

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA



**“SÍNTESIS DE AMINOQUELATOS Y SU EVALUACIÓN COMO
FERTILIZANTES EN PLÁNTULAS DE PEPINO”**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO INDUSTRIAL

ALEYDIS MELISSA SUAREZ BALDENE BRO

TIJUANA B.C.

DICIEMBRE 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE EXTENSIÓN Y VINCULACIÓN

FOLIO No. 065

Tijuana, Baja California, a 05 de noviembre de 2024

C. ALEYDIS MELISSA SUAREZ BALDENEBRO
PASANTE DE QUÍMICO INDUSTRIAL
PRESENTE:

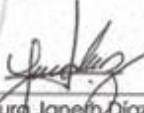
El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la opción de **Tesis** es propuesto por el **Dr. Iván Córdova Guerrero** y la **Dra. Laura Janeth Díaz Rubio** quienes serán la responsable de la calidad del trabajo que usted presente, referido al tema: **"Síntesis de aminoquelatos y su evaluación como fertilizantes en plántulas de pepino"**, el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

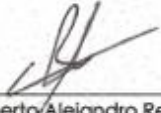
RESUMEN

- I. INTRODUCCIÓN
- II. ANTECEDENTES
- III. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL
- IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN
- V. CONCLUSIONES
- VI. TRABAJO A FUTURO
- VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
- VIII. APÉNDICES




Dr. Iván Córdova Guerrero
Director de Tesis


Dra. Laura Janeth Díaz Rubio
Co-Directora de Tesis


M.C. Roberto Alejandro Reyes Martínez
Director


Dra. Ana Alejandra Ramírez Rodríguez
Subdirectora

Agradecimientos

A mi mamá, mi papá y mis hermanas Rebeca y Yesenia, por ser los pilares de mi vida, por estar siempre conmigo, apoyarme en todo momento y confiar siempre en mí, gracias por su comprensión y cariño; por siempre inspirarme a seguir adelante y por toda la fuerza que me brindaron a lo largo del camino. Los quiero con todo mi corazón.

A mi conejo, por el simple hecho de existir, ser bonito y suavecito.

A mis amigos del Laboratorio de Agroquímica y Productos Naturales: Zarema, por ser mi confidente y apoyo durante los momentos difíciles, por no dejarme sola nunca, por confiar en mí y por tu amistad, a Mathias, por siempre estar de mi lado, por creer en mis capacidades y nunca dudar de mí.

A mis amigas de carrera: Eunice, Dania, Mimi, Esme y Paloma, por animarme a seguir adelante, por creer en mí, y por permitirme compartir tantos momentos con ustedes.

A mis amigas Andrea y Alexandra, por su compañía constante en todo momento, por estar en mis momentos más oscuros y alegres. Por ser unas grandes amigas para mí, por apoyarme siempre en todo y nunca juzgarme.

A Paula por tenerme siempre en cuenta, por su amistad, su apoyo y su confianza incondicional.

A Levid, por su amistad a través de los años, por siempre apostar por mí y por creer que soy capaz de lograr todo lo que me proponga.

A mis profesores de carrera: la Doctora Rita Zurita, por ser una guía en mi camino y enseñarme que puedo seguir adelante a pesar de todo, a la Doctora Carolina Dodier por enseñarme lo que es el esfuerzo, dedicación y constancia, y al Doctor Arturo Estolano por apoyarme durante los inicios de mi tesis y estar siempre cuando más lo necesitaba, por fomentar mi imaginación y transmitirme su pasión y dedicación a la investigación.

Al Doctor Iván Córdova y a la Doctora Laura Díaz por abrirme las puertas del laboratorio y apoyarme durante todo el proceso de mi tesis, así como por abrir un nuevo mundo lleno de posibilidades e ideas nuevas para mí.

A la Universidad Autónoma de Baja California, en especial a mi facultad, la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería por darme la oportunidad de conocer a tantas personas maravillosas, las cuales llevo conmigo siempre.

Muchas gracias.

Resumen

En las plantas, el hierro desempeña un papel muy importante en los procesos fisiológicos, lo cual convierte a este elemento en esencial para el óptimo desarrollo vegetal, dando la ausencia del mismo la generación de un padecimiento denominado: clorosis férrica.

Los quelatos son compuestos químicos utilizados en la agricultura y la jardinería para mejorar la disponibilidad de nutrientes en las células de las plantas. Los aminoácidos, en este contexto, actúan como transportadores de metales, siendo capaces de proveer micronutrientes a diferentes cultivos por aplicación al suelo o vía foliar, además de que, tanto ligandos como el metal, es capaz de ser aprovechado por la planta, siendo esto una de las razones por las cuales son utilizados, pues exhiben mayores rendimientos y ayuda también en la mejora del fruto cosechado.

Es por ello que este trabajo tiene como objetivo la síntesis y caracterización de aminoquelatos para evaluar su actividad como fertilizantes en plántulas de pepino. Se obtuvieron 6 aminoquelatos de cobre y 5 aminoquelatos de hierro, los cuales fueron caracterizados parcialmente por medio de espectroscopía de infrarrojo, y los aminoquelatos de hierro se sometieron a una cuantificación de hierro soluble en el medio. De estos 11 aminoquelatos se eligió uno de hierro para poder ser evaluado en plántulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) en un sistema de raíz flotante, en los cuales se evaluó el contenido de clorofila a través de 14 días de tratamiento y la evaluación de los parámetros físicos terminado este periodo. Dentro de los resultados más relevantes se tiene que en la evaluación de los parámetros físicos, no se observaron diferencias significativas en los tratamientos de EDTA-Fe y Asp-Fe, sin embargo, el control sin hierro si mostró una menor calidad de las plántulas.

Finalmente, en las conclusiones se hace una recapitulación de los resultados más importantes obtenidos en este trabajo.

Índice General

Índice de figuras	7
Índice de anexos	9
Abreviaturas y acrónimos	10
Introducción	12
Hipótesis	15
Objetivo general y particulares	16
Antecedentes	17
Clorosis férrica	17
Etiología de la clorosis férrica	17
Factores que influyen en la disponibilidad de hierro en el suelo	17
Métodos tradicionales de corrección de clorosis férrica	19
Quelatos como agentes de mejora de la absorción de nutrientes	21
Quelatos y su capacidad para solubilizar nutrientes	21
Ventajas del uso de quelatos	22
Aminoquelatos de hierro	23
Definición y características de los aminoquelatos	23
Mecanismo de acción de los aminoquelatos de hierro en las plantas	23
Ventajas de los aminoquelatos sobre otros quelatos de hierro	25
Síntesis de aminoquelatos de hierro	27
Métodos de síntesis de aminoquelatos de hierro	27
Aplicaciones de los aminoquelatos de hierro en la agricultura	29
Resultados de estudios experimentales en diversas especies de plantas	29
Impacto ambiental y económico del uso de aminoquelatos de hierro en la corrección de clorosis férrica	30
Metodologías	32
Síntesis y caracterización de quelatos	32
Síntesis de aminoquelatos de Cobre	32
Síntesis de aminoquelatos de Hierro	32
Síntesis de quelato de EDTA – Fe	33
Caracterización de aminoquelatos de Cu, Fe y quelato de EDTA – Fe	33
Cuantificación de hierro en aminoquelatos	33
Evaluación biológica	35
Desinfección de semillas de pepino	35
Siembra de las semillas de pepino	35
Preparación de solución nutritiva	36
Desarrollo del experimento	37
Resultados y discusión de resultados	39
Síntesis y caracterización de quelatos	39
Aminoquelatos de cobre	39
Aminoquelatos de hierro	42
Cuantificación de hierro en aminoquelatos	45
Evaluación biológica	46
Contenido de clorofila	46
Evaluación de parámetros físicos	49

Conclusiones	53
Bibliografía	54
Anexos	58
Técnicas experimentales.....	76

Índice de Figuras

Fig. 1. Planta con signos de clorosis férrica	12
Fig. 2. Siembra de la semilla de pepino en la mezcla de peat moss - perlita.....	35
Fig. 3. Plántulas de pepino con cotiledones.....	36
Fig. 4. Plántulas de pepino con hojas verdaderas listas para el montaje del experimento	36
Fig. 5. Plántulas de pepino evaluadas en los diferentes tratamientos: a) control negativo; b) Quelato EDTA-Fe; c) Quelato Asp-Fe.....	38
Fig 6. Estructura química del aminoácido Glicina (Gly)	39
Fig 7. Infrarrojo de aminoácido Glicina (Gly)	40
Fig 8. Estructura química del aminoquelato Gly - Cu	40
Fig 9. Infrarrojo de aminoquelato Gly - Cu	41
Fig 10. Estructura química del aminoácido Ácido aspártico (Asp)	42
Fig 11. Infrarrojo de aminoácido Ácido aspártico (Asp)	43
Fig 12. Estructura química del aminoquelato Asp - Fe	43
Fig 13. Infrarrojo de aminoquelato Asp - Fe	44
Fig. 14. Gráfica que demuestra el nivel de clorofila en unidades SPAD en los tratamientos aplicados durante los 15 días de aplicación	46
Fig. 15. Tabla de los niveles de clorofila en unidades SPAD en los tratamientos aplicados durante los 15 días de prueba	47
Fig. 16. Plántulas de pepino en el día 0 : a) control sin hierro; b) complejo EDTA-Fe; c) complejo Asp-Fe	47
Fig. 17. Plántulas de pepino en el día 6 : a) control sin hierro; b) complejo EDTA-Fe; c) complejo Asp-Fe	48
Fig. 18. Plántulas de pepino en el día 11 : a) control sin hierro; b) complejo EDTA-Fe; c) complejo Asp-Fe	48
Fig. 19. Plántulas de pepino en el día 14 : a) control sin hierro; b) complejo EDTA-Fe; c) complejo Asp-Fe	49
Fig. 20. Gráfica comparativa de la cantidad de hojas presentes en los tratamientos aplicados.....	49
Fig. 21. Tabla de las longitudes de las plántulas de pepino analizadas en los tratamientos aplicados después de 14 días	50
Fig. 22. Tabla de la proporción que representa la raíz, el tallo y la parte aérea (hojas) en las plántulas de pepino analizadas después de 14 días	50
Fig. 23. Tabla de las longitudes de las plántulas de pepino analizadas en los tratamientos aplicados, después de 14 días	51

Fig. 24. Tabla de los parámetros físicos de las plántulas de pepino después de 14 días de evaluación con los tratamientos aplicados	52
Fig. 25. Esquema de medición de la planta de los cuales se presentan los resultados de parámetros físicos	52

Índice de Anexos

ANEXO 1. Infrarrojo de aminoácido Ácido Aspártico (Asp)	58
ANEXO 2. Infrarrojo de aminoácido Ácido Glutámico (Glu)	59
ANEXO 3. Infrarrojo de aminoácido Cisteína (Cys)	60
ANEXO 4. Infrarrojo de aminoácido Glicina (Gly)	61
ANEXO 5. Infrarrojo de aminoácido Tirosina (Tyr)	62
ANEXO 6. Infrarrojo de aminoácido Valina (Val)	63
ANEXO 7. Infrarrojo de aminoquelato Gly - Cu.....	64
ANEXO 8. Infrarrojo de aminoquelato Glu – Cu	65
ANEXO 9. Infrarrojo de aminoquelato Asp – Cu.....	66
ANEXO 10. Infrarrojo de aminoquelato Val – Cu	67
ANEXO 11. Infrarrojo de aminoquelato Cys – Cu	68
ANEXO 12. Infrarrojo de aminoquelato Tyr – Cu	69
ANEXO 13. Infrarrojo de aminoquelato Asp – Fe.....	70
ANEXO 14. Infrarrojo de aminoquelato Cys – Fe.....	71
ANEXO 15. Infrarrojo de aminoquelato Glu – Fe	72
ANEXO 16. Infrarrojo de aminoquelato Tyr – Fe	73
ANEXO 17. Infrarrojo de aminoquelato Val – Fe.....	74
ANEXO 18. Infrarrojo de quelato EDTA - Fe	75

Abreviaturas y acrónimos

Cu: cobre

Fe: hierro

Gly: glicina

Asp: ácido aspártico

Glu: ácido glutámico

Cys: cisteína

Tyr: tirosina

Val: valina

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

Da: daltons, unidad de masa atómica unificada

CaCl₂: Cloruro de calcio

FeSO₄ · 7H₂O: sulfato de hierro (II) heptahidratado

NaOH: hidróxido de sodio

NH₄H₂PO₄: fosfato monoamónico

KNO₃: Nitrato de potasio

Ca(NO₃)₂: nitrato de calcio

MgSO₄: sulfato de magnesio

H₃BO₃: ácido bórico

MnCl₂ · 4H₂O: cloruro de manganeso (II) tetrahidratado

ZnSO₄ · 7H₂O: sulfato de zinc heptahidratado

CuSO₄ · 5H₂O: sulfato de cobre (II) pentahidratado

H₂MoO₄ · H₂O: ácido molibdico hidratado

C: carbono

H: hidrógeno

O: oxígeno

N: nitrógeno

S: azufre

M: molar

nm: nanómetros

mg: miligramos

mL: mililitros

mL/L: mililitro por litro

mg/mL: miligramos por mililitro

mg/L: miligramos por litro

$\mu\text{g/mL}$: microgramos por mililitro

mmol: milimol

mm: milímetros

cm: centímetros

%: porcentaje

°C: grados Centígrados

IR: espectroscopía infrarroja

Unidades SPAD: Análisis del Desarrollo de la Planta en el Suelo (por sus siglas del inglés Soil Plant Analysis Development)

Introducción

En las plantas, el hierro desempeña un papel muy importante en los procesos fisiológicos tales como la fotosíntesis, respiración, la tolerancia al estrés y la biosíntesis de clorofila, lo cual convierte a este elemento en esencial para el óptimo desarrollo vegetal (Valdivia Vargas & Cabeza Pérez, 2020; Félix *et al*, 2024).

A pesar de que se requiere una pequeña cantidad de hierro en las plantas, la escasez de éste conlleva a una clorosis férrica. Se conoce como clorosis férrica a un variado conjunto de síntomas relacionados con una nutrición deficiente de hierro, la cual se manifiesta en una disminución del crecimiento vegetativo, dando una baja productividad y calidad de los cultivos, así como una baja tolerancia al estrés por parte de las plantas (Catalina Tomás, 2015; Huertas *et al*, 2024).



Fig. 1. Planta con signos de clorosis férrica

<https://plantamus.com/blog/clorosis-ferrica/>

Algunos documentos hacen alusión al problema de la clorosis férrica desde hace más de 150 años (Catalina Tomás, 2015), lo cual brinda un panorama de la antigüedad de esta problemática, y al mismo tiempo del impacto que representa en la agricultura desde el inicio de la industrialización y sobreexplotación de los suelos. Esta afección, según diversos autores, es una patología difícil y costosa de corregir, que causa graves daños a los cultivos (Catalina *et al*, 2014), además de ser un problema de

estudio durante muchos años, sigue siendo un desafío importante para la productividad de los cultivos, afectando la calidad y el rendimiento de estos.

La agricultura es la fuente básica para el suministro de alimentos a la población mundial, no importa si se trata de naciones desarrolladas o subdesarrolladas, es por esto que, con el aumento de la población se ha dado un aumento de la necesidad de alimentos, y por lo tanto, una sobreexplotación de los recursos naturales del suelo y de los nutrientes que en él se encuentran, lo que implica el uso excesivo de fertilizantes provenientes de síntesis química para cubrir las necesidades nutricionales de la planta (Mamani de Marchese & Filippone, 2018).

El uso excesivo de fertilizantes químicos, así como la ineficiencia de los cultivos para aprovecharlos, son factores claves en la contaminación ambiental, ya que, al no ser absorbidos por las plantas, estos acaban en el medio ambiente contaminando aguas superficiales y subterráneas. Los nutrientes que se encuentran en estos productos pueden llegar a causar eutrofización en las aguas, provocando un aumento descontrolado de algas fotosintéticas, bloqueando la luz y matando a los organismos que viven en el fondo. Con el tiempo, el exceso de nutrientes en los ecosistemas acuáticos lleva a la destrucción total de la vida animal (Montes-Rojas, 2019).

Los fertilizantes aminoquelados representan una innovación en la nutrición vegetal dentro de los sistemas de producción agrícola, ya que se producen a partir de aminoácidos como materia prima. A diferencia de otros fertilizantes quelatados empleados en la agricultura, los aminoquelatos ofrecen una opción más segura y eficiente, debido a que, una vez que el metal es absorbido, los ligandos pueden actuar como bioestimulantes en lugar de quedar como "desecho", contribuyendo en la nutrición vegetal.

Según diversas investigaciones, los aminoácidos al ser compuestos biológicamente activos, al momento de conformar a los quelatos, estos presentan una mayor absorción, lo cual disminuye el gasto energético por parte de las plantas en la síntesis de proteínas.

Los aminoquelatos son capaces de proveer micronutrientes a diferentes cultivos por aplicación al suelo o vía foliar, además, se tiene una gran ventaja con respecto a otros quelatos, ya que, ambas partes (ion metálico y agente quelante) pueden ser aprovechados por la planta, siendo esta una de las razones por las cuales son más utilizados, así como menor impacto ambiental y mayor biodegradabilidad (Valdez, 2019). Los aminoquelatos ofrecen una mayor estabilidad en suelos con pH elevados en comparación con los quelatos tradicionales. Esto es importante porque las plantas suelen enfrentar dificultades en la absorción y movilidad de micronutrientes cuando el pH del suelo varía, ya que los nutrientes tienden a interactuar más con el suelo que con la planta misma (Valdez, 2019).

En este contexto, el presente estudio da a conocer los resultados de la síntesis y caracterización de aminoquelatos de hierro, y como la evaluación de su capacidad para evitar la clorosis férrica en plántulas de pepino mediante un sistema de raíz flotante.

Hipótesis

Los complejos de hierro con ligandos de tipo aminoácidos presentan propiedades mejoradas como fertilizantes respecto a los quelatos sintéticos, debido a las funciones que desempeñan los aminoácidos dentro del organismo de la planta.

Objetivo general y particulares

Objetivo general

Sintetizar y caracterizar aminoquelatos, así como evaluar su actividad como fertilizantes en plántulas de pepino (*Cucumis sativus* L).

Objetivos específicos.

- Sintetizar aminoquelatos de Cu y Fe con diversos aminoácidos que presenten funciones esenciales para el desarrollo de las plantas.
- Caracterizar los compuestos generados mediante espectroscopía de infrarrojo.
- Cuantificar el hierro presente en los aminoquelatos obtenidos.
- Evaluar la efectividad de los aminoquelatos en plántulas de *Cucumis sativus* L.

2.1 Clorosis férrica

2.1.1. Etiología de la clorosis férrica

El nombre de clorosis férrica hace referencia al conjunto de síntomas relacionados con una nutrición deficiente en hierro; el amarillamiento internerval de las hojas debido a la inhibición de la síntesis de clorofila. La escasa movilidad de hierro en la planta afecta a las hojas más jóvenes que se van desarrollando conforme al crecimiento de la planta, sin embargo, en caso de que persista la deficiencia de hierro, la decoloración de las hojas puede llegar a ser total, así como presentarse defoliación y en casos extremos, la muerte de la planta. Esto es debido a que la actividad fotosintética se va reduciendo y el contenido de clorofila disminuye, por lo cual, la clorosis férrica provoca una disminución del crecimiento de brotes y hojas, así como problemas en la maduración (Catalina Tomás, 2015).

2.1.2. Factores que influyen en la disponibilidad de hierro en el suelo

La clorosis férrica raramente está causada por una deficiencia absoluta del hierro. Se tiene información acerca de la composición de la corteza terrestre, destacando que el hierro es el cuarto elemento más abundante, representando aproximadamente el 3.8%, además de esto, el contenido de hierro en el suelo se encuentra en un intervalo de 10 a 50 gramos por cada kilogramo de suelo, la cual es una concentración suficiente para satisfacer las necesidades de la mayoría de los cultivos agrícolas (Martínez Cuenca, 2012; Cabello Bermúdez, 2013).

La clorosis férrica suele ser causada principalmente por problemas en el suelo, sin embargo, también influyen otros factores como el tipo de planta, las condiciones ambientales y las prácticas agrícolas. Todos estos elementos interactúan y pueden afectar de diferentes maneras el desarrollo de esta condición (Martínez Cuenca, 2012). Otro factor que influye ampliamente en la deficiencia de este elemento es el problema de su disponibilidad para la planta. Normalmente se trata de una deficiencia inducida por alguna circunstancia que impide que el hierro pueda ser utilizado por las plantas, el ejemplo más común se visualiza en los suelos calcáreos, en donde la baja disponibilidad del hierro ha sido atribuida a la disminución de su solubilidad en suelos que presentan pH alcalinos (Martínez Cuenca, 2012; Cabello Bermúdez, 2013).

Según lo reportado por Catalina Tomás (2015), existen 6 categorías en las cuales se pueden clasificar los factores que afectan la disponibilidad del hierro en el suelo:

1. Formas del hierro en el suelo

En los suelos calcáreos predominan las formas menos solubles de los óxidos de hierro (Fe^{+3}), además, el contenido y cristalización que presentan este tipo de óxidos afecta su disponibilidad para las plantas, siendo los óxidos amorfos los más fáciles de movilizar.

2. El pH del suelo

La solubilidad del hierro y su disponibilidad para las plantas depende mucho del pH del suelo, a medida que el pH aumenta (como en los suelos calcáreos con pH alto), disminuye drásticamente la solubilidad de este elemento, a bajas concentraciones de hierro en la solución del suelo el crecimiento no es óptimo en las plantas.

3. Carbonatos e ión carbonato

La cantidad de carbonatos en el suelo afecta significativamente sus propiedades físicas y químicas, así como la disponibilidad de hierro. El bicarbonato (HCO_3^-) regula el pH del suelo entre los valores 7.5 y 8.5, lo cual provoca que el hierro sea menos accesible al promover su oxidación y dando lugar a la formación de compuestos poco solubles.

