

## **COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS DE SUELO Y PLANTA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA DISPONIBILIDAD DE ZINC EN MAÍZ**

**Ing. Agr. Nicolás Martínez Cuesta**

Trabajo de Tesis para ser presentado como requisito parcial para optar al título de  
**DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS**

Área de Producción Vegetal

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA

Unidad Integrada Balcarce: Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP - Estación  
Experimental Agropecuaria Balcarce, INTA

**Balcarce, Argentina  
Marzo, 2022**

**COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS DE SUELO Y PLANTA PARA EL  
DIAGNÓSTICO DE LA DISPONIBILIDAD DE ZINC EN MAÍZ**

**Ing. Agr. Nicolás Martínez Cuesta**

Comité consejero:



---

Ing. Agr. (Dr.) Pablo Andrés Barbieri  
Director de Tesis



---

Ing. Agr. (M. Sc., Dr.) Hernán René Sainz Rozas  
Co-director de Tesis



---

Ing. Agr. (M. Sc., Ph.D.) Nicolás Wyngaard  
Asesor de Tesis



---

Ing. Agr. (Dr.) Walter Daniel Carciochi  
Asesor de Tesis

## COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS DE SUELO Y PLANTA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA DISPONIBILIDAD DE ZINC EN MAÍZ

Ing. Agr. Nicolás Martínez Cuesta

Aprobada por:

*p/a*  
  
Prof. Liliana TRIARTE, Mag  
Secretaría de Posgrado  
Facultad de Ciencias Agrarias  
UNMAE

---

Ing. Agr. (M. Sc., Ph.D.) Ignacio Ciampitti

*p/a*  
  
Prof. Liliana TRIARTE, Mag  
Secretaría de Posgrado  
Facultad de Ciencias Agrarias  
UNMAE

---

Ing. Agr. (Dr.) Gerardo Rubio

*p/a*  
  
Prof. Liliana TRIARTE, Mag  
Secretaría de Posgrado  
Facultad de Ciencias Agrarias  
UNMAE

---

Ing. Agr. (M. Sc., Ph.D.) Fernando Salvagiotti

## DEDICATORIA

Le dedico esta tesis a mi viejo, Héctor Ángel Martínez, que en paz descansa. Porque siempre me inculcó que la mejor herramienta es el estudio. Porque me apoyó siempre para que realice esta tesis. Porque estaba orgulloso de mí sin que me doctorase. Porque él estaba más seguro que yo de que lo iba a lograr. Porque él era un Doctor de la calle: “en la vida siempre hay que tener los objetivos claros”, me decía.

Le dedico esta tesis al Ing. Agr. (M. Sc.) Hernán Eduardo “Lalo” Echeverría. Lalo es investigador, docente de Edafología y Fertilidad de Suelos y Cultivos. Lalo es formador de personas, profesionales, investigadores y grupos de investigación. Lalo estimula el crecimiento y desarrollo de sus discípulos. Lalo inspira y motiva. Le dedico esta tesis a Lalo en símbolo de admiración por su labor y de agradecimiento por todo lo que contribuyó a mi formación.

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, le agradezco al CONICET, institución que financió mi formación mediante la beca doctoral, y al INTA, institución que, mediante proyectos y la provisión de insumos, instalaciones y equipamiento, también financió esta investigación.

En segundo lugar, al Comité Evaluador, profesionales que Ad Honorem tuvieron la voluntad y la generosidad de dedicar su tiempo y su conocimiento para leer, corregir, mejorar y evaluar esta tesis.

Al Comité Consejero por sus ideas, sus aportes, sus enseñanzas, la formación y el acompañamiento en todo este proceso.

A Mercedes Eyherabide, por enseñarme a trabajar en el laboratorio, confiar en mí, acompañarme y ayudarme a crecer.

A María Delia y Sergio Zarza, porque me dieron una mano, me tuvieron paciencia, me compartieron su diaria, su música, sus mates y su experiencia.

A Alejandra Marino, “Lalo” Echeverría, Lujan Auad y Beth Guertal, que me regalaron la oportunidad de viajar a Auburn University, Alabama, conocer otros sistemas de producción, otros grupos de investigación y otra cultura.

A mis viejos, Claudia y Héctor, y mi hermana, Lucía, por su amor, su aliento y apoyo incondicional.

A mi abuelo Miguel, a mi prima Martina y a mi ahijado Agustín, por la alegría de cada encuentro.

A los colegas amigos, amantes de la agronomía, Alberto “Beto” Ferreyra, Joaquín “Cone” Orta, Ignacio “Nachito” Rodríguez, Ignacio “Uru” Queirolo y Santiago “Vachi” Vacca, porque además de compartir la pasión por el agro y conformar un ateneo permanente, compartimos valores de amistad.

A la banda de “los viajeros de Tandil” Juanma, Marce, Lucho y Waly, por los viajes compartidos, kilómetros recorridos, compartiendo la diaria, acompañándonos con mucha camaradería.

A la banda de “Willy Branca”, amigos más que “de fierro”, que siempre están ahí, empujando el scrum de la vida todos juntos, en las buenas, y en las malas aún más.

