



2/20

**DETERMINACION DE MICRONUTRIENTES, ASIMILABLES POR  
LAS PLANTAS, EN SUELOS DE CULTIVO. EFECTO DE LA  
ADICION DE Na<sub>2</sub>EDTA.**

R. 18893

por

**Antonio Aguilar Villalvilla.**

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA  
GRANADA  
Documento 61341639x  
Copia 15354490

Visado en Granada el  
día 16 de Mayo de 1966  
El Director

**Fdo. Manuel Lachica Garrido  
Doctor en Ciencias Químicas.**

Trabajo presentado para aspi-  
rar al grado de DOCTOR EN  
CIENCIAS, Sección de Quími-  
cas.

Granada a 16 de Mayo de 1966

**Firmado. Antonio Aguilar Vi-  
llalvilla, Licenciado en Cien-  
cias, Sección de Químicas.**

Hago constar mi agradecimiento al Dr. D. Manuel Lachica Garrido, Investigador Científico del C.S.I.C. director de esta tesis, maestro y amigo, que con su continuada dirección e inteligente consejo, ha hecho posible la realización de este trabajo.

Al Instituto de Edafología y Biología Vegetal del C.S.I.C., sin cuya ayuda no hubiera sido posible realizar este trabajo.

**A la memoria de mi padre.**

Capítulo I. - Introducción

I. - Introducción  
I.1. - Aspectos históricos relativos a la  
I.2. - Evolución de los conceptos desde los  
I.3. - Evolución de los conceptos desde los

II. - Aspectos biológicos  
II.1. - Características de las plantas  
II.2. - Aspectos biológicos

**INDICE**

\*\*\*\*\*

II.3. - Aspectos biológicos  
II.4. - Aspectos biológicos  
II.5. - Aspectos biológicos  
II.6. - Aspectos biológicos  
II.7. - Aspectos biológicos  
II.8. - Aspectos biológicos  
II.9. - Aspectos biológicos  
II.10. - Aspectos biológicos  
II.11. - Aspectos biológicos  
II.12. - Aspectos biológicos  
II.13. - Aspectos biológicos  
II.14. - Aspectos biológicos  
II.15. - Aspectos biológicos  
II.16. - Aspectos biológicos  
II.17. - Aspectos biológicos  
II.18. - Aspectos biológicos  
II.19. - Aspectos biológicos  
II.20. - Aspectos biológicos  
II.21. - Aspectos biológicos  
II.22. - Aspectos biológicos  
II.23. - Aspectos biológicos  
II.24. - Aspectos biológicos  
II.25. - Aspectos biológicos  
II.26. - Aspectos biológicos  
II.27. - Aspectos biológicos  
II.28. - Aspectos biológicos  
II.29. - Aspectos biológicos  
II.30. - Aspectos biológicos  
II.31. - Aspectos biológicos  
II.32. - Aspectos biológicos  
II.33. - Aspectos biológicos  
II.34. - Aspectos biológicos  
II.35. - Aspectos biológicos  
II.36. - Aspectos biológicos  
II.37. - Aspectos biológicos  
II.38. - Aspectos biológicos  
II.39. - Aspectos biológicos  
II.40. - Aspectos biológicos  
II.41. - Aspectos biológicos  
II.42. - Aspectos biológicos  
II.43. - Aspectos biológicos  
II.44. - Aspectos biológicos  
II.45. - Aspectos biológicos  
II.46. - Aspectos biológicos  
II.47. - Aspectos biológicos  
II.48. - Aspectos biológicos  
II.49. - Aspectos biológicos  
II.50. - Aspectos biológicos  
II.51. - Aspectos biológicos  
II.52. - Aspectos biológicos  
II.53. - Aspectos biológicos  
II.54. - Aspectos biológicos  
II.55. - Aspectos biológicos  
II.56. - Aspectos biológicos  
II.57. - Aspectos biológicos  
II.58. - Aspectos biológicos  
II.59. - Aspectos biológicos  
II.60. - Aspectos biológicos  
II.61. - Aspectos biológicos  
II.62. - Aspectos biológicos  
II.63. - Aspectos biológicos  
II.64. - Aspectos biológicos  
II.65. - Aspectos biológicos  
II.66. - Aspectos biológicos  
II.67. - Aspectos biológicos  
II.68. - Aspectos biológicos  
II.69. - Aspectos biológicos  
II.70. - Aspectos biológicos  
II.71. - Aspectos biológicos  
II.72. - Aspectos biológicos  
II.73. - Aspectos biológicos  
II.74. - Aspectos biológicos  
II.75. - Aspectos biológicos  
II.76. - Aspectos biológicos  
II.77. - Aspectos biológicos  
II.78. - Aspectos biológicos  
II.79. - Aspectos biológicos  
II.80. - Aspectos biológicos  
II.81. - Aspectos biológicos  
II.82. - Aspectos biológicos  
II.83. - Aspectos biológicos  
II.84. - Aspectos biológicos  
II.85. - Aspectos biológicos  
II.86. - Aspectos biológicos  
II.87. - Aspectos biológicos  
II.88. - Aspectos biológicos  
II.89. - Aspectos biológicos  
II.90. - Aspectos biológicos  
II.91. - Aspectos biológicos  
II.92. - Aspectos biológicos  
II.93. - Aspectos biológicos  
II.94. - Aspectos biológicos  
II.95. - Aspectos biológicos  
II.96. - Aspectos biológicos  
II.97. - Aspectos biológicos  
II.98. - Aspectos biológicos  
II.99. - Aspectos biológicos  
II.100. - Aspectos biológicos

Objeto del trabajo .....	1
=====	
<b>I. - Introducción</b>	
=====	
<b>I.A. - Antecedentes históricos relativos a la nutrición de plantas .....</b>	5
<b>I.B. - Función de los elementos traza en las plantas .....</b>	12
<b>II. - Revisión bibliográfica</b>	
=====	
<b>II.A. - Corrección de deficiencias con quelatos ..</b>	19
<b>II.B. - Agentes quelantes naturales .....</b>	23
<b>II.C. - Agentes quelantes sintéticos .....</b>	25
<b>II.D. - Quelatos de Hierro. Diversos tipos de suelos .....</b>	30
<b>II.E. - Comportamiento de los quelatos en el suelo</b>	34
<b>II.F. - Quelatos de otros metales .....</b>	35
<b>II.G. - Absorción de los quelatos por las plantas..</b>	38
<b>II.H. - Agentes quelantes y quelatos, en el metabolismo de las plantas .....</b>	41
<b>II.I. - Competencia entre metales .....</b>	44
<b>II.J. - Competencia entre quelatos y raíces de diversas especies de plantas .....</b>	46
<b>II.K. - Quelatos y agentes quelantes, como activadores del crecimiento de las plantas .....</b>	49
<b>II.L. - Aplicación de los quelatos por vía foliar..</b>	51
<b>II.M. - Toxicidad de quelatos y agentes quelantes</b>	53

**III. - Parte primera.**  
=====

**Experiencias con suelos.**  
=====

**III. A. - Parte Experimental**

**III. A. 1. - Descripción de perfiles ..... 55**

**III. A. 2. - Incubación de los suelos ..... 59**

**III. A. 3. - Técnicas analíticas ..... 61**

**Cobre, Zinc, Hierro y Manganeso extrac-  
tables con acetato amónico. Mineraliza-  
ción del extracto..... 62**

**Cobre, Zinc y Manganeso totales ..... 64**

**Hierro total ..... 66**

**Determinación de los elementos Cobre, -  
Zinc, Hierro y Manganeso ..... 68**

**III. A. 4. - Resultados obtenidos ..... 80**

**III. B. - Discusión ..... 100**

**III. B. 1. - Efecto de la concentración de Na<sub>2</sub>EDTA.. 101**

**III. B. 2. - Efecto del tiempo ..... 112**

**III. B. 3. - Efecto de la presencia de Na<sub>2</sub>EDTA, en -  
el proceso de extracción ..... 120**

**IV. - Parte segunda**  
=====

**Experiencias con macetas**  
=====

**IV. A. - Parte experimental**

**IV. A. 1. - Cultivo de macetas ..... 128**

	<u>Páginas</u>
IV.A.2. - Técnicas analíticas .....	131
IV.B. - <u>Resultados obtenidos y discusión</u> .....	138
V. - Anexo =====	
<u>Efecto del Na<sub>2</sub>EDTA sobre el crecimiento de plántulas</u> <u>de centeno</u> .....	154
VI. - Conclusiones .....	159
=====	
VII. - Bibliografía .....	164
=====	



**OBJETO DEL TRABAJO**  
=====

Teniendo en cuenta que gran parte de la superficie del suelo español es de naturaleza calcárea, dándose las condiciones adecuadas para que las plantas desarrolladas sobre el mismo presenten deficiencias en micronutrientes por encontrarse los mismos en forma no asimilable, hemos considerado interesante atacar el problema de la posible solubilización de estos elementos menores, fijados por las condiciones del suelo, para hacerlos asimilables a las plantas que se desarrollan sobre el mismo.

El trabajo se ha dividido en dos partes. En la primera de ellas estudiamos la dinámica de algunos elementos liberados del suelo, por adición de un agente quelante. Consideramos de sumo interés este estudio dado que, dependiendo de los resultados obtenidos, podremos determinar la época en que la adición de agente quelante o quelato al suelo, producirá máximo rendimiento.

En la segunda parte, hemos creído conveniente comprobar

algunos de los resultados obtenidos anteriormente, estudiando los efectos que la adición de un agente quelante al suelo, producía sobre una planta creciendo sobre el mismo.

En ambas partes del trabajo, no estudiamos exactamente los mismos elementos, pues en la primera investigamos sobre Hierro, Manganeso, Cobre y Zinc, mientras que en la segunda, hemos tenido que prescindir del último elemento citado, por carecer de suficiente cantidad de muestra. En ambas experiencias hemos utilizado como agente quelante, la sal disódica del ácido etilen-diamino-tetraacético.

## **I. • INTRODUCCION.**

=====

## **I. A. - ANTECEDENTES HISTORICOS RELATIVOS A LA NUTRICION DE LAS PLANTAS.**

El problema de la nutrición de las plantas ha preocupado al hombre desde tiempos remotos. La curiosidad acerca del crecimiento de las mismas, ocupó la atención de muchos hombres en todas las épocas aunque no siempre le fué fácil explicar muchos de los fenómenos envueltos en tan complicado proceso, que ha sido y está siendo tarea posterior.

Hay recopilados tratados de Agricultura desde la época romana y en el siglo XVI y XVII son ya abundantes, alcanzando en Italia y Francia, principalmente, numerosas ediciones. En todos ellos se recogen y condensan las observaciones y experiencias de aquellas épocas.

Con la respuesta favorable que se obtenía al añadir a los suelos de cultivo, estiércol animal, cuerpos de animales muertos, cenizas obtenidas por la incineración de plantas, etc., se llegó al convencimiento de que "la corrupción es madre de la vegetación".

Francis Bacon (1623) creyó que el agua constituía el principal alimento de las plantas.

Glauber (1656), descubrió que el nitro (obtenido a partir de tierra recogida en establos de ganado bovino) agregado al suelo de cultivo, producía un gran incremento en las cosechas.

Francis Home (1757), preconizó la aplicación de la Química para establecer los principios de la Agricultura.

Saussure (1804), atacó el problema, estudiando el efecto del aire sobre las plantas y la naturaleza y origen de las sales que se encuentran en ellas. Llegó a la conclusión que el  $\text{CO}_2$  en pequeñas cantidades, era necesario para la vida de las plantas, que el Nitrógeno no era asimilado directamente del aire, y que la composición principal de las cenizas de las plantas, consistía en álcalis y fosfatos.

Sucedió un período de actividad en la investigación de estos problemas y en 1840, Liebig, en su famosa comunicación a la British Association, estableció nuevos principios acerca del mecanismo por el que las plantas se abastecen de  $\text{CO}_2$ , de Nitrógeno y de constituyentes minerales, así como el papel desempeñado por el suelo, el aire, el humus, etc. Esta teoría, al no tener en cuenta los procesos químicos que se producían en el suelo al añadir un abono mineral fracasó en la práctica y Way, en 1850, demostró que el suelo fija las sales solubles de Amonio, Potasio y Fósforo.

Aunque Liebig no llegó a dominar el complejo problema, fué su teoría la que sirvió de base para llegar a conocer posteriormente, los principios fundamentales de la nutrición de las plantas (Russell, 1954).

A partir de los trabajos de Sachs (1860) y Knopp (1860), se empezó a trabajar experimentalmente con cultivos hidropónicos y apareció enseguida una controversia acerca de la importancia de algunos

elementos como el Sodio y el Cloro.

Durante el siglo XIX, al comprobarse ya la presencia de muchos elementos en las plantas, predominó la teoría de considerar a muchos de ellos como innecesarios para la vida de las plantas, éstos es, considerar su presencia como meramente accidental y que se podría deber a su abundancia en los suelos sobre los que las plantas vivían.

Estos elementos, como el Hierro, Manganeso, Cobre y otros, se encontraban siempre en la materia viva. Al principio se consideró su presencia como una especie de contaminación y, desde luego, su función en la planta no era conocida.

En 1897, Bertrand afirmó que el Manganeso estaba constantemente asociado a la planta, formando parte de una enzima y llegó a considerar este elemento como un constituyente esencial del sistema de oxidación-reducción.

Masé en 1914, trabajando en cultivos hidropónicos, observó que no solo el Manganeso sino también el Zinc, eran necesarios para el maíz. Posteriormente añadió a la lista el Aluminio, el Boro, el Cloro y el Silicio.

La importancia del Boro ya había sido señalada por Agulhon en 1910, que experimentaba maíz y colza en cultivos sobre arena. Warington en 1923 recalcó la importancia de una dosis adecuada de ácido bórico permitía el crecimiento de la "Vicia faba" en cultivo hidropónico, ya que al suprimirlo, la planta moría.

En 1926 Sommer y Lipman afirmaron la absoluta necesidad del Boro para el crecimiento de una serie de especies de plantas.

En 1931, Sommer observó que adicionando pequeñas cantidades de Cobre al girasol, tomate y lino, se incrementaba su crecimiento y en el mismo año, Lipman y McKinney anotaron que el lino y la cebada creciendo en cultivos hidropónicos, no producían semillas si el Cobre estaba ausente.

Posteriormente trabajos de Anderson (1932), Oserkowsky y Thomas (1933), señalan clorosis en árboles frutales como resultados de una deficiencia en Cobre.

Mowry y Camp (1934), Banette y Warner (1935), confirmaron las observaciones de Mazé relativas a la importancia del Zinc.

Tatcher (1934) estima que, puesto que las deficiencias de Manganeso, Zinc, Cobre y Hierro inducen clorosis, es obvio que tales elementos intervienen en la formación de la clorofila, actuando quizás como agentes catalíticos en la fotosíntesis.

Burstrom (1939), experimentando la asimilación de nitrato por raíces de trigo, en presencia de pequeñas cantidades de Hierro y Manganeso, llega a la conclusión de que sin Hierro ni Manganeso, no hay asimilación de Nitrógeno. Una pequeña concentración de Manganeso (4mg/litro) hace que ésta tenga lugar. La adición de Hierro, en ausencia de Manganeso, induce una débil asimilación de Nitrógeno. Así pues, su conclusión es que el Manganeso, pero no el Hierro, cataliza directamente la asimilación de Nitrógeno.



Steinberg (1942), haciendo crecer *Aspergillus Niger* en un ambiente desprovisto de  $\text{CO}_2$ , advierte cómo la eliminación en el caldo de cultivo de Zinc, Cobre y Manganeso, reduce el crecimiento del hongo, más acentuadamente cuando no hay  $\text{CO}_2$ , que cuando éste está presente. Probablemente los elementos-traza reseñados, juegan un papel específico en la utilización del  $\text{CO}_2$  por el hongo.

Swanback (1939) en un estudio sobre la absorción de cationes por el tabaco, observa el efecto del Manganeso en la absorción del Potasio y el Calcio. A la vista de los resultados obtenidos, sugiere que hay un antagonismo entre el Calcio y el Manganeso pero no entre el Potasio y el Manganeso. Es decir, el Calcio antagoniza la absorción y utilización del Manganeso por la planta, mientras que el Potasio es indiferente.

Shive (1941) establece que el Hierro activo en los tejidos de la planta, es el Hierro ferroso y dado que el potencial de oxidación del Manganeso es más alto que el del hierro, si el Hierro es absorbido en forma férrica, mucha parte de él se reduce en la planta a menos que esta reducción se prevenga por la presencia del Manganeso que contrarresta esta reducción. Pero si hay deficiencia de Manganeso en la planta, habrá un exceso de Hierro ferroso que induce, por toxicidad, una clorosis. Y si la concentración de Manganeso es muy alta, la concentración de Hierro ferroso es muy baja y habrá también clorosis, pero esta vez debida a deficiencia de Hierro.

Con estos precedentes y los trabajos de Arnon, Steinberg y -

Twyman publicados entre 1937 y 1943, podríamos confeccionar una lista de elementos menores, dejando a un lado los llamados macronutrientes, que pueden considerarse como imprescindibles para la vida de las plantas, lista que no puede considerarse como definitiva puesto que en muchos casos sería incompleta y en otros, incluso admitiendo la necesidad de determinados elementos, no podríamos explicar aún el papel de éstos en la vida de las plantas.

Podríamos preguntarnos por qué hasta fecha relativamente reciente no se ha reconocido la importancia de los elementos menores o elementos traza en la nutrición de la planta. Hay que tener en cuenta, - que durante mucho tiempo las contaminaciones aportadas por los medios utilizados para cultivo, agua o arena, por las semillas, las macetas, etc., eran suficientes para mantener cierto nivel de micronutrientes en las plantas experimentadas. Una vez que se dispuso de agua purificada, sales nutritivas puras, etc., las distintas deficiencias se hicieron más evidentes. Estas deficiencias pueden destacarse en algunos casos, por síntomas visuales característicos que son de un gran valor - previo a la investigación pero hay que tener en cuenta los siguientes hechos:

En primer lugar, no hay que olvidar que los síntomas visuales aparecen cuando ya la deficiencia es muy severa. También es muy raro encontrar y apreciar deficiencia de un solo elemento; es más corriente encontrar deficiencias múltiples y entences, al acumularse los sinto-

mas visuales, es más difícil determinar la causa que produce la anomalía.

En este sentido, el análisis químico del suelo podría ser de gran ayuda para establecer en qué situación se encuentra éste, desde el punto de vista de su posible aportación a la planta en microelementos, pero para esto se necesitan datos de muchos años y relacionarlos con datos de cosechas, para poder diagnosticar adecuadamente, ya que el simple análisis de un elemento en el suelo, no indica necesariamente en qué grado está el elemento en forma utilizable por la planta. Se puede encontrar clorosis férrica, por ejemplo, en plantas que crecen sobre suelos rojos lateríticos, muy ricos en Hierro total pero pobres en Hierro asimilable (Schütte, 1964).

El análisis de hojas, también puede ser un buen indicativo de las necesidades minerales de la planta aunque no hay que olvidar que la planta acumula gran cantidad de nutrientes que luego no utiliza en su metabolismo.

## **I. B. - FUNCION DE LOS ELEMENTOS-TRAZA EN LAS PLANTAS.**

El papel desempeñado por los elementos-traza en la vida de las plantas, sigue siendo en muchos casos materia de controversia e investigación y, hoy día, no están todos los hechos suficientemente explicados ni conocidos.

Es indudable que la mayoría de los elementos-traza entran a formar parte de los sistemas enzimáticos que regulan la actividad química de las plantas.

En el caso de algunas enzimas, la porción proteínica de la molécula tiene un simple ión agregado a ella; la eliminación de éste ión hace perder al enzima su actividad. Dado que en la materia viva hay un continuo desplazamiento molecular, los enzimas se degradan y reemplazan por otros nuevos y, aunque los materiales utilizados en su formación pueden ser producto de la degradación de aquellos a los que sustituyen, mucho de este material degradado no es utilizable y de aquí la necesidad de un aporte continuado de estas "materias vivas".

Los elementos-traza, por entrar a formar parte de los sistemas enzimáticos, sufrirán un continuo desgaste cuantitativo y hay que tener esto en cuenta a la hora de establecer el aporte de nutrientes a un suelo.

Los efectos que la presencia o ausencia de los elementos-traza producen en la planta, son muy diversos.

Los elementos estudiados en el presente trabajo, esto es, el Hierro, Manganeso, Cobre y Zinc, juegan un importante papel en diversos procesos enzimáticos, y, aunque la función desempeñada por los distintos elementos es muy similar, hay que advertir que no se pueden reemplazar unos por otros en la síntesis de los distintos enzimas.

De acuerdo con los resultados de los estudios sobre una variedad de los sistemas enzimáticos que requieren iones metálicos como cofactores, parece claro que tales metales pueden jugar dos papeles distintos en la actividad enzimática de un sistema: como elementos esenciales para la combinación del enzima con el sustrato, o como parte esencial de los sitios activos del enzima. En algunos casos, los iones metálicos pueden combinar los dos papeles.

Generalizando, se puede decir que los metales que intervienen de forma activa en la región catalítica, son propios del sistema que transfiere electrones e Hidrógeno, mientras que los que actúan como eslabón en la formación enzima-sustrato, aunque prácticamente se encuentran en todos los sistemas enzimáticos, son más característicos de los enzimas que intervienen en hidrólisis y en la transferencia de restos acilo. (Boyer y col., 1959).

La importancia fisiológica de los metales objeto de nuestro estudio, es consecuencia de lo anteriormente expuesto, ya que, como veremos a continuación, el Zinc y el Manganeso son imprescindibles

para la unión de una multitud de enzimas con su sustrato correspondiente, y el Hierro y el Cobre, a más de participar también en la formación del complejo enzima-sustrato de algunos sistemas, son parte esencial de numerosos enzimas de oxidación-reducción.

El Zinc ha sido encontrado, y desempeña un papel esencial para su actividad, en numerosos enzimas entre los que citaremos la carboxipeptidasa, enzima que separa de las cadenas peptídicas aminoácidos terminales con el grupo carboxilo libre; contiene un átomo de Zinc por mil de proteína (Vallee y Wacker, 1956).

La anhidrasa carbónica (Kägi y Vallee, 1960), que efectúa la siguiente reacción:  $H^+ + CO_3H^- = CO_2 + H_2O$ , aunque el mecanismo de acción no es bien conocido, se cree que tanto el  $CO_2$  como el  $CO_3H^-$  se unen como ligandos al átomo de Zinc unido a la proteína para formar un complejo de coordinación (Haurowitz, 1963).

También forma parte el Zinc de muchas deshidrogenasas cuyo coenzima son los piridin nucleótidos, habiéndose sugerido que los tres componentes del complejo ternario (apoenzima-coenzima-sustrato) son mantenidos unidos por coordinación con el ión Zinc (Haurowitz, 1963). Entre estas deshidrogenasas podemos citar la alcohol deshidrogenasa de levaduras e hígado (Kägi y Vallee, 1960), lactico deshidrogenasa (Vallee y Wacker, 1956) y glutámico deshidrogenasa (Frieden, 1953). Todos estas enzimas son inhibidos por la 1-10 fenóntrolina que forma quelatos con el Zinc y, consecuentemente, se supone que dicho metal es esencial

para la actividad catalítica del enzima. (Mälstrom y Rosemberg, 1959)

En cuanto al Manganeso, actúa también, como hemos dicho anteriormente, haciendo posible la formación del complejo enzima-sustrato en un gran número de sistemas. Quinasas, o sea, enzimas que hidrolizan los ésteres del ácido orfosfórico, parecen requerir iones Manganeso o Magnesio. Esto es consecuencia de que tales metales en soluciones neutras o ligeramente alcalinas forman sales de fosfatos parcialmente asociadas, por lo que todos los enzimas que reaccionan con ésteres de fosfatos, requieren uno u otro de estos metales para su actividad. Un ejemplo de éstas, es la fructoquinasa (Hers, 1952).

La enolasa, que cataliza la reacción fosfoenolpirúvico  $\rightleftharpoons$  pirúvico, requiere Manganeso.

Este elemento también forma parte de peptidasas, entre ellas la prolinasa y prolidasa, enzimas que catalizan la hidrólisis de los enlaces peptídicos formados respectivamente por el grupo imino o carboxilo de la prolina (Smith, 1959).

También el Manganeso activa la glicilleucinepeptidasa (Hill y Smith, 1957).

Al contrario de los dos metales anteriormente citados, tanto el cobre como el Hierro deben su importancia fisiológica al hecho de que forman parte de los sitios activos de numerosos enzimas de oxidación-reducción, interviniendo en el transporte de electrones por cambios alternativos de sus valencias.

Hierro y Cobre han sido detectados en muchas flavoproteínas.

Estos iones metálicos parecen ser esenciales para canalizar los electrones desde el sistema transportador de dos electrones (sustrato-piridin nucleótidos-flavoproteínas) al sistema transportador de un electrón (flavoproteína-citocromo c-citocromo a-citocromo a<sub>3</sub>) (Mahler, 1956a).

Por su parte, el Hierro forma parte de las hemoproteínas (Wainio, 1956) (citocromo c, citocromo b, citocromo a, citocromo a<sub>3</sub>. etc.) que transportan electrones desde las flavoproteínas al Oxígeno. El átomo de Hierro se encuentra en estas enzimas en forma de Hierro porfirínico.

Al margen de estos componentes de la cadena transportadora de electrones, el Hierro en forma de Hierro porfírico entra a formar parte de la catalasa y la peroxidasa (Haurowitz, 1963), enzimas que descomponen el agua oxigenada utilizando respectivamente como sustrato otra molécula de agua oxigenada o bien un sustrato hidrogenado.

El Hierro en forma no porfirínica entra a formar parte de la ferredoxina, sustancia de la mayor importancia en los procesos fotosintéticos de las plantas. (Mortenson y col. 1962).

En cuanto al Cobre, se conoce desde hace tiempo que entra a formar parte de muchas oxidasas, aunque no está completamente claro si el metal actúa en todos los casos como transportador de electrones, pasando alternativamente del estado cuproso al cúpri-



co o si actúa meramente como un centro de coordinación análogamente al Zinc. Al parecer actúa de la primera forma en el caso de la laca-  
sa (Nakamura, 1958), (Malström y col. 1959), polifenoloxidasa ascorbi-  
coxidasa (James, 1941) y citocromo c oxidasa (Sands y Beinert, 1959)  
y en la segunda forma, en el caso de la uricasa (Mahler, 1956 b).

## II. - REVISION BIBLIOGRAFICA.

=====

## II. A. - CORRECCION DE DEFICIENCIAS CON QUELATOS.

Debido a los fenómenos de precipitación que se presentaban en los iones metálicos, principalmente cuando se adicionan a suelos de alto pH, la posibilidad de adicionar elementos traza a estos suelos, se presenta extremadamente difícil.

La carencia de un metal específico en una planta, puede deberse a tres causas:

Primera: ausencia de éste en el suelo sobre el que vive la planta.

Segunda: el ión metálico, aunque presente en el suelo, no puede ser extraído por la planta.

Tercera: puede ocurrir que estando el elemento presente, a escala de laboratorio la planta no encuentra dificultad en su asimilación; en cambio, en el campo puede que exista alguna razón que impida la absorción del elemento por la planta (Smith, 1959).

En el primer caso, si las condiciones del suelo no son desfavorables (insolubilización por pH no adecuado, etc.), la adición del metal al suelo en forma de sal soluble, parece ser una solución satisfactoria.

En el segundo caso, la utilización de un quelato contrarresta el mecanismo de precipitación del elemento metálico en el suelo y constituirá el medio de suministro del metal a la planta.

Por último, cuando a pesar de existir adecuada concentración de metal en el suelo en forma asimilable, éste, no obstante, no puede

ser aprovechado por la planta, entramos en el aspecto más difícil de la cuestión, puesto que los procedimientos de síntesis del sistema enzimático de los vegetales sea todavía un campo muy desconocido en la Química actual. Vemos pues, por lo que respecta al segundo punto, que el uso de los quelatos en la Agricultura constituye actualmente un amplio campo para la Investigación, como medio de suministrar a las plantas iones metálicos en forma asimilable.

El término Quelato, según Morgan y Deew que introdujeron este concepto en 1920, se deriva de Chela (palabra griega que significa gran garra del cangrejo y otros crustáceos) y la sugirieron para aquellos grupos con capacidad de producir anillos heterocíclicos, es decir, configuraciones en anillo que resultan cuando un metal se combina con dos o más grupos donadores de una simple molécula o ión.

Stewart y Leonard (1954a), Haertl (1958), Rubin y Princiotto (1963), Lehman (1963) y Schatz y col. (1964) estudian la Química de la quelación en cuanto a los procesos de nutrición vegetal.

Los suelos en que crecen las raíces de las plantas, contienen ligandos tales como  $\text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_3\text{H}^-$ ,  $\text{PO}_4\text{H}_2^-$  y compuestos orgánicos. Las células vegetales contienen aún mayor número de ligandos, pudiendo ser consideradas aquellas como sistemas deficientes en metales en las que un gran número de ligandos están compitiendo por los iones metálicos disponibles. Los metales también compiten entre sí por cada uno de los distintos ligandos, pero son realmente

aquellos los que faltan o pueden faltar; los ligandos varían enormemente en su afinidad por los diferentes iones metálicos. La razón de esto, está fuera de nuestro trabajo pero este comportamiento es la base del método por el que funcionan los diferentes metales en Biología y es también la razón por la que muchas especies de plantas encuentran tanta dificultad en obtener cantidades suficientes de Hierro u otros elementos.

Los ligandos en el suelo compiten con las raíces de las plantas por el Hierro, y pueden inducir clorosis férrica (Wallace, 1962)

El uso de los agentes quelantes para contrarrestar deficiencias metálicas puede haber sido uno de los casos en que el éxito inmediato, bajo ciertas condiciones dió al principio una falsa simplicidad al problema, siguiendo inmediatamente los conflictos y controversias cuando las condiciones no eran idénticas. Al no conocerse aún todos los factores envueltos en el problema, deberán tomarse con cierta reserva las conclusiones dadas por los distintos autores, aunque los resultados prácticos por ellos obtenidos, sean considerados como válidos.

Uno de los investigadores que más ha trabajado en este campo, Arthur Wallace, de la Universidad de California (USA), recopila en 1956 más de 200 trabajos sobre el uso de los agentes quelantes en la Agricultura. Desde aquella fecha hasta ahora, otros varios centenares han sido publicados.

Según éste autor (1965), la eficacia de un quelato depende de su

especificidad frente al metal que se intenta suministrar a la planta, su resistencia frente a la descomposición microbiana, la estabilidad del sistema metal-quelato frente a la hidrólisis o inactivación por parte del suelo, la solubilidad en agua del metal-quelato y de la utilización de éste por parte de la planta, bien a partir del momento en que la raíz entra en contacto con él o bien dentro de la planta después de su absorción.

## II. B. - AGENTES QUELANTES NATURALES.

Desde el punto de vista teórico, sería muy interesante conocer el papel que juegan en la nutrición de las plantas, los agentes quelantes naturales, como algunas de las sales de ácidos orgánicos que se encuentran en los suelos, tales como citratos, lactatos, tartratos, etc., no sólo en cuanto a su función de proporcionar aquellos elementos metálicos que están en el suelo en forma, aparentemente, no asimilable sino en todos los mecanismos de transporte de estos metales, desde la raíz a las hojas, acumulación como nutrientes de reserva, etc.; ahora bien, no hay demasiada información acerca de estas sustancias quelantes naturales, a pesar de admitirse que los metales son movilizadas dentro de los tejidos de las plantas como quelatos.

La presencia de quelantes naturales orgánicos, se describe en un trabajo de De Groot (1956) que hace responsables de la no asimilación de Manganeso, en suelos marinos y de estuario, a la presencia de quelatos orgánicos, producto de la descomposición de la materia orgánica bajo condiciones de una alta relación Carbono:Nitrógeno.

Stewart y Leonard (1954 b) sugieren que las raíces producen agentes quelantes naturales que ayudan a la absorción del Hierro.

Igualmente Miller (1953) hace responsable a los agentes quelantes del estiércol, de la eliminación del Zinc del suelo de cultivo.

De acuerdo con estas ideas, Wallace (1963 a) anota que la pre-

sencia de agentes quelantes naturales, puede explicar por qué las plantas asimilan Hierro, inicialmente insoluble en el suelo.



## **II. C. - AGENTES QUELANTES SINTÉTICOS**

Los agentes quelantes deben tener, por lo menos, tres propiedades esenciales:

19. - Alto grado de resistencia al ataque de los microorganismos.
20. - Elevada estabilidad del correspondiente quelato metálico.
39. - Una alta especificidad, que solo se dá en contadas ocasiones, para el ión o iones metálicos que se pretenda suministrar a la planta.

Solamente un grupo o familia de compuestos sintéticos cubre este requisito. Son los ácidos del tipo poliamino carboxílicos, de los que el más empleado ha sido el EDTA (ácido etilendiamino tetraacético).

Otros compuestos similares, pero conteniendo grupos imino, como la glicina, el ácido imino-diacético o el ácido hidroxietilimino-diacético, son rápidamente descompuestos por los microorganismos del suelo y no son aconsejables para su uso práctico.

Una de las dificultades al revisar la literatura de los quelatos sintéticos es la, hasta ahora, variedad en la nomenclatura y la carencia de uniformidad en las siglas utilizadas para su abreviatura.

Nosotros citaremos, ya que aparecerán repetidas veces a lo largo del trabajo, como más importantes, aparte del EDTA, ya reseñado, los siguientes:

- HEDTA : ácido hidroxietil-etilendiamino-triacético.**  
**HEDDA : ácido dietilen-triamino-diacético.**  
**DTPA : ácido dietilen-triamino-pentaacético.**  
**DHEEDDA : ácido dihidroxietil-etilendiamino-diacético.**  
**EDDHA : ácido etilendiamino-(di-(0-hidroxifenil)-acético).**  
**CDTA : ácido ciclohexano-trans-1, 2-diamino-tetraacético.**

EDTA fué el primero de esta familia de compuestos, estudiado y aplicado en la nutrición de plantas. Forma con el  $Fe^{+++}$  un quelato muy estable y otro, menos estable, con el  $Fe^{++}$ . En comparación con otros compuestos del grupo, tiene una relativamente alta, afinidad por el Zinc, Cobre y Calcio. El uso de EDTA se limitó a su empleo en suelos ácidos, por la notable estabilidad de su complejo con el Calcio en medio alcalino prohibía su utilización en suelos calcáreos.

Hill-Cottingham y Lloyd-Jones (1957) demostró la carencia de estabilidad del compuesto  $FeEDTA$  en presencia de Calcio, poniéndolo en una solución ajustada a pH 7,8 con NaOH y agregando cantidades crecientes de  $Cl_2Ca$ . En ausencia de Calcio, el Hierro permanecía en la solución, pero cada adición de Calcio, incrementaba la cantidad de Hierro precipitado.

El EDTA fué utilizado primeramente en suelos ácidos de Florida (USA), donde el exceso de Cobre inducía deficiencias de Hierro.

**HEDTA**, difiere del EDTA en que un grupo de acetato está sustituido por un grupo de hidroxietilo. Esta sustitución hace decrecer la estabilidad del quelato con  $Fe^{+++}$ . Sin embargo, es mejor mantenedor de Hierro para las plantas que crecen en suelos calcáreos, en comparación con el EDTA, quizá por su alta resistencia a la hidrólisis.

**HEDDA**, es un agente quelante similar al EDTA y HEDTA, excepto que dos grupos acetato están sustituidos por dos grupos hidroxietilo. Los quelatos de Hierro que forma este compuesto son relativamente débiles. Probablemente, su utilidad en suelos calcáreos, es similar a los que forma el EDTA. (Stewart y Leonard, 1957).