4. Presencia de sustancias complejantes: materia orgánica

El hierro puede formar complejos estables con diversos compuestos orgánicos que pueden estar de manera natural en el suelo, esto ayuda en su movilidad y absorción por las plantas al evitar la cristalización de los óxidos de hierro, sin embargo, un exceso de materia orgánica puede inmovilizar por completo el hierro en compuestos que sean poco solubles, reduciendo así su disponibilidad para las plantas.

5. La interacción del hierro con otros elementos

La disponibilidad del hierro para la planta se puede ver afectada debido a la concentración e interacción que se tiene con otros nutrientes en el suelo:

- Nitrógeno: La forma del nitrógeno que se tiene en el suelo puede afectar el pH del suelo, el nitrato (NO_3^-) aumenta el pH y puede inducir clorosis férrica, mientras que el amonio (NH_4^+) no tiene este efecto.
- Fósforo: Este disminuye la disponibilidad del hierro al formar compuestos insolubles con él, así como al ser adsorbido por los óxidos de hierro, interfiriendo entonces con la absorción por la planta.
- Micronutrientes: Otros micronutrientes (manganeso, zinc y cobre) pueden interferir la absorción del hierro debido a la competencia que presentan por los mismos sitios de absorción.

6. Otros factores

Condiciones de crecimiento de las plantas: La luz intensa promueve el amarillamiento de las hojas cloróticas, mientras que la luz tenue ayuda a disminuir estos síntomas. Las bajas temperaturas reducen el desarrollo radicular y con ello limitan la absorción de hierro por parte de la planta. Por otra parte, las altas temperaturas provocan un crecimiento más rápido, incrementando con ello la demanda de hierro, lo cual podría significar un agravio en los síntomas de clorosis.

2.1.3. Métodos tradicionales de corrección de clorosis férrica

La prevención y corrección de la clorosis férrica en plantas cultivadas en suelos calcáreos suele ser difícil y costosa, sin embargo, el incremento de hierro disponible en el suelo para la planta se puede conseguir a través de diversas técnicas en las cuales se incluyen la aplicación de sales de hierro cerca del sistema radicular y a la parte aérea del como fertilizante foliar, sin embargo, a través del tiempo la forma más efectiva de evitar la clorosis férrica ha sido el uso de patrones tolerantes a las condiciones adversas del suelo, que dificultan la absorción del hierro y provocan la clorosis férrica (Martínez Cuenca, 2012; Cañasveras Sánchez, 2014). Cabe destacar que los fertilizantes utilizados en la corrección de deficiencias nutrimentales se clasifican en tres: sales inorgánicas, complejos naturales y quelatos sintéticos (Valdez, 2019).

Sales inorgánicas

Los micronutrientes como hierro, manganeso y zinc pueden ser aplicados como sales solubles (mayormente sulfatos) a los cultivos, sin embargo, no se recomienda tanto debido a que aumenta su precipitación a partir de estas sales (Valdez, 2019). En el caso del hierro, el sulfato de hierro ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) es, y sigue siendo desde hace mucho tiempo uno de los tratamientos más usados para prevenir la clorosis férrica debido al bajo precio que presenta a comparación de otros tratamientos. Suele ser aplicado en la superficie del suelo en forma sólida o se entierra mediante una máquina de subsolado (Cañasveras Sánchez, 2014).

Complejos naturales

En años recientes se ha propuesto la utilización de quelatos de hierro biodegradables. Los más comunes han sido ácidos fúlvicos, húmicos y aminoácidos, los cuales se usan por la capacidad que presentan para formar complejos con este elemento. Se utilizan como ayudantes en cultivos donde se hace aplicación de compuestos inorgánicos (Cañasveras Sánchez, 2014).

Quelatos sintéticos

Según Valdez (2019), los agentes quelantes sintéticos son compuestos capaces de mantener los micronutrientes solubles, de modo que evitan la precipitación del metal en forma de hidróxidos insolubles debido a la alta estabilidad del quelato formado. La aplicación de este tipo de productos es la práctica más común en la agricultura para la prevención y/o remediación de la deficiencia de micronutrientes (metálicos) en cultivos que representan un alto valor económico (Valdez, 2019).

2.2 Quelatos como agentes de mejora de la absorción de nutrientes

2.2.1. Quelatos y su capacidad para solubilizar nutrientes

Los quelatos son compuestos químicos utilizados en la agricultura y la jardinería para mejorar la disponibilidad de nutrientes. Estos compuestos forman complejos con los microelementos, ayudando en su solubilidad en el suelo y por consiguiente en la absorción de ellos para las raíces de las plantas.

Como definición se tiene que un quelato es un compuesto químico en el que una molécula orgánica rodea y se enlaza por varios puntos a un ion metálico, de manera que lo protege de cualquier acción desde el exterior evitando su hidrólisis y precipitación, esto último es especialmente importante para los nutrientes que tienden a precipitar o volverse insolubles en el suelo, como el hierro, el manganeso, el cobre y el zinc. Por lo tanto, químicamente hablando, los quelatos son moléculas muy estables (Morán Mariscal, 2019).

Puente-Ramírez *et al.* (2022), indica que los quelatos son moléculas orgánicas altamente estables, capaces de mantener rodeados los iones de forma que quedan salvaguardados del entorno manteniéndolos solubles y disponibles para las plantas. Principalmente son compuestos poliaminocarboxílicos, aunque los quelatos usados como fertilizantes se clasifican en fenólicos o no fenólicos, esto es si se cuenta con la presencia o no de este grupo funcional en la estructura (Valdez, 2019).

Cabe resaltar que los quelatos deben ser utilizados y seleccionados de acuerdo con las necesidades nutricionales de las plantas, un exceso de estos puede tener efectos negativos en el medio ambiente, aunque depende el tipo de quelato utilizado, como se mencionará más adelante, y que algunos como los aminoquelatos no suelen tener este tipo de problemáticas. También se debe tener en cuenta que estos agentes quelantes tienen afinidad por un tipo de nutriente u otro, dependiendo las características químicas que presentan entre ellos, por lo que es necesario seleccionar adecuadamente el quelato adecuado para cada elemento.

2.2.2. Ventajas del uso de quelatos

Los iones metálicos son minerales importantes para las plantas, sus deficiencias resultan en color amarillento de las hojas, crecimiento retardado y cultivos de baja calidad (Morán Mariscal, 2019), es por ello por lo que la aplicación de estos productos es una práctica común para prevenir o remediar la deficiencia de micronutrientes metálicos en cultivos de alto valor económico (Valdez, 2019).

La movilidad de los micronutrientes en el suelo disminuye a medida que aumenta el pH, debido a que estos nutrientes (especialmente los metales) tienden a tener mayor afinidad con el suelo que con la planta, esto limita su disponibilidad y afecta su absorción. El uso de quelatos ayuda a mantener los micronutrientes en equilibrio, evitando que reaccionen con el ambiente y mejorando su disponibilidad para la planta (Valdez, 2019). Teniendo en cuenta todo lo anterior, las grandes ventajas del uso de quelatos en los sistemas agrícolas se pueden resumir en los siguientes puntos:

- 1.** Aumento de la disponibilidad de nutrientes, al no permitir la precipitación o insolubilización de ellos en suelos.
- 2.** Mejora la absorción de nutrientes, ya que tienen la capacidad de transportarlos a través de las membranas celulares de forma más eficiente.
- 3.** Estabilidad de nutrientes, como ya se mencionó, el quelar los elementos con ellos proporciona la suficiente estabilidad para evitar su precipitación o insolubilización en el suelo, lo cual va de la mano con el primer punto de esta lista.
- 4.** Corrección de deficiencias nutricionales de forma más rápida y eficiente.

2.3 Aminoquelatos de hierro

2.3.1 Definición y características de los aminoquelatos

Los aminoquelatos se componen de dos partes principales:

- a) El nutriente metálico que quiere ser aplicado a la planta.
- b) El o los aminoácidos que se utilizaron para quelar el nutriente metálico.

Cabe mencionar que los aminoquelatos se sintetizan con la finalidad de proporcionar una forma estable y soluble a los nutrientes metálicos para que estos puedan ser absorbidos por las plantas. Según Valdez (2019), los complejos que se obtienen de los aminoácidos deben tener 3 características:

1. Un peso molecular de 150 a 200 Da, lo cual permite una mejor absorción.
2. Carga neutra; lo cual evita una interacción previa con el ambiente u otros componentes previo a su absorción por la planta.
3. Solubles en agua, lo cual ayuda en la disponibilidad de ser metabolizados por la planta.

Además de esto, se hace énfasis en que los quelatos deben tener suficiente estabilidad para impedir la formación de sales insolubles del ion metálico, pero tampoco deben impedir la liberación de los metales en todo momento, es por ello por lo que se requiere un cierto grado de inestabilidad, con lo cual se logra una liberación lenta del metal a las plantas con la finalidad de una mejor asimilación de este (Valdez, 2019). Los nutrientes quelados con aminoácidos forman moléculas muy pequeñas, eléctricamente neutras, que aceleran su absorción y transporte dentro de la planta (Martínez-Gutiérrez *et al.*, 2022).

2.3.2 Mecanismo de acción de los aminoquelatos de hierro en las plantas

A pesar de que los aminoquelatos han dominado los mercados de fertilizantes en diversos países, en la actualidad no existe información detallada del mecanismo de acción de este tipo de fertilizantes en los cultivos. Esto se debe en parte a que los aminoquelatos consisten en una composición mixta de varios elementos nutritivos, lo que produce efectos variados y muchas variables de respuesta (Souri, 2016). Un mecanismo para obtener información más detallada sería la realización de estudios de absorción por parte de las plantas, mediante el marcado isotópico del quelato de

hierro para evaluar la cantidad de quelato incorporado en diferentes reservas metabólicas de la planta, a través de un estudio de tiempo controlado (Souri *et al*, 2017). Sin embargo, aunque no exista un mecanismo de absorción y acción de los aminoquelatos, es posible tener una idea por la forma en la que son absorbidos diferentes nutrientes por la planta, como se describe a continuación.

Primero, se tiene el conocimiento que la estructura y química de la superficie de la planta afectará la difusión de las sustancias desde el entorno, por lo tanto, repercute en la velocidad de absorción de los fertilizantes (Fernández *et al.*, 2015), es por ello que se requiere conocer de anatomía vegetal, la cual “corresponde a la descripción de los tejidos que constituyen las plantas superiores, los tipos histológicos y su ubicación relativa dentro del organismo vegetal” (Siracusa, 2017).

Los quelatos facilitan la penetración de los microelementos en las células de las plantas. Los aminoácidos, en este contexto, actúan como transportadores de metales, permitiendo una rápida absorción y distribución de estos nutrientes hacia las partes aéreas de la planta. Esto contribuye a una metabolización más eficiente y al transporte de microelementos dentro de la planta (Restrepo Betancur *et al.*, 2020). El hierro se transporta desde las raíces hasta la parte aérea vía xilema, (Martínez-Cuenca *et al*, 2017).

Aunque el hierro es esencial para las plantas, es difícil absorberlo en su forma natural (Fe^{+3}) ya que tiende a precipitarse en el suelo en forma de compuestos insolubles, es necesario el ion ferroso (Fe^{+2}) para ser absorbido por la planta debido a que presenta una mayor movilidad y disponibilidad para ser incorporado a estructuras biomoleculares (Restrepo Betancur *et al*, 2020).

Debido a que la aplicación de los productos evaluados en este proyecto fue de forma hidropónica, es necesario presentar revisión bibliográfica de la absorción de nutrientes mediante la raíz.

La raíz es una estructura especializada encargada de fijar la planta al suelo y realizar la absorción de agua y minerales, su estructura consiste en tres tipos de tejidos: la epidermis, la corteza y el cilindro central o vascular (Torres Ramírez, 2012).

La epidermis son las células que recubren la superficie de la raíz, tiene como característica principal que es altamente permeable al agua, así como sus funciones principales son de: protección mecánica, regulación del intercambio gaseoso, y la absorción de agua y nutrientes (Torres Ramírez, 2012). Por otra parte, el segundo tipo de tejido, la corteza, presenta una gran cantidad de espacios por los cuales circula el aire que ingresa por la epidermis (Torres Ramírez, 2012). En última instancia, en el cilindro central o vascular se contienen todos los tejidos cuya función es la de transportar el agua y los nutrientes (xilema) así como los carbohidratos con otros compuestos orgánicos sintetizados por la planta (floema) (Torres Ramírez, 2012).

El agua con sales minerales disueltas entra a la raíz por difusión debido a un gradiente de potencial hídrico en el xilema, ingresando por las zonas en las cuales existe menor resistencia (Torres Ramírez, 2012). Una vez absorbida el agua con los nutrientes disueltos, entre ellos el hierro, este viaja a través del xilema, los aminoquelatos, al ser una combinación de micronutrientes con aminoácidos pueden mejorar la eficiencia del transporte al evitar la formación de compuestos insolubles, además, los aminoácidos pueden servir como nutrientes adicionales, mejorando el metabolismo general de la planta y su capacidad para movilizar el hierro a donde más se necesita (Torres Ramírez, 2012; Restrepo Betancur *et al*, 2020).

2.3.3 Ventajas de los aminoquelatos sobre otros quelatos de hierro

Diversos autores han demostrado que los aminoácidos son capaces de proveer micronutrientes a diferentes cultivos por aplicación al suelo o vía foliar, además de que, tanto ligandos como el metal, es capaz de ser aprovechado por la planta, siendo esto una de las razones por las cuales son utilizados, además, tienen un menor impacto ambiental y mayor biodegradabilidad (Valdez, 2019).

Los aminoácidos contenidos en los aminoquelatos tienen una doble función, además de ser estabilizadores de los nutrientes metálicos, estos son absorbidos y asimilados por la planta, incorporándose rápidamente al metabolismo vegetal, ya que los toma como si hubieran sido sintetizadas por ella misma, lo cual hace que obtenga aminoácidos sin el gasto energético de producirlos, logrando una mejora de los cultivos, especialmente en etapas críticas del desarrollo de la planta, pues exhiben

mayores rendimientos y ayuda también en la mejora del fruto cosechado (Martínez-Gutiérrez *et al.*, 2022). Los aminoácidos utilizados para quelar los nutrientes metálicos pueden actuar como fuente de nitrógeno y precursores de hormonas, como aditivos con insecticidas y fungicidas, esto ayuda en cuanto a la calidad del producto final obtenido por parte de los agricultores (Martínez-Gutiérrez *et al.*, 2022).

Como ya se mencionó, se tiene un problema respecto a la movilidad de los micronutrientes, ya que su disponibilidad varía con el cambio de pH que presenta el suelo, debido a la afinidad de los nutrientes al pH del suelo en lugar de la planta, esto nos lleva a una de sus ventajas sobre los quelatos normales, pues tienen una mayor estabilidad en pH elevados a comparación de los quelatos normales (Valdez, 2019).

Según lo obtenido en la investigación realizada por Restrepo Betancur *et al.* (2020), al ser los aminoácidos compuestos biológicamente activos, los aminoquelatos son de rápida absorción y translocación, lo cual disminuye el gasto energético por parte de la planta en la síntesis de proteínas, además, por su peso molecular se favorece la entrada a la planta. En otra investigación realizada por Rodríguez *et al.* (2014), se observaron influencias positivas sobre la calidad de los frutos en naranjos dulces, además de observarse un incremento significativo en los rendimientos. Además de estos beneficios, se tiene evidencia que los aminoácidos que son utilizados para quelar los nutrientes metálicos pueden ser utilizados como agentes anti-estrés (Martínez-Gutiérrez *et al.*, 2022).

2.4 Síntesis de aminoquelatos de hierro

2.4.1 Métodos de síntesis de aminoquelatos de hierro

Souri (2016) propone una metodología general para la síntesis de aminoquelatos, la cual consiste en una reacción de aminoácido (dos o tres moles) con nutrientes metálicos provenientes de una sal metálica soluble en agua (un mol), lo cual da lugar a un enlace covalente coordinado. Esto resulta en un ligando bidentado, que forma enlaces químicos relativamente fuertes con átomos de metal cargados positivamente, lo cual es en conjunto un aminoquelato, sin embargo, ciertas combinaciones de minerales y aminoácidos pueden no producir moléculas de quelato efectivas debido a la debilidad de los enlaces químicos producidos.

Ghasemi *et al*, (2012) propusieron una disolución acuosa del aminoácido (2 mmol) a utilizar, y es añadida de forma lenta a otra solución acuosa (1 mmol) de FeSO_4 . La mezcla se pone a reflujo durante 2 horas mientras es agitada vigorosamente. La evaporación del solvente a temperatura ambiente produce microcristales marrones de quelatos de Fe con el aminoácido utilizado. Los productos se lavan primero con etanol frío, seguido de éter dietílico y se secan al aire.

En 2021, Jawahar *et al*, propusieron el siguiente proceso: hervir agua durante 30 minutos para eliminar el aire disuelto en esta, posteriormente disolver sulfato ferroso monohidrato ($\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) y mantener la solución a 80°C para mezclar ácido cítrico. Por separado, disolver el aminoácido (glicina) en agua desaireada y la solución ácida se añadió a la solución de sulfato ferroso con agitación. La temperatura de la mezcla se mantuvo a aproximadamente 80°C . La mezcla se filtró para eliminar cualquier material no disuelto. El citrato de aminoácido metálico se secó a aproximadamente menos de 110°C y el material seco se molió hasta obtener un polvo fino.

Rahmouni *et al* (2019), realizaron una metodología en la cual los complejos metálicos de los ligandos mixtos se prepararon a partir de cloruro metálico (FeCl_3 y ZnCl_2), isonitroso acetofenona (HINAP) y varios aminoácidos como histidina, fenilalanina y prolina como se describe a continuación: a una solución etanólica de sal metálica (5 mmol) se le añadió una solución etanólica de HINAP (5 mmol). La mezcla se agitó y se mantuvo en un baño de agua a 50°C durante 30 min. A esto se le añadió una

solución etanólica acuosa 1:1 del aminoácido (5 mmol), la mezcla (1:1:1 M proporción) se sometió a reflujo durante 4 horas. Cuando se precipitó un sólido de color oscuro [para el hierro (III)] y uno blanco [para los complejos de zinc (II)], se filtró y lavó con agua y etanol helado. Los complejos así preparados se secaron al vacío.

Abd-Elmoneim *et al*, (2008) realizaron la síntesis de distintos aminoquelatos de hierro de la siguiente manera:

- **Síntesis de quelato de fenilalanina de hierro (III):** El quelato bajo investigación se sintetizó mezclando 25 cm³ de una solución acuosa de fenilalanina (0,01 mol; 1,65 g) con (0,01 mol; 2,71 g), sal de hierro (III) en el mismo disolvente. La mezcla obtenida se dejó reposar durante 2 horas. Se añadieron unas pocas gotas de solución alcalina para ajustar el pH al que se separó el quelato sólido. El quelato formado se filtró, se recogió y se lavó varias veces con agua bidestilada caliente hasta que el filtrado se volvió incoloro. El quelato se secó en un desecador sobre CaCl₂ anhidro al vacío.
- **Síntesis de quelato de glicina Fe (III):** La síntesis de este quelato se realizó mezclando una solución acuosa (25 ml de H₂O destilada) de glicina (0,01 mol; 0,75 g) con sal de Fe (III) (0,01 mol; 2,71 g) en misma cantidad de disolvente, luego ajuste el pH a la proporción deseada. La mezcla obtenida se dejó enfriar durante 2 horas hasta que se aisló el quelato. El precipitado se separó por filtración y se lavó varias veces con agua bidestilada caliente. El quelato resultante se secó en un desecador sobre CaCl₂ anhidro.

2.5 Aplicaciones de los aminoquelatos de hierro en la agricultura

2.5.1 Resultados de estudios experimentales en diversas especies de plantas

Restrepo Betancur *et al*, (2020) realizaron un estudio comparativo de biofortificación de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con zinc y hierro en forma de aminoquelatos como fuente orgánica y sales de sulfato de hierro y zinc como fuentes inorgánicas. Se obtuvieron datos significativos de un mayor contenido de hierro en los tomates a los cuales se les aplicó el tratamiento con micronutrientes quelados con aminoácidos, comparado con los tratamientos inorgánico y control, presentando una diferencia estadística significativa y evidenciando que hubo mejor absorción de hierro aminoquelado.

Ghasemi *et al* (2012), sintetizaron ciertos aminoquelatos de hierro (Fe), incluyendo Fe - arginina [Fe(Arg)₂], Fe - glicina [Fe(Gly)₂] y Fe - histidina [Fe(His)₂], evaluándose su eficacia como fuente de este elemento para dos cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum*) en soluciones nutritivas. Se obtuvieron resultados que indicaron que la aplicación de los aminoquelatos de hierro incrementó significativamente el rendimiento de materia seca de raíz y brote en ambos cultivos de tomate, en comparación con el de EDTA - Fe. Además de esto, las plantas de tomate que fueron tratadas con aminoquelatos de hierro mostraron mayor nivel de hierro, zinc y nitrógeno en los brotes y raíces, a comparación de las plantas tratadas con EDTA - Fe.

En el estudio realizado por Soury *et al* (2017), se evaluaron los efectos de la aplicación en suelo y de manera foliar de un aminoquelato comercial (fertilizante líquido que contiene 2.0% de N-aminoácido, 2.5% de Zn, 2.0% de Fe, 1.5% de Mn y 0.4% de Cu) en el crecimiento, rendimiento y características de calidad en tres cultivos de hortalizas, incluyendo tomate (*Solanum lycopersicum*), pepino (*Cucumis sativus*) y frijol verde (*Phaseolus vulgaris*) en condiciones de campo en suelo calcáreo. Se observó un aumento del rendimiento y crecimiento de las plantas, así como en los parámetros de calidad, esto con las aplicaciones foliares en los tres tipos de cultivos. En menor medida en la aplicación al suelo de los aminoquelatos. Además, las plantas tratadas con la aplicación foliar de aminoquelato presentaron un mayor índice de clorofila, así como un mayor número de brotes laterales, peso seco del brote, número

de brotes, rendimiento de la planta y concentración de nitrógeno en las hojas de los tres cultivos de hortalizas en comparación con el control. Los resultados indican que la aplicación de aminoquelato, especialmente la aplicación foliar, es un método más eficiente para mejorar el crecimiento de la planta, la productividad y la calidad de los cultivos en condiciones de suelo calcáreo.

