



**UNIVERSIDAD DE TALCA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**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)**

**MEMORIA DE TÍTULO**

**SERGIO RAMIRO VALDIVIA VARGAS**

**TALCA- CHILE**

**2020**

## CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

**APROBACIÓN:**



---

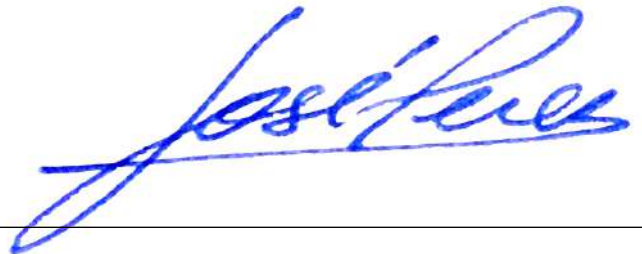
Profesor Guía  
Cabeza Pérez

Ing. Agrónomo, Dr. Ricardo A.

Profesor Escuela de Agronomía

Facultad de Ciencias Agrarias

Universidad de Talca



---

Profesor Informante  
Pérez Díaz

Ing. Agrónomo, Dr. José Ricardo

Laboratorio de Nutrición Vegetal

Facultad de Ciencias Agrarias

Universidad de Talca

Fecha de presentación de Memoria de Título: 13 de mayo de 2021

## AGRADECIMIENTOS

Primero agradecer a Dios, por darme salud y la oportunidad de poder vivir la experiencia de estar en la universidad y coincidir con grandes personas a lo largo de este proceso.

Segundo, agradecer a mis padres por la educación, tiempo y esfuerzo que me han brindado, ya que sin ellos no sería lo que soy y tampoco habría conseguido nada de lo que he logrado hasta hoy. También agradecer a mis hermanos que siempre me ayudaron de alguna manera y siempre están ahí cuando los necesito. Agradezco también a mis abuelos que comenzaron este proceso conmigo, pero se fueron físicamente en el camino, aunque siempre están presentes y son una de las motivaciones mas grandes que llevo presente en todo lo que hago.

Agradezco también a mi profesor guía, Ricardo Cabeza por todo el tiempo y paciencia a lo largo de este trabajo, ya que siempre tuvo tiempo y disposición para ayudarme y lograr un buen trabajo. Ramón Amigo, también muchas gracias por tu gran ayuda en las mediciones y correcciones a lo largo del proceso, por tu tiempo y dedicación.

De igual manera agradezco los buenos momentos con mi grupo de amigos y compañeros "Las estrellitas" con quienes vivimos la experiencia de la universidad juntos desde el día uno. Por el apoyo mutuo y la amistad sincera. También al resto de amigos y conocidos, de otras carreras o cursos que fueron un aporte en algún momento del proceso hasta hoy, también a amigos ajenos de la universidad. Agradezco también a la familia de C.A. Boca Seca, por los grandes momentos vividos, alegrías y rabietas, pero fueron lindos momentos de distracción que hicieron la estadía en la universidad mucho más llevadera.

Y, por último, a mí mismo, por nunca bajar los brazos y siempre tener una mentalidad ganadora, creer en mí y demostrarme a mí mismo que puedo lograr todo lo que me propongo.

## RESUMEN

La “Marea Negra” es un desorden nutricional que afecta a productores de lentejas (*Lens culinaris* Medik) de la zona de Chanco, Región del Maule. Este desorden se genera por concentraciones tóxicas de Mn y Fe en plantas que crecen en suelos ácidos ( $\text{pH} \leq 5,5$ ) o con problemas de drenaje y aireación. Estos elementos, al acumularse en altas concentraciones, originan manchas foliares, debilitando el crecimiento, la producción y calidad comercial de los granos, y en casos más severos, termina con la defoliación completa de la planta, y por ende la pérdida total de la producción.

En este contexto se evaluó el efecto del encalado del suelo y el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la producción de materia seca y concentración de Fe y Mn en plantas de lentejas. Los resultados obtenidos indican que la producción de materia seca disminuyó con la aplicación de cal y con la fertilización nitrogenada respecto del tratamiento control. Sin embargo, la concentración de Fe y Mn disminuyó en la parte aérea de las plantas tratadas con N y aumentó en las raíces. Para el tratamiento con cal, la concentración de Fe y Mn no varió en la parte aérea en relación con las plantas control, pero sí la concentración en las raíces. La producción de granos fue mayor en las plantas con adición de N y en las plantas del tratamiento control, pero la mayor cantidad de granos sanos y sin manchas se observó en el tratamiento con cal. Finalmente, tanto la aplicación de cal como de N disminuyen la concentración de Fe y Mn en las plantas de lentejas y mejoraran la calidad de los granos producidos.

## ABSTRACT

The “Marea Negra” is a nutritional disorder that affects producers of lentils (*Lens culinaris* Medik) in the Chanco area, Maule Region. This disorder is mainly caused by excessive absorption of Fe and Mn by lentils, which occurs mainly in acidic ( $\text{pH} \leq 5.5$ ) or compacted soils, where these elements are more plant available and easily taken up by the plants. These elements at high concentrations in plant tissues cause black and brown spots on leaves, reduce plant growth and the quality of grains. In cases of toxicity, plants end with complete defoliation and the total loss of grains.

In this context, the effect of soil liming and nitrogen fertilization was evaluated on dry matter (DM) production and Fe and Mn concentration in lentil plants. The results obtained indicate that DM decreased with the addition of lime and nitrogen fertilization. However, Fe and Mn concentration decreased in the shoots of plants fertilized with N but increased in the roots. For plants grown in the soil with lime addition, the concentration of Mn and Fe in shoots did not show significant differences, but in roots, the concentration of both elements increased. Grain yield was higher in the plants with N addition and in the plants of the control treatment, but the highest number of healthy grains was observed in the lime treatment. Finally, both lime and N application decreased the concentration of Fe and Mn in lentil shoots and improved the quality of the grains produced.

## ÍNDICE

	PÁG.
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1. Hipótesis del trabajo	3
1.2. Objetivos generales	3
1.3. Objetivos específicos	3
<b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>4</b>
2.1. Descripción morfológica del cultivo de la lenteja ( <i>Lens culinaris</i> )	4
2.2. Cultivo de lenteja en Chile	4
2.3. Producción Nacional	5
2.4. Marea negra en Chile	7
2.5. Relación pH- redox en el suelo	9
2.6. Funciones del Hierro (Fe)	9
2.7. Toxicidad por Hierro (Fe)	10
2.8. Funciones del Manganeseo (Mn)	10
2.9. Toxicidad por Manganeseo (Mn)	11
2.10. Aumento de la biomasa aérea asociado al Nitrógeno (N)	12
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>13</b>
3.1. Lugar de estudio	13
3.2. Material vegetal	13
3.3. Condiciones y manejo del ensayo	13
3.4. Tratamientos	13

3.5 Cosecha de plantas	14
3.6. Diseño experimental y análisis de datos	15
<b>IV. RESULTADOS</b>	<b>16</b>
4.1. Experimento 1	16
4.1.1. Cosecha intermedia	16
4.1.1.1. Producción de MS	16
4.1.2. Cosecha final experimento 1	16
4.2. Experimento 2	17
4.2.1. Cosecha intermedia	17
4.2.1.1. Desarrollo radicular	17
4.2.1.2. Materia seca (MS) producida	18
4.2.1.3. Relación raíz/ parte aérea (R/PA)	18
4.2.1.4. Desarrollo de nódulos	19
4.2.2. Cosecha final experimento 2	21
4.2.2.1. Materia seca producida	21
4.2.2.2. Índice de cosecha de ambos experimentos	21
4.2.2.3. Peso de raíces	22
4.3. Granos producidos y porcentaje de granos manchados en cosecha final de ambos experimentos	22
4.4. Concentración de Fe y Mn durante la aparición de los primeros síntomas de Marea negra en la cosecha intermedia de ambos experimentos	23
4.5. Concentración de Fe y Mn a cosecha final para ambos experimentos	27
<b>V. DISCUSIÓN</b>	<b>29</b>



<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>34</b>
<b>VII. REFERENCIAS</b>	<b>35</b>
<b>VIII. ANEXOS</b>	<b>42</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Producción y superficie sembrada de lentejas en Chile por regiones en la temporada 2018/19 (Elaboración propia con datos de ODEPA) .....	6
<b>Figura 2.</b> Superficie sembrada de lentejas en Chile desde el año 1979 hasta el 2020. (Elaboración propia con datos de ODEPA) .....	7
<b>Figura 3.</b> Número de nódulos activos en plantas de <i>L. culinaris</i> Medik. Las barras corresponden al promedio de 8 macetas con 6 plantas c/u. El bigote corresponde a la desviación estándar.....	20
<b>Figura 4.</b> Número de nódulos inactivos en plantas de <i>L. culinaris</i> Medik. Las barras corresponden al promedio de 8 macetas con 6 plantas c/u. El bigote corresponde a la desviación estándar. ....	20
<b>Figura 5.</b> Concentración de Fe (a) y Mn (b) en la parte aérea (PA) y raíces (R) de plantas de lentejas cultivadas en macetas con y sin adición de N ( $KNO_3$ ) en un suelo con altas concentraciones de estos metales al final del experimento (90 días post emergencia). La concentración de los elementos fue determinada con fluorescencia de rayos X (FRX).....	24
<b>Figura 6.</b> Concentración de Fe y Mn en muestras de plantas de lenteja después de la aplicación de: A) N y B) cal, durante la cosecha intermedia (103 días post emergencia). Las curvas representan el espectro entre 5,6 y 7,4 keV después de exponer las muestras a un equipo de fluorescencia de rayos X (XRF).....	26
<b>Figura 7.</b> Concentración de Fe y Mn en muestras de plantas de lenteja después de la aplicación de N y cal según órgano: A) Parte aérea (hojas y tallos); B) Raíces; y C) Granos, al final del experimento (282 DDS). En el gráfico pequeño se ha aumentado el peak para el elemento Mn. Las curvas representan el espectro entre 5,6 y 7,4 keV después de exponer las muestras a un equipo de fluorescencia de rayos X (XRF).....	28

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Resultados analíticos de macro y microelementos de plantas con y sin síntomas de "marea negra" en 4 localidades de la VI Región (Fuente INIA La Platina N° 36, 1986).....	8
<b>Cuadro 2.</b> Tratamientos para el ensayo de efecto de la fertilización nitrogenada y aplicación de cal y su relación con la toxicidad por Mn y Fe en plantas de lentejas ( <i>L. culinaris</i> Medik).....	14
<b>Cuadro 3.</b> Altura promedio y materia seca (MS) producida por 6 plantas de lentejas ( <i>L. culinaris</i> Medik) creciendo en macetas en dos tratamientos.....	16
<b>Cuadro 4.</b> Materia seca (MS) producida, peso y número de granos por planta promedio de 3 repeticiones para plantas de lentejas ( <i>L. culinaris</i> Medik) creciendo en macetas bajo tratamiento con fertilización nitrogenada. ....	17
<b>Cuadro 5.</b> Largo de raíces para 6 plantas de lentejas ( <i>L. culinaris</i> Medik) creciendo en macetas bajo distintos tratamientos. ....	17
<b>Cuadro 6.</b> Materia seca (MS) producida por 6 plantas de lentejas ( <i>L. culinaris</i> Medik) creciendo en macetas para los distintos tratamientos. ....	18
<b>Cuadro 7.</b> Relación raíz/parte aérea (R/PA) para 6 plantas de lentejas ( <i>L. culinaris</i> Medik) creciendo en macetas para los distintos tratamientos ....	19
<b>Cuadro 8.</b> Producción de MS de lentejas ( <i>L. culinaris</i> Medik) al momento de la cosecha.....	21
<b>Cuadro 9.</b> Índice de cosecha (IC) promedio para plantas de lentejas ( <i>L. culinaris</i> Medik) en 3 tratamientos distintos. ....	22
<b>Cuadro 10.</b> Peso de las raíces en lentejas ( <i>L. culinaris</i> Medik) al momento de la cosecha.....	22

**Cuadro 11.** Número, peso y porcentaje de granos manchados de plantas de lentejas (*L. culinaris* Medik) al momento de la cosecha con tres tratamientos distintos (experimentos 1 y 2).....23

## I. INTRODUCCIÓN

La lenteja (*Lens culinaris* Medik.) es una leguminosa de grano nativa de Asia Menor, y hallazgos en Israel indican que ya era cultivada el año 6600 A.C. Desde aquellos tiempos, la lenteja ha tenido un rol central en la dieta humana debido a sus beneficios como fuente de proteínas, vitaminas del complejo B, ácido fólico y un alto contenido de hierro (Fe). Según ODEPA (año), la producción mundial de lentejas se estima entre 4 a 5 millones de toneladas anuales, convirtiéndola en una de las legumbres más consumidas.

