.*, 1996; Grusak *et al.*, 1999), como foi observado em diversas espécies, nomeadamente feijão (Chaney *et al.*, 1972), soja (Tipton & Thowsen, 1985), girassol (Romera *et al.*, 1992a) e ervilha (Grusak *et al.*, 1993). De um modo geral, o aumento da actividade da QF-R é também evidente em diversas fruteiras como sejam: videira (Bavaresco *et al.*, 1991; Brancadoro *et al.*, 1995; Tagliavini & Rombolà, 2001), macieira (Ao *et al.*, 1985), pessegueiro (Cinelli *et al.*, 1995; Gogorcena *et al.*, 1998; Gogorcena *et al.*, 2000; Egilla *et al.*, 1994; Romera *et al.*, 1991; de la Guardia *et al.*, 1995), marmeleiro (Cinelli, 1995; Tagliavini *et al.*, 1995; Viti & Cinelli, 1993), pereira (Tagliavini *et al.*, 1995), kiwi (Tagliavini *et al.*, 1995; Vizzotto *et al.*, 1997; Vizzotto *et al.*, 1999), alfarrobeira (Correia *et al.*, 2003) e citrinos (Manthey *et al.*, 1993; Manthey *et al.*, 1994; Pestana *et al.*, 2001; Treeby & Uren, 1993). O facto de diversos autores (Tagliavini *et al.*, 1995) não terem registado aumentos da actividade da QF-R em algumas situações é atribuído por Gogorcena *et al.* (2000) à utilização de diferentes metodologias.

Foram apresentadas duas hipóteses para explicar a necessidade de Fe na actividade da QF-R induzida: i) pelo efeito indirecto do Fe na actividade da enzima ACC (ácido carboxílico 1-aminociclopropano sintetase) que participa na biossíntese de etileno, que por sua vez regula este mecanismo de resposta (Abadía *et al.*, 2002; Romera *et al.*, 1996; Romera *et al.*, 1992b; Schmidt *et al.*, 2000) e ii) pela necessidade de Fe como componente e/ou cofactor da própria enzima. Esta última possibilidade está associada com o facto da actividade da QF-R na ausência de Fe ser inferior à obtida em plantas verdes (Romera *et al.*, 1996; Rubinstein & Luster, 1993) e dos acréscimos de actividade da QF-R obtidos com membranas plasmáticas isoladas terem sido inferiores aos obtidos com raízes intactas (Abadía, 1998).

Apesar de terem sido efectuados diversos progressos na caracterização bioquímica da QF-R existem algumas discrepâncias entre os resultados obtidos com raízes intactas e com membranas plasmáticas isoladas (Grusak *et al.*, 1999; Schmidt *et al.*, 2000). Por exemplo, a actividade máxima desta enzima foi obtida para valores diferentes de pH consoante os estudos foram efectuados *in vivo* ou *in vitro* sendo, respectivamente de 5,5 e 7 (Moog & Brüggemann, 1994).

Na definição original deste sistema (Rubinstein & Luster, 1993), baseada no diferente potencial dos substratos requeridos, o aumento da redução do Fe é atribuído a uma mesma enzima, no entanto, os dados disponíveis e reunidos por diversos autores (Grusak *et al.*, 1999; Schmidt *et al.*, 2000) apontam para um aumento da expressão da QF-R, em situação de deficiência de Fe, enzima bioquimicamente diferente da redutase “standard” que não é regulada pela necessidade de Fe. Ainda não foi possível identificar os dois sistemas de enzimas redox (“standard” e “turbo”) envolvidos na absorção do Fe pelas plantas superiores, contudo estão a ser realizados estudos bioquímicos baseados na especificidade estereoquímica destas enzimas para o α — NADH ou β — NADH (Schmidt *et al.*, 2000).

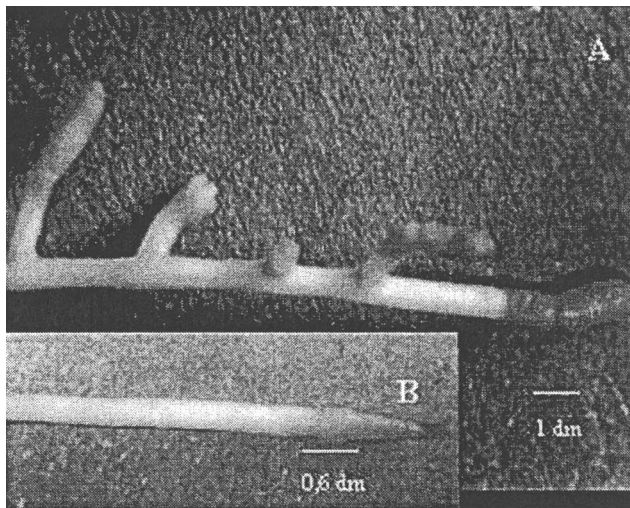
Ao nível foliar, ainda não foi identificado qualquer mecanismo de indução da actividade da quelato de Fe (III)-redutase em situação de deficiência de Fe (Brüggemann *et al.*, 1993; de la Guardia & Alcántara, 1996; Nikolic & Römheld, 1999; Rombolà *et al.*, 2000).

Vários autores (Landsberg, 1995; Romera & Alcántara, 1994; Römheld & Marschner, 1981; Schmidt & Schuck, 1996; Welkie, 1993) verificaram que as modificações fisiológicas desencadeadas pela deficiência de Fe eram acompanhadas por **alterações morfológicas** (Figura 1) tais como: i) uma dilatação das zonas subapicais da raiz devido a um alargamento do córtex originado por uma divisão adicional da células da epiderme da raiz e ii) um maior número de pêlos radiculares de comprimento superior. Estas alterações na morfologia radicular estão quase sempre associadas ao desenvolvimento de células de transferência que, espacialmente, coincidem com a zona subapical da raiz onde ocorre a redução do Fe (Landsberg, 1995; Landsberg, 1984; Egilla *et al.*, 1994).