## **PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS**

Martínez Cuesta, N.; Wyngaard, N.; Sainz Rozas, H.; Reussi Calvo, N.; Carciochi, W.; Eyherabide, M.; Barbieri, P. (2021). Determining Mehlich-3 and DTPA extractable soil zinc optimum economic threshold for maize. *Soil Use and Management*, 37(4), 736-748.  
<https://doi.org/10.1111/sum.12657>

## ÍNDICE

<b><u>Leyenda</u></b>	<b>Pág.</b>
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ABREVIATURAS Y SIGLAS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT .....	xvii
<b>1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....</b>	<b>1</b>
1.1. Objetivo general .....	4
1.2. Objetivos específicos de cada capítulo.....	4
<b>2. CAPÍTULO I: FRACCIONES DEL ZINC EN EL SUELO Y SU RELACIÓN CON LOS INDICADORES DE LA DISPONIBILIDAD DE ZINC EN EL SUELO .....</b>	<b>6</b>
2.1. Introducción.....	6
2.1.1. Fracciones de Zn en el suelo .....	6
2.1.2. Indicadores de la disponibilidad de Zn en el suelo .....	7
2.1.3. Fertilización con Zn y fracciones de Zn en el suelo.....	10
2.1.4. Hipótesis.....	11
2.1.5. Objetivos específicos .....	11
2.2. Materiales y métodos .....	11
2.2.1. Ensayo en condiciones controladas.....	11
2.2.2. Análisis de suelo.....	14
2.2.2.1. Caracterización físico-química.....	14
2.2.2.2. Concentración de Zn total en suelo .....	14
2.2.2.3. Cuantificación de Zn en los extractos .....	14
2.2.2.4. Extracción química secuencial de Zn (fraccionamiento de Zn) ....	15
2.2.2.4.1. Fracción soluble en agua e intercambiable (Ex-Zn) .....	15
2.2.2.4.2. Fracción asociada a la MO (MO-Zn) .....	15
2.2.2.4.3. Fracción asociada a los óxidos de Mn (MnOx-Zn) .....	16
2.2.2.4.4. Fracción asociada a óxidos de Fe (FeOx-Zn) .....	16
2.2.2.4.5. Fracción residual (RES-Zn).....	16
2.2.2.5. Metodologías de indicadores de la disponibilidad de Zn en el suelo.....	17
2.2.2.5.1. Ácido dietilentriaminopentaacético (Zn-DTPA).....	17

2.2.2.5.2. Mehlich-3 (Zn-M3).....	17
2.2.2.5.3. Cloruro de calcio (Zn-CaCl <sub>2</sub> ) .....	17
2.2.2.5.4. Resinas de intercambio catiónico (Zn-RIC).....	17
2.2.3. Análisis de material vegetal .....	18
2.2.4. Análisis estadístico .....	18
2.3. Resultados y discusión.....	19
2.3.1. Caracterización de los suelos en estudio .....	19
2.3.2. Fracciones de Zn en el suelo .....	20
2.3.3. Relaciones entre fracciones de Zn y propiedades edáficas.....	23
2.3.4. Redistribución del Zn aplicado entre fracciones de Zn en relación propiedades edáficas.....	25
2.3.5. Indicadores de disponibilidad de Zn en el suelo.....	27
2.3.6. Relaciones entre indicadores de disponibilidad de Zn en el suelo y fracciones de Zn .....	29
2.3.7. Relaciones entre absorción de Zn en planta y Zn en el suelo .....	32
2.3.8. Aptitud de los indicadores de disponibilidad de Zn en el suelo como metodologías de diagnóstico de Zn en maíz.....	33
2.3.9. Síntesis de resultados.....	35
2.4. Conclusión .....	36
3. CAPITULO II: EVALUACIÓN DE INDICADORES DE DISPONIBILIDAD DE ZINC A PARTIR DE ANÁLISIS DE SUELO .....	38
3.1. Introducción.....	38
3.1.1. Hipótesis.....	40
3.1.2. Objetivos específicos .....	41
3.2. Materiales y métodos .....	41
3.2.1. Diseño experimental .....	41
3.2.2. Muestreo y análisis de suelo.....	43
3.2.3. Análisis estadístico .....	43
3.3. Resultados y discusión.....	43
3.3.1. Propiedades edáficas .....	43
3.3.2. Relaciones entre indicadores de Zn disponible .....	46
3.3.3. Respuesta de rendimiento en grano a la fertilización con Zn .....	48
3.3.4. Umbrales de suficiencia para los indicadores de Zn disponible .....	50
3.3.5. Modelos de regresión múltiple para predecir la respuesta del rendimiento de grano ante la fertilización con Zn.....	53

3.3.6. Síntesis de resultados.....	54
3.4. Conclusión .....	55
4. CAPÍTULO III: EVALUACIÓN DE INDICADORES DE DISPONIBILIDAD DE ZINC A PARTIR DE ANÁLISIS DE MATERIAL VEGETAL .....	56
4.1. Introducción.....	56
4.1.1. Hipótesis.....	59
4.1.2. Objetivos específicos .....	59
4.2. Materiales y métodos .....	59
4.2.1. Experimentación a campo.....	59
4.2.2. Determinación de la concentración de Zn en material vegetal .....	59
4.2.3. Análisis estadístico .....	60
4.3. Resultados y discusión.....	60
4.3.1. Concentración de Zn en la última hoja desarrollada en el estadio V <sub>6</sub> ..	60
4.3.2. Concentración de Zn en hoja por debajo de la espiga en el estadio R <sub>1</sub> .....	63
4.3.3. Concentración de Zn en grano.....	66
4.3.4. Exportación de Zn en grano.....	70
4.3.5. Síntesis de resultados.....	72
4.4. Conclusión .....	73
5. CONCLUSIONES GENERALES (SÍNTESIS E INTEGRACIÓN) .....	75
5.1. Síntesis de resultados .....	75
5.2. Implicancias en el manejo racional de la fertilización con Zn en maíz .....	79
5.3. Contribución a la sostenibilidad de los agro-ecosistemas.....	79
5.4. Futuras investigaciones en relación al Zn en suelos y cultivos .....	80
6. APÉNDICE .....	82
7. BIBLIOGRAFÍA.....	90

