

# IRON CONCENTRATIONS IN SUGAR CANE (*Saccharum officinarum* L.) CULTIVATED IN NUTRIENT SOLUTION

## CONCENTRACIONES DE HIERRO EN CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum* L.) CULTIVADA EN SOLUCIÓN NUTRITIVA

Valeria Santos-Cavalcante\*, Renato de Mello-Prado, Ricardo de Lima-Vasconcelos, Cid N. Silva-Campos

UNESP - São Paulo State University "Júlio de Mesquita Filho", Department of Soils and Fertilizers, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Zip Code 14884-900, Jaboticabal, SP, Brazil. (valeriasantos\_88@hotmail.com).

### ABSTRACT

Doubts remain about the adequate iron (Fe) concentration in nutrient solutions used for optimal plant growth, especially in gramineae like sugar cane (*Saccharum officinarum* L.). Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of Fe concentrations on growth, green color index and dry matter (DM) production in sugar cane cultivated in a nutrient solution. The hypothesis was that the nutrient solution must contain higher Fe concentration, which is used by the plant for optimum development. The study was conducted in a greenhouse with the variety IAC SP 93 3046, cultivated in pots (7.5 L) with aerated nutrient solution. The experimental design was completely randomized with five replicates and four treatments (0; 184; 368 and 551.4  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of Fe-EDDHA). For data analysis we used ANOVA with an F test ( $p \leq 0.05$ ). Variables evaluated were plant height, stem diameter, leaf area, green color index, DM production, total Fe accumulation and we also performed visual diagnosis. Both leaves and roots had greater Fe accumulation of 0.28 g and 2 g per pot, respectively, on the Fe-EDDHA concentration of 184  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Green color index and nutrient accumulation were greater with increased Fe-EDDHA concentrations. The concentration of 184  $\mu\text{mol L}^{-1}$  met the needs of the plant, providing a 12.2 mm diameter, 25 cm height, 750  $\text{cm}^2$  leaf area and 4.10 g of DM per pot, 2.18 g of roots per pot and 6.28 g of whole plant per pot. The use of Fe-EDDHA chelate increased both the element's build-up in plants and green color index; and 184  $\mu\text{mol L}^{-1}$  Fe was the adequate concentration to supply the plant's needs, promoting satisfying DM production.

**Key words:** Fe-EDDHA, ferric deficiency, dry matter, green color index.

\*Author for correspondence ❖ Autor responsable.

Received: August, 2015. Approved: April, 2016.

Published as ARTICLE in *Agrociencia* 50: 867-875. 2016.

### RESUMEN

Hay dudas acerca de la concentración adecuada de hierro (Fe) en soluciones nutritivas para el crecimiento óptimo de las plantas, sobre todo en gramíneas como la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de las concentraciones de Fe sobre el crecimiento, índice de color verde y la producción de materia seca (MS) en la caña de azúcar cultivada en una solución nutritiva. La hipótesis fue que la solución nutritiva debe tener una concentración más alta de Fe, el cual es usado por la planta para su desarrollo óptimo. El estudio se realizó en un invernadero con la variedad IAC SP 93 3046, cultivada en macetas (7.5 L) con una solución nutritiva aireada. El diseño experimental fue completamente al azar con cinco réplicas y cuatro tratamientos (0; 184; 368 y 551.4  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Fe-EDDHA). Para el análisis de los datos se usó ANDEVA con una prueba F ( $p \leq 0.05$ ). Las variables evaluadas fueron la altura de la planta, diámetro del tallo, área foliar, índice de color verde, producción de MS, acumulación total de Fe y también se realizó un diagnóstico visual. Tanto hojas como raíces presentaron mayor acumulación de Fe de 0.28 g y 2 g por maceta, respectivamente, en la concentración de Fe-EDDHA de 184  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . El índice de color verde y la acumulación de nutrientes fueron mayores a mayores concentraciones de Fe-EDDHA. La concentración de 184  $\mu\text{mol L}^{-1}$  cubrió las necesidades de la planta, al dar un diámetro de 12.2 mm, altura de 25 cm, 750  $\text{cm}^2$  de área foliar y 4.10 g de MS por maceta, 2.18 g de raíces por maceta y 6.28 g de planta entera por maceta. El uso del quelato Fe-EDDHA aumentó la acumulación del elemento en las plantas y el índice de color verde; y 184  $\mu\text{mol L}^{-1}$  Fe fue la concentración adecuada para satisfacer las necesidades de la planta, promoviendo la producción satisfactoria de MS.

**Palabras clave:** Fe-EDDHA, deficiencia férrica, materia seca, índice de color verde.

## INTRODUCTION

Grasses present high requirement of iron (Fe) in relation to other cultures, such as sugar cane (*Saccharum officinarum* L.), which accumulates around 9000 g ha<sup>-1</sup> (Prado, 2008). Iron is essential for chlorophyll formation, it acts as catalyst in respiration and photosynthesis, as a factor in a few enzyme systems (Madhuri *et al.*, 2013); besides, it increases productivity and is connected to the nutritional quality of vegetal products (Briat *et al.*, 2007).

The absorption of Fe by sugar cane is performed by a mechanism that releases phytosiderophorus of the roots, forming chelates with the nutrient (strategy II), resulting in the absorption of Fe<sup>3+</sup>. When the nutrient is deficient in the cultivation media there is an increment in the release of phytosiderophorus, promoting an auto regulation of the responses to this stress in strategy II plants, which is less studied than in strategy I plants (Morrissey and Guerinot, 2009).

