

## RESERVA DE MICRONUTRIENTES Y COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN EN SUELOS AGRÍCOLAS SANTAFESINOS

MARÍA E CARRIZO<sup>1\*</sup>; CARLOS A ALESSO<sup>1</sup>; JAIR DO NASCIMENTO GUEDES<sup>2</sup> & SILVIA DEL CARMEN IMHOFF<sup>3</sup>

Recibido: 11-03-12

Recibido con revisiones: 13-12-12

Aceptado: 22-12-12

### RESUMEN

Los objetivos del trabajo fueron determinar los contenidos pseudototales, disponibles y ligados a las distintas fracciones químicas de Cu, Zn, Mn y Fe en Argiudoles de la pampa llana santafesina y comparar la concentración de estos micronutrientes extraídos con EDTA y con un método secuencial. Para esto se seleccionaron cuatro suelos con distinta intensidad de uso en los que se determinó el contenido pseudototal de estos elementos y su concentración con un método simple (EDTA) y de extracción secuencial (BCR). Los contenidos promedios pseudototales de Cu, Fe, Mn y Zn fueron: 14,4; 14010; 757 y 58,9 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente. Los niveles extractables con EDTA fueron: 4,4; 174,8; 410,6 y 8,4 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Los niveles de Cu estimados por ambos métodos fueron similares mientras que BCR extrajo mayores contenidos de Fe, Mn y Zn. La mayor parte del Fe, Zn y Cu se encontró en la fracción residual. Alrededor del 30% del Cu está disponible en la fracción oxidable y ligada a la materia orgánica. El Zn se asoció fundamentalmente a la fracción residual y en menor medida a formas intercambiables, oxidables y reducibles. El Mn está principalmente en la fracción reducible y en la fracción soluble en agua-ácido e intercambiable. Los resultados confirman que en estos suelos la disponibilidad de todos los micronutrientes –determinados con EDTA– se encuentran por encima de los valores críticos.

**Palabras clave.** Extracción EDTA, extracción secuencial, especiación, pseudototal.

### MICRONUTRIENT RESERVES AND AVAILABILITY AND COMPARISON OF TWO EXTRACTION METHODS IN AGRICULTURAL SOILS FROM SANTA FE

#### ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the pseudototal and available contents of Cu, Fe, Mn and Zn as well as their speciation in Argiudolls located in the flat Argentine Pampas, in Santa Fe province, and to compare the contents extracted by EDTA with those by a sequential method. Four soils with different soil use intensity were selected for the study. Pseudototal micronutrient contents were determined and their concentrations were estimated by simple (EDTA) and sequential (BCR) extraction methods. The pseudototal average contents of Cu, Fe, Mn and Zn were: 14.4; 14010; 757 and 58.9 mg kg<sup>-1</sup>, respectively. The EDTA extractable levels were: 4.4; 174.8; 410.6 and 8.4 mg kg<sup>-1</sup>, respectively. The concentrations of Cu estimated by both methods were similar while higher contents of Fe, Mn and Zn were estimated by the BCR method. Iron, Zn and Cu were mainly found in the residual fraction. About 30% of total Cu was available in the oxidizable fraction and bound to soil organic matter. Zinc was primarily associated with the residual fraction and to a lesser degree to exchangeable, oxidizable and reducible forms. Manganese was mostly linked to the reducible, water-acid soluble and exchangeable fractions. These results confirm that in these soils the availability of all micronutrients determined by the EDTA method are above the critical values for crop growth.

**Key words.** EDTA-extractable, sequential extraction procedures, speciation, pseudototal.

1 Facultad de Ciencias Agrarias, UNL. Kreder 2805, Esperanza. S3080HOF. Santa Fe. Becaria CONICET;

2 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, CEP: 23890-000, Seropédica, RJ.

3 Docente FCA/UNL - Investigadora CONICET, Kreder 2805, Esperanza 53080, Santa Fe.

\* Autor de contacto: maecarrizo@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

El cinc (Zn), cobre (Cu), hierro (Fe) y manganeso (Mn) son los micronutrientes más estudiados por su relación con el crecimiento, desarrollo y rendimiento de los cultivos (Ratto, 2006). En el suelo pueden encontrarse formando parte de minerales primarios, ocluidos en óxidos y/o carbonatos, formando complejos con la materia orgánica, como cationes de cambio y como fases solubles en la solución del suelo (Shuman, 1979).

La disponibilidad de los micronutrientes está fuertemente condicionada por las propiedades físico-químicas de los suelos, dado que éstas regulan la distribución de los mismos entre las distintas fracciones. Entre estas propiedades se encuentran la reacción del suelo, concentración de carbonato de calcio, capacidad de intercambio catiónico, concentración de otros nutrientes en la solución del suelo, contenido de materia orgánica y textura (Álvarez *et al.*, 2006).