## ÍNDICE DE TABLAS

<b><u>Leyenda</u></b>	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> Posición geográfica, partido de procedencia y clasificación de los suelos utilizados en el experimento en condiciones controladas.....	12
<b>Tabla 2.</b> Características edáficas (0-20 cm) [contenido de arcilla, contenido de arena, clase textural, pH, materia orgánica (MO) y capacidad de intercambio catiónico (CIC)] de los suelos utilizados en el experimento en condiciones controladas.....	20
<b>Tabla 3.</b> Distribución de zinc (Zn) en distintas fracciones [fracción soluble en agua e intercambiable (Ex-Zn), fracción asociada a la MO (MO-Zn), fracción asociada a los óxidos de Mn (MnOx-Zn), fracción asociada a óxidos de Fe (FeOx-Zn) y fracción residual (RES-Zn).....	21
<b>Tabla 4.</b> Coeficientes de correlación entre fracciones de zinc (Zn) del suelo [fracción de Zn soluble en agua e intercambiable (Ex-Zn), fracción de Zn asociado a la MO (MO-Zn), fracción de Zn asociada a óxidos de Mn (MnOx-Zn), fracción de Zn asociada a óxidos de Fe (FeOx-Zn), fracción de Zn residual (Res-Zn) y Zn total]] y propiedades edáficas [arcilla, arena, pH, materia orgánica (MO) y capacidad de intercambio catiónico (CIC)].....	24
<b>Tabla 5.</b> Concentración de indicadores de disponibilidad de zinc (Zn) en suelo (Zn-CaCl <sub>2</sub> , Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-RIC) y absorción de Zn en planta, promedio por sitio y tratamiento .....	28
<b>Tabla 6.</b> Estadística descriptiva de la tasa de aumento de la concentración de zinc (Zn) ante la fertilización con Zn al suelo (mg Zn extractable kg <sup>-1</sup> / kg Zn aplicado ha <sup>-1</sup> ) para indicadores de disponibilidad de Zn en suelo (Zn-CaCl <sub>2</sub> , Zn-DTPA, Zn-M3, Zn-RIC) .....	29
<b>Tabla 7.</b> Coeficientes de correlación entre indicadores de zinc (Zn) disponible (Zn-CaCl <sub>2</sub> , Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-RIC), fracciones de Zn del suelo [fracción de Zn soluble en agua e intercambiable (Ex-Zn), fracción de Zn asociado a la MO (MO-Zn), fracción de Zn asociada a óxidos de Mn (MnOx) y fracción de Zn asociada a óxidos de Fe (FeOx)] y absorción de Zn en planta (Abs-Zn).....	30
<b>Tabla 8.</b> Mínimos (Min) y máximos (Max) para cada propiedad edáfica [textura, pH, materia orgánica (MO), capacidad de intercambio catiónico (CIC), indicadores de disponibilidad de zinc (Zn) (Zn-M3, Zn-DTPA y Zn-CaCl <sub>2</sub> ) determinadas previo a la siembra de 45 ensayos de fertilización con Zn en maíz.	44

<b>Tabla 9.</b> Coeficientes de correlación entre propiedades edáficas [arcilla, pH, materia orgánica (MO) y capacidad de intercambio catiónico (CIC)] y los indicadores de disponibilidad de zinc (Zn) en el suelo (Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-CaCl <sub>2</sub> ).....	45
<b>Tabla 10.</b> Modelos para predecir la respuesta a zinc (Zn) a partir de indicadores de disponibilidad de Zn el suelo [Zn-DTPA (mg kg <sup>-1</sup> ), Zn-M3 (mg kg <sup>-1</sup> ) o Zn-CaCl <sub>2</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )] y propiedades edáficas [pH, materia orgánica del suelo (MO; g 100g <sup>-1</sup> ), contenido de arcilla (g 100g <sup>-1</sup> ) y CIC (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )] .....	54
<b>Tabla 11.</b> Estadística descriptiva para la exportación de zinc (Zn) en grano para los tratamientos testigo y fertilizado con Zn .....	71

## ÍNDICE DE FIGURAS

<u>Leyenda</u>	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Posiciones georreferenciadas de los 10 sitios de donde se tomaron muestras de suelo para realizar el ensayo en condiciones controladas .....	13
<b>Figura 2.</b> Esquema de fraccionamiento o extracción química secuencial de zinc..	16
<b>Figura 3.</b> Relación entre la diferencia en concentración de zinc (Zn) ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) (Delta concentración = fertilizado con Zn – testigo) para cada una de las fracciones de Zn (Ex-Zn; MO-Zn; MnOx-Zn; FeOx-Zn) y propiedades edáficas de los suelos estudiados (pH, MO, CIC y arcilla) .....	26
<b>Figura 4.</b> Relaciones entre los indicadores de zinc (Zn) disponible en el suelo (Zn-CaCl <sub>2</sub> , Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-RIC).....	32
<b>Figura 5.</b> Relación entre biomasa aérea relativa (%) en el estadio V <sub>6</sub> [tratamiento testigo/tratamiento fertilizado con zinc (Zn)] y los indicadores de disponibilidad de Zn en el suelo (tratamiento testigo).....	35
<b>Figura 6.</b> Esquema de síntesis del Capítulo I .....	36
<b>Figura 7.</b> Posiciones georreferenciadas de los ensayos de campo de fertilización con zinc en maíz.....	42
<b>Figura 8.</b> Relación entre las concentraciones de Zn-M3 y Zn-DTPA (0-20 cm) para 45 ensayos de fertilización con zinc.....	47
<b>Figura 9.</b> Relación entre las concentraciones de Zn-M3 y Zn-CaCl <sub>2</sub> (0-20 cm) para 45 ensayos de fertilización con zinc.....	47
<b>Figura 10.</b> Relación entre las concentraciones de Zn-DTPA y Zn-CaCl <sub>2</sub> (0-20 cm) para 45 ensayos de fertilización con zinc.....	48
<b>Figura 11.</b> A: Relación entre respuesta en grano ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) y rendimiento ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) del tratamiento fertilizado con zinc (Zn). B: Relación entre el rendimiento relativo (%) y rendimiento del tratamiento fertilizado con Zn ( $\text{kg ha}^{-1}$ ). C: Relación entre respuesta en grano ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) y rendimiento del testigo ( $\text{kg ha}^{-1}$ ). D: Relación entre el rendimiento relativo (%) y rendimiento del tratamiento testigo ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) .....	49
<b>Figura 12.</b> Relación entre el rendimiento relativo (RR) (%) de maíz y la concentración de Zn-CaCl <sub>2</sub> en suelo (0-20 cm).....	51
<b>Figura 13.</b> Relación entre el rendimiento relativo (RR) (%) de maíz y la concentración de Zn-DTPA en suelo (0-20 cm) .....	51
<b>Figura 14.</b> Relación entre el rendimiento relativo (RR) (%) de maíz y la concentración de Zn-M3 en suelo (0-20 cm).....	52
<b>Figura 15.</b> Esquema de síntesis del Capítulo II. ....	55
<b>Figura 16.</b> Relación entre concentración de zinc (Zn) en hoja en estadio V <sub>6</sub> ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) y la disponibilidad de Zn en el suelo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) mediante distintas metodologías: A) Zn-DTPA; B) Zn-Melich-3 y C) Zn-CaCl <sub>2</sub> .....	62