A formação de células de transferência, caracterizadas por possuírem protuberâncias mais ou menos desenvolvidas na parede celular acompanhadas pelo plasmalema envolvente, conduz a um alargamento da superfície de ligação entre a parede celular e o citoplasma (Kramer *et al.*, 1980; Schmidt & Bartels, 1996; Welkie, 1993). Estas células têm citoplasmas densos, com um número particularmente elevado de mitocôndrias polarizadas no sentido das invaginações e com um retículo endoplasmático rugoso denso (Landsberg, 1984).

Figura 1

Aspectos de ápices radiculares de plantas de laranjeira que cresceram em solução nutritiva sem Fe (A) e com 20 μ M de Fe (B), neste último caso não apresentando sintomas de deficiência do elemento. Ampliação: 6x (Fotografias extraídas de Pestana, 2000)



dm - decímetro

As células de transferência podem também diferenciar-se a partir das células parenquimatosas do xilema. São funcionalmente idênticas às que ocorrem nas células rizodérmicas, mas apresentam um papel significativo na entrada do Fe para o sistema vascular e na posterior translocação deste elemento para a parte aérea (Schmidt & Bartels, 1996; Welkie, 1993). Na parte aérea, podem existir células de transferência em diversos locais, como sejam: i) nos nós dos caules permitindo a troca de nutrientes entre os feixes vasculares adjacentes não conectados; ii) nas nervuras secundárias das folhas, desviando o Fe já existente na seiva xilémica dos vasos condutores para o simplasto das células adjacentes, que apresentam elevadas taxas de crescimento e necessidades de Fe e iii) na zona de conexão entre o xilema

e o floema, possibilitando a absorção do Fe através do fluxo transpiratório e posterior distribuição deste elemento, *via* floema, especialmente nos tecidos meristemáticos da região apical que apresentam uma baixa taxa de transpiração (Landsberg, 1984).

A coincidência espacial e temporal dos mecanismos de resposta característicos da Estratégia I a nível radicular foi frequentemente encontrada por diversos autores (Grusak *et al.*, 1993; Grusak *et al.*, 1999; Marschner & Römheld, 1995) que classificaram este sistema de cooperativo. No entanto, Grusak *et al.* (1990) estimaram que apenas 17% do Fe reduzido por este processo é absorvido pelas raízes, sendo portanto um sistema muito pouco eficiente em termos de custos energéticos.

2.2.2. Estratégia II

A Estratégia II está confinada às gramíneas (tribo *Poaceae*) as quais, face a uma deficiência de Fe, libertam fitossideróferos para a rizosfera e possuem simultaneamente um sistema de absorção do Fe, proteína de transporte com elevada especificidade para os fitossideróferos férricos (Brown & Jolley, 1989; Chaney *et al.*, 1989; Grusak *et al.*, 1999; Marschner *et al.*, 1986; Römheld & Marschner, 1981).

Diversos autores (Kawai *et al.*, 1995; Alhendawi *et al.*, 1997; Kanazawa *et al.*, 1995b) identificaram vários **fitossideróferos**, complexantes específicos para o Fe (III), tal como o ácido mugénico e o ácido avénico. Estes compostos têm o mesmo precursor bioquímico que a nicotianamina, aminoácido que existe nas plantas superiores (Kawai *et al.*, 1995; Kanazawa *et al.*, 1995b; Kanazawa *et al.*, 1995a; Higuchi *et al.*, 1995; Römheld, 1987b). A produção de fitossideróferos aumenta gradualmente com a deficiência em Fe, é regulada pelo ritmo diurno, e atinge o máximo poucas horas após o início do período luminoso (Kanazawa *et al.*, 1995a; Kanazawa *et al.*, 1995b). O Fe, depois de reduzido, entra na planta através de um sistema de transporte específico. Simultaneamente o fitossiderófero é libertado, permanecendo disponível para tornar a complexar mais Fe existente na rizosfera (Marschner & Römheld, 1995; Wang & Peverly, 1999).

Os mecanismos da Estratégia II estão restritos às células rizodérmicas e ao conjunto de pêlos radiculares das zonas apicais (Römheld, 1987a).

A elevada especificidade deste sistema para o Fe foi comprovada por diversos investigadores (Römheld, 1987a; Römheld & Kramer, 1983; Römheld & Marschner, 1986a) pois verificaram que a taxa de absorção do ferro ligado a fitossideróferos é cerca de 1000 vezes superior à taxa de absorção de quelatos sintéticos (Fe-EDDHA) ou sideróferos (ferrioxamina-Fe(III)) de origem microbiana. Consequentemente, quando o Fe está ligado a fitossideróferos, são requeridas baixas concentrações de ferro solúvel, inferiores aos valores críticos

necessários para o crescimento de plantas não cloróticas (Römheld, 1987a; Römheld & Marschner, 1986a).

Surpreendentemente, a taxa de absorção do Fe ligado a fitossideróferos é também elevada nas plantas com níveis adequados deste elemento nutritivo, indicando que este sistema de absorção está sempre presente nas gramíneas e que a sua biorregulação é determinada preferencialmente pela taxa de produção de fitossideróferos e não pelo sistema de transporte através da membrana plasmática (Römheld, 1987a; Römheld & Marschner, 1986a).

Estes mecanismos apresentam também uma regulação hormonal que, no entanto, é diferente da verificada nas plantas da Estratégia I. Esta diferença poderá vir a distinguir taxonomicamente as duas estratégias (Schmidt, 1999), o que até agora ainda não foi possível (Wallace, 1990).

2.2.3. Grau de tolerância das espécies vegetais

Marschner *et al.* (1986) referem que uma comparação ecológica entre as duas estratégias, revela que as gramíneas (Estratégia II) apresentam vantagens relativamente às espécies eficientes da Estratégia I: uma maior capacidade de mobilizar o Fe (III) inorgânico existente na rizosfera e uma menor sensibilidade a substratos com elevado pH, pois nestas condições apenas se verifica um decréscimo ligeiro na produção de fitossideróferos. Estas considerações foram comprovadas por Zhang *et al.* (1999), pois constataram que as dicotiledóneas estudadas (soja e pepino) apenas acumularam Fe no espaço apoplástico do córtex radicular quando existiam quantidades suficientes de Fe disponível no meio. Em solos calcários, estas plantas dicotiledóneas não apresentaram capacidade de mobilizar o Fe existente no solo mas as gramíneas (trigo), pelo contrário, mantiveram uma reserva adequada de Fe radicular, independentemente da disponibilidade do Fe no solo.