Si bien el contenido total de los micronutrientes es un indicador de su reserva potencial en el suelo, dicha información no es suficiente para determinar su biodisponibilidad (Ortiz & Alcañiz, 2006). La determinación de las diferentes especies, formas o fases en las que se encuentran los micronutrientes en el suelo se denomina especiación (Davidson *et al.*, 1994). Ésta permite profundizar en el conocimiento tanto de la reserva potencial, como de su dinámica de movimiento y disponibilidad biológica (Raksataya *et al.*, 1966). Según Davidson *et al.* (1994) las especies pueden ser definidas desde un punto de vista: a) funcional, es decir aquellas que pueden ser absorbidas por las plantas, b) específico, como componentes particulares o estados de oxidación de un elemento y c) operacionalmente, de acuerdo a los procedimientos o reactivos usados en su extracción.

En la literatura se describen dos grandes grupos de procedimientos de extracción que permiten cuantificar operacionalmente las diversas fracciones: (i) simples o de un solo paso, y (ii) secuenciales. Los primeros son métodos sencillos, rápidos y costo-efectivos que se basan en la extracción de la fracción disponible para las plantas mediante la acción de un único agente extractante (Singh *et al.*, 1998). A su vez, dentro de este gran grupo los métodos difieren según el reactivo y la concentración utilizada.

Por otra parte, los métodos secuenciales consisten en extracciones sucesivas donde los reactivos utilizados en la etapas iniciales son de menor agresividad y más específicos, mientras que los subsecuentes son progresivamente

más destructivos y menos específicos (Leleyter *et al.*, 2012). Los esquemas de Tessier *et al.* (1979) y el método propuesto por Community Bureau of Reference (BCR) (Rauret *et al.*, 1999) y sus variantes, son los más adoptados para estudiar la distribución de las formas geoquímicas y biodisponibles de estos elementos. Los procedimientos de extracción secuencial proveen información más detallada dado que aportan información más detallada sobre las diversas formas de asociación de los micronutrientes en el suelo.

Ambos tipos de procedimientos, el de extracción simple y el secuencial, han sido empleados para evaluar la movilidad y disponibilidad de micronutrientes para las plantas en diferentes tipos de suelos, así como para estudiar la potencial toxicidad y el comportamiento biogeoquímico y ambiental de diversos metales pesados (Leleyter *et al.*, 2012; Álvarez *et al.*, 2006; Madrid *et al.*, 2007).

En la Argentina existen algunos antecedentes sobre el estudio de la disponibilidad de los principales micronutrientes (e.g. Cu, Fe, Mn y Zn) en Molisoles de la Región Pampeana. En la mayoría de los casos se han utilizado métodos simples con soluciones extractoras de EDTA y DPTA (Ratto de Míguez & Fatta, 1990; Urricariet & Lavado, 1999; Lavado & Porcelli, 2000; Buffa & Ratto, 2005; Miretti *et al.*, 2012). Los estudios sobre especiación son menos frecuentes y han sido realizados en Aridisoles y Entisoles (Aruani & Sánchez, 2003) o fueron orientados a problemas de contaminación por metales pesados (Iorio, 1999; Di Nanno *et al.*, 2007; Di Nanno *et al.*, 2009; Torri & Lavado, 2009). Por otra parte, se carece de estudios que comparen la efectividad de los métodos en la determinación del contenido de micronutrientes en suelos Argiudoles de la región central de Santa Fe.

Los objetivos del presente estudio fueron: (i) determinar los contenidos pseudototales, disponibles y adsorbidos en las distintas fracciones químicas de Cu, Zn, Mn y Fe para Argiudoles de la pampa llana santafesina y (ii) comparar la disponibilidad de micronutrientes extractables con EDTA con lo extraído por un método secuencial.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Cuatro Argiudoles típicos serie Esperanza, de textura franco limosa localizados en el centro de la provincia de Santa Fe (Argentina) fueron seleccionados para este estudio (Fig. 1). Estos suelos fueron sometidos a diversos manejos e intensidades de uso, desde no laboreo por más de 60 años hasta rotaciones

agrícolas con los últimos 10 años en siembra directa. Las propiedades físicas y químicas de los suelos estudiados se muestran en la Tabla 1. En cada sitio se extrajeron muestras perturbadas compuestas de los primeros 15 cm del horizonte superficial que fueron secadas al aire y tamizadas por 2 mm para el posterior análisis por cuadruplicado.

El análisis granulométrico se realizó por el método del hidrómetro (Gee & Or, 2002). La capacidad de intercambio catiónico (CIC), pH y nitrógeno total (Nt) fueron determinados por los métodos descritos en SAMLA (SAGPyA, 2004) y la materia orgánica (MO) según el procedimiento de Walkley-Black (IRAM-SAGPyA, 2007).