<b>Figura 17.</b> Relación entre la respuesta de rendimiento en grano ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) (A) o el rendimiento relativo (%) (B) y la concentración de Zn en la última hoja desarrollada al estadio $V_6$ ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) .....	63
<b>Figura 18.</b> Relación entre concentración de zinc (Zn) en hoja en estadio $R_1$ ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) y la disponibilidad de Zn en el suelo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) mediante distintas metodologías: A) Zn-DTPA; B) Zn-Melich-3 y C) Zn- $\text{CaCl}_2$ .....	65
<b>Figura 19.</b> Relación entre la respuesta de rendimiento en grano ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) (A) o el rendimiento relativo (%) (B) y la concentración de zinc (Zn) en la hoja por debajo de la espiga al estadio $R_1$ ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) .....	66
<b>Figura 20.</b> Relación entre concentración de zinc (Zn) en grano del tratamiento testigo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) y la disponibilidad de Zn en el suelo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) mediante distintas metodologías: A) Zn-DTPA; B) Zn-Melich-3 y C) Zn- $\text{CaCl}_2$ .....	69
<b>Figura 21.</b> Relación entre la respuesta de rendimiento en grano ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) (A) o el rendimiento relativo (%) (B) y la concentración de zinc (Zn) en grano de los tratamientos testigo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) .....	70
<b>Figura 22.</b> Relación entre la exportación de zinc (Zn) en grano ( $\text{g ha}^{-1}$ ) y el rendimiento de grano de los tratamientos testigo y fertilizado con Zn ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) .....	72
<b>Figura 23.</b> Esquema de síntesis del Capítulo III .....	73
<b>Figura 24.</b> Esquema de síntesis e integración final de los resultados.....	78

**ABREVIATURAS Y SIGLAS**

BCA = bloques completos aleatorizados

CIC = capacidad de intercambio catiónico

DTPA = ácido dietilentriaminopentaacético

EDTA = ácido etilendiaminotetraacético

EAA = espectrofotometría de absorción atómica

Ex-Zn = zinc intercambiable

FeOx-Zn = zinc asociado a óxidos de hierro

M3 = Mehlich-3

MnOx-Zn = zinc asociado a los óxidos de manganeso

MO = materia orgánica

MO-Zn = zinc asociado a la materia orgánica

RES-Zn = zinc residual

RIC = resina de intercambio catiónico

Zn = zinc

## RESUMEN

La agricultura con escasa reposición de micronutrientes provocó una disminución del zinc (Zn) disponible en los suelos. El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos más susceptibles a la deficiencia de Zn. Para revertir dichas deficiencias es necesario desarrollar métodos de diagnóstico adecuados. Consecuentemente, los objetivos fueron: i) estudiar las fracciones del Zn en el suelo y su relación con los métodos de diagnóstico de disponibilidad de Zn en suelo, y ii) calibrar y comparar metodologías de diagnóstico de Zn en suelo y material vegetal para predecir la respuesta de rendimiento de grano del cultivo de maíz a la fertilización con Zn.

Primero se condujo un ensayo de maíz en macetas con 10 suelos y dos tratamientos: i) testigo y ii) Zn-aplicado. Al estadio de 6 hojas ( $V_6$ ) se cosechó la parte aérea y se tomaron muestras de suelo. Se realizaron extracciones químicas secuenciales de Zn obteniendo las fracciones: i) intercambiable (Ex-Zn); ii) asociado a la materia orgánica (MO-Zn); iii) asociado a los óxidos de manganeso (MnOx-Zn); iv) asociado a óxidos de hierro (FeOx-Zn); y v) residual (RES-Zn). También se determinó el Zn disponible en el suelo mediante el método del ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), Mehlich-3 (M3), cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) y resinas de intercambio catiónico (RIC).

La mayor parte del Zn nativo de los suelos estudiados se encuentra asociado a las fracciones MnOx-Zn, FeOx-Zn y RES-Zn. Todas las fracciones se correlacionaron con la fracción inmediata en la secuencia de extracción, sugiriendo la existencia de un equilibrio entre ellas. El Zn aplicado se distribuyó: MnOx-Zn (37%) > FeOx-Zn (22%) > Ex-Zn (21,5%) > RES-Zn (18,5%) > MO-Zn (1%). El Zn- $\text{CaCl}_2$  se correlacionó con las fracciones Ex-Zn y MO-Zn, mientras que Zn-DTPA y Zn-M3 se correlacionaron con las fracciones Ex-Zn, MO-Zn y MnOx-Zn. Zn-RIC no se correlacionó con ninguna de las fracciones estudiadas. Las fracciones que más influyeron en la absorción de Zn del maíz fueron MnOx-Zn, MO-Zn y Ex-Zn. Los extractantes quelantes Zn-DTPA y Zn-M3 mostraron mayor correlación con la absorción de Zn del maíz, seguidos por Zn- $\text{CaCl}_2$ , mientras que Zn-RIC no mostró correlación significativa.