Entre espécies vegetais, e mesmo cultivares, existe uma grande diversidade de expressão, qualitativa e quantitativa, dos mecanismos específicos activados por uma deficiência de Fe (Marschner & Römheld, 1995). A presença destes mecanismos num determinado genótipo nem sempre está associada a uma maior tolerância à clorose férrica, uma vez que esta potencialidade fisiológica pode ou não expressar-se nos solos calcários (Römheld & Marschner, 1986b). Deste modo, por exemplo, os porta-enxertos de citrinos provenientes de *C. macrophylla*, *C. aurantium* ou de *C. jambhiri* são tolerantes à clorose férrica enquanto que os de *Poncirus trifoliata* são susceptíveis (Hamzé *et al.*, 1986; Sudahomo *et al.*, 1994). Dos porta-enxertos de videira (*Vitis* sp.) utilizados, os híbridos de *V. berlandieri* x *V. rupestris* '140 Ru' e de *V. berlandieri* x *V. riparia* 'SO4' são tolerantes, enquanto que o híbrido *V. riparia* x *V. rupestris* é susceptível (Bavaresco *et al.*, 1995b). Segundo Shi & Byrne (1995) entre os porta-enxertos mais tolerantes das espécies de *Prunus* sp. encontram-se os híbridos de *P. persica* x *P. amygdalus* ou o

genótipo de *P. persica* 'Swat' e entre os susceptíveis está o genótipo de *P. persica* 'Nemaguard'. Cordeiro (1997) conseguiu diferenciar o grau de tolerância de duas variedades de oliveira, 'Hojiblanca' e 'Lechín de Sevilla', utilizadas em Espanha e genericamente classificadas como susceptíveis à clorose férrica.

Para além dos mecanismos específicos anteriormente referidos, Bavaresco *et al.* (1994) referem que alguns dos porta-enxertos de videira tolerantes à clorose férrica podem apresentar um mecanismo de protecção em relação à clorose férrica. Estas plantas, quando privadas de Fe, têm uma baixa taxa de crescimento, denotando uma maior eficiência de utilização de cada unidade de Fe absorvido. Posteriormente, Wei *et al.* (1995) observaram que numa situação de deficiência de Fe, as espécies de trevo (*Trifolium* sp.) tolerantes à clorose férrica apresentavam comparativamente com as espécies susceptíveis: i) uma relação entre a raiz e a parte aérea mais elevada; ii) um balanço nutricional mais equilibrado; iii) mecanismos de mobilização do Fe mais efectivos; iv) menores necessidades metabólicas de Fe e v) uma maior eficiência de utilização do Fe na parte aérea.

A actividade fisiológica responsável pela diferente tolerância dos porta-enxertos de pessegueiros, de acordo com Egilla *et al.* (1994), envolve a capacidade das plantas para manterem uma área de superfície radicular suficiente para a redução e a absorção do Fe em condições de baixa solubilidade de Fe no solo. Por outro lado, Han *et al.* (1998) constataram que, numa situação de deficiência de Fe, a cultivar de macieira mais tolerante à clorose férrica apresentava uma capacidade de troca catiónica radicular superior, uma maior condutividade eléctrica e capacidade para baixar o pH da rizosfera, apresentando consequentemente um maior teor de Fe no apoplasto radicular. Longnecker & Welsh (1990) sugerem mesmo que a capacidade de acumular Fe no apoplasma radicular pode vir a ser utilizada como método de selecção de genótipos tolerantes à clorose férrica. Outra proposta, com o mesmo fim, é a utilização da actividade da QF-R, método testado na selecção de genótipos de soja (*in vitro*) por Jolley *et al.* (1992), de porta-enxertos de pessegueiro (*in vivo*) por Gogorcena *et al.* (2000) e de sobreiros por Gogorcena *et al.* (2001).

O grau de tolerância, quantitativa e qualitativamente, à clorose férrica é geneticamente controlado e é transmitido entre gerações de uma mesma espécie e/ou cultivar, variando no entanto consoante as espécies estudadas. Em plantas de *Glycine max* L. foi atribuída a genes múltiplos com acção aditiva ((Cianzio, 1991; Cianzio e Voss, 1994), enquanto que em *Avena byzantina* L. e *Lycopersicum esculentum* L. foi atribuído a um gene dominante (Cianzio, 1995), tal como em *Beta vulgaris* L. (Campbell & Nishio, 2000). Em *Phaseolus vulgaris* L. está associada a genes dominantes de acção complementar (Zaiter & Ghlayini, 1994) e em *Helianthus annuus* L. o controlo é efectuado por dois genes dominantes (Alcántara *et al.*, 1988).

3. Conclusões

Apesar do avanço do conhecimento sobre esta deficiência nutritiva, vários aspectos permanecem desconhecidos ou pouco claros. A imobilização do Fe no solo e o papel dos microrganismos na disponibilidade do Fe são campos de estudo importantes. Ao nível da planta, é necessário clarificar o papel das hormonas nos mecanismos de adaptação à clorose férrica, evidenciados pelas espécies ou cultivares tolerantes; estudar a ecologia das espécies não cultivadas que, na Natureza, estão adaptadas à deficiência de ferro e por fim, desenvolver técnicas laboratoriais que permitam identificar os genótipos tolerantes.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financeiramente suportado pelo Centro de Desenvolvimento de Ciências e Técnicas de Produção Vegetal (Unidade de I&D nº 1584) e pelo projecto POCTIA nº 528/2003