En Chile es un cultivo que se siembra entre la Región del Maule y la Región de La Araucanía y desde que se introdujo se ha ido desplazando hacia la zona del secano costero, llegando a alcanzar una superficie de alrededor de 55.000 ha el año 1980. En la temporada 2018/2019 se obtuvo un rendimiento promedio nacional de 8,1 qq/ha. La Región del Ñuble es la que cuenta con la mayor superficie sembrada actualmente, aunque los mejores rendimientos se encuentran en la región del BíoBío, con alrededor de 20 qq/ha según las cifras oficiales entregadas por ODEPA en el año 2019.

La comuna de Chanco posee condiciones climáticas propicias para el cultivo de lentejas debido a su cercanía al océano Pacífico (10 km). Sin embargo, el cultivo puede ser afectado por desórdenes nutricionales debido a la acidez del suelo o por condiciones de óxido-reducción que favorecen el aumento de la disponibilidad de Fe y manganeso (Mn). La toxicidad por Fe y Mn está asociada a procesos de reducción, los cuales ocurren en condiciones de suelos inundados o con problemas de aireación. En suelos ácidos de pH 5,5 a 6,0 con problemas de drenaje y algún grado de compactación, aumenta la actividad de Mn divalente y también la absorción del elemento por la planta (Pearson, 1975). Además, en suelos con pH ácido, los metales Fe y Mn se encuentran en mayor concentración en la solución del suelo y las plantas absorben mayor cantidad, lo cual puede generar toxicidad.

Localmente, la toxicidad conjunta de Fe y Mn se denomina ‘‘Marea Negra’’ o ‘‘Seren’’ y se ha observado desde al menos 1982 en las siembras de lentejas en el secano

costero. En Chile existen algunas investigaciones realizadas por profesionales del programa de leguminosas de INIA, en los cuales se determinó que el problema no estaba asociado a patógenos, sino más bien, a un desorden nutricional (France et al., 1986). Los síntomas visuales de la toxicidad por Fe se presentan como un bronceado de las hojas o puntos de color café, lo que trae como consecuencia una pérdida de hojas y disminución del crecimiento, afectando severamente el rendimiento. El Mn tiene síntomas de toxicidad muy diversos, pero no parece afectar directamente al sistema radicular de las plantas, pero si afecta el desarrollo de la parte aérea de las plantas (Foy, 1976). En las hojas, la toxicidad de Mn generalmente se caracteriza por una clorosis marginal e intervenal sumado a la formación de bordes ondulados de color marrón que es producida por la acumulación localizada de Mn en el tejido (Rodríguez y Morales, 2005). Sólo si la toxicidad es muy severa también puede afectar al sistema radicular, el cual se torna de un color café, pero solo después que el follaje de la planta ha sido afectado (Hewit, 1963). Este desorden no se produce de forma uniforme en el campo, y sólo algunos sectores presentan plantas con manchas de color café y negro y deformación en algunas hojas basales. A medida que el desorden aumenta en severidad se observan síntomas hacia el ápice de la planta, generando clorosis y terminando en algunos casos con la defoliación completa, imposibilitando el desarrollo normal de la planta y en muchos casos comprometiendo la producción (Sepúlveda et al., 1986). Así, las plantas afectadas abortan gran cantidad de flores y el rendimiento es prácticamente nulo. Las semillas de plantas afectadas presentan una coloración azul oscuro a negro, de aspecto arrugado y menor calibre, afectando su calidad (France et al., 1986). Las plantas con daños presentan una concentración del doble para Mn y Fe, tanto en las hojas como en las semillas.

## **1.1 Hipótesis**

En base a lo anteriormente expuesto, la hipótesis de la presente memoria de título es: Aplicaciones de N y carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) disminuyen la concentración de Mn y Fe en plantas de *L. culinaris* Medik.

## **1.2 Objetivo general**

Evaluar el efecto de la adición de N y  $\text{CaCO}_3$  sobre la toxicidad por Fe y Mn en lentejas cultivadas en un suelo de Chanco.

## **1.3 Objetivo específico**

Determinar parámetros de rendimiento y concentración de Mn y Fe en plantas de lenteja en un suelo encalado y con aplicación de N.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Descripción morfológica del cultivo de la lenteja (*Lens culinaris* Medik)

La planta de lenteja es una especie dicotiledónea, herbácea, anual, con un tallo delgado y erecto, con crecimiento indefinido con 30 a 50 cm de altura y en algunos casos puede sobrepasar los 70 cm dependiendo del ambiente en el cual se desarrolla. Las hojas están formadas por un raquis de al menos 50 mm de longitud en donde se insertan más de 15 foliolos. Las hojas son compuestas y paripinadas con presencia de zarcillos en las hojas superiores. Los foliolos son aplanados con una forma ovalada. Las flores son de color blanco y poseen venación de azul, desarrolla una vaina por pedúnculo generando, habitualmente, un grano. El grano es parcialmente aplanado con una cutícula (testa seminal) que varía de verde claro a gris y los cotiledones son de color amarillo claro. Su sistema radicular puede ser superficial, esto depende de la variedad y del tamaño de sus semillas, por lo general, las plantas con semillas pequeñas poseen un sistema radicular superficial mientras que las plantas con semillas grandes tienen un sistema radicular más profundo (INIA, 2006).

### 2.2 Cultivo de lenteja en Chile

La lenteja es una leguminosa de grano, la que tiene como principal destino el consumo humano, aunque en algunos casos también se utiliza como planta forrajera. Sus granos poseen un alto valor nutritivo: 100 g de lenteja cruda contienen 338 kcal, 28 g de proteína, 56,8 g de carbohidratos, 12 g de fibra dietética, 9 mg de Fe, 3,6 mg de Zn y 423 µg de folatos (Jury et al., 1999). Se cultiva principalmente en zonas interiores y de secano costero de la zona centro y centro sur de Chile. Sin embargo, en los últimos 30 años, la producción nacional ha disminuido por distintos factores. Uno de ellos es el aumento en los costos de producción, lo que desincentiva las siembras, debido al bajo retorno económico del cultivo. También ha influido el aumento de las importaciones desde

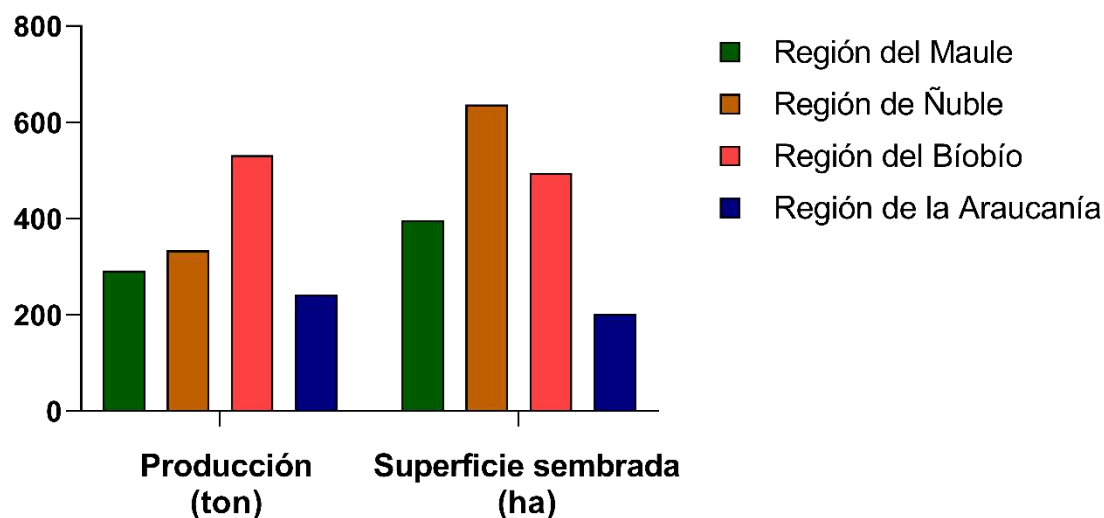


Canadá, donde los costos de producción son más bajos ya que se utiliza mayor tecnología en la producción (Baginsky y Ramos, 2018).

También es importante mencionar que en Chile hay presencia de roya (*Uromyces fabae*) la cual afecta directamente la producción de lentejas. En la década de los 70s' se introdujo cultivares resistentes como Penzeskaja 14 y Laird (Tay et al., 2001a). Los resultados obtenidos con estos nuevos cultivares no fueron los esperados ya que los granos son de menor tamaño en comparación a la lenteja chilena, aunque cumplían con las normas de calidad exigidas por los mercados internacionales. Posteriormente se lograron nuevas variedades con mayor tamaño de grano, como Araucana-INIA (Tay et al., 1981) y Súper Araucana-INIA (Tay et al., 2001b). Sin embargo, estos cultivares no lograron traer solución al problema de la roya en las zonas interiores y de secanos costeros, ya que tienen un alto grado de susceptibilidad a esta enfermedad, sumado al alto costo de la aplicación de fungicidas. En años posteriores (1980-1990), INIA logró desarrollar un nuevo cultivar que equilibró la tolerancia a la roya y el tamaño de los granos, Calpún-INIA (INIA, 2006).