Por otro lado, se realizaron 45 ensayos de maíz a campo, con dos tratamientos: i) testigo; y ii) Zn-fertilizado. Se tomaron muestras de suelo y se determinó el Zn disponible mediante DTPA, M3 y  $\text{CaCl}_2$ . En  $V_6$  y floración ( $R_1$ ) se tomaron muestras de hoja. A cosecha se determinó el rendimiento y se tomaron muestras de grano. Se determinó la

concentración de Zn en hojas y grano. Se observó respuesta significativa en el rendimiento de grano en 13 de 45 sitios, siendo la respuesta promedio de  $1,01 \text{ Mg ha}^{-1}$ . Los umbrales críticos de Zn- $\text{CaCl}_2$ , Zn-DTPA y Zn-M3 para lograr un rendimiento relativo del 97% fueron: 0,14; 0,94 y  $1,6 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente. El porcentaje de sitios correctamente diagnosticados fue 71%, 60% y 49% para Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn- $\text{CaCl}_2$ , respectivamente. Tanto la concentración de Zn en hoja ( $V_6$  o  $R_1$ ) como la concentración de Zn en grano no se asociaron con la respuesta en rendimiento de grano.

**Palabras clave:** DTPA, Mehlich-3; cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ); resinas de intercambio catiónico; micronutrientes; fraccionamiento químico secuencial.

## ABSTRACT

### COMPARISON OF SOIL AND PLANT ANALYSIS METHODS FOR THE DIAGNOSIS OF ZINC AVAILABILITY IN CORN

The agriculture intensification with little replacement of micronutrients caused a decrease of soil Zn availability. Corn (*Zea mays* L.) is one of the field crops that most frequently suffer from Zn deficiency. To reverse Zn deficiencies, it is necessary to develop adequate diagnostic methods. Therefore, the objectives were: i) to study the Zn fractions in the soil and their relationship with the diagnostic methods of soil Zn availability, and ii) to calibrate and compare diagnostic methodologies of Zn in soil and plant material to predict the grain yield response of corn to the Zn fertilization.

First, a corn experiment under controlled conditions was performed, with ten soils and two treatments: i) Control, and ii) Zn-applied. At the six-leaf stage ( $V_6$ ), the aboveground biomass was harvested and soil samples were taken. Sequential chemical extractions of Zn were carried out, obtaining the fractions: i) exchangeable (Ex-Zn), ii) associated with organic matter (MO-Zn), iii) associated with manganese oxides (MnOx-Zn), iv) associated with iron oxides (FeOx-Zn), and v) residual (RES-Zn). The soil Zn availability was also determined by diethylenetriaminepentaacetic acid method (DTPA), Mehlich-3 (M3), calcium chloride ( $\text{CaCl}_2$ ), and cation exchange resins (RIC).

Most of the native soil Zn was associated with the MnOx-Zn, FeOx-Zn, and RES-Zn fractions. All fractions correlated with the immediate fraction in the extraction sequence, suggesting the existence of a balance between them. The applied Zn was distributed on average: MnOx-Zn (37%) > FeOx-Zn (22%) > Ex-Zn (21.5%) > RES-Zn (18.5%) > MO-Zn (1%). The Zn- $\text{CaCl}_2$  correlated mostly with the Ex-Zn and the MO-Zn fractions, both Zn-DTPA and Zn-M3 correlated with the Ex-Zn, MO-Zn, and MnOx-Zn fractions, while Zn-RIC did not correlate with any of the studied fractions. The fractions that most influenced the corn Zn absorption were MnOx-Zn, MO-Zn, and Ex-Zn. The chelating extractants Zn-DTPA and Zn-M3 showed a higher correlation with the absorption of Zn from corn, followed by Zn- $\text{CaCl}_2$ , while Zn-RIC did not show a significant correlation.

On the other hand, 45 corn trials were carried out under field conditions, with two treatments: i) Control; and ii) Zn-fertilized. Soil samples were taken and the soil Zn availability was determined by DTPA, M3, and  $\text{CaCl}_2$ . At  $V_6$  and flowering ( $R_1$ ) stages, leaf samples were taken. At harvest the grain yield was determined and grain samples were

taken. The Zn concentration in the leaf and grain samples was determined. Significant grain yield response to Zn fertilization was observed in 13 out of 45 sites, with an average response of  $1.01 \text{ Mg ha}^{-1}$ . The critical thresholds of Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-DTPA, and Zn-M3 to achieve a relative yield of 97% were: 0.14, 0.94, and  $1.6 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectively. The correctly diagnosed cases were 71%, 60%, and 49% for Zn-DTPA, Zn-M3, and Zn-CaCl<sub>2</sub>, respectively. Neither the Zn concentration in leaf ( $V_6$  or  $R_1$ ) nor the Zn concentration in grain was associated with the grain yield response to Zn fertilization.

**Key words:** DTPA, Mehlich-3; calcium chloride (CaCl<sub>2</sub>); cation exchange resins; micronutrients; sequential chemical extraction.

## 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El zinc (Zn) es un nutriente esencial para las plantas (Gupta *et al.*, 2016), considerado micronutriente por ser requerido por los cultivos en baja cantidad (42-50 g Zn Mg<sup>-1</sup>) (Bender *et al.*, 2013; Ciampitti y Vyn, 2013). A su vez, el Zn es un catión perteneciente a los metales pesados debido a su alto peso atómico y, en elevadas concentraciones, es tóxico tanto para las plantas como para los animales (Mossa *et al.*, 2020). Sin embargo, en general, la concentración de Zn en la solución del suelo es baja (4 a 270 µg L<sup>-1</sup>), por lo que los principales mecanismos de suministro de Zn a la planta son difusión e intercepción radical (Marschner, 1993).