**DTPA**, tiene como interesante, el que su molécula es algo más grande que las de los compuestos anteriores y el quelato que forma con el Hierro es más estable. Es ligeramente más efectivo para corregir clorosis en suelos calcáreos que el HEDTA y probablemente una de las razones por la que no es definitivamente eficaz, es por su alta afinidad por el Calcio, igual a la que tiene el EDTA.

**EDDHA**, compuesto análogo al EDTA, muy eficaz para la corrección de clorosis férrica, inducida, debido a la estabilidad del quelato que forma con el Hierro, en suelos alcalinos, Kroll, *et al.* (1957).

#### Constantes de estabilidad.

La estabilidad de los quelatos metálicos se expresa, usualmente, en términos de su constante de estabilidad, que indica cuanti-

tativamente la fuerza con que el metal es retenido por el agente complejante bajo ciertas condiciones. Estas constantes permiten predecir qué ión metálico reemplazará a otro, de un ligando específico, o si una molécula tendrá una más grande afinidad por este o aquel metal. Las constantes de estabilidad han sido determinadas en sistemas químicos definidos en los que las condiciones son mucho más simples que en los suelos. Por esta razón, es difícil, si no imposible, conociendo sólo la constante de estabilidad, predecir qué ocurrirá o interpretar qué ha ocurrido en suelos, donde las condiciones son variables y, a menudo, más complejas. Debido a la presencia de otros metales y ligandos, así como a las diferencias en pH y fuerza iónica, un agente quelante, que al combinarse con un metal dé lugar a un complejo con una relativamente baja constante de estabilidad, puede ser más efectivo, bajo ciertas condiciones, que otro con una constante más elevada para el mismo metal.

Entre los factores que influyen en la formación y estabilidad de los quelatos, el pH es de suma importancia ya que el ión hidrógeno y los iones metálicos compiten por los ligandos, y los iones  $\text{OH}^-$  y los ligandos, compiten por los metales.

En consecuencia, la facilidad de un ligando para acomplejar metales es inversamente proporcional al producto de solubilidad del hidróxido y un incremento del pH rebaja la concentración del ión metálico. Bajo estas condiciones, especialmente donde las constantes de

estabilidad sea bajas, los iones hidroxilo puedan competir más eficazmente por los relativamente pocos, iones metálicos libres. (Schatz y col. 1964).

## II. D. - QUELATOS DE HIERRO. DIVERSOS TIPOS DE SUELOS.

El Hierro ha sido el micronutriente más estudiado en nutrición vegetal. La deficiencia de Hierro se debe principalmente a dos causas: la interferencia para la asimilación del Hierro por excesivas cantidades de otros metales, como Cobre, Manganeso y Zinc, y la hidrólisis o precipitación del Hierro en suelos calcáreos.

Otras condiciones como la presencia de fosfatos, bicarbonatos, poca aireación del suelo y la genética de la planta juegan un menor papel en la inducción de la deficiencia de este elemento.

Así pues, los quelatos sintéticos se desarrollaron en principio como una necesidad de suministro de Hierro asimilable a las plantas.

El primer trabajo realizado dentro del campo de la nutrición vegetal con quelatos sintéticos de Hierro, fué el de Jacobson (1951).

El éxito de las primeras experiencias, desarrolla inmediatamente gran cantidad de publicaciones sobre el tema y, a la vez que poco a poco se van ensayando nuevos quelatos, se amplía el campo de experiencias a suelos calcáreos, donde empiezan las dificultades.

Leonard y Stewart (1953 b) aplicando quelatos distintos, el FeEDTA y el FeHEDTA para corregir una clorosis férrica en citrus, les resulta más eficaz el segundo, pero todavía en suelos ácidos.

Chabereck y Bersworth (1953) emplean también dos quelatos, FeHEEDTA y FeDHEEDDA, esta vez en suelos calcáreos, afirmando que estos compuestos son estables incluso frente a soluciones alcali-

nas muy fuertes.

Comparando varios quelatos, Hale y Wallace (1953) encuentran mejores resultados sobre plantas leñosas que crecen en suelos calcáreos, con  $\text{FeNaHEDTA}$  y  $\text{FeNaDTPA}$ , que con  $\text{FeNaEDTA}$ .

Weinsteia y col (1954) al no tener resultados apreciables con el  $\text{FeEDTA}$  en suelos neutros y de alto pH, ensayan otros quelantes, como  $\text{DTPA}$ ,  $\text{HEDTA}$ ,  $\text{DHEEDDA}$  y comparan sus resultados.

Sin embargo, en una experiencia de laboratorio y sobre suelos de alto pH, Stewart y Leonard (1954 c), encuentran más eficaz y estable el  $\text{FeEDTA}$  que el  $\text{FeHEDTA}$  y el  $\text{FeHEEDDA}$ .

Antognini (1954) hace una revisión de los quelatos de Hierro, estudiando las causas y diagnosis de las deficiencias. McCauliff (1954) y Stewart y Leonard (1954 b) hacen una revisión de los quelatos de Hierro, anotando los buenos resultados obtenidos hasta entonces, con su empleo.

White (1954), en un trabajo sobre la corrección de clorosis férrica de rosas y gardenias, anota que la aplicación del agente quelante  $\text{Na}_3\text{EDTA}$ , fué tan eficaz como la del quelato  $\text{NaFeEDTA}$ .

Vamos viendo que, según el tipo de suelo sobre el que se experimenta y según varía la especie de planta, cada investigador obtiene resultados que a veces no están muy de acuerdo con lo establecido hasta entonces.

Corrigiendo una clorosis en plantas de soja, sobre suelos cal-

cáreos, Holmes y Brown (1955) ensayan quelatos de Hierro de EDTA, DTPA, CDTA y EDDHA. Anotan que el más eficaz fué el FeEDDHA. También Cooper y Peynado (1956), encuentran más eficaz en citrus, el FeEDDHA que el FeDTPA.

También Wallace y col. (1955 a) establecen un orden de preferencia entre cinco quelatos empleados, eligiendo el EDDHA por su mayor estabilidad en suelos calcáreos, ausencia de apreciable fijación en la arcilla del suelo y su menor toxicidad relativa.

Bould (1955 a) en una experiencia con perales que crecen sobre suelos calcáreos, encuentra el FeCDTA como el más apropiada, después de haber ensayado también el FeHEDTA, pero advierte que parte del quelato se absorbe por la arcilla del suelo.

Armstrong y Furr (1956) encuentran poco eficaz el FeEDTA para corregir clorosis de naranjos y el FeHEDTA produce toxicidad, y Bould (1956) trabajando con frutales afirma que el FeEDTA, FeDTPA y FeHEDTA no son suficientemente estables en suelos de alto pH; en cambio Cooper (1957), combatiendo clorosis de toronjas en suelos calcáreos obtiene muy buenos resultados con el FeEDDHA y el FeDTPA, siendo más efectivo el primero.

Kuykendall y col. (1957) obtienen resultados inconsistentes en una aplicación de FeHEDTA para combatir clorosis en citrus, pero FeEDDHA responde satisfactoriamente.

En una gran variedad de suelos, Berworth (1957) aplica directamente o utilizando un portador, quelatos de Hierro, obteniendo bue-



nos resultados y Kroll y col. (1957) niegan rotundamente la eficacia de los quelatos de EDTA para corregir clorosis en suelos de alto pH, pero los quelatos de EDDHA resultan muy estables en suelos de pH entre 5,0 y 7,5.

A pesar de las limitaciones que, como vemos, tienen los quelatos de Hierro cuando se utilizan en suelos calcáreos y de alto pH, Jung (1958) estima que el FeEDTA es más eficaz, a pesar de todas sus limitaciones, que el citrato de Hierro, la sal de Mohr y los sulfatos de Hierro, para combatir clorosis férricas.

En una revisión que hace Wallace (1963 a), establece que el FeEDDHA es el más idóneo para suelos calcáreos puesto que el FeEDTA y el FeDTPA se fijan en el suelo.

Todos ellos, en general, resisten bien la acción microbiana, Haerti (1955); Abdulla y Smith (1963).

## II. E. - COMPORTAMIENTO DE LOS QUELATOS EN EL SUELO.

Parece ser que la arcilla cataliza la reacción de hidrólisis por la que se precipita el Hierro, y el que se fije la molécula del quelato en condiciones ácidas o básicas, se debe a la cantidad y tipo de las arcillas del suelo, según Lunt y Wallace (1955) y Butler y Bray (1956).

Por otra parte, Hemwall (1958), al estudiar la relación entre el FeEDTA y los minerales de la arcilla, no cree que éstos hagan perder Hierro al quelato, sino que la pérdida de Hierro se debe a la formación de un precipitado, quizá silicato férrico insoluble, teoría compartida por Stewart y Leonard (1958) que, utilizando técnicas de isótopos, establecen que ni el EDTA ni el FeEDTA se adsorben por la arcilla. Anteriormente, Lunt y col. (1956) habían establecido que el FeEDTA, FeDTPA y FeHEDTA, se fijaban en las arcillas de suelos ácidos y básicos aunque ni el contenido en materia orgánica, el grado de humedad, la actividad microbiana y la cantidad de sales en el suelo afectaban la pérdida de Hierro.

Wallace y col. (1957) consideraban que las reacciones de los quelatos metálicos con el suelo, incluían reacciones de cambio, hidrólisis alcalina, fijación por la arcilla y quelación con otros metales del suelo.

El mismo autor (1956), estudiando el comportamiento del FeEDTA, afirma que éste se une a la arcilla del suelo a través de un

eslabón Fe-O-Arcilla en las aristas de los cristales, con preferencia a que la fijación se efectúe en los planos basales de la arcilla.

La composición química de los suelos influye en el comportamiento de los quelatos y agentes quelantes.

La presencia de bicarbonato de Hierro en suelos de alto pH y calcáreos, reduce la absorción de Hierro por la planta, según Thorne y Wiebe (1957).

La presencia de fosfatos en la arcilla y la concentración de Calcio, afectan al comportamiento del EDTA, HEDTA, HEEDDA, DTPA y CDTA, según Hill-Gettingham y Lloyd-Jones (1957).

Según Dekock (1960) en presencia de gran cantidad de Oxígeno tiene lugar una clorosis férrica (en plantas de mestaza), debido a que se inhibe el último estadio de reducción de Hierro férrico a ferroso, antes de ser utilizado este elemento por las plantas.

La influencia del bicarbonato puede ser explicada de la misma forma que para el Oxígeno.

Por último, parece ser que, en general, los agentes quelantes resisten bien la acción microbiana del suelo (Haefl 1955 y 1963), e incluso la respuesta favorable que se obtiene con su utilización puede deberse al efecto beneficioso que ejercen los mismos sobre el metabolismo de los microorganismos del suelo. Abdulla y Smith (1963) estiman que el EDTA, CDTA, DTPA, EDDHA, HEDTA y otros agentes quelantes,

resisten bien la nitrificación del suelo.

## **II.F. - QUELATOS DE OTROS METALES.**

El problema de suministrar a las plantas otros metales distintos al Hierro, por medio de quelatos o agentes quelantes, no ha sido estudiado tan a fondo, como en el caso del Hierro.

Los investigadores que vamos encontrando en esta revisión bibliográfica, dedican casi exclusivamente su atención a los problemas de las deficiencias de Hierro y sólo de pasada, ocasionalmente, aportan algún dato relativo a las deficiencias de otros metales y su consiguiente corrección. Quizá la importancia económica de determinados cultivos, como el naranjo y el limonero en grandes áreas norteamericanas hayan focalizado estos estudios desde el principio, al caso del Hierro.

Posteriormente, se empieza a prestar atención a otros metales, al extenderse el campo de aplicación de los quelatos a otras zonas y otros cultivos. (Wallace y Mueller, 1959).

En lo que respecta al Zinc, parece ser que no hay duda en preferir como fuente de suministro de este metal la forma quelatada a la de compuestos inorgánicos. Aunque Alben (1955) encuentra resultados contradictorios, según el tipo de suelo, empleando ZnEDTA, Wallihan y Heymann-Herschberg (1956) y Lingle y Helmberg (1957) estudiando deficiencias de Zinc en maíz, obtienen respuestas favorables utilizando quelatos. Con plantas de tomate, en experiencias de invernadero, Lingle y col. (1958) corroboran lo anteriormente dicho. Sin embargo, Stewart y Leonard (1957), encuentran que la respuesta favorable que

obtienea trabajando con citrus en invernadero, con quelatos de Zinc, no se repite al pasar la experiencia al campo, al no encontrar ventaja al aplicar dichos quelatos en vez de sulfato de Zinc.

Cook (1958) no obtiene buenos resultados en viñas con deficiencias de Zinc, empleando ZnEDTA.

Sin embargo Chesnin (1963) obtiene respuestas en crecimiento más altas (trabajando con maíz) con quelatos de Zn (EDTA, DTPA, HEDTA) que con  $SO_4Zn$ .

Hay un trabajo de Butler y Bray (1956) que intenta relacionar la influencia de la arcilla en la absorción de los quelatos de Zinc y Wallace (1956) advierte que los quelatos de Hierro, Zinc y Manganeso, se comportan de manera distinta al fijarse en la arcilla del suelo. Este último autor (1957) cree que ni el ZnEDTA ni el MnEDTA se fijan en la arcilla.

Aplicando técnicas de isótopos, Stewart y Leonard (1956) encuentran que así como parece haber un cambio entre el Hierro del quelato y el Hierro del suelo, no lo hay entre el Zinc del quelato y el Hierro del suelo.

En cuanto a la composición química del suelo y su influencia en el comportamiento de los quelatos de Zinc, Wallace (1965 a) trabajando con citrus encuentra que la absorción del Zinc, es deprimida por altos niveles en el suelo de Calcio y fosfatos, pero la concentra-

ción de bicarbonatos no parece actuar de esta forma.

Por lo que respecta al Manganeso, Fiskell y Mourkides(1955) comparando distintas fuentes de Manganeso para aplicar en tomates, en suelos de pH entre 5,0 y 8,3, encuentran que los óxidos de Manganeso, éstos es, compuestos inorgánicos, son más eficaces que el MnEDTA.

## **II. G. - ABSORCION DE LOS QUELATOS POR LAS PLANTAS.**

Ha habido una considerable especulación entre si los quelatos son absorbidos como conjunto por las raíces de la planta o si el metal es separado del ligando en la raíz. Las técnicas de isótopos pueden resultar muy valiosas en este sentido.

Tiffin y Brown (1959) empleando FeEDDHA sobre las plantas de girasol, encuentran que el Hierro y el grupo quelante no se absorben en cantidades equivalentes por la planta. El Hierro se absorbe por las raíces y gran parte de EDDHA queda en la solución nutriente. Empleando compuestos marcados, los mismos autores (1960) estiman que ambos componentes entran juntos en la planta.

Hill-Cottingham (1955) sugiere que los quelatos de Hierro son absorbidos por la planta e indica que el Hierro es, probablemente, separado de su ligando por fotorreducción en las partes aéreas de la planta.

Posteriores estudios de Hill-Cottingham y Lloyd-Jones (1957) con plantas creciendo en soluciones nutritivas que contenían FeEDTA, pusieron de manifiesto un decrecimiento en la solución de la concentración del Hierro quelatado sin formación de EDTA libre. Opinan que la fotorreducción posiblemente no es necesaria para la utilización del FeEDTA por las plantas. En posteriores estudios (1961) usando Fe-EDTA marcado (C-14 y Fe-59) hicieron crecer plantas de toma

tes en soluciones nutritivas; todo el Hierro se recuperó, parte presente en la planta y parte en la solución. En cambio, sólo el 60 % del  $C^{14}$  fué recuperado después de 24 días, lo que suponía una descomposición del EDTA. A los 10 días, las plantas habían absorbido el 41 % del Hierro añadido pero sólo el 26 % del  $C^{14}$ . Puesto que no creían que la descomposición tuviera lugar en la solución nutritiva, presumían que la planta absorbía conjuntamente el Hierro y el quelato. Sin embargo, los resultados habrían sido más convincentes si el  $C^{14}$  hubiera sido recogido en los gases excretados por las plantas en su respiración, o detectado en diversos componentes de las plantas. (Stewart, 1963).

Tiffin y Brown (1961) creen que los quelatos de Hierro no son usualmente absorbidos por la planta, sino más bien que hay una separación en la raíz, del metal y el agente quelante. Llegan a estas conclusiones suministrando a plantas de soja  $C^{14}$  y quelatos de  $Fe^{59}$  de EDTA, DTPA y EDDHA en soluciones nutritivas. Los exudados de las plantas los analizaron por medida radioactiva. Las plantas deficientes en Hierro absorbieron una gran cantidad de Hierro y muy poco ligando, como indicaban las medidas del  $C^{14}$ . Pero las plantas a las que se había suministrado previamente suficiente cantidad de Hierro, antes de añadir los quelatos radioactivos, absorbieron mucho menos cantidad de Hierro y la misma cantidad de  $C^{14}$  que las plantas cloróticas. Observaron que el agente quelante entraba en la planta cuando había entrado todo el Hierro.



Según Wallace (1961 y 1963 a), que relaciona la cantidad de Hierro y EDDHA absorbidos por la planta, afirma que el que entren juntos en la planta, el metal y el agente quelante, depende del pH (a bajo pH queda parte del agente quelante en la solución), del tipo de planta y de la proporción entre el Hierro total y la cantidad de quelato.

## II. H. - AGENTES QUELANTES Y QUELATOS EN EL METABOLIS- MO DE LAS PLANTAS.

Es evidente la intervención de los quelatos y agentes quelantes en el metabolismo de las plantas que los absorben.

Gross (1953) encuentra que el EDTA, a baja concentración, acelera la actividad del adenosin-tri-fosfórico (ATP), quizá debido a que, al quelar el EDTA metales pesados, protege los sistemas enzimáticos, y a gran concentración la inhibe, posiblemente por quelar el Calcio.

Perkins y Purvis (1954) estiman que el EDTA es metabolizado por la planta ya que aumenta la cantidad de Nitrógeno en la misma, previamente controlado su suministro en este elemento, es decir, el aporte de Nitrógeno solo podía deberse al suministrado por el EDTA. Y sugieren que hay competencia entre el EDTA y los enzimas de las plantas, por los metales esenciales para la actividad enzimática.

Weinstein y col. (1956 b) estudiando la acción de distintas concentraciones de EDTA en plantas de soja, estableciendo los niveles encontrados de Nitrógeno total y Nitrógeno proteínico y admitiendo que el EDTA es absorbido por la planta y acumulado en las hojas, deducen que el EDTA es muy poco metabolizado por los sistemas biológicos.

Una aportación muy interesante se debe a Hill-Cottingham - (1955) que establece un esquema de cómo podría absorberse el quelato y cual es su metabolismo: Es el siguiente:

$Fe^{+++} EDTA + luz = Fe^{++} EDTA + \text{productos de descomposición del EDTA.}$

Así pues, es de la mayor importancia al realizar experiencias cuantitativas en el Laboratorio, tener en cuenta la influencia de la luz. Y sugiere que el Hierro entra a formar parte de la actividad de la planta, cuando el EDTA ha sido parcialmente metabolizado. A causa de la fotosensibilidad del quelato de Hierro, se puede presumir que la reducción tiene lugar en las hojas de la planta. El Hierro así liberado queda útil para acomplejarse con grupos proteínicos o ser reemplazado por otros metales, como el Cobre y el Zinc.

Esta misma hipótesis es mantenida por Hale y Wallace (1959) que afirman que el Hierro se separa del agente quelante en la hoja de la planta, quedando así disponible para su posterior uso fisiológico. El agente quelante queda asimilado o es metabolizado. Y está demostrado que el agente quelante influencia la fijación de  $CO_2$  por la planta.

El transporte del Hierro a través del tallo, es estudiado por Tiffin y Brown (1962), Khadr y Wallace (1964) estiman que este transporte es más importante que la absorción del mismo en la raíz.

La presencia de bicarbonatos y fosfatos, influye este movi-

miento.

Khaér y Wallace (1964), trabajando con habas, encuentran que el EDDHA facilita el movimiento del Hierro desde la raíz a las hojas. Otro quelato estudiado, el DTPA, no interviene en la absorción ni en el movimiento posterior del metal. La presencia de EDDHA en las hojas no hace disminuir la utilización del Hierro en la síntesis de la clorofila.

El hecho de que la ausencia de Hierro, que no es un constituyente de la clorofila, origine deficiencias de ésta, ha sido y sigue siendo un misterio. Wallace (1965) hace responsable de ese fenómeno a que la deficiencia de Hierro produce una reducción de uno de los ácidos ribonucleicos (RNA) que regula la síntesis del enzima que, a su vez, actúa en la síntesis de la clorofila. Esta conclusión, añade, puede ser usada para posteriores investigaciones.

En relación con esta teoría, encontramos en un trabajo de Chernavina y Rubin (1964) sobre la influencia de los metales en la formación de la clorofila en el maíz, un grado óptimo, cuando la relación entre el Hierro presente y el Manganeso es de 2 a 1.

## II. I. - COMPETENCIA ENTRE METALES.

Hay numerosas experiencias acerca de la competencia que se establece entre los distintos metales para entrar en la planta.

Holmes y Brown (1955) experimentando cinco distintos agentes quelantes, observa que hacen decrecer la concentración de Manganeso, Cobre y Calcio en las plantas.

Por otra parte, Haertl (1956) observa el efecto de una clorosis de Hierro inducida por el Cobre y estudia el antagonismo entre el Cobre y el Molibdeno. Puesto que algunos agentes quelantes incrementan la fijación de  $\text{CO}_2$ , Huffaker y col. (1959) creen que el efecto del quelato influencia la inactivación del Hierro, ya que plantas, en este caso, de soja, con deficiencias de Hierro, fijan mayor cantidad de  $\text{CO}_2$ .

Dos agentes quelantes, el EDTA y HEEDTA añadidos a soluciones hidropónicas sobre las que crecían plantas de algodón, aumentan la concentración de Hierro en hojas, en una determinada dosificación de ambos quelantes. Por encima de esta concentración, la cantidad de Hierro decrece. Ambos quelantes deprimen la absorción de Cobre y Zinc por las raíces, pero incrementan la absorción de Manganeso y facilitan el movimiento del Hierro, pero no el Manganeso. (Guinn y Joham (1962).

El EDTA, aplicado a cultivos de trigo y arroz, no cambia el pH del medio, pero incrementa, según Datta y col. (1962) la asimilación del Fósforo.

El Fe-K-EDTA aplicado en suelos ácidos a citrus, hace aumentar el contenido en Hierro de las hojas (Stewart y Leonard, 1952).

Wallace (1956 a y 1960) observan trabajando con soja, que aplicando cantidades crecientes de quelatos de Hierro, disminuye el contenido de Manganeso en la planta.

Incrementando la concentración de Hierro, puede variar la concentración de Manganeso, Cobre, Fósforo, Calcio, Magnesio, Boro y Potasio, según Brown y col. (1961 b) y los mismos autores (1961 a) estudian la competencia, al añadir DTPA a ocho especies de plantas, a cinco distintas concentraciones, entre el Hierro, Calcio, Magnesio, Fósforo, Cobre y Manganeso.

El Cobre y el Zinc pueden desplazar al Hierro de los quelatos FeEDTA y FeHEEDTA, según Guinn y Joham (1963). El desplazamiento depende del pH del suelo; cuanto más alto sea éste, más completo será el desplazamiento. El Cobre se afecta más que el Zinc, y el Hierro se desplaza más fácilmente del FeHEEDTA que del FeEDTA. Los cálculos muestran que la baja solubilidad del  $Fe(OH)_3$  hace posible este desplazamiento.

En un suelo de pH 8,0 aplicando CuEDTA a trigo, el quelato estimula la entrada en la planta de Fósforo, Potasio y Cobre, pero no la de Nitrógeno (Dakherg y col. 1965).

## II. J. - COMPETENCIA ENTRE QUELATOS Y RAICES DE DIVERSAS ESPECIES DE PLANTAS.

Brown y col. (1960) fueron los primeros en estudiar con algún detalle el fenómeno por el que los agentes quelantes pueden decrecer la absorción de Hierro por las plantas. Comparando la acción del EDTA, DTPA, CDTA con la del EDDHA, encontraron que la capacidad de quelación de este último dependía de la concentración de Hierro y del agente quelante competitivo en la solución. Esto estaba de acuerdo con las constantes de estabilidad de los quelatos de  $Fe^{+++}$ . Pero la competencia se observó a más bajas concentraciones que las previstas.

Se usaron plantas como patrones, en lugar de EDDHA, para medir la capacidad de quelación de las raíces frente al Hierro presente en la solución nutritiva. El trabajo muestra que los agentes quelantes pueden competir por el Hierro con las raíces de las plantas y que las distintas especies difieren en su capacidad para absorber Hierro de los quelatos.

El sorgo no absorbe Hierro del quelato  $FeEDDHA$  a menos que la concentración de Hierro exceda de la concentración de EDDHA. En contraste, la soja FI y las alubias rojas tienen capacidad para absorber Hierro a partir de  $FeEDDHA$  cuando la concentración del EDDHA es nueve veces mayor que la del Hierro.

Los mismos autores, en otra experiencia (1961a) en la que utilizaron ocho especies de plantas creciendo en solución nutritiva que contenía  $FeDTPA$ , encuentran, cuando la concentración molar del  $DTPA$  excede a la del Hierro, que se reduce agudamente el crecimiento en trigo, centeno, maíz, soja PI y alubias rojas. Las plantas se mostraron incapaces de competir por el Hierro con el agente quelante y dieron lugar a una clorosis férrica. Soja Hawkeye, soja amarilla, soja azul y lupinos blancos no acusaron signos de clorosis hasta que la concentración del  $DTPA$  se incrementó seis veces sobre la del Hierro. El sorgo fué incapaz de absorber Hierro con ningún tratamiento de  $DTPA$  y todas las plantas acusaron signos de clorosis férrica.

Resultados análogos a los anteriores son encontrados por Wallace y Hale (1961) trabajando sobre soja con Hierro y  $EDDHA$  marcados, ya que afirman que un exceso de  $EDDHA$  compete por el Hierro con la raíz de la planta. Brown y col. (1961 c) han sugerido que la competencia demostrada entre las raíces de las plantas y los agentes quelantes, por el Hierro, en soluciones nutritivas, pueden ser debidas a la capacidad reductora de sus raíces. Se han hecho estudios con plantas de soja PI, que es una variedad susceptible de presentar clorosis férrica y soja Hawkeye, variedad resistente a la clorosis. Las raíces de plantas de la segunda variedad, deficientes en Hierro, tienen una mayor capacidad reductora y absorben más Hierro que las raíces



de la misma variedad con suficiente Hierro o las raíces de la variedad PI deficientes en Hierro. Puesto que los quelatos de  $Fe^{++}$  son menos estables que los quelatos de  $Fe^{+++}$ , el Hierro es reducido en la superficie de la raíz y lo hacen más utilizable para las plantas.

Stewart (1963), sintetiza en un trabajo muy completo, una serie de variables que intervienen en la aplicación de un quelato, como son, la competencia entre los quelatos artificiales y los quelatos naturales que producen las raíces de las plantas, cómo se fijan los quelatos a los distintos suelos y cómo son absorbidos por las plantas.

## II. K. - QUELATOS Y AGENTES QUELANTES COMO ACTIVADORES DEL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS.

Heath y Clark (1956 a), observaron en coleoptilos de trigo, un incremento en su crecimiento en presencia de EDTA  $10^{-5}$  M idéntico al obtenido con la misma concentración de ácido 3-indolacético. Weinstein y col. (1956 a) hacen similar observación con secciones de hipocotilo de lupino, y comprueban una respuesta epinástica de la seja con concentraciones de EDTA de  $6,7 \times 10^{-5}$  M y más altas. El incremento del crecimiento según estos autores, se debe a la eliminación del Calcio de la estructura de la pared celular.

Bould (1955 b) también reporta aumento del crecimiento en árboles frutales aplicando diversos quelatos de Hierro. El mismo autor (1957) en unas experiencias en soluciones nutritivas, donde revisa el comportamiento de los quelatos de Hierro con respecto a su estabilidad en soluciones acuosas y en suelo, su absorción, metabolismo, etc. sugiere la posibilidad de que estos quelatos actúen como promotores del crecimiento de las plantas.

Graham y col. (1957), en cultivos de soja en arena, establecen que una concentración de 0,5 á 1,0 % de MgEDTA, incrementa el crecimiento de las plantas; en cambio, a más alta concentración, no se acusa aumento en el crecimiento.

Majumder y Dunn (1958) realizaron una experiencia con maíz, observando los efectos que el  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  producía a varias concentra--

**ciones. Los resultados muestran que el agente quelante utilizado se comporta como estimulante del crecimiento para bajas concentraciones y como tóxico para concentraciones superiores a 10 micromoles.**

## II. L. - APLICACION DE LOS QUELATOS POR VIA FOLIAR.

Hemos visto que la aplicación de los diversos quelatos a los suelos calcáreos, no siempre da respuestas favorables.

Una serie de investigadores, aplican los quelatos a las plantas en forma de riego o aspersión foliar.

La bibliografía consultada sobre este aspecto, es también numerosa y tampoco encontramos unanimidad en los resultados obtenidos por los diferentes autores.

Stewart y Leonard (1952) advierten que la pulverización foliar presenta el problema de que los residuos que quedan en la hoja producen un aumento de infección por parte de los insectos.

Coell y Sheji (1953) reducen una clorosis en plátanos, utilizando aspersión foliar de FeEDTA para complementar un tratamiento al suelo con el mismo quelato.

White (1954), que encuentra resultados positivos aplicando al suelo NaFeEDTA, no obtiene respuesta favorable cuando la adición de quelato se hace por vía foliar. Tampoco Cooper y Psynado (1954) obtienen resultados efectivos con la aplicación foliar a naranjos utilizando una serie de quelatos, que, sin embargo, aplicados al suelo, actúan eficazmente. Sin embargo, Bould (1955 b) que no tiene éxito en la corrección de clorosis férrica en ciruelos, aplicando al suelo NaFeEDTA, consigue reducir la clorosis usando la vía foliar.

Wallace y Bedri (1958) establecen que el riego foliar con que-

latos es el método más eficaz de suministrar Hierro y Zinc a muchas especies de plantas, porque, aunque la aplicación de los quelatos al suelo ha sido hasta entonces la técnica más utilizada, el precio de dichos productos hace prohibitivo su uso, salvo en aquellas plantas de elevado precio. La adición de otros compuestos químicos, tal como la urea, en asociación con los quelatos, para reforzar la acción de éstos, se discute también en este trabajo. A la vista de los resultados, se deduce que el riego foliar de FeEDDHA con un 1 % de urea, incrementa la absorción de Hierro en las plantas estudiadas, citrus, pero la mezcla de ZnEDDHA y urea al 1 % hace decrecer la absorción del Zinc.

Trabajando con perales, Ross y Dermott (1962) mejoran el color de las hojas cloróticas, pero el tratamiento resulta ineficaz en cuanto a aumentar la cosecha. Agärwalä y Mohrota (1963) arguyen la eficacia del tratamiento de riego foliar con FeEDTA, en 33 especies de plantas, para corregir en ellas clorosis férrica.

Wallace (1963 a) en una revisión sobre el empleo de agentes quelantes, anota que los tratamientos de aspersion foliar, no tienen tanto éxito como cuando son aplicados al suelo. Pero Däkhore y col. (1965) - utilizando CuEDTA por vía foliar en plantaciones de trigo, encuentran - más eficaz esta técnica de aplicación, que suministrando el mismo quelato directamente al suelo.

## II. M. - TOXICIDAD DE QUELATOS Y AGENTES QUELANTES.

En lo que sí están de acuerdo todos los autores de los trabajos revisados, es en advertir el peligro que corre la planta, cuando se aplican agentes quelantes o quelatos, en dosis indebidas, dada la toxicidad que un exceso de los mismos lleva consigo, aunque tampoco está muy claro que el efecto tóxico observado sea debido al quelato en sí, e a la acumulación de determinados metales, como el Cobre, que son tóxicos para las plantas a altas concentraciones, o bien, a la acumulación de elementos extraños en la planta que ésta no sea capaz de excretar.

Son Hale y Wallace (1953) los primeros autores que advierten que las plantas leñosas tratadas con macetas con FeNaEDTA resultan con síntomas graves de toxicidad.

Carnes (1954), Foster (1954) y Stewart y Leonard (1954 a) también destacan la toxicidad que observan aplicando dosis altas de quelatos.

Cooper y Peynado (1955), aplicando altas concentraciones de EDTA, en citrus, llegan a dañar las hojas, pero las mismas concentraciones de DTPA no parecen tener efectos tóxicos.

Wallace y col. (1955 a) informan que comparando el efecto tóxico de cinco quelatos distintos, FeHEEDTA, FeEDTA, FeCDTA, FeDTPA y una amina aromática cuya referencia es 138, encuentran que los dos primeros son los que producen un mayor número de hojas

quemadas y el mismo autor (1955 b) empleando dosis de 200-400 libras por acre, en plantaciones de alubias, de FeNaEDTA observa una alta toxicidad en las mismas. Shanen y Mohl (1956), en una experiencia con habas, anotan que, empleando dosis de 200 ppm de EDTA, se obtiene un estímulo en el crecimiento de las plantas; en cambio, dosis de 800 ppm. resultan tóxicas a todas las plantas, en todos los cultivos, a las tres semanas siguientes al tratamiento.

Y en un trabajo más reciente sobre el tema, Agafonova (1964) afirma que dosis de 300 mg/litro en riego foliar, de FeEDTA, causan severos daños en las hojas de las plantas utilizadas en su experiencia.

**III. - PARTE PRIMERA.**

=====

**EXPERIENCIAS CON SUELOS**

=====      ===      =====



III. A. - PARTE EXPERIMENTAL

=====

III. A. 1. - DESCRIPCION DE PERFILES.

Perfil 1

Localidad : Término municipal del Salar de Loja (Granada)

Situación : A 1,5 Km. al Sur del Salar. Ladera del Zocoida.

Altitud : 640 m.

Orientación : NE.

Inclinación : 20 %.

Geología : Marga caliza, cetácica.

Vegetación : Olivar.

Ap 0-10 cm. Estructura granular suelta. Arcilloso. Existen muchas raíces. Color húmedo 81 C. Fuerte - reacción al ácido Clorhídrico.

ApC 10-25 cm. Estructura granular suelta. Limo-arcilloso-arenoso. Fuerte reacción al ácido Clorhídrico.

C >25 cm. Marga caliza.

Tipo de suelo: Serosen de margas.

Perfil 2

**Localidad : Término municipal de Loja (Granada)**

**Situación : Km. 494 de la carretera Bailén-Málaga, al Este de la carretera.**

**Altitud : 700 m.**

**Orientación : NE.**

**Inclinación : 10 %.**

**Geología : Calizas mesozóicas.**

**Vegetación : Olivar y barbecho de cereales.**

**Ap 0-10 cm. Estructura en agregados no sueltos. Limo-arcilloso. Existen muchas raíces. Color húmedo 64 F. - Fuerte reacción al ácido Clorhídrico.**

**ApC 10-25 cm. Estructura en agregados poliédricos. Limo-arcilloso. Color húmedo 48 F. Fuerte reacción al ácido - Clorhídrico.**

**Tipo de suelo : Pardo-rojo calizo mediterráneo.**

Perfil 3

Localidad : Término municipal de Loja (Granada)

Situación : Km. 37,5 de la carretera de Priego de Córdoba a Loja, sobre la Merced, Ladera O.

Altitud : 890 m.

Orientación : NE.

Inclinación : 10 %

Geología : Malasa del Mioceno.

Vegetación : Olivar y barbecho de cereales.

Ap 0-20 cm. Estructura en agregados irregulares compuestos Lino-arcillo-arenoso. Existen muchas raíces. Color húmedo 43 F. Reacción con el ácido Clorhídrico.