La fracción potencialmente biodisponible de los micronutrientes fue determinada en un solo paso con solución de EDTA 0,2 M, pH 7,5 como se describe en SAMLA (SAGPyA, 2004).

El fraccionamiento geoquímico de los micronutrientes se realizó según el protocolo BCR desarrollado por Sahuquillo *et al.* (2003). Operacionalmente se definieron las siguientes fracciones: (F1) fracción intercambiable, soluble en agua y ácido

lixiviada con una solución de ácido acético; (F2) fracción reducible o asociada con óxidos de Fe y Mn extraída con clorhidrato de hidroxilamina; (F3) fracción oxidable o unida a la materia orgánica liberada con agua oxigenada y acetato de amonio; y (RES) fracción residual estimada como diferencia entre los micronutrientes pseudototales y la sumatoria de las fracciones F1, F2 y F3.

Los contenidos pseudototales fueron obtenidos de acuerdo a ISO 11466 (ISO, 1995) mediante digestión con una mezcla de ácido fuerte como agua regia (ácido nítrico y ácido clorhídrico).

Las concentraciones de Fe, Mn, Zn y Cu de los extractos obtenidos fueron determinadas por espectrofotometría de absorción atómica, empleándose un equipamiento VARIAN- 55B.

Los porcentajes extraídos por cada método en relación al contenido pseudototal fueron comparados mediante la prueba de t para datos apareados con un nivel de significancia de 0,05 utilizando el software estadístico R versión 2.12.2 (R Development Core Team, 2011).

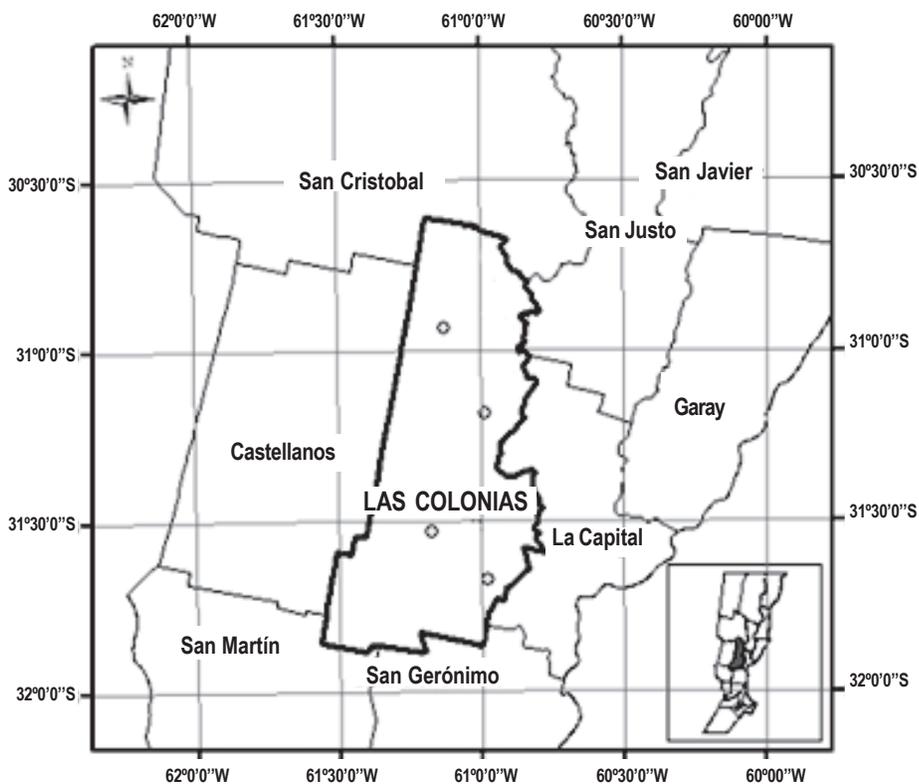


Figura 1. Mapa de la región central de Santa Fe con la localización geográfica de los sitios de muestreo.

Figure 1. Map of the central region of Santa Fe with the geographical localization of the sampling places.

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas de los suelos estudiados.  
Table 1. Physical and chemical properties of the studied soils.