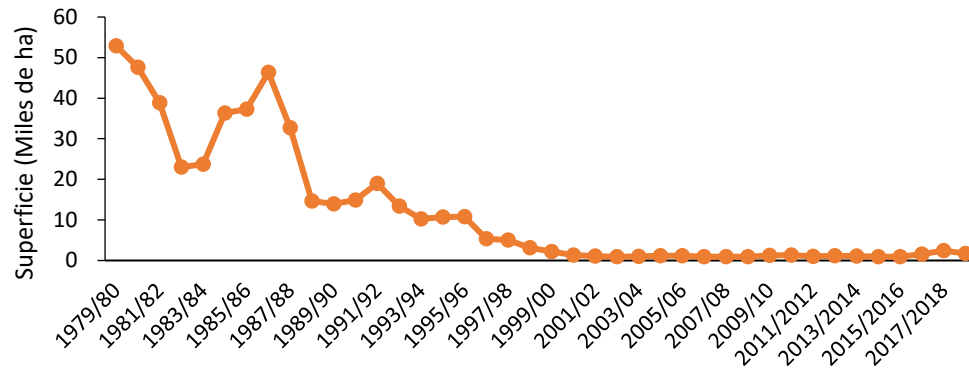
### **2.3 Producción Nacional**

Según ODEPA (2012), la producción de lentejas en el país la realizan pequeños agricultores de la zona centro-sur de Chile, especialmente entre las regiones del Maule y la Araucanía (Figura 1). De la superficie total sembrada con leguminosas, el cultivo de la lenteja es la cuarta más sembrada con un 3,4% de la superficie total anual.



**Figura 1.** Producción y superficie sembrada de lentejas en Chile por regiones en la temporada 2018/19. (Elaboración propia con datos de ODEPA).

La superficie anual a sembrar de lentejas es muy difícil de predecir, ya que depende de la producción de otros países y de la cantidad que se importa (ODEPA, 2015). Chile pasó de producir alrededor de 50.000 ha en el año 1980, a tan sólo 1.500 ha el año 2020 (Figura 2). Por otra parte, el precio de la lenteja importada es más atractivo para los consumidores que aquellos de la lenteja local. También se debe considerar la incidencia de enfermedades como la roya (*U. fabae*), la cual dificulta el correcto desarrollo del cultivo y por ende su productividad. Todos estos factores repercuten en la toma de decisión de los pequeños agricultores al momento de la siembra.



**Figura 2.** Superficie sembrada de lentejas en Chile desde el año 1979 hasta el 2020. (Elaboración propia con datos de ODEPA).

## 2.4 Marea negra en Chile

A nivel mundial existe poca información de este desorden nutricional, en Chile hay investigaciones en el tema realizadas en los años 80's.

Registros del año 1983 indican que la toxicidad por Fe y Mn o marea negra se ha manifestado en el cultivo de lentejas desde hace varias décadas (France et al., 1986). En ese momento se pensó que podía tener origen patogénico, pero se demostró que era un desorden nutricional por exceso de metales. En suelos pesados, inundados o compactados incrementa la disponibilidad de Fe y Mn, aumentando la cantidad absorbida por las plantas. La toxicidad se observa a principios de julio cuando las plantas aún son pequeñas, y se hace más notorio en plantas adultas, las cuales comienzan con una paulatina clorosis y pérdida de hojas basales. Posteriormente comienza la aparición de pequeñas manchas de color marrón a negro, que en casos severos pueden cubrir la totalidad de la hoja y producir una fuerte defoliación (France et al., 1986).

La aparición de los síntomas es sectorizada en el campo y de forma irregular. En casos graves, la toxicidad por Fe y Mn puede producir una pérdida total de la cosecha, ya que

las semillas se ven afectadas con una coloración oscura, lo que dificulta su comercialización (Sepúlveda et al., 1986).

Análisis a semillas provenientes de lentejas cultivadas en cuatro comunas del secano de la Región de O'Higgins y con problemas de toxicidad, indicaron que las semillas de plantas con manchas tenían el doble o más concentración de Mn que aquellas plantas sin manchas características (Cuadro 1) (Sepúlveda et al., 1986).

**Cuadro 1.** Resultados analíticos de macro y microelementos de plantas completas con y sin síntomas de "marea negra" en 4 localidades de la VI Región (Fuente INIA La Platina N° 36, 1986).

Localidad	Síntomas en las plantas	Concentración							
		-----g 100 g <sup>-1</sup> -----					----mg kg <sup>-1</sup> ----		
		N	P	K	Ca	Mg	Zn	Mn	Cu
Lolol	Sin	3,00	0,22	1,38	1,0	0,28	95	325	20
	Con	2,32	0,35	1,84	0,7	0,28	135	600	20
Lolol	Sin	3,05	0,28	2,44	1,4	0,36	85	175	18
	Con	3,23	0,38	1,81	0,7	0,26	21	375	28
Lolol	Sin	2,51	0,21	1,25	0,7	0,23	63	275	13
	Con	2,88	0,41	2,41	0,7	0,33	21	600	20
Matanzas	Sin	2,86	0,26	1,69	0,8	0,36	71	100	15
	Con	3,29	0,38	1,69	0,7	0,35	90	288	17
Lolol	Sin	2,94	0,26	1,63	0,7	0,26	77	138	15
	Con	2,98	0,38	1,91	0,7	0,26	74	325	13
Navidad	Sin	2,98	0,32	1,69	0,8	0,41	132	137	15
	Con	3,42	0,40	1,78	0,5	0,36	88	300	15
Rincón de la oveja	Sin	3,65	0,31	1,53	0,8	0,28	71	75	17
	Con	2,83	0,28	1,75	1,1	0,29	66	162	17

## 2.5 Relación pH - redox en el suelo

En general el pH óptimo para el desarrollo de cultivos varía entre 6,5 y 7,0 (Prasad y Power, 1997), ya que tanto la acidez como la alcalinidad del suelo influyen directamente en la disponibilidad de nutrientes para las plantas. Un pH básico tiende a reducir la disponibilidad de Fe, Al, Zn, Mn y B y aumenta la disponibilidad de Mo. Por el contrario, un pH más ácido disminuye la disponibilidad de Mg y P, aumentando la de Mn, Fe y Al (Benton, 2003). Se consideran suelos ácidos aquellos con un pH menor a 6,0 y el origen de su acidez puede ser natural (debido a la pérdida de bases del suelo) o al uso de fertilizantes de reacción acidificante (amoniacales) (Hepp, 2019).

Por otro lado, los elementos que más se ven afectados por las reacciones redox son O, N, Fe, Mn, S y C. El principal agente oxidante es el oxígeno y el principal agente reductor es la materia orgánica del suelo. En condiciones de suelos anegados, compactados y con poca aireación, tiende a prevalecer la reducción de elementos como Fe y Mn, ambos cambiando su estado de oxidación a su forma de  $Fe^{+2}$  y  $Mn^{+2}$  (Muñoz et al., 2015), haciéndolos más disponibles para la absorción por parte de las plantas.

## 2.6 Funciones del Hierro (Fe)

El Fe es uno de los metales más abundantes en la corteza terrestre, solo por debajo del aluminio (Al). Sin embargo, la solubilidad de Fe es bastante baja, especialmente en suelos alcalinos y bien aireados. El Fe es un elemento de transición, y cambia de estado de oxidación entre  $Fe^{+2}$  y  $Fe^{+3}$  en suelos que están en constantes procesos de inundación y secado (Halliwell et al., 1986). De los dos estados de oxidación que se presentan en el suelo, Fe III (férrico) y Fe II (ferroso), el  $Fe^{+2}$  es absorbido por las plantas con mayor facilidad.

En la planta, el Fe forma parte de proteínas de diversos sistemas enzimáticos que son importantes para el buen desarrollo de la planta. El Fe forma parte de los citocromos y otros complejos proteicos, los cuales son constituyentes de sistemas redox que participan en la fotosíntesis y en la síntesis de clorofilas (Miller et al., 1984). Dentro de este grupo,

también se encuentra la enzima leghemoglobina, la cual está involucrada en la fijación de  $N_2$  en las leguminosas y la enzima peroxidasa, que interviene en la biosíntesis de suberina y lignina. Esta última participa en la formación de la lignina mediante la oxidación de compuestos fenólicos (Marschner, 1995). Otra proteína importante que contiene Fe es la Ferredoxina, la cual participa en el traspaso de electrones a NADPH en la fotosíntesis y en la reducción de nitrito ( $NO_2^-$ ) a amonio ( $NH_4^+$ ) (Marschner et al., 1986).

## **2.7 Toxicidad por Hierro (Fe)**

La tolerancia de las plantas frente a altas concentraciones de Fe en la solución del suelo varía de acuerdo con la especie y el genotipo (Woolhouse, 1983). Condiciones que inducen la aparición de síntomas asociados a la toxicidad son: suelos de pH ácido y condiciones de anegamiento (Kinzel, 1983). Del mismo modo, existen factores propios de la planta que pueden aumentar su susceptibilidad. En el caso particular de las leguminosas, la fijación del nitrógeno atmosférico ( $N_2$ ) favorece la acidificación de la rizosfera y, por lo tanto, aumenta la disponibilidad de algunos metales, como Fe y Mn (Bromfield et al., 1983).

La toxicidad por Fe se presenta como un bronceado de las hojas, junto con una aparición de manchas de color amarillo a pardo o marrón, la cual comienza en las hojas viejas avanzando hacia hojas jóvenes cuando es más persistente. La incidencia de la toxicidad es habitual en cultivos que se producen en suelos anegados. En la producción de arroz, el exceso de Fe puede llegar a ser un factor limitante. Sobre 500 mg/kg de Fe en el suelo, hay problemas de toxicidad en la mayoría de los cultivos (Yamauchi, 1989).

## **2.8 Funciones del Manganeseo (Mn)**

El Mn puede encontrarse en variados estados de oxidación, pero en sistemas biológicos es más común encontrarlos como  $Mn^{+2}$ ,  $+3$  o  $+4$ , siendo en  $Mn^{+2}$  el que predomina en las plantas (Hughes y Williams, 1988). Existe un gran número de enzimas que son activadas por  $Mn^{+2}$ , pero las enzimas que contienen Mn son de un número considerablemente más

reducido. Un ejemplo de enzima que contiene Mn es la superóxido dismutasa (MnSOD), la cual está presente en los cloroplastos y son parte fundamental del proceso de fotosíntesis (Nable et al., 1984). En plantas deficientes de Mn disminuye la producción de materia seca, contenido de clorofila y fotosíntesis neta (Ohki et al., 1979). El Mn es constituyente del polipéptido de 33kDa que está adosado al PSII y que juega un rol importante en la fotólisis del agua (Schmidt, 2016). También es un cofactor para ayudar a enzimas en la biosíntesis de lignina (Brown et al., 1984). El Mn se asocia a la división y expansión celular en raíces ya que ambos procesos disminuyen en condiciones de deficiencia del elemento (Campbell y Nable, 1988).

## **2.9 Toxicidad por Manganeso (Mn)**

Al igual que en el caso de toxicidad por Fe en suelos ácidos, la acidificación de la rizósfera también puede conducir a acumulación en concentraciones tóxicas de Mn para la planta (Jarvis y Robson, 1983). La concentración crítica a la cual se producen síntomas es muy variable entre un cultivo y otro. Por ejemplo, en el algodón (*Gossypium hirsutum*) la concentración crítica de Mn es de 750 mg/kg y para el cultivo de maíz (*Zea mays*) es de 200 mg/kg. También es muy variable la concentración crítica entre los distintos cultivares de una especie (Edwards y Asher, 1982). En términos generales, se pueden producir problemas de toxicidad debido al exceso de Mn cuando las concentraciones en el tejido exceden los 500 mg/kg (Marschner, 1995).