B 25 cm-1 m. Estructura poliédrica compacta. Lino-arcillo-arenoso. Color húmedo 23 F. Reacción con el ácido Clorhídrico.

Tipo de Suelo: Pardo-rojo calizo mediterráneo.

Perfil 4

**Localidad :** Término municipal de Albolote (Granada), Cortijo Los Arenales de San Pedro. Tercio Las Conejeras.

**Situación :** Carretera de Colomera al Pantano de Cubillas.

**Altitud :** 750 m.

**Vegetación :** Olivar.

**Ap 0-20 cm.** Estructura grumosa algo pedregosa en superficie con gravilla de 4 cm.  $\phi$ . Areno-limoso. Pocas raíces. Color húmedo 44 H. Fuerte reacción al ácido Clorhídrico.

**Tipo de Suelo :** Pardo calizo mediterráneo.

**NOTA.** - La descripción del color está dada de acuerdo con el código Expolar.

### III. A. 2. - INCUBACION DE LOS SUELOS.

#### Reactivos:

Na<sub>2</sub>EDTA, R. A. Merck.

#### Material.

Macetas de plástico, cilíndricas, de 9 cm. de altura y 9 cm. de diámetro.

Mortero de ágata.

Esfera de cultivo, Pearcen.

#### Preparación de la mezcla suelo-Na<sub>2</sub>EDTA. - Se prepara una mezcla

compuesta de 3 gramos de Na<sub>2</sub>-EDTA y 12 gramos de cada una de las muestras de suelos, bien homogeneizada en mortero.

#### Técnica operatoria.

Se mezclan en cada maceta, 20 gr. de suelo, seco al aire y pasado por tamiz de nylon de 2 mm. de malla, y la cantidad requerida de la mezcla suelo-Na<sub>2</sub>EDTA, homogeneizando con una espátula de politeno.

La experiencia con cada suelo, constaba de 30 macetas, agrupadas en seis series de cinco macetas cada una.

Todas las series eran idénticas: Las cinco macetas contenían

0,01; 0,05; 0,1; 0,5 y 1,0 % de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  respectivamente.

Las 30 macetas de cada experiencia, puestas en estufa de cultivos, mantenida a  $27^\circ\text{C}$  y con un grado de humedad constante, se regaban cada dos días. La primera serie se mantuvo en la estufa durante 2 días; la segunda, durante 5 días; la tercera, durante 10 días; la cuarta, durante 15 días; la quinta, durante 25 días, y por último, la sexta durante 45 días, procediendo inmediatamente después de los citados períodos de incubación, a su extracción y análisis.

No se utilizaron macetas de suelo como blanco, es decir, macetas sin  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , porque en una experiencia previa, se comprobó que el tiempo de incubación, no influía en los contenidos de los elementos-traza investigados.

### III.A.3. - TECNICAS ANALITICAS

#### Reactivos generales.

**Agua.** - Desmineralizada y posteriormente destilada en un destilador de vidrio Pyrex.

**Acido acético.** - Destilado de ácido acético Probus, Q.P. densidad 1,049.

**Hidróxido amónico.** - Destilar 1,000 ml. de hidróxido amónico de densidad 0,910. Probus Q.P., recogiendo el destilado sobre 500 ml. de agua hasta completar con él 1.000 ml.

**Acido Clorhídrico. 6N.** - Destilar una mezcla de ácido clorhídrico - Probus Q.P. densidad 1,19 y agua, en partes iguales.

#### Material y aparatos.

Material de vidrio Pyrex.

Papel de filtro Albet, núm. 240, lavado a los ácidos.

Botellas de polietileno de 1.000 ml.

Agitador mecánico de botellas.

Placa de calefacción eléctrica con termostato.

Embudos de decantación de 100 y 1.000 ml. de vidrio Pyrex.

Espectrofotómetro Beckman DU, equipado con cubetas de 1 cm. de espesor.

Absorciómetro Spekker, de Hilger.

pHmetro Beckman, H<sub>2</sub>.



Cobre, Zinc, hierro y manganeso extractables con acetato amónico.

Mineralización del extracto.

Reactivos:

Acido nítrico. - Destilado de ácido nítrico Probus Q.P. densidad 1,33.

Solución de acetato amónico de pH 7,0 (solución extractora). - Se neutralizan 57 ml. de ácido acético con la cantidad equivalente de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Se diluye a 1 litro y se ajusta el pH a 7,0, añadiendo, si es necesario, gotas de ácido acético o de hidróxido amónico.

Procedimiento.

Después de sacar la muestra de suelo, de la estufa, se introduce en una botella de politeno mediante sucesivos lavados del recipiente que contiene la muestra con solución de acetato amónico. Por último se completa, hasta un total de 500 ml., con la citada solución extractora, tras lo cual se agita durante cinco horas.

Una vez concluida la agitación, se filtra, recogiendo el filtrado en un vaso de precipitado de 800 ml. de capacidad.

Se evapora a sequedad sobre la placa de calefacción.

El residuo seco se trata con 5 ml. de ácido nítrico y se vuelve a evaporar a sequedad, repitiendo este tratamiento una segunda vez, - tras lo cual se agregan 10 ml. de ácido clorhídrico y se evapora nuevamente a sequedad.

El residuo, así mineralizado, se extrae con agua y se filtra; se recoge el filtrado en un matraz de 100 ml. y se enrasa.

De este matraz se toman alícuotas para las sucesivas determinaciones de los elementos-traza.

Cobre, zinc y manganeso totales.

Se ha seguido el método descrito por Jackson (1958) para la solubilización de los tres elementos citados.

Material.

Mortero de ágata.

Crisol de Platino.

Reactivos.

Acido fluorhídrico R.A.

Acido sulfúrico concentrado R.A.

Acido nítrico. - Destilado de ácido nítrico Probus Q.P. densidad 1,33.

Acido perclórico. - R.A. al 60 %.

Mezcla ácida ternaria. - 10 ml. de  $\text{NO}_3\text{H}$ , 1 ml. de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  y 4 ml. de

$\text{ClO}_4\text{H}$ .

Procedimiento.

1 gr. de suelo, seco al aire, finamente molido en mortero de ágata, se pasa a un crisol de Platino.

Se humedece el suelo con agua y se añade  $\text{SO}_4\text{H}_2$  gota a gota, hasta destruir completamente los carbonatos. A continuación, se añaden 5 ml. de FH y se evapora a sequedad sobre la placa caliente, repitiendo esta operación una segunda vez.

Una vez frío el crisol, se introduce en un vaso de 250 ml., agre-

gando 10 ml. de ácido nítrico, y agua hasta cubrir el crisol. Después de desprenderse el botón formado en el fondo del crisol, se saca éste, con ayuda de una varilla de vidrio, y se lava.

Se evapora el contenido del vaso y se trata el residuo con 10 ml. de la mezcla ácida ternaria, volviéndose a evaporar nuevamente a sequedad. El residuo se extrae con agua y se filtra, recogiendo el filtrado en un matraz de 100 ml.; por último, se enrasa con agua.

En alícuotas de la solución obtenida, se determinan el Cobre, Manganeso y Zinc totales, por los mismos procedimientos más adelante descritos.

### Hierro total.

Se ha seguido el método descrito por Jackson (1958).

#### Material.

Mortero de ágata.

Crisol de Platino.

#### Reactivos.

Carbonato sódico anhidro, Merck R.A.

#### Procedimiento.

0,1 gr. de suelo, seco al aire y finamente molido en mortero de ágata, se pasan a un crisol de Platino y se mezcla con 0,75 gr. de  $\text{CO}_3\text{Na}_2$ . A continuación se agregan 0,25 gr. más de  $\text{CO}_3\text{Na}_2$  para cubrir la anterior mezcla. Se calienta el crisol, sobre un triángulo de cuarzo, con la llama débil al principio. Se va aumentando la llama hasta que la mezcla funde.

Cuando ha cesado el desprendimiento de gases, se sujeta el crisol con pinzas y se agita rápidamente para repartir la masa fundida en forma de capa fina sobre las paredes del crisol.

Una vez frío éste, se introduce en un vaso de 250 ml. cubriéndolo con un vidrio de reloj. Se agrega ácido clorhídrico hasta cubrir el crisol. Cuando cesa la efervescencia se extrae el crisol del vaso, con ayuda de una varilla, y se lava con agua. Se filtra, recogiendo el

filtrado en un matraz aforado de 50 ml. Finalmente se enrasa con agua.

Sobre una alícuota de la solución obtenida, se determina el Hierro por el procedimiento descrito más adelante.

Determinación de los elementos Cobre, Zinc, Hierro y Manganeso.

**Cobre**

El método seguido por nosotros es en esencia el descrito por E. B. Sandell, 1950.

Principio del método.

La adición de una solución acuosa de dietil ditiocarbamato sódico  $N(C_6H_5)_2CS_2 Na$ , a una solución diluida, ligeramente ácida o amoniacal, de una sal cúprica, produce una suspensión coloidal de carbamato de Cobre, soluble en  $CCl_4$ , de color amarillo-pardo. El Hierro no reacciona en solución de citrato amónico, si el pH es 9,0 ó más alto. El níquel, Cobalto y Bismuto en esta solución, dan un ligero color verde-amarillo, pero la densidad de color proporcionada por estas sales, es mucho más débil (1/20 - 1/30) que la que da el compuesto de Cobre.

Reactivos.

Solución de dietil ditiocarbamato sódico. - 0,1 gr. del reactivo en 100 ml. de agua. Se usa recién preparada.

Solución de ditizona. - 0,01 gr. del reactivo en 100 ml. de tetracloruro de Carbono.

Solución de Azul de Timol. - 0,04 gr. del reactivo en 100 ml. de agua.

Tetracloruro de Carbono. - Químicamente puro.

**Solución de Rojo Cresol.** - Se disuelven 50 mgr. de reactivo en 20 ml. de alcohol; se le agregan 1,3 ml. de NaOH 0,1N, completando a 50 ml. con agua destilada.

**Solución de citrato amónico.** - Solución del reactivo en agua al 20 % .  
Alcalinizar con  $\text{NH}_4\text{OH}$  (hasta viraje del Rojo Cresol) añadiendo 2 ml. en exceso. Lavar repetidas veces en un embudo de decantación de 1.000 ml. con pequeñas porciones de ditizona, hasta que el extracto mantenga el mismo color verde de la solución de ditizona. Se trata ahora con  $\text{CCl}_4$  para eliminar los restos de ditizona, hasta que el extracto resulte incoloro. Filtrar a través de papel de filtro.

**Solución de Cobre (100 ppm.).** - Disolver 0,1964 gr. de  $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en agua, agregando suficiente ClH para conseguir una acidez final 0,1 N. Se enrasa a 500 ml. con agua.

**Solución patrón de Cobre (2 ppm.)** 20 ml. de la anterior solución se diluyen a 1 litro.

#### Curva de trabajo.

Preparar una serie de patrones que varíen de 0 á 50 microgramos de Cobre, por el procedimiento más adelante indicado, usando 5 ml. de  $\text{CCl}_4$ .

#### Procedimiento.

Poner 20 ml. de la solución mineralizada en un embudo de se-



paración de 100 ml. Se agregan 5 ml. de citrato amónico y se ajusta al pH entre 9,0 y 9,2, con  $\text{NH}_4\text{OH}$  usando varias gotas de indicador Azul de Timol. Se agrega 1 ml. de la solución de dietil-ditiocarbamato sódico y se agita. Añadir 5 ml. de  $\text{CCl}_4$  y agitar dos minutos. Dejar decantar.

#### Técnica espectrofotométrica.

Después de separada la capa acuosa de la de  $\text{CCl}_4$ , se toman 3-4 ml. de ésta en una cubeta del espectrofotómetro, previamente filtrados a través de papel de filtro seco, colocado sobre un microembudo, al objeto de eliminar pequeñas gotitas de agua, en suspensión, que dan lugar a resultados erróneos, según hemos podido comprobar.

Se mide a una longitud de onda de  $440 \text{ m}\mu$  frente a un blanco de  $\text{CCl}_4$ .

## Zinc

El método seguido por nosotros es el descrito por Sandell - (1950).

### Principio del método.

El Zinc y otros metales, forman ditizonatos con la ditizona, en  $\text{CCl}_4$ . A un pH de 4,0 á 5,5, una solución de tiosulfato sódico evita la reacción del Cobre, Mercurio, Plata, Oro, Bismuto, Plomo y Cadmio, con la ditizona, mientras permite que el Zinc reaccione. En presencia de grandes cantidades de Níquel o Cobalto es necesario usar CNK como agente acoroplejante auxiliar. Se usa una solución de  $\text{SiNa}_2$ , en vez de amoníaco u otra base, para eliminar el exceso de ditizona en este método, ya que las trazas de Zinc en la solución sulfhídrica no reaccionan con el exceso de reactivo, como ocurriría si se utilizara amoníaco. El ditizonato de Zinc, que se mantiene en  $\text{CCl}_4$ , es de color rosa a rojo y sigue la ley de Beer.

### Reactivos.

Solución de Verde de Bromo-Cresol. - Reactivo al 0,04 % en agua purificada con ditizona y almacenado en botella de polieteno.

Solución de acetato sódico. - 0,5 molar. Agitar la solución en un embudo de decantación de 1.000 ml. de capacidad, con pequeñas porciones de solución de ditizona, para eliminar los metales pesados, y filtrar a través de papel de filtro humedecido para eliminar -

las pequeñas gotas de  $\text{CCl}_4$ .

**Tiosulfato sódico.** - 50 gr. de  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en 100 ml. de agua y purificar con ditizona.

**Solución de ditizona.** - 0,002 % en  $\text{CCl}_4$

**Sulfuro sódico.** - Diluir 40 ml. de una solución de  $\text{S Na}_2$  al 1 % en agua, en 1.000 ml. de agua y purificar con ditizona.

**Solución de lavado acetato-tiosulfato.** - Mezclar 225 ml. de la solución de acetato sódico, 10 ml. de la solución de tiosulfato sódico y 40 ml. de ácido nítrico al 10 %. Completar a 500 ml. con agua. Eliminar el Zinc, lavando con ditizona.

**Mezcla ácida de digestión.** - Mezclar ácido nítrico concentrado, ácido perclórico del 70 % y ácido sulfúrico concentrado en la proporción 10 : 0,75 : 0,25 respectivamente.

**Solución de Zinc.** - Disolver 0,2 gr. de Zinc R.A. en ácido clorhídrico concentrado y llevar a 1.000 ml. con agua.

**Solución patrón de Zinc (2 micro gr/ml).** - 10 ml. de la anterior solución de Zinc se diluyen a 1.000 ml. con agua. Debe usarse recién preparada.

#### Curva de trabajo.

Preparar una serie de patrones que varíen de 0 a 12 microgramos de Zinc, por el procedimiento más adelante indicado, usando 10 ml. de la solución de ditizona en  $\text{CCl}_4$ .

Procedimiento.

Poner una cantidad conocida, exactamente medida, de la solución mineralizada en un embudo de decantación de 100 ml. Añadir agua hasta unos 25 ml. Se agregan tres gotas de Verde Bromo-Cresol. El color de la solución será ahora verde-amarillento. Agregar con una pipeta, gota a gota acetato sódico 0,5 M hasta que el pH esté comprendido entre 5,0 y 5,5 (ligero color verde-azulado). Agregar 2-3 ml. de la solución de tiosulfato sódico que formará compiejos con los elementos traza que pueden interferir, Plomo, Cobre, Mercurio, etc. Se agregan 10 ml. de la solución de ditizona y se agita 100 veces. Una vez separada la capa acuosa de la de  $\text{CCl}_4$ , se extrae ésta del embudo, repitiendo la extracción tantas veces como sea necesario hasta que la solución de ditizona, después de la agitación, permanezca verde. Anotar el volumen total de la solución de ditizona añadida, puesto que la curva de trabajo está hecha a base de 10 ml. de la solución. Así por ejemplo, si se requieren 40 ml. de la solución de ditizona, antes de que se mantenga el color verde, el resultado final deberá multiplicarse por 4, etc. De todos los extractos reunidos se toman 10 ml. y se vierten en un embudo de decantación de 100 ml. de capacidad. Agregar unos 10 ml. de solución de lavado acetato-tiosulfato y agitar; repetir esta operación con agua, después de eliminar la anterior solución. Lavar después con sucesivas porciones de 5 ml. de la solución de sulfuro sódico para disolver el exceso de ditizona; la última porción añadida deberá permanecer incolora. El ditizonato de Zinc, estará separado ahora en el fondo del

embudo de decantación como una solución de color rojizo.

Técnica espectrofotométrica.

Tomar 3-4 ml. de la solución a medir en una cubeta del espectrofotómetro.

Se mide a una longitud de onda de 536 m $\mu$  frente a un blanco de solución de ditzona.

## Hierro

Se adoptó el método de Scott (1941).

### Principio del método.

El método consiste, en esencia, en la reacción que tiene lugar entre el Hierro (III) y el ácido salicílico con formación de un complejo de color amatista, que cumple la ley de Beer en un amplio intervalo de concentraciones.

### Reactivos.

Acido acético 1:1. - Partes iguales de acido acético destilado y agua.

Hidróxido amónico 1:1. - Partes iguales de hidróxido amónico destilado y agua.

Salicilato sódico. - Solución acuosa al 1 %.

Solución madre de Hierro. - 100 mgr. de  $Fe_2O_3$  R. A. se disuelven en unos ml. de  $ClH$  6N; se diluye a 1 litro con agua.

Solución patrón A (10 microgramos  $Fe_2O_3$ /ml.). - 100 ml. de la solución madre de Hierro, se llevan con agua a 1 litro.

Solución patrón B (20 microgr.  $Fe_2O_3$ /ml.). - 100 ml. de la solución madre de Hierro, se llevan con agua destilada a 500 ml.

### Curva de trabajo.

Preparar una serie de patrones de concentración comprendida entre 6 y 7 p.p.m. de Hierro, por el procedimiento que se indica más adelante.

**Procedimiento.**

Se ponen en un matraz de 50 ml., 20 ml. de la solución mineralizada. Se agregan 4 ml. de ClH 6N, seguido por 5 ml. de la solución de salicilato sódico y se agita. A continuación se adiciona amoníaco 1:1, gota a gota, agitando, hasta que el color amatista del complejo de Hierro cambia a amarillo. Se añaden dos gotas más de amoníaco. Inmediatamente se agregan gota a gota, agitando, suficiente ácido acético 1:1 hasta que la solución vira a color rosa; se agregan 5 ml. del mismo ácido en exceso. Se lleva la solución a 50 ml.

**Técnica absorciométrica.**

Se llenan las cubetas (de 1 cm. de espesor) del absorciómetro Spekker con la solución, realizando la lectura fotométrica utilizando filtro verde. Como blanco se utiliza agua.

## Manganeso

En esencia, seguimos el método Willard y Greathouse, descrito por Sandell (1950).

### Principio del método.

Cuando a una solución de sulfato manganoso, fuertemente acidificada con los ácidos sulfúrico, nítrico o fosfórico, se le agrega una pequeña cantidad de periodato potásico sólido y se calienta, tiene lugar la siguiente reacción:



en el que el Manganeso, al estado de permanganato, puede ser medido directamente haciendo uso de la técnica colorimétrica. La simplicidad de la técnica, junto a la sensibilidad y especificidad de la reacción hace que se considere insustituible para la mayoría de los propósitos.

Sustancias que se comporten como reductoras frente a los iones  $\text{IO}_4^-$  y  $\text{MnO}_4^-$  deben estar ausentes.

Iones  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Fe}^{+++}$ , en gran cantidad, interfieren.

Para concentraciones de hasta 150 p.p.m. se cumple perfectamente la ley de Beer, siendo estables las disoluciones de permanganato durante mucho tiempo en presencia de un ligero exceso de agente oxidante.

### Reactivos.

Periodato potásico R.A.

Acido sulfúrico 1:4. - 1 parte de ácido sulfúrico concentrado R. A y



4 partes de agua.

**Solución madre de Manganeso.** - Disolver 0,2877 gr. de  $\text{MnO}_4\text{K}$  R.A. en 100 ml. de agua. Acidificar la solución con  $\text{SO}_4\text{H}_2$  1:1 y calentar a ebullición. Agregar lentamente ácido oxálico al 10 % hasta decoloración. Enfriar y diluir a 1 litro. 1 ml. de esta solución contiene 0,1 mgr. de Manganeso.

**Solución patrón de Manganeso.** - (10 microgr/ml.). - Tomar 100 ml. de la solución madre y llevar a 1 litro, con agua.

#### Curva de trabajo.

Poner en matraces Erlenmeyer de 100 ml., 2,5; 5,0; 7,5; 10; 15 y 20 ml. de la solución patrón de Manganeso y desarrollar color como se indica más adelante.

#### Procedimiento.

Poner 20 ml. de la solución mineralizada en un matraz Erlenmeyer de 100 ml. Agregar 5-10 ml. de ácido sulfúrico 1:4. Evaporar en placa eléctrica hasta humos blancos de sulfúrico. Enfriar y diluir hasta unos 40 ml. Agregar 0,1 gr. de periodato potásico y hervir. Mantener en placa eléctrica alrededor de 1 hora justamente por debajo de la ebullición. Enfriar y filtrar a través de lana de vidrio (para eliminar el precipitado que, ocasionalmente, aparece) sobre un matraz de 50 ml. Enrasar con agua.

#### Técnica absorciométrica.

Se llenan las cubetas del absorciómetro con la solución contenida

en los matraces y se mide la absorción, utilizando filtro verde. (Dependiendo de la intensidad de la coloración obtenida, se utilizan cubetas de 1 cm. ó de 4 cm. de espesor).

### III. RESULTADOS OBTENIDOS

**III. A.4. - RESULTADOS OBTENIDOS**  
=====

**TABLA I**

**Perfil 1**

Cantidades de elementos extraídos con acetato amónico ( p. p. m. )

Elemento	Días de incubación	Cantidad de Na <sub>2</sub> -EDTA agregado al suelo (%)														
		0,01	0,05	0,1	0,5	1,0	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
		<u>Horizonte Ap</u>					<u>Horizonte ApC</u>					<u>Horizonte C</u>				
Mn	2	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	5	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	10	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	15	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	25	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	45	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Fe	2	x	x	x	6	7	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	5	x	x	x	6	7	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	10	x	x	x	6	7	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	15	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	25	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	45	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Cu	2	0,40	0,75	0,95	1,10	1,30	0,55	0,75	0,90	1,00	1,20	0,45	0,55	0,70	0,85	1,00
	5	0,50	0,80	1,00	1,10	1,10	0,55	0,75	0,90	1,15	1,40	0,40	0,50	0,75	1,00	1,10
	10	1,20	1,75	1,80	1,95	2,10	0,55	0,90	1,10	1,35	1,55	0,50	0,60	0,80	0,85	0,95
	15	0,30	0,60	0,80	0,95	1,00	0,60	0,75	0,95	1,25	1,50	0,85	0,90	0,95	1,05	1,10
	25	0,10	0,35	0,50	0,65	0,95	0,60	0,70	1,00	1,10	1,20	0,50	0,75	0,90	1,00	1,00
	45	0,15	0,30	0,45	0,65	0,70	0,55	0,75	0,95	1,15	1,25	0,35	0,55	0,70	0,80	0,90
Zn	2	4,80	5,00	5,30	5,50	6,30	4,50	5,00	5,30	5,50	6,00	4,00	4,50	4,80	5,00	5,30
	5	5,00	5,00	5,50	6,00	7,00	4,50	5,00	5,50	6,00	6,50	5,00	5,30	5,50	6,00	6,00
	10	6,50	6,80	6,80	7,30	7,50	6,00	6,50	6,80	7,00	7,50	5,80	6,50	6,50	7,00	7,50
	15	7,80	8,30	8,30	8,80	8,80	7,50	7,80	8,30	8,50	8,50	7,50	7,50	8,00	8,50	8,50
	25	4,80	5,00	6,30	7,50	8,50	5,50	5,80	6,50	7,00	7,50	5,00	5,50	6,50	7,00	7,00
	45	4,50	5,50	6,00	7,30	8,80	5,00	5,50	6,00	6,30	6,50	4,50	5,50	6,00	6,00	6,50

x No determinable por el método analítico utilizado.

**TABLA II**

**Perfil 1**

**Otras determinaciones**

Horizonte	pH	% CO <sub>2</sub> (de CO <sub>3</sub> <sup>=</sup> )	% Materia orgánica	Contenido total de				Contenido sol. en Ac NH <sub>4</sub> de			
				% Fe	(p. p. m.)			(p. p. m.)			
					Mn	Cu	Zn	Fe	Mn	Cu	Zn
Ap	7,8	30,9	2,0	0,70	170	8,35	21,40	x	x	0,10	3,00
ApC	7,7	32,8	2,3	0,70	200	8,50	20,00	x	x	0,08	3,00
C	7,7	29,6	1,7	0,71	200	8,60	21,20	x	x	0,13	3,00

x No determinable por el método analítico utilizado.

Según puede observarse en los datos analíticos presentados se trata de un suelo de elevado pH, con alto contenido en carbonatos y bien provisto de materia orgánica. No existen prácticamente diferencias en el perfil con respecto a profundidad, si bien lo único destacable es un decrecimiento del contenido en materia orgánica en el horizonte C, como era de esperar, dado que a esta profundidad los restos vegetales prácticamente no existen.

El contenido total en Hierro es algo más bajo de lo normal (Bear, 1955), como corresponde al pH y contenido en carbonatos, la cantidad de este elemento extractable por acetato amónico cae por debajo de los límites de detección de la técnica analítica utilizada. Al incubar el suelo en presencia de  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  tampoco se consigue extraer cantidad apreciable de este elemento, si bien en el horizonte  $\text{Ap}$ , incubados con los dos más elevados niveles de agente quelante, aparecen unas pequeñas cantidades que no nos permiten obtener conclusiones ya que son muy pocos los datos conseguidos.

El contenido total de Manganeso, está dentro de los límites normales más bajos encontrados en la bibliografía (Swaine, 1955), tendiendo a aumentar ligeramente con la profundidad. Como era de esperar, debido al elevado pH del suelo, el Manganeso existente debe estar fijado fuertemente al estado de óxidos superiores, lo cual se demuestra ya que no se aprecia cantidad alguna en el extracto en acetato amónico, hecho que se confirma aún más en las experiencias de in-

incubación de los distintos horizontes con cantidades crecientes de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , que tras extraer con el mismo agente antes citado no se aprecia liberación alguna de Manganeso.

El contenido total de Cobre está comprendido entre los límites medios normales (Swaine, 1955) dados para este elemento, aumentando con la profundidad ya que, como es sabido, es un elemento que se lava fácilmente al progresar el desarrollo del suelo. En líneas generales, una cosa similar le ocurre al Cobre extractable por acetato amónico, si bien parece que el horizonte ApC ha sufrido un lavado más intenso. Cuando se incuban los distintos horizontes de este perfil en presencia de cantidades crecientes de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  durante intervalos distintos de tiempo, observamos: a) que en todos los horizontes del perfil aumenta la cantidad de Cobre extraída por el acetato amónico a medida que aumenta la cantidad de agente quelante agregado al suelo antes de someterlo al proceso de incubación; b) que para todos los niveles de agente quelante utilizados, la cantidad de Cobre extraída aumenta con los días de incubación hasta un máximo, rebasado el cual de crece nuevamente hasta límites iguales o inferiores a los más cortos periodos de incubación.

El contenido total de Zinc se encuentra dentro de los límites normales referidos en la bibliografía registrados para este elemento (Swaine, 1955; Goldschmidt, 1958). La cantidad existente en los distintos horizontes del perfil es prácticamente la misma. Las cantidades

extraídas por el acetato amónico son idénticas en los tres horizontes. Cuando éstos se incubaron en presencia de cantidades crecientes de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  durante diferentes intervalos de tiempo, se observó, en líneas generales, al igual que en el caso del Cobre: a) que en todos los horizontes del perfil aumenta la cantidad de Zinc extraída al aumentar la concentración de agente quelante agregado al suelo antes de la incubación, y b) que para los tres horizontes estudiados, independientemente de la cantidad de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  agregado, el Zinc extraído aumenta con el tiempo de incubación hasta un máximo, rebasado el cual disminuye dicha cantidad extraída por el acetato amónico.



**TABLA III**

**Perfil 2**

Cantidades de elementos extraídos con acetato amónico (p.p.m.)

Elemento	Días de incubación	Cantidad de Na <sub>2</sub> -EDTA agregado al suelo (%)									
		0,01	0,05	0,1	0,5	1,0	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
Mn		<u>Horizonte Ap</u>					<u>Horizonte ApC</u>				
	2	x	x	x	3,40	9,90	x	x	x	x	x
	5	x	x	x	3,40	3,40	x	x	x	x	x
	10	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	15	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	25	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	45	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Fe	2	x	1,70	1,70	1,70	3,50	x	x	x	0,87	1,70
	5	1,70	1,70	1,70	3,50	3,50	0,87	1,70	1,70	2,60	3,50
	10	1,70	1,70	1,70	3,50	3,50	x	x	x	0,87	1,70
	15	1,70	1,70	1,70	3,50	3,50	x	x	x	x	x
	25	0,88	0,88	1,70	3,50	3,50	x	x	x	x	x
	45	x	x	0,88	3,50	3,50	x	x	x	x	x
Cu	2	0,28	0,73	0,93	1,65	1,95	0,33	0,75	1,18	1,55	2,08
	5	0,33	0,83	0,98	1,90	2,08	0,50	0,93	1,30	1,83	2,25
	10	0,38	0,93	1,00	2,33	2,58	0,50	0,95	1,35	2,08	2,48
	15	0,35	0,93	1,05	2,48	2,75	0,55	1,15	1,23	2,63	2,83
	25	0,30	0,60	1,00	2,08	2,48	0,35	0,65	0,70	1,08	1,73
	45	0,25	0,50	0,93	2,10	2,10	0,33	0,58	1,00	1,43	1,73
Zn	2	4,75	5,00	6,00	8,25	9,25	8,25	8,50	9,00	10,25	10,75
	5	4,75	5,00	6,25	9,50	10,00	9,00	9,75	10,25	10,75	11,50
	10	5,00	6,00	6,75	10,00	11,00	9,75	10,00	10,00	11,00	12,25
	15	6,00	6,75	7,25	10,75	11,00	10,50	10,75	11,50	12,25	13,00
	25	5,00	5,75	6,75	7,50	10,75	8,50	9,50	10,25	11,50	12,50
	45	4,50	5,00	5,75	6,75	8,25	7,75	8,25	8,50	10,50	11,25

x No determinable por el método analítico utilizado.

**TABLA IV**

**Perfil 2**

**Otras determinaciones**

Horizonte	pH	% CO <sub>2</sub> (de CO <sub>3</sub> <sup>=</sup> )	% Materia orgánica	Contenido total de				Contenido sol. en Ac NH <sub>4</sub> de			
				% Fe	(p. p. m.) Mn	(p. p. m.) Cu	(p. p. m.) Zn	(p. p. m.) Fe	(p. p. m.) Mn	(p. p. m.) Cu	(p. p. m.) Zn
Ap	7,9	27,4	4,2	2,55	810	18,25	39,20	x	x	0,25	4,50
ApC	7,8	20,3	2,9	2,58	900	18,60	41,00	x	x	0,25	6,00

x No determinable por el método analítico utilizado.

De acuerdo con los datos analíticos que anteceden, se trata de un suelo con elevado pH, alto contenido en carbonatos y materia orgánica. Se observa un decrecimiento, al profundizar en el perfil, bastante notable de materia orgánica que está de acuerdo con la abundancia de raíces existentes en el horizonte Ap; de forma similar, los carbonatos decrecen en el horizonte ApC, hecho que no se puede considerar anómalo dado que se trata de un suelo árido con una pendiente bastante pronunciada.

El contenido total de Hierro está dentro de los contenidos normales referidos en la bibliografía (Bear, 1955), no siendo apreciable la cantidad extraída por acetato amónico, como era de esperar de acuerdo con los valores obtenidos para pH y carbonatos. En cambio, después de incubar el suelo con EDTA, si aparecen ya cantidades apreciables extraíbles por el acetato amónico, pudiéndose observar, en líneas generales, en primer lugar que la cantidad de Hierro extraída aumenta al aumentar la concentración de agente quelante agregado al suelo antes de la incubación y, en segundo lugar, que, al aumentar el período de incubación, la cantidad de Hierro extraída no aumenta de una manera lineal, sino que o bien se mantiene constante la cantidad extraída, aunque el período de incubación aumente, o crece hasta un determinado límite a partir del cual vuelve a decrecer.

El contenido total de Manganeso está dentro de los límites normales encontrados en la bibliografía (Swaine, 1955; Goldschmidt, 1958),

no habiendo prácticamente diferencia entre los dos horizontes estudiados de este perfil. No se detecta cantidad alguna de este elemento en el extracto de acetato amónico, lo cual era de esperar dado el elevado pH de este suelo, ocurriendo lo mismo cuando, previamente a la extracción, se incubó aquel con cantidades crecientes de EDTA, aunque en el horizonte Ap con los niveles más altos de este agente quelante, se liberan unas pequeñas cantidades que no nos permiten sacar conclusiones debido al insuficiente número de datos.

El contenido total de Cobre cae dentro de los límites medios reportados en la bibliografía (Swaine, 1955), aumentando ligeramente con la profundidad como consecuencia del proceso natural de lavado. La cantidad extractable por acetato amónico, en cambio, no refleja variación alguna en los dos horizontes estudiados. Después de incubarlo con EDTA se observa: 1º un aumento de la cantidad extraída al aumentar la cantidad de agente quelante agregado al suelo, y 2º un aumento de esta cantidad extraída al aumentar el período de incubación hasta un máximo, rebasado el cual vuelve a decrecer nuevamente.

El contenido total de Zinc está dentro de los límites señalados por los diversos investigadores (Swaine, 1955; Bear, 1955; Goldschmidt, 1958). Hay una ligera diferencia entre los dos horizontes estudiados de este perfil que nos induce a pensar en un posible proceso de lavado del horizonte superficial, hecho que parece confirmarse atendiendo a las cantidades determinadas, después de la extracción con acetato amó-

nico. La incubación del suelo con EDTA tiene por efecto un aumento en la cantidad extractable por el acetato amónico, aumento que corre paralelo con la concentración de agente quelante agregado antes de la incubación. Por otra parte, el período de incubación repercute en la cantidad extraída de elemento, de forma que aumenta hasta un máximo, pasado el cual vuelve a decrecer dicha cantidad extraída.

**TABLA V**

**Perfil 3**

Cantidades de elementos extraídas con acetato amónico (p. p. m.)

Elemento	Días de incubación	Cantidad de Na <sub>2</sub> -EDTA agregado al suelo (%)									
		0,01	0,05	0,1	0,5	1,0	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
Mn	2	x	x	12,70	13,60	14,90	2,80	5,30	8,10	31,00	68,20
	5	1,90	3,40	5,30	9,00	10,80	4,30	6,20	10,90	58,90	96,10
	10	x	x	x	x	x	4,30	6,20	10,90	68,20	179,80
	15	x	x	x	x	x	4,30	8,10	10,90	49,60	86,80
	25	x	x	x	x	x	x	x	7,40	9,30	10,90
	45	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Fe	2	x	x	1,30	2,10	3,00	x	x	x	1,70	3,50
	5	x	x	1,30	2,10	3,50	x	x	1,70	5,20	7,80
	10	x	x	x	-	-	x	x	x	1,70	3,50
	15	x	x	x	2,60	3,50	x	x	x	x	1,30
	25	x	x	x	1,70	3,50	x	x	x	x	x
	45	x	x	x	3,50	3,50	x	x	x	x	x
Cu	2	0,23	0,63	0,76	1,30	1,83	0,88	1,10	1,28	1,73	1,83
	5	-	0,63	0,85	1,38	1,90	0,98	1,15	1,40	1,83	2,43
	10	0,33	0,83	-	1,40	2,08	0,98	1,23	1,75	1,83	2,55
	15	0,48	0,85	1,00	1,55	2,30	0,38	0,70	1,08	1,30	1,48
	25	0,33	0,68	0,83	1,38	2,15	0,19	0,29	0,44	0,51	0,70
	45	0,18	0,58	0,73	1,18	1,73	0,15	0,24	0,42	0,50	0,68
Zn	2	5,25	6,25	-	-	10,00	5,75	5,75	6,25	6,50	6,50
	5	5,75	6,00	8,25	-	10,00	x	x	2,75	3,00	4,00
	10	6,25	6,50	11,00	12,50	12,75	x	x	x	2,75	2,25
	15	6,50	7,00	12,70	13,75	13,75	x	x	x	1,50	1,75
	25	6,50	4,00	11,75	13,75	13,75	x	x	x	x	x
	45	2,25	5,50	6,50	8,50	9,50	x	x	x	x	x

x No determinable por el método analítico utilizado  
 - Determinación inválida durante el proceso.