En la planta, el Zn tiene un rol clave como constituyente estructural o cofactor regulador de enzimas que intervienen en diferentes vías bioquímicas involucradas en el metabolismo de carbohidratos y proteínas, la formación del polen y el mantenimiento de la integridad de membranas (Hafeez *et al.*, 2013; Sadeghzadeh, 2013). Además, el Zn es requerido para la síntesis de triptófano y ácido indol-acético (hormona auxina) (Alloway, 2008). El Zn es absorbido por la planta como Zn<sup>+2</sup> y, dentro de ella, no cambia su estado de oxidación (Haslett *et al.*, 2001). Aunque se han identificado más de 70 metal-enzimas que contienen Zn, éstas son sólo una parte relativamente pequeña del Zn total en los tejidos vegetales (Brown *et al.*, 1993). Las formas predominantes de Zn en las plantas son: complejos de bajo peso molecular, metal-proteínas de almacenamiento, iones libres y formas insolubles asociadas a las membranas de las células (Gupta *et al.*, 2016). Dadas las funciones que cumple el Zn en las plantas, y por ser un nutriente esencial, su deficiencia afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Uno de los cultivos extensivos más susceptibles a la deficiencia de Zn es el maíz (*Zea mays* L.) (Brown *et al.*, 1993; Alloway, 2008). El maíz es uno de los cultivos más versátiles ya que se puede cultivar en diversas condiciones ambientales y su producción tiene diversos usos y destinos, desde la alimentación humana y la alimentación animal a la síntesis de polímeros y biocombustibles, entre otros. Los síntomas de deficiencia de Zn en la hoja de maíz consisten en una clorosis inter-nerval en la lámina y una clorosis general en la base de la misma (Alloway, 2008; Mattiello *et al.*, 2015). En casos de deficiencia severa, los entrenudos se acortan y las plantas se atrofian, debido a perturbaciones en el metabolismo de las auxinas. Sin embargo, la deficiencia de Zn sub-clínica, también llamada deficiencia marginal, reduce los rendimientos de los cultivos sin la aparición de síntomas visibles (Alloway, 2008; Mattiello *et al.*, 2015). Por este motivo, la ausencia de síntomas no garantiza un estado

nutricional de suficiencia de Zn (Brennan *et al.*, 1993). En línea con esto, Sharma *et al.* (1990) demostraron que la disponibilidad limitada de Zn en las plantas de maíz retardó severamente el desarrollo de espigas y granos de polen, disminuyendo la fertilidad masculina, aun cuando el crecimiento vegetativo fue asintomático. Por este motivo, el diagnóstico de deficiencia de Zn no puede basarse solo en la presencia de síntomas, lo que hace necesario el desarrollo y calibración de otras técnicas de diagnóstico como el análisis de tejido vegetal y/o suelo.

En el suelo, el Zn es considerado un nutriente poco móvil (Bray, 1963) y se presenta asociado a óxidos de manganeso (Mn) y hierro (Fe), a la materia orgánica (MO), a carbonatos y a otros compuestos silíceos (Shuman, 1985). Diversas variables edáficas, tales como la mineralogía del material parental, el pH, la capacidad de intercambio catiónico (CIC), el contenido de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) y el contenido de MO, están relacionadas con la disponibilidad de Zn en el suelo para los cultivos (Martens y Lindsay, 1990; Johnson y Fixen, 1990; Mortvedt *et al.*, 1991; Alloway, 2009).

Los suelos de aptitud agrícola de las principales zonas productivas de maíz de Argentina pertenecen, en su mayoría, al orden de los Molisoles (Panigatti, 2010; Rubio *et al.*, 2019) y en su estado original presentan elevada fertilidad natural. Los valores de Zn total de los materiales originarios varían de 48 a 72  $\text{mg kg}^{-1}$  (Gallet *et al.*, 1998; Lavado *et al.*, 2004). Dichos valores son considerados de mediana a elevada concentración (Alloway, 2008). Además, la mayoría de los suelos agrícolas tienen pH menores a 7 (Sainz Rozas *et al.*, 2015; Sainz Rozas *et al.*, 2019), condición que favorece una elevada disponibilidad de Zn (McBride y Blasiak, 1979).

En la región pampeana, la intensificación de la agricultura y la escasa o nula aplicación de micronutrientes provocó que la disponibilidad de Zn en los suelos haya disminuido entre un 80-86% respecto de su condición prístina (Sainz Rozas *et al.*, 2019). Sumado a lo anterior, la adopción masiva de la siembra directa trajo aparejada una menor temperatura del suelo respecto de la labranza convencional (Fortin, 1993), lo que afecta la difusión de Zn hacia las raíces de las plantas (Moraghan y Mascagni, 1991). Como consecuencia, algunos estudios demuestran respuesta en el rendimiento en grano a la fertilización con Zn en cultivos como trigo (*Triticum aestivum* L.) (Sainz Rozas *et al.*, 2003; Salvagiotti *et al.*, 2012; Martínez Cuesta *et al.*, 2021), maíz (Melgar *et al.*, 2001; Barbieri *et al.*, 2017) y soja (*Glycine max* L.) (Boga y Ramírez, 2014; Martínez Cuesta *et al.*, 2016).

Para lograr un manejo racional de la fertilización con Zn es necesario desarrollar adecuados métodos de diagnóstico. De esta forma, se podrá: i) evitar pérdidas de rendimiento por deficiencia de este micronutriente, ii) optimizar costos de producción, iii) evitar problemas de toxicidad y contaminación por aplicaciones sistemáticas de este metal pesado, y iv) hacer un uso racional y responsable de este recurso finito, dado que las reservas mundiales de Zn identificadas al momento tienen una vida útil estimada de 20 años (Sutton *et al.*, 2013). Por lo tanto, el desarrollo de metodologías de diagnóstico de suelo y planta para detectar deficiencias de Zn y su comparación según la capacidad de predecir respuesta en el rendimiento en grano constituirían un avance en el uso racional de fertilizantes.