En distintas especies se asocia la aparición de manchas de color marrón en hojas viejas con la toxicidad por Mn, la coloración deriva de polifenoles que se han oxidado (Wissemeier y Horst, 1987). Esta coloración de color marrón esta precedida por la formación de callos o heridas en la misma zona que indican los efectos tóxicos de Mn, la intensidad con la que se forman estos callos sirve como un método rápido para seleccionar cultivares más o menos tolerantes a Mn (Wissemeier y Horst, 1991). En plantas tolerantes, como la maravilla (*Helianthus annuus*) y la ortiga (*Urtica urens*), de igual forma se encuentran estas manchas alrededor de la base de los tricomas, por lo que puede ser

considerado un mecanismo para reducir las concentraciones de Mn soluble (Blamey et al., 1986).

Tanto la necrosis como la clorosis intervenal son síntomas adicionales de la toxicidad por Mn (Nable et al., 1988). La toxicidad puede ser acompañada por otro tipo de síntomas, como la deformación foliar inducida por carencia de otros elementos, como el Ca, Mg y Zn (Horst, 1988).

## **2.10 Aumento de la biomasa aérea asociado al Nitrógeno (N)**

Aplicaciones de N incrementan el índice de área foliar, la radiación interceptada, así como el uso eficiente del agua, y, en consecuencia, también incrementa la producción de biomasa y el rendimiento de semillas (Olalde et al., 2000). Considerando lo anterior, se ha demostrado que la aplicación de N reduce los riesgos de toxicidad por metales. Por ejemplo: en un ensayo con trébol blanco (*Trifolium repens* L.) y trébol subterráneo (*T. subterraneum* L.), los síntomas de toxicidad por Mn fueron considerablemente mayores en las plantas que dependían solo de la fijación simbiótica de N<sub>2</sub>, en comparación con plantas fertilizadas con nitrato (Jarvis y Robson, 1983). Del mismo modo, una fertilización con niveles óptimos de fósforo (P), zinc (Zn) y Mn inhiben la translocación excesiva de Fe, impidiendo problemas de toxicidad (Cumbus et al., 1977).



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Lugar de estudio

El ensayo se realizó en los invernaderos del Centro de Mejoramiento Genético y Fenómica Vegetal, dependencias de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Talca, año 2020.

#### 3.2 Material vegetal

Para el ensayo se utilizaron semillas de lentejas (*Lens culinaris* Medik), variedad Súper Araucana-INIA.

#### 3.3 Condiciones y manejo del ensayo

Los ensayos se realizaron en macetas de 2 litros en un invernadero abierto y protegido con mallas para evitar el ataque de aves y conejos. En todos los ensayos realizados se usó un suelo obtenido en la localidad de Chanco desde un campo con historial de “marea negra” en lentejas. El riego se efectuó a un 75% de la capacidad máxima de almacenamiento con una periodicidad dependiendo del requerimiento de las plantas. Las plantas fueron inoculadas con bacterias del género *Rhizobium* para propiciar la nodulación y fijación de N<sub>2</sub>. Para ello se aplicó 2 ml/planta de una suspensión de *Rhizobium leguminosarum* (producto RizoFix® preparado por la empresa Biogram®).

#### 3.4 Tratamientos

En el presente estudio se realizaron dos experimentos. En el primero se analizó el efecto de la adición de nitrógeno (N) sobre la toxicidad de Fe y Mn. Para este efecto se realizó un ensayo con dos tratamientos: adición de N (1 g kg<sup>-1</sup> de suelo) y un tratamiento control sin adición de N. La fertilización de N se realizó de forma parcializada, al momento de la siembra se incorporó 0.5 g N kg<sup>-1</sup> de suelo, el N faltante se aplicó con los riegos y fue parcializado de acuerdo con la demanda de las plantas.

En un segundo experimento se evaluó el efecto de la adición de N en suelos con corrección del pH. De este modo, hubo cuatro tratamientos según el Cuadro 2. Los tratamientos fueron: 1) control; 2) aplicación de N; 3) aplicación de cal; y 4) aplicación

de N y cal. Se mantuvo el criterio de fertilización con N del experimento 1, mientras que, para corregir el pH del suelo, se midió el pH inicial de suelo y se aplicó cal agrícola ( $\text{CaCO}_3$ ) para llevar el suelo a un pH cercano al neutro (~7). Luego de la aplicación de cal, el suelo se incubó por 30 días a temperatura ambiente y se midió periódicamente el pH del suelo para determinar su aumento.

**Cuadro 2.** Tratamientos para el ensayo de efecto de la fertilización nitrogenada y aplicación de cal y su relación con la toxicidad por Mn y Fe en plantas de lentejas (*L. culinaris* Medik).

Tratamientos
Control
N
Cal
Cal + N

### 3.5 Cosecha de plantas

En ambos experimentos se realizaron dos cosechas, una cosecha intermedia, realizada una vez que se manifestaron síntomas del desorden y una cosecha final, la que se realizó una vez alcanzada la madurez de los granos, en ambas cosechas se determinó la materia seca aérea y radical. En el primer experimento, la cosecha intermedia se realizó a los 90 días desde la emergencia, mientras que la cosecha intermedia para el segundo experimento se realizó a los 103 días desde la emergencia. Durante la cosecha, cada planta fue separada en parte aérea y radical, y almacenadas separadamente en bolsas de papel. Adicionalmente, durante la cosecha intermedia del experimento 2 se realizó el conteo de los nódulos presentes en las raíces, tanto de los activos como los inactivos, los cuales fueron diferenciados por su coloración: aquellos de color rojiza se categorizaron como activos, mientras que los verdes a negros como inactivos. Además, se determinó la altura de la planta y el largo de raíces mediante el conteo de intersecciones en una bandeja mediante el método propuesto por Tennant (1975).

La cosecha final para ambos experimentos se realizó una vez alcanzada la madurez de los granos para los tratamientos que llegaron a término. La segunda cosecha del experimento 1 se realizó a los 282 DDS, mientras que la cosecha final para el experimento 2 se realizó a los 157 DDS.

El material colectado en ambos experimentos fue secado en una estufa de aire forzado a 65°C por 48 horas para posteriormente registrar su contenido de materia seca (MS). La MS resultante fue procesada en un molino de impacto IKA® A10 Basic para el posterior análisis químico. La concentración de Fe y Mn se determinó con fluorescencia de rayos X (FRX) y mediante espectrometría de absorción atómica (AAS). Tanto las muestras de la parte aérea, raíces y granos fueron evaluadas con FRX, mientras que algunas muestras seleccionadas fueron analizadas con AAS para obtener una calibración de los valores obtenidos con FRX.

### **3.6 Diseño experimental y análisis de datos**

Para el primer experimento el diseño experimental fue completamente al azar con 2 tratamientos: adición de N y control sin adición de N, cada uno de ellos con 6 réplicas. El segundo experimento también tuvo un diseño completamente al azar, aunque la cantidad de réplicas varió entre tratamientos. Los datos fueron analizados con el software Statgraphics Centurion®, con el cual se verificaron los supuestos del análisis de varianza (ANOVA) (normalidad y homogeneidad de la varianza). Cuando correspondió, se realizó el análisis para separación de medias mediante la prueba de Tukey. Los gráficos fueron hechos con el programa GraphPad Prism® v8.0.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Experimento 1

#### 4.1.1. Cosecha Intermedia

##### 4.1.1.1. Producción de MS

Para la producción de MS del experimento 1 en la cosecha intermedia, no hubo diferencias significativas entre el tratamiento control y el tratamiento con fertilización nitrogenada, aunque fue levemente superior la producción de MS del tratamiento con fertilización (Cuadro 3).

En cuanto a la altura alcanzada, las plantas con fertilización nitrogenada alcanzaron una mayor altura, alrededor de 1,3 cm más que las plantas del tratamiento de control (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Altura promedio y MS producida por 6 plantas de lentejas (*L. culinaris* Medik) creciendo en macetas en dos tratamientos.

Tratamiento	MS producida (g maceta <sup>-1</sup> )	Altura promedio plantas (cm)
Control	0,79 a	6,84 b
N	0,93 a	8,16 a
Valor P	0,39	0,0005

Test HSD Tukey (<0.0.5).

#### 4.1.2. Cosecha final experimento 1

En la cosecha final del experimento 1 solo se rescataron datos de tratamientos con fertilización nitrogenada debido a que el tratamiento control tuvo una fuerte defoliación a causa de Marea Negra y no se pudo medir la MS producida.

La producción de MS para las plantas que recibieron N fue variable entre las réplicas y promediaron 8,95 g/maceta (Cuadro 4). El número promedio de granos producidos entre las plantas de lentejas fue de 6,5 granos/planta, mientras que el peso promedio de los granos fue de 2,9 g.

**Cuadro 4.** Materia seca (MS) producida, peso y número de granos por planta promedio de 3 repeticiones para plantas de lentejas (*L. culinaris* Medik) creciendo en macetas bajo tratamiento con fertilización nitrogenada.

Tratamiento	MS producida (g maceta <sup>-1</sup> )	Peso granos por planta (g)	N° de granos por planta
N	8,95	2,9	6,5

## 4.2. Experimento 2

### 4.2.1 Cosecha intermedia

#### 4.2.1.1. Desarrollo radicular

Las plantas que lograron desarrollar un mayor largo de raíces fueron aquellas que crecieron en el tratamiento con cal agrícola y las plantas en el tratamiento control (Cuadro 5). Por el contrario, las plantas que crecieron con adición de N tuvieron un escaso desarrollo radicular, alrededor de seis veces menor que la del resto de los tratamientos, existiendo diferencias significativas entre ellos.

**Cuadro 5.** Largo de raíces para 6 plantas de lentejas (*L. culinaris* Medik) creciendo en macetas bajo distintos tratamientos.

Tratamiento	Largo promedio de raíces (cm maceta <sup>-1</sup> )
Control	2103,8 a
N	297,3 b
Cal + N	299,2 b
Cal	2527,5 a
Valor P	0,0000

Test HSD Tukey (<0.0.5), datos transformados con raíz cuadrada para el largo promedio de raíces (cm).

#### 4.2.1.2 Materia seca (MS) producida

El promedio de MS producida por maceta se comportó de manera muy similar al desarrollo de raíces (Cuadro 5). Las plantas que lograron producir mayor MS fue en el tratamiento control. El tratamiento con cal alcanzó alrededor de la mitad de la MS que en el tratamiento control (Cuadro 6).

Los tratamientos con fertilización nitrogenada lograron escasa producción de MS, muy similar al largo de raíces. El desarrollo de MS en los dos tratamientos con N no alcanzó 1 g por maceta (Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Materia seca (MS) producida por 6 plantas de lentejas (*L. culinaris* Medik) creciendo en macetas para los distintos tratamientos.

<b>Tratamiento</b>	<b>MS producida (g maceta<sup>-1</sup>)</b>
<b>Control</b>	2,49 a
<b>N</b>	0,61 c
<b>Cal + N</b>	0,71 c
<b>Cal</b>	1,20 b
<b>Valor P</b>	0,0000

Test HSD Tukey (<0.0.5), datos transformados con raíz cuadrada para la MS producida por maceta.

#### 4.2.1.3. Relación raíz/parte aérea (R/PA)

En cuanto a la relación R/PA, el tratamiento con cal agrícola desarrolló más raíces por gramo de MS, es decir, en una maceta con 6 plantas se desarrollaron casi 20 metros de raíces por gramo de MS producido (Cuadro 7). En cuanto al tratamiento control, las plantas lograron desarrollar 1 g de MS con cerca de 9 m de raíces.