Cevallos Carvajal *et al* (2022) realizaron un estudio en el cual el objetivo de estudio era evaluar la efectividad de las fuentes de aplicación foliar de calcio, boro y zinc en el rendimiento y rentabilidad del cacao de Ecuador, los tratamientos consistieron en tres fuentes foliares de calcio, boro y zinc (sales, quelatos y aminoquelatos), además de incluirse un tratamiento control que solo recibió fertilización edáfica, los resultados obtenidos sugirieron una mayor efectividad de los aminoquelatos con relación a sales y quelatos convencionales, como fuentes de nutrición foliar de calcio, boro y zinc en el cacao.

Ghasemi *et al* (2012) compararon la absorción de hierro aplicado por medio de aminoquelatos de hierro (arginina, glicina e histidina), evaluando la eficacia de hierro en plantas de tomate, en el cual se obtuvo que los complejos de aminoquelatos de hierro mejoran la absorción y translocación de los nutrientes utilizados (hierro, zinc y nitrógeno) en comparación con EDTA - Fe, lo que resultó en un mayor crecimiento de raíces y brotes en los tomates, así como una mayor actividad catalasa y ascorbato peroxidasa, además de llegar a la conclusión de que los aminoquelatos de hierro pueden ser usados como una alternativa al EDTA - Fe para suministrar hierro en soluciones nutritivas.

2.5.3 Impacto ambiental y económico del uso de aminoquelatos de hierro en la corrección de clorosis férrica

Los aminoquelatos representan una forma de nutrición más segura y eficiente, lo que resulta en mejores rendimientos de las plantas y en menores riesgos ambientales, al ser químicamente muy similares a los aminoácidos (de origen natural) encontrados en las plantas, presentan una gran ventaja al acomplejar a los minerales catiónicos, así como a neutralizar sus cargas de una manera más efectiva, por lo que son rápidamente absorbidos, traslocados y metabolizados por la planta. Además del aprovechamiento de los aminoquelatos como fuente de micronutrientes, estos

representan un fertilizante nitrogenado eficaz en la nutrición de las plantas que puede evitar los efectos negativos de los fertilizantes nitrogenados simples (Cevallos Carvajal *et al*, 2022).

La alta eficacia de los quelatos de hierro permite que sean efectivos en suelos con pH elevados, al evitar la precipitación del hierro y asegurar su biodisponibilidad para la planta, sin embargo, al momento de ser absorbido el hierro, estos quelatos pueden permanecer en el suelo y reaccionar con otros metales, implicando un riesgo ambiental, ya que algunos metales pesados pueden moverse hacia capas más profundas del suelo y el agua subterránea, provocando contaminación (Michel Gómez, 2016). Esta problemática se elimina en los aminoquelatos de hierro, ya que al momento de absorberse el hierro los aminoácidos responsables de la quelación pueden ser absorbidos por las plantas y ser utilizados en su metabolismo, disminuyendo o eliminando la posibilidad de contaminación en comparación con los quelatos sintéticos tradicionales (Restrepo Betancur *et al*, 2020).

Síntesis y caracterización de quelatos

Síntesis de aminoquelatos de Cobre

La reacción se llevó a cabo según la metodología propuesta por Espíritu Bretado (2022), en una relación molar de 1:1 entre el aminoácido empleado y el cobre.

Se puso en un matraz bola 1 mmol de acetato de cobre monohidratado en 5 mL de agua destilada caliente con una temperatura aproximada de 70 °C. Después de 5 minutos en agitación se añadieron 5 mL de etanol caliente (60 °C) y se dejó otros 5 minutos en agitación constante, posteriormente se añadió 2 mmoles de aminoácido disuelto previamente en 5 mL de agua destilada caliente (aproximadamente a 70 °C), y se dejó en reflujo durante 3 horas. Se dejó enfriar el medio de reacción hasta temperatura ambiente y el producto formado se filtró al vacío con lavados etanólicos. Finalmente se secó a temperatura ambiente y se mantuvo bajo atmósfera inerte de nitrógeno.

Los aminoácidos empleados para esta síntesis fueron: Glicina (Gly), Ácido aspártico (Asp), Ácido glutámico (Glu), Cisteína (Cys), Valina (Val) y Tirosina (Tyr).

Síntesis de aminoquelatos de Hierro

Se siguió la metodología propuesta por Ghamesi *et al* (2012), para lo cual se hizo una solución acuosa de 2 mmoles del aminoácido usado en 5 mL de agua destilada, a esta se le añadió lentamente 2 mL de una solución acuosa de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol). La mezcla se puso en reflujo durante 2 horas mientras era agitada vigorosamente. La evaporación del solvente se llevó a cabo a temperatura ambiente, lo cual produjo microcristales marrones - naranjas de quelatos de Fe con el aminoácido utilizado. Los productos se lavaron primero con etanol frío, seguido de éter dietílico y se secaron al aire.

Los aminoácidos empleados para esta síntesis fueron: Glicina (Gly), Ácido aspártico (Asp), Ácido glutámico (Glu), Cisteína (Cys), Valina (Val) y Tirosina (Tyr).

Síntesis de quelato de EDTA - Fe

Se realizó una solución (mezcla 1) con 0.01 mol de NaOH en 15 mL de agua destilada y 0.01 mol de EDTA disódico. Esta mezcla se calentó suavemente a baño maría hasta que se disolvió completamente y se obtuviera una disolución transparente. Se realizó una segunda solución (mezcla 2), la cual consistió en disolver 0.009 mol de cloruro de hierro (III) hexahidratado, en 5 mL de agua destilada y se calentó de forma moderada en baño maría hasta total disolución.

Una vez realizadas ambas disoluciones se puso la Mezcla 2 en agitación magnética y baño maría, a esta se le añadió lentamente la Mezcla 1 y se dejó durante 10 minutos. En el transcurso de este tiempo inició la precipitación de un polvo amarillo – café. Se retiró del baño María para dejar enfriar y se filtró al vacío con lavados de agua destilada fría, posteriormente se dejó secar a temperatura ambiente y se guardó en frascos con atmósfera inerte de nitrógeno.

Caracterización de aminoquelatos de Cu, Fe y quelato de EDTA - Fe

Los aminoquelatos de Cu y Fe, así como el quelato de EDTA - Fe, fueron caracterizados parcialmente por medio de espectroscopía de infrarrojo, utilizando un espectrofotómetro Thermo Scientific modelo Nicolet is5. Los valores de transmitancia (ν) están expresados en cm^{-1} .

Cuantificación de hierro en aminoquelatos

Para esta determinación se prepararon los siguientes reactivos y soluciones:

- La solución de orto-fenantrolina se preparó disolviendo 0.1 gramos de o-fenantrolina en 80 mL de agua destilada calentada a 80 °C. Después de enfriarse por 5 minutos, se llevó a un volumen final de 100 mL en un matraz volumétrico y se cubrió con papel aluminio para ser protegido de la luz. Una coloración rosada en esta solución indicaría contaminación de esta, por lo cual al momento de utilizarla siempre fue necesario revisar la coloración (o ausencia de) de esta.

- La solución buffer se preparó disolviendo 20.75 gramos de acetato de sodio en agua destilada a la cual se le añadieron 30 mL de ácido acético glacial concentrado y se llevó a un volumen final de 250 mL.
- Para la disolución de clorhidrato de hidroxilamina, se disolvieron 10 gramos de este reactivo en 20 mL de agua destilada y se trasvasó a un matraz volumétrico de 100 mL el cual se llevó al volumen final con agua destilada.
- Para las muestras a analizar se realizó una disolución acuosa de 50 miligramos de los compuestos (aminoquelatos de hierro) en un matraz volumétrico de 500 mL.

Metodología de cuantificación:

1. Se tomaron 3 mL de las muestras con una micropipeta y se añadieron a un matraz volumétrico de 10 mL, en el caso del blanco se tomaron 3 mL de agua destilada.
2. Se le añadió 0.2 mL de la solución de clorhidrato de hidroxilamina preparada anteriormente.
3. Se añadieron 2 mL de la solución buffer de acetato de sodio.
4. Se agregó 0.8 mL de la solución de orto-fenantrolina (en este paso se dio un viraje de color de transparente a naranja).
5. Se aforó con agua destilada y se agitó vigorosamente para la homogeneización de la mezcla.
6. Se trasvasaron las muestras a tubos de ensayo y se dejaron reposar durante 10 minutos.
7. Se analizaron con un espectrofotómetro UV a 510 nm.

Para obtener los resultados de la determinación de hierro se utilizó una curva de calibración, la cual se obtuvo al partir de un patrón de 1000 ppm de Cloruro de Hierro (III) a la cual se le hicieron diluciones de 50, 85, 125, 190 y 250 ppm. Los resultados obtenidos de esta curva de calibración se expresaron en unidades de $\mu\text{g/mL}$ (microgramos por mililitro).

Evaluación biológica

Desinfección de semillas de pepino

Se pusieron 80 semillas de pepino en un vaso de precipitado con una solución de hipoclorito de sodio al 5%, de tal forma que todas las semillas quedaron sumergidas por al menos 5 minutos. Posteriormente se pasaron por 20 segundos a otro vaso de precipitado que contenía etanol al 96%. Finalmente se realizaron 3 lavados con abundante agua destilada.

Siembra de las semillas de pepino

Se realizó una mezcla 7:3 de peat moss con perlita, se humedeció y se colocó en charolas de siembra de 40 pocillos, llenándolos hasta medio centímetro antes de llegar al borde. Se colocó una semilla por pocillo y se cubrió con un poco más de la mezcla de sustrato, para posteriormente dejarse durante aproximadamente dos semanas en cuarto de crecimiento a una temperatura de entre 25 y 27 °C. Estas plántulas fueron utilizadas para el montaje del experimento una vez que se observaron las primeras hojas verdaderas.



Fig. 2. Siembra de la semilla de pepino en la mezcla de peat moss - perlita.



Fig. 3. Plántulas de pepino con cotiledones.



Fig. 4. Plántulas de pepino con hojas verdaderas listas para el montaje del experimento.

Preparación de solución nutritiva

Se utilizó como base la solución nutritiva de Hoagland, la cual consiste en un medio de crecimiento comúnmente utilizado para el cultivo de plantas en sistemas hidropónicos.

Primeramente, se prepararon cinco soluciones patrón (1-5) con los macro y micronutrientes necesarios, posteriormente estas se mezclaron en diferentes volúmenes para obtener 8 litros de la solución nutritiva final, la cual se complementó con las cantidades de hierro necesarias según los tratamientos.

Soluciones de macronutrientes (1-4):

1. **1.00 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$** (se usó 1 mL/L)
2. **1.00 M KNO_3** (se usó 1 mL/L)
3. **1.00 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$** (se usó 1 mL/L)
4. **1.00 M MgSO_4** (se usó 1 mL/L)

Solución de micronutrientes (5): se combinaron la siguiente cantidad de sales en un volumen total de un litro de agua y luego se utilizó 1 mL/L de esta solución patrón (5), junto con las soluciones de macronutrientes 1- 4.

2.86 mg H_3BO_3

1.81 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

0.22 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

0.08 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

0.02 mg $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Adición de hierro: se disolvieron 5 mg/L del quelato de hierro correspondiente y se disolvieron en la solución Hoagland compuesta por las soluciones 1 a 5.

Se evaluó un tratamiento y dos controles:

- **Control negativo:** se utilizó la solución Hoagland sin la adición de hierro (sin solución 6), siendo, por lo tanto, una solución nutritiva deficiente en hierro.
- **Control positivo:** quelato EDTA-Fe sintetizado.
- **Tratamiento aminoquelato:** quelato Asp - Fe (ácido aspártico).

Desarrollo del experimento

Se evaluó el efecto de los diferentes quelatos de hierro en un sistema de raíz flotante. Para esto primeramente se lavaron las raíces de las plántulas con agua corriente, fueron seleccionadas aquellas que presentaron características más similares en cuanto a longitud de raíz, tallo y hojas para cada tratamiento.

Cada tratamiento constó de 3 botes de plástico de un litro a los cuales se adicionaron 800 mL de solución nutritiva ya con el quelato de hierro correspondiente (sin hierro, EDTA-Fe y Asp-Fe), enseguida se colocaron 2 plántulas de pepino en cada uno, dando en total 6 plántulas por tratamiento. Estos se mantuvieron en condiciones de humedad, temperatura y luz controladas durante 14 días. Cada 24 horas se realizó la aireación de la solución durante 5 minutos, y esta fue renovada pasados los primeros 7 días.

Diariamente se tomó lectura del contenido de clorofila durante todos los días del experimento.

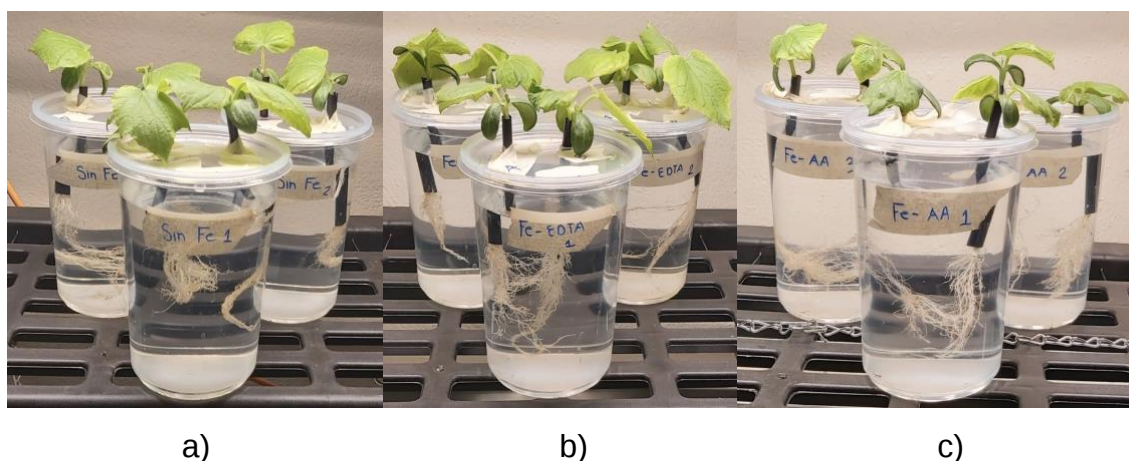


Fig. 5. Plántulas de pepino evaluadas en los diferentes tratamientos: a) control negativo; b) Quelato EDTA-Fe; c) Quelato Asp-Fe

Resultados y discusión de resultados

Síntesis y caracterización de quelatos

Aminoquelatos de cobre

Siguiendo la metodología anteriormente descrita para la generación de los aminoquelatos de cobre, se obtuvieron buenos rendimientos que oscilan entre el 71 y 100% como puede observarse en la siguiente tabla:

Aminoquelato	Rendimiento (%)
Gly - Cu	100
Asp - Cu	98.5
Glu - Cu	73.5
Cys - Cu	90.4
Tyr - Cu	71.2
Val - Cu	72.8

Gly: Glicina; Asp: Ácido aspártico; Glu: Ácido glutámico;
Cys: Cisteína; Tyr: Tirosina; Val: Valina; Cu: Cobre

En el análisis espectroscópico por infrarrojo del aminoácido glicina (Gly), se presentó una banda a los 3152 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace $N-H$ de una amina primaria ($3500 - 3100\text{ cm}^{-1}$), la banda en 1609.38 cm^{-1} es asignable al enlace $C=O$ del ácido carboxílico ($1725 - 1700\text{ cm}^{-1}$) y la banda ancha entre los $2500 - 3000\text{ cm}^{-1}$ es correspondiente al enlace $O-H$ del ácido ($3400 - 2400\text{ cm}^{-1}$).

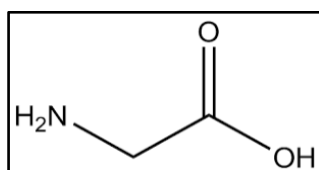


Fig 6. Estructura química del aminoácido Glicina (Gly)

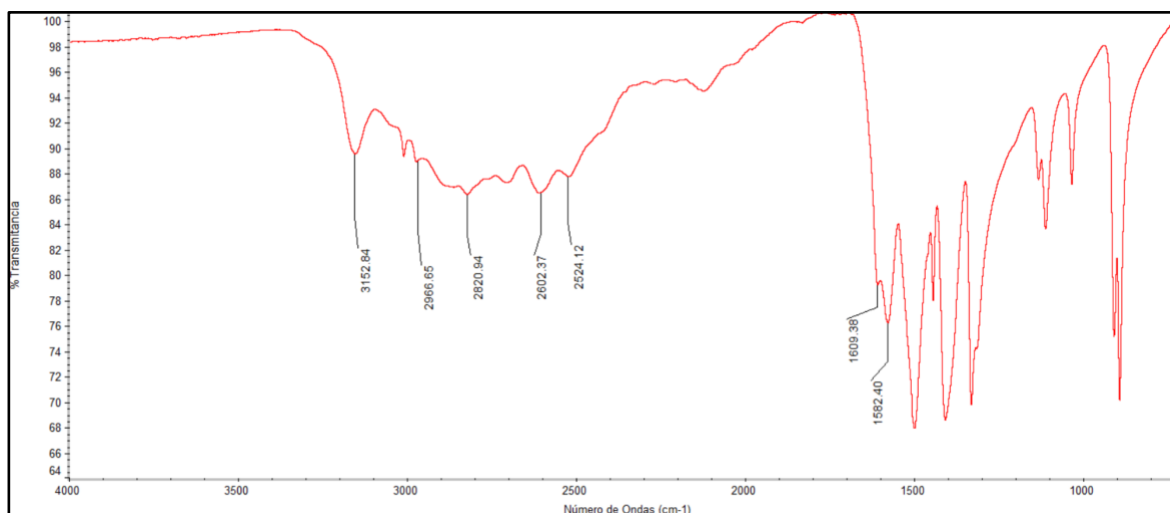


Fig 7. Infrarrojo de aminoácido Glicina (Gly)

En el complejo Gly - Cu, el enlace $N - H$ fue identificado con un par de bandas en $3330.23 - 3262.2 \text{ cm}^{-1}$, las cuales corresponden al estiramiento de la amina primaria; la banda observada en 1608.41 cm^{-1} es correspondiente al enlace $C = O$ del éster ($1750 - 1730 \text{ cm}^{-1}$), también se observaron un par de bandas en $1119.08 - 1153.09 \text{ cm}^{-1}$ las cuales corresponden al enlace $C - O$ del éster ($1300 - 1100 \text{ cm}^{-1}$), por último se confirmó una clara desaparición de la banda del enlace $O - H$ la cual se encontraba presente en el aminoácido libre, esto se atribuye a la coordinación del oxígeno con el cobre.

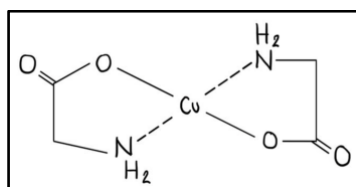


Fig 8. Estructura química del aminoquelato Gly - Cu

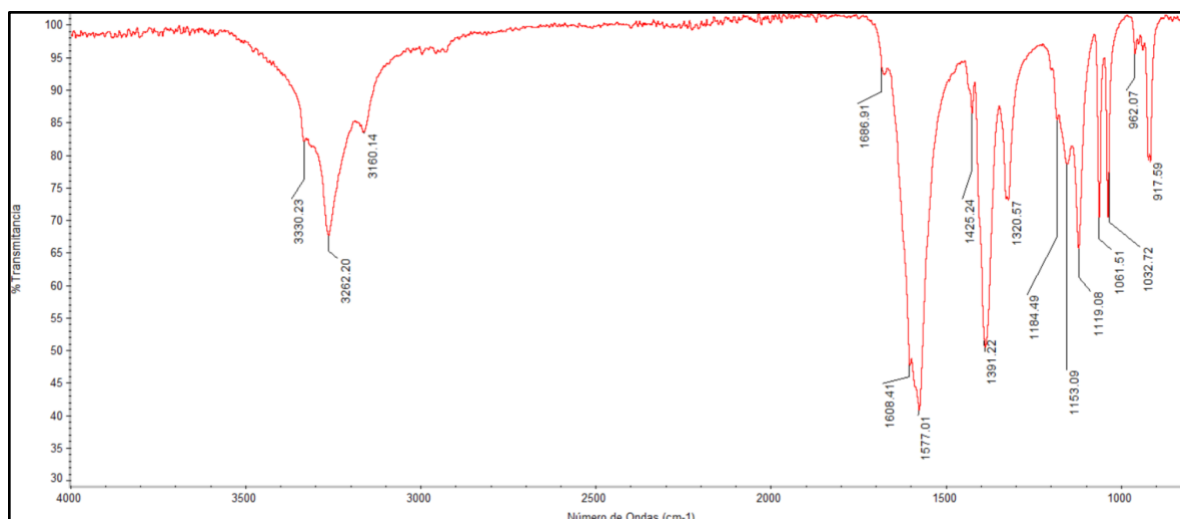


Fig 9. Infrarrojo de aminoquelato Gly - Cu

A continuación, se presentan las señales más características para cada uno de los aminoquelatos obtenidos con cobre, donde se destacan las bandas características de la amina primaria, además de señales para carbonilos.