BIBLIOGRAFIA

- ABADÍA, A.; SANZ, M.; DE LAS RIVAS, J.; ABADÍA, J. (1989) — Photosynthetic pigments and mineral composition of iron deficient pear leaves, *Journal of Plant Nutrition*, 12:827-838.
- ABADÍA, J. (1992) — Leaf response to Fe deficiency: A review, *Journal of Plant Nutrition*, 15:1699-1713.
- ABADÍA, J. (1998) — Absorción y transporte de hierro en plantas, *Actas do VII Simpósio Nacional-III Ibérico sobre Nutrición Mineral de las Plantas*, :XIII-XXIV.
- ABADÍA, J.; ABADÍA, A. (1993) — Iron and pigments In *Iron chelation in plants and soil microorganisms*, (Eds, L. L. Barton e B. C. Hemming) Academic press, Inc, San Diego, CA, USA, pp. 327-343.
- ABADÍA, J.; LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; ROMBOLÀ, A. D.; ABADÍA, A. (2002) — Organic acids and Fe deficiency: a review, *Plant and Soil*, 241:75-86.
- ALCÁNTARA, E.; ROMERA, F. J.; DE LA GUARDIA, M. D. (1988) — Genotypic differences in bicarbonate-induced iron chlorosis in sunflower, *Journal of Plant Nutrition*, 11:65-75.
- ALCARAZ, C. F.; HELLÍN, E.; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, F. (1985) — Influence of the leaf iron contents of the ferredoxin levels in citrus plants, *Journal of Plant Nutrition*, 8:603-611.
- ALHENDAWI, R. A.; RÖMHELD, V.; KIRKBY, E. A.; Marschner, H. (1997) — Influence of increasing bicarbonate concentrations on plant growth, organic acid accumulation in roots and iron uptake by barley, sorghum, and maize, *Journal of Plant Nutrition*, 20:1731-1753.

- ANDALUZ, S.; LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; PELEATO, M. L.; ABADÍA, J.; ABADÍA, A. (2002) — Increases in phosphoenolpyruvate carboxylase: a key response of sugar beet roots to iron-deficient., *Plant and Soil*, 43-48.
- AO, T. Y.; FAN, F.; KORCAK, R. F.; FAUST, M. (1985) — Iron reduction by apple roots, *Journal of Plant Nutrition*, 8:629-644.
- AWAD, F.; RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H. (1995) — Effect of root exudates on mobilization in the rhizosphere and uptake of iron by wheat plants In *Iron nutrition in soils and plants*, (Ed. J. Abadía) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 99-104.
- BAGNARESI, P.; PUPILLO, P. (1995) — Characterization of NADH-dependent Fe^{3+} -chelate reductases of maize roots, *Journal of Experimental Botany*, 46:1497-1503.
- BAKKER, M. R.; NYS, C. (1999) — Effect of liming on fine root cation exchange sites of oak, *Journal of Plant Nutrition*, 22:1567-1575.
- Bar-NESS, E.; CHEN, Y.; HADAR, Y.; MARSCHNER, H.; RÖMHELD, V. (1991) — Siderophores of *Pseudomonas putida* as an iron source for dicot and monocot plants, *Plant and Soil*, 130:231-241.
- BAVARESCO, L.; FREGONI, M.; FRASHINI, P. (1991) — Investigations on iron uptake and reduction by excised roots of different grapevine rootstocks and a *V. vinifera* cultivar In *Iron nutrition and interactions in plants*, (Eds. Y. Chen e Y. Hadar) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 139-143.
- BAVARESCO, L.; FREGONI, M.; PERINO, A. (1994) — Physiological aspects of lime-induced chlorosis in some *Vitis* species. I. Pot trial on calcareous soil, *Vitis*, 33:123-126.
- BIENFAIT, H. F.; BINO, R. J.; VAN DER BLICK, A. M.; DUIVENVOORDEN, J. F.; FONTAINE, J. M. (1983) — Characterization of ferric reducing activity in roots of Fe-deficient *Phaseolus vulgaris*, *Physiologia Plantarum*, 59:196-202.
- BIENFAIT, H. F.; VAN DEN BRIEL, W.; MESLAND-MUL, N. T. (1985) — Free space iron pools in roots. Generation and mobilization, *Plant Physiology*, 78:596-600.
- BRANCADORO, L.; RABOTTI, G.; SCIENZA, A.; ZOCCHI, G. (1995) — Mechanisms of Fe-efficiency in roots of *Vitis* spp. in response to iron deficiency stress, *Plant and Soil*, 171:229-234.
- BROWN, J. C.; JOLLEY, V. D. (1989) — Plant metabolic responses to iron-deficiency stress, *Bioscience*, 39:546-551.
- BRÜGGEMANN, W.; MASS-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.
- BRÜGGEMANN, W.; MOOG, P. R.; NAKAGAWA, H.; JANIESCH, P.; KUIPER, J. C. (1990) — Plasma membrane-bound NADH: Fe^{3+} -EDTA reductase and iron deficiency in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). Is there a turbo reductase?, *Physiologia Plantarum*, 79:339-346.
- BUCKHOUT, T. J.; BELL, P. F.; LUSTER, D. G.; CHANEY, R. L. (1989) — Iron-stress induced redox activity in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) is localized on the plasma membrane, *Plant Physiology*, 90:151-156.
- CAMPBELL, S. A.; NISHIO, J. N. (2000) — Iron deficiency studies of sugar beet using an improved sodium bicarbonate-buffered hydroponic growth system, *Journal of Plant Nutrition*, 23:741-757.