Las plantas con adición de N tuvieron el menor desarrollo radicular y producción de MS, con una relación más equilibrada y con tan sólo 5 metros de raíces por g de MS.

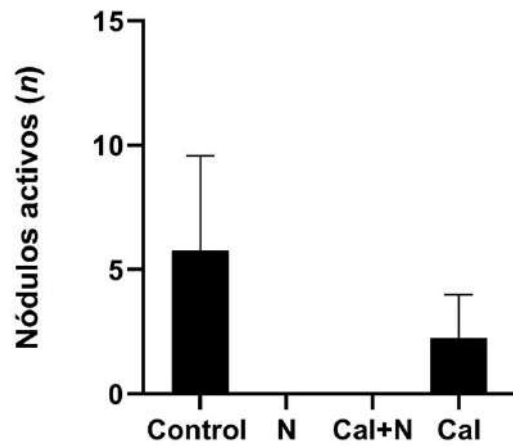
**Cuadro 7.** Relación raíz/parte aérea (R/PA) para 6 plantas de lentejas (*L. culinaris* Medik) creciendo en macetas para los distintos tratamientos.

<b>Tratamiento</b>	<b>R/PA (cm g<sup>-1</sup> MS maceta<sup>-1</sup>)</b>
<b>Control</b>	921,83 b
<b>N</b>	526,88 c
<b>Cal + N</b>	449,06 c
<b>Cal</b>	2097,59 a
<b>Valor P</b>	0,0000

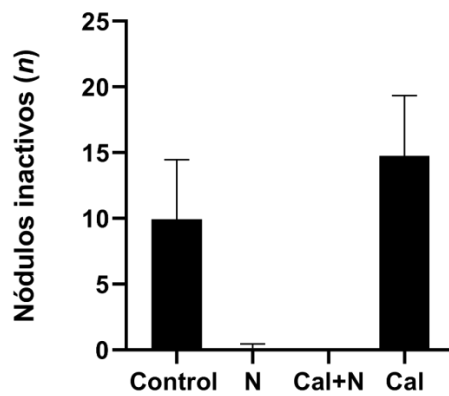
Test HSD Tukey (<0.0.5), datos transformados con raíz cuadrada para la relación raíz/parte aérea.

#### **4.2.1.4. Desarrollo de nódulos**

La formación de nódulos, tanto activos como inactivos fue prácticamente nula en los tratamientos con adición de N, no así, en el tratamiento con aplicación de cal, el cual alcanzó el mayor número de nódulos, aunque en su mayoría ya estaban inactivos al momento de la cosecha. Las plantas en el tratamiento control lograron desarrollar una considerable cantidad de nódulos activos (Figura 4).



**Figura 3.** Número de nódulos activos en plantas de *L. culinaris* Medik. Las barras corresponden al promedio de 8 macetas con 6 plantas c/u. El bigote corresponde a la desviación estándar.



**Figura 4.** Número de nódulos inactivos en plantas de *L. culinaris* Medik. Las barras corresponden al promedio de 8 macetas con 6 plantas c/u. El bigote corresponde a la desviación estándar.



## 4.2.2. Cosecha final experimento 2

### 4.2.2.1. Materia seca producida

La producción de MS a la madurez fisiológica fue mayor en el tratamiento control que en el resto de los tratamientos. Las plantas que crecieron en el suelo tratado con adición de cal desarrollaron menos MS y en el caso de los tratamientos con adición de N y adición conjunta de N y cal, las plantas no llegaron a madurez fisiológica, sufriendo un fuerte defoliamiento. Las plantas de estos últimos tratamientos fueron cosechadas 50 días antes que las plantas del tratamiento control y del tratamiento con cal. Debido a lo anterior, en el Cuadro 8, sólo se presenta la información de los tratamientos control y con aplicación de cal.

La producción de MS en el tratamiento control fue un 38% mayor que el tratamiento con cal, siguiendo con la tendencia de las plantas en la cosecha intermedia.

**Cuadro 8.** Producción de MS de lentejas (*L. culinaris* Medik) al momento de la cosecha.

Tratamiento	MS (g planta <sup>-1</sup> )
Control	1,18 a
Cal	0,74 b
Valor P	0,0000

Test HSD Tukey (<0.0.5), datos transformados con raíz cuadrada para la MS.

### 4.2.2.2. Índice de cosecha de ambos experimentos

El índice de cosecha fue mayor en el tratamiento con cal, con diferencias significativas respecto del tratamiento con fertilización nitrogenada y control (Cuadro 9). Esto quiere decir que el tratamiento con cal destino mayor porcentaje de biomasa para la producción de granos.

**Cuadro 9.** Índice de cosecha (IC) promedio para 6 plantas de lentejas (*L. culinaris* Medik) en 3 tratamientos distintos.

<b>Tratamiento</b>	<b>Índice de cosecha (IC)</b>
<b>Control</b>	0,32 b
<b>Cal</b>	0,43 a
<b>N</b>	0,35 b
<b>Valor P</b>	0,0014

Test HSD Tukey (<0.0.5).

#### **4.2.2.3. Peso de raíces**

El peso de las raíces cosechadas en las plantas al alcanzar la madurez fisiológica siguió la tendencia observada en la cosecha intermedia, ya que las plantas en el tratamiento control tuvieron más raíces, si bien en esta ocasión, la diferencia no fue significativa (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** Peso de las raíces en lentejas (*L. culinaris* Medik) al momento de la cosecha.

<b>Tratamiento</b>	<b>Peso raíces (g planta<sup>-1</sup>)</b>
<b>Control</b>	0,34
<b>Cal</b>	0,31
<b>Valor P</b>	0,035

### **4.3 Granos producidos y porcentaje de granos manchados en cosecha final de ambos experimentos**

En el Cuadro 11, se presentan los resultados de granos en la cosecha final de ambos experimentos.

En cuanto al número de granos, tanto en el tratamiento de control como con adición de N, la producción fue considerablemente mayor respecto del tratamiento con cal, siendo muy similar en estos dos tratamientos, ambos con alrededor de 36 granos por maceta; 9 granos mas que las macetas del tratamiento con suelo encalado.

Los granos del tratamiento con cal y N pesaron más que los del tratamiento control, siendo mayor el peso de los granos del tratamiento con la adición de N.

Por último, el porcentaje de granos manchados fue notablemente menor en el tratamiento con cal, seguido del tratamiento con N. Ambos consiguieron una menor cantidad de granos manchados que el tratamiento control. Esto se suma a que ambos tratamientos tuvieron mayor cantidad de granos producidos por planta.

**Cuadro 11.** Número, peso y porcentaje de granos manchados en plantas de lentejas (*L. culinaris* Medik) al momento de la cosecha en tres tratamientos distintos (experimentos 1 y 2).

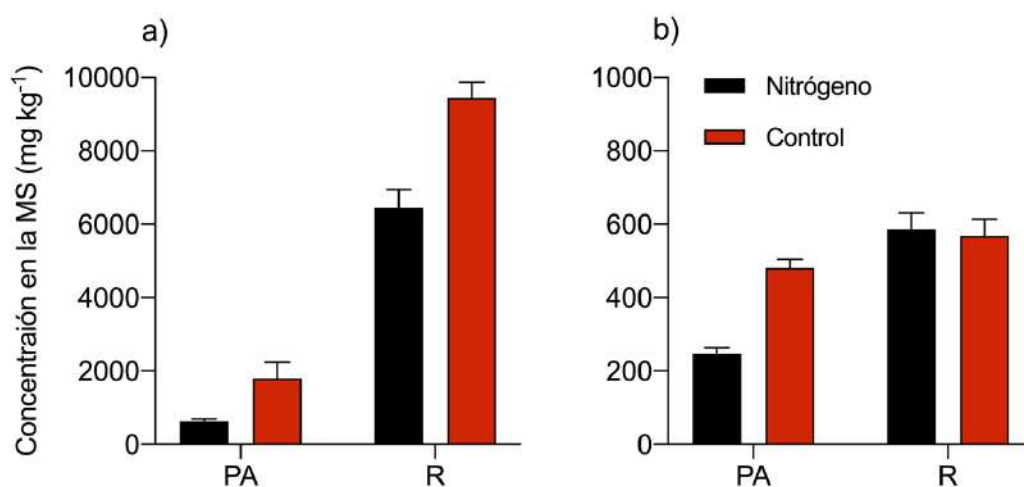
<b>Tratamiento</b>	<b>N° de granos (maceta<sup>-1</sup>)</b>	<b>Peso promedio granos (g)</b>	<b>% de granos manchados (maceta<sup>-1</sup>)</b>
<b>Control</b>	36,25 a	0,065 b	37,1 b
<b>Cal</b>	27,11 b	0,072 a	0,38 a
<b>N</b>	36,33 a	0,080 a	12,5 a
<b>Valor P</b>	0,0054	0,0103	0,0000

Test HSD Tukey (<0.0.5).

#### **4.4 Concentración de Fe y Mn durante la aparición de los primeros síntomas de Marea negra en la cosecha intermedia en ambos experimentos**

En la Figura 5A, se muestran los resultados para la cosecha intermedia del experimento 1. La concentración de Fe en la parte aérea es considerablemente menor que en las raíces, alrededor de 5 veces menor. Tanto en la parte aérea como en las raíces la aplicación de N disminuyó considerablemente la concentración de Fe en estos órganos de la planta. En la parte aérea disminuyó alrededor de un 60% respecto del tratamiento control. En las raíces disminuyó alrededor de un 35% respecto del tratamiento control.

Como se observa en la Figura 5B, la concentración de Mn al igual que en el tratamiento para Fe, fue mayor en las raíces, pero en este caso la fertilización nitrogenada no tuvo efecto en disminuir la concentración de este micronutriente, de hecho, tuvo un leve aumento en la concentración. En cambio, en la parte aérea, la fertilización con N logró disminuir la concentración de Mn alrededor de un 50%.



**Figura 5.** Concentración de Fe (a) y Mn (b) en la parte aérea (PA) y raíces (R) de plantas de lentejas cultivadas en macetas con y sin adición de N ( $\text{KNO}_3$ ) en un suelo con altas concentraciones de estos metales al final del experimento (90 días post emergencia). La concentración de los elementos fue determinada con fluorescencia de rayos X (FRX).