Chelates are used in order to supply Fe, such as Fe-EDDHA, which is used due to its elevated stability constant (Ks=35.4) compared to other commercialized chelates as the Fe-EDTA (Ks=26.5) and Fe-EDDS (Ks=20.1); besides, it is stable even in elevated pH (Ylivainio *et al.*, 2004). Despite its high stability, some cultures may decrease the efficiency of Fe absorption due to the difficulty in absorbing Fe ions from the compound.

Adequate Fe concentrations in the nutrient solution associated with higher dry matter (DM) production vary according to the species: corn BSC 6661 it is 120 μM of Fe-EDDHA (Çelik *et al.*, 2010); soybean it is 50 μM EDTA-Fe<sup>+3</sup> (Li *et al.*, 2011); and durum wheat it is 80 μM EDTA-Fe<sup>+3</sup> (Zuchi *et al.*, 2012). These Fe concentrations differ from Hoagland and Arnon (1950) standard nutrient solution (184 μmol of Fe-EDDHA) for hydroponic growth of different species. For sugar cane there is a limited number of studies using nutrient solution; thus, Vale *et al.* (2011) and Subasinghe (2006) utilized 184 μmol L<sup>-1</sup> of Fe-EDDHA and 0.18 mM of Fe<sup>2+</sup>, respectively, but without scientific support.

We hypothesized that sugarcane is a demanding crop Fe and requires a higher concentration of this micronutrient in the nutrient solution established for optimal crop development, as pointed out by Hoagland and Arnon (1950). And the objective was

## INTRODUCCIÓN

Los pastos presentan altos requerimientos de hierro (Fe) comparado con otros cultivos, como la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), que acumula cerca de 9000 g ha<sup>-1</sup> (Prado, 2008). El Fe es esencial para la formación de la clorofila, funge como catalizador en la respiración y la fotosíntesis, como un factor en algunos sistemas enzimáticos (Madhuri *et al.*, 2013); además, aumenta la productividad y está relacionada con la calidad nutricional de los productos vegetales (Briat *et al.*, 2007).

La absorción de Fe por la caña de azúcar se realiza por un mecanismo que libera fitosideróforos de las raíces, formando quelatos con el nutriente (estrategia II), lo que resulta en la absorción de Fe<sup>3+</sup>. Cuando hay deficiencia de Fe en el medio de cultivo, aumenta la descarga de fitosideróforos, promoviendo una autorregulación de las respuestas a este estrés en plantas de estrategia II, que son menos estudiadas que las plantas de estrategia I (Morrissey y Guerinot, 2009).

Los quelatos se usan para suministrar Fe, como Fe-EDDHA, usado por su elevada constante de estabilidad (Ks=35.4) comparado con otros quelatos comercializados como Fe-EDTA (Ks=26.5) y Fe-EDDS (Ks=20.1); además, es estable, incluso en un pH alto (Ylivainio *et al.*, 2004). A pesar de su estabilidad alta, algunos cultivos pueden reducir la eficiencia de la absorción de Fe por la dificultad de absorber iones de Fe del compuesto.

Las concentraciones adecuadas de Fe en la solución de nutrientes relacionadas con la producción más alta de materia seca (MS) varían de acuerdo a la especie: en maíz BSC 6661 es 120 μM de Fe-EDDHA (Çelik *et al.*, 2010); en soya 50 μM EDTA-Fe<sup>+3</sup> (Li *et al.*, 2011); y en trigo duro 80 μM EDTA-Fe<sup>+3</sup> (Zuchi *et al.*, 2012). Estas concentraciones de Fe difieren con la solución de nutrientes estándar (184 μmol de Fe-EDDHA) reportada por Hoagland y Arnon (1950) para el cultivo hidropónico de varias especies. Para la caña de azúcar hay un número limitado de estudios que usan soluciones de nutrientes; así, Vale *et al.* (2011) y Subasinghe (2006) utilizaron 184 μmol L<sup>-1</sup> de FeEDDHA y 0.18 mM de Fe<sup>2+</sup>, respectivamente, pero sin sustento científico.

La hipótesis de este estudio es que la caña de azúcar es un cultivo demandante de Fe y requiere una

to evaluate the effect of the concentrations of Fe in the nutrient solution on growth, green color index and DM production of sugar cane.

## MATERIAL AND METHODS

The experiment was conducted in a greenhouse at the University of Agrarian and Veterinary Sciences, Jaboticabal – SP, with sugar cane (variety IAC SP 93 3046), 21° 15' 22" S and 48° 18' 58" W. During the experiments, day and night average temperatures were 28 °C±1.0 and 25 °C±1.0, respectively, and average humidity was 40 %.

The experimental design was completely randomized, with four treatments (concentrations) of Fe-EDDHA [chelates ethylenediamine-N,N'-bis (2-hydroxyphenylacetic acid)]: 0 (control), 184, 368 and 551.4  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , which are 0, 1, 2 and 3 times the reference concentration (184  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ; Hoagland and Arnon, 1950); and five replicates per treatment.

Billets of 5 cm were placed in 500 mL plastic recipients containing washed sand. Fifteen days after the emergence of tillers, seedlings were transplanted into polypropylene pots (7.5 L) with nutrient solution diluted to 50 %, and maintained for 7 d (adaptation period). Then, the solution was weekly renewed and continuously aerated, with pH adjusted ( $6.0\pm 0.1$ ) using either HCl 0.1 N or NaOH 1 N solutions.

Visual symptoms of nutritional deficiency were observed and described at the end of the experiment. A growth evaluation was performed for the following variables: plants height (from the basis to first leaf sheath when totally expanded); stem diameter - measured with a digital caliper (Starrett 727-2001<sup>®</sup>, Brazil); and leaf area, measured by an image analysis system (Delta T Image Analysis System, Canada). Green color index was determined in the median part of leaf +1 using the chlorophyll-meter CCM200 (OptiSciences, Canada).