- CHANEY, R. F.; BROWN, J. C.; TIFFIN, L. O. (1972) — Obligatory reduction of ferric chelates in iron uptake by soybeans, *Plant Physiology*, 50:208-213.
- CHANEY, R. L.; BELL, P. F.; COULOMBE, B. A. (1989) — Screening strategies for improved nutrient uptake and use by plants, *HortScience*, 24:565-572.
- CHANEY, R. L.; CHEN, Y.; GREEN, C. E.; HOLDEN, M. J.; BELL, P. F.; LUSTER, D. G.; ANGLE, J. S. (1992) — Root hairs on chlorotic tomatoes are an effect of chlorosis rather than part of adaptive Fe-stress-response, *Journal of Plant Nutrition*, 15:1857-1875.
- CHEN, Y.; BARAK, P. (1982) — Iron nutrition of plants in calcareous soils, *Advances in Agronomy*, 35:217-240.
- CIANZIO, S. R. (1991) — Recent advances in breeding for improving iron utilization by plants In *Iron nutrition and interactions in plants*, (Eds, Y. Chen e Y. Hadar) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 83-88.
- CIANZIO, S. R. (1995) — Strategies for the genetic improvement of Fe efficiency in plants In *Iron nutrition in soils and plants*, (Ed, J. Abadía) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 119-125.
- CIANZIO, S. R.; VOSS, B. K. (1994) — Three strategies for population development in breeding high-yielding soybean cultivars with improved iron efficiency, *Crop Science*, 34:355-359.
- CINELLI, F. (1995) — Physiological responses of clonal quince rootstocks to iron-deficiency induced by addition of bicarbonate to nutrient solution, *Journal of Plant Nutrition*, 18:77-89.
- CINELLI, F.; VITI, R.; BYRNE, D. H.; REED, D. W. (1995) — Physiological characterization of two peach seedling rootstocks in bicarbonate nutrient solution. I. Root iron reduction and iron uptake In *Iron nutrition in soils and plants*, (Ed, J. Abadía) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 323-328.
- CORDEIRO, A. (1997) — Clorosis ferrica en olivo (*Olea europea* L.): Seleccíon de cultivares tolerantes, Tese de Doutoramento, Universidade de Córdoba, Espanha.
- CORREIA, P. J.; PESTANA, M.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A. (2003) — Nutrient deficiencies in carob (*Ceratonia siliqua* L.) grown in solution culture, *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, in press.
- CRESS, W. A.; JOHNSON, G. V.; BARTON, L. L. (1986) — The role of endomycorrhizal fungi in iron uptake by *Hilaria jamesii*, *Journal of Plant Nutrition*, 9:547-556.
- DE LA GUARDIA, M.; ALCÁNTARA, E. (1996) — Ferric chelates reduction by sunflower (*Helianthus annuus* L.) leaves: influence of light, oxygen, iron-deficiency and leaf age, *Journal of Experimental Botany*, 47:669-675.
- DE LA GUARDIA, M. D.; FELIPE, A. J.; ALCÁNTARA, E.; FOURNIER, J. M.; ROMERA, F. J. (1995) — Evaluation of experimental peach rootstocks grown in nutrient solutions for tolerance to iron stress In *Iron nutrition in soils and plants*, (Ed, J. Abadía) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 201-205.
- EGILLA, J. N.; BYRNE, D. H.; REED, D. W. (1994) — Iron stress response of three peach rootstock cultivars: ferric-iron reduction capacity, *Journal of Plant Nutrition*, 17:2079-2103.
- FOURNIER, J. M.; ALCÁNTARA, E.; DE LA GUARDIA, M. D. (1992) — Organic acid accumulation in roots of two sunflower lines with a different response to iron deficiency, *Journal of Plant Nutrition*, 15:1747-1755.

- GOGORCENA, Y.; ABADÍA, J.; ABADÍA, A. (1998) — Inducción *in vivo* de la reductasa de patrones frutales de *Prunus persica* L., *Actas do VII Simposio Nacional-III Iberico sobre Nutricion mineral de las plantas*, 27-32.
- GOGORCENA, Y.; ABADÍA, J.; ABADÍA, A. (2000) — Induction of *in vivo* root ferric chelate reductase activity in the fruit tree rootstock, *Journal of Plant Nutrition*, 23:9-21.
- GOGORCENA, Y.; MOLIAS, U.; LARBI, A.; ABADÍA, J.; ABADÍA, A. (2001) — Characterization of the responses of cork oak (*Quercus suber*) to iron deficiency, *Tree Physiology*, 21:1335-1340.
- GONZÁLEZ-VALLEJO, E. B.; SUSÍN, 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.
- GRUSAK, M. A.; KOCHIAN, L. V.; WELCH, R. M. (1993) — Spatial and temporal development of iron(III) reductase activity in root systems of *Pisum sativum* (Fabaceae) challenged with iron-deficiency stress, *American Journal of Botany*, 80:300-308.
- GRUSAK, M. A.; PEARSON, J. N.; MARENTES, E. (1999) — The physiology of micronutrient homeostasis in field crops, *Field Crops Research*, 60:41-56.
- GRUSAK, M. A.; PEZESHGI, S. (1996) — Shoot-to-root signal transmission regulates root Fe(III) reductase activity in the dgl mutant of pea, *Plant Physiology*, 110:329-334.
- GRUSAK, M. A.; WELCH, R. M.; KOCHIAN, L. V. (1990) — Physiological characterization of a single-gene mutant of *Pisum sativum* exhibiting excess iron accumulation. I. Root iron reduction and iron uptake, *Plant Physiology*, 93:976-981.
- HAMZÉ, M.; SALSAC, L.; WACQUANT, J. P. (1980) — Recherche de tests pour déceler précocement l'aptitude des agrumes résister à la chlorose calcaire: I. Capacité d'échange cationique et degré d'estérification des racines, *Agrochimica*, XXIV:432-442.
- HAN, Z. H.; SHEN, T.; KORCAK, R. F.; BALIGAR, V. C. (1998) — Iron absorption by iron-efficient and -inefficient species of apples, *Journal of Plant Nutrition*, 21:181-190.
- HIGUCHI, K.; KANAZAWA, K.; NISHIZAWA, N.; CHINO, M.; MORI, S. (1995) — Purification and characterization of nicotianamine sintetase from Fe-deficient barley roots In *Iron nutrition in soils and plants*, (Ed, J. Abadía) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 29-35.
- HOLDEN, M. J.; LUSTER, D. G.; CHANEY, R. L. (1994) — Enzymatic iron reduction at the root plasma membrane: partial purification of the NADH-Fe chelate reductase In *Biochemistry of metal micronutrients in the rhizosphere*, (Eds, J. A. Manthey, D. E. Crowley e D. G. Luster) Lewis Publishers, London, pp. 285-294.
- HOLDEN, M. J.; LUSTER, D. G.; CHANEY, R. L.; BUCKHOUT, T. J. (1992) — Enzimology of ferric chelate reduction at the root plasma membrane, *Journal of Plant Nutrition*, 15:1667-1678.
- HOLDEN, M. J.; LUSTER, D. G.; CHANEY, R. L.; BUCKHOUT, T. J.; ROBINSON, C. (1991) — Fe³⁺-chelate reductase activity of plasma membranes isolated from tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) roots. Comparison of enzymes from Fe-deficient and Fe-sufficient roots, *Plant Physiology*, 97:537-544.
- JOLLEY, V. D.; BROWN, J. C. (1994) — Genetically controlled uptake and use of iron by plants In *Biochemistry of metal micronutrients in the rhizosphere*, (Eds, J. A. Manthey, D. E. Crowley e D. G. Luster) Lewis publishers, London, UK, pp. 251-266.