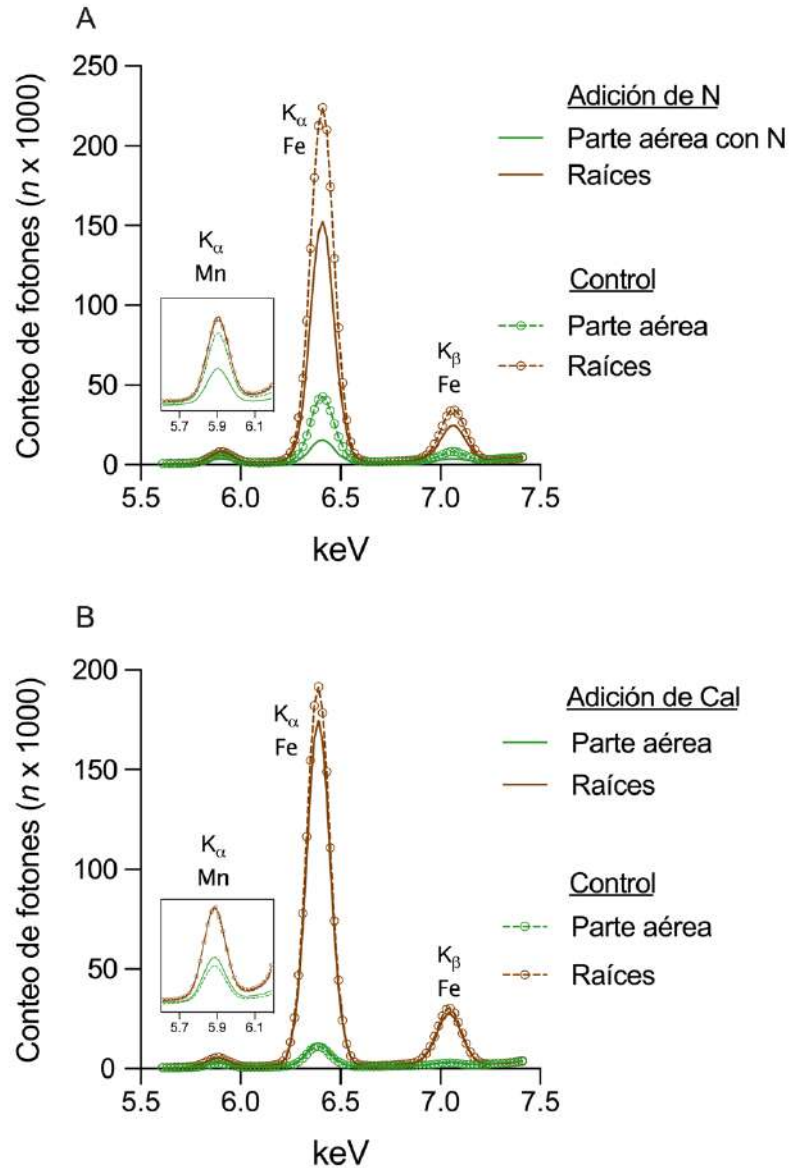
En la Figura 6 se muestran las concentraciones de Fe y Mn en hojas y raíces de las plantas de lentejas para los tratamientos control con adición de N y adición de cal. Debido a que fueron ensayos independientes, se presenta en la Figura 6A, la concentración de Fe y Mn para el control y la adición de N, mientras que en la Figura 6B, se presenta la información para el tratamiento con adición de cal y su respectivo control. En el tratamiento con N (Figura 6A) disminuyó la concentración de Fe en las raíces con relación

al tratamiento control. La disminución fue considerable, ya que disminuyó de alrededor de 230.000 a 150.000 conteos de fotones (*c*). En cuanto a la concentración de Fe en la parte aérea, la fertilización con N también ayudó a disminuir la concentración de este elemento, desde 45.000 a 20.000 *c* con relación al tratamiento control.

En cuanto a la concentración de Mn en las raíces, esta no fue afectada con la fertilización nitrogenada y se mantuvo en alrededor de 90.000 *c*. En cambio, en la parte aérea, si hubo una pequeña disminución de la concentración con relación al tratamiento control, bajando de 80.000 a 60.000 *c*.

En las plantas que crecieron en el suelo con adición de cal (Figura 6B), la concentración de Fe en las raíces disminuyó levemente, de 190.000 a 175.000 *c*. La adición de cal tuvo un efecto más bajo que la adición de N. En cuanto a la concentración de Fe en la parte aérea, la adición de cal no tuvo ningún efecto, ya que se mantuvo en un valor muy similar que aquel de las plantas en el tratamiento control, alrededor de 10.000 *c*.

En la parte aérea, la concentración de Mn aumentó tras la aplicación de cal, es decir, que se concentró un poco más en el tallo y las hojas, este aumento fue de alrededor de 50.000 a 60.000 *c*. Comparándola con la adición de N, el anterior tratamiento tuvo una respuesta más positiva, ya que en dicho tratamiento hubo una disminución en la concentración. En cuanto a la concentración de Mn en las raíces se mantuvo muy similar, alrededor de 80.000 *c*.



**Figura 6.** Concentración de Fe y Mn en muestras de plantas de lenteja después de la aplicación de: A) N y B) cal, durante la cosecha intermedia (103 días post emergencia). Las curvas representan el espectro entre 5,6 y 7,4 keV después de exponer las muestras a un equipo de fluorescencia de rayos X (FRX).

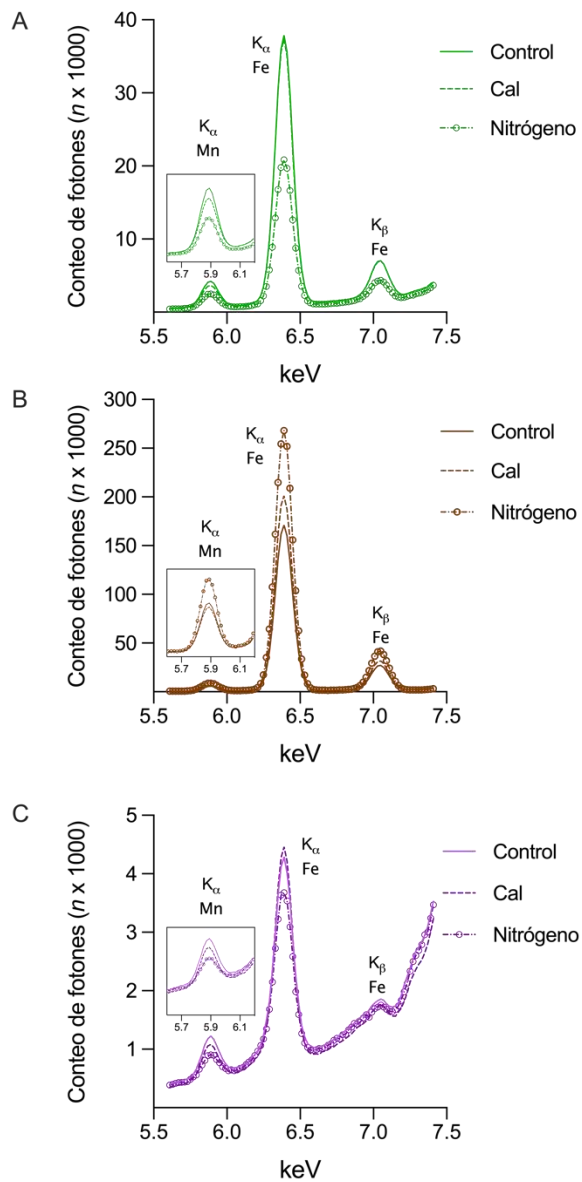
#### **4.5 Concentración de Fe y Mn a cosecha final para ambos experimentos**

Debido a que los tratamientos del segundo experimento con adición de N y adición combinada con N y cal resultó en un defoliamiento total de las plantas, se presenta la información combinada del experimento 1 y 2 para los tratamientos control, con adición de N y adición de cal. El tratamiento con adición de N pertenece al primer experimento, el cual no resultó en defoliación de las plantas. Por otra parte, los tratamientos del segundo experimento, control y adición de cal, completaron el ciclo y llegaron a cosecha de granos.

Así, la concentración de Fe y Mn en la parte aérea (Figura 7A) para los tratamientos control y con adición de cal la respuesta fue muy similar, ya que en ambos casos la concentración de Fe fue de alrededor de 40.000 *c*, no así en el tratamiento con N el que disminuyó alrededor de 20.000 *c*. En cuanto a la concentración de Mn, la respuesta fue muy similar, ya que en los tratamientos de cal y control la concentración fue de 3.600 y 4.200 *c*, respectivamente. En plantas con adición de N disminuyó significativamente la concentración de Mn respecto al control, con 2.300 *c*.

En cuanto a las raíces (Figura 7B), la concentración de Fe en el tratamiento con N alcanzó la mayor concentración con alrededor de 270.000 *c*. Los tratamientos con cal y control tuvieron niveles más bajos de concentración de Fe, 200.000 y 170.000 *c*, respectivamente. Por otro lado, la concentración de Mn fue muy similar a lo anteriormente descrito, ya que el tratamiento con N registró los niveles más altos de concentración con alrededor de 8.800 *c*. Los tratamientos con adición de cal y el control registraron niveles más bajos respecto del tratamiento con N, con alrededor de 5.600 y 6.100 *c*, respectivamente.

En cuanto a los granos (Figura 7C), la concentración de Fe fue muy similar en los tratamientos con adición de cal y control, con alrededor de 45.000 *c*. El tratamiento con adición de N presenta una concentración más baja de Fe, con alrededor de 37.000 *c*. Por otro lado, la concentración de Mn es similar, el tratamiento control presenta una mayor concentración con alrededor de 1.200 *c*, seguido del tratamiento con adición de cal, con una concentración de 1.100 *c*. El tratamiento con adición de N presenta una menor concentración de Mn con alrededor de 900 *c*.



**Figura 7.** Concentración de Fe y Mn en muestras de plantas de lenteja después de la aplicación de N y cal según órgano: A) Parte aérea (hojas y tallos); B) Raíces; y C) Granos, al final del experimento (282 DDS). En el gráfico pequeño se ha aumentado el peak para el elemento Mn. Las curvas representan el espectro entre 5,6 y 7,4 keV después de exponer las muestras a un equipo de fluorescencia de rayos X (FRX).



## V. DISCUSIÓN

Plantas leguminosas de la familia *Fabaceae* tienen la capacidad de realizar fijación simbiótica de nitrógeno atmosférico ( $N_2$ ) (Beringer et al., 1979). Para que esto ocurra, es necesario que en el suelo existan bacterias del género *Rhizobium*, que colonizan las raíces de las leguminosas, provocando unas deformaciones conocidas como nódulos (Urzúa, 2000).

La fertilización nitrogenada ayuda al aumento en la producción de biomasa de los cultivos (Olalde et al., 2000). Las leguminosas también producen más biomasa con la suplementación de fertilizantes nitrogenados sintéticos (Díaz y Díaz, 2009), sin embargo, se debe tener en cuenta que la aplicación de N inhibe la aparición de nódulos y la fijación de  $N_2$  (Schwember et al. 2019). En un estudio realizado por Abaidoo et al. (1990), se encontró que tanto la nodulación como la producción de MS alcanzaron su máximo rendimiento con una fertilización de 20 kg/ha de N en frijol. En un estudio de similares características con soja y frijol, se determinó que el nivel de biomasa no solo depende de la cantidad de N aplicado, si no que también de la cepa de bacterias fijadoras de  $N_2$  y diferencias en la  $T^\circ$  del suelo (Abaidoo et al., 1990). Como se mencionó anteriormente, en general, la fertilización nitrogenada está asociada con la represión de la nodulación. Experimentos muestran que la adición de N en una concentración de 55 mg por kg de suelo afecta directamente la nodulación (Gibson y Nutman, 1960). Por el contrario, adiciones en bajas concentraciones (6,5 mg N  $kg^{-1}$  suelo) podrían actuar como un estímulo. En un estudio de similares características, en el cual se evaluó el efecto combinado de la adición de N en baja concentración y P sobre el número de nódulos y su peso en lentejas, se observó que la adición combinada de N y P resultó en mayor cantidad de nódulos que en el tratamiento control (Singh et al., 2011). Esto indica que una fertilización nitrogenada moderada es beneficiosa para el establecimiento de nódulos en lentejas, la cual acompañada de la adición de P puede tener aun mejores efectos. Se puede decir que la formación de nódulos radicales y la fijación de  $N_2$  están directamente relacionados con la cantidad de N aplicado (Richards y Soper, 1979). En base a los

resultados de la presente memoria, se puede inferir que en aquellos tratamientos con adición de N disminuyó la cantidad de nódulos presentes (Figuras 3 y 4). En ambas figuras se observa que aquellos tratamientos que recibieron N tuvieron una baja cantidad de nódulos, ya estuvieran activos o inactivos. Por el contrario, en el tratamiento control, la cantidad de nódulos activos e inactivos fue mayor, siendo muy similar a la cantidad de nódulos del tratamiento con adición de cal.