Thirty days after the experiment was set up, seedlings were harvested and roots were separated from aerial parts, and dried in a forced ventilation heating oven at 65 °C until reaching constant weight. After drying, DM was weighed and milled in a Willey type mill, for chemical analysis of total Fe content in aerial parts and roots (Bataglia *et al.*, 1983). With the results, total Fe accumulation was calculated.

The results were analyzed using ANOVA ( $p\leq 0.05$ ) and a polynomial regression was carried out along with the greatest values of  $R^2$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

The Fe concentrations in nutrient solution caused an increase with quadratic and cubic adjustment

concentración más alta de este micronutriente en la solución establecida para el desarrollo óptimo del cultivo, como lo señalan Hoagland y Arnon (1950). El objetivo fue evaluar el efecto de las concentraciones de Fe en la solución de nutrientes sobre el crecimiento, el índice de color verde y la producción de MS de la caña de azúcar.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en un invernadero de la Universidad de Ciencias Agrícolas y Veterinarias, Jaboticabal – SP, con caña de azúcar (variedad IAC SP 93 3046), 21° 15' 22" S y 48° 18' 58" W. Durante los experimentos, las temperaturas promedio para el día y la noche fueron 28 °C±1.0 y 25 °C±1.0, respectivamente, y la humedad promedio fue 40 %.

El diseño experimental fue completamente al azar, con cuatro tratamientos (concentraciones) de Fe-EDDHA [quelatos etilendiamina-N,N'-bis (ácido 2-hidroxifenilacético)]: 0 (testigo), 184, 368 y 551.4  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , que son 0, 1, 2 y 3 veces la concentración de referencia (184  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ; Hoagland y Arnon, 1950); y cinco réplicas por tratamiento.

Palanquillas de 5 cm se colocaron en recipientes de plástico de 500 mL con arena lavada. Quince días después del surgimiento de brotes, las plantas fueron transplantadas en macetas de polipropileno (7.5 L) con la solución de nutrientes diluida al 50 % y en reposo de 7 d (periodo de adaptación). Luego, la solución fue renovada cada semana y aireada de manera constante, con el pH ajustado ( $6.0\pm 0.1$ ), ya sea con soluciones de HCl 0.1 N o NaOH 1 N.

Los síntomas visuales de la deficiencia nutricional se observaron y describieron al final del experimento. Una evaluación de crecimiento se realizó para las variables: altura de plantas (desde la base hasta la primera vaina de hoja completamente extendida); diámetro del tallo - medido con un calibrador digital (Starrett 727-2001<sup>®</sup>, Brasil); y área foliar, medida con un sistema de análisis de imagen (Delta T Image Analysis System, Canadá). El índice de color verde fue determinado en la parte media de la hoja +1 usando un medidor de clorofila CCM200 (OptiSciences, Canadá).

Treinta días después de iniciar el experimento, se cosecharon las plantas y las raíces se separaron de las partes aéreas y secaron en un horno de ventilación forzada a 65 °C hasta alcanzar un peso constante. Luego de secarse, la MS se pesó y se trituroó en un molinillo tipo Willey para el análisis químico de contenido total de Fe en partes aéreas y raíces (Bataglia *et al.*, 1983). Con los resultados se calculó la acumulación total de Fe.

on the micronutrient accumulation both in shoots and roots, respectively (Figure 1A and 1B). The Fe-EDDHA concentration eliciting higher foliar accumulation of the nutrient was  $250 \mu\text{mol L}^{-1}$  with a buildup of 0.30 g of Fe per pot. However, with the Fe-EDDHA concentration of  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$ , there was a leaf accumulation of 0.28 g of Fe per pot. On roots, the greater Fe accumulation was 2 g per pot, when using  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  of Fe-EDDHA. This concentration provides greater Fe accumulation on plants, since higher concentrations provide small increases on the nutrient accumulation on leaves, and on roots.

Elevated Fe content in roots relative to leaves may be explained by the use of phytosiderophorus by the grasses (Strategy II). These compounds are liberated on the rhizosphere from iron deficiency, facilitating the absorption of this nutrient (Nozoye *et al.*, 2011). Therefore, Strategy II plants possess higher iron acquisition efficiency and resistance to its deficiency, as compared to Strategy I plants (Zuo and Zhang, 2011). In the control treatment ( $0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) it was possible to observe Fe accumulation, mainly on roots, since the spreading way of this plant occurs by vegetative parts; therefore, the billet was used, which had Fe concentrations that influenced on the plant's maintenance. However, this source was exhausted in less than 15 d, which allowed the verification of deficiency symptoms.