Una metodología de análisis de suelo se considera satisfactoria para diagnosticar la disponibilidad de un nutriente cuando cuantifica el nutriente de las mismas fracciones del suelo de la que lo toman las plantas, correlaciona con la respuesta a la aplicación de dicho nutriente y es rápida, barata, reproducible y fácilmente adaptable a los procedimientos de rutina de los laboratorios (Bray, 1948; Havlin y Soltanpour, 1981). En este sentido, el desarrollo de un método de diagnóstico de suelo requiere de, al menos, tres pasos: correlación, calibración e interpretación (Dahnke y Olson, 1990). La correlación requiere contar con una amplia base de datos de ensayos en condiciones de campo, cubriendo varios años y tipos de suelos, donde se relacione la concentración de nutriente disponible en el suelo con la respuesta en el rendimiento en grano del cultivo (Viets y Lindsay, 1973; Dahnke y Olson, 1990). Luego, en la calibración, se establece la probabilidad de respuesta a la fertilización cuando el resto de los otros nutrientes no son limitantes, y calificar de manera cualitativa el resultado cuantitativo del análisis de suelo (rangos críticos; bajo, medio, alto). Por último, en la etapa de interpretación, se debe determinar una primera aproximación de la dosis de fertilizante a agregar. El posterior ajuste de esta recomendación, dependerá del conocimiento de las condiciones climáticas y del manejo agronómico y económico del sistema de producción.

El Capítulo I de esta tesis corresponde a una etapa exploratoria del primer paso: la correlación, donde además se pretende entender el funcionamiento de cada metodología indicadora de la disponibilidad de Zn en el suelo y la redistribución del Zn aplicado al suelo. El Capítulo II aborda las etapas de correlación y calibración de metodologías indicadoras de Zn disponible en el suelo mediante una amplia red de ensayos en condiciones de campo, cubriendo varios años y tipos de suelos. De manera complementaria al análisis de suelo, en el Capítulo III, se pretende desarrollar

(correlacionar y calibrar) métodos de diagnóstico para monitorear el estatus de Zn durante el ciclo del cultivo (análisis de hoja) y de manera retrospectiva o ex-post (análisis de granos). Finalmente, en el Capítulo IV, se integran los resultados, se aborda la interpretación agronómica de los mismos y se plantean futuras líneas de investigación.

### **1.1. Objetivo general**

Estudiar las fracciones del Zn en el suelo y su relación con los métodos de diagnóstico de disponibilidad de Zn en suelo (Capítulo I). Calibrar y comparar metodologías de diagnóstico de Zn en suelo (Capítulo II) y material vegetal (Capítulo III) para detectar deficiencias de Zn y predecir respuesta de rendimiento en grano del cultivo de maíz.

### **1.2. Objetivos específicos de cada capítulo**

#### **1.2.1. Capítulo I: Fracciones de zinc en el suelo y su relación con los indicadores de la disponibilidad de zinc en el suelo**

Para Molisoles de la región pampeana se plantea:

- Determinar la distribución de Zn nativo y aplicado en las fracciones de Zn en suelos con distinto pH y contenido de arcilla, MO y CIC.
- Estudiar la relación entre la absorción de Zn por la planta de maíz, las fracciones de Zn del suelo y los índices estimadores de la disponibilidad de Zn en el suelo.
- Comparar la aptitud de los indicadores Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-M3, Zn-DTPA y Zn-RIC como estimadores de la disponibilidad de Zn para maíz.

#### **1.2.2. Capítulo II: Evaluación de indicadores de disponibilidad de zinc a partir de análisis de suelo**

- Determinar la respuesta en rendimiento de maíz a la aplicación de Zn y relacionar la misma con la medición de Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-DTPA y Zn-M3 en suelo, para zonas de condiciones edafo-climáticas contrastantes de Argentina.
- Determinar si la inclusión del pH, MO, arcilla o CIC a los modelos de Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-DTPA o Zn-M3 mejora su capacidad predictiva.

### **1.2.3. Capítulo III: Evaluación de indicadores de disponibilidad de zinc a partir de análisis de material vegetal**

- Evaluar la concentración de Zn en hoja (estadio V<sub>6</sub> y R<sub>1</sub>) y en grano como métodos de monitoreo del estatus de Zn en el cultivo de maíz.
- Determinar la relación entre la exportación de Zn en grano del cultivo de maíz y el rendimiento de grano.

## 2. CAPÍTULO I: FRACCIONES DE ZINC EN EL SUELO Y SU RELACIÓN CON LOS INDICADORES DE LA DISPONIBILIDAD DE ZINC EN EL SUELO

### 2.1. Introducción

#### 2.1.1. Fracciones de Zn en el suelo

El suelo es un sistema físico, químico, biológico, complejo, dinámico y diverso (Sposito, 2008). En consecuencia, son numerosos los factores pedo-genéticos, ambientales y de manejo que afectan la disponibilidad de Zn para las plantas (Shuman, 1991). Si bien el contenido de Zn total es un indicador de la reserva potencial de Zn, en general, no se relaciona con la disponibilidad del nutriente para los cultivos (Ortiz y Alcañiz, 2006). Esto se debe a que el Zn se encuentra en el suelo formando diversas especies químicas con diferente grado de disponibilidad (Shuman, 1991). Por lo tanto, la disponibilidad de Zn para las plantas está asociada con la distribución de este nutriente entre las distintas fracciones del suelo (Begum *et al.*, 2016). Las distintas fracciones de Zn en el suelo se pueden definir operacionalmente como Zn: soluble en agua e intercambiable (Ex-Zn), asociado a la MO (MO-Zn), asociado a óxidos de manganeso (Mn) (MnOx-Zn), asociado a óxidos de hierro (Fe) (FeOx-Zn) y asociado a cristales de silicatos o residual (RES-Zn) (Shuman, 1985). La fracción Ex-Zn es considerada móvil y disponible para las plantas; las fracciones MO-Zn, MnOx-Zn y FeOx-Zn son consideradas potencialmente disponibles; y la fracción RES-Zn no es disponible para las plantas (Shuman, 1991).