Propiedades	Rango de valores	Valores medios
Granulometría (%)		
Arcilla (0-2 $\mu\text{m}$ )	18-25	23
Limo (2-50 $\mu\text{m}$ )	65-70	67
Arena (> 50 $\mu\text{m}$ )	5-9	8
pH (agua 1:2.5)	5,7-6,5	6,0
CIC ( $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ )	13,7-19,4	16,6
MO ( $\text{g kg}^{-1}$ )	21,5-42,3	26,5
N total ( $\text{g kg}^{-1}$ )	1,26-1,78	1,45
P extractable ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	9,3-85,4	36,3

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las concentraciones de cada micronutriente pseudototal y extraídos con EDTA se muestran en la Tabla 2. Además se presenta la sumatoria de los micronutrientes extraídos en los tres pasos del método BCR [*i.e.*  $\sum$ (fracciones 1-3)]. Se observó elevada variabilidad entre suelos en los contenidos de Zn, en relación a la cantidad medida, mientras que la variación observada en Cu, Mn y Fe fue de moderada a baja. El orden de importancia de los micronutrientes estudiados en función de su reserva potencial fue Fe > Mn > Zn > Cu, con una relación aproximada de 1000:50:4:1. Secuencias similares fueron informadas por Ratto (2006) para diferentes suelos de la Región Pampeana y Arauni & Sánchez (2003) para Aridisoles y Entisoles del valle de Río Negro.

La concentración de Mn biodisponible, independientemente del método de extracción empleado, fue mayor que la de Fe, alterando así el orden de la secuencia anterior (*i.e.* Mn > Fe > Zn > Cu). No obstante, a excepción del Cu, los totales lixiviados por el método BCR y EDTA difirieron

significativamente para los metales estudiados. El Fe presentó la menor proporción disponible en relación a la reserva total, por lo que la secuencia de los metales en función de su biodisponibilidad relativa fue: Mn > Cu > Zn > Fe.

Según Reith (1968), contenidos de Cu extraídos con EDTA menores a 0,75  $\text{mg kg}^{-1}$  de Cu pueden considerarse deficientes. En los suelos estudiados dicho elemento se encuentra aproximadamente 6 veces por encima de dicho umbral (Tabla 2). Del mismo modo, la disponibilidad de Mn –utilizando EDTA como extractante– fue superior a los valores críticos de 10-15  $\text{mg kg}^{-1}$  sugeridos por Mortvedt *et al.* (1991). En coincidencia con trabajos locales, no sería esperable detectar respuesta de los cultivos en estos suelos a la adición de este elemento (Buffa & Ratto, 2005; Miretti *et al.*, 2012).

En el caso del Zn, aunque la mayor parte no se encuentra disponible para los cultivos, la concentración en estos suelos es superior al valor crítico determinado con EDTA indicado por Trierweiler & Lindsay (1969) como umbral de deficiencia, *i.e.* 0,7-1,4  $\text{mg kg}^{-1}$ . No obstante, en la Región

Tabla 2. Contenidos de micronutrientes pseudototales (agua regia), extraídos por el método simple (EDTA), la suma de los tres pasos del método secuencial (BCR) y la diferencia entre métodos (BCR vs EDTA) para los cuatro suelos estudiados.

Table 2. Pseudototal micronutrient contents (aqua regia), extracted by the single method (EDTA), the sum of the three steps of sequential method (BCR) and the difference between methods (BCR vs EDTA) for the four soils studied.

Metal	Agua regia	EDTA	BCR	BCR vs EDTA
	$\text{mg kg}^{-1}$			
Cu	14,4 $\pm$ 1,0	4,4 $\pm$ 0,6	4,4 $\pm$ 0,2	0,05 $\pm$ 0,41
Fe	14010,9 $\pm$ 1467,5	174,8 $\pm$ 24,8	541,0 $\pm$ 104,6	356,2 $\pm$ 98,8**
Mn	757,0 $\pm$ 84,2	410,6 $\pm$ 55,5	724,7 $\pm$ 81,4	314,1 $\pm$ 32,8**
Zn	58,9 $\pm$ 13,4	8,4 $\pm$ 9,6	12,3 $\pm$ 10,8	3,88 $\pm$ 1,4*

\* indica diferencias significativas según prueba t de Student pareada ( $p < 0,01$ ). Los resultados están expresados como promedio  $\pm$  desvío estándar de los cuatro suelos estudiados.

Pampeana en los últimos años se confirmaron deficiencias de Zn en el cultivo de maíz (Ratto de Míguez & Fatta, 1990; Urricarriet & Lavado, 1999; Melgar *et al.*, 2001).

En este estudio, la concentración de Cu biodisponible en términos absolutos y en relación al pseudototal estimada por ambos métodos fue similar. Aproximadamente 30% del Cu total estaría disponible en estos suelos. Al no existir diferencias entre ambos procedimientos (simple y secuencial), las extracciones que incluyen un solo reactivo, como en este caso el EDTA, resultaría una forma simple y económica para estimar los contenidos disponibles de Cu para las plantas, aunque no aportaría información detallada sobre su asociación en las diversas fases del suelo. No obstante hay que destacar que Madrid *et al.* (2007) y Leyter *et al.* (2012), trabajando con diversos suelos y sedimentos marinos, concluyeron que el esquema BCR fue más agresivo que el EDTA.