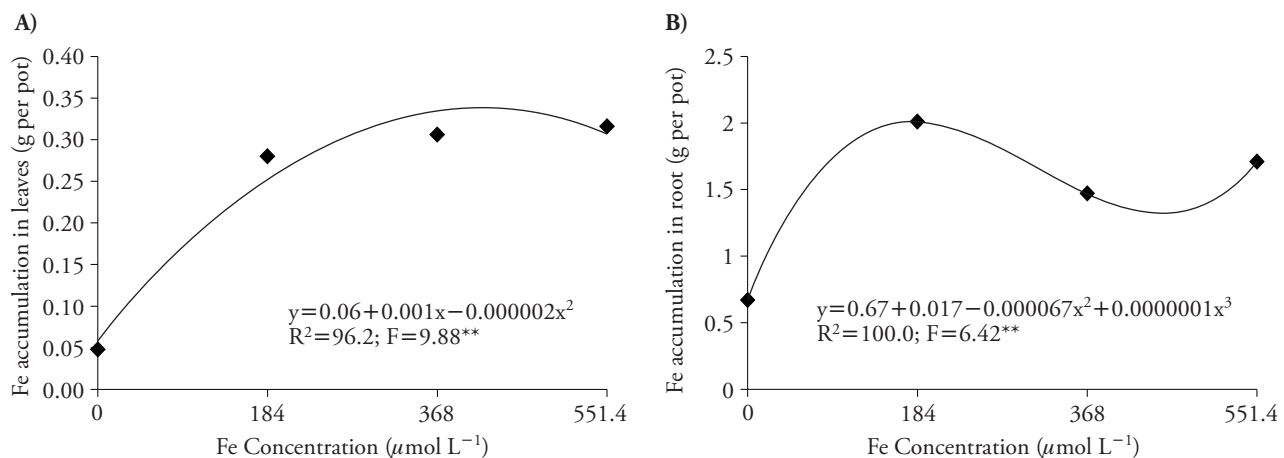
Another possible explanation to high Fe accumulation in roots would be the likely nutrient adsorption in fixed negative charges in root apoplasm,

Los resultados se analizaron con ANDEVA ( $p \leq 0.05$ ) y se realizó una regresión polinomial con los valores mayores de  $R^2$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las concentraciones de Fe en la solución de nutrientes causaron un aumento con ajustes cuadráticos y cúbicos sobre la acumulación de micronutrientes, en tallos y en raíces, respectivamente (Figuras 1A y 1B). La concentración de Fe-EDDHA causante de una mayor acumulación foliar del nutriente fue  $250 \mu\text{mol L}^{-1}$  con una acumulación de 0.30 g de Fe por maceta. Sin embargo, con la concentración de  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  Fe-EDDHA la acumulación foliar fue 0.28 g de Fe por maceta. En las raíces, la mayor acumulación de Fe fue de 2 g por maceta, observada con  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Fe-EDDHA. Esta concentración proporciona una mayor acumulación de Fe en plantas, ya que concentraciones más altas proporcionan aumentos pequeños de acumulación de nutrientes en hojas y raíces.

Un contenido alto de Fe en raíces respecto a las hojas puede deberse al uso de fitosideróforos por los pastos (estrategia II). Estos compuestos son despedidos hacia la rizósfera desde la deficiencia férrica, facilitando la absorción de este nutriente (Nozoye *et al.*, 2011). Por lo tanto, las plantas de la estrategia II poseen una mayor eficiencia de adquisición de hierro y resistencia a su deficiencia, en comparación con plantas de estrategia I (Zuo y Zhang, 2011). En el tratamiento testigo ( $0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), fue posible observar la acumulación de Fe, sobre todo en raíces, ya que



**Figure 1. Effects of Fe concentration in leaves (A) and roots (B) of sugar cane cultivated in four concentrations of nutrient solution.  $** p \leq 0.01$ ; F test.**

**Figura 1. Efectos de concentración de Fe en hojas (A) y raíces (B) de caña de azúcar cultivada en cuatro concentraciones de solución de nutrientes.  $** p \leq 0.01$ ; prueba F.**

or precipitation in Fe form (III) oxide-hydrate in rhizoplane (Jin *et al.*, 2007). The plants present the strategy of accumulating metallic elements on roots for alleviating possible risks of metal toxicity, diminishing its content in aerial part, which may affect their development (Sarma, 2011).

The increase of Fe concentrations improved green color index, reaching the maximum point in  $551.4 \mu\text{mol L}^{-1}$  of Fe-EDDHA (Figure 2A). The rise in this index is due to the increase in Fe accumulation in plant, because there is a correlation between these two variables (Figure 2B).

Plants in the control group showed chlorosis, compared to the other treatments (Figure 3A). Fe deficiency symptoms induce chlorosis leaf interveinal, which evolved into white stains (Figure 3B). In the control treatment roots showed lower density and darkened color (Figure 3C), but with higher Fe concentration greater root density was visualized, as well as lighter coloration (Figure 3D). This visual diagnosis probably reflects physiological changes in roots, due to a higher Fe accumulation as compared to aerial parts (Figure 1).

The increased green color index was an effect of iron, as reported by Huang *et al.* (2012), who used nutrient solution containing Fe-EDDHA. Decreased leaf chlorophyll content in Fe-deficiency plants may be recovered using nutrient solution with greater Fe concentrations (Pestana *et al.*, 2012). According to Fernández *et al.* (2008) and Pestana *et al.* (2005), chlorophyll concentrations

la forma de disseminación ocurre por partes vegetativas; por lo tanto, se usó la palanquilla, que contenía concentraciones de Fe que influyeron el mantenimiento de la planta. Sin embargo, esta fuente se agotó en menos de 15 d, lo que permitió la verificación de síntomas de deficiencia.

Otra posible explicación para la acumulación alta de Fe en las raíces podría ser la posible adsorción en cargas negativas fijas en el apoplasto de la raíz o la precipitación en forma óxido-hidrato de Fe (III) en el rizoplaneo (Jin *et al.*, 2007). Las plantas presentan la estrategia de acumular elementos metálicos para mitigar los posibles riesgos de toxicidad metálica, reduciendo su contenido en la parte aérea, lo cual podría afectar su desarrollo (Sarma, 2011).

El aumento de las concentraciones de Fe mejoró el índice de color verde y alcanzó el punto máximo en  $551.4 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Fe-EDDHA (Figura 2A). El aumento de este índice se debe al aumento en la acumulación de Fe en la planta, ya que hay una correlación entre ambas variables (Figura 2B).