**TABLA VI**

**Perfil 3**

**Otras determinaciones**

Horizonte	pH	% CO <sub>2</sub> (de CO <sub>3</sub> <sup>=</sup> )	% Materia orgánica	Contenido total de				Contenido sol. Ac NH <sub>4</sub> de			
				% Fe	(p.p.m.) Mn	(p.p.m.) Cu	(p.p.m.) Zn	(p.p.m.) Fe	(p.p.m.) Mn	(p.p.m.) Cu	(p.p.m.) Zn
Ap	8,1	6,3	2,5	2,26	2250	14,40	26,50	x	x	0,13	1,00
B	8,0	0,7	1,5	2,20	2300	15,10	27,20	x	x	0,25	1,00

x: No determinable por el método analítico utilizado.

Según los datos que anteceden se trata de un suelo de alto pH, con un contenido medio en materia orgánica que decrece al profundizar en el perfil como corresponde a la disminución de restos vegetales en el horizonte B. Contiene menos carbonatos que los otros perfiles estudiados, disminuyendo éstos rápidamente en el horizonte B, hecho lógico considerando que nos encontramos ante un suelo con bastante pendiente y que además es árido.

El contenido total de Hierro está comprendido dentro de los límites normales dados para suelos en la bibliografía sobre el tema (Bear, 1955), no existiendo variación alguna apreciable entre los dos horizontes que componen este perfil. En el extracto en acetato amónico no se logra determinar este elemento, como corresponde a un suelo calizo con elevado pH. La incubación del suelo con EDTA hace que se liberen, utilizando el agente extractante arriba citado, cantidades apreciables de Hierro, sólo cuando cada uno de los horizontes del suelo se trataron con niveles de EDTA más elevados, pudiéndose apreciar: 1º que hay una tendencia a liberar mayor cantidad de Hierro extractable con acetato amónico cuanto mayor es la concentración de agente quelante con que el suelo se incubó, y 2º la cantidad de elemento liberada no corre paralela con el tiempo de incubación, sino que tiende a estabilizarse esta cantidad o bien se incrementa hasta un máximo, a partir del cual vuelve a decrecer.

El contenido total de Manganeso resulta ser mucho más eleva-



do que en el resto de los perfiles estudiados, aunque está dentro de los límites dados como normales en la bibliografía sobre el tema (Swaine, 1955; Goldschmidt, 1958). En cambio, a pesar de esta relativa abundancia, existe<sup>nte</sup> en ambos horizontes, no se extrae cantidad apreciable con acetato amónico, hecho que resulta lógico pensando en que las condiciones de este suelo hacen suponer la existencia de óxidos superiores de manganeso, no extractables, por tanto, por este agente. Ahora bien, después de incubar el suelo con EDTA, los datos presentados en la tabla que antecede nos obligan a pensar que la cantidad existente de Manganeso fijado por el suelo en forma insoluble es mayor en el horizonte Ap que en el B, consecuencia lógica de unas condiciones de oxidación que se dan más fácilmente en la superficie que en el subsuelo; al propio tiempo, es fácil observar una mayor liberación de este elemento cuanto mayor es la cantidad de EDTA agregado al suelo antes de su incubación.

El contenido total de Cobre está dentro de los límites normales descritos en la bibliografía (Swaine, 1955), existiendo una cantidad algo más elevada en el subsuelo, consecuencia del lavado que sufre este elemento en el horizonte más superficial; este hecho es aún mejor reflejado atendiendo a las cantidades extraídas en ambos horizontes utilizando acetato amónico como agente extractante. La incubación del suelo con EDTA permite la extracción de muchas mayores cantidades de este elemento, especialmente cuando se incre-

menta la cantidad del agente quelante agregado al suelo antes de la citada incubación; por otra parte, el período de incubación determina el tiempo óptimo para conseguir las máximas cantidades extraíbles.

El contenido total de Zinc en ambos horizontes está comprendido dentro de los límites preconizados para dicho elemento (Swaine, 1955; Bear, 1935; Goldschmidt, 1958), no existiendo una diferencia apreciable entre los dos horizontes estudiados. Lo mismo ocurre con la cantidad extraída por acetato amónico. La incubación con EDTA nos muestra un considerable aumento del elemento extraído por el extractor referido, y de la misma manera descrita para el elemento anteriormente estudiado, el incremento en la concentración de agente quelante corre paralelo con el de elemento extraído, existiendo también, en líneas generales, un máximo por lo que respecta al período de incubación.

**TABLA VII**

**Perfil 4**

Cantidades de elementos extraídas con acetato amónico (p.p.m.)

Elementos	Días de incubación	Cantidad de Na <sub>2</sub> -EDTA agregado al suelo (%)				
		0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
Mn	2	x	x	x	x	x
	5	x	0,60	1,90	3,70	5,60
	10	0,60	0,60	1,90	4,70	11,10
	15	0,60	1,90	2,80	4,70	11,10
	25	0,60	1,90	2,80	3,70	11,10
	45	0,60	0,60	0,60	3,70	11,10
Fe	2	x	x	4,30	8,70	8,70
	5	8,70	8,70	8,70	8,70	8,70
	10	x	x	x	8,70	8,70
	15	x	x	x	4,30	8,70
	25	x	x	x	4,30	4,30
	45	x	x	x	x	4,30
Cu	2	0,35	0,80	1,15	1,80	1,90
	5	0,45	1,00	1,20	1,90	2,25
	10	0,35	0,90	1,00	1,65	1,80
	15	0,25	0,60	0,85	1,20	1,80
	25	0,20	0,55	0,75	1,10	1,80
	45	0,20	0,55	0,70	1,10	1,80
Zn	2	2,60	3,00	3,40	3,80	4,10
	5	2,80	3,10	3,80	4,20	4,60
	10	3,00	3,40	4,00	4,60	5,10
	15	3,20	3,70	4,30	5,10	5,40
	25	2,80	3,20	3,50	4,00	4,50
	45	2,60	3,20	3,40	4,00	4,40

x No determinable por el método analítico utilizado.

**TABLA VIII**

**Perfil 4**

**Otras determinaciones**

Horizonte	pH	% CO <sub>2</sub> (de CO <sub>3</sub> =)	% Materia orgánica	Contenido total de			Contenido sol. en Ac NH <sub>4</sub> de				
				% Fe	(p.p.m.)		(p.p.m.)				
				Mn	Cu	Zn	Fe	Mn	Cu	Zn	
Ap	8,0	27,1	3,1	2,18	440	13,60	43,90	x	x	0,20	2,60

x No determinable por el método analítico utilizado.

Los datos analíticos precedentes indican se trata de un suelo de elevado pH, poco profundo, ya que existe una costra caliza muy superficial y, lógicamente, con un elevado contenido en carbonatos, estando bien provisto de materia orgánica.

El contenido total en Hierro está situado dentro de los márgenes normales dados por la bibliografía (Bear, 1955). Dada la cantidad de carbonatos presentes en el suelo, junto con la alcalinidad del mismo, se considera un hecho normal que el extracto en acetato amónico no permita apreciar cantidad de Hierro alguna. Al incubar el suelo en presencia de cantidades crecientes de EDTA, se observa ya la existencia en el extracto en acetato amónico de cantidades apreciables de Hierro, especialmente para los niveles altos de agente quelante, pareciendo existir un máximo para el período correspondiente a los 5 días de incubación.

El contenido en Manganeso total, aunque dentro de los límites normales dados por la bibliografía (Swaine, 1955; Goldschmidt, 1958), es bajo. El extracto en acetato amónico no permite detectar nada de Manganeso, si bien después de incubar con EDTA, pese a las bajas cantidades de elemento total, se consigue extraer de forma apreciable con el agente extractante antes citado, lo cual permite suponer la existencia de aquél, en proporción apreciable, en una forma no totalmente insoluble; además de manera similar a lo que encontramos en el suelo anteriormente estudiado, la cantidad de elemento extraído

aumenta <sup>con</sup> la cantidad de EDTA agregado antes de la incubación.

El contenido total de Cobre está situado dentro de los márgenes que indica la bibliografía (Swaine, 1955). Si se compara la cantidad extraída por el acetato amónico antes y después de incubar con EDTA el suelo, se puede apreciar un notable aumento de dicha cantidad después de la incubación con el citado agente quelante, aumento por otra parte, que corre paralelo con el incremento en la concentración de dicho agente. Además, como en el caso de los suelos que anteceden, existe un período de incubación óptimo en cuanto se refiere a cantidad máxima extraída del elemento.

El contenido total de Zinc se puede considerar normal según los límites señalados por los diversos autores (Swaine, 1955; Bear - 1955; Goldschmidt, 1958). La cantidad extractable en acetato amónico es incrementada cuando el suelo se incubaba en presencia de EDTA, siendo dicho incremento proporcional a la cantidad de agente quelante presente. Asimismo, influye el tiempo de incubación que presenta un máximo para un determinado tiempo, al cabo del cual disminuye.

### III. B. - DISCUSION.

=====

Como puede apreciarse a través de todos los datos que anteceden, se ha hecho el estudio simultáneo de varios fenómenos a la vez: 1º Respuesta de suelos de distinto origen a la adición de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  por lo que respecta a la liberación de cuatro elementos que consideramos, desde un punto de vista nutritivo, como micronutrientes esenciales de las plantas; 2º Estudio de la posible diferencia existente, al aplicar este tratamiento, entre los distintos horizontes del perfil del suelo; 3º Influencia de la concentración presente en el suelo de este agente quelante sobre el estado de los citados micronutrientes, y 4º El efecto que el transcurso del tiempo tiene sobre la liberación de estos elementos en el suelo, al que se había agregado al agente quelante arriba mencionado.

Pues bien, en las tablas I, III, V y VII queda patente que la variabilidad, bien del tipo de suelo o del horizonte considerado dentro de un perfil, no afecta más que a la cantidad liberada de cada uno de los elementos, considerada aquella de una manera absoluta; este hecho no es sorprendente ya que al variar la naturaleza y condiciones de los suelos, variará asimismo la forma en que se encuentran los elementos estudiados en aquellos. Por tanto, consideramos de sumo interés en este punto el estudio de los fenómenos enumerados en tercero y cuarto lugar, esto es, influencia de la concentración de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  -

agregado al suelo y el tiempo transcurrido desde que aquél se agregó.

Al objeto de hacer el estudio separado de ambos efectos, hemos considerado oportuno hacer agrupamientos de los datos obtenidos de la siguiente forma: 1º En cada horizonte estudiado, hemos efectuado la suma de cada una de las columnas para cada elemento, con lo que prevalece el efecto de las distintas concentraciones de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  agregado al suelo, prescindiendo del efecto de los días de incubación, y 2º Dentro de cada horizonte se han sumado las filas para cada uno de los elementos estudiados, lo que nos permite observar el efecto de los distintos tiempos de incubación, independientemente de las cantidades de agente quelante añadido al suelo.

### III. B. 1. - EFECTO DE LA CONCENTRACION DE $\text{Na}_2\text{EDTA}$ .

En la tabla IX se presentan los datos, agrupados de acuerdo con el esquema anteriormente descrito, para cada uno de los horizontes estudiados.

Las gráficas 1, 2, 3 y 4 representan estos datos para los elementos Cobre y Zinc en función de la cantidad de EDTA agregado al suelo; la gráfica 5 representa estos mismos datos para los elementos Hierro y Manganeso en aquellos horizontes en que se dispone de suficiente número de datos. La gráfica 6 representa la misma función que las anteriores para el Manganeso del perfil 3, horizonte B, en que las cantidades absolutas extraídas, especialmente para altas concentraciones de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , son



**TABLA IX**

**Perfil 1**

Horizonte	Elemento	Cantidad de Na <sub>2</sub> -EDTA agregado al suelo (%)				
		0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
Ap	Mn	x	x	x	x	x
	Fe	x	x	x	18,00	21,00
	Cu	2,65	4,55	5,50	6,40	7,15
	Zn	33,40	35,60	38,20	42,40	46,90
ApC	Mn	x	x	x	x	x
	Fe	x	x	x	x	x
	Cu	3,40	4,60	5,80	7,00	8,10
	Zn	33,00	35,60	38,40	40,30	42,50
C	Mn	x	x	x	x	x
	Fe	x	x	x	x	x
	Cu	3,05	3,85	4,80	5,55	6,05
	Zn	31,80	34,80	37,30	39,50	40,80

**Perfil 2**

Horizonte	Elemento	Cantidad de Na <sub>2</sub> -EDTA agregado al suelo (%)				
		0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
Ap	Mn	x	x	x	6,80	13,30
	Fe	5,98	7,68	9,38	19,20	21,00
	Cu	1,88	4,50	5,88	12,53	13,93
	Zn	30,00	33,50	38,75	52,75	60,25
ApC	Mn	x	x	x	x	x
	Fe	0,87	1,70	1,70	4,34	6,90
	Cu	2,55	5,00	6,75	10,58	13,08
	Zn	53,75	56,75	59,50	66,25	71,25

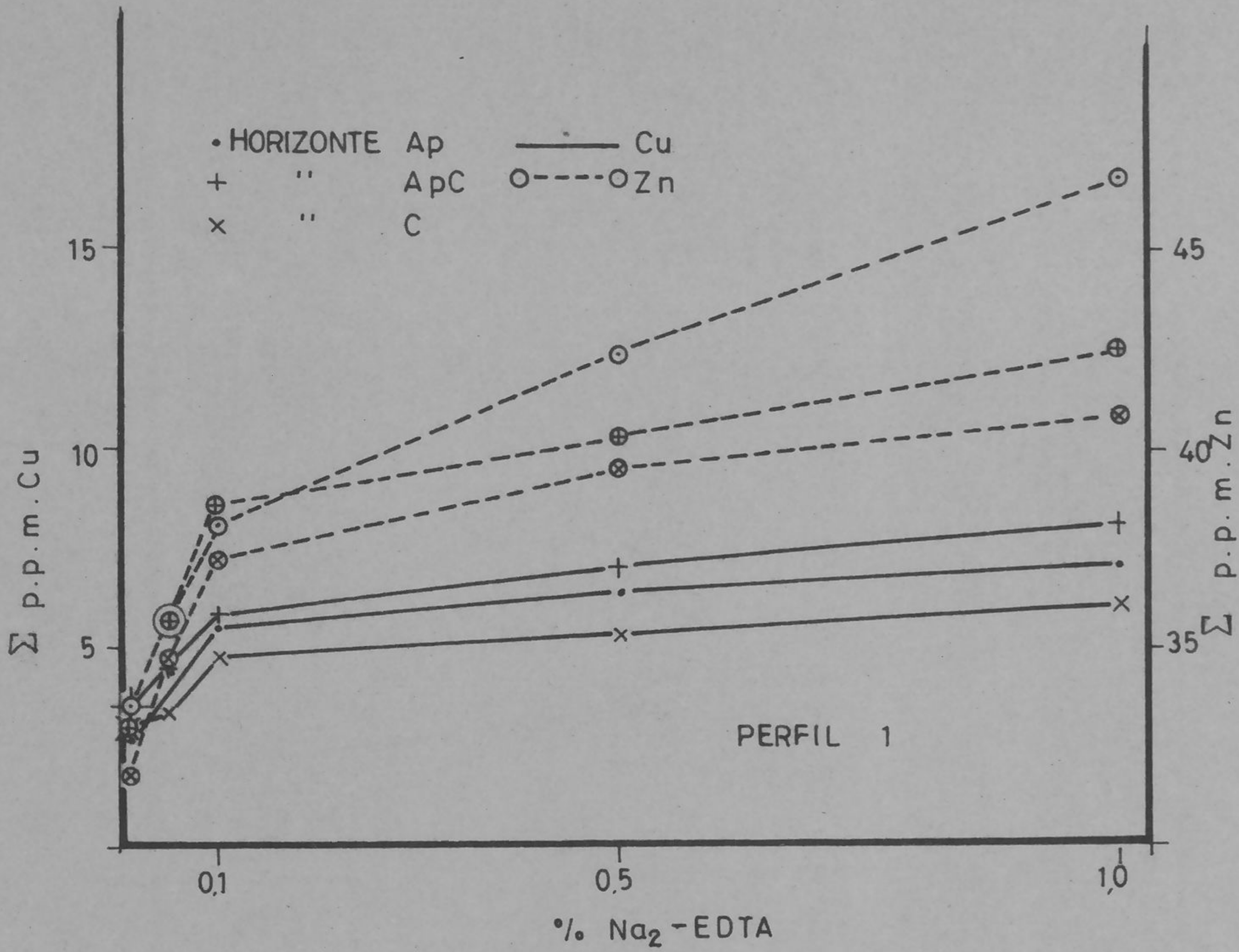
**TABLA IX (Continuación)****Perfil 3**

Horizonte	Elemento	Cantidad de Na <sub>2</sub> -EDTA agregado al suelo (%)				
		0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
Ap	Mn	1,90	3,40	18,00	22,60	25,70
	Fe	x	x	2,60	12,00	17,00
	Cu	1,53	4,28	4,18	8,18	11,98
	Zn	32,50	35,25	50,20	48,50	69,75
B	Mn	15,70	25,80	48,20	217,00	441,80
	Fe	x	x	1,70	8,60	16,10
	Cu	3,54	4,71	6,33	7,68	9,70
	Zn	5,75	5,75	9,00	13,75	14,50

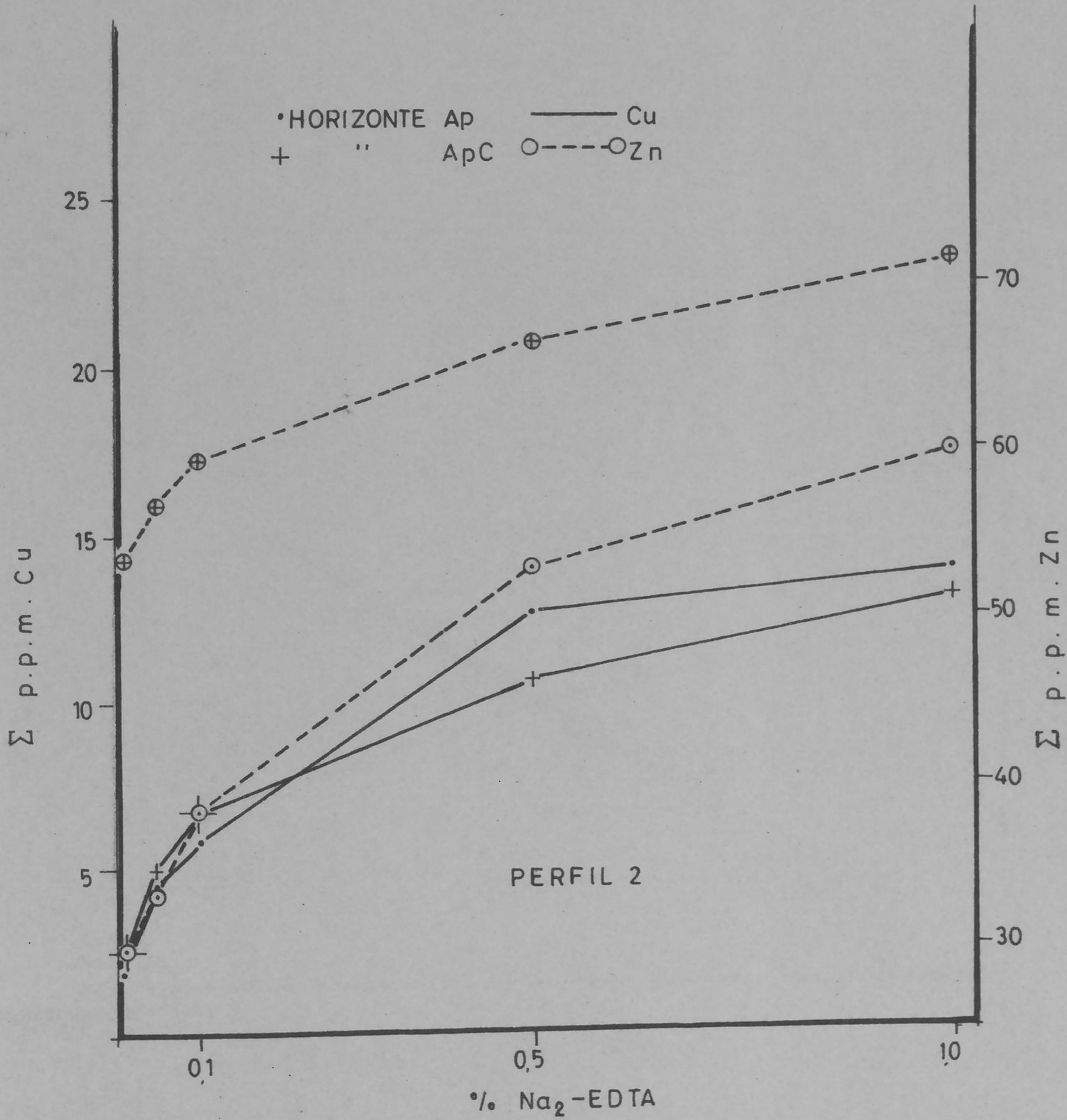
**Perfil 4**

Horizonte	Elemento	Cantidad de Na <sub>2</sub> -EDTA agregado al suelo (%)				
		0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
Ap	Mn	2,40	5,60	10,00	20,50	50,00
	Fe	8,70	8,70	13,00	34,70	43,40
	Cu	1,80	4,40	5,65	8,75	11,35
	Zn	17,00	19,60	22,40	25,70	28,10

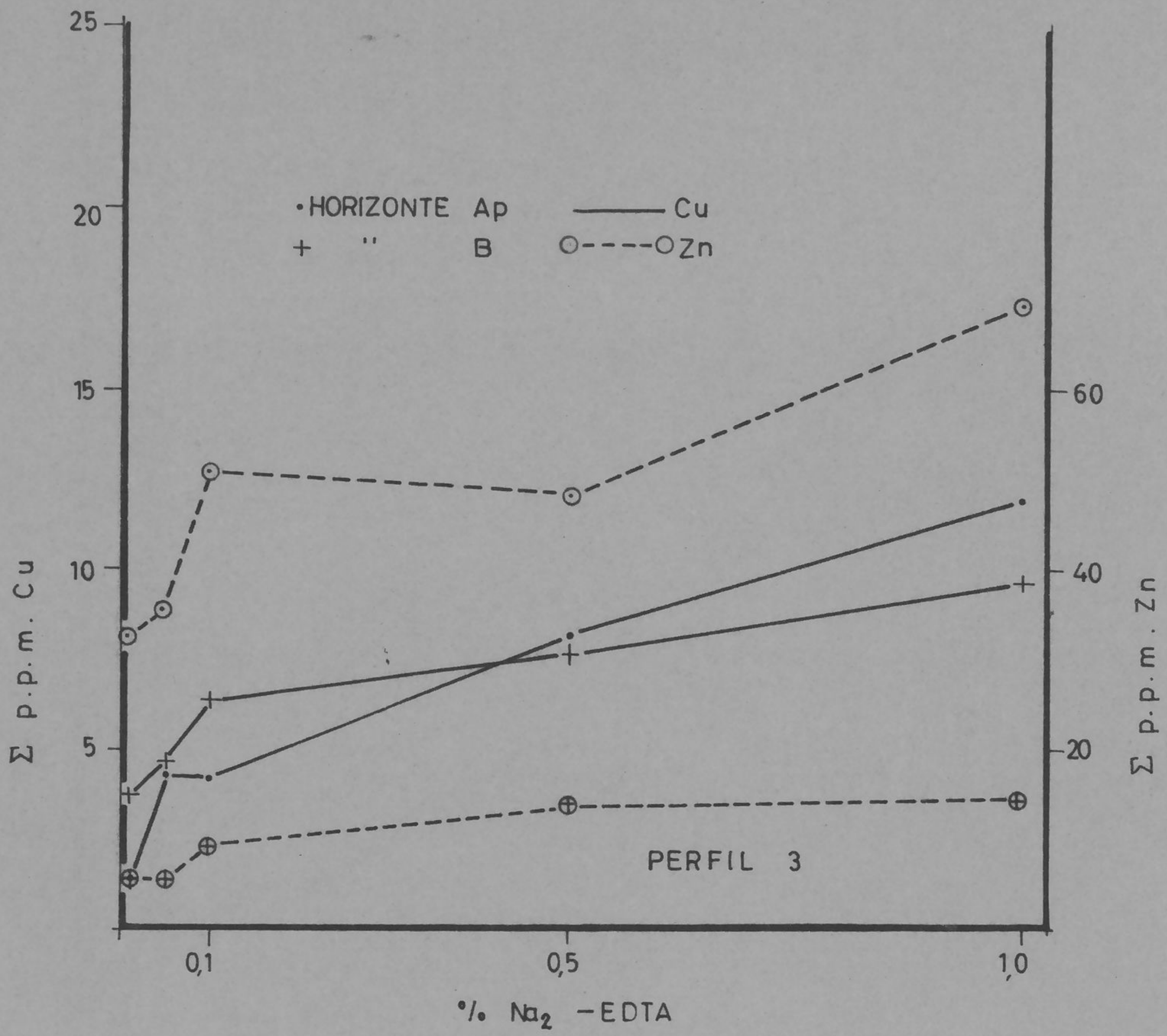
x No determinable por el método analítico utilizado.