Los valores de Fe pseudototales aquí informados se encuentran por debajo de los observados por Lavado y Porcelli (2000) en Argiudoles del norte de la provincia de Buenos Aires. La gran mayoría del total del Fe presente en estos suelos se encuentra en formas no lábiles y sólo una pequeña fracción está disponible. Ésta representó alrededor del 1 y 4% del Fe total, respectivamente, según el método de extracción empleado (EDTA o BCR) (Tabla 2). A pesar de las elevadas cantidades totales, en estos suelos no se observan problemas de toxicidad de Fe dada su baja disponibilidad. Por el contrario suelos muy meteorizados de zonas tropicales, como los Oxisoles, pueden presentar elevados contenidos de Fe que asociados a bajos niveles de potasio y fósforo, y pobre drenaje llegan a ocasionar problemas de toxicidad en los cultivos (Abreu *et al.*, 2005).

Las cantidades de Mn registraron las mayores diferencias en cuanto a la proporción biodisponible estimada por

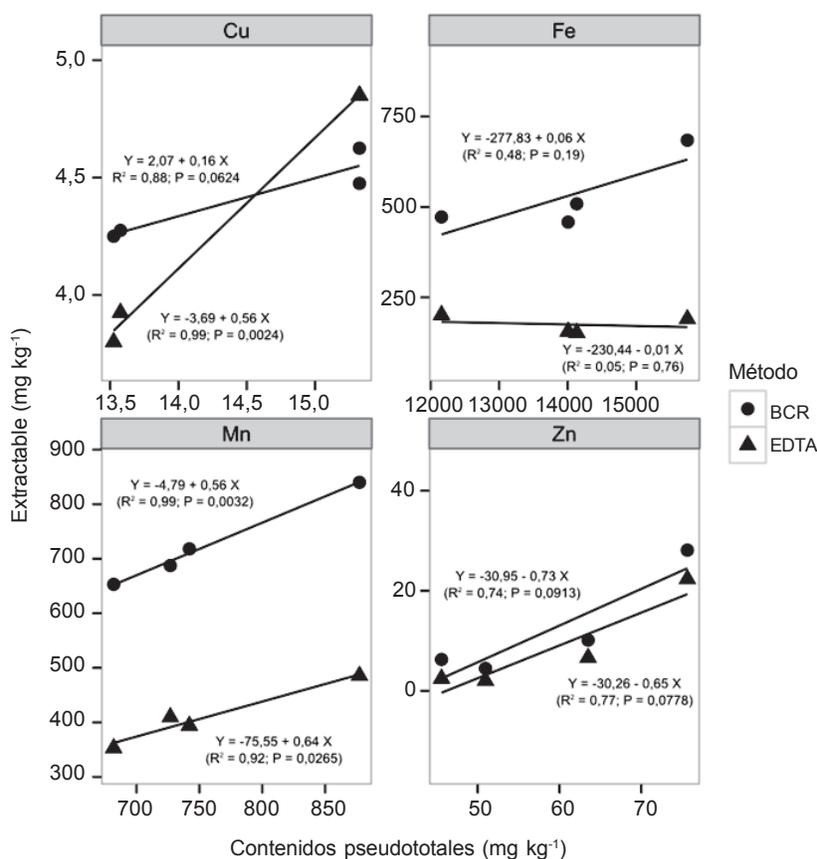


Figura 2. Relación entre los contenidos pseudototales de micronutrientes (Cu, Fe, Mn y Zn) y los extraídos por el método simple (EDTA) y el método secuencial (BCR) para los suelos estudiados.

Figure 2. Relationship between contents of pseudototal micronutrients (Cu, Fe, Mn and Zn) and those extracted by the single (EDTA) and the sequential (BCR) methods for the soils studied.

cada método (Tabla 2). Al utilizar el EDTA como solución extractora, entre el 50 a 58% del Mn total se encontraría disponible para las plantas; en cambio con el método BCR el porcentaje extraído fue en promedio 1,76 veces superior (95% del Mn total). Estos resultados concuerdan con aquellos informados por Madrid *et al.* (2007) y Leleytey *et al.* (2012).

En la Tabla 2 se observa que las cantidades de Zn extraídas con EDTA y con el esquema secuencial fueron pequeñas en relación al contenido pseudototal (entre 18 y 12%), con una elevada variabilidad entre los suelos estudiados.

La Figura 2 muestra la relación entre las cantidades de micronutrientes extraídas con EDTA y BCR en relación con el contenido total. A excepción del Fe determinado con el

método EDTA, se observa una relación positiva y variable entre los contenidos totales y los extraídos por los métodos estudiados. Álvarez *et al.* (2006) y Madrid *et al.* (2007) también observaron que las cantidades extraídas de Cu y Zn con EDTA y con el procedimiento de extracción secuencial son dependientes de la cantidad total en el suelo.