Las plantas en el grupo testigo presentaron clorosis, en comparación con los otros tratamientos (Figura 3A). Los síntomas de deficiencia férrica inducen a la clorosis interveinal foliar, que se convirtió en manchas blancas (Figura 3B). En el tratamiento testigo las raíces mostraron menor densidad y color oscuro (Figura 3C), aunque con una mayor concentración de Fe se observó una mayor densidad de raíces y una coloración más clara (Figura 3D). Este diagnóstico

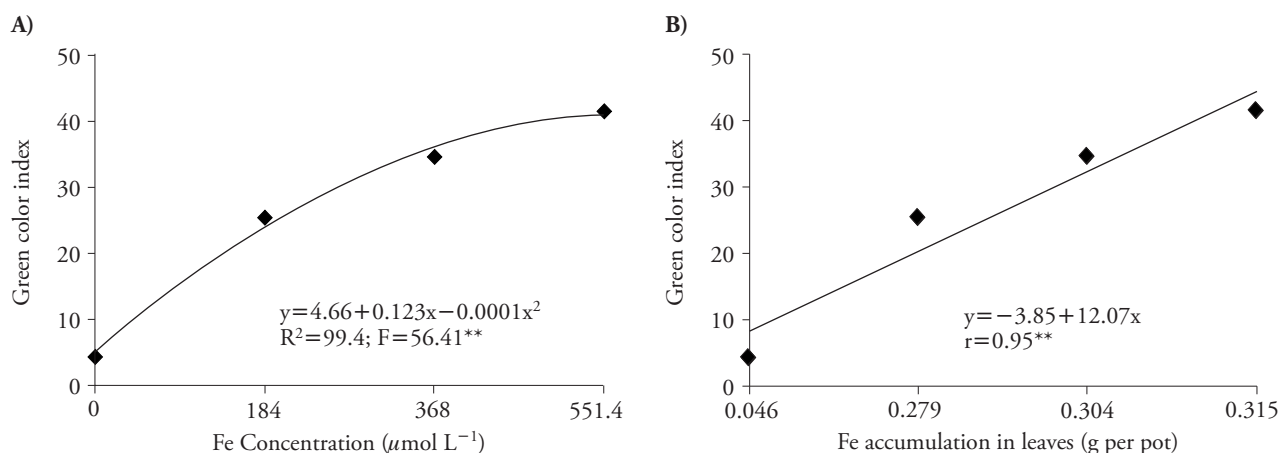
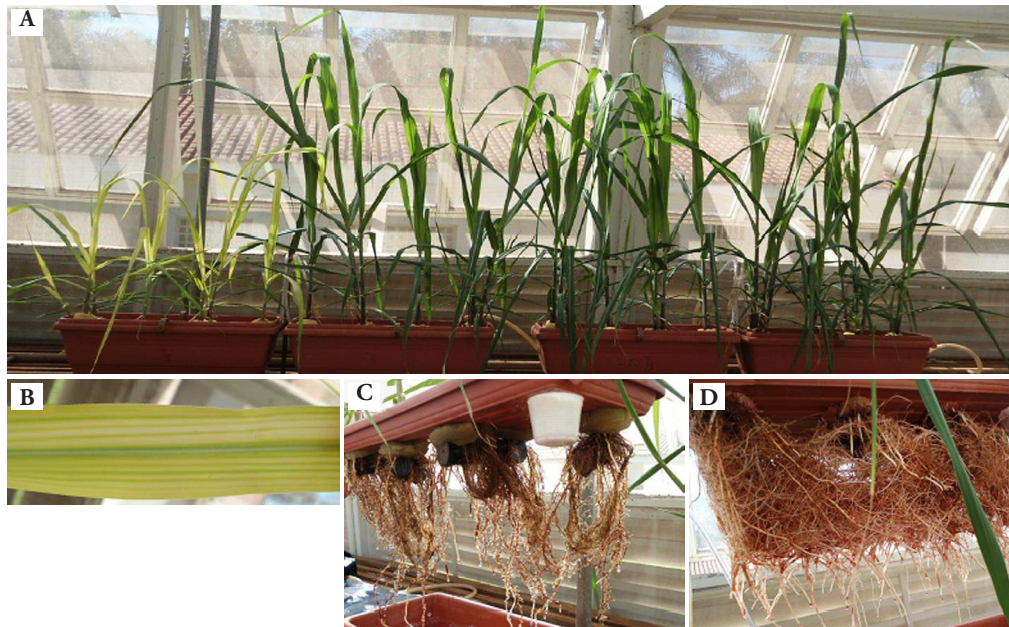


Figure 2. Effect of Fe concentrations in green color index (A) and the correlation between green color index and Fe accumulation in leaves (B) of sugar cane cultivated in four concentrations of nutrient. \*\* $p \leq 0.01$ ; F test.

Figura 2. Efecto de concentraciones de Fe en el índice de color verde (A) y la correlación entre el índice de color verde y la acumulación en hojas (B) de caña de azúcar cultivada en cuatro concentraciones de nutrientes. \*\* $p \leq 0.01$ ; prueba F.





**Figure 3. (A) All treatments; (B) Control treatment, indicating Fe deficiency in new leaves; (C) Control treatment, indicating Fe deficiency in roots; (D) Higher Fe concentration treatment.**

**Figura 3. (A) Todos los tratamientos; (B) Tratamiento testigo, indicando deficiencia férrica en hojas nuevas; (C) Tratamiento testigo, indicando deficiencia férrica en raíces; (D) Tratamiento de mayor concentración de Fe.**

and Fe accumulation may be used to diagnose ferric deficiency in plants.