Compuesto	Señales características en el Infrarrojo (IR)		
	Amina primaria $N - H$	Carbonilo $C = O$	Otras señales características
Gly - Cu	$3330.23 - 3262.2 \text{ cm}^{-1}$	$1577.01 - 1608.41 \text{ cm}^{-1}$	Desaparición de la banda del enlace $O - H$ la cual se encontraba presente en el aminoácido libre.
Asp - Cu	$3160.93 - 3247.28 \text{ cm}^{-1}$	1595.89 cm^{-1}	Banda del enlace $O - H$: $2400 - 3400 \text{ cm}^{-1}$
Glu - Cu	$3239.19 - 3287.78 \text{ cm}^{-1}$	$1582.40 - 1620.14 \text{ cm}^{-1}$	No presenta.
Cys - Cu	$3233.113 - 3307.91 \text{ cm}^{-1}$	1617.18 cm^{-1}	Mercaptano ($S - H$) en: 2537.85 cm^{-1}
Tyr - Cu	3358.27 cm^{-1}	1697.41 cm^{-1}	Enlaces $C = C$ aromáticos: $1506.13 - 1547.06 \text{ cm}^{-1}$
Val - Cu	3330.15 cm^{-1}	1693.05 cm^{-1}	Flexión de CH_3 : 1313.52 cm^{-1} y 1424.38 cm^{-1}

Aminoquelatos de hierro

Los diferentes quelatos de hierro a partir de diferentes aminoácidos fueron obtenidos con rendimientos del 26 al 90 % como puede observarse en la siguiente tabla:

Compuesto	Rendimiento (%)
Asp - Fe	73
Glu - Fe	66
Cys - Fe	65
Tyr - Fe	26
Val - Fe	40
EDTA - Fe	90

Asp: Ácido aspártico; Glu: Ácido glutámico; Cys: Cisteína;
Tyr: Tirosina; Val: Valina; EDTA: Ácido etilendiaminetetraacético; Fe: Hierro

Al igual que los productos obtenidos con cobre, los aminoquelatos con hierro fueron caracterizados mediante la técnica de espectroscopía de infrarrojo.

En el espectro de infrarrojo del aminoácido ácido aspártico (Asp) se observó a los 2955.86 cm^{-1} una de las bandas del enlace $N - H$, la cual corresponde al estiramiento de la amina primaria, una banda en 1684.93 cm^{-1} que corresponde al enlace $C = O$ del ácido carboxílico ($1725 - 1700\text{ cm}^{-1}$) y la banda ancha entre los $2500 - 3000\text{ cm}^{-1}$ que corresponde al enlace $O - H$ del ácido carboxílico ($3400 - 2400\text{ cm}^{-1}$).

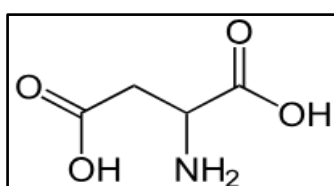


Fig 10. Estructura química del aminoácido Ácido aspártico (Asp)

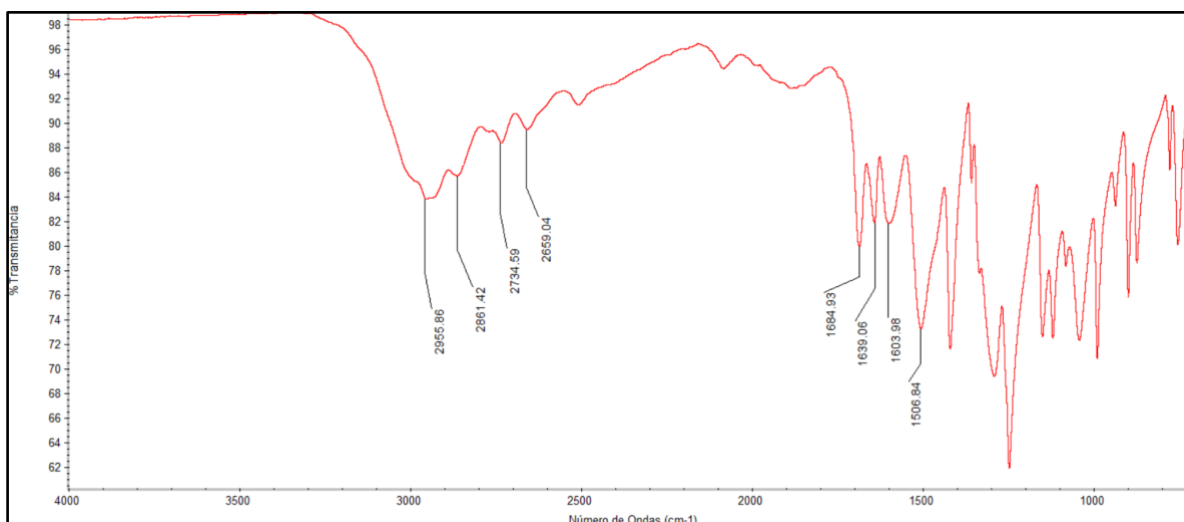


Fig 11. Infrarrojo de aminoácido Ácido aspártico (Asp)

En el infrarrojo del aminoquelato Asp - Fe, el enlace $N-H$ de la amina primaria se presenta en 2955.47 cm^{-1} , y el estiramiento del enlace $N-H$ ($1640 - 1550\text{ cm}^{-1}$) en 1506.40 cm^{-1} , por otra parte, se identificaron unas bandas correspondientes a los carbonilos ($C=O$) del éster y del ácido carboxílico (ambas presentes en la molécula) en $1593.81 - 1688.54\text{ cm}^{-1}$, dado que hay presencia de ácido carboxílico, y la banda ancha correspondiente al enlace $O-H$ del ácido carboxílico ($3400 - 2400\text{ cm}^{-1}$) entre los $2500 - 3000\text{ cm}^{-1}$.

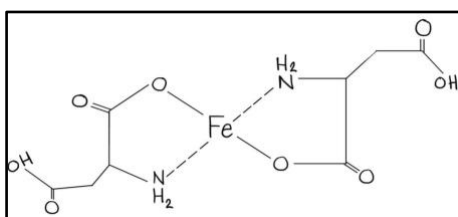


Fig 12. Estructura química del aminoquelato Asp - Fe

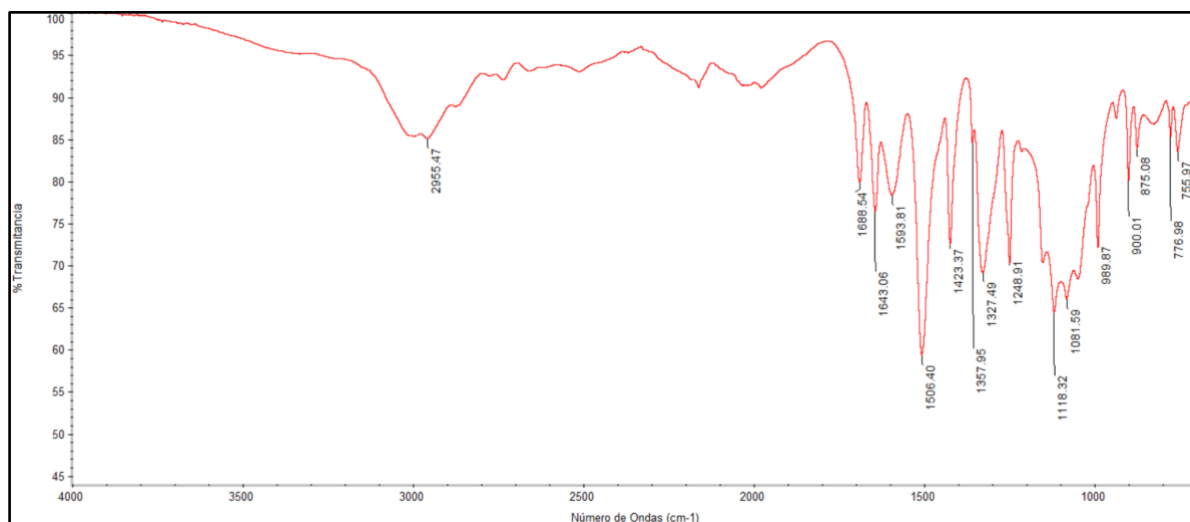


Fig 13. Infrarrojo de aminoquelato Asp - Fe

A continuación, se presentan las señales más características para cada uno de los aminoquelatos obtenidos con hierro:

Compuesto	Señales características en el Infrarrojo (IR)		
	Amina primaria $N - H$	Carbonilos $C = O$	Otras señales características
Asp - Fe	2955.47 cm^{-1} 1506.40 cm^{-1}	1593.81 – 1688.54 cm^{-1}	Banda del enlace $O - H$: 2400 – 3400 cm^{-1}
Glu - Fe	3033.46 cm^{-1}	1638.25 cm^{-1}	Banda del enlace $O - H$: 2400 – 3400 cm^{-1}
Cys - Fe	~ 3000 cm^{-1}	1575.06 – 1620.62 cm^{-1}	Mercaptano ($S - H$) en: ~ 2500 cm^{-1}
Tyr - Fe	3302.52 cm^{-1}	1642.76 cm^{-1}	Banda del enlace $O - H$: 3000 – 3500 cm^{-1}
Val - Fe	3300.58 cm^{-1}	1643.78 cm^{-1}	Banda del enlace $O - H$: 3000 – 3500 cm^{-1}

Cuantificación de hierro en aminoquelatos

Se determinó la cantidad de hierro presente en los compuestos obtenidos. Ya que su disponibilidad como nutriente es fundamental en el desarrollo de cualquier especie vegetal. Es por esta razón que el enfoque de la investigación de esta tesis se centra en la evaluación de fertilizantes férricos en forma de aminoquelados, con la finalidad de seleccionar y evaluar el más adecuado para poder ser aplicado en plántulas de pepino.

Es importante establecer que esta metodología se basa en la cuantificación de hierro soluble en el medio, bajo este principio, la concentración calculada será un parámetro indirecto para determinar el Fe quemado en el aminoácido.

Compuesto	Contenido de Fe ($\mu g/mL$)
Asp - Fe	137.71
Glu - Fe	95.91
Cys - Fe	156.58
Tyr - Fe	224.31
Val - Fe	207.91
EDTA - Fe	19.98

Al verificar el resultado obtenido con el complejo EDTA – Fe, que presentó una mayor cantidad de hierro disuelto en el medio, se confirma que este agente quelante es un compuesto orgánico estable para la quelación de algunos metales, principalmente por la presencia de cuatro grupos carboxilato y dos de tipo amina en su estructura. También se enfatiza en estos resultados, que los complejos formados con los aminoácidos glicina con 95.91 $\mu g/mL$ de hierro cuantificado y 137.71 $\mu g/mL$, para ácido aspártico, fueron los que presentaron mayor capacidad de coordinación con el metal a través de sus cuatro puntos interacción

Evaluación biológica

Contenido de clorofila

La concentración de clorofila evaluada a los 15 días en el desarrollo de estos experimentos fue un elemento importante para evidenciar los síntomas más representativos de la clorosis férrica en el control negativo, lo cual es congruente por la ausencia de una fuente de hierro, mientras que en los tratamientos de EDTA - Fe y Asp - Fe, como era de esperarse, no mostraron esta sintomatología característica (hojas amarillas).

Los complejos de EDTA y ácido aspártico mostraron un comportamiento muy similar en el desarrollo de todo el experimento biológico, solo con pequeñas diferencias en los días 0, 1, 6, 9, 10 y 11 (Ver Fig. 14), sin embargo, las diferencias en los días 0 y 1 son descartadas ya que estas variaciones pueden deberse al estrés por trasplante de las plántulas al sistema de raíz flotante. Dejando de lado los días que los tratamientos presentan ligeras diferencias, ambos mantuvieron un comportamiento similar en cuanto a los niveles de clorofila en las plántulas de pepino.

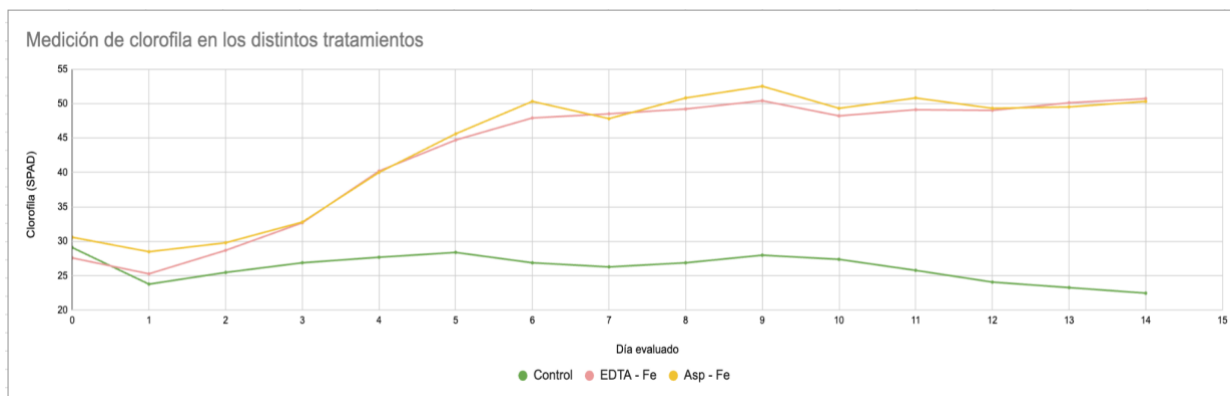


Fig. 14. Gráfica que demuestra el nivel de clorofila en unidades SPAD en los tratamientos aplicados durante los 15 días de aplicación

Día	Tratamiento		
	Sin Fe (SPAD)	EDTA - Fe (SPAD)	Asp - Fe (SPAD)
0	29.1	27.6	30.6
1	23.8	25.3	28.5
2	25.5	28.7	29.8
3	26.9	32.7	32.8
4	27.7	40.2	40.0
5	28.4	44.7	45.6
6	26.9	47.9	50.3
7	26.3	48.5	47.8
8	26.9	49.2	50.8
9	28.0	50.4	52.5
10	27.4	48.2	49.3
11	25.8	49.1	50.8
12	24.1	49.0	49.3
13	23.3	50.1	49.5
14	22.5	50.7	50.3

Fig. 15. Tabla de los niveles de clorofila en unidades SPAD en los tratamientos aplicados durante los 15 días de prueba

En las figuras 16, 17, 18 y 19, se muestra de manera visual el cambio en el contenido de clorofila durante el inicio, mitad y final del experimento.



a)

b)

c)

Fig. 16. Plántulas de pepino en el **día 0**: a) control sin hierro; b) complejo EDTA-Fe; c) complejo Asp-Fe



a)

b)

c)

Fig. 17. Plántulas de pepino en el **día 6**: a) control sin hierro; b) complejo EDTA-Fe; c) complejo Asp-Fe



a)

b)

c)

Fig. 18. Plántulas de pepino en el **día 11**: a) control sin hierro; b) complejo EDTA-Fe; c) complejo Asp-Fe

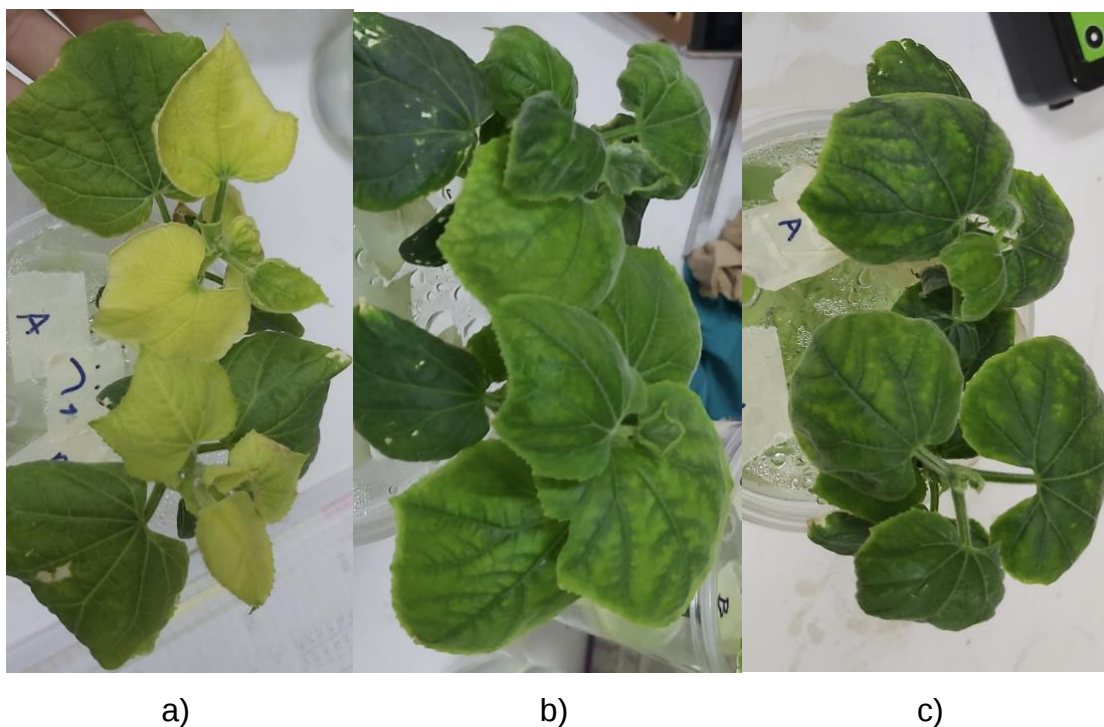


Fig. 19. Plántulas de pepino en el **día 14**: a) control sin hierro; b) complejo EDTA-Fe; c) complejo Asp-Fe

Evaluación de parámetros físicos

En la evaluación de los parámetros morfológicos, se identificó poca variación en el número de hojas en las plantas expuestas a la aplicación de los tratamientos. Estos resultados pueden observarse en la Figura 20.

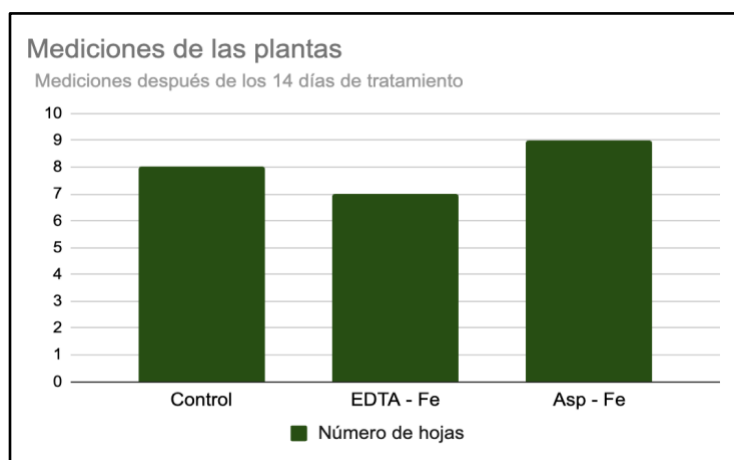


Fig. 20. Gráfica comparativa de la cantidad de hojas presentes en los tratamientos aplicados.

Tampoco se tiene cambios significativos en los otros parámetros, excepto en el de longitud de raíz, donde las plántulas tratadas con el compuesto de EDTA - Fe presenta la mayor longitud, como se muestra en la Figura 21.

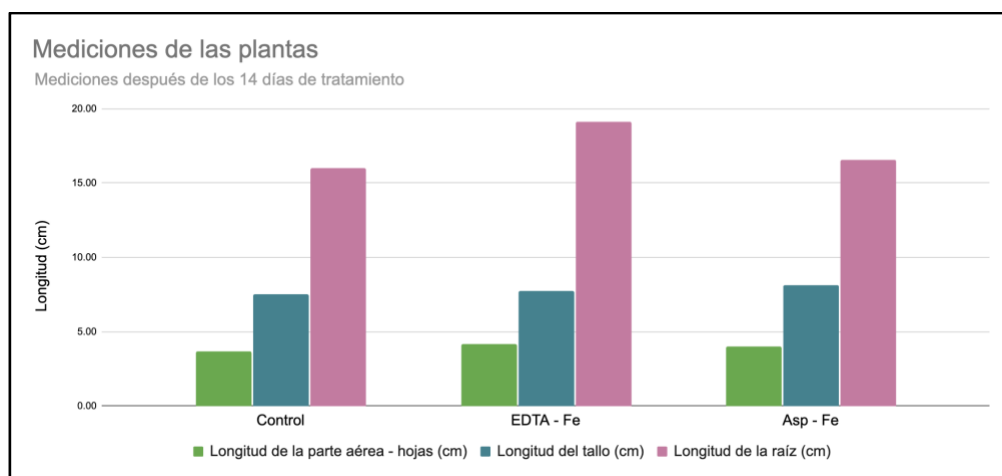


Fig. 21. Tabla de las longitudes de las plántulas de pepino analizadas en los tratamientos aplicados después de 14 días.

Por otra parte, en las tres condiciones evaluadas, el sistema radicular fue el más desarrollado, ya que mostro un mayor crecimiento (mayor longitud) con respecto al tallo y hojas, lo cual se observa en la Figura 22.

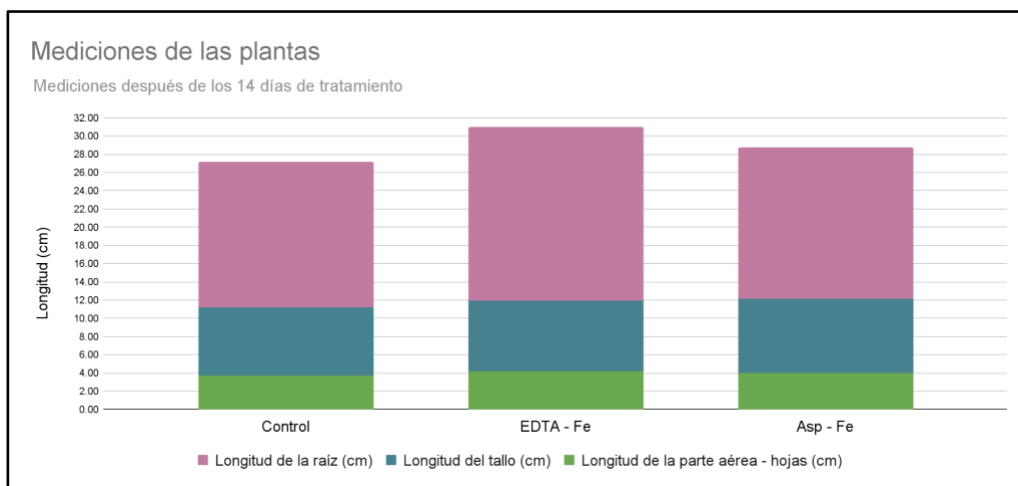


Fig. 22. Tabla de la proporción que representa la raíz, el tallo y la parte aérea (hojas) en las plántulas de pepino analizadas después de 14 días.