Por otro lado, la adición de cal al suelo genera una respuesta positiva en las leguminosas, ya que incrementa la fracción de N derivado del aire (García et al., 2003). Al añadir cal, las leguminosas pueden fijar hasta un 30% más de  $N_2$ , lo que trae consigo una mayor producción de biomasa. En suelos de pH ácido (~5,5) sucede lo opuesto y disminuye la fijación de  $N_2$  por parte de las bacterias, con lo cual disminuye la fracción de N derivado del aire que las leguminosas pueden obtener (Barrientos et al., 1994). Muchas de estas limitaciones suceden por el exceso de Al presente en este tipo de suelos. Este elemento afecta negativamente la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa en cualquier etapa de desarrollo del cultivo, afectando la sobrevivencia de las bacterias, la nodulación y también el desarrollo de la propia leguminosa (Cooper et al., 1983).

Aparentemente, la cantidad de raíces que desarrollaron las plantas de lentejas influyó en la aparición de síntomas y procesos de defoliación en los estados iniciales de las plantas. Las plantas con adición de N tuvieron una menor cantidad de raíces y sufrieron defoliación, mientras que las plantas que crecieron en el suelo tratado con cal no sufrieron defoliación ya que desarrollaron un sistema de raíces más extenso. Lo anterior puede ser explicado a una menor exploración de las raíces en busca de N en el caso del tratamiento con aplicación de N, mientras lo contrario se observó en aquellas plantas que crecieron en suelos con corrección de pH. Se ha reportado que las plantas de lentejas tienden a desarrollar un sistema de raíces extenso en su fase inicial de crecimiento, lo cual les ayuda a soportar diferentes estreses (McKenzie y Hill, 1990). De modo similar, aquellas plantas que consiguen un prematuro desarrollo radicular tienden a sobrevivir a la deficiencia de agua (Sarker et al., 2005), aunque el desarrollo prematuro de las raíces depende también de la variedad de lenteja (Subbarao, 1995). La relación raíz/parte aérea es mayor en los

primeros estados de desarrollo, sin embargo, cuando la planta se acerca a la madurez fisiológica, esta tiende a equilibrarse.

En cuanto a la producción de MS a la madurez fisiológica, esta fue mayor en las plantas en el tratamiento control, con una producción promedio de 6 granos por planta, lo cual fue mayor que en las plantas del tratamiento con cal que solo produjeron 4,5 granos por planta (Cuadro 11). Cabe mencionar que las plantas que crecieron en el suelo con adición de cal no mostraron sintomatología asociada a toxicidad con Fe y Mn, por el contrario, en las plantas que crecieron en el suelo sin tratar (control), estas mostraron puntos negros y manchas marrones (ver foto en Anexo 1). Aún así, aparentemente la concentración tóxica que provoca una disminución del rendimiento no fue alcanzada en las plantas control y no produjo una disminución del rendimiento, o alternatively, la adición de cal al suelo restringió la disponibilidad de otros elementos esenciales para el normal desarrollo de las plantas. De este modo, la cal tiene un efecto positivo en disminuir la concentración de estos metales, ya que, al aumentar el pH del suelo, la disponibilidad de Fe y Mn disminuye, lo que evita que sean absorbidos hasta alcanzar concentraciones tóxicas, tanto en hojas como en granos.

El N también consiguió un efecto positivo, ya que la concentración de estos elementos también disminuyó, tanto en hojas y granos. Un aumento de la disponibilidad de N podría generar una mayor biomasa aérea, lo cual diluiría la concentración de Fe y Mn. La menor producción de raíces con adición de N podría explicar la menor absorción de Fe y Mn en comparación con aquellas plantas que dependen de la fijación de  $N_2$  o de la exploración del suelo para absorber N. Por otra parte, tanto Fe y Mn llegan a la superficie de la raíz por difusión (Barber, 1995), lo cual implica que una mayor exploración del suelo facilitaría su absorción. Eventualmente, la acumulación de Fe al interior de las células de las raíces, puede ser otro mecanismo desarrollado por la lenteja para evitar el transporte hacia la parte aérea. En este sentido, algunas leguminosas tienen la capacidad de oxidar  $Fe^{+2}$  a  $Fe^{+3}$  en las raíces y así poder acumular óxido férrico (Marschner, 1995). Por lo tanto, la oxidación de algunos metales pesados en las raíces puede representar un posible mecanismo que explicaría las diferencias de concentración entre la parte aérea y las raíces (Horiguchi, 1987).

En cuanto a la concentración de Fe y Mn en las plantas durante la cosecha intermedia, el tratamiento con N produjo un efecto positivo, disminuyendo la concentración de Fe en hojas y raíces. También disminuyó la concentración de Mn en la parte aérea, no así en las raíces. Por otra parte, en las plantas que se cosecharon al alcanzar la madurez fisiológica, el tratamiento con N generó una respuesta específica en cuanto a la concentración de Fe y Mn. La concentración de ambos nutrientes disminuyó en la parte aérea y aumentó en las raíces. Lo anterior puede implicar un mecanismo de exclusión del Fe y Mn en las raíces, evitando absorberlos y translocarlos a la parte aérea. El Mn es un micronutriente de movilidad media a baja dentro de la planta y que se mueve vía xilema a las hojas (Bonilla, 2001). Esta baja movilidad sumada a una fertilización nitrogenada afectó la concentración en la parte aérea y en las raíces. La tolerancia a altas concentraciones de Mn en especies leguminosas tropicales o templadas depende en parte a la retención de Mn en el sistema radicular (Andrew y Hegarty, 1969). Reportes indican que el contenido de Mn en las hojas de arroz es superior que el de las hojas de cebada para un mismo nivel de Mn en la solución de cultivo, mientras que las raíces de cebada acumulan mayor cantidad de Mn (Vlamis y Williams, 1964). Esta retención se asocia a la formación de complejos metálicos en las raíces (Foy et al., 1978). Se ha encontrado un comportamiento similar del Mn en plantas de maíz, aunque en algunos cultivares el Mn puede afectar más a la parte aérea que a las raíces (Doncheva et al., 2009).

En cuanto a la adición de cal al suelo, los resultados indican que en la parte aérea de las plantas que crecieron con este tratamiento, la concentración no es muy distinta al tratamiento control. Sin embargo, la concentración de Fe y Mn cambia en las raíces, ya que ambos nutrientes se encuentran en menos concentración que el registrado para el tratamiento control. Esto podría ser explicado por el efecto de la cal sobre el pH del suelo, el cual influye directamente sobre la disponibilidad de Fe y Mn para la planta, por lo que la absorción disminuye. En suelos calcáreos y bien aireados, la solubilidad de Mn disminuye a medida que aumenta la concentración de  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{MnO}_2$  (Jauregui y Reisenauer, 1982). Algo muy similar pasa con el Fe disponible en suelos calcáreos con pH cercano a 8, en los cuales la concentración de Fe disminuye (Robin et al., 2008). En un suelo ácido (pH 4,6) tratado con aplicaciones de cal hasta alcanzar pH neutro, se

observó un efecto muy similar al disminuir la concentración de algunos metales en plantas de tomate y col (Brallier, 1996). La disminución de Cd, Ni, Zn llevó la concentración de estos elementos por debajo de las concentraciones requeridas para Ni y Zn. Así, la adición de cal en suelos ácidos, que poseen mayor disponibilidad de algunos microelementos para las plantas, evita que estas los acumulen en concentraciones tóxicas.

## **VI. CONCLUSIONES**

La producción de MS fue menor tanto en el tratamiento con fertilización nitrogenada como con adición de cal. Sin embargo, la concentración de Fe y Mn disminuyó en la parte aérea y en los granos de las plantas cuando se fertilizó con N, aunque la concentración de ambos micronutrientes aumentó en las raíces. En cambio, al añadir cal al suelo, la concentración de Mn y Fe en la parte aérea de las plantas no varió, pero en las raíces y granos disminuyó la concentración de ambos elementos.

La fertilización con N afectó la aparición de nódulos radicales a diferencia del tratamiento control y el tratamiento con adición de cal, que si produjeron nódulos. La producción y peso de granos fue mayor en el tratamiento con N y el tratamiento control respecto del tratamiento con cal. El porcentaje de los granos manchados, tanto del tratamiento con adición de N como con cal fue menor respecto del tratamiento control, siendo el tratamiento con cal el más efectivo en cuanto a la no aparición de manchas en los granos.

## VII. REFERENCIAS

- Abaidoo, R., George, T., Bohlool, B. and Singleton, P. (1990). Influence of elevation and applied nitrogen on rhizosphere colonization and competition for nodule occupancy by different rhizobial strains on field-grown soybean and common bean. *Canadian Journal of Microbiology*, 36(2): 92–96.
- Andrew, C. and Hegarty, M. (1969). Comparative responses to manganese excess of eight tropical and four temperate pasture legume species. *Australian Journal of Agricultural Research*, 20(4): 687-696.
- Baginsky G. y Ramos C. (2018). Situación de las legumbres en Chile: Una mirada agronómica. *Revista Chilena de Nutrición*, 45: 21–31.
- Barber, S. (1995). *Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach*. 2nd Ed. John Wiley. New York, USA. 414 p.
- Barrientos, L., Campillo, R. y Méndez, E. (1994). La acidez del suelo y su efecto sobre la fijación simbiótica de nitrógeno en leguminosas forrajeras. *Agricultura Técnica*, 54(2): 118-123.
- Benton, J. (2003). *Agronomic handbook. Management of crops, soils, and their fertility*. Ed. CRC PRESS. New York, USA. 450 p.
- Beringer, J., Brewin, N., Johnston, A., Schulman, H. and Hopwood, D. (1979). The *Rhizobium*-Legume Symbiosis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 204 (1155): 219–233.
- Blamey, F., Joyce, D., Edwards, D. and Asher, C. (1986). Role of trichomes in sunflower tolerance to manganese toxicity. *Plant and Soil*, 91(2): 171–180.
- Bonilla, I. 2001. Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos minerales. En: *Fundamentos de fisiología vegetal*. Eds.: Ascon-Bieto, J. and Talon. M. McGraw Hill Interamericana. Ediciones Universidad de Barcelona. 83–130.

Brallier, S., Harrison, R., Henry, C. and Dongsen, X. (1996). Liming effects on availability of Cd, Cu, Ni and Zn in a soil amended with sewage sludge 16 years previously. *Water, Air, and Soil Pollution*, 86(1-4): 195–206.