The Fe concentration that promoted greater diameter (12.2 mm) and height (25 cm) was  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  of Fe-EDDHA (Figures 4A and 4B). However, considering leaf area, the concentration that promoted greater increase was  $551.4 \mu\text{mol L}^{-1}$  of Fe-EDDHA for  $906 \text{ cm}^2$ , whereas  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  promoted  $750 \text{ cm}^2$  (Figure 4C).

The beneficial effect of the use of Fe on growth, green color index and leaf area in tillers cultivated in nutrient solution may be explained due to the participation of the micronutrient in several stages of the chlorophyll biosynthesis metabolism and chloroplasts ultrastructure (Jeong and Guerinot, 2009). In addition, this nutrient composes the chloroplast proteome, playing an important role in reducing the quantity of proteins involved in electron transfer complexes, while raises the proteins involved in carbon fixation (Briat *et al.*, 2007).

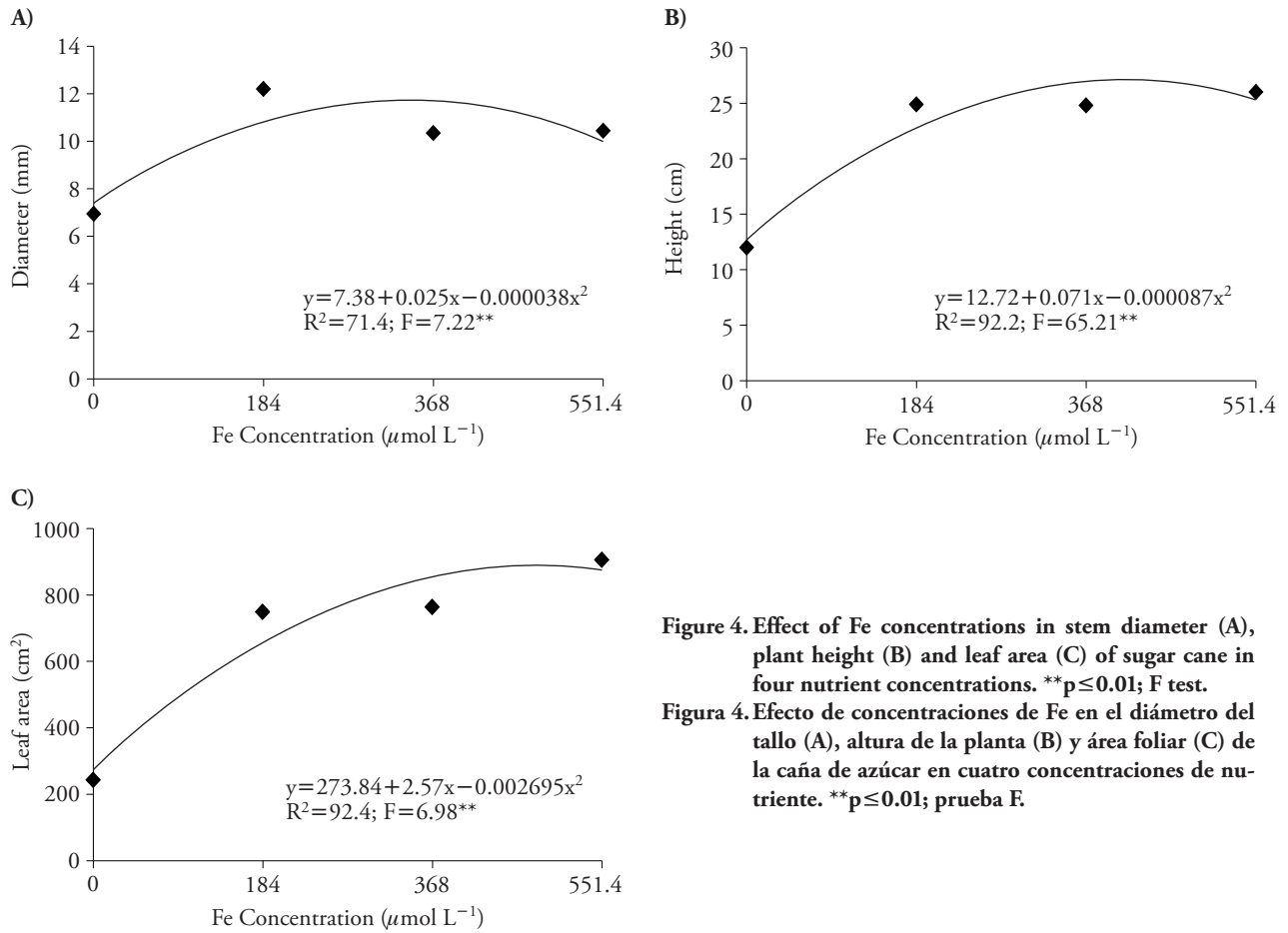
The Fe concentration that promoted greater DM production on both shoots and whole plant was  $551.4 \mu\text{mol L}^{-1}$ , with which was obtained 5.20 g and 6.78 g of DM per pot, respectively (Figure 5). However, there wasn't a considerable

visual probablemente refleje cambios fisiológicos en las raíces debido a una mayor acumulación de Fe, comparado con las partes aéreas (Figura 1).