Además, las plántulas seleccionadas para el tratamiento de control negativo (sin hierro), presentaron al inicio del experimento una mayor longitud de raíz y tallo, sin embargo, después de los 14 días estos parámetros se vieron disminuidos, ahora con menor longitud, lo cual permite inferir que el crecimiento de estas se vio afectado por no recibir el nutriente.

En otros de los resultados obtenidos de las mediciones físicas de las plantas, se observó un ligero aumento en el diámetro de la raíz del control sin hierro, sin embargo, esto no quiere decir que se encontraran en mejor condición, ya que mostraban una gran fragilidad (Figura 23); en los otros dos tratamientos las raíces de ambos presentaron un menor diámetro, pero al tacto eran más resistentes y presentaban una mayor cantidad de ramificaciones y de vellosidades en las mismas, de tal manera que las raíces tratadas con EDTA - Fe o Asp - Fe eran superiores en cuanto a calidad de la misma.

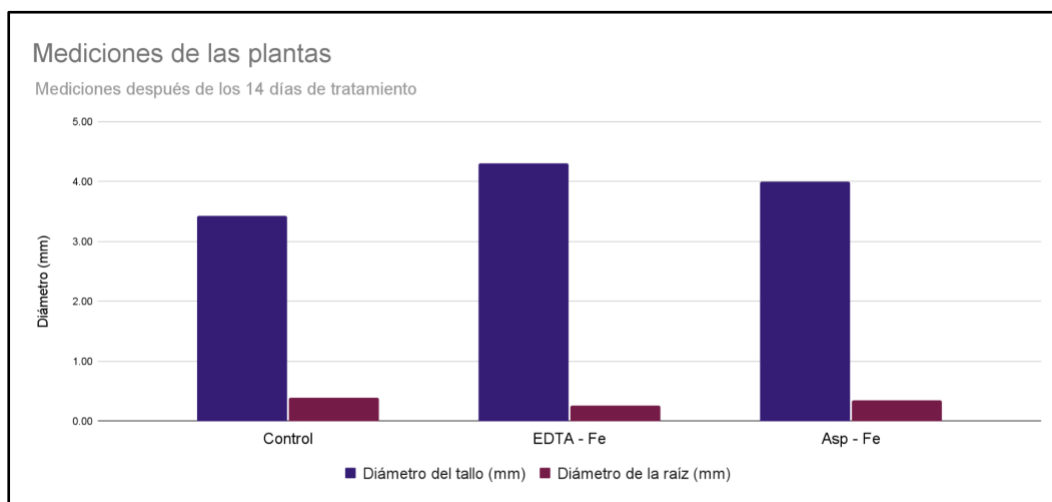


Fig. 23. Tabla de las longitudes de las plántulas de pepino analizadas en los tratamientos aplicados, después de 14 días.

Con relación a las hojas, su fragilidad y coloración fueron también aspectos visibles ya que presentaban una coloración más amarillenta y frágil en el control, lo cual puede ser apreciado a través del paso de los días. (Ver figuras 16,17, 18 y 19. Del

mismo modo, en los tratamientos de EDTA - Fe y Asp – Fe, las hojas se apreciaron con un color verde más intenso, así como mayor resistencia al tacto y suavidad.

De manera general se resumen los resultados obtenidos de los parámetros físicos en la figura 24.

TRATAMIENTO	HOJAS	TALLO			RAÍZ	
		Longitud de la parte aérea - hojas (cm)	Longitud del tallo (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Longitud de la raíz (cm)	Diámetro de la raíz (mm)
Control sin hierro	8	3.70	7.52	3.42	15.98	0.40
EDTA - Fe	7	4.18	7.73	4.31	19.13	0.26
Asp - Fe	9	3.98	8.15	4.00	16.58	0.35

Fig. 24. Tabla de los parámetros físicos de las plántulas de pepino después de 14 días de evaluación con los tratamientos aplicados.



Fig. 25. Esquema de medición de la planta de los cuales se presentan los resultados de parámetros físicos.

Conclusiones

1. Utilizando los aminoácidos glicina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, tirosina y valina, se lograron sintetizar sus respectivos aminoquelatos con rendimientos del 71 al 100% para los de cobre y del 26 al 90% para lo de hierro.
2. Todos los aminoquelatos y sus aminoácidos precursores, fueron caracterizados mediante espectroscopía de infrarrojo.
3. La cuantificación de hierro en los quelatos estableció que el complejo con EDTA tiene una mayor retención de este elemento, ya que se encontró una menor concentración en disolución.
4. Los quelatos de glicina y ácido aspártico con hierro fueron los compuestos de mejor retención quelante.
5. En la evaluación biológica en sistema de raíz flotante, el tratamiento sin hierro mostro síntomas claros de clorosis férrica, a diferencia de los de EDTA-Fe y Asp-Fe, donde el contenido de clorofila fue aumentando en su desarrollo.
6. El aminoquelato Asp-Fe fue muy similar al complejo EDTA-Fe, en relación con la concentración determinada de clorofila.
7. En la evaluación de los parámetros físicos, no se observaron diferencias significativas en los tratamientos de EDTA-Fe y Asp-Fe, sin embargo, el control sin hierro si mostró una menor calidad de las plántulas.

Bibliografía

Abd-Elmoneim, M. M., El-Ajaily, M. M., Maihub, A. A., & El-Hassiy, Z. A. (2008). Investigation and biological activity of some nonpolar iron amino acid chelates. *Pak J Nutr*, 7(5), 673-678.

https://www.researchgate.net/profile/Marei-El-Ajaily/publication/46033050_Investigation_and_Biological_Activity_of_Some_Nonpolar_Iron_Amino_Acid_Chelates/links/554945210cf205bce7ac0584/Investigation-and-Biological-Activity-of-Some-Nonpolar-Iron-Amino-Acid-Chelates.pdf

Areche, F., Aguilar, S. V., More López, J. M., Castañeda Chirre, E. T., Sumarriva-Bustinza, L. A., Pacovilca-Alejo, O. V., ... & Salas-Contreras, W. H. (2023). Desenvolvimentos recentes e históricos em fertilizantes quelatados como fontes nutricionais de plantas, eficiência de uso e métodos de aplicação. *Brazilian Journal of Biology*, 83, e271055.

<https://www.scielo.br/bjb/a/MKSy7ccTpJ8BB66RgG7fMjM/?format=pdf&lang=en>

Arizmendi-Galicia, N., Rivera-Ortiz, P., Cruz-Salazar, F. D. L., Castro-Meza, B. I., & Garza-Requena, F. D. L. (2011). Lixiviación de hierro quelatado en suelos calcáreos. *Terra Latinoamericana*, 29(3), 231-237.

<https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v29n3/2395-8030-tl-29-03-00231.pdf>

Borrill, P., Connorton, J. M., Balk, J., Miller, A. J., Sanders, D., & Uauy, C. (2014). Biofortification of wheat grain with iron and zinc: integrating novel genomic resources and knowledge from model crops. *Frontiers in plant science*, 5, 53.

<https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2014.00053/full>

Bula, A. O. (2020). Importancia de la agricultura en el desarrollo socio-económico.

<https://rehip.unr.edu.ar/server/api/core/bitstreams/d9042436-7d26-4d43-a85f-c865302ad83c/content>

Cabello Bermúdez, M. (2013). Evaluación del biocarbón como enmienda correctora de la clorosis férrica.

<https://core.ac.uk/download/pdf/60900749.pdf>

Cañasveras Sánchez, J. C. (2014). Nuevas técnicas de predicción y corrección de la clorosis férrica en suelos calcáreos: reflectancia difusa, sales de hierro y cubiertas con gramíneas.

<https://helvia.uco.es/handle/10396/11960>

Carvalho, S. M., & Vasconcelos, M. W. (2013). Producing more with less: Strategies and novel technologies for plant-based food biofortification. *Food Research International*, 54(1), 961-971.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996912005443>

Catalina, A., Matei, P. M., González, R., González, M. R., & Martín, P. (2014). Relaciones entre niveles de asimilación de nutrientes y calidad de la uva en viñedos cv. Tempranillos afectados por clorosis férrica. *Acta Hort*, 16(1), 96-101.

<https://www.sech.info/ACTAS/Acta%20n%C2%BA%2061.%20IV%20Jornadas%20del%20Grupo%20de%20Fertilizaci%C3%B3n/Sesi%C3%B3n%202.%20Cultivos%20le%C3%B1osos,%20extensivos%20y%20otros%20temas/Relaciones%20entre%20niveles%20de%20asimilaci%C3%B3n%20de%20nutrientes%20y%20calidad%20de%20la%20uva%20en%20vi%C3%B1edos%20cv%20Tempranillo%20afectados%20por%20clorosis%20f%C3%A9rrica.pdf>

Catalina Tomás, Á. (2015). Utilización de medidas de fluorescencia de la clorofila para monitorizar el estado nutricional y estimar el potencial enológico en viñedos afectados por clorosis férrica. <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/16657/Tesis925-160405.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Cevallos Carvajal, C., Cedeño García, G., Arteaga Alcívar, F., & Velásquez Cedeño, S. (2022). Efectividad de momentos y fuentes de aplicaciones foliares de calcio, boro y zinc en el rendimiento y rentabilidad del cacao nacional. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 38(3), 304-317. <https://www.scielo.cl/pdf/chjaasc/v38n3/0719-3890-chjaasc-38-03-304.pdf>

Cunuhay Pilatásig, J. A., & Choloquina Choloquina, M. T. (2011). *Evaluación de la adaptación del pasto Maralfalfa (Pennisétum sp), en dos pisos altitudinales con tres distancias de siembras en el campus Juan Lunardi y Naste del cantón Paute* (Bachelor's thesis). <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/1088/15/UPS-CT002046.pdf>

Espíritu Bretado, A. D. (2022). Síntesis, caracterización y actividad citotóxica de complejos de coordinación de cobre (II) con ligando de tipo alfa-aminoácido. <https://repositorioinstitucional.uabc.mx/server/api/core/bitstreams/ba781301-e020-4026-827f-153af2976ebe/content>

Félix, J. W., Sánchez-Chávez, E., Tosquy-Valle, O., Preciado-Rangel, P., Márquez-Quiroz, C., & Cruz-Lázaro, E. D. L. (2024). Biofortificación de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Variedad Verdín con Quelato y Sulfato de Hierro. *Terra Latinoamericana*, 42. <https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v42/2395-8030-tl-42-e1831.pdf>

Fernández, V., Sotiropoulos, T., & Brown, P. (2015). Fertilización foliar. Principios científicos y prácticas de campo. Asociación Internacional de la Industria de Fertilizantes (IFA). París, Francia, 49-82. <https://fertilizar.org.ar/wp-content/uploads/2021/01/2013-no-27-Fertilizacio%CC%81n-foliar-principios-cienti%CC%81ficos-y-experiencias-de-campo.pdf>

Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, A. H., Hadadzadeh, H., & Jafari, M. (2012). Synthesis of iron-amino acid chelates and evaluation of their efficacy as iron source and growth stimulator for tomato in nutrient solution culture. *Journal of plant growth regulation*, 31, 498-508. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00344-012-9259-7>

Hothem, S. D., Marley, K. A., & Larson, R. A. (2003). Photochemistry in Hoagland's nutrient solution. *Journal of Plant Nutrition*, 26(4), 845-854. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1081/pln-120018569>

Huertas, R., Karpinska, B., Ngala, S., Mkandawire, B., Maling'a, J., Wajenkeche, E., ... & Foyer, C. H. (2023). Biofortification of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with iron and zinc: Achievements and challenges. *Food and Energy Security*, 12(2), e406. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/fes3.406>

Jawahar, D., Murali, S., D JAYASUNDARA, S. H. A. R. M. I. L. A., & Sivakumar, K. (2021). Synthesis and characterization of iron chelates using organic and amino acids as a chelating agents and evaluation of their efficiency in improving the growth, yield and quality of blackgram: Synthesis and evaluation of iron chelates. *Journal of AgriSearch*, 8(4), 325-330. <https://journal.jsure.org.in/index.php/jas/article/view/940>

Juárez Sanz, M., Cerdán, M., & Sanchez Sanchez, A. (2007). Hierro en el sistema suelo-planta. *Química del Sistema Suelo Planta*. <https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/1845/1/HIERRO.pdf>

López-Padrón, I., Martínez-González, L., Pérez-Domínguez, G., Reyes-Guerrero, Y., Núñez-Vázquez, M., & Cabrera-Rodríguez, J. A. (2020). Las algas y sus usos en la agricultura. Una visión actualizada. *Cultivos Tropicales*, 41(2).
<http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v41n2/1819-4087-ctr-41-02-e10.pdf>

Mamani de Marchese, A., & Filippone, M. P. (2018). Bioinsumos: componentes claves de una agricultura sostenible. *Revista agronómica del noroeste argentino*, 38(1), 9-21.
<https://www.scielo.org.ar/pdf/ranar/v38n1/v38n1a01.pdf>

Martínez-Cuenca, M. R. (2012). Clorosis férrica: Caracterización del sistema de absorción de Fe en un patrón de cítricos.
<https://riunet.upv.es/handle/10251/16200#>

Martínez-Cuenca, M. R., Quinones, A., Martínez-Alcántara, B., & Legaz, F. (2017). Estudio de la absorción estacional del hierro en cítricos, mediante la técnica de dilución isotópica. *Levante Agrícola: Revista internacional de cítricos*, (436), 127-132.
https://redivia.gva.es/bitstream/handle/20.500.11939/5882/2017_Mart%C3%adnez-Cuenca_Estudio.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Martínez-Gutiérrez, A., Zamudio-González, B., Tadeo-Robledo, M., Espinosa-Calderón, A., Cardoso-Galvão, J. C., & Vázquez-Carrillo, M. G. (2022). Rendimiento de híbridos de maíz en respuesta a la fertilización foliar con bioestimulantes. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13(2), 289-301.
<https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v13n2/2007-0934-remexca-13-02-289.pdf>

Mendoza, D. A. B. (1999). Absorción y asimilación de hierro en las plantas. *México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro*, 1-18.
https://www.researchgate.net/profile/Adalberto-Benavides-Mendoza/publication/242120755_ABSORCION_Y_ASIMILACION_DE_HIERRO_EN_LAS_PLANTAS/links/00b7d51da305c97dec000000/ABSORCION-Y-ASIMILACION-DE-HIERRO-EN-LAS-PLANTAS.pdf

Michel Gómez, L. (2016). Evaluación de técnicas de manejo sostenible para corregir el déficit de hierro en arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) "emerald" e implicancias en variables vegetativas, reproductivas y fisiológicas asociadas.
<https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/150884/Evaluacion-de-tecnicas-de-manejo-sostenible-para-corregir-el-deficit-de-hierro-en-arandano-%28Vaccinium-Corymbosum-l%29-emerald-e-im.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Morán Mariscal, D. J. (2019). "Evaluación de dos métodos de siembra, interaccionados con quelatos a base de microelementos, sobre el rendimiento del cultivo de arroz bajo condiciones de secano" (Bachelor's thesis, Babahoyo: UTB, 2019).
<http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/6134/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGROP-000055.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Montes-Rojas, C. O. N. S. U. E. L. O., & Anaya-Flórez, M. D. S. (2019). Efecto de la fertilización con abono orgánico (ALOFA) en plantas de café (coffea arábica). *Scientia et technica*, 24(2), 340-348.
<https://www.redalyc.org/journal/849/84961237021/84961237021.pdf>

Puente-Ramírez, J. V., Rivera-Ortiz, P., Silva-Espinosa, J. H., & Andrade-Limas, E. (2022). Quelato EDDHA para corregir la deficiencia de hierro en árboles de limón italiano (*Citrus limon* (L.) Osbeck). *Terra Latinoamericana*, 40.
<https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v40/2395-8030-tl-40-e926.pdf>

Rahmouni, N. T., el Houda Bensiradj, N., Megatli, S. A., Djebbar, S., & Baitich, O. B. (2019). New mixed amino acids complexes of iron (III) and zinc (II) with isonitrosoacetophenone: Synthesis,

spectral characterization, DFT study and anticancer activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 213, 235-248.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386142519300514>

Restrepo Betancur, L. F., Góngora Espinoza, M. T., & López Marín, B. E. (2020). Biofortificación de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con cianocobalamina y micronutrientes aminoquelados (Zn, Fe). *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 24(3), 247-255.

<https://scielo.isciii.es/pdf/renhyd/v24n3/2174-5145-renhyd-24-03-247.pdf>

Rodríguez de León, E. (2014). Corrección de la clorosis férrica en árboles de manzano (*Malus pumila* Mill).

<http://www.repositorio.uaaan.mx:8080/bitstream/handle/123456789/687/T20246%20RODRIGUEZ%20DE%20LEON%2c%20EMMANUEL%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Salas, R. (2002). Herramientas de diagnóstico para definir recomendaciones de fertilización foliar. *Fertilización foliar: principios y aplicaciones*, 1, 7-18.

https://www.nutricaoeplantas.agr.br/site/downloads/unesp_jaboticabal/Memoria_CursoFertilizacionFoliar.pdf#page=11

Sánchez-Alcalá, I., del Campillo, M. C., Barrón, V., & Torrent, J. Corrección de la clorosis férrica en olivar con sales de hierro en suspensión.

Santos, A. T., & Manjarrez, D. A. (1999). Fertilización foliar, un respaldo importante en el rendimiento de los cultivos. *Terra Latinoamericana*, 17(3), 247-255.

<https://www.redalyc.org/pdf/573/57317309.pdf>

Siracusa, P. (2017). Aprendizaje de morfología y anatomía vegetal en el primer año de Universidad.

<http://rdi.uncoma.edu.ar/bitstream/handle/uncomaid/165/tesis%20de%20maestria%20Paula%20Siracusa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Souri, M. K. (2016). Aminochelete fertilizers: the new approach to the old problem; a review. *Open Agriculture*, 1(1), 118-123.

<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/opag-2016-0016/html>

Souri, M. K., Sooraki, F. Y., & Moghadamyar, M. (2017). Growth and quality of cucumber, tomato, and green bean under foliar and soil applications of an aminochelete fertilizer. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 58, 530-536.

<https://link.springer.com/article/10.1007/s13580-017-0349-0>

Torres Ramírez, M. A. (2012). *La fisiología de la absorción y conducción de agua y minerales a través del xilema en plantas vasculares y el desarrollo de la inteligencia visual y espacial como propuesta para su aprendizaje* (Doctoral dissertation).

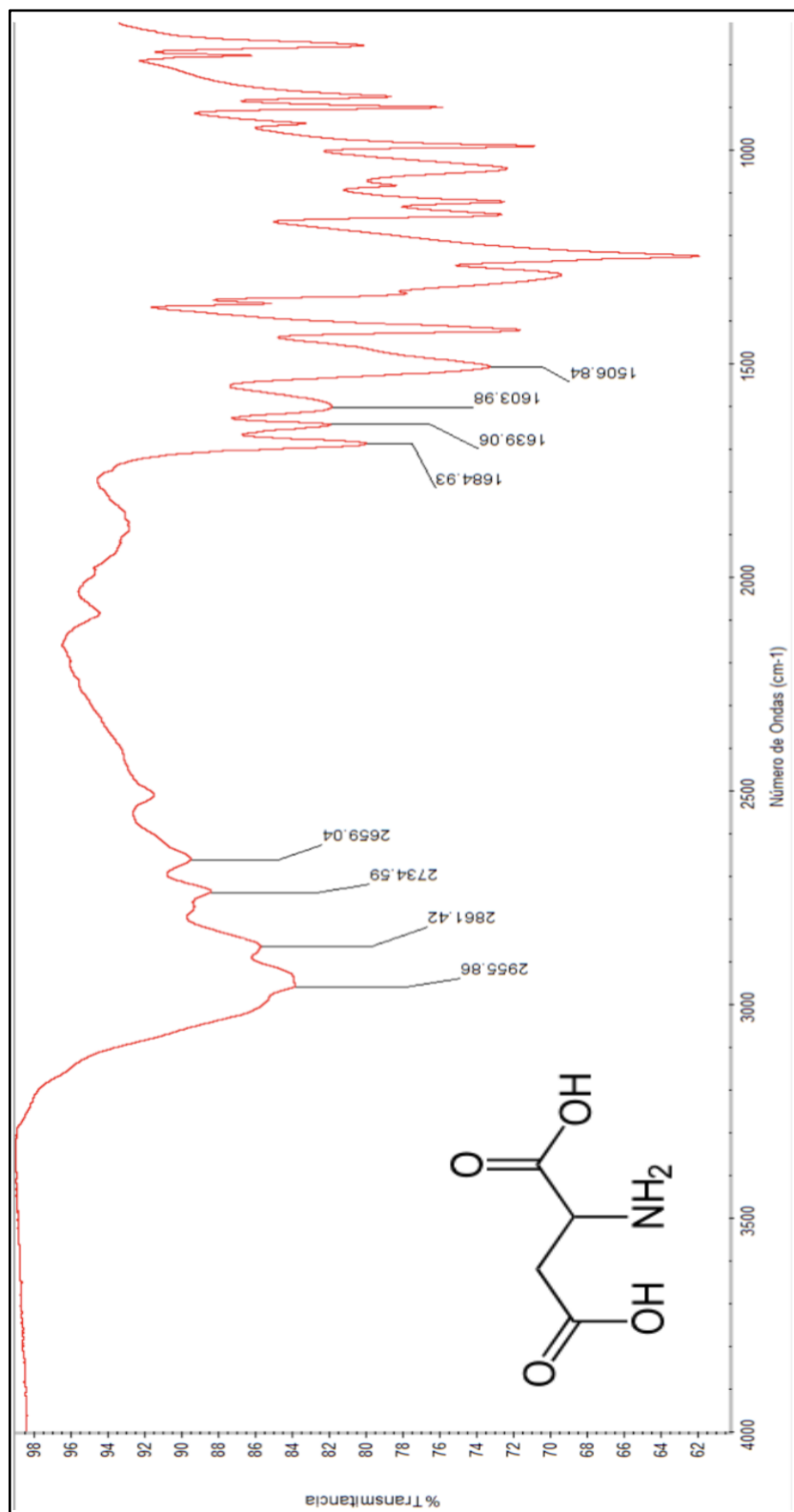
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/9910/marcoantoniotorresramirez.2012.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Valdez, S. I. (2019). Complejos de micronutrientes: caracterización y factores que influyen en su eficacia como fertilizantes (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Madrid).