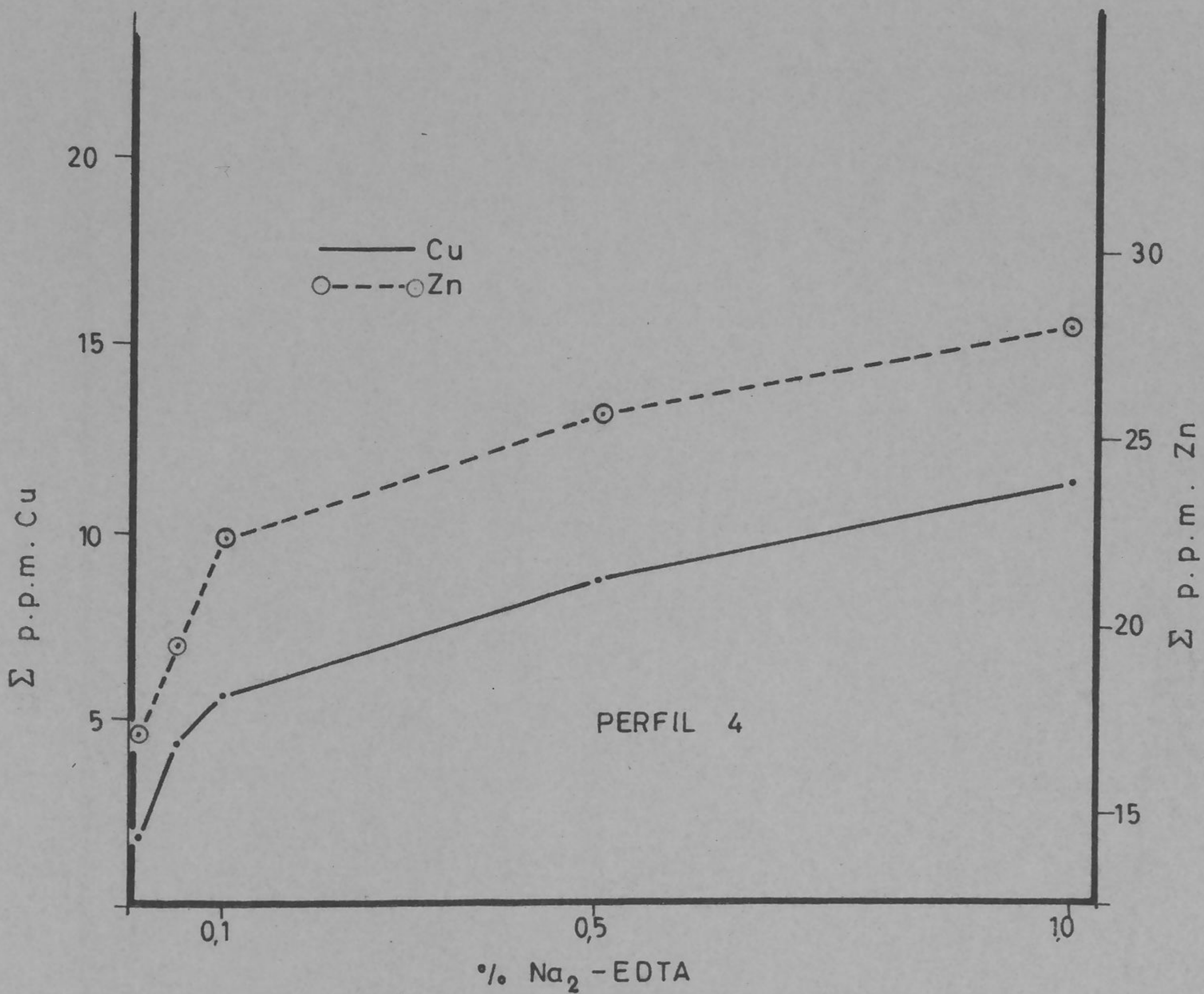
GRAFICA - 1 -



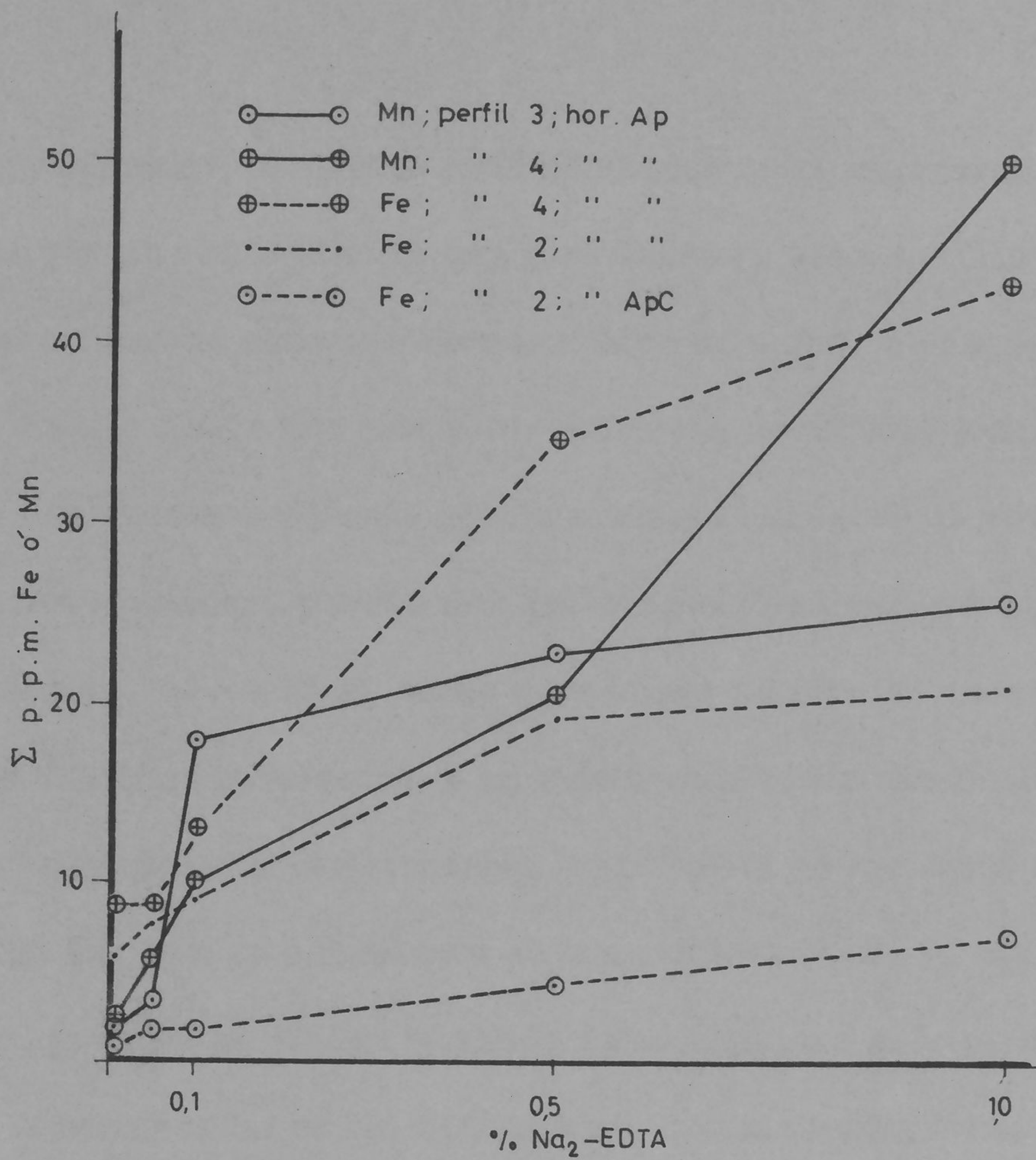
GRAFICA - 2 -



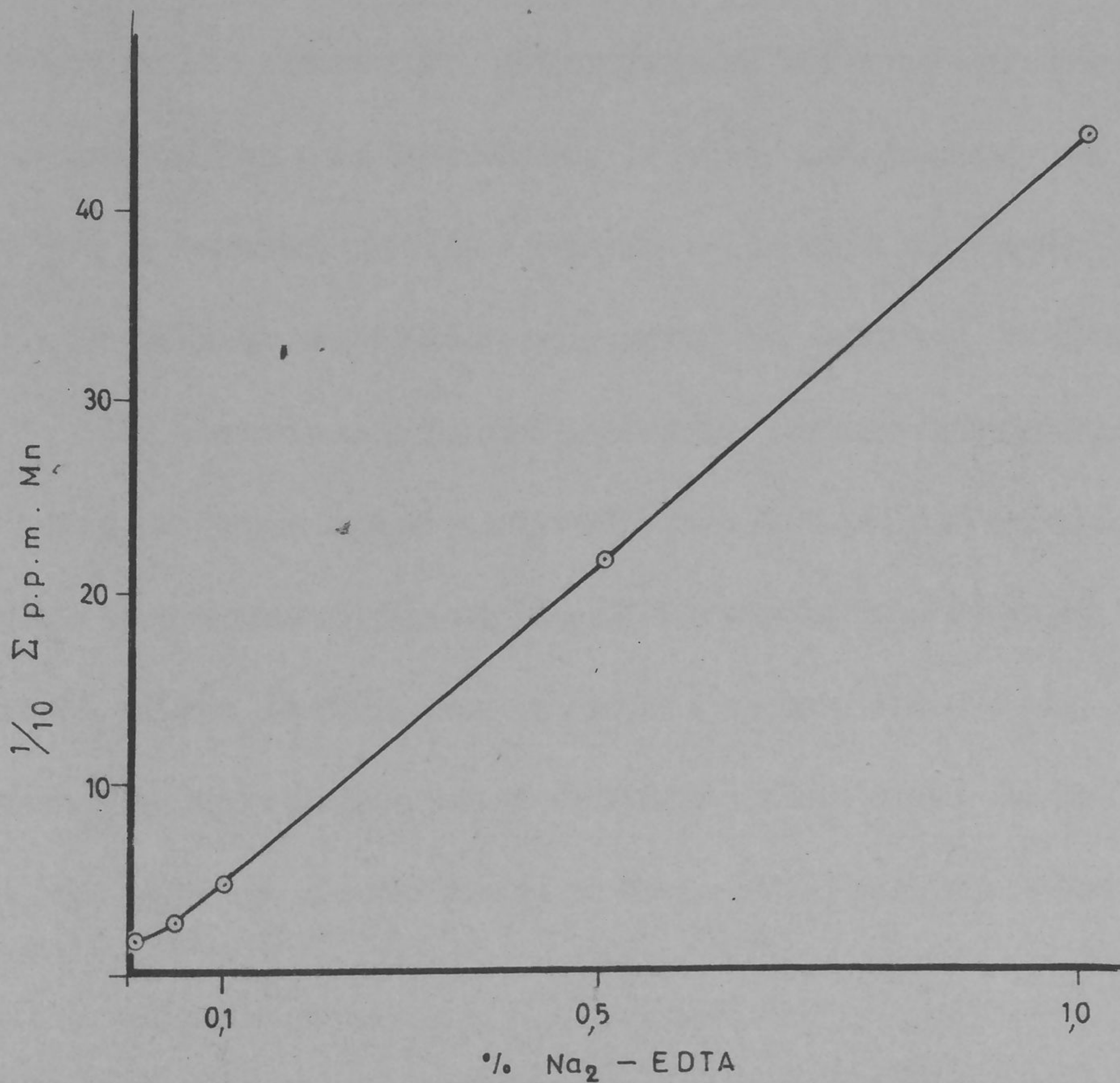
GRAFICA - 3 -



GRAFICA - 4 -



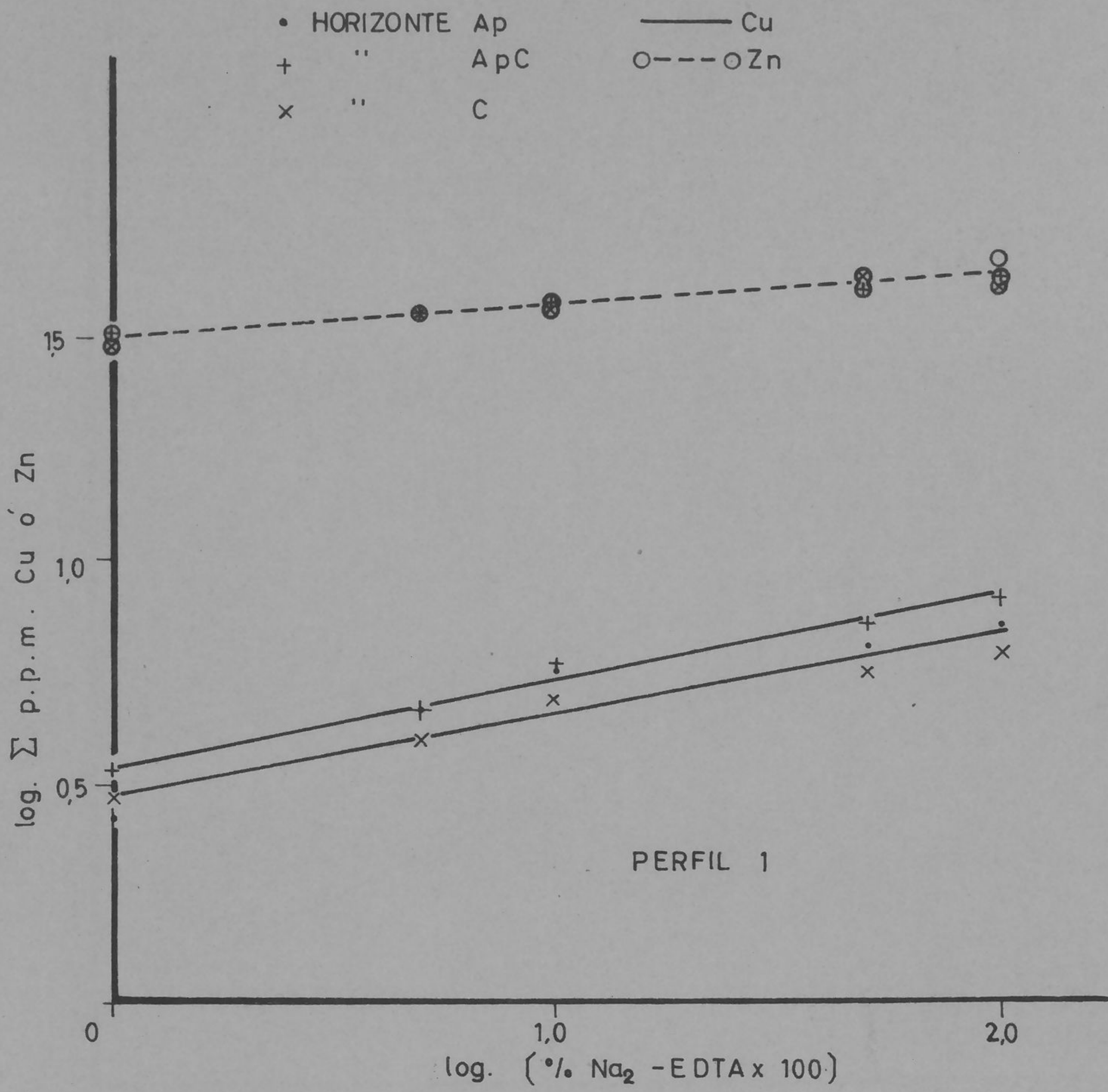
GRAFICA - 5 -



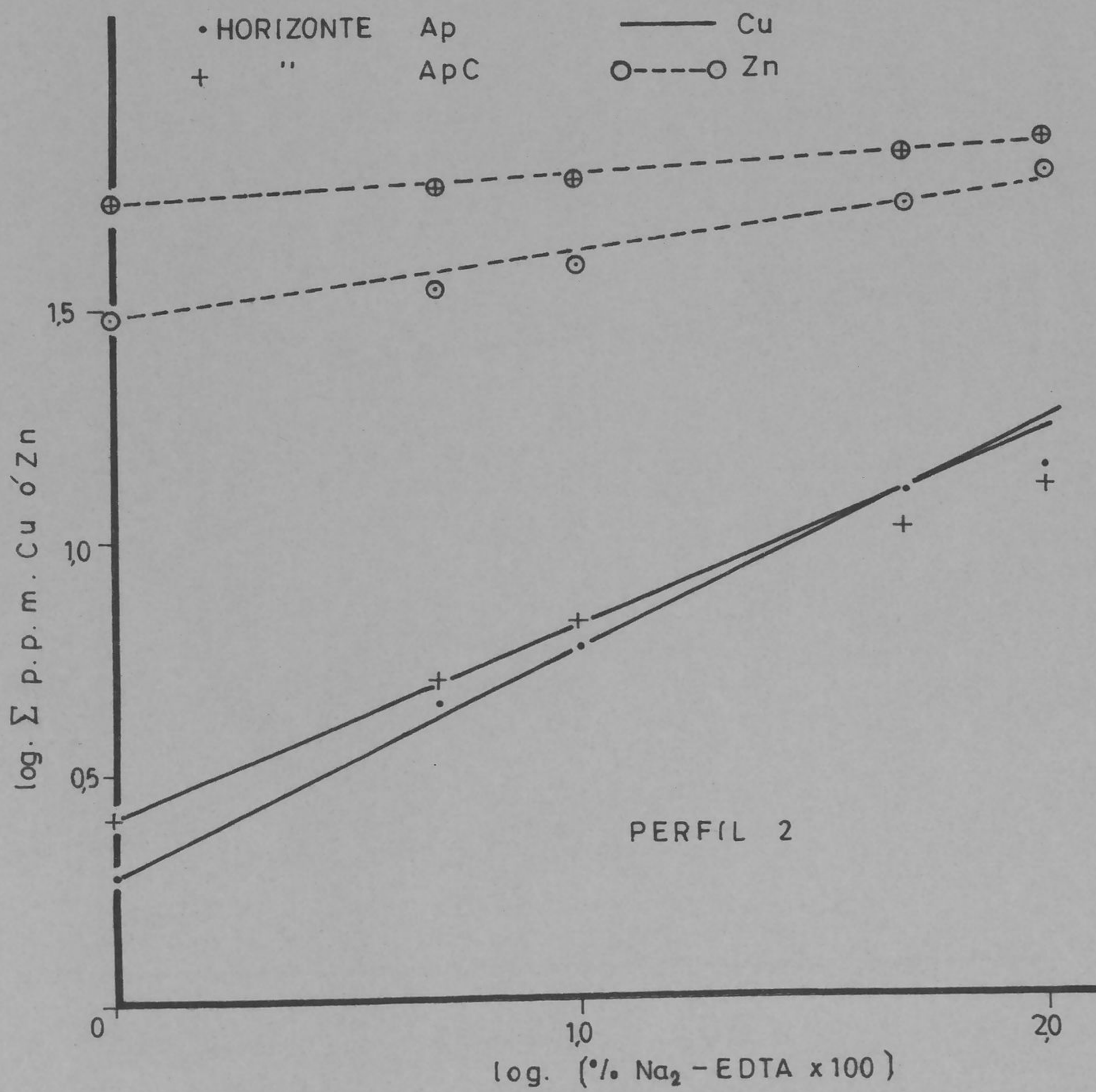
GRAFICA - 6 -

muy elevadas. La observación de todas estas representaciones gráficas, con algunas excepciones que posiblemente sean debidas a errores experimentales o, en otros casos, a falta de datos, nos inducen a pensar en la existencia de una cierta ley entre las cantidades extraídas de elemento y la concentración de agente quelante agregado al suelo; ley que, con ligeras variantes, parece ser del mismo tipo para todos los elementos estudiados. Ahora bien, estas curvas por su forma, parecen representar una función exponencial. Con objeto de obtener una función más sencilla se ha hecho la transformación logarítmica de los datos que componen la tabla IX, que se representa en las gráficas 7, 8, 9, 10, 11 y 12, las cuales están obtenidas tomando como abscisas el logaritmo decimal de la concentración de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , previamente multiplicada por 100, y en ordenadas, el logaritmo de los valores expuestos en la tabla IX para cada uno de los elementos, obteniéndose así unas agrupaciones de los datos que tienden a la linealidad, lo cual, de acuerdo con Davies(1960) indica que la transformación adoptada es la más adecuada, puesto que con ella se obtiene la relación más sencilla, esto es, la lineal.

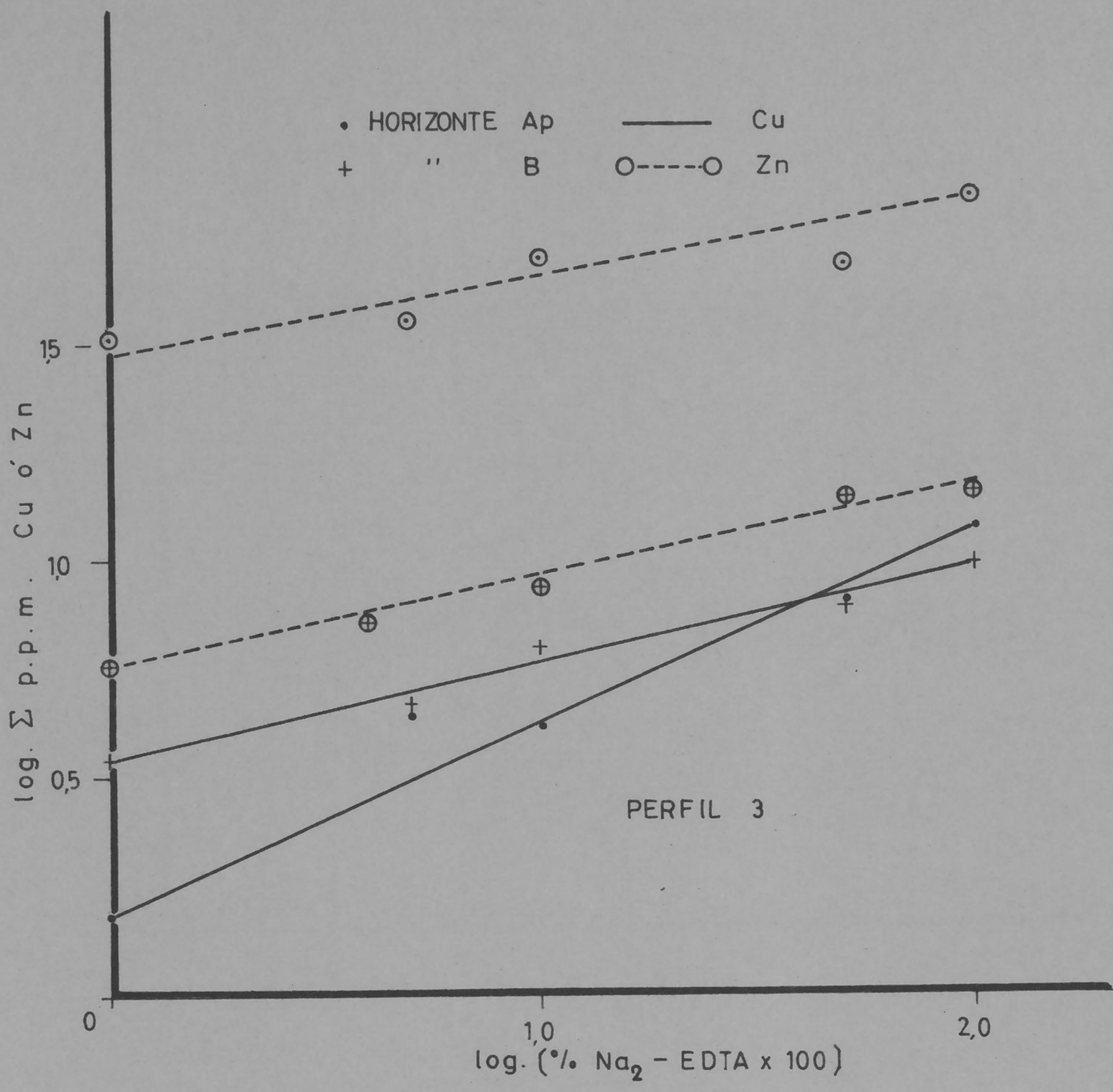
De acuerdo con lo que antecede, hemos determinado, los coeficientes de correlación y regresión de la cantidad de elemento extraída sobre la concentración de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  agregado al suelo, para cada elemento dentro de cada uno de los horizontes estudiados, previa la transformación logarítmica antes descrita de los datos de la tabla IX. Fruto de los cálculos efectuados (Lacroix, 1962) son los datos condensados en



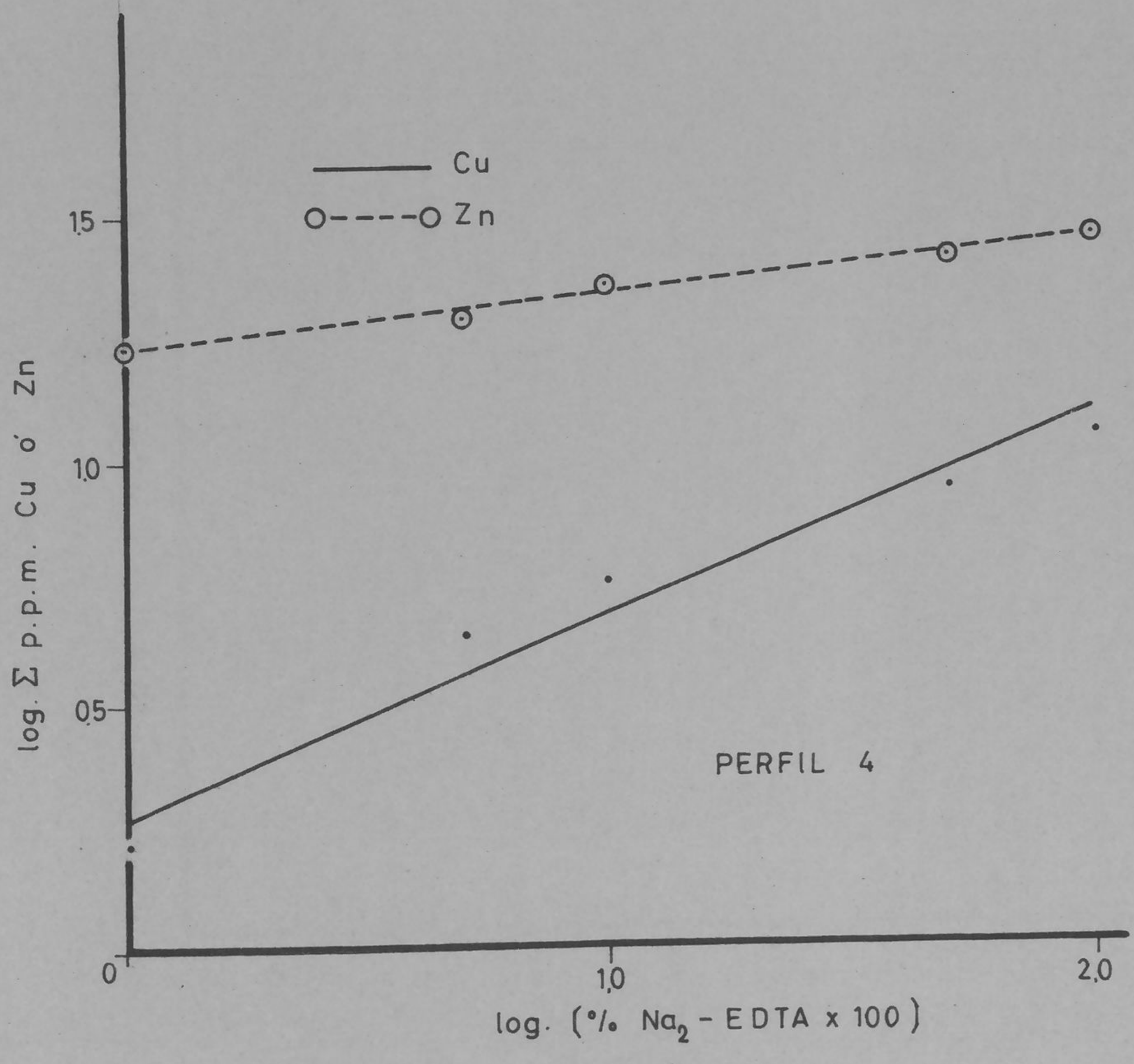
GRAFICA - 7 -



GRAFICA - 8 -

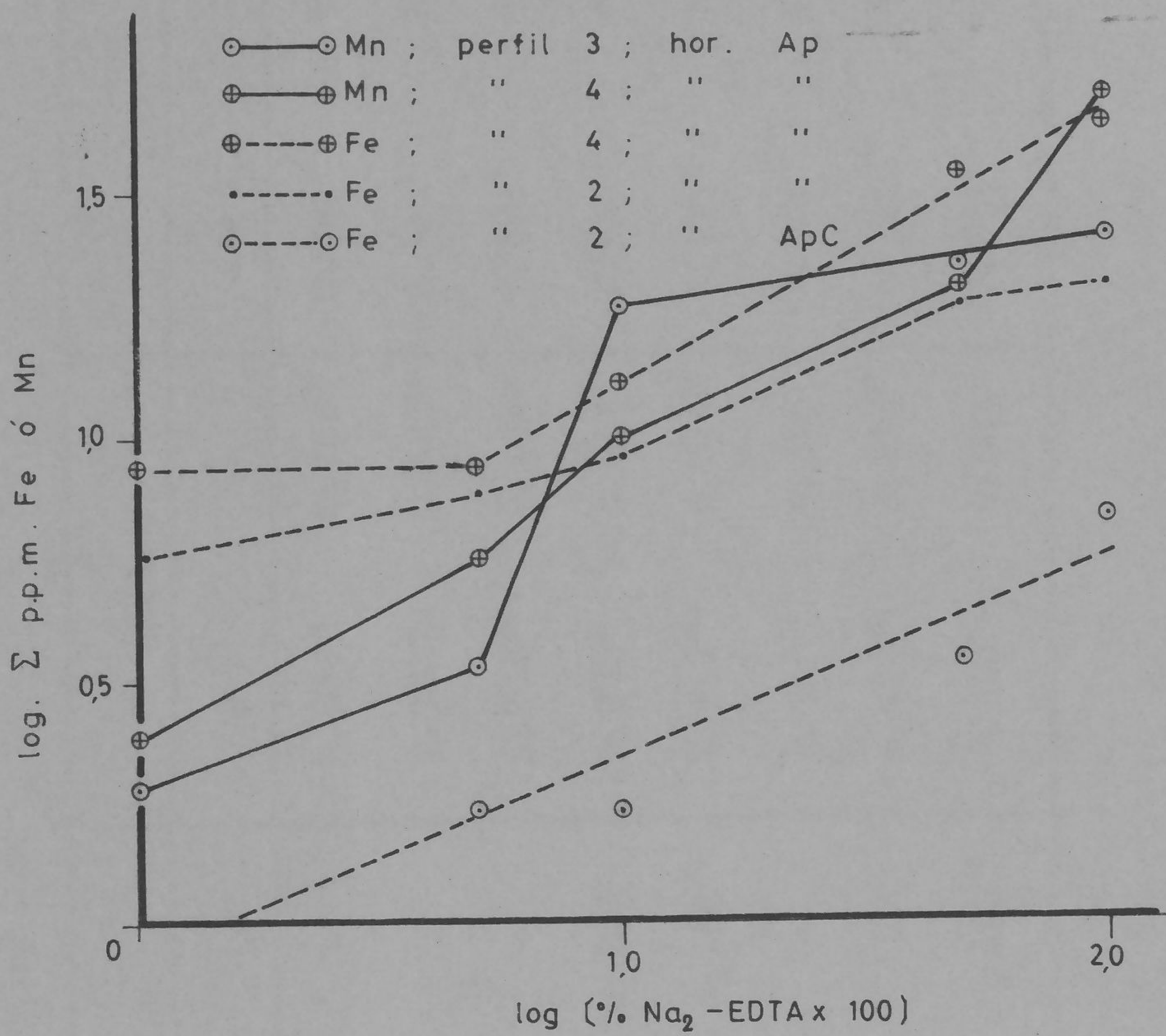


GRAFICA - 9 -

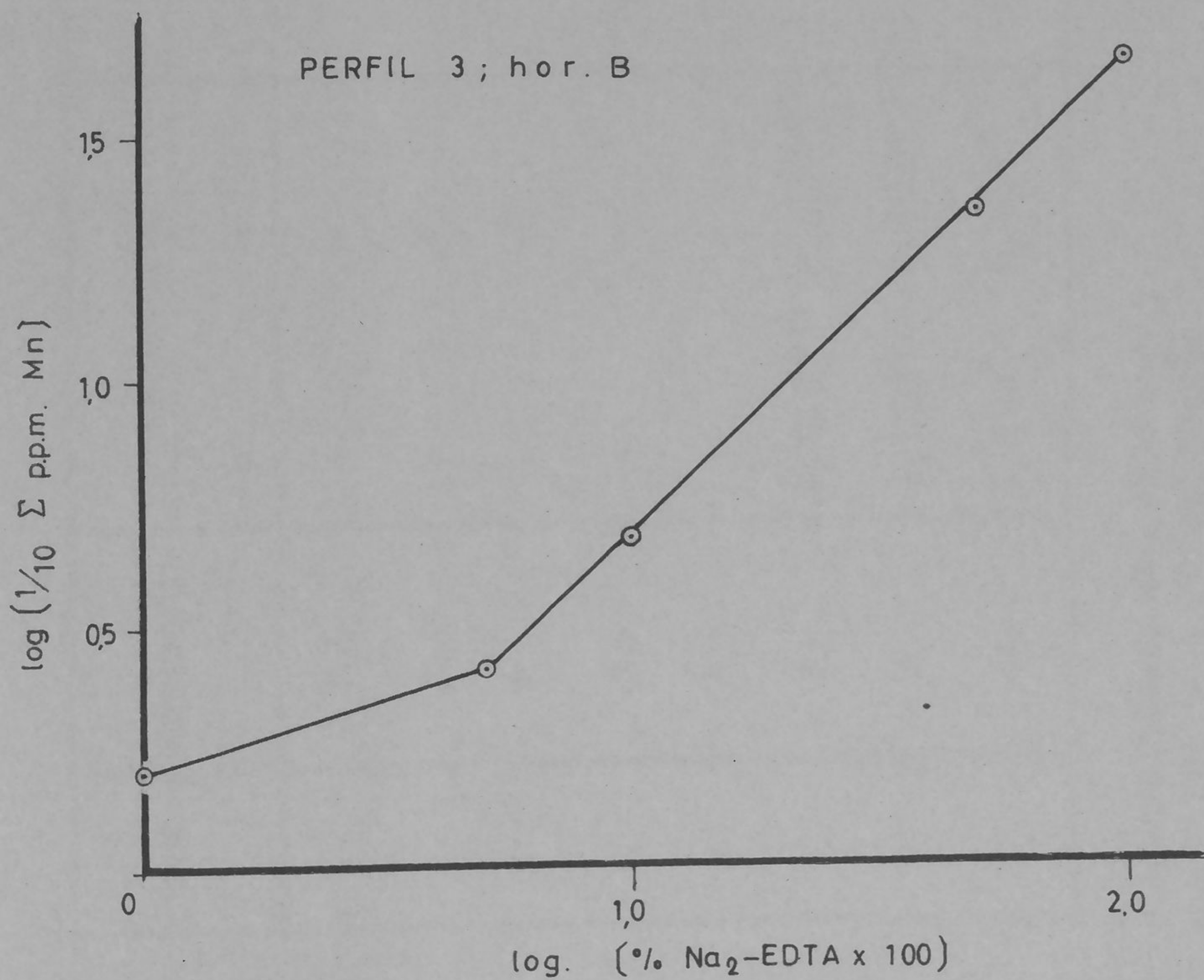


GRAFICA - 10 -





GRAFICA - 11 -



GRAFICA - 12 -

TABLA X

Perfil	Horizonte	Manganeso		Hierro		Cobre		Zinc	
		r	a	r	a	r	a	r	a
1	Ap	-	-	-	-	+0,959 <sup>██</sup>	0,204 <sup>██</sup>	+0,982 <sup>██</sup>	0,073 <sup>██</sup>
1	ApC	-	-	-	-	+0,991 <sup>██</sup>	0,186 <sup>██</sup>	+0,988 <sup>██</sup>	0,054 <sup>██</sup>
1	C	-	-	-	-	+0,984 <sup>██</sup>	0,149 <sup>██</sup>	+0,996 <sup>██</sup>	0,054 <sup>██</sup>
2	Ap	-	-	+0,980 <sup>██</sup>	0,298 <sup>██</sup>	+0,998 <sup>██</sup>	0,443 <sup>██</sup>	+0,980 <sup>██</sup>	0,158 <sup>██</sup>
2	ApC	-	-	+0,983 <sup>██</sup>	0,442 <sup>██</sup>	+0,994 <sup>██</sup>	0,350 <sup>██</sup>	+0,979 <sup>██</sup>	0,061 <sup>██</sup>
3	Ap	+0,919 <sup>███</sup>	0,602 <sup>███</sup>	-	-	+0,983 <sup>██</sup>	0,420 <sup>██</sup>	+0,906 <sup>███</sup>	0,151 <sup>███</sup>
3	B	+0,977 <sup>██</sup>	0,754 <sup>██</sup>	-	-	+0,988 <sup>██</sup>	0,214 <sup>██</sup>	+0,945 <sup>██</sup>	0,231 <sup>██</sup>
4	Ap	+0,989 <sup>██</sup>	0,629 <sup>██</sup>	+0,940 <sup>██</sup>	0,393 <sup>██</sup>	+0,985 <sup>██</sup>	0,382 <sup>██</sup>	+0,994 <sup>██</sup>	0,109 <sup>██</sup>

r : Coeficiente de correlación

a : " " regresión

██ : Valor significativo para P = 0,01

███ : " " " P = 0,02

████ : " " " P = 0,05

la tabla X, que permite la observación de la relación existente entre las dos variables que estamos estudiando, es decir, la relación que une la cantidad de elemento extraída con la concentración de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  presente en el suelo. En todos los casos en que se disponía de suficiente número de datos para obtener las citadas relaciones, que son los presentados en la tabla, puede afirmarse que existe una relación significativa entre las dos variables estudiadas. Los datos obtenidos confirman las experiencias de Perkins y Purvis (1954) por lo que respecta a Hierro y Manganeso.

### III. B. 2. - EFECTO DEL TIEMPO.

De acuerdo con el esquema expuesto al principio de esta discusión, se han agrupado los datos obtenidos para cada elemento dentro de cada uno de los horizontes estudiados, al objeto, como ya quedó indicado, de aislar el efecto del tiempo transcurrido desde que se agrega el agente quelante al suelo hasta la extracción de los distintos elementos objeto del presente trabajo. Consideramos de suma importancia el estudio de este fenómeno dado que determinará la época precisa en que conviene agregar el citado "fertilizante" para obtener máximo rendimiento.

Existen antecedentes en la bibliografía Hill-Cottingham (1955), Tiffin y Brown (1962), Hill-Cottingham y Lloyd-Jones (1958 a, 1958 b, 1961), si bien de forma concreta estudian sólo lo que le ocurre a distintos quelatos de Hierro al cabo de un determinado tiempo y no hacen

**TABLA XI**

Perfil 1

Horizonte	Elemento	Días de incubación					
		2	5	10	15	25	45
Ap	Mn	x	x	x	x	x	x
	Fe	13,00	13,00	13,00	x	x	x
	Cu	4,50	4,50	8,80	3,65	2,55	2,25
	Zn	26,90	28,50	34,90	42,00	32,10	32,10
ApC	Mn	x	x	x	x	x	x
	Fe	x	x	x	x	x	x
	Cu	4,40	4,75	5,45	5,05	4,60	4,65
	Zn	26,30	27,50	33,80	40,60	32,30	29,30
C	Mn	x	x	x	x	x	x
	Fe	x	x	x	x	x	x
	Cu	3,55	3,75	3,70	4,85	4,15	3,30
	Zn	23,60	27,80	33,30	40,00	31,00	28,50

Perfil 2

Horizonte	Elemento	Días de incubación					
		2	5	10	15	25	45
Ap	Mn	13,30	6,80	x	x	x	x
	Fe	8,60	12,10	12,10	12,10	10,46	7,88
	Cu	5,53	6,10	7,20	7,55	6,45	5,88
	Zn	33,25	35,50	38,75	41,75	35,75	30,25
ApC	Mn	x	x	x	x	x	x
	Fe	2,57	10,37	2,57	x	x	x
	Cu	5,88	6,80	7,35	8,38	4,50	5,05
	Zn	46,75	51,25	53,00	58,00	52,25	46,25

**TABLA XI (Continuación)**

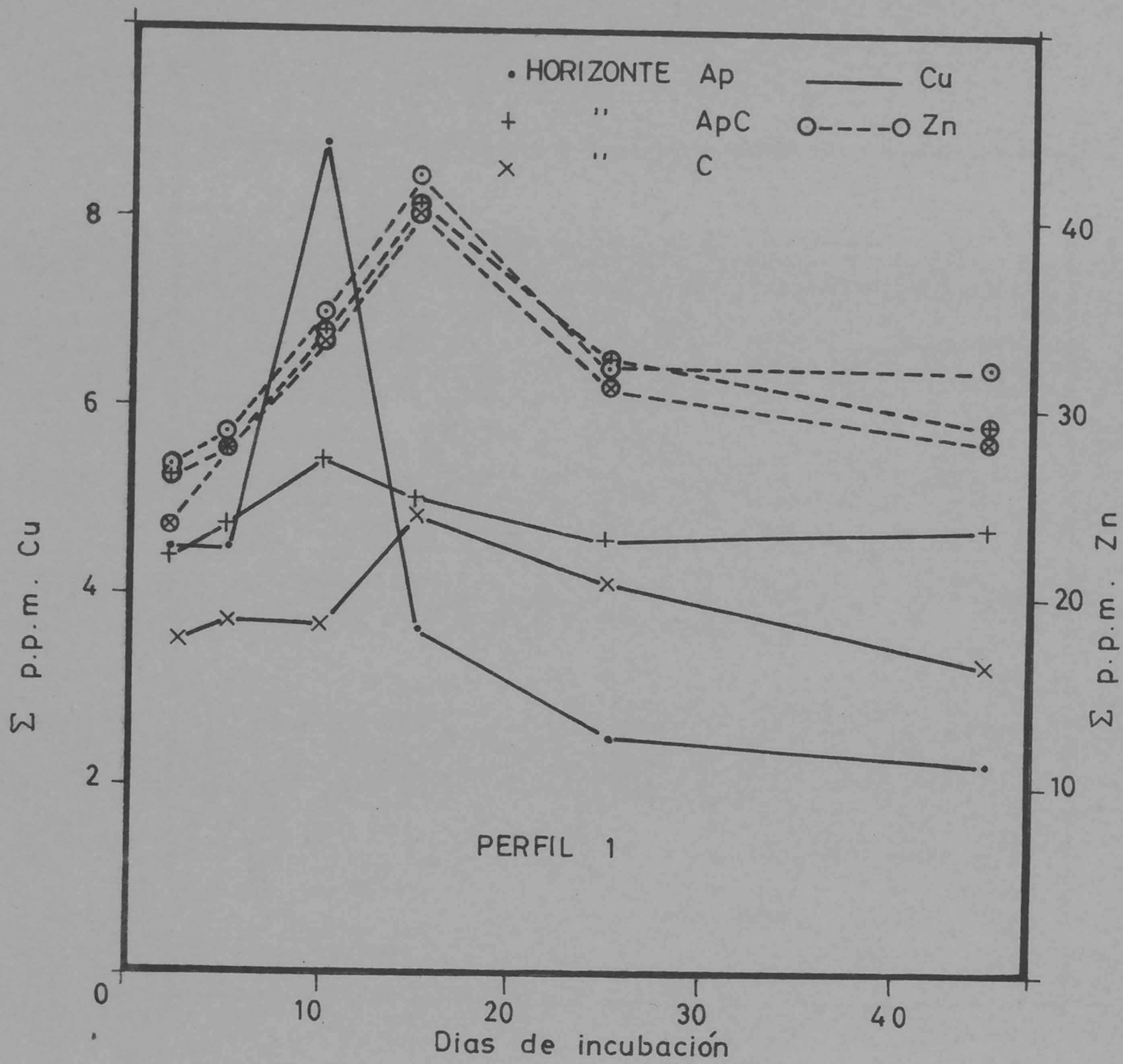
**Perfil 3**

Horizonte	Elemento	Días de incubación					
		2	5	10	15	25	45
Ap	Mn	41,20	30,40	x	x	x	x
	Fe	6,40	6,90	x	6,10	5,20	7,00
	Cu	4,80	4,80	4,63	5,18	5,35	4,38
	Zn	21,50	30,00	49,00	53,70	49,75	32,25
B	Mn	115,40	176,40	269,40	159,70	27,60	x
	Fe	5,20	14,70	5,20	1,30	x	x
	Cu	6,85	7,78	8,33	4,90	2,13	1,98
	Zn	30,75	9,75	5,00	3,25	x	x