- JOLLEY, V. D.; BROWN, J. C.; TERRY, R. E. (1995) — Reduction of ferric iron by tumorous crown gall tissue is associated with cells modified by agrobacterium tumefaciens, *Journal of Plant Nutrition*, 18:2681-2689.
- JOLLEY, V. D.; FAIRBANKS, D. J.; STEVENS, W. B.; TERRY, R. E.; ORF, J. H. (1992) — Root iron-reduction capacity for genotypic evaluation of iron efficiency in soybean, *Journal of Plant Nutrition*, 15:1679-1690.
- JURKEVITCH, E.; HADAR, Y.; CHEN, Y. (1992) — Utilization of the siderophores FOB and pseudobactin by rhizosphere microorganisms of cotton plants, *Journal of Plant Nutrition*, 15:2183-2192.
- KANAZAWA, K.; HIGUCHI, K.; FUSHIYA, S.; NISHIZAWA, N.; CHINO, M.; MORI, S. (1995a) — Inductions of two enzyme activities involved in the biosynthesis of mugineic acid in Fe-deficient barley roots In *Iron nutrition in soils and plants*, (Ed, J. Abadia) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 37-41.
- KANAZAWA, K.; HIGUCHI, K.; NISHIZAWA, N.; FUSHIYA, S.; MORI, S. (1995b) — Detection of two distinct isoenzymes of nicotianamine aminotransferase in Fe-deficient barley roots, *Journal of Experimental Botany*, 46:1241-1244.
- KAWAI, S.; SASAKI, O.; HAYASAKA, Y.; TAKAGI, S. (1995) — Biosynthesis of avenic acid A in oat cv Onward: studies with ^{14}C or ^{15}N labeled compounds In *Iron nutrition in soils and plants*, (Ed, J. Abadia) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 295-299.
- KOSEGARTEN, H.; HOFFMANN, B.; MENGEL, K. (1999) — Apoplastic pH and Fe^{3+} reduction in intact sunflower leaves, *Plant Physiology*, 121:1069-1079.
- KRAMER, D.; RÖMHELD, V.; LANDSBERG, E.; MARSCHNER, H. (1980) — Induction of transfer-cell formation by iron deficiency in the root epidermis of *Helianthus annuus* L., *Planta*, 147:335-339.
- LANDSBERG, E. (1984) — Regulation of iron-stress-response by whole-plant activity, *Journal of Plant Nutrition*, 7:609-621.
- LANDSBERG, E. (1995) — Transfer cell formation in sugar beet roots induced by latent Fe deficiency In *Iron nutrition in soils and plants*, (Ed, J. Abadia) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 67-75.
- LINDSAY, W. L. (1991) — Iron oxide solubilization by organic matter and its effect on iron availability In *Iron nutrition and interactions in plants*, (Eds, Y. Chen e Y. Hadar) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 29-36.
- LONGNECKER, N.; WELSH, R. M. (1990) — Accumulation of apoplastic iron in plant roots. A factor in resistance of soybeans to iron-deficiency induced chlorosis?, *Plant Physiology*, 92:17-22.
- LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; MORALES, F.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. (2000a) — Effects of iron deficiency on the composition of the apoplastic fluid and xylem sap in sugar beet. Implications for iron and carbon transport, *Plant Physiology*, 124:873-884.
- LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; MORALES, F.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. (2001a) — Changes induced by Fe deficiency and Fe resupply in the organic acid metabolism of sugar beet (*Beta vulgaris*) leaves, *Physiologia Plantarum*, 112:31-38.
- LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; MORALES, F.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. (2001b) — Iron deficiency-associated changes in the composition of the leaf apoplastic fluid from field-grown pear (*Pyrus communis* L.) trees, *Journal of Experimental Botany*, 52:1489-1498.

- 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 Physiology*, 124.
- MANTHEY, J. A.; MCCOY, D. L.; CROWLEY, D. E. (1993) — Chelation effects on the iron reduction and uptake by low-iron stress tolerant and non-tolerant citrus rootstocks, *Journal of Plant Nutrition*, 16:881-893.
- MANTHEY, J. A.; MCCOY, D. L.; CROWLEY, D. E. (1994) — Stimulation of rhizosphere iron reduction and uptake in response to iron deficiency in citrus rootstocks, *Plant Physiol. Biochem.*, 32:211-215.
- MARSCHNER, H. (1995) — *Mineral nutrition of higher plants*, Academic Press, London, UK.
- MARSCHNER, H.; RÖMHELD, V. (1995) — Strategies of plants for acquisition of iron In *Iron nutrition in soils and plants*, (Ed, J. Abadía) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 375-388.
- MARSCHNER, H.; RÖMHELD, V.; KISSEL, M. (1986) — Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron, *Journal of Plant Nutrition*, 9:693-713.
- MARSCHNER, H.; RÖMHELD, V.; OSSENBERG-NEUHAUS, H. (1982) — Rapid method for measuring changes in pH and reducing processes along roots of intact plants, *Z. Pflanzenphysiol. Bd.*, 105:407-416.
- MARSCHNER, P.; CROWLEY, D. E.; HIGASHI, R. M. (1997) — Root exsudation and physiological status of a root-colonizing fluorescent pseudomonad in mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper (*Capsicum annuum* L.), *Plant and Soil*, 189:11-20.
- MARSCHNER, P.; GODBOLD, D. L. (1995) — Mycorrhizal infection and ageing affect element localization in short of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.), *Mycorrhiza*, 5:417-422.
- MASALHA, J.; KOSEGARTEN, H.; ELMACI, O.; MENGEL, K. (2000) — The central role of microbial activity for iron acquisition in maize and sunflower, *Biological Fertility of Soils*, 30:433-439.
- MILLARD, P. (1995) — Internal cycling of nitrogen in trees, *Acta Horticulturae*, 383:3-14.
- MOOG, P. R.; BRÜGGEMANN, W. (1994) — Iron reductase systems on the plant plasma membrane — A review, *Plant and Soil*, 165:241-260.
- MOOG, P. R.; BRÜGGEMANN, W. (1995) — Iron reductase systems on the plant plasma membrane — A review In *Iron nutrition in soils and plants*, (Ed, J. Abadía) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 342-362.
- NIKOLIC, M.; RÖMHELD, V. (1999) — Mechanism of Fe uptake by the leaf symplast: Is the Fe inactivation in leaf a cause of Fe deficiency chlorosis, *Plant and Soil*, 215:229-237.
- PESTANA, M. (2000) — Caracterização fisiológica e nutritiva da clorose férrica em citrinos. — Avaliação dos mecanismos de resistência aos efeitos do HCO_3^- , Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Recursos Naturais, Universidade do Algarve, pp. 223.
- PESTANA, M.; DAVID, M.; VARENNES, A. D.; ABADÍA, J.; FARIA, E. A. (2001) — Responses of 'Newhall' orange trees to iron deficiency in hydroponics: effects on leaf chlorophyll, photosynthetic efficiency and root ferric chelate reductase activity, *Journal of Plant Nutrition*, 24:1609-1620.
- RABOTTI, G.; ZOCCHI, G. (1994) — Plasma membrane-bound H^+ -ATPase and reductase activities in Fe-deficient cucumber roots, *Physiologia Plantarum*, 90:779-785.