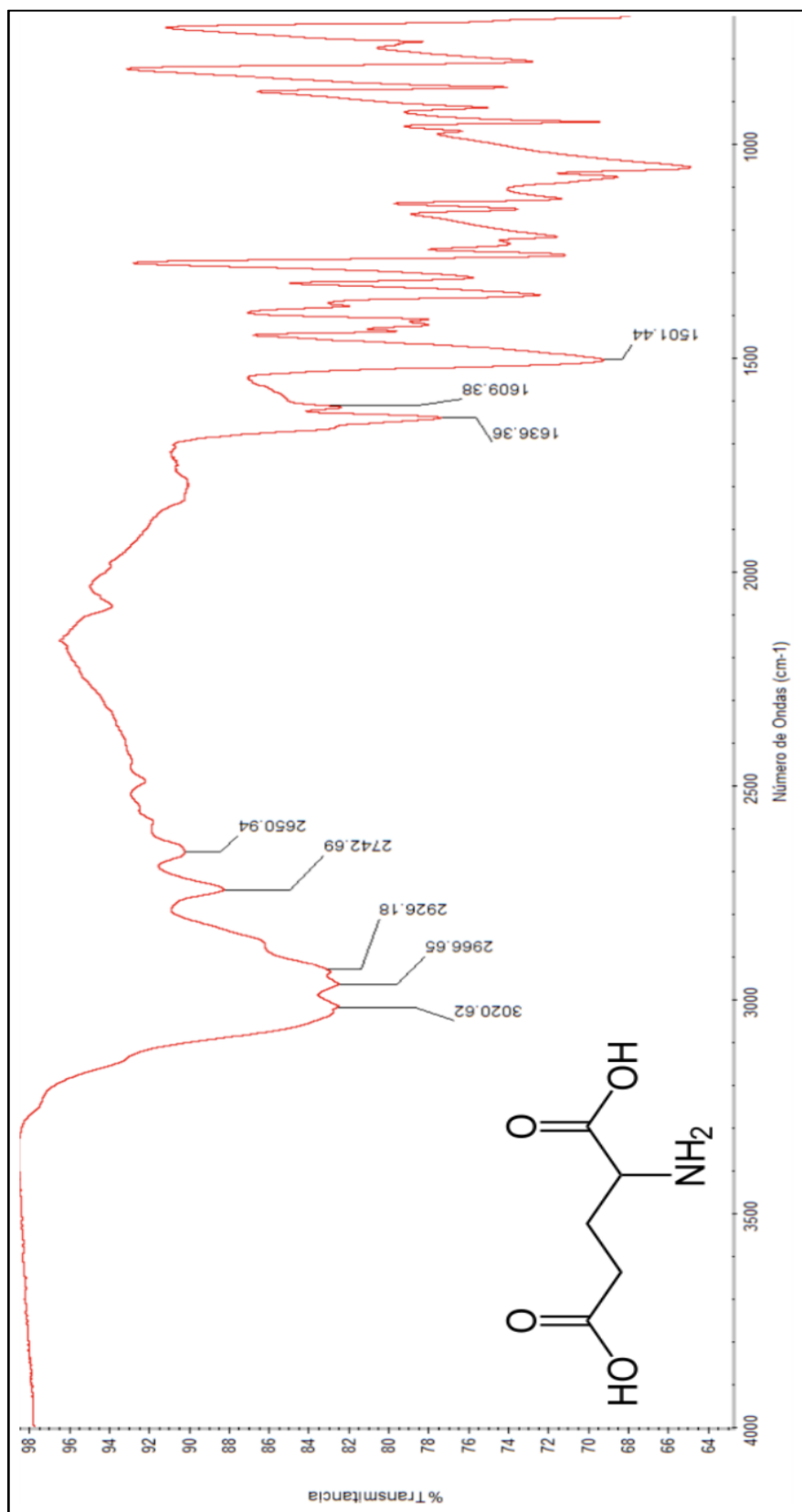
https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/690381/islas_valdez_samira.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Valdivia Vargas, S. R., & Cabeza Pérez, R. A. (2020). *Efecto de la fertilización nitrogenada y aplicación de carbonato de calcio sobre la toxicidad por hierro y manganeso en plantas de lentejas (*Lens culinaris* Medik)* (Doctoral dissertation, Universidad de Talca (Chile). Escuela de Agronomía.).

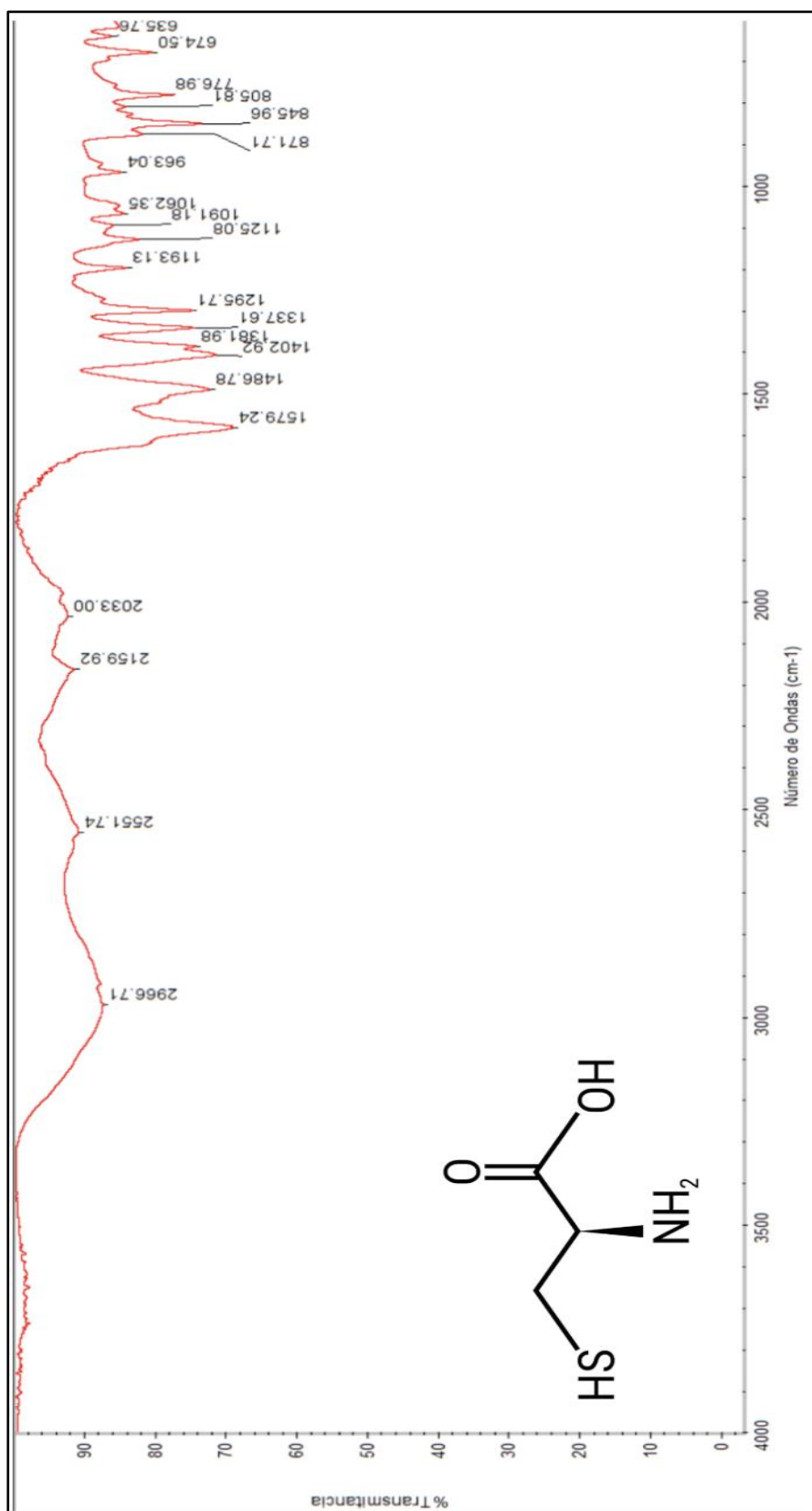
<http://dspace.otalca.cl/bitstream/1950/12495/5/2020A000219.pdf>



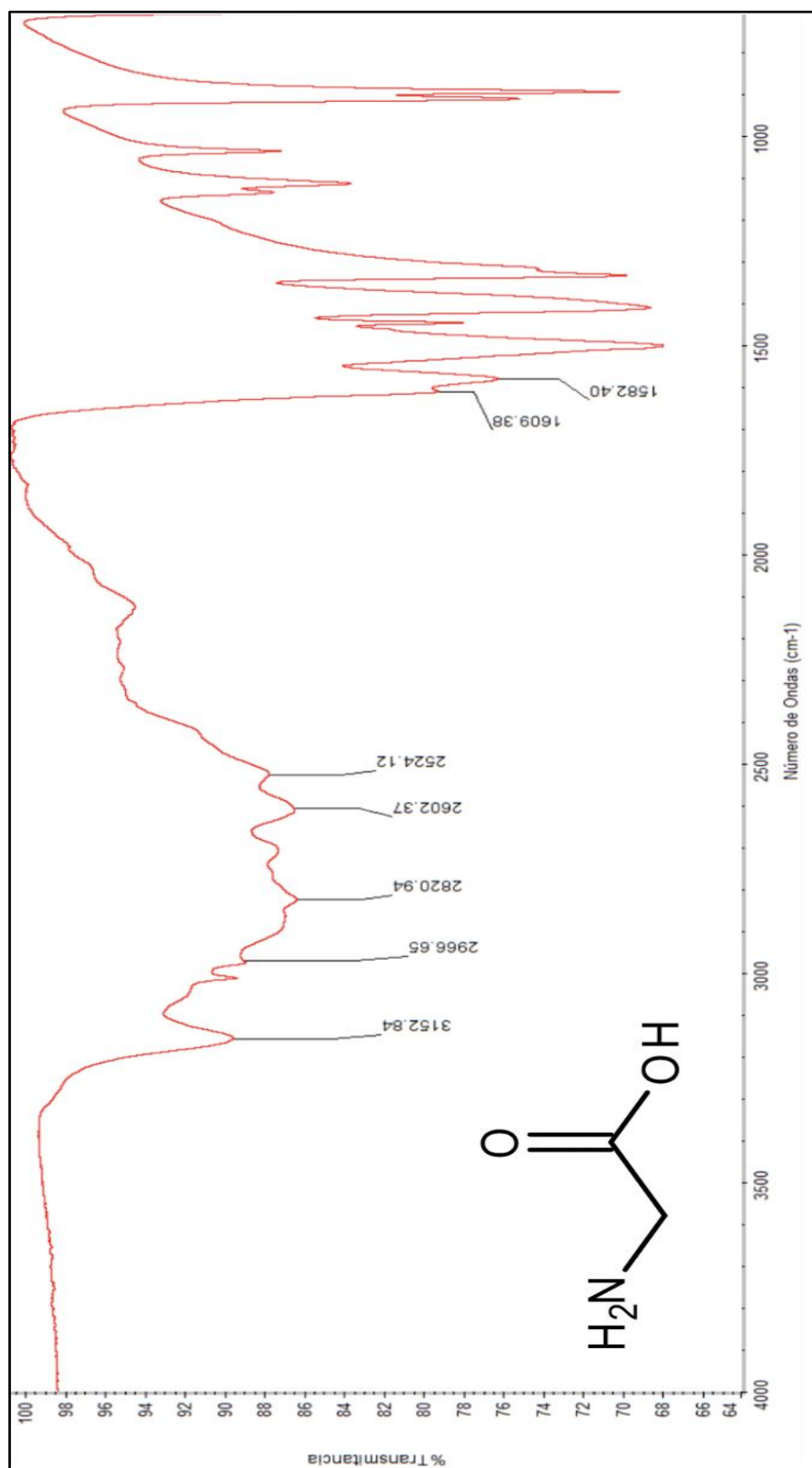
ANEXO 1. Infrarrojo de aminoácido Ácido Aspártico (Asp)



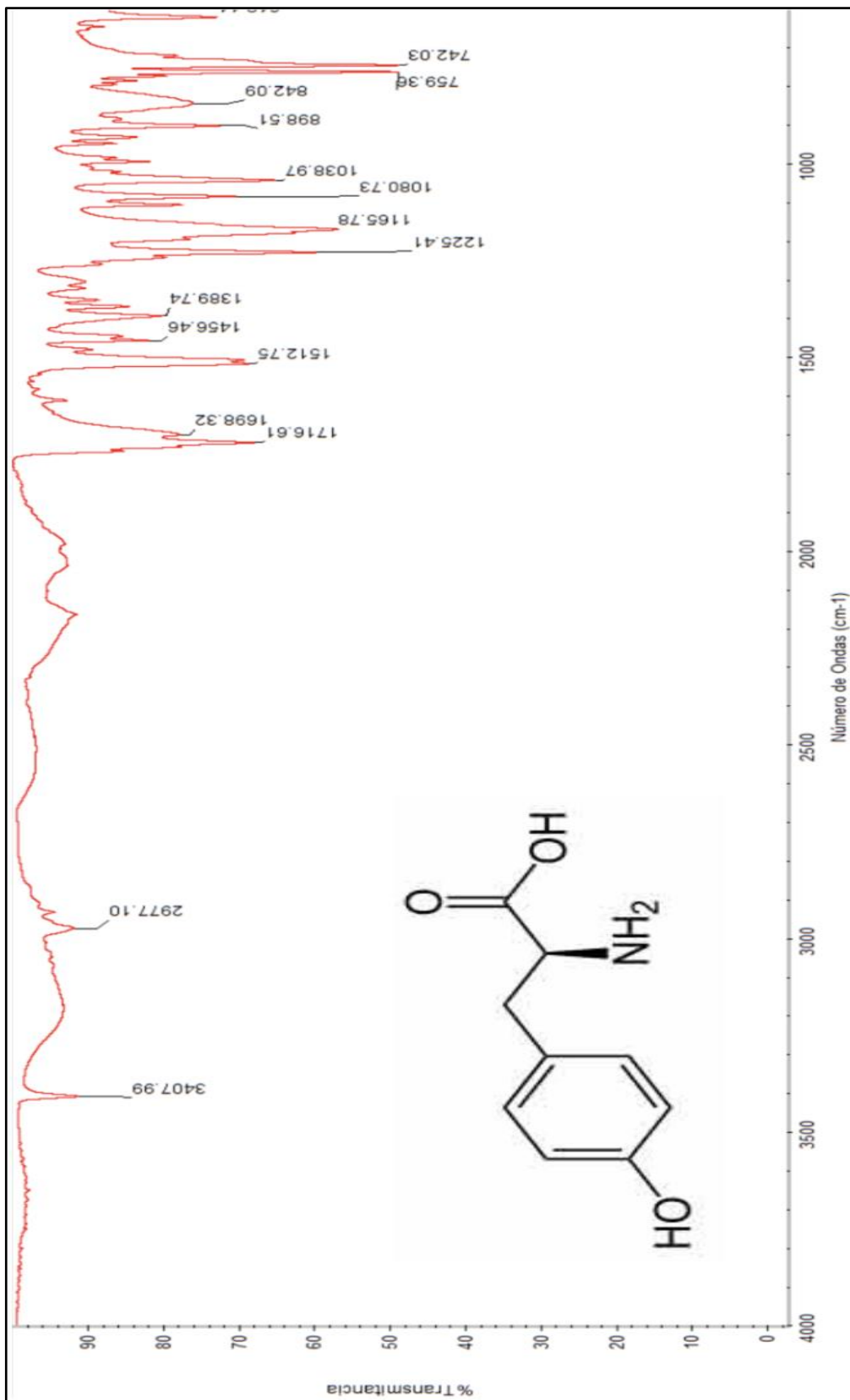
ANEXO 2. Infrarrojo de aminoácido Ácido Glutámico (Glu)



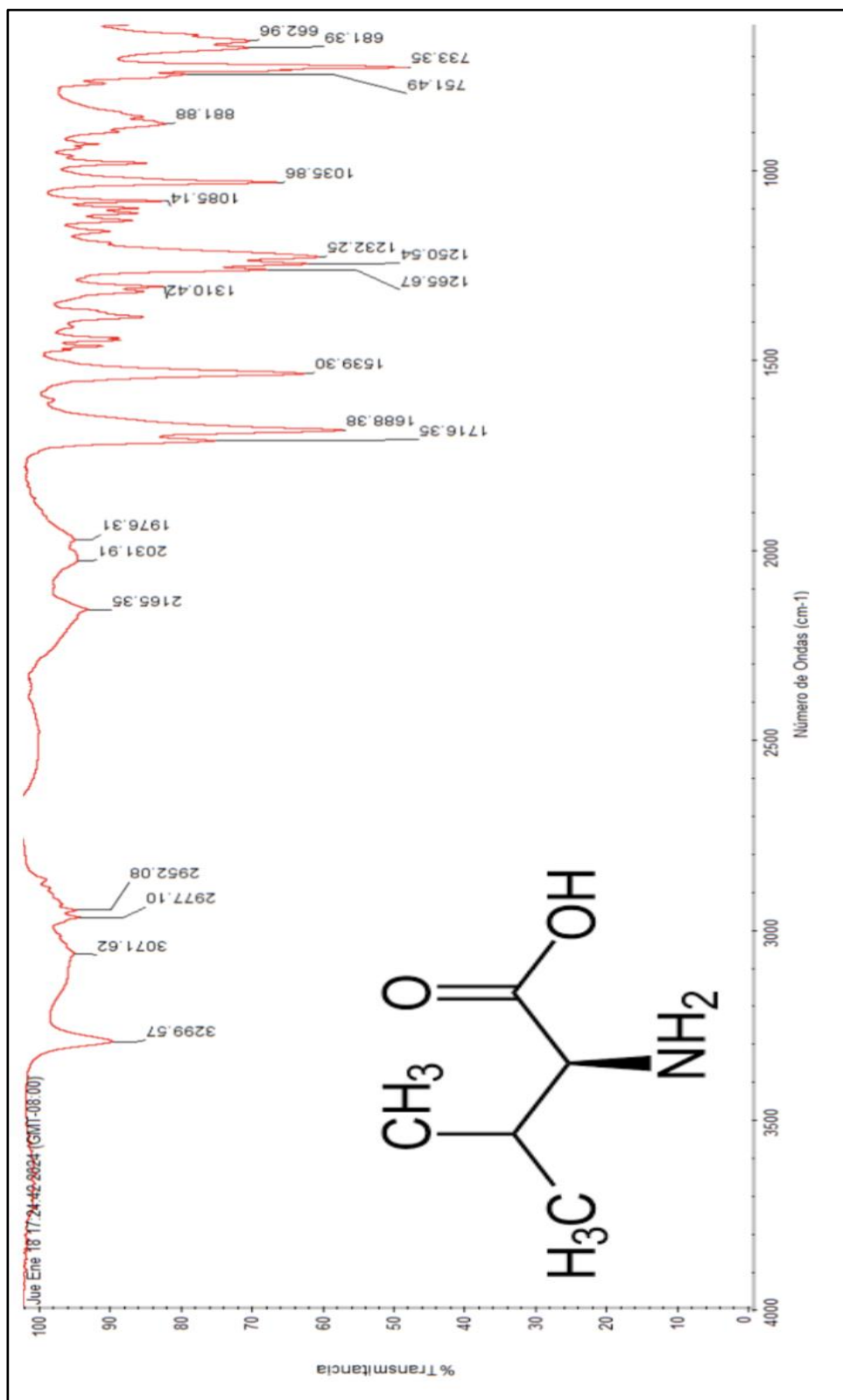
ANEXO 3. Infrarrojo de aminoácido Cisteína (Cys)



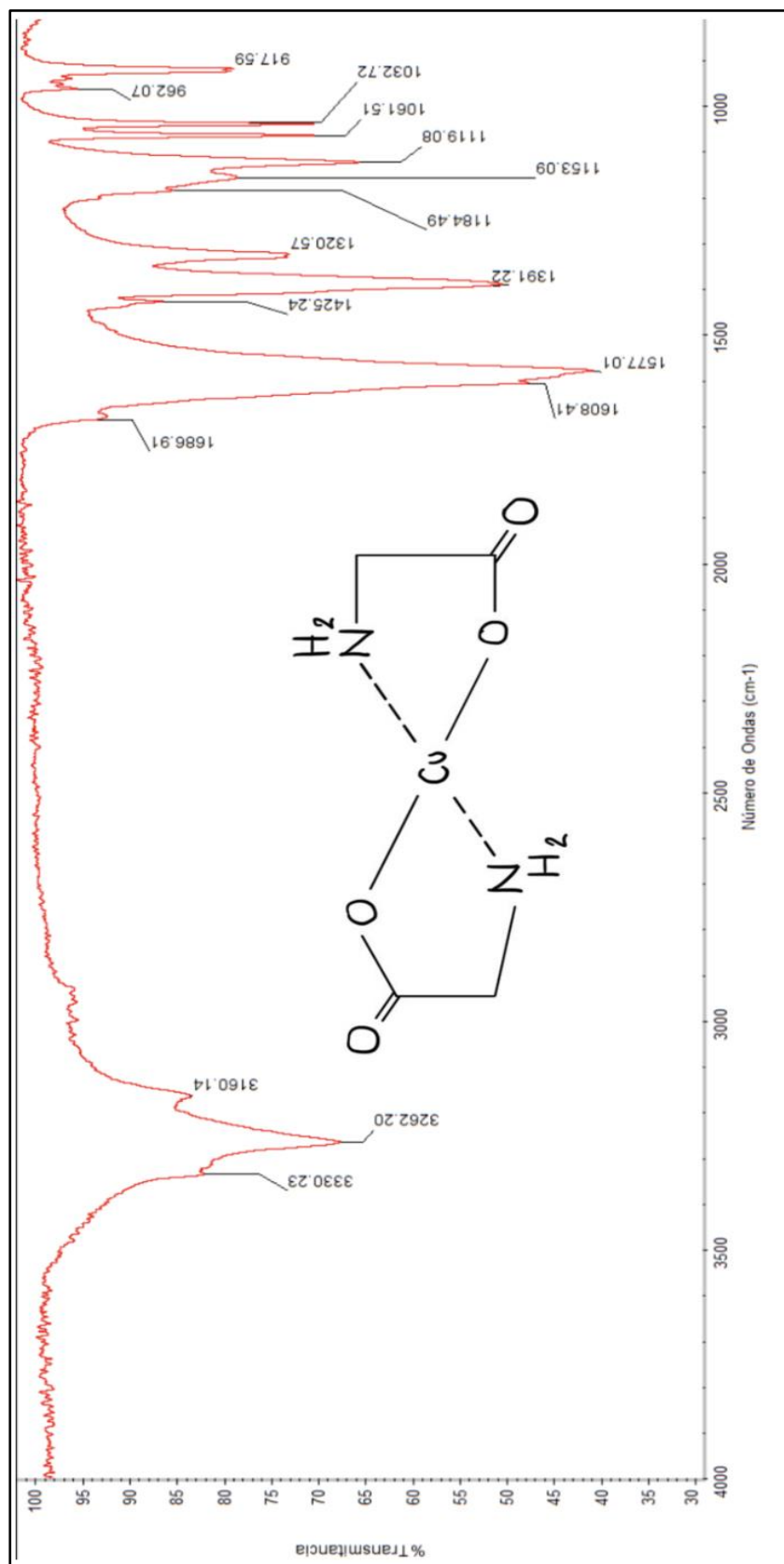
ANEXO 4. Infrarrojo de aminoácido Glicina (Gly)