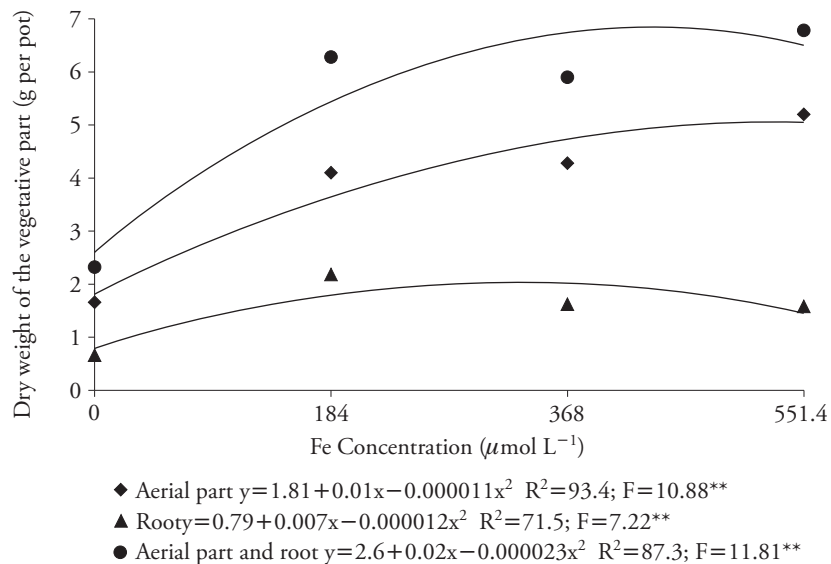
El elevado índice de color verde fue un efecto del Fe, según lo reportan por Huang *et al.* (2012), quienes usaron una solución de nutrientes con Fe-EDDHA. El contenido reducido de clorofila foliar en plantas con deficiencia férrica se podría recuperar usando una solución de nutrientes con mayores concentraciones de Fe (Pestana *et al.*, 2012). Según Fernández *et al.* (2008) y Pestana *et al.* (2005), las concentraciones de clorofila y la acumulación de Fe se pueden usar para diagnosticar la deficiencia férrica en plantas.

La concentración de Fe que promovió un mayor diámetro (12.2 mm) y altura (25 cm) fue  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  of Fe-EDDHA (Figuras 4A and 4B). Sin embargo, tomando en cuenta el área foliar, la concentración que promovió el mayor aumento fue  $551.4 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Fe-EDDHA para  $906 \text{ cm}^2$ , mientras que  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  promovió  $750 \text{ cm}^2$  (Figura 4C).

El efecto benéfico del uso del Fe en el crecimiento, el índice de color verde y área foliar en los brotes cultivados en una solución nutritiva puede explicarse por la participación del micronutriente



**Figure 4.** Effect of Fe concentrations in stem diameter (A), plant height (B) and leaf area (C) of sugar cane in four nutrient concentrations. **\*\*p≤0.01; F test.**  
**Figura 4.** Efecto de concentraciones de Fe en el diámetro del tallo (A), altura de la planta (B) y área foliar (C) de la caña de azúcar en cuatro concentraciones de nutriente. **\*\*p≤0.01; prueba F.**



**Figure 5.** Effect of Fe concentrations in dry matter production in aerial parts, roots and whole plant (aerial part and roots) of sugar cane cultivated in four concentrations of nutrient. **\*\*p≤0.01; F test.**  
**Figura 5.** Efecto de concentraciones de Fe en la producción de materia seca en partes aéreas, raíces y la planta completa (parte aérea y raíces) de la caña de azúcar cultivada en cuatro concentraciones de nutriente. **\*\*p≤0.01; prueba F.**

increase over the concentration of  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$ , which provided 4.10 g of DM for shoots and 6.28 g for whole plant. Considering the roots,  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  of Fe-EDDHA promoted greater DM production (2.18 g per pot).

The effect of Fe on DM, using Fe-EDDHA, was observed in other species by Moro *et al.* (2013), who point out that with high Fe doses, the oxidative stress is induced, raising the production of free radicals and reducing plants' dry matter accumulation.

The adequate iron concentration for the variables was  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  of Fe-EDDHA, and the law of diminishing increments prevailed since other concentrations showed no significant larger increments. The Fe-EDDHA concentration of  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  promoted greater DM production on the whole plant for hydroponic cultivation in nutrient solution; thus, it would be the adequate concentration as indicated by Hoagland and Arnon (1950). Furthermore, these results showed that the Fe-EDDHA can be used as an iron source for sugarcane.

## CONCLUSION

The use of the chelate Fe-EDDHA increased both the accumulation of the element in the seedlings, as well as green color index. The concentration that supplied the plant's needs and promoted satisfactory dry matter production was  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  of Fe.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors express their gratitude to UNESP (Paulista State University), to the Department of Soils and Fertilizers of the UNESP campus of Jaboticabal for financial help, and to the GENPLANT study group for helping to discuss the results.

## LITERATURE CITED

- Bataglia, O. C., A. M. C. Furlani, J. P. F. Teixeira, P. R. Furlani, and J. R. Gallo. 1983. Métodos de Análise Química de Plantas. Instituto Agronômico. Campinas. 48 p.
- Briat, J.-F., C. Curie, and F. Gaymard. 2007. Iron utilization and metabolism in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10: 276-282.
- Çelik, H., B. B. Aşık, S. Gürel, and A. V. Katkat. 2010. Effects of potassium and iron on macro element uptake of maize. *Zemdirbyste-Agriculture* 97: 11-22.
- Fernández, V., V. Del Río, L. Pumariño, E. Igartua, J. Abadía, and A. Abadía. 2008. Foliar fertilization of peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] with different iron formulations:

en varias etapas del metabolismo de biosíntesis de la clorofila y la ultraestructura de los cloroplastos (Jeong y Guerinot, 2009). Además, este nutriente forma parte del proteoma del cloroplasto, tiene una función importante en la reducción de la cantidad de proteínas involucradas en los complejos de transferencia de electrones, y eleva las proteínas involucradas en la fijación de carbono (Briat *et al.*, 2007).