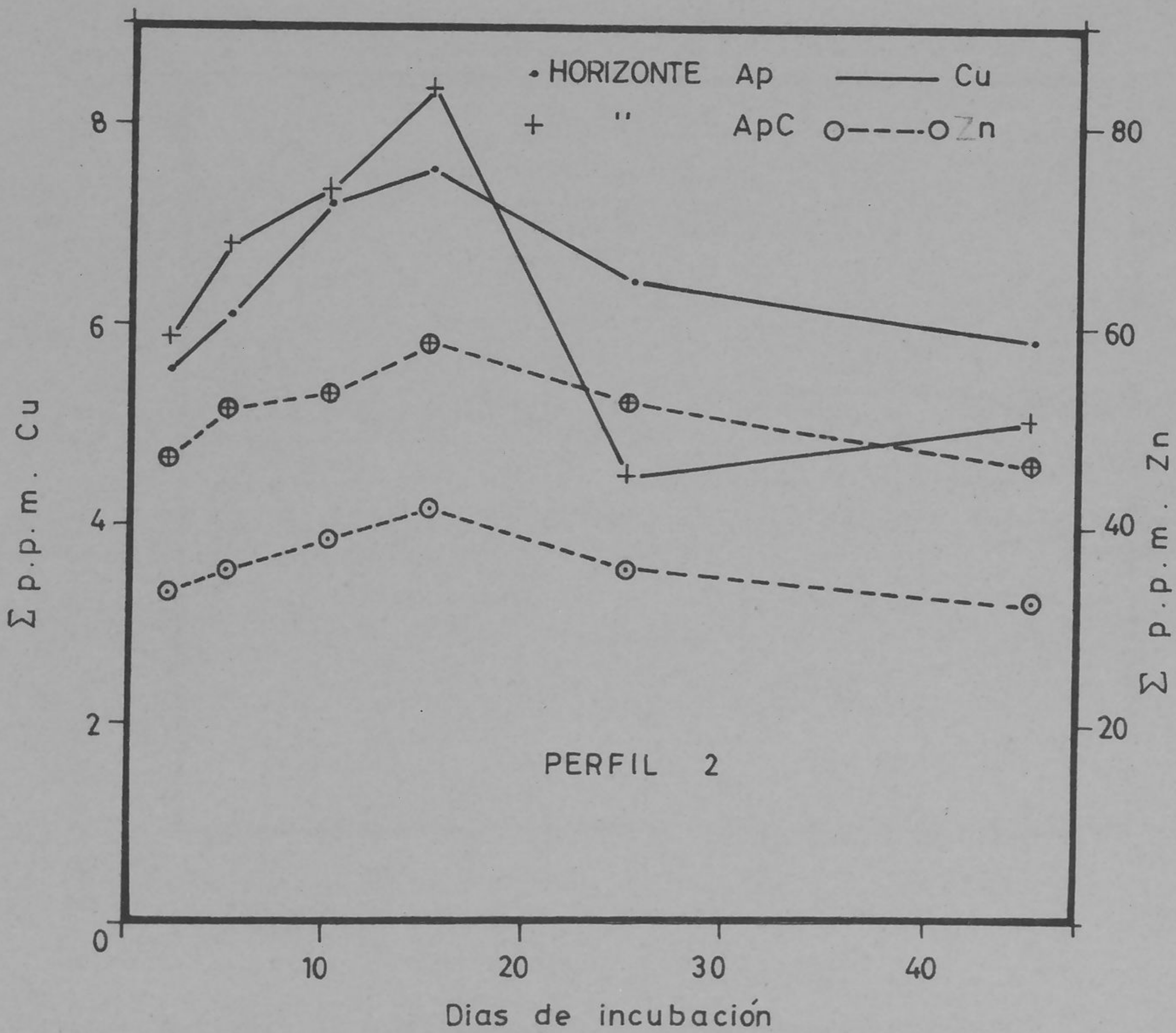
**Perfil 4**

Horizonte	Elemento	Días de incubación					
		2	5	10	15	25	45
Ap	Mn	x	11,80	18,90	21,10	20,10	16,60
	Fe	21,70	43,50	17,40	13,00	8,60	4,30
	Cu	6,00	6,80	5,70	4,70	4,40	4,35
	Zn	16,90	18,50	20,10	21,70	18,00	17,60

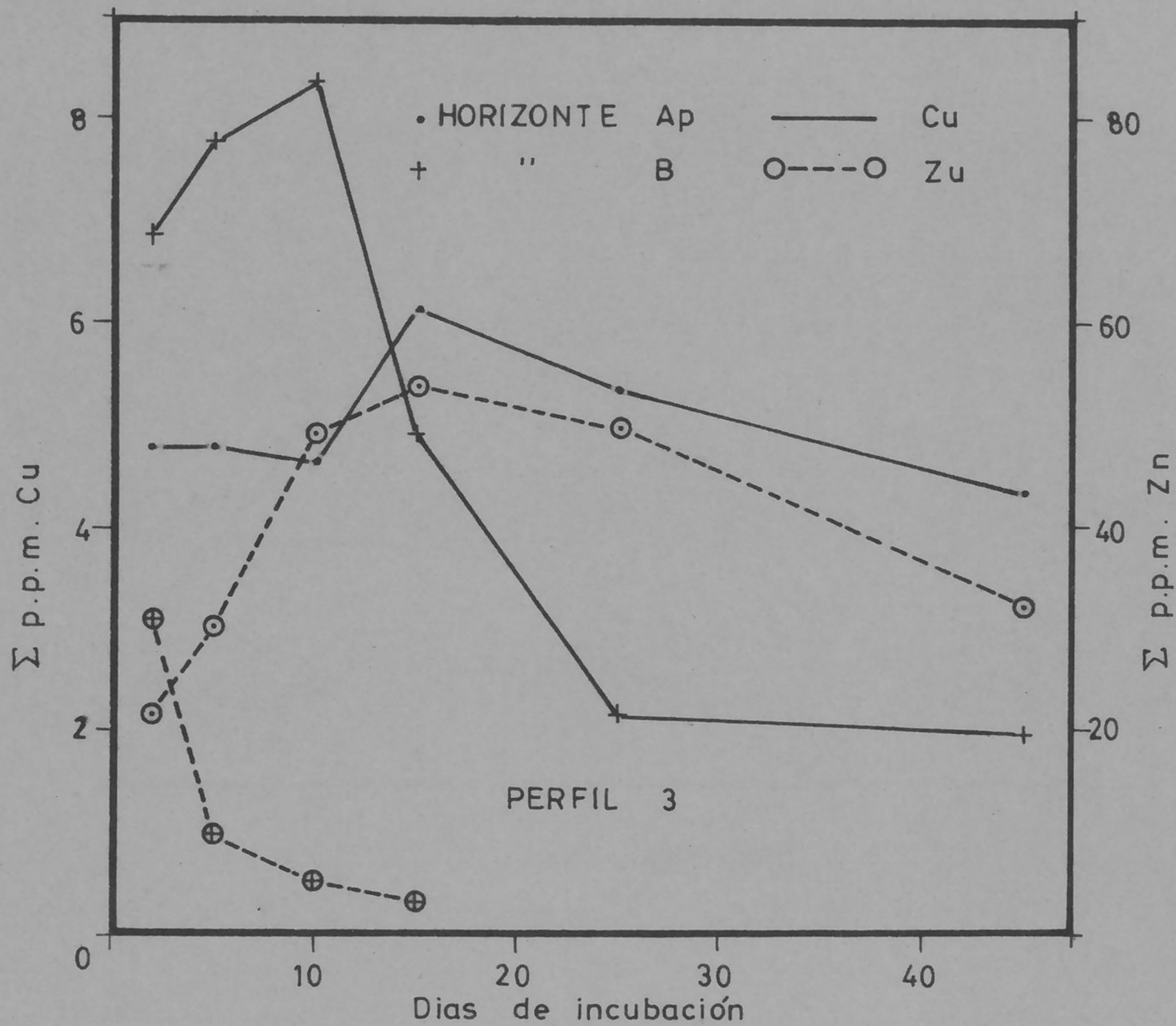
x No determinable por el método analítico utilizado.



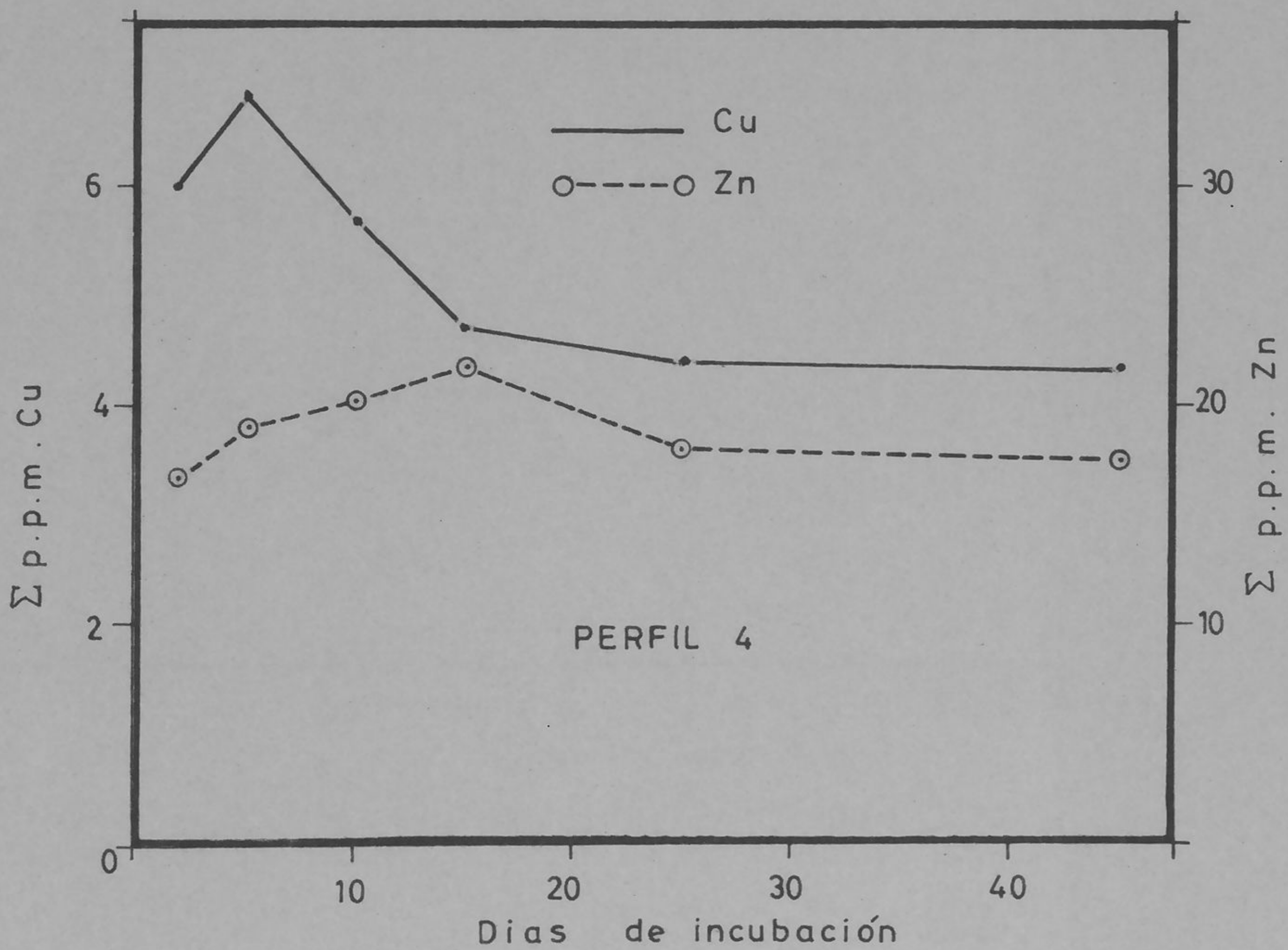
GRAFICA -13-



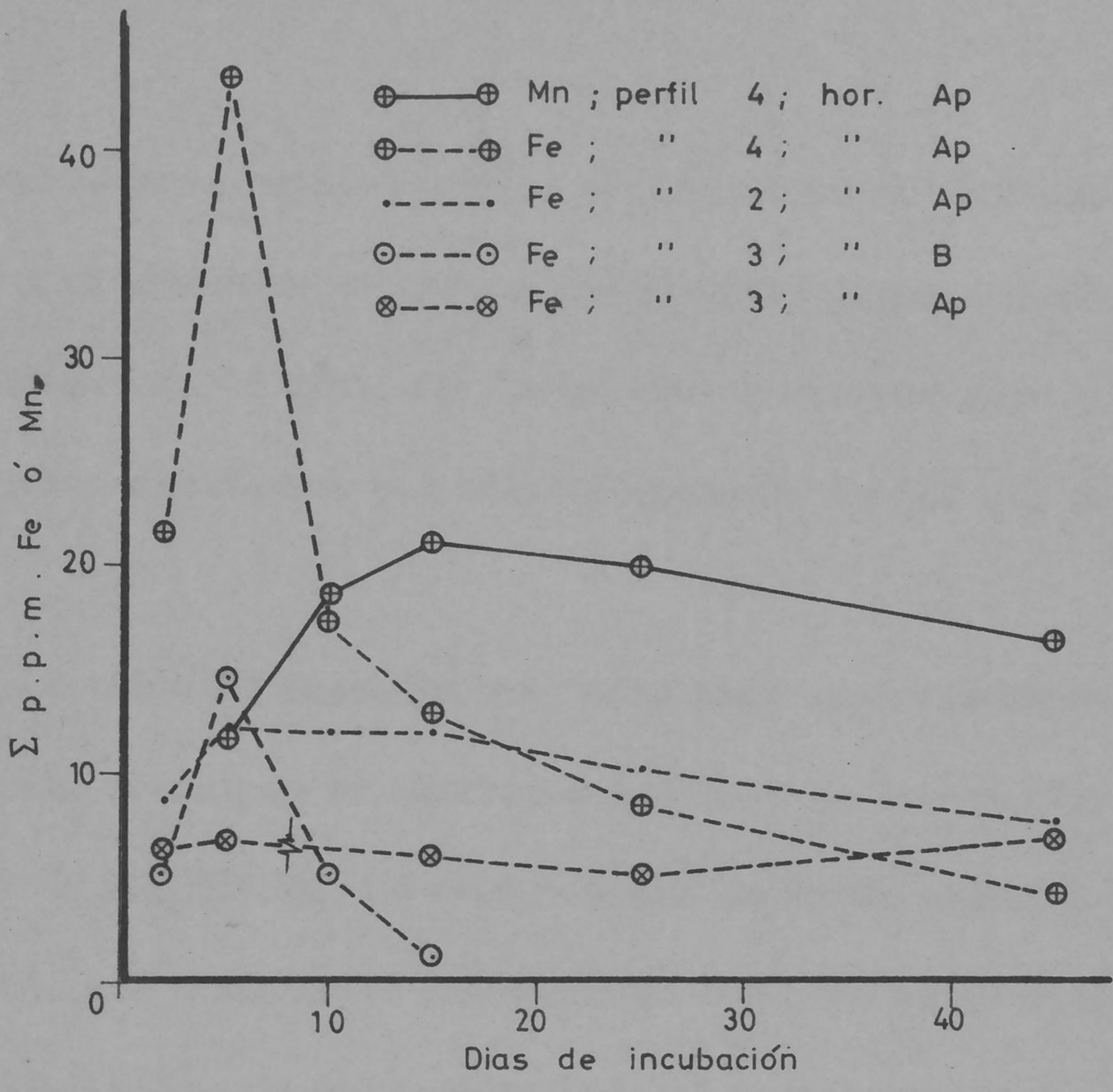
GRAFICA -14-



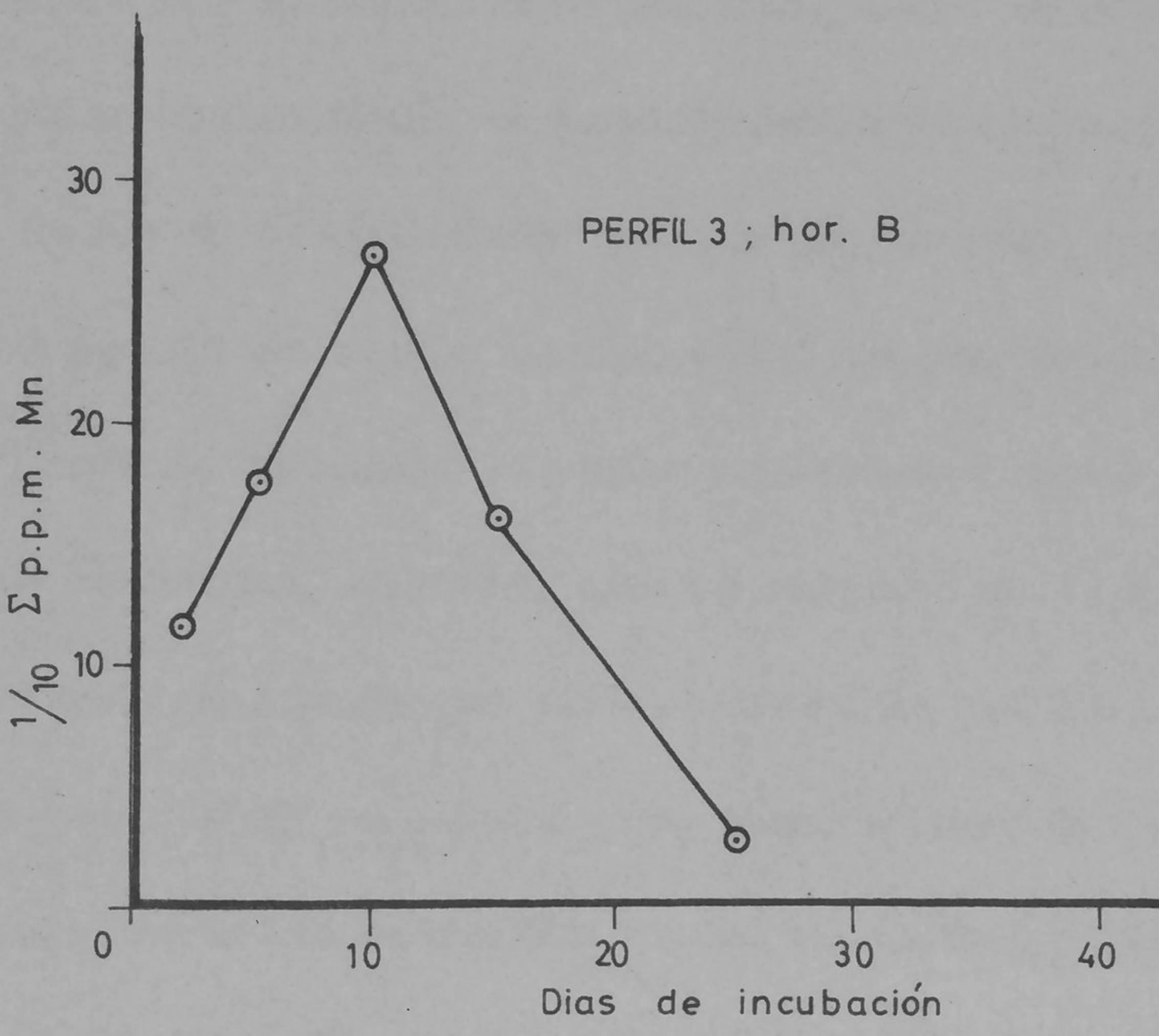
GRAFICA -15-



GRAFICA -16-



GRAFICA -17-



GRAFICA -18-



un estudio tan preciso como el efectuado en el presente trabajo con respecto a la dinámica de los cuatro elementos que estudiamos a lo largo del periodo de 45 días. De forma que desafortunadamente, no son comparables los resultados por ellos obtenidos con los que nosotros presentamos.

La tabla XI recopila los datos para cada elemento dentro de cada horizonte estudiado en función del tiempo de incubación del suelo en presencia de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ . La observación de éstos permite deducir, de forma general, que cantidades máximas de los elementos estudiados se liberan a los 10-15 días de haber agregado el agente quelante al suelo de manera que la representación gráfica (Gráficas 13, 14, 15, 16, 17 y 18) del efecto obtenido con el transcurso del tiempo nos indica muy claramente que es de suma importancia el conocimiento de la época en que conviene agregar al suelo el "fertilizante" ya que pierde toda su "actividad", como tal, si no se agrega un cierto tiempo antes de que la planta se encuentre en condiciones de absorber los micronutrientes que se estudian, al menos. Hay que resaltar, además, que se dispone de un intervalo de tiempo bastante restringido para que dicha absorción por la planta sea máxima; además hay que tener en cuenta que, tanto el agente quelante utilizado en este trabajo como los restantes sintetizados hasta ahora, son de un costo bastante elevado. Por tanto, de acuerdo con las gráficas que anteceden, si dicho intervalo de tiempo, antes mencionado, se sobrepasa antes de que la planta esté en condiciones de asimilar los oligoelementos que se trata

de suministrarle, se habrá encarecido la cosecha sin beneficio alguno.

Este hecho resulta sumamente interesante, puesto que hemos trabajado con suelos ricos en carbonato cálcico, y creemos muy posible tenga lugar un desplazamiento de los elementos Manganeso, Hierro, Cobre y Zinc por parte del ión Calcio, según el siguiente equilibrio:

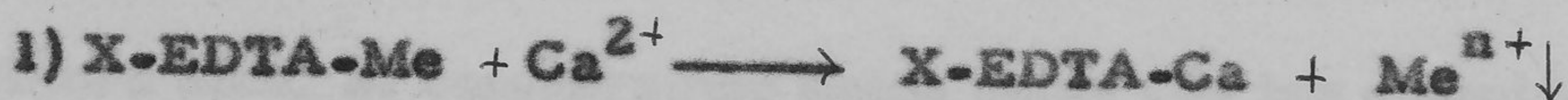


equilibrio que se encuentra muy favorecido hacia la derecha dadas las cantidades de carbonato cálcico existentes en los suelos estudiados. En principio, al agregar el agente quelante al suelo, consideramos lógica la formación de los quelatos de los elementos Manganeso, Hierro, Cobre y Zinc, ya que las constantes de estabilidad de éstos son mucho mayores que la correspondiente al Calcio, si bien, como antes indicamos en el equilibrio representado, creemos puede tener lugar una lenta transformación del MeEDTA en CaEDTA debido a que el valor de la razón  $\text{Ca}/\text{Me}$ , en los suelos estudiados, es muy elevada. Por otra parte, no hay que olvidar que la arcilla de los suelos cataliza la reacción de hidrólisis anterior, haciendo que los metales que, en un primer estadio, formaron el correspondiente quelato, precipiten y vuelvan a estar en el suelo en un estado no asimilable por las plantas. Lunt y Wallace (1955), Wallace y Lunt (1956), Wallace y col. (1957), Wallace (1963) por una parte, y Stewart y Leonard (1957), por otra, soportan esta idea. Además Wallace y Lunt (1956) establecen, como ya se mencionó al principio de esta

memoria, que, operando con el FeEDTA, es de esperar tenga lugar una reacción del tipo



donde X representa un protón u otro cualquier catión asociado. Pues bien, consideramos que en suelos calizos es más probable que esta reacción de fijación del quelato por la arcilla pueda tener lugar en dos pasos sucesivos:



quedando el metal,  $\text{Me}^{n+}$ , precipitado en el suelo por una reacción hidrolítica.

Este efecto encontrado por nosotros, que se ha representado en las gráficas 13 y 18, ya fué descrito en el año 1954 por Perkins y Purvis si bien ellos, que sometieron el suelo a un proceso de humedecimiento y secado alternativos, atribuyeron aquel efecto como debido a este proceso de humedecimiento y secado. Hay que hacer notar que operaron sobre un tipo de suelo distinto a los tratados por nosotros y, además para el estudio de este efecto, agregaron al suelo el quelato MnEDTA.

### III. B. 3. - EFECTO DE LA PRESENCIA DE $\text{Na}_2\text{EDTA}$ EN EL PROCESO DE EXTRACCION.

Por último nos quedaba por comprobar si la presencia de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  agregado en pequeñas concentraciones, similares a las agregadas al suelo

**TABLA XII**

**Cantidades de elementos extraídas con acetato amónico en presencia de concentraciones variables de Na<sub>2</sub>-EDTA (p.p.m.)**

Perfil	Horizonte	Elemento	Cantidad de Na <sub>2</sub> -EDTA agregado al acetato amónico, expresado en % del suelo presente en la extracción.					
			0	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
1	Ap	Mn	x	x	x	x	x	x
		Fe	x	x	x	x	x	x
		Cu	0,10	0,35	0,68	0,93	1,10	1,40
		Zn	3,00	4,00	4,50	5,00	6,00	6,00
	ApC	Mn	x	x	x	x	x	x
		Fe	x	x	x	x	x	x
		Cu	0,08	0,40	0,68	1,00	1,20	1,33
		Zn	3,00	3,50	4,00	4,50	4,50	5,50
	C	Mn	x	x	x	x	x	x
		Fe	x	x	x	x	x	x
		Cu	0,13	0,40	0,60	1,00	1,10	1,33
		Zn	3,00	3,00	3,50	4,50	5,50	5,50
2	Ap	Mn	x	x	x	x	x	x
		Fe	x	x	x	x	x	x
		Cu	0,25	0,28	0,70	1,00	1,55	2,00
		Zn	4,50	4,50	5,25	6,50	8,00	8,00
	ApC	Mn	x	x	x	x	x	x
		Fe	x	x	x	x	x	x
		Cu	0,25	0,25	0,75	1,15	1,75	2,18
		Zn	6,00	7,25	7,50	8,00	9,37	9,75

**TABLA XII (Continuación)**

Perfil	Horizonte	Elemento	Cantidad de Na <sub>2</sub> -EDTA agregado al acetato amónico, expresado en % del suelo presente en la extracción					
			0	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
3	Ap	Mn	x	x	x	x	11,00	11,50
		Fe	x	x	x	1,20	1,70	2,50
		Cu	0,13	0,25	0,60	0,75	1,31	1,75
		Zn	1,00	4,10	6,30	8,10	9,05	10,10
	B	Mn	x	x	4,00	5,70	22,50	60,00
		Fe	x	x	x	x	x	2,80
		Cu	0,25	0,80	1,10	1,30	1,60	1,79
		Zn	1,00	3,25	4,05	5,75	6,15	6,15
4	Ap	Mn	x	x	x	x	x	x
		Fe	x	x	x	x	x	x
		Cu	0,20	0,40	0,70	1,15	1,80	2,05
		Zn	2,60	2,30	2,80	3,30	4,20	4,20

x No determinable por el método analítico utilizado.

del agente quelante queda retenido por la arcilla del suelo o, en líneas generales, desde un punto de vista más interesante para la nutrición vegetal, "desaparece" del suelo en gran proporción con el transcurso del tiempo.

Por último, se ha comprobado experimentalmente que en ausencia de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , la incubación del suelo a lo largo del período de 45 días no modifica la cantidad extraída por el acetato amónico de cada uno de los cuatro elementos estudiados.

**IV. PARTE SEGUNDA**

=====

**EXPERIENCIAS CON MACETAS**

=====

Como hicimos constar al principio de la presente Memoria, la segunda parte de este trabajo consistía en realizar unas experiencias con plantas al objeto de comprobar los resultados obtenidos en la incubación de suelos y estudiar, al propio tiempo, los factores limitantes que presentaría la planta.

Se conoce que los agentes quelantes son tóxicos a las plantas cuando éstos están presentes en un ligero exceso. Así pues, este efecto que, por la naturaleza de la experiencia, no podía verse en la primera parte de este trabajo, hemos creído oportuno ensayarlo para conocer las limitaciones, con respecto a concentración de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  agregado al suelo, que puede presentar el método de "fertilización" con este agente quelante. Asimismo, nos servirían estos ensayos de comprobación a todo lo anterior, dado que en este caso será la propia planta la que nos servirá de extractor de aquellas cantidades puestas en forma asimilable debido a la presencia del agente quelante.



#### IV. A. PARTE EXPERIMENTAL

\*\*\*\*\*

#### IV. A. 1. - CULTIVO EN MACETAS

Las experiencias se realizaron con los mismos suelos utilizados en la primera parte de este trabajo. La técnica de cultivo, fué, en esencia, la preconizada por Neubauer y modificada por McGeorge (1946) para la determinación de la fertilidad de los suelos.

##### Material.

Macetas de polieteno, ligeramente troncocónicas, de 5,5 cm. de altura y 12,4 y 11,2 cm. de diámetro superior e inferior, respectivamente.

Tijeras de plástico.

Material de vidrio Pyrex

Mortero de vidrio.

##### Reactivos.

Agua desmineralizada y destilada en vidrio Pyrex.

Acido Clorhídrico 6N. - Destilar una mezcla de ácido clorhídrico Probus

Q. P. densidad 1,19 y agua en partes iguales.

Na<sub>2</sub>EDTA Merck, R. A.

Arena de Cuarzo. - Tamizada por tamiz de 2 mm. Se trató la arena en fracciones de 250 grs. en vasos de 1 litro, con 500 ml. de ácido clorhídrico, calentando a ebullición. Este tratamiento se repite, tantas veces como sea necesario, hasta que el líquido sobrenadante resulte incoloro, tras lo cual se lava con agua caliente hasta reacción neutra. Por último se seca en estufa a 105°C.

Mezcla suelo- $\text{Na}_2\text{EDTA}$  (9 : 1). - De cada muestra de suelo, se pesan 18 gr. y se vierten en un mortero; se agregan 2 gr. de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  y se homogeniza la mezcla.

Preparación de los suelos. - Se toman 0; 0, 1; 0, 5; 1, 0; 5, 0 y 10, 0 gr. de la correspondiente mezcla suelo- $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , completando a 100 gr. con la misma muestra de suelo. Se homogeniza con una espátula de plástico. Se obtienen, de esta forma, para cada una de las muestras, las siguientes concentraciones de agente quelante, con respecto al suelo: 0; 0, 01; 0, 05; 0, 1; 0, 5 y 1, 0 %.

#### Procedimiento.

Se vierten en cada maceta 50 gr. de arena. Se agregan 100 gr. de suelo preparado con  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  y, a continuación, 150 gr. más de arena.

Se distribuyen, lo más uniformemente posible, sobre la superficie 100 semillas de centeno seleccionadas, y se cubren con 50 gr. de arena. Se agregan 80 ml. de agua. Se pesa el conjunto, anotando el peso, para adicionar cada dos días, el agua perdida por evaporación.

La experiencia para cada muestra de suelo constaba de 6 macetas. Se utilizó un blanco (triplicado) conteniendo solamente arena.

El total de 51 macetas, se colocó en una habitación, termostaticada a 20-22°C, con iluminación artificial, que se mantenía durante 14 horas, seguidas por 10 de oscuridad.

Recogida.

15 días después de sembrar las macetas, se cosecharon, cortando las plantas, con tijera de plástico, 1 cm. por encima de la superficie de la arena. Las plantas de cada maceta se contaron y pesaron inmediatamente después de cortadas; se secan en estufa a 65-70°C, durante 24-48 horas (Stein, 1959). Tras enfriarlas en desecador, se pesan nuevamente, y se guardan en bolsas de plástico.

La muestra completa, groseramente triturada por presión ejercida sobre las paredes de la bolsa, se introduce en un crisol de cuarzo, calcinándola a una temperatura de 450°C durante la noche.

Las cenizas obtenidas se dejan enfriar y llegar a equilibrio en desecador. Se pesan, pudiendo de esta forma, determinar el correspondiente factor de concentración que habremos de utilizar en los cálculos finales.

#### IV.A.2. - TECNICAS ANALITICAS

Para la determinación de Hierro, Manganeso y Cobre se seleccionó la técnica espectrográfica, según el método de Farmer (1950) para cenizas de plantas.

##### Principio del método.

Consiste, en esencia, en la determinación de estos elementos directamente en las cenizas obtenidas por incineración de las plantas a 450°C, eliminando de esta forma, cualquier tipo de tratamiento químico sobre la muestra, lo cual evita la posibilidad de contaminación sobre un elemento muy susceptible de ella, como es el Cobre. Se utiliza sulfato potásico como tampón espectrográfico, y los elementos Plata y Cromo, incorporados al polvo de carbón, como patrones internos.

Como fuente de excitación se usa arco de corriente continua.

##### Reactivos.

Agua. - Desmineralizada y posteriormente destilada en un destilador de vidrio Pyrex.

Sulfato potásico. - Exento de Fe, Mn y Cu por apropiada selección entre diferentes lotes de productos.

Fosfato potásico. - Obtenido a partir de KOH Merck R.A. y  $\text{PO}_4\text{H}_3$  Merck R.A. La solución obtenida se evapora a pequeño volumen; se deja cristalizar y se lava varias veces con alcohol.

**Carbonato potásico.** - Obtenido a partir de una solución acuoso-alcohólica de KOH, R.A. Merck, a la que se le pasa una corriente de CO<sub>2</sub>. El bicarbonato obtenido se filtra y, por calefacción se convierte en carbonato.

**Oxido de magnesio.** - "Specpure" de Johnson-Matthey.

**Carbonato sódico.** - Se prepara una solución al 20 % en agua, la cual se extrae varias veces con solución clorofórmica de ditizona al 0,01 % hasta que el extracto no cambia de color. El exceso de ditizona se extrae con cloroformo. El CO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O cristaliza sumergiendo el vaso, que contiene la solución, en una mezcla frigorífica de hielo-cloruro sódico. Se filtra y se deja eflorescer durante 2 semanas, tras lo cual se calienta en crisol de platino a 300°C para convertir el monohidrato en el correspondiente producto anhidro.

**Acido Clorhídrico 6N.** - Se destila una mezcla de ácido Clorhídrico Probus Q.P. y agua en partes iguales.

**Hidróxido amónico.** - Se destila 1 l . de hidróxido amónico Probus Q.P., recogiendo el destilado sobre 500 ml. de agua destilada hasta completar 1 litro.

**Carbonato cálcico.** - 10 gr. de CO<sub>3</sub>Ca R.A. se disuelven en 35 ml. de ClH 6N. Se agrega NH<sub>4</sub>OH hasta justa alcalinidad; esta solución se acidifica ligeramente con ClH y se agregan 15 gr. de 8-hidroquinoleína disuelta en 200 ml. de alcohol del 90 %. Se calienta

la solución y se agregan 25 ml. de  $\text{NH}_4\text{OH}$  1 : 1. El precipitado se filtra, en caliente, después de no más de 5 minutos de reposo. El precipitado obtenido, después de seco, se calcina a  $450^\circ\text{C}$  y las cenizas se disuelven en  $\text{ClH}$ . La solución se alcaliniza con  $\text{NH}_4\text{OH}$  y se filtra. Al filtrado, fuertemente alcalinizado con  $\text{NH}_4\text{OH}$ , se le pasa una corriente de  $\text{CO}_2$ , con lo que precipita  $\text{CO}_3\text{Ca}$  con un suficiente grado de pureza.

**Sílice.** - Procedente de cuarzo natural, molido y lavado con  $\text{ClH}$ .

**Oxido férrico.** -  $(\text{Fe}_2\text{O}_3)$  R. A.

**Sesquióxido de manganeso.**  $(\text{Mn}_2\text{O}_3)$  R. A.

**Oxido Cúprico**  $(\text{CuO})$  R. A.

**Carbonato bórico**  $(\text{CO}_3\text{Ba})$  R. A.

**Carbonato de estroncio**  $(\text{CO}_3\text{Sr})$  R. A.

**Polvo de carbón.** - Obtenido por pulverización de varillas de carbón -

"Ship Carbons" SG-305 -H para espectrografía.

**Solución de cromo.** - 0,1063 gr. de  $\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$  R. A. se disuelven en  $\text{NO}_3\text{H}$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$ , llevando, seguidamente, a sequedad para reducir el  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$ . Se disuelve el residuo en agua llevando a un volumen total de 50 ml.

**Polvo de carbón conteniendo Plata y Cromo.** - A 10 gr. de polvo de carbón, colocados en un crisol de cuarzo, se agregan 2 ml. de la solución de Cromo y se evapora a sequedad. A continuación, se adicionan 2 ml. de la solución de Plata y se vuelve a evaporar a

sequedad. Por último se homogeniza perfectamente la mezcla, en mortero de ágata.

Material y aparatos.