En la Figura 3 se presentan para cada micronutriente la distribución de las fracciones determinadas por el método secuencial. La mayor parte del Cu se determinó en la fracción residual (68%), lo cual indica que elevada proporción de dicho elemento se encuentra ocluido en la estructura de los minerales primarios y secundarios. El 32% restante está principalmente asociado con la fracción oxidable, dada la afinidad que presenta con la materia orgánica y por la formación de complejos estables (Fuentes *et al.*, 2004).

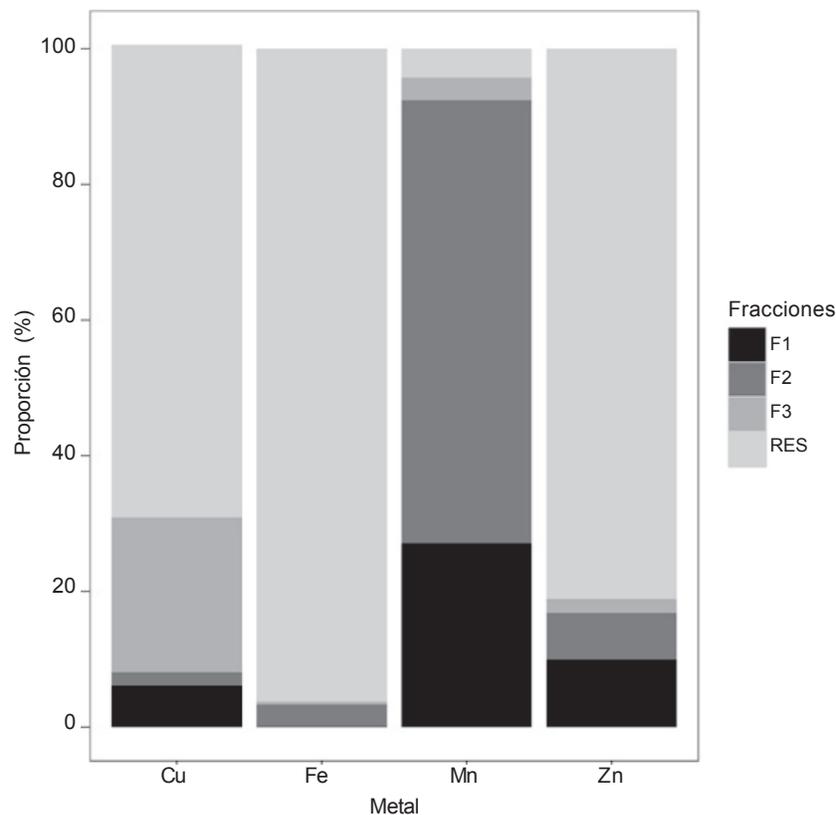


Figura 3. Proporción promedio de las fracciones obtenidas con el procedimiento de extracción secuencial para los cuatro suelos estudiados. F1: fracción intercambiabile, soluble en agua y ácido; F2: fracción reducible; F3: fracción oxidable; RES: diferencia entre contenido de micronutrientes pseudototales y la sumatoria de las fracciones F1, F2 y F3.

Figure 3. Average proportion of the fractions obtained by the sequential extraction procedure for the four soils studied. F1: exchangeable fraction, water and acid- soluble fraction; F2: reducible fraction; F3: oxidizable fraction; RES: difference between contents of pseudototal micronutrients and the sum of F1, F2 y F3.

Por su parte, el Fe es uno de los elementos más abundantes y aunque su concentración en el suelo puede oscilar entre 0,1% a 30%, su disponibilidad es muy baja (Torri *et al.*, 2005). En estos suelos alrededor del 96% se encuentra fundamentalmente asociado a la fracción residual y las cantidades lixiviadas desde otras fracciones son muy pequeñas. Similares resultados fueron obtenidos por Fuentes *et al.* (2004) en diferentes lodos de depuración. Por su parte, Garnier *et al.* (2006) encontraron que en suelos ultramáficos de Brasil, entre el 70 y 90% del Fe total está asociado a óxidos de Fe cristalino y sólo entre un 5 y 20% se encuentra en la fracción residual.

El Mn fue encontrado principalmente en su «forma reducible», aunque es importante señalar que el 27% del Mn se encuentra presente en la fracción soluble en agua-ácido e intercambiable (F1). Este micronutriente presentó un elevado nivel de biodisponibilidad en los cuatro suelos estudiados dado su elevado porcentaje de lixiviación en los primeros pasos de extracción. Leleytey *et al.* (2012) y Álvarez *et al.* (2006) también mencionan que grandes cantidades de Mn son extraídas en el paso II del procedimiento de extracción secuencial.