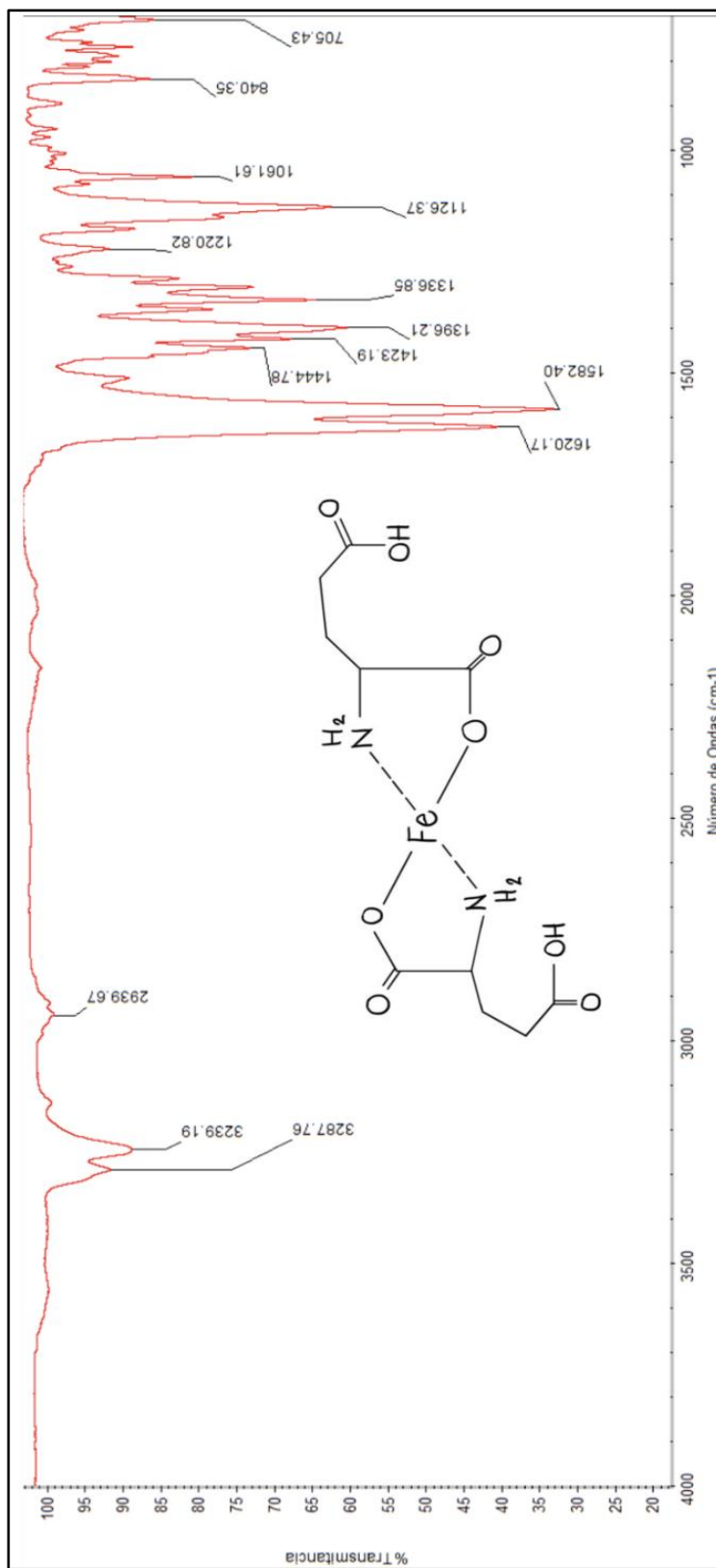
ANEXO 5. Infrarrojo de aminoácido Tirosina (Tyr)



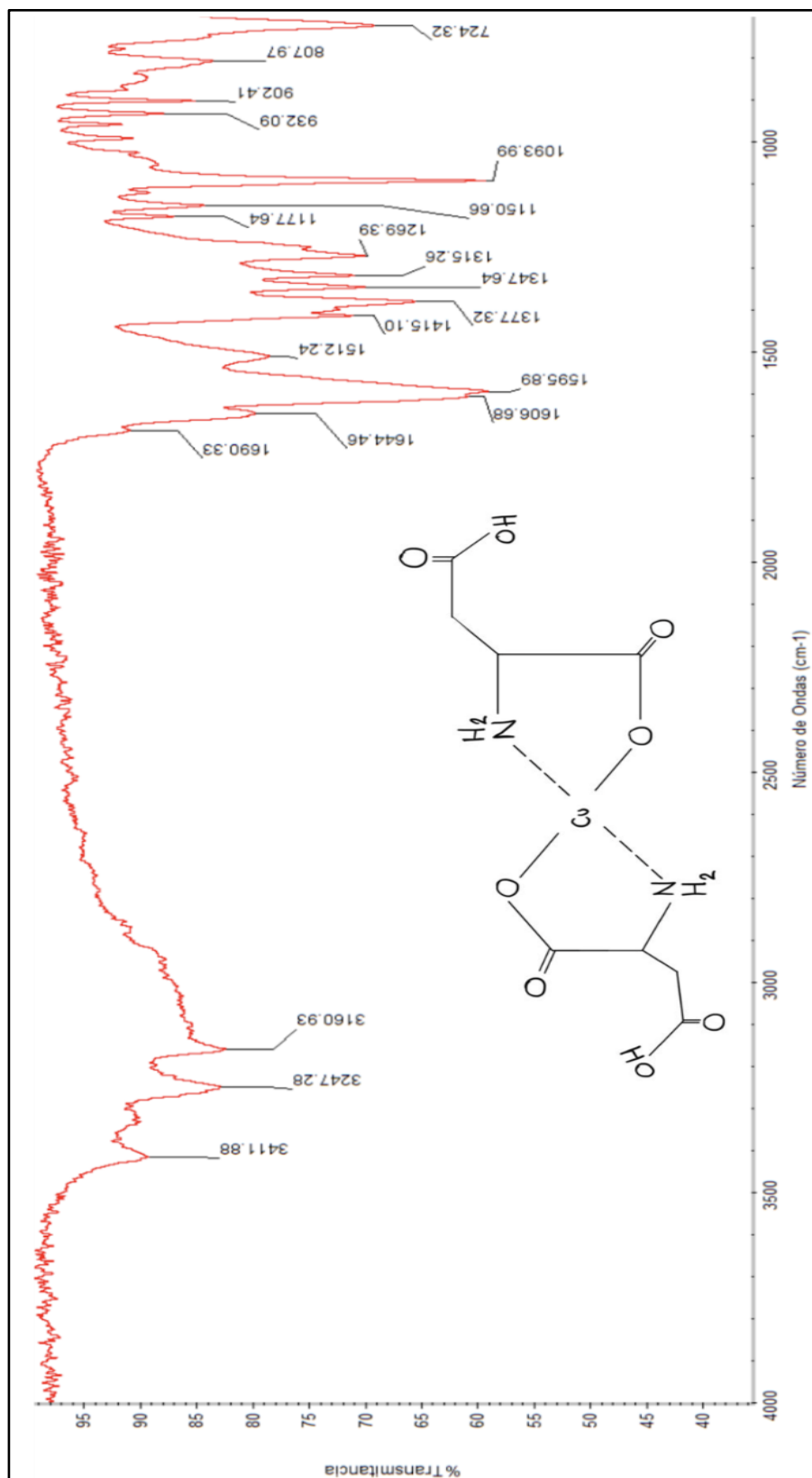
ANEXO 6. Infrarrojo de aminoácido Valina (Val)



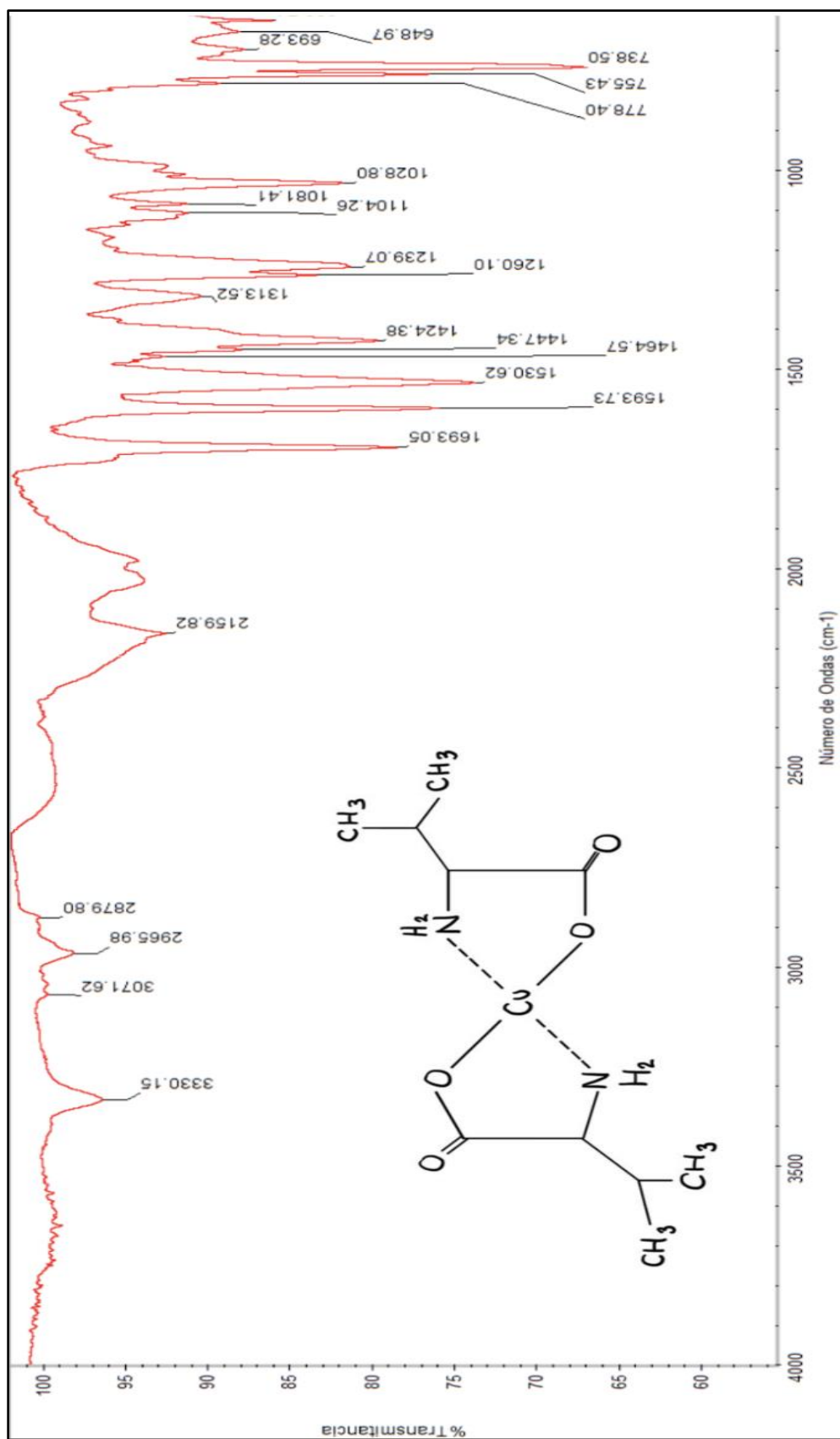
ANEXO 7. Infrarrojo de aminoquelato Gly - Cu



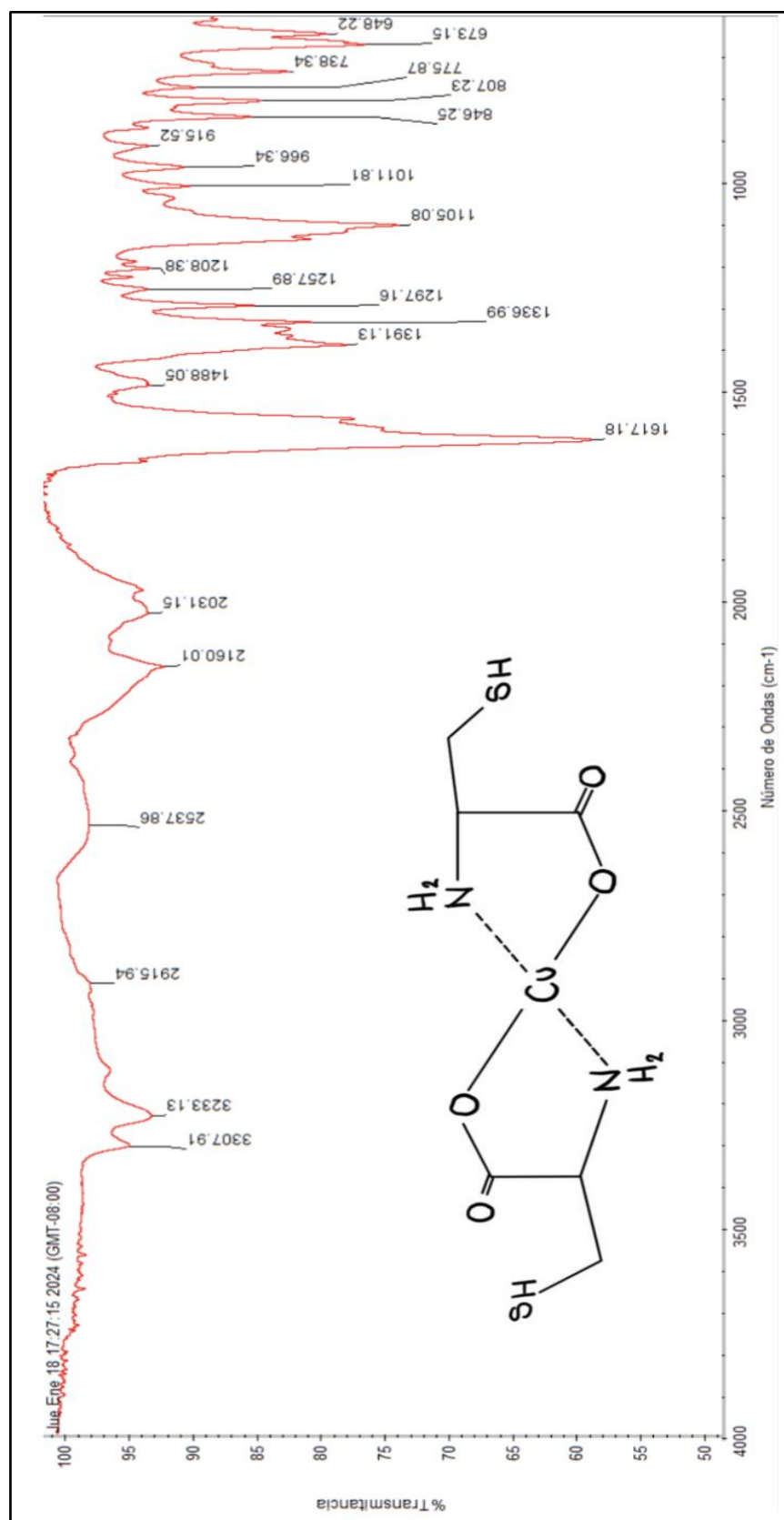
ANEXO 8. Infrarrojo de aminoquelato Glu - Cu



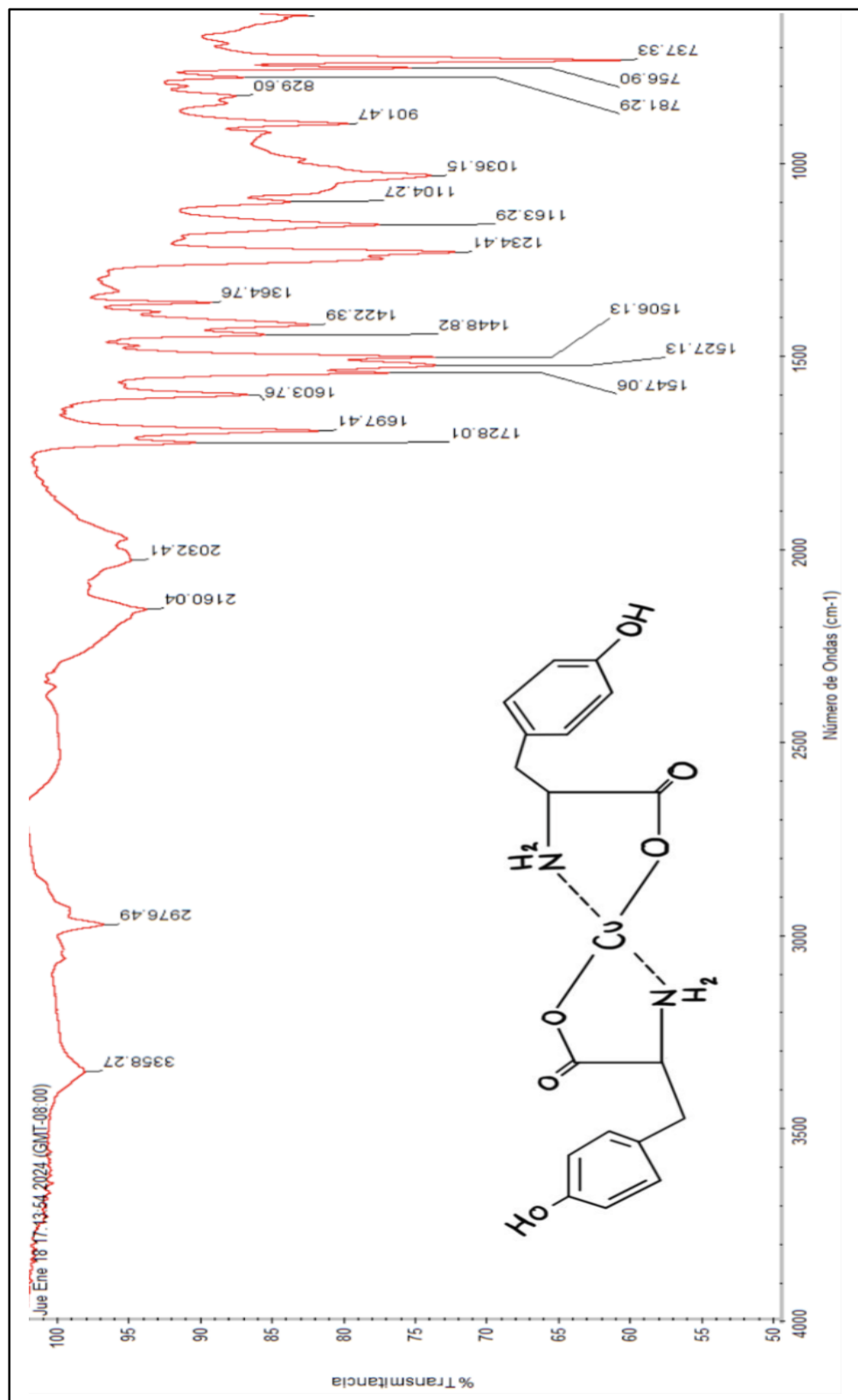
ANEXO 9. Infrarrojo de aminoquelato Asp - Cu