Material de vidrio Pyrex

Mortero de ágata.

Torno-cortador de electrodos. Similar al diseñado por Scott y Fraser (1953).

Varillas de carbón espectrográfico "Ship Carbons" SG-305-H de 5 x 20 mm.

Espectrógrafo automático Hilger con prisma de cuarzo E. 492.

Microfotómetro de líneas espectrales Hilger H. 451

Horno eléctrico, con regulación automático de temperatura y mufla de cuarzo.

Electrodos modelados en el torno a las siguientes dimensiones:

3,86 mm. de diámetro exterior, 2,38 mm. de diámetro interior y 4,5 mm. de profundidad en el centro del cráter.

Balanza de torsión de 500 mg. en 1/1.

Placas fotográficas Ilford Thin Film. Half Tone N. 50.

Procedimiento.

Sobre un trocito de papel acharolado, se pesan en balanza de torsión 15 mg. de cenizas, 15 mg. de  $\text{SO}_4\text{K}_2$  y 30 ml. de polvo de carbón conteniendo Plata y Cromo. Se mezclan en mortero de ágata durante



5 minutos. Se llenan con esta mezcla electrodos por duplicado. El llenado se realiza presionando el cráter del electrodo sobre la mezcla reunida en el centro del mortero. El exceso de mezcla, que queda adherida a las paredes del electrodo, se elimina enrasando con el mismo trocito de papel que se usó para las pesadas.

### Espectrografía.

El espectrógrafo se gradúa para cubrir el intervalo de longitudes de onda comprendido entre 2900 y 5550 Å. Rendija: 10 mm. longitud y 20 micras de anchura.

El electrodo, conteniendo la muestra, se utiliza como cátodo (electrodo inferior) de un arco de 10 mm. de longitud de corriente continua, hasta que la muestra se consume totalmente. Como ánodo se utiliza un trozo de varilla, de unos 30 mm. de longitud del mismo carbon. La corriente es suministrada por un rectificador de 220 voltios, manteniéndola constante a 9 amperios por medio de una resistencia variable. Frente a la rendija del espectrógrafo se coloca una lente F1025 y un sector de seis escalones con relación 2:1. Sobre cada placa se recogen 3 muestras en duplicado (6 espectrogramas).

El revelado de la placa se hace en una mezcla 1:2 de revelador ID2 y agua durante 3 minutos.

### Fotometría.

Las líneas analíticas utilizadas son:

<u>Elemento</u>	<u>Línea</u>	<u>Patrón interno</u>
Fe	3440,619	Cr 3593,49
Mn	4034,499	Cr 4254,35
Cu	3273,969	Ag 3280,68

9 Corregidas para fondo.

### Cálculos

Las lecturas galvanométricas obtenidas en el microfotómetro son convertidas automáticamente en densidades Seidel, ya que se ha utilizado la escala y tablero descritos por Black (1952), construídos en nuestros laboratorios.

Los valores obtenidos, según este procedimiento, para  $\log \frac{I_{Fe}}{I_{Cr}}$ ,  $\log \frac{I_{Mn}}{I_{Cr}}$  y  $\log \frac{I_{Cu}}{I_{Ag}}$  se llevan a la correspondiente curva de trabajo y se determina la concentración de cada uno de los elementos en la ceniza. Dado que según se dijo antes, se ha determinado previamente el factor de concentración, basta multiplicar por éste el contenido hallado en las cenizas para obtener la concentración de elemento en placa seca.

### Curvas de trabajo.

Se prepara una base conteniendo los siguiente productos:

$PO_4H_2K$ , 1,8 gr.;  $SO_4K_2$ , 2,0 gr.;  $CO_3K_2$ , 1,5 gr.;  $MgO$ , 0,5 gr.;  $SiO_2$ , 2,0 gr.;  $CO_3Na_2H_2O$ , 0,9 gr. y  $CO_3Ca$ , 2,0 gr. Se mezclan en

mortero de ágata y se dejan expuestos a la humedad atmosférica durante una semana, aproximadamente, con lo que tiene lugar una cristalización de las sales hidratadas.

Por otra parte, se prepara una mezcla de elementos traza por pesada de 0,4743 gr. de  $Mn_2O_3$ , 0,0396 gr. de  $CuO$ , 0,4522 gr. de  $Fe_2O_3$ , 0,1437 gr. de  $CO_3Ba$  y 0,1685 gr. de  $CO_3Sr$ .

A distintas alícuotas de la base, se agregan cantidades decrecientes de la mezcla de elementos-traza para dar una serie de patrones con las siguientes concentraciones:

Fe }  
Mn } 31.620; 10.000; 3.162; 1.000; 316 y 100 p.p.m.

Ba }  
Sr } 10.000; 3.162; 1.000; 316; 100 y 31.6 p.p.m.

Cu 3.162; 1.000; 316; 100; 31.6 y 10 p.p.m.

Siguiendo el método operatorio dado anteriormente para las muestras, se prepararon las correspondientes curvas de trabajo para Hierro, Manganeso y Cobre representando en ordenadas los valores encontrados para  $\log I_{Fe}/I_{Cr}$ ,  $\log I_{Mn}/I_{Cr}$ , y  $\log I_{Cu}/I_{Ag}$  y en abscisas los correspondientes logaritmos de las concentraciones anteriormente descritas.

**IV. B. - RESULTADOS OBTENIDOS Y DISCUSION**

\*\*\*\*\*

TABLA XIII

Perfil	Horizonte	% Na <sub>2</sub> -EDTA	Nº plantas por maceta	Peso planta verde (gr.)	Peso planta seca (gr.)	% Residuo seco	% agua	p.p.m. en planta seca			
								Fe	Cu	Mn	
Arena sola		0	76	2,3257	0,3123	13,4	86,6	61	13	47	
1	ApC (2)	0	77	5,8724	0,5364	9,1	90,9	57	14	60	
		0,01	81	6,8675	0,6042	8,8	91,2	55	17	77	
		0,05	68	6,2100	0,4884	7,9	92,1	75	278	119	
		0,1	62	4,4175	0,4378	9,9	90,1	87	258	102	
		0,5	13	0,5169	0,0561	10,9	89,1	-	-	-	
		1,0	0	-	-	-	-	-	-	-	
	C (3)	0	55	3,5083	0,3283	9,4	90,6	65	13	50	
		0,01	60	4,4224	0,4028	9,1	90,9	68	21	56	
		0,05	47	3,5100	0,3316	9,4	90,6	67	20	97	
		0,1	42	2,8970	0,2873	9,9	90,1	83	25	105	
		0,5	4	0,1540	0,0193	12,5	87,5	-	-	-	
		1,0	0	-	-	-	-	-	-	-	
	2	Ap (1)	0	86	7,5011	0,6945	9,3	90,7	60	16	82
			0,01	89	7,9605	0,7291	9,2	90,8	69	18	121
0,05			80	7,3287	0,6598	9,0	91,0	98	18	192	
0,1			83	7,3170	0,6648	9,1	90,9	120	22	242	
0,5			43	2,4080	0,2641	11,0	89,0	172	19	227	
1,0			16	0,3654	0,0502	13,7	86,3	-	-	-	
ApC (2)		0	80	6,4244	0,5736	8,9	91,1	71	16	86	
		0,01	86	7,1810	0,6465	9,0	91,0	55	17	95	
		0,05	71	6,1090	0,5498	9,0	91,0	83	22	192	
		0,1	76	6,3353	0,6052	9,6	90,4	111	28	216	
		0,5	33	1,9171	0,2098	10,9	89,1	186	26	262	
		1,0	4	0,0572	0,0166	29,0	71,0	-	-	-	

**TABLA XIII (Continuación)**

Perfil	Horizonte	% $\times$ Na <sub>2</sub> -EDTA	Nº. plantas por maceta	Peso planta verde (gr.)	Peso planta seca (gr.)	% Residuo seco	% agua	p.p.m. en planta seca		
								Fe	Cu	Mn
3	Ap (1)	0	98	8,2502	0,7687	9,3	90,7	66	15	75
		0,01	96	7,7970	0,7183	9,2	90,8	70	15	80
		0,05	88	7,6190	0,7573	9,9	90,1	-	19	145
		0,1	84	6,5900	0,6712	10,2	89,8	76	19	188
		0,5	51	2,9621	0,3583	12,1	87,9	-	-	-
		1,0	5	0,2560	0,0422	49,3	50,7	-	-	-
	B (2)	0	88	6,4353	0,6593	10,2	89,8	51	12	107
		0,01	87	6,1275	0,6242	10,2	89,8	-	16	144
		0,05	92	6,7420	0,6916	10,3	89,7	64	19	217
		0,1	99	6,7435	0,7140	10,6	89,4	89	23	270
		0,5	45	2,2427	0,2930	13,1	86,9	128	28	313
		1,0	11	0,2234	0,0408	18,3	81,7	-	-	-
4	Ap (1)	0	87	6,5244	0,6278	9,6	90,4	63	18	84
		0,01	85	6,9192	0,6330	9,1	90,9	63	18	91
		0,05	93	7,5540	0,7108	9,4	90,6	66	18	158
		0,1	82	6,5980	0,6658	10,1	89,9	77	30	200
		0,5	49	2,6936	0,3008	11,2	88,8	126	137	209
		1,0	24	0,4061	0,0558	13,7	86,3	-	-	-

$\times$  Porcentaje referido al suelo contenido en cada maceta.

- Determinación no realizada por falta de muestra o invalidada durante el proceso

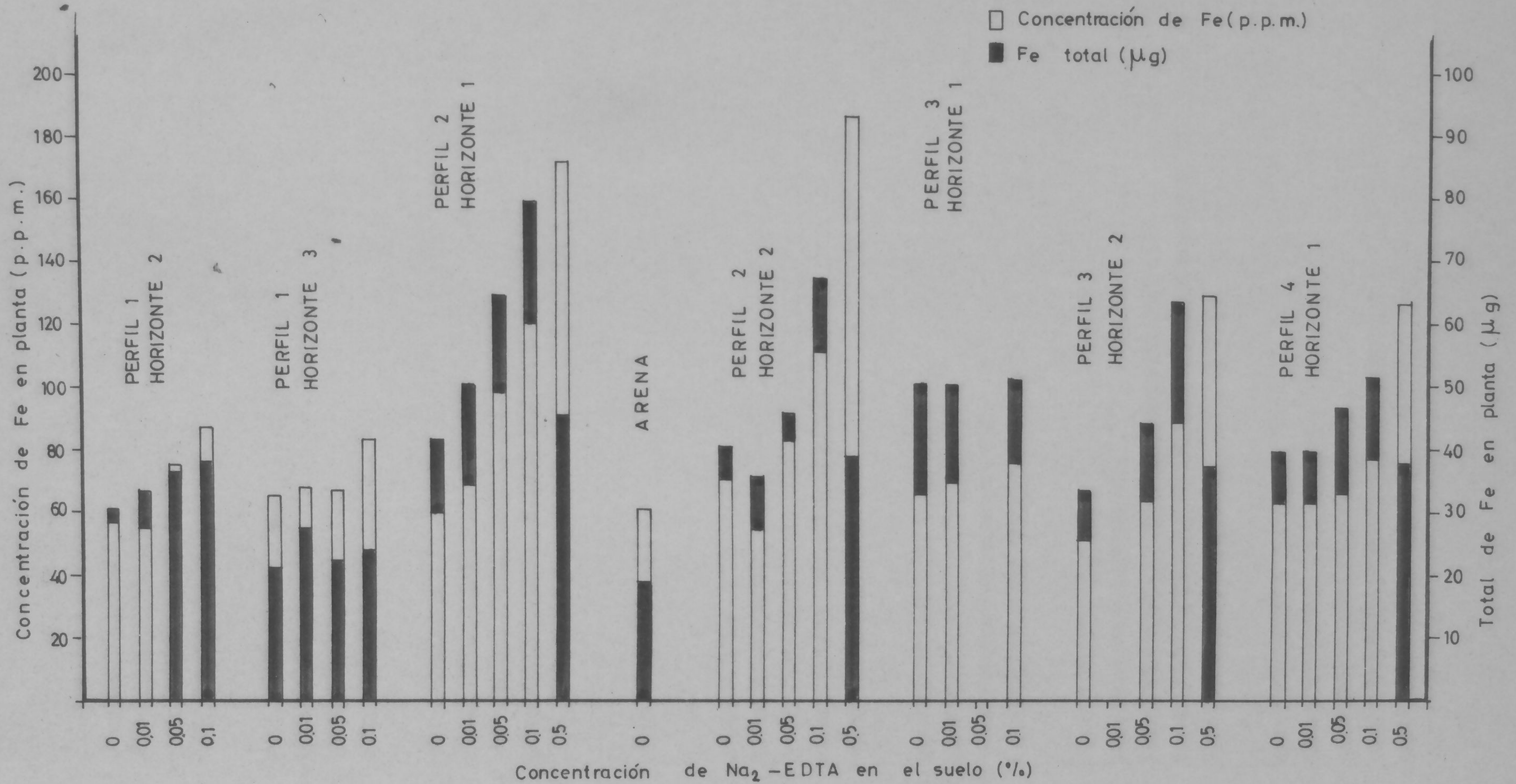
De los datos que anteceden se puede deducir:

- 19) Para todos los suelos estudiados se puede ver que, en líneas generales, va decreciendo el número de plantas por maceta al aumentar la cantidad de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  agregado al suelo, si bien para los niveles más bajos parece existir un ligero efecto estimulante contrario al alcanzado a niveles altos, que llega a inhibir totalmente, en algunos suelos, el crecimiento y, posiblemente, la germinación de las semillas.
- 29) El peso de planta verde obtenido para los distintos suelos e, incluso, dentro de un mismo suelo para sus distintos horizontes, varía considerablemente. Se observa asimismo, como era de esperar, que para las semillas cultivadas en arena pura (Muestra 0-0-0-), aunque el número de plantas era de un orden similar al obtenido para las demás muestras, el peso en verde se desvía de los resultados obtenidos para aquellas cultivadas en presencia de suelo.
- 39) El peso en verde sigue la misma pauta que el número de plantas, es decir, decrece al aumentar la cantidad de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  agregada al suelo, si bien, en cinco de los siete horizontes de suelo estudiados, también es posible notar un ligero incremento para los más bajos niveles de agente quelante, lo cual puede ser interpretado como un efecto estimulante para pequeñas cantidades de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  en presencia de suelo.
- 49) El peso de planta seca varía de unos suelos a otros, y, dentro de

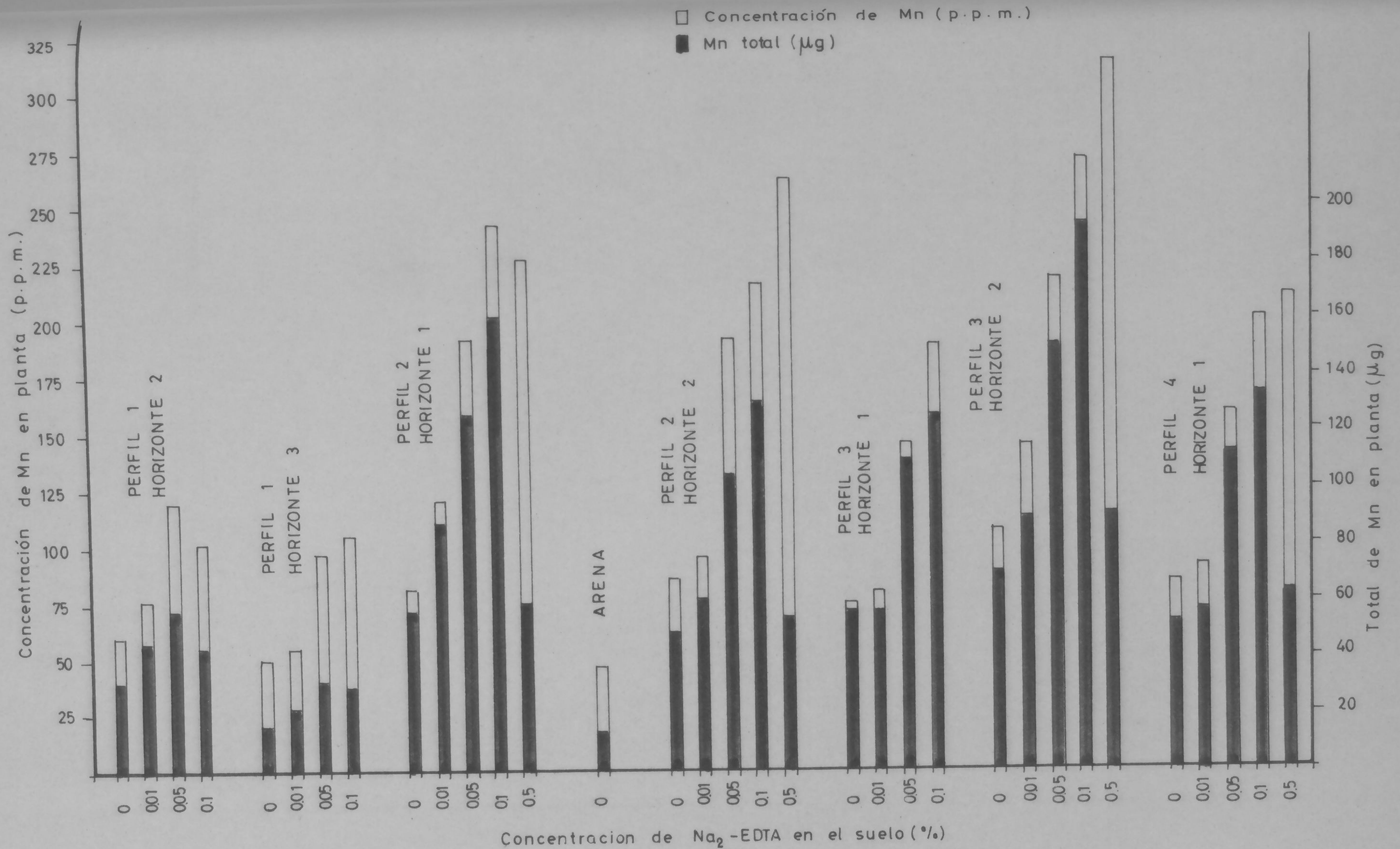
éstos, sufre también variaciones para los distintos horizontes, Como en el caso del número de plantas y del peso en verde, tiende a disminuir con las más elevadas cantidades de quelante agregado al suelo, existiendo ligera elevación del peso de planta seca para los más bajos niveles de EDTA agregado al suelo en seis de los siete horizontes estudiados, hecho que obliga a pensar, como en el caso del peso en verde, en un efecto estimulante por parte del  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  agregado al suelo en pequeñas concentraciones.

- 59) Observando el porcentaje de residuo seco obtenido para los distintos horizontes, se puede apreciar que, independientemente de la naturaleza de aquéllos, dicho porcentaje se incrementa notablemente para los niveles más elevados de agente quelante mezclado al suelo, lo que puede estar relacionado con la más elevada absorción de elementos minerales que tiene lugar en estas condiciones, como más adelante veremos.
- 69) Como consecuencia de la anterior conclusión, se nota un decrecimiento del porcentaje en agua al incrementar la cantidad de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ .
- 79) La concentración de Hierro en la planta aumenta al aumentar la cantidad de quelante agregada al suelo, si bien el incremento de concentración en dicho elemento es de distinto orden para los diversos horizontes estudiados.
- 89) Con respecto a la concentración de Cobre en la planta, cabe hacer las mismas consideraciones que para el Hierro, es decir, de una manera general, podemos afirmar que al incrementar la

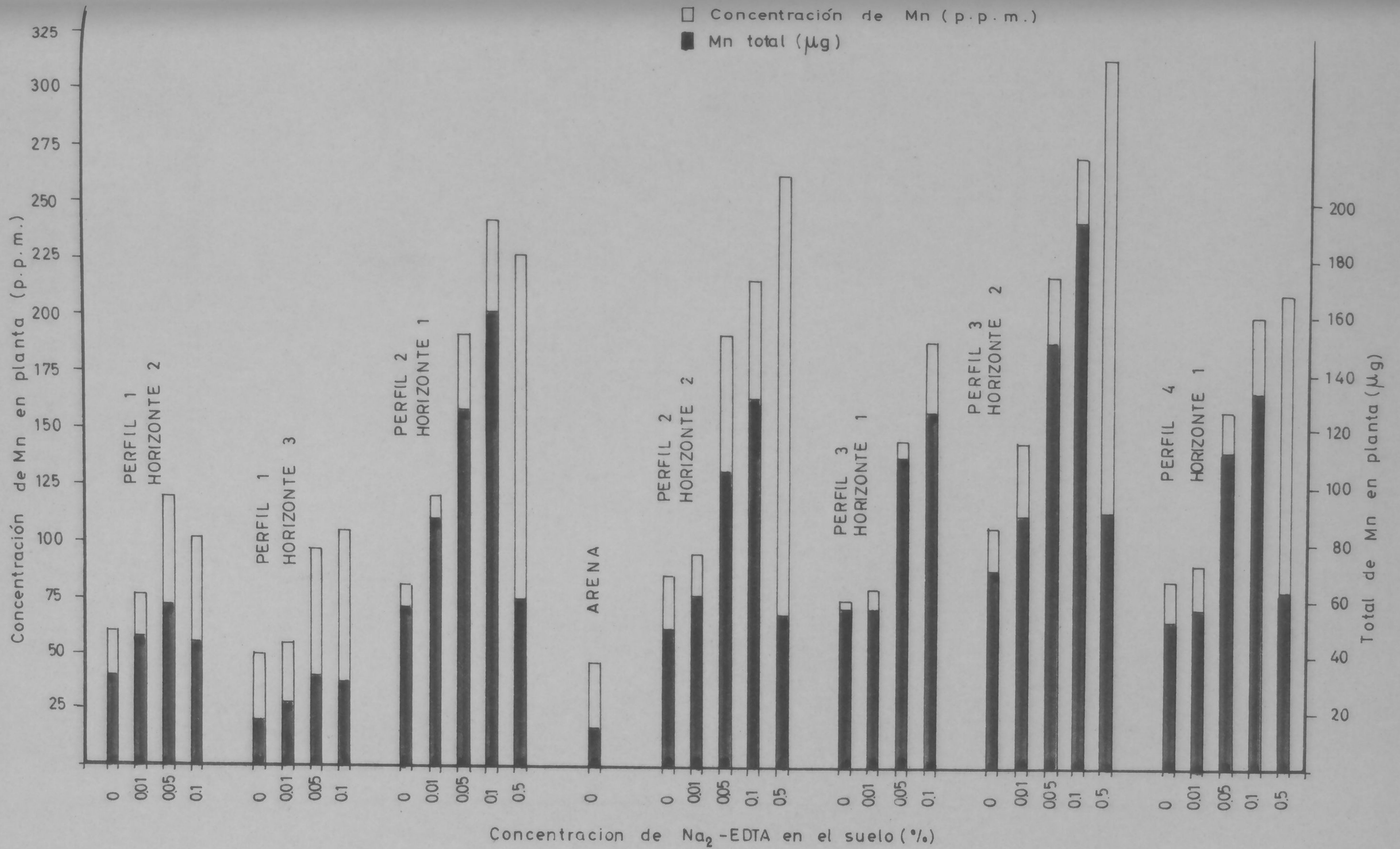




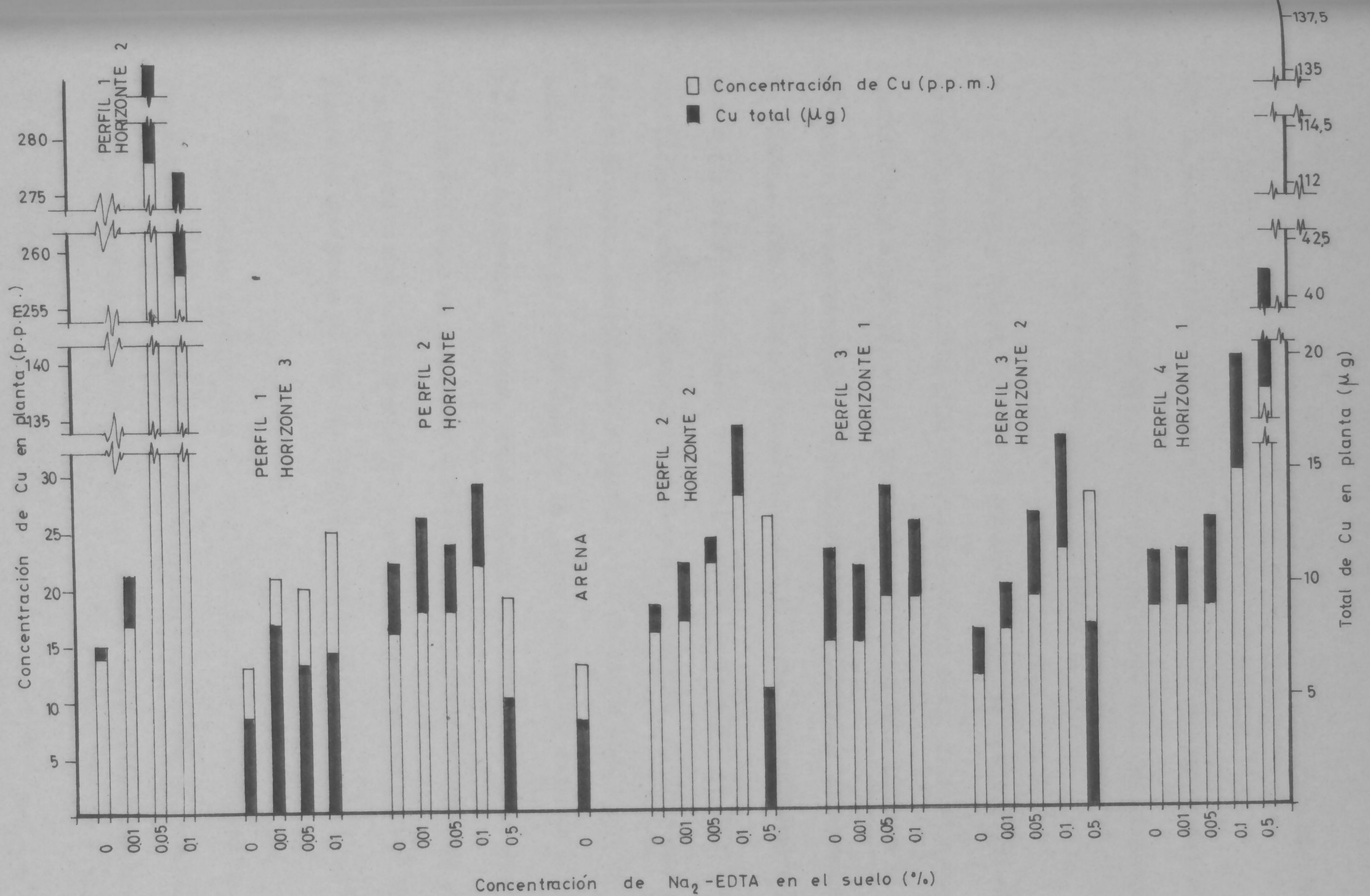
GRAFICA - 19 -



GRAFICA - 20 -



GRAFICA - 20 -



GRAFICA - 21 -

concentración de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  en el suelo, se incrementa también la de Cobre.

99) La concentración de Manganeso corre paralela con las de Cobre y Hierro, aumentando la concentración en planta de aquel elemento al aumentar la de agente quelante agregado al suelo.

En las gráficas 19, 20 y 21 se representan las concentraciones de los elementos Fe, Mn y Cu referidos a planta seca, junto con la cantidad total absorbida por la planta. Puede apreciarse cómo la relación entre la concentración y la cantidad total de Hierro y Manganeso es máxima cuando el suelo ha recibido 0.5 % de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , hecho que puede ser interpretado como un efecto tóxico causado por la gran concentración presente de estos elementos en los tejidos de la planta. Por otra parte, exceptuando el perfil 1, las máximas cantidades de estos elementos son extraídos por la planta cuando el suelo se adicionó 0,1 % de agente quelante. Nada similar se puede decir de la concentración de Cobre en relación con el contenido total extraído por la planta, pues cada una de las muestras de suelos sobre las que creció la planta se comporta de manera distinta, según se aprecia en la gráfica 21.

Los datos agrupados en la tabla XIV resultan sumamente interesantes. En la misma se expresan los contenidos de Fe, Cu y Mn en átomos-miligramo por 1000 gramos de materia seca (obtenidos divi-

TABLA XIV

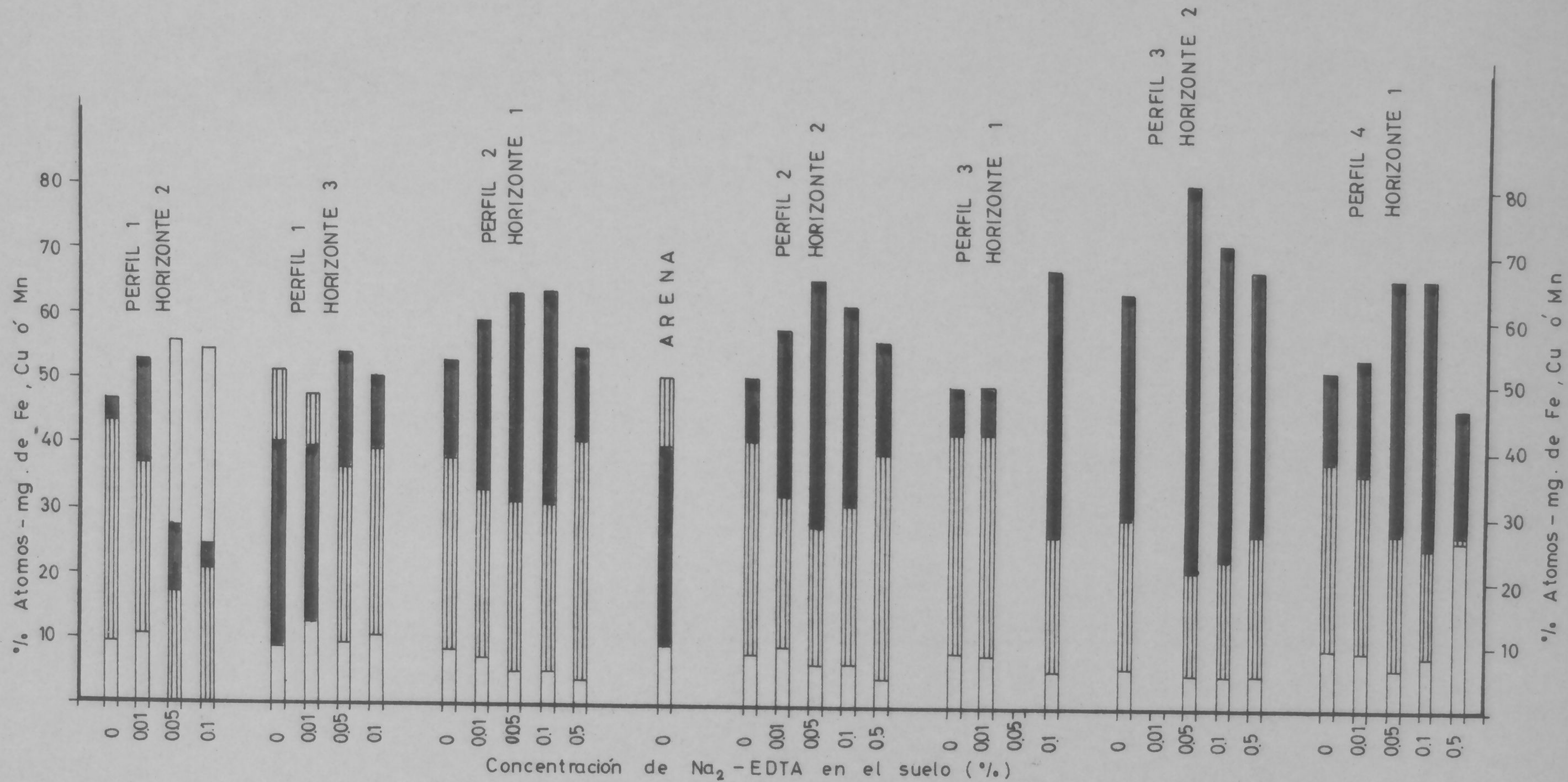
Perfil	Horizonte	% $\equiv$ Na <sub>2</sub> -EDTA	Atomos-mg. por 1000 g. materia seca			
			Fe	Cu	Mn	Totales
Arena sola		0	1,09	0,20	0,86	2,15
1	ApC (2)	0	1,02	0,22	1,09	2,33
		0,01	0,98	0,27	1,40	2,65
		0,05	1,34	4,36	2,17	7,87
		0,1	1,56	4,05	1,86	7,47
		0,5	-	-	-	-
		1,0	-	-	-	-
	C (3)	0	1,16	0,20	0,91	2,27
		0,01	1,22	0,33	1,02	2,57
		0,05	1,20	0,31	1,77	3,28
		0,1	1,49	0,39	1,91	3,79
		0,5	-	-	-	-
		1,0	-	-	-	-
2	Ap (1)	0	1,07	0,25	1,49	2,81
		0,01	1,24	0,28	2,20	3,72
		0,05	1,75	0,28	3,49	5,52
		0,1	2,15	0,35	4,40	6,90
		0,5	3,08	0,30	4,13	7,51
		1,0	-	-	-	-
	ApC (2)	0	1,27	0,25	1,57	3,09
		0,01	0,98	0,27	1,73	2,98
		0,05	1,49	0,35	3,49	5,33
		0,1	1,99	0,44	3,93	6,36
		0,5	3,33	0,41	4,77	8,51
		1,0	-	-	-	-

**TABLA XIV (Continuación)**

Perfil	Horizonte	% $\text{Na}_2\text{-EDTA}$	Átomos-mg. por 1000 g. materia seca			
			Fe	Cu	Mn	Totales
3	Ap (1)	0	1,18	0,24	1,37	2,79
		0,01	1,25	0,24	1,46	2,95
		0,05	-	0,30	2,64	-
		0,1	1,36	0,30	3,42	5,08
		0,5	-	-	-	-
		1,0	-	-	-	-
	B (2)	0	0,91	0,19	1,95	3,05
		0,01	-	0,25	2,62	-
		0,05	1,15	0,30	3,95	5,40
		0,1	1,59	0,36	4,91	6,86
		0,5	2,29	0,44	5,70	8,43
		1,0	-	-	-	-
4	Ap (1)	0	1,13	0,28	1,53	2,94
		0,01	1,13	0,28	1,66	3,07
		0,05	1,18	0,28	2,88	4,34
		0,1	1,38	0,47	3,64	5,49
		0,5	2,26	2,15	3,80	8,21
		1,0	-	-	-	-

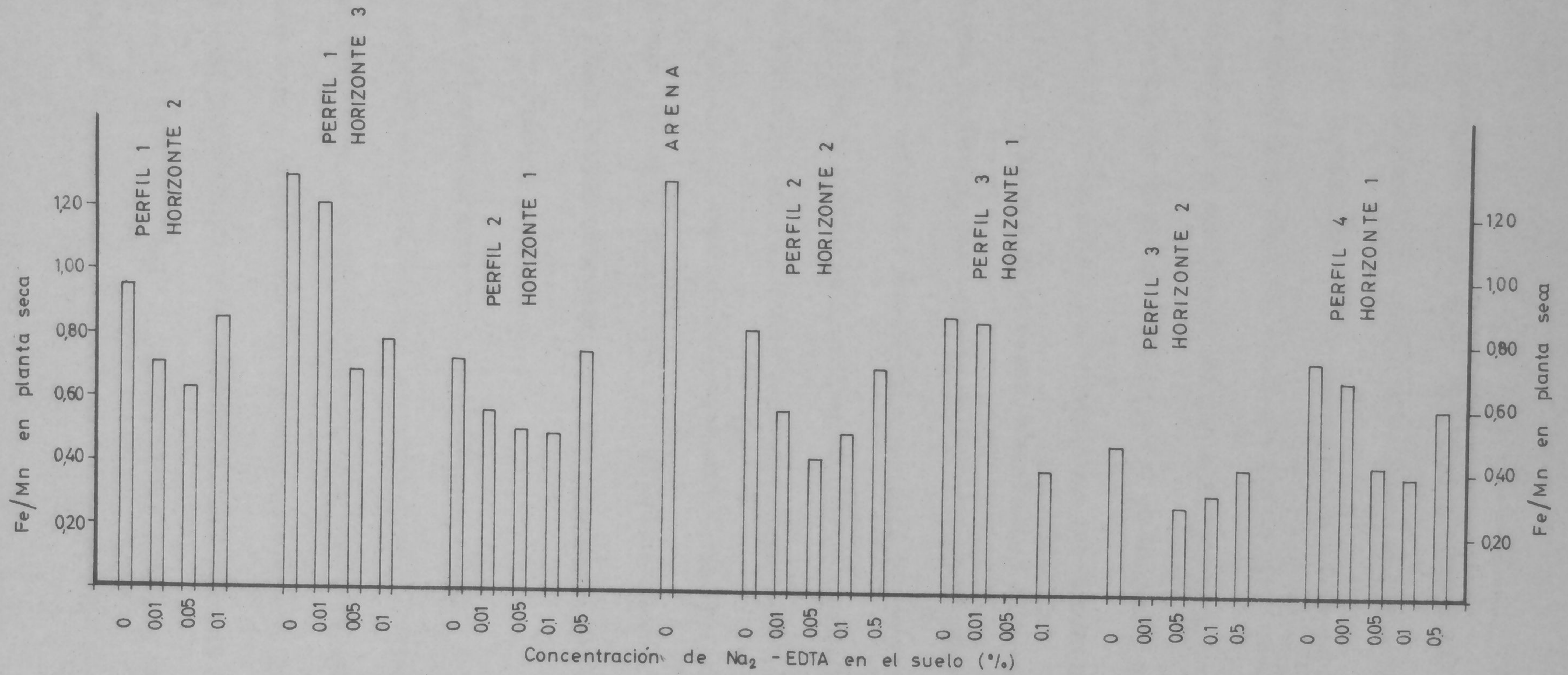
\* Porcentaje referido al suelo contenido en cada maceta.  
 - Determinación no realizada por falta de muestra o invalidada durante el proceso.