Según la literatura, el Zn se encuentra asociado básicamente a óxidos de Fe y Al, minerales de arcilla y formas orgánicas solubles. La materia orgánica, si bien no presenta un rol tan importante en la química de este elemento como en el caso del Cu, forma complejos muy estables con el Zn. La especiación mostró que en estos suelos el Zn se encontró asociado fundamentalmente a silicatos (33,5-56,5 mg kg<sup>-1</sup>), formas intercambiables (1,2-2,8 mg kg<sup>-1</sup>), ligado a materia orgánica (0,2-13,4 mg kg<sup>-1</sup>) y óxidos de Fe y Al (1,0-4,7 mg kg<sup>-1</sup>). Resultados similares fueron reportados por Álvarez *et al.* (2006). Las proporciones extraídas desde las fracciones fácilmente asimilables («intercambiable» y «reducible») explicarían el alto grado de movilidad de este elemento en el suelo.

Los resultados obtenidos y las tendencias observadas estarían indicando la importancia de realizar futuros estudios que evalúen y a su vez permitan establecer asociaciones entre el contenido de micronutrientes y el manejo al cual es sometido el suelo.

## CONCLUSIONES

Las cantidades biodisponibles difirieron significativamente en función de los esquemas de extracción em-

pleados según el elemento analizado. En el caso del Cu no hubo diferencias en la cantidad extraída por ambos métodos. Mientras que las cantidades de Fe, Mn y Zn liberadas por BCR fueron superiores a las extraídas con EDTA.

La mayor proporción de Cu, Fe y Zn se encontró en la fracción menos lábil o biodisponible (residual); el Mn fue dominante en la fracción reducible y en las fracciones solubles en agua-ácido e intercambiable, consideradas fácilmente asimilables.

Al considerar los umbrales de deficiencia, utilizando EDTA como extractante, estos suelos presentan niveles adecuados de Cu, Fe, Mn y Zn para asegurar un normal crecimiento y desarrollo de los cultivos.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado financieramente por el Programa de Centros Asociados para el Fortalecimiento de Posgrados Brasil/Argentina (CAFP-BA). Proyecto 011/08 (UFRRJ-UNL-UNS).

## BIBLIOGRAFÍA

- Abreu, C; B Van Raij; M Ferreira de Abreu & A González. 2005. Routine soil testing to monitor heavy metals and boron. *Sci. Agric.* 62(6): 564-571.
- Álvarez, JM; LM López-Valdivia; J Novillo; A Obrador & MI Rico. 2006. Comparison of EDTA and sequential extraction tests for phytoavailability prediction of manganese and zinc in agricultural alkaline soils. *Geoderma* 132: 450-463.
- Aruani, MC & EE Sánchez. 2003. Fracciones de micronutrientes en suelos del Alto Valle de Río Negro, Argentina. *Ciencia del Suelo* 21(2): 78-81.
- Buffa, EV & SE Ratto. 2005. Disponibilidad de cinc, cobre, hierro y manganeso extraíble con DTPA en suelos de Córdoba (Argentina) y variables edáficas que la condicionan. *Ciencia del Suelo* 23(2): 107-114.
- Davidson, CM; RP Thomas & SE McVey. 1994. Evaluation of a sequential extraction procedure for the speciation of heavy metals in sediments. *Anal. Chim. Acta* 291: 277-286.
- Di Nanno, MP; G Curutchet & SE Ratto. 2009. S, Zn, Cr, Cu and Fe changes during fluvial sediments oxidation. *Ciencia del Suelo* 27(2): 199-207.
- Di Nanno, MP; G Curutchet & SE Ratto. 2007. Anaerobic Sediment Potential Acidification and Metal Release Risk Assessment by Chemical Characterization and Batch Resuspension Experiments. *Soils Sediments* 7(3): 187-194.
- Fuentes, A; M Lloréns; J Sáez; A Soler; MI Aguilar; JF Ortuño & VF Meseguer. 2004. Simple and sequential extractions of heavy metals from diferent sewage sludges. *Chemosphere* 54: 1039-1047.
- Garnier, J; C Quantin; ES Martins & T Becquer. 2006. Solid speciation and availability of chromium in ultramafic soils from Niquelândia, Brazil. *Journal of Geochemical Exploration* 88: 206-209.