- ROBINSON, N. J.; PROCTER, C. M.; CONNOLLY, E. L.; GUERINOT, M. L. (1999) — A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils, *Nature*, 397:694-697.
- ROMBOLÀ, A. D.; BRÜGGEMANN, W.; TAGLIAVINI, M.; MARANGONI, B.; MOOG, P. R. (2000) — Iron source affects Fe reduction and re-greening of kiwifruit (*Actinidea deliciosa*) leaves, *Journal of Plant Nutrition*, 23:1751-1765.
- ROMBOLÀ, A. D.; BRÜGGEMANN, W.; TAGLIAVINI, M.; MOOG, P. R. (1998) — Meccanismi biochimici di tolleranza alla clorosi ferrica in actinidia (*A. deliciosa*), *Actas do IV Giornate scientifiche SOI*, 395-396.
- ROMERA, F. J.; ALCÁNTARA, E. (1994) — Iron deficiency stress responses in cucumber (*Cucumis sativus* L.) roots. A possible role for Ethylene?, *Plant Physiology*, 105:1133-1138.
- ROMERA, F. J.; ALCÁNTARA, E.; DE LA GUARDIA, M. (1999) — Ethylene production by Fe-deficient roots and its involvement in regulation of Fe-deficiency stress responses by strategy I plants, *Annals of Botany*, 83:51-55.
- ROMERA, F. J.; ALCÁNTARA, E.; DE LA GUARDIA, M. D. (1991) — Characterization of the tolerance to iron chlorosis in different peach rootstocks grown in nutrient solution. II. Iron-stress response mechanisms In *Iron nutrition and interactions in plants*, (Eds, Y. Chen e Y. Hadar) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 151-155.
- ROMERA, F. J.; ALCÁNTARA, E.; DE LA GUARDIA, M. D. (1992a) — Effects of bicarbonate, phosphate and high pH on the reducing capacity of Fe-deficient sunflower and cucumber plants, *Journal of Plant Nutrition*, 15:1519-1530.
- ROMERA, F. J.; ALCÁNTARA, E.; DE LA GUARDIA, M. D. (1992b) — Role of roots and shoots in the regulation of the Fe efficiency response in sunflower and cucumber, *Physiologia Plantarum*, 85:141-146.
- ROMERA, F. J.; WELCH, R. M.; NORVELL, W. A.; SCHAEFER, S. C. (1996) — Iron requirement for and effects of promoters and inhibitors of ethylene action on stimulation of Fe(III)-chelate reductase in roots of strategy I species, *Biometals*, 9:45-50.
- RÖMHELD, V. (1987a) — Different strategies for iron acquisition in higher plants, *Physiologia Plantarum*, 70:231-234.
- RÖMHELD, V. (1987b) — Existence of two different strategies for the acquisition of iron in higher plants In *Iron transport in microbes plants and animals*, (Eds, G. Winkelmann, D. Van der Helm, J. B. Neilands, V. C. H. Verlag e F. R. G. Weinheim) Kluwer Academic Publishers, New York, pp. 353-374.
- RÖMHELD, V.; KRAMER, D. (1983) — Relationship between proton efflux and rhizodermal transfer cells induced by iron deficiency, *Zeitschrift Pflanzenphysiologie Boden*, 113:73-83.
- RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H. (1981) — Iron deficiency stress induced morphological and physiological changes in root tips of sunflower, *Physiologia Plantarum*, 53:354-360.
- RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H. (1986a) — Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophores in root grasses, *Plant Physiology*, 80:175-180.
- RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H. (1986b) — Mobilization of iron in the rhizosphere of different plant species In *Advances in plant nutrition*, Vol. 2 (Eds, B. Tinker e A. Lauchli) Praeger Publishers, pp. 155-204.
- RÖMHELD, V.; MULLER, C.; MARSCHNER, H. (1984) — Localization and capacity of proton pumps in roots of intact sunflower plants, *Plant Physiology*, 76:603-606.