La concentración de Fe que promovió una mayor producción de MS en tallos y la planta entera fue  $551.4 \mu\text{mol L}^{-1}$ , y se obtuvo 5.20 g y 6.78 g MS por maceta, respectivamente (Figura 5). Sin embargo, no hubo un aumento considerable sobre la concentración de  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$ , que dio 4.10 g MS para los tallos y 6.28 g para toda la planta. Al considerar las raíces,  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Fe EDDHA promovió una mayor producción de MS (2.18 g por maceta).

El efecto del Fe sobre la MS, usando Fe-EDDHA fue observado en otras especies por Moro *et al.* (2013), quienes señalan que dosis altas de Fe inducen el estrés oxidativo, elevan la producción de radicales libres y reducen la acumulación de MS de las plantas.

La concentración adecuada de hierro para las variables fue  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Fe-EDDHA, y la ley de los incrementos decrecientes prevaleció, ya que otras concentraciones no mostraron incrementos mayores significativos. La concentración de Fe-EDDHA de  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  promovió una mayor producción de MS en toda la planta para la plantación hidropónica en solución de nutrientes; por ello, sería la concentración adecuada, como lo señalan Hoagland y Arnon (1950). Además, estos resultados mostraron que el Fe-EDDHA se puede usar como fuente de hierro para la caña de azúcar.

## CONCLUSIÓN

El uso del quelato Fe-EDDHA aumentó la acumulación del elemento en las plantas y en el índice de color verde. La concentración que cubrió las necesidades de las plantas y promovió una producción satisfactoria de materia seca fue  $184 \mu\text{mol L}^{-1}$  of Fe.

—Fin de la versión en Español—





- effects on re-greening, iron concentration and mineral composition in treated and untreated leaf surfaces. *Sci. Hort.* 117: 241-248.
- Jeong, J., and M. L. Guerinot. 2009. Homing in on iron homeostasis in plants. *Trends Plant Sci.* 14: 280-285.
- Jin, C. W., G. Y. You, Y. F. He, C. Tang, P. Wu, and S. J. Zheng. 2007. Iron deficiency-induced secretion of phenolics facilitates the reutilization of root apoplastic iron in red clover. *Plant Physiol.* 144: 278-285.
- Hoagland, D. R., and D. L. Arnon. 1950. *The Water Culture Methods for Growing Plants Without Soil.* California Agricultural Experimental Station. Berkeley. 347 p.
- Huang, H., C. X. Hu, Q. Tana, X. Hu, X. Suna, and L. Bia. 2012. Effects of Fe-eddha application on iron chlorosis of citrus trees and comparison of evaluations on nutrient balance with three approaches. *Sci. Hort.* 146: 137-142.
- Li, X. T., P. Cao, X. G. Wang, M. J. Cao, and H. Q. Yu. 2011. Comparison of gas exchange and chlorophyll fluorescence of low-potassium-tolerant and -sensitive soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivars under low-potassium condition. *Photosynthetica* 49: 633-636.
- Madhuri, K. V. N., N. V. Sarala, M. H. Kumar, M. S. Rao, and V. Giridhar. 2013. Influence of micronutrients on yield and quality of sugarcane. *Sugar Tech.* 15: 187-191.
- Morrissey, J., and M. L. Guerinot. 2009. Iron uptake and transport in plants: the good, the bad, and the ionome. *Chem. Rev.* 109: 4553-4567.
- Moro, E., C. A. Costa, H. Cantarella, A. S. Nascente, A. L. Moro, and F. Broetto. 2013. Soil acidity as affecting micronutrients concentration, nitrate reductase enzyme activity and yield in upland rice plants. *Semina* 34: 3397-3410.
- Nozoye, T., S. Nagasaka, T. Kobayashi, M. Takahashi, Y. Sato, Y. Sato, N. Uozumi, H. Nakanishi, and N. K. Nishizawa. 2011. Phytosiderophore efflux transporters are crucial for iron acquisition in graminaceous plants. *J. Biol. Chem.* 286: 5446-5454.
- Pestana, M., A. Varennes, J. Abadia, and E. A. Faria. 2005. Differential tolerance to iron deficiency of citrus rootstocks grown in nutrient solution. *Sci. Hort.* 104: 25-36.
- Pestana, M., P. J. Correia, T. Saavedra, F. Gama, A. Abadía, and A. Varennes. 2012. Development and recovery of iron deficiency by iron resupply to roots or leaves of strawberry plants. *Plant Physiol. Bioch.* 53: 1-5.
- Prado, R. M. 2008. *Nutrição de Plantas.* Universidade Estadual de São Paulo "Júlio de Mesquita Filho". São Paulo. 407 p.
- Sarma, H. 2011. Metal hyperaccumulation in plants: a review focusing on phytoremediation technology. *J. Environ. Sci. Technol.* 4: 118-138.
- Subasinghe, R. 2006. Effect of nitrogen and potassium stress and cultivar differences on potassium ions and nitrate uptake in sugarcane. *J. Plant Nutr.* 29: 809-825.
- Vale, D. W., R. M. Prado, C. C. Avalhães, and R. H. Hojo. 2011. Omissão de macronutrientes na nutrição e no crescimento da cana-de-açúcar cultivada em solução nutritiva. *Rev. Bras. Ciên. Agrár.* 6: 189-196.
- Ylivainio, K., A. Jaakkola, and R. Aksela. 2004. Effects of Fe compounds on nutrient uptake by plants grown in sand media with different pH. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 167: 602-608.
- Zuchi, S., S. Cesco, and S. Astolfi. 2012. High S supply improves Fe accumulation in durum wheat plants grown under Fe limitation. *Environ. Exp. Bot.* 77: 25-32.
- Zuo, Y., and F. Zhang. 2011. Soil and crop management strategies to prevent iron deficiency in crops. *Plant Soil* 339: 83-95.