- Gee, GW & D Or. 2002. Particle-size analysis. Pp. 255-292. In: Dane JH & C Topp (eds.). *Methods of soil analysis. Part 4. Physical Methods.* Soil Science Society America Book Series. Madison, ESA. 866 pp.
- lorio, AF. 1999. Distribución y dinámica de las formas químicas del cobre en un Natracuol de la Pampa Deprimida. Tesis Magíster Scientiae, Universidad de Buenos Aires. Argentina.
- IRAM-SAGPYA 29571-2. 2007. Calidad ambiental. Calidad del suelo. Determinación de materia orgánica en suelos. Parte 2-Determinación de carbono orgánico oxidable por mezcla sulfocrómica en suelos. 14 pp.
- ISO 11466. 1995. International Organization Standardization: Soil quality-Extraction of trace elements soluble in aqua regia. *Geneva* 6 pp.
- Lavado, R & C Porcelli. 2000. Contents and main fractions of trace elements in Typic Argiudolls of the Argentinean Pampas. *Chemical Speciation and Bioavailability* 12(2): 67-70.
- Leleyter, L; C Rousseau; L Biree & F Baraud. 2012. Comparison of EDTA, HCl and sequential extraction procedures, for selected metals (Cu, Mn, Pb, Zn), in soils, riverine and marine sediments. *Journal of Geochemical Exploration* 116-117:51-59.
- Madrid, F; R Reinoso; MC Florido; E Díaz Barrientos; F Ajmone-Marsan; CM Davidson, CM & L Madrid. 2007. Estimating the extractability of potentially toxic metals in urban soils: A comparison of several extracting solutions. *Environmental Pollution* 147: 713-722.
- Melgar, RJ; J Lavandera; M Torres Duggan & L Ventimiglia. 2001. Respuesta a la fertilización con boro y zinc en sistemas intensivos de producción de maíz. *Ciencia del Suelo* 19(2): 109-114.
- Miretti, MC; M Pilatti; RS Lavado & S Imhoff. 2012. Historia de uso del suelo y contenido de micronutrientes en Argiudoles del centro de la provincia de Santa Fe (Argentina). *Ciencia del Suelo* 30(1): 67-73.
- Mortvedt, J.; F Cox; L Shuman & Welch R. 1991. (eds.). *Micronutrients in agriculture.* 2nd Ed. SSSA, Madison. EEUU. 760 pp.
- Ortiz, O & JM Alcañiz. 2006. Bioaccumulation of heavy metals in *Dactylis glomerata* L. *Bioresource Technology* 97: 545-552.
- R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>. Acceso Febrero de 2010.
- Raksataya, M; AG Langdon & ND Kim. 1996. Assessment of the extent of lead redistribution during sequential extraction by two different methods. *Analytica Chimica Acta* 332(1): 1-14.
- Ratto de Míguez, S & N Fatta. 1990. Disponibilidad de micronutrientes en suelos del área maicera núcleo. *Ciencia del Suelo* 8(1): 9-15.
- Ratto, SE. 2006. Los microelementos en el sistema productivo del área pampeana. Pp. 79-112. En: Vázquez, M. (ed.). *Micronutrientes en la Argentina.* Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo. Buenos Aires, Argentina. 207 pp.
- Rauret, G; JF López-Sánchez; A Sahuquillo; R Rubio; C Davidson; A Ure & P Quevauviller. 1999. Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials. *Journal of Environmental Monitoring* 1: 57-61.
- Reith, JWS. 1968. Copper deficiency in crops in north-east Scotland. *Journal of Agricultural Science* 70(1): 39-45.
- Sahuquillo, A; A Rigol & G Rauret. 2003. Overview of the use of leaching/extraction tests for risk assessment of trace metals in contaminated soils and sediments. *Trends in Analytical Chemistry* 22(3): 152-159.
- Shuman, LM. 1979. Zinc, Manganese and copper in soil fractions. *Soil Science* 127(1): 10-17.
- Singh, SP; FM Tack & MG Verloo. 1998. Heavy metal fractionation and extractability in dredged sediment derived surface soils. *Water, Air and Soil Pollution* 102(3-4): 313-328.
- SAGPYA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación de la Nación Argentina). Dirección de Producción Agrícola. 2004. Sistema de Apoyo Metodológico a los Laboratorios de Análisis de Suelos (SAMPLA). CD-room. ISBN 987-9184-40-8.
- Tessier, A; PGC Campbell & M Bisson. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry* 51(7): 844-851.
- Torri, S & R Lavado. 2009. Plant absorption of trace elements in sludge amended soils and correlation with. *Journal of Hazardous Materials* 166: 1459-1465.
- Torri, S; S Urricariet & R Lavado. 2005. Micronutrientes y elementos traza. Pp. 189-205. En: Echeverría, HE & FO García. (eds.). *Fertilidad de Suelos y Fertilización de Cultivos.* INPOFOS-INTA, Balcarce, Buenos Aires, Argentina. 525 pp.
- Trierweiler, JF & WL Lindsay. 1969. EDTA-ammonium carbonate soil test for Zinc. *Soil Science Society of America Proceedings* 33(1): 49-54.
- Urricariet, S & R Lavado. 1999. Indicadores de deterioro en suelos de la Pampa Ondulada. *Ciencia del Suelo* 17: 37-44.