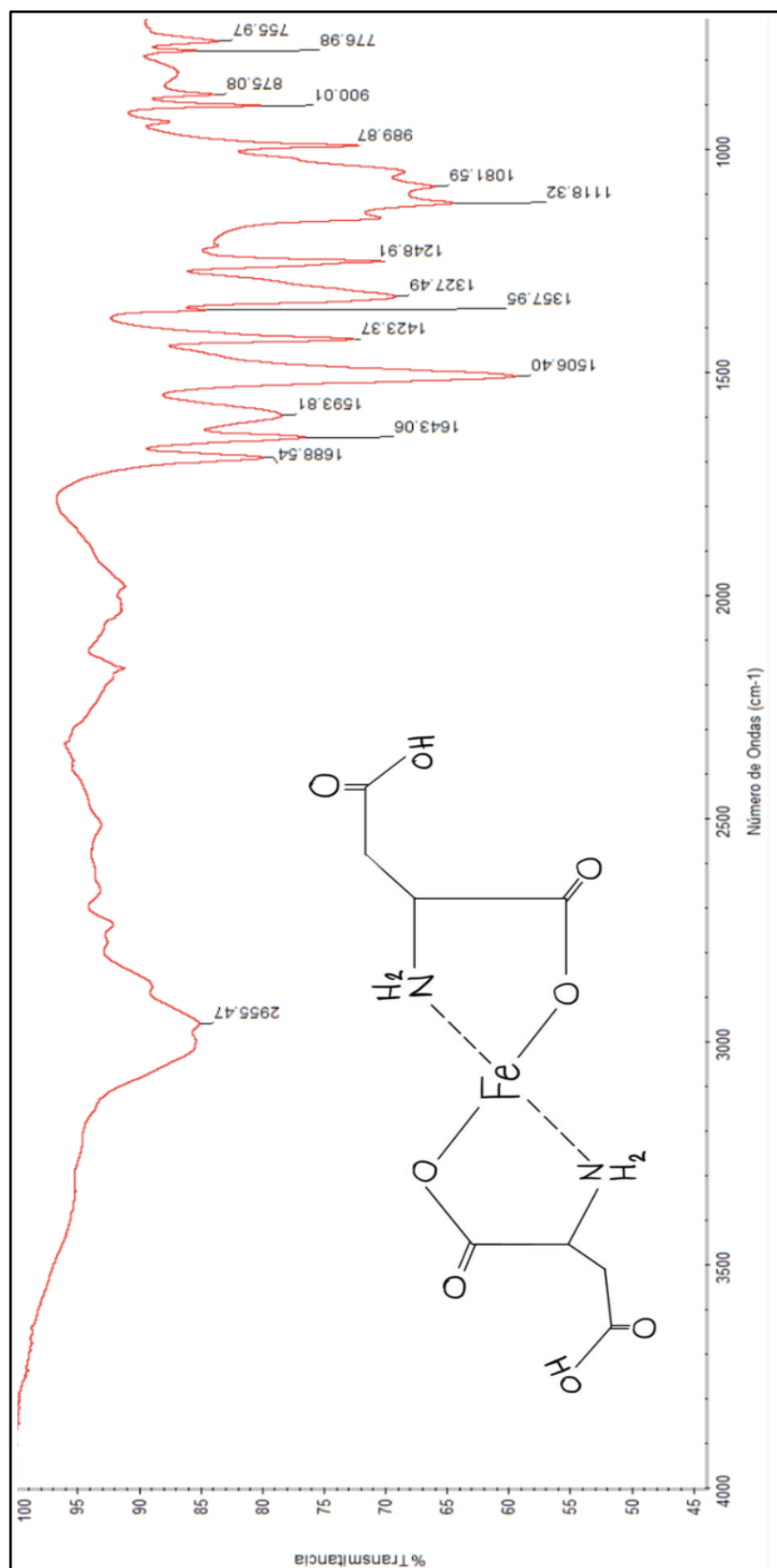
ANEXO 10. Infrarrojo de aminoquelato Val - Cu



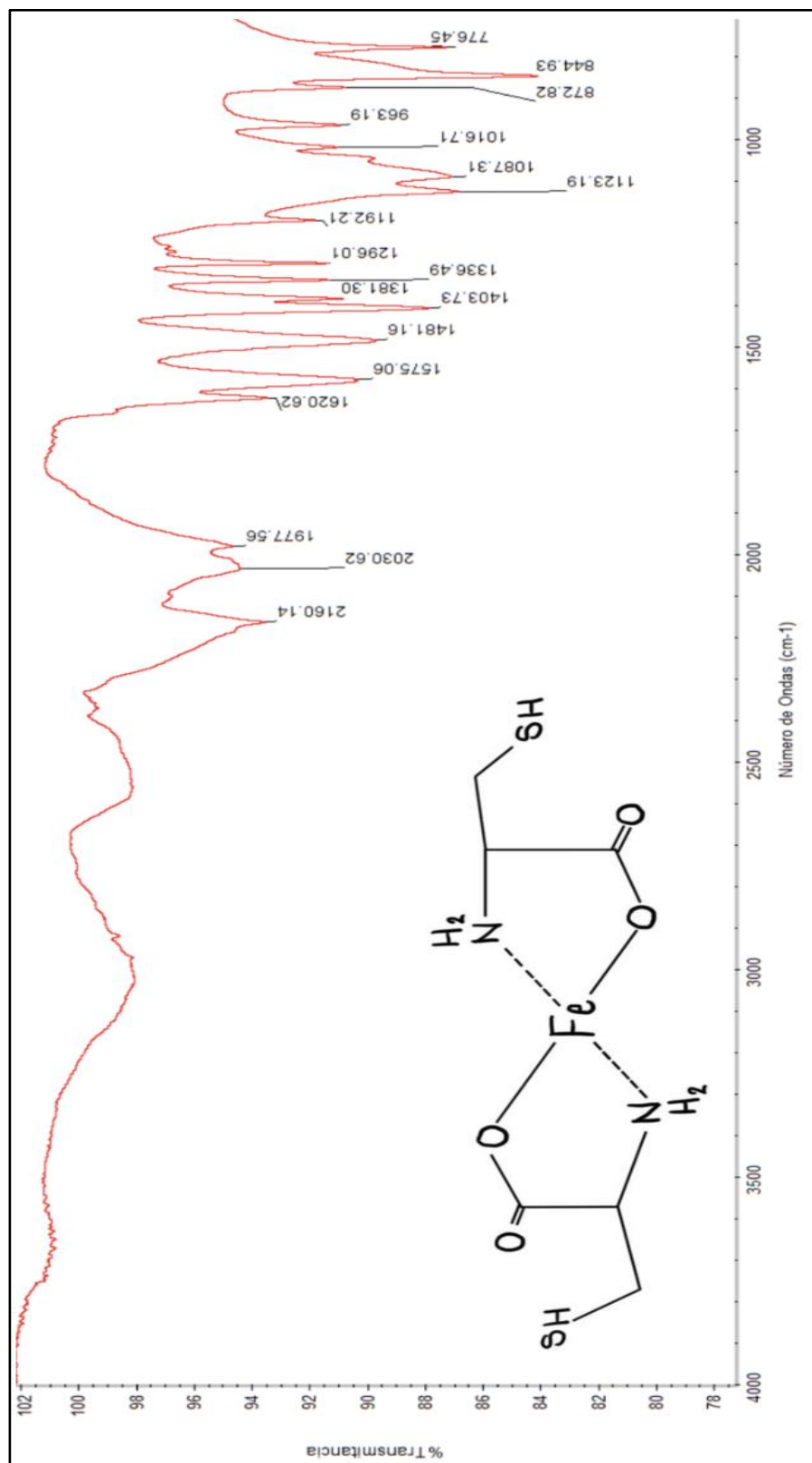
ANEXO 11. Infrarrojo de aminoquelato Cys - Cu



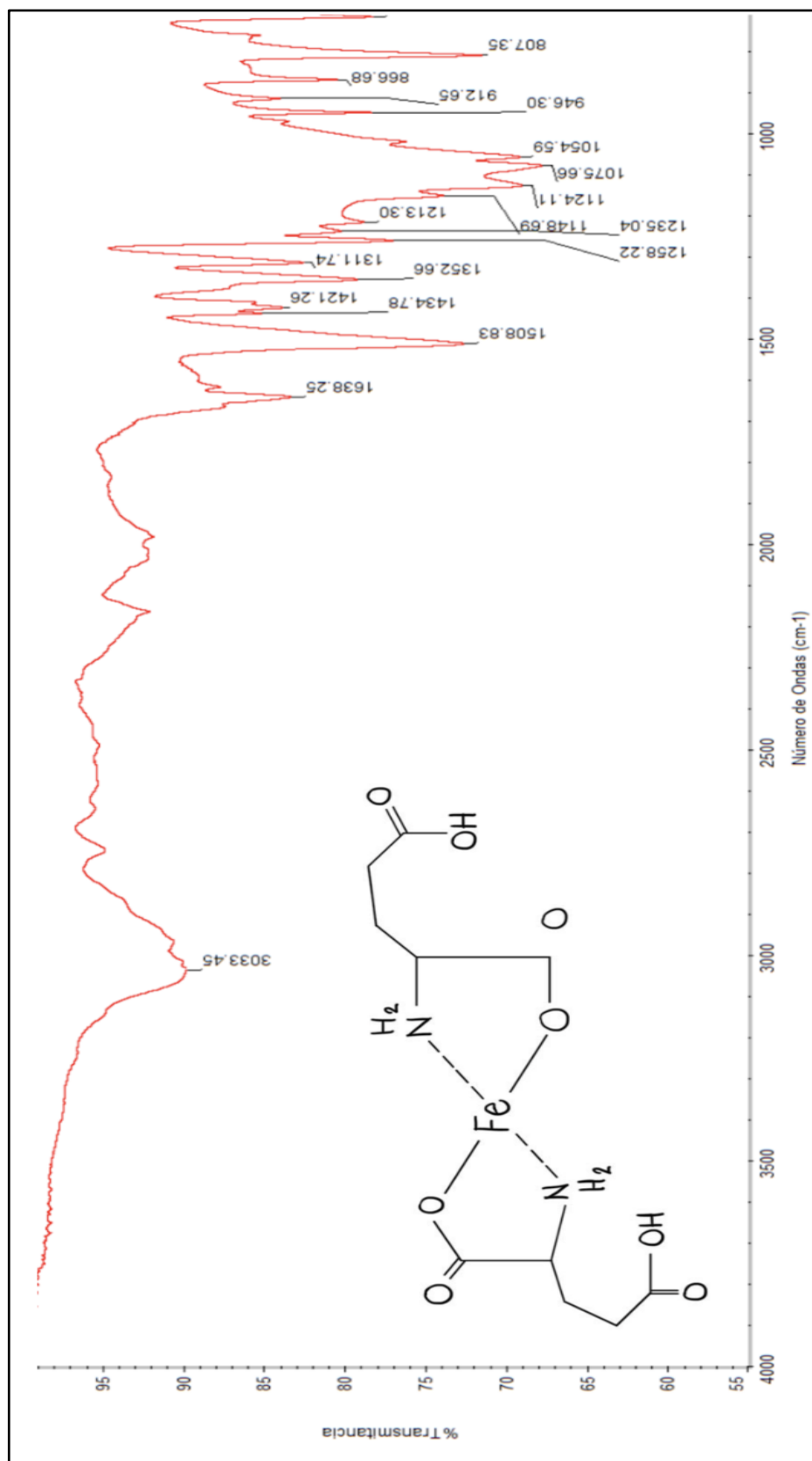
ANEXO 12. Infrarrojo de aminoquelato Tyr – Cu



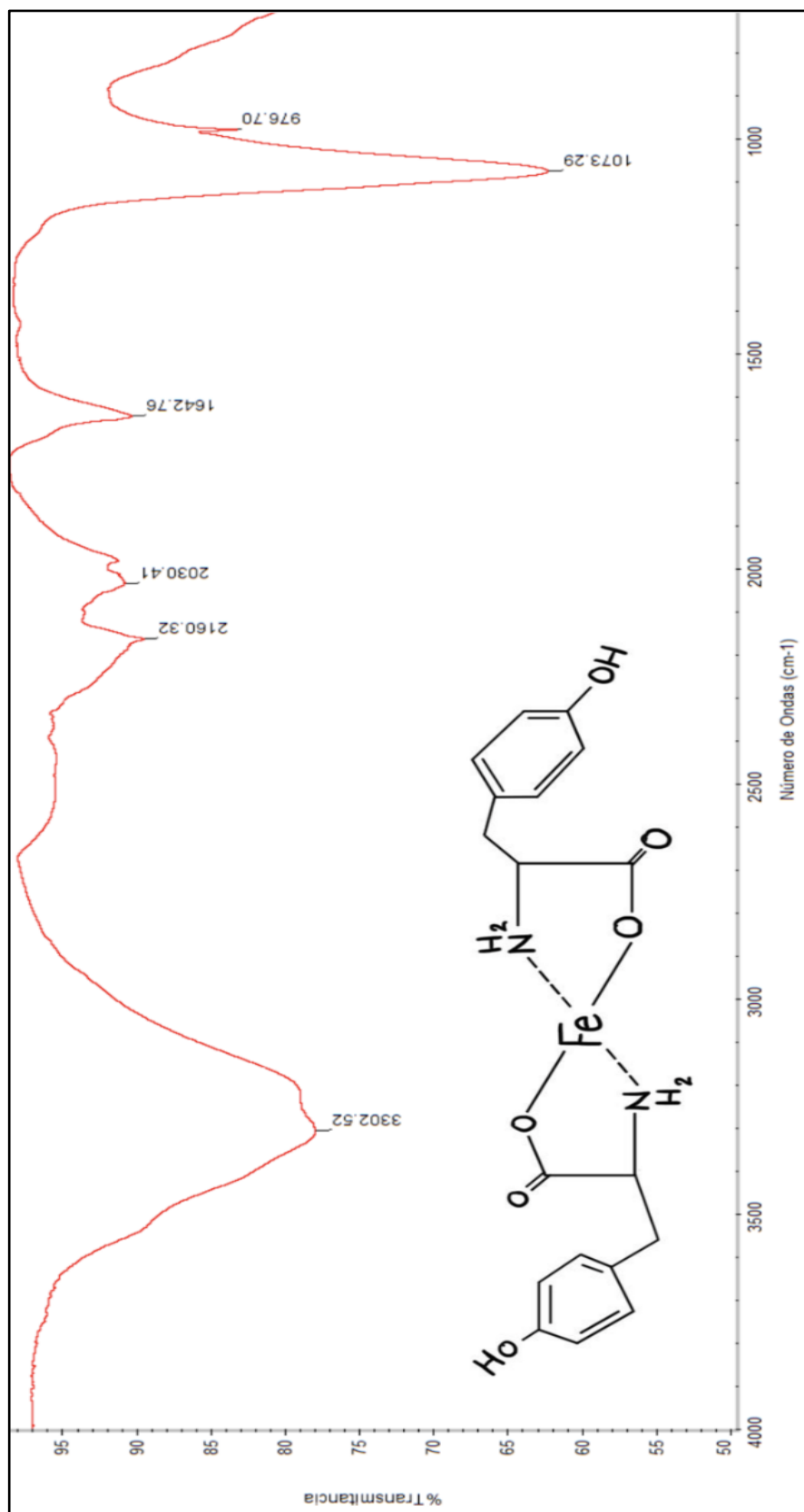
ANEXO 13. Infrarrojo de aminoquelato Asp - Fe



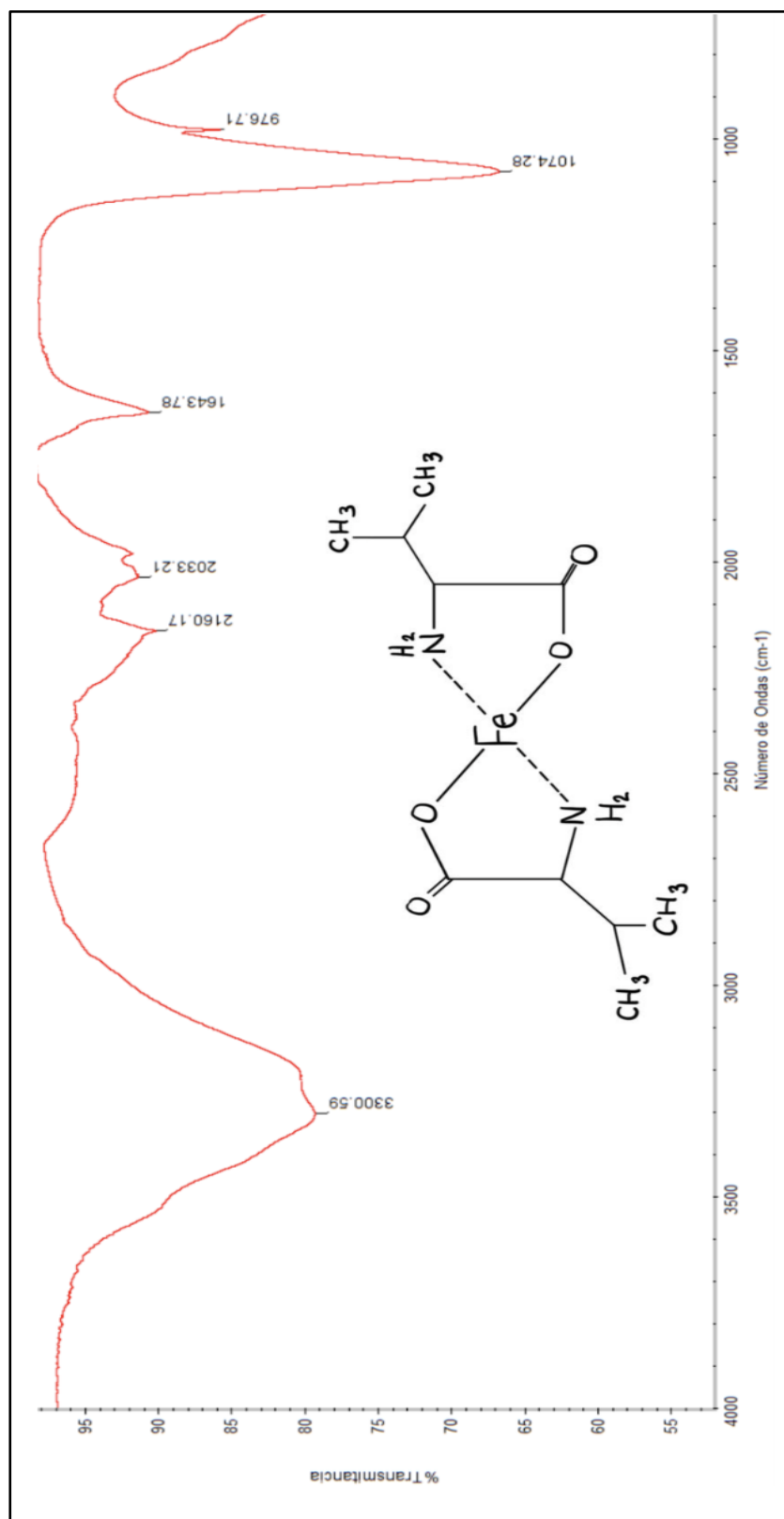
ANEXO 14. Infrarrojo de aminoquelato Cys - Fe



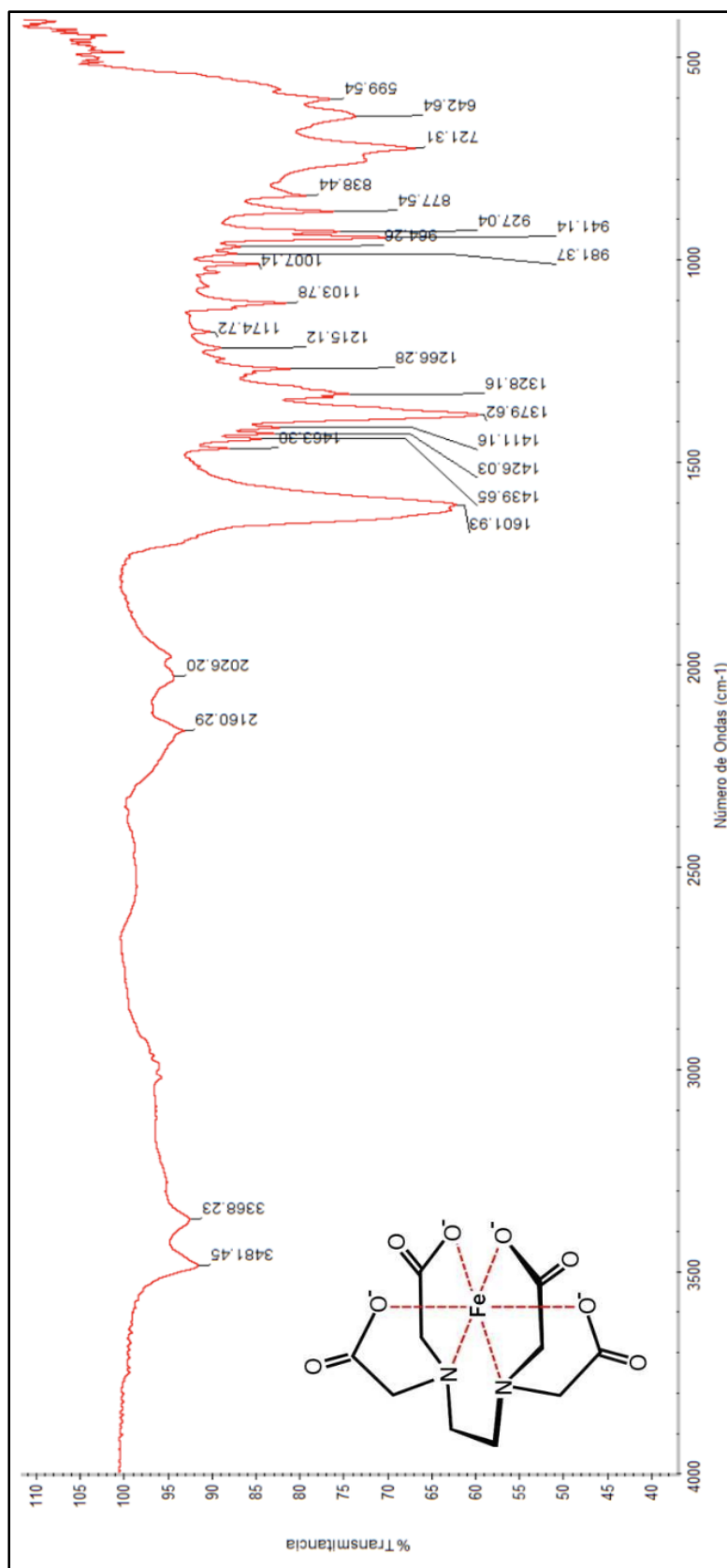
ANEXO 15. Infrarrojo de aminoquelato Glu - Fe



ANEXO 16. Infrarrojo de aminoquelato Tyr – Fe



ANEXO 17. Infrarrojo de aminoquelato Val - Fe



ANEXO 18. Infrarrojo de quelato EDTA - Fe

Técnicas experimentales

Espectroscopía de Infrarrojo

Los espectros de IR se realizaron en equipo Thermo Scientific modelo Nicolet is5. Los valores de transmitancia están expresadas en cm^{-1} .

Condiciones de reacción

Los reactivos utilizados fueron comprados de distintos proveedores como Sigma-Aldrich, J.T. Baker y Fermont. Los rendimientos de los productos generados se calcularon una vez purificados.