- RUBINSTEIN, B.; LUSTER, D. G. (1993) — Plasma membrane redox activity: components and role in plant processes, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44:131-155.
- SCHMIDT, W. (1999) — Review. Mechanisms and regulation of reduction-based iron uptake in plants, *New Phytologist*, 141:1-26.
- SCHMIDT, W.; BARTELS, M. (1996) — Formation of root epidermal transfer cells in *Plantago*, *Plant Physiology*, 110:217-225.
- 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.; TITTEL, J.; SCHIKORA, A. (2000) — Role of hormones in the induction of iron deficiency responses in *Arabidopsis* roots, *Plant Physiology*, 122:1109-1118.
- SERRANO, R. (1989) — Structure and function of plasma membrane ATPase, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40:61-94.
- SHI, Y.; BYRNE, D. H. (1995) — Tolerance of *Prunus* rootstocks to potassium carbonate-induced chlorosis, *Journal American Society of Horticultural Science*, 102:283-285.
- SIJMONS, P. C.; VAN DEN BRIEL, 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.
- STEPHAN, U. W.; SCHOLZ, G. (1993) — Nicotianamine: mediator of transport of iron and heavy metals in the phloem, *Physiologia Plantarum*, 88:522-529.
- SUSÍN, S.; ABADÍA, A.; GONZÁLEZ-REYES, J. A.; LUCENA, J. J.; ABADÍA, J. (1996a) — The pH requirement for *in vivo* activity of the iron-deficiency-induced "Turbo" ferric chelate reductase, *Plant Physiology*, 110:111-123.
- SUSÍN, S.; ABADÍA, A.; GONZÁLEZ-REYES, J. A.; LUCENA, J. J.; ABADÍA, J. (1996b) — The pH requirement of the iron-deficiency-induced iron reductase activities of intact plants and isolated plasma membrane fractions in sugar beet, *Plant Physiology*, 110:111-123.
- SUSÍN, S.; ABIÁN, J.; PELEATO, M. L.; SÁNCHEZ-BAEZA, F.; ABADÍA, A.; GELPÍ, E.; ABADÍA, J. (1994) — Flavin excretion from roots of iron-deficient sugar beet (*Beta vulgaris* L.), *Planta*, 193:514-519.
- SUSÍN, S.; ABIÁN, J.; SÁNCHEZ-BAEZA, F.; PELEATO, M. L.; ABADÍA, A.; GELPÍ, E.; ABADÍA, J. (1993) — Riboflavin 3'- and 5'-sulfate, two novel flavins accumulating in the roots of iron-deficient sugar beet (*Beta vulgaris*), *The Journal of Biological Chemistry*, 268:20958-20965.
- TAGLIAVINI, M.; ROMBOLÀ, A. D. (2001) — Iron deficiency and chlorosis in orchard and vineyard ecosystems, *European Journal of Agronomy*, 15:71-92.
- TAGLIAVINI, M.; ROMBOLÀ, A. D.; MARANGONI, B. (1995) — Response to iron-deficiency stress of pear and quince genotypes, *Journal of Plant Nutrition*, 18:2465-2482.
- TERRY, N.; ABADÍA, J. (1986) — Function of iron in chloroplasts, *Journal 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*, (Ed. J. Abadía) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 283-294.

- TIPTON, C. L.; THOWSEN, J. (1985) — Fe(III) reduction in cell walls of soybean roots, *Plant Physiology*, 79:432-435.
- TREEBY, M. (1992) — The role of mycorrhizal fungi and non-mycorrhizal micro-organisms in iron nutrition of citrus, *Soil Biology and Biochemistry*, 24:857-864.
- TREEBY, M.; UREN, N. (1993) — Iron deficiency stress responses amongst citrus rootstocks, *Z. Pflanzenphysiol. Bd.*, 156:75-81.
- VEMPATI, R. K.; KOLLIPARA, K. P.; STUCKI, J. W.; WILKINSON (1995) — Reduction of structural iron in selected iron-bearing minerals by soybean root exsudates grown in an in vitro geoponic system, *Journal of Plant Nutrition*, 18:343-345.
- VITI, R.; CINELLI, F. (1993) — Lime-induced chlorosis in quince rootstocks: methodological and physiological aspects, *Journal of Plant Nutrition*, 16:631-641.
- VIZZOTTO, G.; MATOSEVIC, I.; PINTON, R.; VARANINI, Z.; COSTA, G. (1997) — Iron deficiency responses in roots of kiwi, *Journal of Plant Nutrition*, 20:327-334.
- VIZZOTTO, G.; PINTON, R.; BOMBEN, C.; CESCO, S.; VARANINI, Z.; COSTA, G. (1999) — Iron reduction in iron-stressed plants of *Actinidea deliciosa* genotypes: Involvement of PM Fe (III)-chelate reductase and H⁺-ATPase activity, *Journal of Plant Nutrition*, 22:479-488.
- VOS, C. R.; LUBBERDING, J.; BIENFAIT, H. F. (1986) — Rhizosphere acidification as a response to iron deficiency in bean plants, *Plant Physiology*, 81:842-846.
- WALLACE, A. (1990) — The decade of the 1981^s for iron nutrition and interactions in plants, *HortScience*, 25:8.
- WALTER, A.; RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H.; CROWLEY, D. E. (1994) — Iron nutrition of cucumber and maize: effect on pseudomonas putida YC 3 and its siderophore, *Soil Biology and Biochemistry*, 26:1023-1031.
- WANG, T.; PEVERLY, J. H. (1999) — Investigation of ferric iron reduction on the root surfaces of common reeds using EDTA-BPDS method, *Journal of Plant Nutrition*, 22:1021-1032.
- WEI, L. C.; OCUMPAUGH, W. R.; LOEPPERT, R. H. (1995) — Plant growth and nutrient uptake characteristics of Fe-deficiency chlorosis susceptible and resistant subclovers In *Iron nutrition in soils and plants*, (Ed. J. Abadía) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 259-264.
- WELCH, R. M. (1995) — Micronutrient nutrition of plants, *Critical Reviews Plant Science*, 14:49-82.
- WELKIE, G. W. (1993) — Iron stress responses of a chlorosis-susceptible and chlorosis-resistant cultivars of pepper (*Capsicum annum* L.) In *Optimization of plant nutrition*, (Eds. M. A. C. Fragoso e M. L. van Beusichem) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 483-489.
- WELKIE, G. W.; HEKMAT-SHOAR, H.; MILLER, G. W. (1990) — Responses of peper (*Capsicum annum* L.) plants to iron deficiency: Solution pH and riboflavin In *Plant nutrition — physiology and applications*, (Ed. M. L. van Beusichem) Kluwer Academic Publishers,, pp. 207-211.
- ZAÏTER, H. Z.; GHLAYINI, A. (1994) — Iron deficiency in lentils in the Mediterranean region and its control through resistant genotypes and nutrient application, *Journal of Plant Nutrition*, 17:945-952.
- ZHANG, X.; YI, C.; ZHANG, F. (1999) — Iron accumulation in root apoplasm of dycotiledoneous and graminaceous species grown on calcareous soil, *New Phytologist*, 141:27-31.