□ % Átomos - mg. de Cu  
 ▨ " " " " Fe  
 ■ " " " " Mn



GRAFICA -22-





GRAFICA - 23 -

diendo la concentración en ppm. por el peso atómico del correspondiente elemento). Teniendo en cuenta la columna de "totales" se ha calculado el porcentaje de contribución de cada elemento a la suma de los tres; - fruto de ello es la gráfica 22, en la que puede observarse la existencia de un mecanismo de compensación que hace que al aumentar el número de átomos-mg. de Manganeso decrezca el de Hierro y viceversa, siendo interesante el cálculo de las variaciones que tienen lugar en las razones Fe : Mn al aumentar la concentración de EDTA agregado al suelo. Para mayor facilidad, los valores de esta razón se representan en la gráfica 23, en la que puede observarse para todas las muestras de suelo estudiadas, que al aumentar la concentración de agente quelante en el suelo, la razón Fe/Mn va decreciendo paulatinamente hasta alcanzar un mínimo, a partir del cual vuelve a aumentar dicha razón. Si comparamos éste con los datos de la tabla XIII, podemos observar que los máximos pesos de planta fueron obtenidos para valores de la citada razón mínimos o muy próximos al mínimo.

El Cobre se comporta de una forma regular a través de las distintas experiencias realizadas, no pudiéndose apreciar otro hecho, según se desprende de la observación de la gráfica 22, más que su mantenimiento dentro de una gran regularidad, si bien el porcentaje de átomos-mg. con que contribuye al total de los tres elementos estudiados es muy alto en el caso del perfil 1, horizonte 2 y perfil 4, horizonte 1, para algunas de las concentraciones de EDTA agregadas al suelo.

Hay algunos hechos que aún quedan sin explicar de los datos presentados en la tabla XIII. Uno de ellos es el por qué del incremento en número de plantas por maceta y en peso de planta cuando se agrega una pequeña cantidad de EDTA al suelo; otro es la notable disminución de dicha pareja de datos a las más altas concentraciones de dicho compuesto en el suelo. La respuesta a ambas incógnitas creemos haberla encontrado tomando como base la experiencia que a continuación describimos sobre crecimiento de plántulas de centeno.

Efecto del Na<sub>2</sub>EDTA sobre el crecimiento de plantulas

de centeno

Con objeto de investigar el efecto del Na<sub>2</sub>EDTA sobre el crecimiento de plantulas de centeno, se realizó un experimento en el que se estudió el efecto de diferentes dosis de Na<sub>2</sub>EDTA sobre el crecimiento de plantulas de centeno. Para ello se utilizaron plantulas de centeno de 10 días de edad, las cuales se sembraron en un sustrato de perlita y se regaron con agua destilada. Se les aplicó diferentes dosis de Na<sub>2</sub>EDTA (0, 0,05, 0,10 y 0,15 g/l) y se midió el crecimiento de las plantulas a los 15 días de haberse sembrado. Los resultados obtenidos se muestran en el siguiente cuadro.

**V. - ANEXO**  
\*\*\*\*\*

**EFECTO DEL Na<sub>2</sub>EDTA SOBRE EL CRECIMIENTO DE PLANTULAS DE CENTENO**  
\*\*\*\*\*

**TO DE PLANTULAS DE CENTENO**  
\*\*\*\*\*

Material: Plantulas de centeno de 10 días de edad.

Agua destilada y solución de Na<sub>2</sub>EDTA.

Sustrato de perlita. - Soluciones de Na<sub>2</sub>EDTA: 0, 0,05, 0,10 y 0,15 g/l.

El experimento se realizó en un invernadero con una temperatura constante de 20°C y una humedad relativa del 60%.

Los resultados se muestran en el siguiente cuadro:

## EFECTO DEL $\text{Na}_2\text{EDTA}$ SOBRE EL CRECIMIENTO DE PLANTULAS DE CENTENO.

Con objeto de ensayar el efecto del  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  sobre el crecimiento de plántulas de centeno, efecto que parecía haberse manifestado como tóxico para las más elevadas concentraciones del agente quelante, se hizo un ensayo, siguiendo el método de Blesa y Gómez (1966), en que las plántulas sólo estuvieron en contacto con la solución de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , y por tanto, los resultados obtenidos se deberían sólo y exclusivamente, a la acción de esta sustancia.

### Material.

Material de vidrio Pyrex.

Placas de vidrio acanalado de 20 x 12 cm.

Cajas de polietileno de 21 x 11 y 8 cm. de altura.

### Reactivos.

Agua desmineralizada y destilada en vidrio Pyrex.

Soluciones de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ . - Soluciones del reactivo, Merck, R.A. al 0,01  
0,05; 0,10 y 0,15 % en agua.

### Procedimiento.

Se prepararon 5 lotes de 20 semillas del mismo centeno utilizado en las experiencias con macetas.

Los cinco lotes, se sumergieron en vasos de 50 ml. conteniendo el primero de ellos, agua y los cuatro restantes cada una de las soluciones.

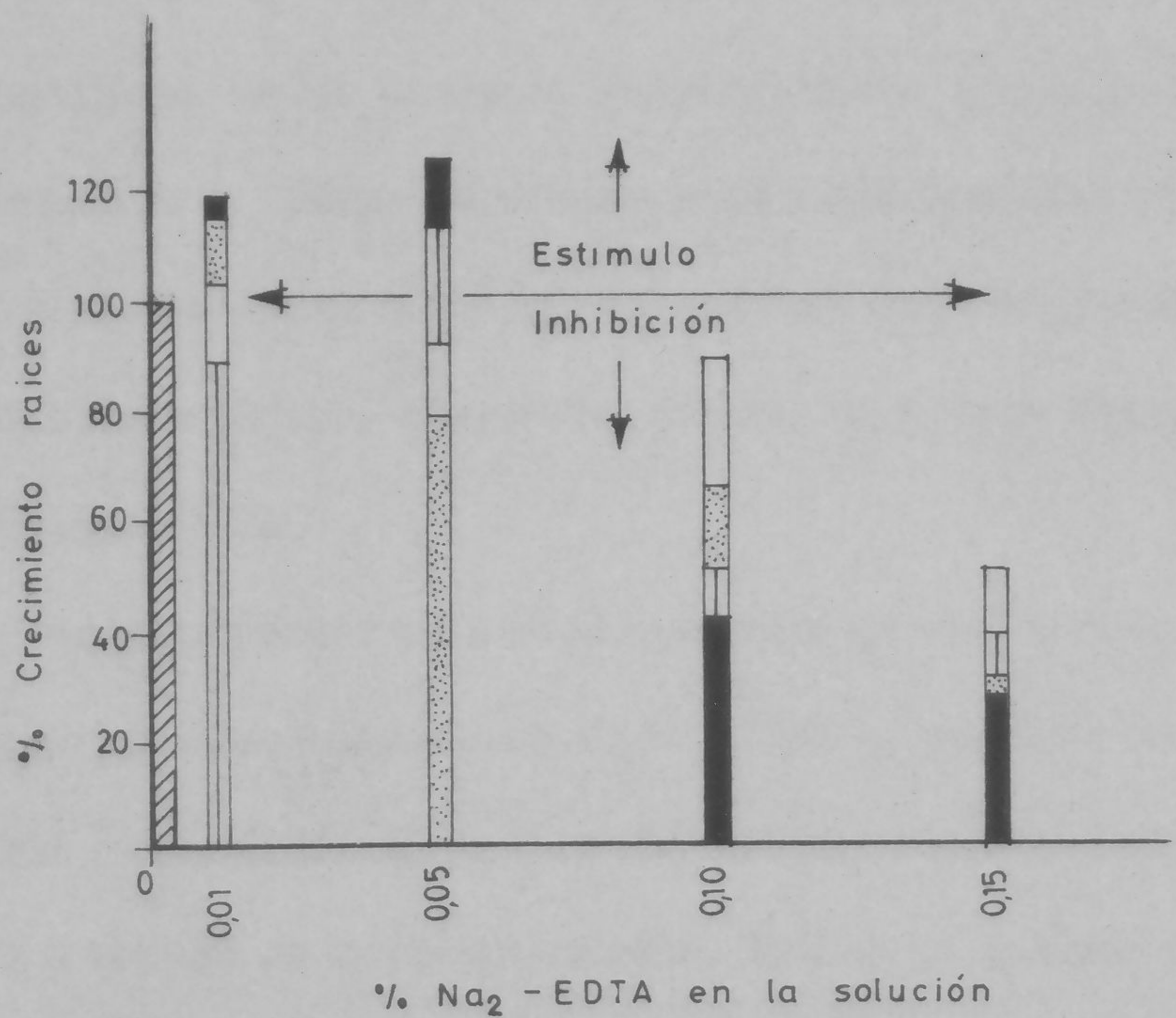
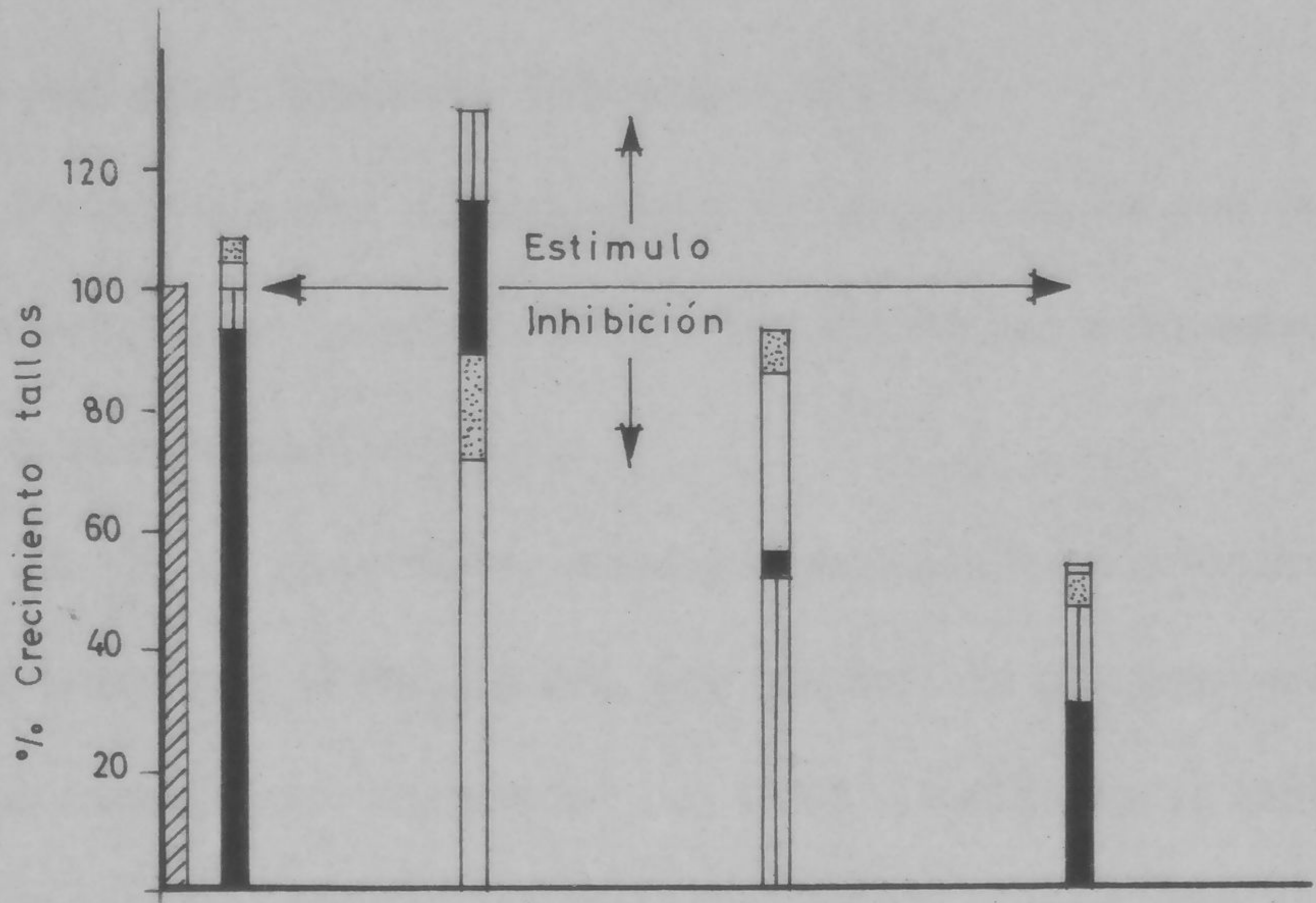
nes de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  preparadas. Después de 4 horas se extrajeron las semillas de los vasitos y, mediante pinzas, cada uno de los cinco lotes se dispuso en otras tantas placas de vidrio acanalado, una semilla por ranura; se cubren con una hoja de papel de filtro humedecido y se superpone otra lámina de vidrio similar a la anterior, sujetando este conjunto, con una goma elástica. El paquete así formado, se coloca en posición vertical dentro de una caja de plástico conteniendo unos 300 ml. de la misma solución con que el lote respectivo fué tratado anteriormente, quedando las semillas en la parte no sumergida, y cubriendo, a continuación, todo el sistema con un papel de filtro, con los dos bordes introducidos en la solución contenida en la caja, para mantener buenas condiciones de humedad. El conjunto se pesa con objeto de reponer el agua perdida por evaporación. Esta reposición se hizo dos veces al día. Se colocan las cajas en una estufa de cultivos.

Se hicieron experiencias a 26 y 32 grados Centígrados y las respectivas mediciones fueron realizadas en raíces y tallos, a las 42 y 67 horas del comienzo de la experiencia.

### Cálculos.

Después de transcurridos los tiempos antes indicados, se miden las longitudes de cada una de las raíces y tallos de las semillas germinadas. Se obtiene la longitud total, por adición de las medidas individuales dentro del mismo lote, dividiendo por el número total de semillas compo

TIEMPO (HORAS)	TEMPERATURA (° C.)
□ 42	26
▤ 42	32
▣ 67	26
■ 67	32
▨	Blanco referencia



% Na<sub>2</sub>-EDTA en la solución

mentos del lote, obteniendo de esta forma, las longitudes medias totales de raíz y tallo, respectivamente.

Los datos obtenidos se expresan en relación con los del lote tratado con agua, tomando éste como 100 %.

Fruto de estas experiencias es la gráfica 24 que representa los porcentajes de crecimiento en función de las concentraciones de agente quelante empleadas.

En líneas generales, nuestros resultados claramente ponen de manifiesto que el  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , por encima de una concentración, que podemos establecer, alrededor del 0,05 % actúa como inhibidor intenso del crecimiento de los tallos y raíces, o sea, del crecimiento, total de la plántula. La inhibición del crecimiento, posiblemente se efectúa a través de un mecanismo de formación de quelatos con los iones metálicos de las enzimas respiratorias, que lo poseen como grupo prostético. Esta inhibición puede ser ejercida sobre el sistema citocromo-oxidasa ó ascórbico-oxidasa por formarse los quelatos de Hierro y Cobre, respectivamente, como han demostrado James y Garton (1952).

Por otra parte, se puede apreciar un efecto estimulante para las más bajas concentraciones de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , que de acuerdo con Weinstein y col. (1956 a) parece ser debido a que al pasar el agente quelante a través de la pared celular, forma un quelato con el calcio, eliminándolo de aquella y haciéndolo que la célula se pueda expandir



con mayor facilidad.

De acuerdo con lo que antecede, creemos quedan en parte, explicados los fenómenos de estímulo e inhibición que vimos ocurrían en las experiencias con macetas.

## VI. • CONCLUSIONES

\*\*\*\*\*

Como consecuencia de la investigación que antecede, se llega a las siguientes conclusiones:

- 1a. - Existe una correlación positiva entre la concentración de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  puesta en el suelo y la cantidad de Manganeso, Hierro, Cobre y Zinc extraída por acetato amónico a pH 7,0
- 2a. - El efecto ejercido por el tiempo sobre muestras de suelo sometidas a períodos de incubación crecientes, en presencia de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , hace de manifiesto que las máximas cantidades de los elementos antes citados, se extraen tras un período de 10-15 días.
- 3a. - A partir de los 15 días de incubación, la cantidad extraída de los citados elementos, decrece hasta llegar a igualarse, incluso, a aquella cantidad extraída antes de agregar  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  al suelo, y someterlo a incubación.
- 4a. - La presencia de pequeñas cantidades de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  mezcladas al agente extractante, está relacionada con la cantidad de Manganeso, Hierro, Cobre y Zinc liberado del suelo, efecto similar al observado cuando se agrega al suelo dicho agente quelante, antes de extraer con acetato amónico.
- 5a. - En experiencias con macetas a las que se agregaron cantidades crecientes de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  como "fertilizante", se ha podido observar que, para muy bajos niveles de éste, presenta un efecto esti

mulante sobre plantas de centeno.

69. - Las macetas que recibieron por encima del 0,1 % (con respecto al suelo) de agente quelante, presentan claros síntomas de toxicidad, que se acentúan gradualmente al incrementar aquella concentración.
70. - El porcentaje de residuo seco de las plantas se incrementa notablemente para los niveles más elevados de agente quelante mezclado al suelo, hecho que creemos está relacionado con la más elevada absorción de elementos minerales que tienen lugar en estas condiciones.
80. - El porcentaje de agua de la planta, decrece al aumentar la concentración de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  agregado al suelo.
90. - La concentración de Manganeseo, Hierro y Cobre en planta, corre paralela con la cantidad de agente quelante agregado al suelo.
100. - La razón entre la concentración y cantidad total absorbida de Hierro y Manganeseo, es máxima cuando el suelo ha recibido una cantidad de 0,5 % de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ .
110. - Al aumentar la concentración de agente quelante en el suelo, la razón  $\text{Fe/Mn}$  en planta, va decreciendo paulatinamente hasta alcanzar un mínimo para un valor de aquella comprendido entre 0,05 y 0,1 %, a partir del cual vuelve a aumentar dicha razón.

- 12<sup>a</sup>. - Las máximas cosechas de plantas, se obtienen para un valor mínimo de la razón Fe/Mn.
- 13<sup>a</sup>. - En experiencias sobre plántulas de centeno, se ha podido corroborar la conclusión anotada en sexto lugar, sobre el efecto estimulante que concentraciones inferiores a 0,1 % de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , tienen sobre los tallos y raíces, debido probablemente a que al pasar aquél a través de la pared celular, forma quelato con el Calcio, eliminándolo de aquella y haciendo que la célula se pueda expandir con mayor facilidad.
- 14<sup>a</sup>. - El agente quelante citado, en concentraciones superiores al 0,05 % actúa como inhibidor intenso del crecimiento de tallos y raíces, considerando que dicha inhibición, posiblemente se efectúa a través de un mecanismo de formación de quelatos con los iones metálicos de los enzimas respiratorios, que lo poseen como grupo prostético.

**AGRADECIMIENTO**

=====

Quiero expresar mi gratitud, en primer lugar a los profesores **Dr. D. Fermín Capitán García, Catedrático de Química Analítica de la Facultad de Ciencias, y Dr. D. Luis Recalde Martínez, Director de la Estación Experimental del Zaidín, del C. S. I. C., por sus valiosos consejos y orientación a lo largo de la realización de este trabajo.**

**Al Prof. D. César González Orostica, de la Universidad de Santiago de Chile, que colaboró con nosotros en la segunda parte del mismo.**

**Y a los doctores Montoya, Esteban, Blesa, Girela y demás compañeros de la Estación Experimental del Zaidín, que en cada momento nos han facilitado información y ayuda en sus respectivas especialidades.**



- ABDULLA, I. y SMITH, M.S. (1963). - J. Sci. Food Agri. 14, 98-109.
- AGAFONOVA, A.F. (1964). - Rol Mineral'n Elem. v Obmene Vesh. 1 Prod. Rast. Acad. Nauk SSSR, Inst. Fiziol. Rast. (C. A. 824, 1965).
- AGARWALA, S.C. y MEHROTA, N.K. (1963). - J. Indian Soc. Soil Sci. 11, 51-63. (C.A. 13301, 1963)
- ALBEN, A.O. (1955). - Proc. Am. Soc. Hort. Sci. 66, 28-30. (C. A. 10966, 1956).
- ANTOIGNINI, J. (1954). Agr. Chem. 11, 131.
- ARMAREGO, W.L.F., CANNY, M.J. y COX, S.F. (1959). - Nature 183, 1176-7
- ARMSTRONG, W.W. y FURR, J.R. (1956). - J. Rio Grande Valley Hort. Soc. 10, 43-8 (C.A. 651, 1957).
- BEAR, F.E. (1955). - Chemistry of the soil. Reinhold Pub. Corp. New York.
- BERSWORTH, F.C. (1957). - U.S. 3051563, Aug. 28, 1962, Appl. Nov. 20, 1957, (C.A. 14216, 1962).
- BLACK, I.A. (1952). - Spectrochim. Acta. 4, 519-24
- BLESA, C. y GOMEZ, M. (1966). Comunicación privada. En prensa.
- BOULD, C. (1955 a). - Progress Report II. Ann. Rept. Agr. Hort. Res. Sta. Bristol. England. 87-92.



- BOULD, C. (1955 b). - *Nature*. 175, 90-1.
- BOULD, C. (1956). - VI. Congress Int. de la Science du sol. 201-7.
- BOULD, C. (1957). - *J. Sci. Food Agr.* 8, 1-5.
- BOYER, P.D., LARDY, H. y MYRBAÄCK, K. (1959). - *The Enzymes*.  
Acad. Press. New York.
- BROWN, J.C., TIFFIN, L.O. y HOLMES, R.S. (1960). *Plant Physiol.*  
35, 878-85.
- BROWN, J.C., TIFFIN, L.O., SPECHT, A.W. y RESNICKY, J. W.  
(1961 a). - *Agron. Journal*, 53, 81-5.
- BROWN, J.C., TIFFIN, L.O., SPECHT, A.W. y RESNICKY, J.W. -  
(1961 b). - *Agron. Journal*, 53, 85-90.
- BROWN, J.C., HOLMES, R.S. y TIFFIN, L.O. (1961 c). - *Soil Sci.*  
91, 127-32.
- BUTLER, P.C. y BRAY, R.H. (1956). - *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*  
20, 348-51.
- CARNES, G. (1954). - *New Jersey Agr.* 36, 8-11, (C.A. 14072, 1954).
- COHEN, D., GINSBURG, B. y HEITNER-WIRGUIN, C. (1958). - *Nature*  
181, 686-7.
- COOIL, B.J. y SHOJI, K. (1953). - *Hawaii Farm. Sci.* 1, 1-8 (C.A.  
9860, 1955).
- COOK, J.A. (1958). - *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 72, 158-64. (C.A.  
8500, 1959).

- COOPER, W.C. y PEYNADO, A. (1954). - Proc. Rio Grande Valley Hort. Inst. 8, 106-9.
- COOPER, W.C. y PEYNADO, A. (1955). - Proc. Rio Grande Valley Hort. Inst. 9, 79-85, (C.A. 7793, 1955).
- COOPER, W.C. y PEYNADO, A. (1956). - J. Rio Grande Valley Hort. Sec. 10, 38-42.
- COOPER, W.C. (1957). - J. Rio Grande Valley Hort. Sec. 11, 11.
- CHABERECK, Jr. y BERSWORTH, F.C. (1953). - Science. 118, 280.
- CHERNAVINA, I.A. y RUBIN, B.A. (1964). - Rol. Minneral'n Elem. v obmene Veshchestv i Prod. Rast. Akad. Nauk SSSR. - Inst. FIZIOL. Rast. 146-51 (C.A. 1039, 1965).
- CHESNIN, L. (1963). - Agr. and Food Chem. 11, 118.
- DAKHORE, R.C., NAIK, M.S. y DAS, N.B. (1965). - Indian J. Agr. Sci. 33, 219-25.
- DATTA, N.P., SHINDE, J.E., KAMATH, M.B. y DE DATTA, S.K. - (1962). - J. Indian Soc. Sci. 10, 121-8.
- DAVIES, O.L. (1960). - Métodos estadísticos. Ed. Aguilar. Madrid.
- DE GROOT, A.J. (1956). - 69 Congr. Int. Sci. Sol. Paris. 531-9. (C.A. 15848, 1957).
- DeKOCK, P.C. (1960). - 7<sup>th</sup> Int. Congr. of Soil Sci. Madison Wis. USA.
- FARMER, V.C. (1950). - Spectrochim. Acta. 4, 224-28. Butterworth-Springer. Londres.

- FISKELL, J.G.A. y MOURKIDES, G.A. (1955). - Plant and soil, 6. -  
313-31.
- FORSTER, W.A. (1954). - Ann. Appl. Biol. 41, 637-51, (C.A. 4215.  
1955).
- FRIEDEN, C. (1958). - Biochim. Biophys. Acta, 27, 431. Citado por  
Haurowitz. (1963), Cap. XII.
- GOLDSCHMIDT, V.M. (1958). - Geochemistry. Univ. Press. Oxford.
- GRAHAM, E.R., POWELL, S. y CARTER, M. (1957). - Soils and -  
Fert. 20, 162.
- GROSS, M. (1953). Science. 118, 218-19.
- GUINN, G. y JOHAM, H.E. (1962). - Soil Sci. 94, 220-23.
- GUINN, G. y JOHAM, H.E. (1963). - Soil Sci. 95, 101-4
- HALE, V.Q. y WALLACE, A. (1953). - Proc. Am. Soc. Hort. Sci.  
62, 116-18, (C.A. 12243, 1954).
- HALE, V.Q. y WALLACE, A. (1959). - Am. Soc. Hort. Sci., 74, 358-66.
- HALE, V.Q. y WALLACE, A. (1964). - Crop Science. 4, 489-91.
- HAUROWITZ, F. (1963). - The Chemistry and function of proteins. Acad.  
Press. New York.
- HAERTL, E. J. (1955). - Down to Earth. The Dow Chem. Comp. Midland.  
Mich. USA.
- HAERTL, E.J. y MARTELL, A.E. (1956). - J. Agr. Food. Chem. 4  
26-32.
- HAERTL, E.J. (1958). - Com. Fert. 96, 23-6.

- JACOBSON, L. (1951). - *Plant Physiol.* - 26, 411-13.
- JAMES, W.O. (1941). - *Nature*. 148, 726.
- JAMES, W.O. y GARTON, N. (1952). - *J. Exp. Bot.* 3, 310.
- JEFFREYS, R.A., HALE, V.Q. y WALLACE, A. (1961). - *Soil Sci.*  
92, 268-73.
- JUNG, J. (1958). *Landwirtsch. Forsch.* 11, 12-19. (C.A. 15653, -  
1958).
- KÄGI, J.H.R. y VALLEE, B.L. (1960). - *J. Biol. Chem.* 235, 3188,  
Citado por Haurowitz (1963), Cap. XII.
- KHADR, A. y WALLACE, A. (1964). - *Am. Soc. Hort. Sci.* 85, 189-200
- KHADR, A., WALLACE, A. y ROMNEY, E.M. (1965). - *Calif. Agr.*  
19, 14-15.
- KROLL, H., KNELL, M., POWER, J. y SIMONIAN, J. (1957). - *J.*  
*Amer. Chem. Soc.* 79, 2024-5
- KUYKENDALL, J.R., HILGEMAN, R.H. y van HORN, C.W. (1957).  
*Soil Sci.* 84, 77-86.
- LACROIX, Y. (1962). - *Analyse Chimique. Interpretation des resultats*  
*par le calcul statistique.* Mason et Cie. Ed. Paris.
- LEHMAN, P.S. (1963). - *Am. Soc. Proc.* 27, 167.
- LEONARD, C.D. y STEWART, I. (1953 a). - *Proc. Am. Soc. Hort.*  
*Sci.* 70, 103-10.
- LEONARD, C.D. y STEWART, I. (1953 b). - *Proc. Florida State Hort.*  
*Sec.* 66, 49-54. (C.A. 14109, 1955).

- NOORT, D. V. y WALLACE, A. (1965). - Calif. Agr. 19, 4-5.
- PERKINS, H. F. y PURVIS, E. R. (1954). - Soil Sci. 78, 329-30.
- ROSE, T. H. y DERMOTT, W. (1962). - Soils and Fert. 25, 3493.
- RUBIN, M. y PRINCIOTTO, J. V. (1963). Agr. Food. Chem. 11, 98-103.
- RUSSELL, E. J. (1954). Las condiciones del suelo y el desarrollo de las plantas. Ed. Aguilar. Madrid.
- SANDELL, E. B. (1950). - Colorimetric determination of trace of metals Interscience Pub. New York.
- SANDS, R. H. y BEINERT, H. (1959). - Bioche. Biophys. Research Comm. 1, 175, Citado por Haurowitz (1963), Cap. XII.
- SCOTT, R. O. (1941). The Analyst, 66, 142-48
- SCOTT, R. O. y FRASER, A. M. (1953). Spectrochim. Acta. 5, 422-25.
- SCHATZ, A., SCHATZ, V., SCHALSCHA, E. B. y MARTIN, J. J. (1964). Comp. Sci. 25-8.
- SCHÜTTE, K. H. (1964). - The biology of the trace elements. Their role in nutrition. Crosby Lockwood-Son. Ltd. Londres.
- SHANNON, L. M. y MOHL, J. S. (1956). - Symposium on metal chelates in plant nutrition, Seattle, 50-4, (C. A. 5565, 1958).
- SMITH, R. L. (1959). The sequestration of metals. Capman and Hall Londres.
- STEIN, W. J. A. (1959). - Agr. Food. Chem. 7, 5.
- STEWART, I. y LEONARD, C. D. (1952). - Science. 116, 64-6.

STEWART, I. y LÉONARD, C.D. (1954 a). - Mineral Nutri. of fruit Crops  
Chap. 16, 775-809. Hort. Pub. New Brunswick. New  
Jers.

STEWART, I. y LEONARD, C.D. (1954 b). - Nat. Fert. Rev. 29, 8-11.

STEWART, I. y LEONARD, C.D. (1954 c). - Soil Sci. Sec. Fla. Proc.  
14, 45-52.

STEWART, I. y LEONARD, C.D. (1956). - U.S. Atomic Energy Comm.  
TID-7512, 245-51.

STEWART, I. y LEONARD, C.D. (1957). - Soil Sci. 84, 87-97.

STEWART, I. y LEONARD, C.D. (1958). - Soils Fert. 21, 698.

STEWART, I. (1963). - Ann. Rev. of plant physiol. 14, 295-310.

SWAINE, D.J. (1955). - The trace element content of soils. Comm Agr.  
Bureaux, England.

THORNE, D.W. y WIEBE, H.H. (1957). - Publ. Am. Assoc. Adv. Sci.  
49, 49-69 (C.A. 17402, 1959).

TIFFIN, L.O. y BROWN, J.C. (1959). - Science. 130, 247-75.

TIFFIN, L.O., BROWN, J.C. y KRAUSS, R. (1960). - Plant Physiol.  
35, 362-67.

TIFFIN, L.O. y BROWN, J.C. (1961). - Plant Physiol. 36, 710-14.

TIFFIN, L.O. y BROWN, J.C. (1962). - Science. 135, 311-13.

VALLEE, B.L. y WACKER, W.E. (1956). - J. Am. Chem. Sec. 78,  
1771. Citado por Haurowitz, (1963). Cap. XII.

- WAINIO, W. W. y COOPERSTEIN, S. J. (1956). - Adv. in Enzimol. 17  
329, Citado por Haurowitz. (1963), Cap. XII.
- WALLACE, A., MUELLER, R. T., LUNT, O. R., ASHCROFT, R. y  
SHANNON, L. M. (1955 a). - Soil Sci. 80, 101-8.
- WALLACE, A., NORTH, C. P., MUELLER, R. T., SHANNON, L. M.  
y HEMAIDAN, N. (1955 b). - Proc. Am. Soc. Hort.  
Sci. 65, 9-16, (C.A. 14926, 1955).
- WALLACE, A. (1956). - Symposium on metal chelates in plant nutrition  
Seattle. 44-8, (C.A. 5565, 1956).
- WALLACE, A. y LUNT, O. R. (1956). - Soil Sci. Soc. Am. 20, 479-82.
- WALLACE, A., SHANNON, L. M., LUNT, O. R. y IMPEY, R. L. (1957).  
Soil Sci. 84, 27-41.
- WALLACE, A. y BEDRI, A. A. (1958). - Calif. Agr. 12, 8.
- WALLACE, A. y MUELLER, R. T. (1959). - Soil Sci. Proc. Soc. Am.  
23, 79.
- WALLACE, A. (1960). - Ann. of the N. Y. Acad. Sci. 88, 361-77.
- WALLACE, A. y HALE, V. O. (1961). - Soil Sci. 92, 404-7.
- WALLACE, A. (1962). - XVI<sup>th</sup> Int. Hort. Congress. Bruselas.
- WALLACE, A. (1963 a). - J. Agr. Food. Chem. 11, 103-7.
- WALLACE, A. (1963 b). - Am. Soil Sci. Proc. 27, 176-78.
- WALLACE, A. (1965). - Agr. Sci. Rev. 3, 1
- WALI HAN, E. F. y HEYMANN-HERSCHBERG, L. (1956). - Plant Physiol.  
31, 294-9.

La presente Tesis Doctoral fue leída en el día de la fecha. Terminada la lectura y contestadas las objeciones formuladas por los jueces del Tribunal, este le calificó de "sobresaliente cum laude".

Granada de Mayo de 1966

~~Argüelles~~

~~Argüelles~~

~~Argüelles~~

~~Argüelles~~

~~Argüelles~~



Biblioteca Universitaria de Granada



01052120