Bromfield, S., Cumming, R., David, D. and Williams, C. (1983). Change in soil pH, manganese and aluminium under subterranean clover pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 23(121): 181–191.

Brown, P., Graham, R. and Nicholas, D. (1984). The effects of manganese and nitrate supply on the level of phenolics and lignin in young wheat plants. *Plant and Soil* 81: 437–440.

Campbell, L. C. and Nable, R. O. (1988). Physiological functions of manganese in plants. In: Graham, R. D., Hannan, R. J. and Uren, N. C. *Manganese in Soils and Plants*. 139–154.

Cooper, J., Wood, M., and Holding, A. (1983). The influence of soil acidity factor on rhizobia. In: Jones, D., and Davis, D. *Temperate legumes. Physiology genetics and nodulation*, Boston, Pitman. 319-335.

Cumbus, I., Hornsey, D. and Robinson, L. (1977). The influence of phosphorus, zinc and manganese on absorption and translocation of iron in watercress. *Plant and Soil*, 48(3): 651–660.

Díaz, M. y Díaz, R. (2009). Efecto de fertilizantes nitrogenados y lombricomposta en la distribución de materia seca y nodulación en frijol. En: Galdámez-Galdámez J., Guevara-Hernández F., Soto-Pinto L., López-Martínez J., Vázquez-García M. *Agricultura Sostenible*. Universidad Autónoma de Chiapas, Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible, AC. 318-328.

Doncheva, S., Poschenrieder, C., Stoyanova, Z., Georgieva, K., Velichkova, M. and Barceló, J. (2009). Silicon amelioration of manganese toxicity in Mn-sensitive and Mn-tolerant maize varieties. *Environmental and Experimental Botany*, 65(2-3): 189–197.



Edwards, D. and Asher, C. (1982). Tolerance of crop and pasture species to manganese toxicity. In: Proceedings of the ninth International Plant Nutrition Colloquium, Warwick University, England, August. 22-27.

Foy, C. (1976). Differential aluminum and manganese tolerances of plant species and varieties in acid soils. *Ciencia e Cultura*, 28(2): 150- 155.

Foy, C., Chaney, R. and White, M. (1978). The physiology of metal toxicity in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 29(1): 511-566.

France, A. y Tay, J. (1986). La Roña o Marea negra de la lenteja. *IPA Quilamapu*, 29: 18-21.

García, A., Dueñas, G., Hernández, G., Herrero, G., Nuviola, A., Méndez, N. y Zapata, F. (2003). Efecto del encalado en la respuesta vegetal y fijación simbiótica del nitrógeno en frijol común. *Agronomía Mesoamericana*, 14(2): 207-214.

Gibson A. and Nutman, P. (1960). Studies on the physiology of nodule Formation: with two figures in the text. *Annals of Botany*, 24(4): 420–433.

Halliwell, B. and Gutteridge, J. (1986). Iron and free radical reactions: tow aspects of antioxidant protection. *Trends Biochemical Sciences*, 11(9): 372-375.

Hepp, C. (2019). Recuperación de suelos ácidos en la Patagonia. INIA, Informativo N° 32. 4 p.

Hewitt, E. (1963). The essential nutrient elements: Requirements and interactions in plants. In Steward F. *Plant Physiology Volume (3). Inorganic Nutrition of Plants*, New York, USA. 137-360.

Horiguchi, T. (1987) Mechanism of Manganese Toxicity and Tolerance of Plants. *Soil Science and Plant Nutrition*, 33(4): 595-606.

Horst, W. (1988). The physiology of manganese toxicity. In *Manganese in Soils and Plants*. Springer, Dordrecht. 175–188.

Hughes N. P. and Williams R. J. P. (1988) An Introduction to Manganese Biological Chemistry. In: Graham R. D., Hannam R. J. and Uren N. C. Manganese in Soils and Plants. Developments in Plant and Soil Sciences, vol 33. Springer, Dordrecht.

INIA (2006). Calpún-INIA, cultivar lenteja, (*Lens culinaris* Medik) de grano grande y resistente a la roya. Centro regional de investigación Quilamapu. Informativo (12). 2 p.

Jarvis, S. and Robson, A. (1983). The effects of nitrogen nutrition of plants on the development of acidity in Western Australian soils. II\* Effects of differences in cation/anion balance between plant species grown under non-leaching conditions. Australian Journal of Agricultural Research, 34 (4): 355–365.

Jauregui, M. and Reisenauer, H. (1982). Dissolution of oxides of manganese and iron by root exudate components. Soil Science Society of America Journal, 46(2): 314.

Jury, G., Urteaga, C. y Taibo, M. (1999). Porciones de intercambio y composición química de los alimentos de la pirámide alimentaria chilena. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA): Centro de Nutrición Humana, Santiago, Chile. 129 p.

Kinzel, H. (1983). Influence of limestone, silicates and soil pH on vegetation. In Physiological plant ecology III. Springer, Berlin, Heidelberg. 201-244.

Marschner, H. (1995). Mineral nutrition in higher plants. Academic Press, 2nd Edition 889 p.

Marschner, H., Roemheld, V. and Kissel, M. (1986). Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron. Journal of Plant Nutrition, 9(3-7): 695-713.

McKenzie, B. A., & Hill, G. D. (1990). A preliminary investigation into root-shoot growth relationships of lentils (*Lens culinaris* Medik). In Proceedings Agronomy Society of NZ Vol. 20, p. 73.

Miller, R., Pushnik, J. and Welkie, G. (1984). Iron chlorosis, a worldwide problem, the relation of chlorophyll biosynthesis to iron. Journal of Plant Nutrition, 7(1-5): 1-22.

Muñoz, V., Pérez, C., Méndez, S. y Muñoz, M. (2015). Lecturas de apoyo para comprender mejor la química. México. 127 p.

Nable, R., Bar-Akiva, A. and Loneragan, J. (1984). Functional manganese requirement and its use as a critical value for diagnosis of manganese deficiency in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L. cv. Seaton Park). *Annals of Botany*, 54(1): 39–49.

Nable, R., Houtz, R. and Cheniae, G. (1988). Early inhibition of photosynthesis during development of Mn toxicity in tobacco. *Plant Physiology*, 86(4): 1136-1142.

ODEPA (2012). Propuesta de desarrollo de cultivo de leguminosas para la pequeña agricultura. Chillán, Chile. 89 p.

ODEPA (2015). Lentejas y Garbanzos: sus mercados y expectativas. Chile. 8 p.

Ohki, K., Boswell, F., Parker, M., Shuman, L. and Wilson, D. (1979). Critical manganese deficiency level of soybean related to leaf position. *Agronomy Journal*, 71(2): 233–234.

Olalde, V., Escalante, J., Sánchez, P., Tijerina, L., Mastache, Á. y Carreño, E. (2000). Crecimiento y distribución de biomasa en girasol en función del nitrógeno y densidad de población en clima cálido. *Terra Latinoamericana*, 18(4):313-323.

Pearson, R. W. (1975). Soil acidity and liming in the humid tropics. *Cornell International Agriculture Bulletin* v. 30. 66 p.

Prasad, R. and Power, J. F. (1997). Soil fertility management for sustainable agriculture. Lewis Publishers, Boca Raton, New York, USA. 356 p.

Richards, J. and Soper, R. (1979). Effect of N fertilizer on yield, protein content, and symbiotic N fixation in fababeans. *Agronomy Journal*, 71(5): 807-811.

Robin, A., Vansuyt, G., Hinsinger, P., Meyer, J., Briat, J. and Lemanceau, P. (2008). Iron dynamics in the rhizosphere: consequences for plant health and nutrition. *Advances in Agronomy*, 99: 183–225.

Rodríguez, M. y Morales, V. (2005). Toxicidad por manganeso en huertos de mango Haden en Venezuela. *Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica*, 56: 9-11.

- Sarker, A., Erskine, W. and Singh, M. (2005). Variation in shoot and root characteristics and their association with drought tolerance in lentil landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52(1): 89–97.
- Schmidt, S., Jensen, P. and Husted, S. (2016). Manganese deficiency in plants: the impact on photosystem II. *Trends in Plant Science*, 21(7): 622-632.
- Schwember, A., Schulze, J., Del Pozo, A. and Cabeza, R. (2019). Regulation of symbiotic nitrogen fixation in legume root nodules. *Plants*, 8(9): 333.
- Singh, G., Ram, H., Sekhon, H., Aggarwal, N. and Khanna, V. (2011). Effect of nutrient management on nodulation, growth and yield of lentil (*Lens culinaris* Medik.) genotypes. *American-Eurasian Journal of Agronomy*, 4(3): 46-49.
- Sepúlveda, P. y Baherle, P. (1986). Marea negra en lentejas. INIA La Platina, 36: 20-23.
- Subbarao, G., Johansen, C., Slinkard, A., Nageswara Rao, R., Saxena, N., Chauhan, Y. and Lawn, R. (1995). Strategies for improving drought resistance in grain legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 14(6): 469–523.
- Tay, J., Paredes, M. and Kramm, V. (1981). Araucana-INIA, variedad de lenteja de grano grande. *Agricultura Técnica*, 41(3):170.
- Tay, J., Peñaloza, E. and France, A. (2001). Breeding for resistance of lentil rust in Chile. p.243. In *Proceedings of the 4<sup>th</sup> European Conference on Grain Legumes. Towards the sustainable production of healthy food, feed and novel products*, European Association for Grain Legume Research (ed.), Cracovia, Poland.
- Tay, J., France, A. y Paredes, M. (2001b). Super Araucana-INIA: una nueva variedad de lenteja (*Lens culinaris* Medik.) chilena de grano grande. *Agricultura Técnica*, 61(3): 385-389.
- Tennant, D. (1975). A test of a modified line intersect method of estimating root length. *The Journal of Ecology*, 63(3): 995-1001.

Urzúa, H. (2000). Fijación simbiótica de nitrógeno en Chile: importante herramienta para una Agricultura Sustentable. Proc. XX Reunión Latinoamericana de Rizhobiología, Arequipa, Perú. 221-227.

Vlams, J. and Williams, D. E. (1964). Iron and manganese relations in rice and barley. *Plant and Soil*, 20(2): 221-231.

Wissemeier, A. and Horst, W. (1987). Callose deposition in leaves of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) as a sensitive response to high Mn supply. *Plant and Soil*, 102(2): 283–286.

Wissemeier, A. H. and Horst, W. J. (1991). Simplified methods for screening cowpea cultivars for manganese leaf-tissue tolerance. *Crop Science*, 31(2): 435–439.

Woolhouse, H. W. (1983). Toxicity and tolerance in the responses of plants to metals. In *Physiological plant ecology III*. Springer, Berlin, Heidelberg. 245-300.

Yamauchi, M. (1989). Rice bronzing in Nigeria caused by nutrient imbalances and its control by potassium sulfate application. *Plant and Soil*, 117(2): 275-286.

## ANEXOS

**Anexo 1.** Planta de lenteja con síntomas de marea negra por efecto de la toxicidad de Fe y Mn.



**Anexo 2.** Planta de lenteja sana, sin síntomas visuales del efecto de marea negra.



**Anexos 3.** Granos de lentejas cosechados con efectos de marea negra.



**Anexo 4.** Granos de lentejas cosechados sanos, sin machas por efecto de marea negra.