La concentración de Zn en la solución del suelo es controlada por procesos de adsorción y desorción desde arcillas, hidróxidos de Mn y Fe, compuestos húmicos y carbonatos; y por la disolución y precipitación desde minerales secundarios. Por lo tanto, algunas de las propiedades edáficas que afectan su disponibilidad son: material parental, pH, capacidad de intercambio catiónico (CIC), contenido de arcilla, MO y carbonatos (Ibrahim *et al.*, 2011). Se ha reportado que la fracción disponible de Zn disminuye a medida que aumenta el pH debido a que se incrementa la presencia de especies hidrolizadas ( $ZnOH^+$ ;  $ZnOH_2$ ) (Iyengar *et al.*, 1981; Sanders *et al.*, 1986), la adsorción química y/o específica con diferentes óxidos y arcillas y la precipitación sobre carbonatos (Moraghan y Mascagni, 1991). Algunas prácticas de manejo como el encalado, al provocar un aumento brusco en el pH superficial, pueden precipitar Zn y provocar deficiencias inducidas sobre los cultivos (De Abreu y Van Raij, 1996; Vázquez y Pagani, 2015). Respecto al efecto de la textura del suelo sobre la

disponibilidad de Zn, algunos estudios muestran que la concentración de Zn total en suelos arcillosos es mayor que en suelos arenosos (Kabata Pendias y Pendias, 1992; Baize, 1997). Esto se debe a la mayor concentración de Zn en las arcillas y a la mayor capacidad de los suelos arcillosos de adsorber y retener Zn. La MO es otro factor que afecta la disponibilidad de micronutrientes. Los ácidos fúlvicos, húmicos y compuestos intermedios de la mineralización forman quelatos solubles con los micronutrientes, incrementando su disponibilidad y movilidad (Miravé y Orioli, 1989). Para el caso particular del Zn, la adición de residuos orgánicos provocó el incremento de todas las fracciones de Zn excepto de la fracción ligada a los óxidos y la residual, lo que sugiere un aumento en la disponibilidad de dicho nutriente (Mandal *et al.*, 1988; Shuman, 1991).

La determinación de las diferentes fracciones en las que se encuentra el Zn en el suelo (Ex-Zn; MO-Zn; MnOx-Zn; FeOx-Zn; RES-Zn) se denomina fraccionamiento (Davidson *et al.*, 1994). El fraccionamiento permite caracterizar el Zn total del suelo (reserva potencial) distinguiendo entre formas de Zn con distinto grado de solubilidad y fuerza de retención y, a su vez, relacionar estas formas con los indicadores de disponibilidad del nutriente para las plantas (Raksataya *et al.*, 1996). Para lograr el fraccionamiento de Zn se utilizan métodos de extracción química secuencial. Los métodos de extracción química secuencial consisten en extracciones sucesivas, donde los reactivos utilizados en las etapas iniciales son de menor agresividad y más específicos, mientras que los subsecuentes son progresivamente más destructivos y menos específicos (Leleyter *et al.*, 2012). En este tipo de extracción las fracciones quedan definidas operacionalmente de acuerdo con los procedimientos y reactivos usados en la metodología (Ma y Rao, 1997). Dado que no existe una metodología de extracción secuencial universal, la selección de la misma debe hacerse en función de los objetivos de la investigación y del tipo de suelo (López Julián y Mandado Collado, 2002).

### **2.1.2. Indicadores de la disponibilidad de Zn en el suelo**

Del mismo modo que existen distintas metodologías de extracción secuencial, también existen diversos extractantes simples (un solo paso de extracción) diseñados como indicadores de la disponibilidad de Zn en el suelo para los cultivos. Entre las metodologías de extracción simple se encuentran aquellas que utilizan sales neutras como el cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) (Houba *et al.*, 2000), agentes quelantes como el ácido dietilentiainopentaacético (DTPA) (Lindsay y Norvell, 1978), extractantes

ácidos multi-nutrientes como el Mehlich-3 (M3) (Mehlich, 1984) y las resinas de intercambio catiónico (RIC) (Hamilton y Westermann, 1991).

Los principios de extracción varían considerablemente entre métodos. La extracción con  $\text{CaCl}_2$  se basa principalmente en el desplazamiento de cationes intercambiables por el calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) (Houba *et al.*, 2000). El uso de  $\text{Ca}^{+2}$  se fundamenta en dos motivos: i) es un catión divalente, lo que lo hace más competitivo por los sitios de intercambio que los cationes monovalentes; y ii) es el catión predominante en el complejo de intercambio del suelo, lo que permite extraer otros cationes adsorbidos sin cambios apreciables en la solución final de equilibrio (Novozamsky *et al.*, 1993). El extractante  $\text{CaCl}_2$  ha sido probado en suelos contaminados con Zn (McBride *et al.*, 2009), mostrando una sensibilidad similar a Zn-DTPA y Zn-M3 para correlacionar con la concentración de Zn en plantas de soja.

A diferencia de  $\text{CaCl}_2$ , los extractantes quelantes como el DTPA y el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (contenido en el extractante M3) forman complejos estables con los cationes solubles del suelo, promoviendo su desorción desde los sitios de intercambio y la disolución de las fracciones inorgánicas u orgánicas lábiles (Sims y Johnson, 1991). La solución de DTPA contiene trietanolamina y  $\text{CaCl}_2$ . El primero actúa como buffer (pH 7,3), mientras que el  $\text{Ca}^{2+}$  soluble proveniente del  $\text{CaCl}_2$  evita la disolución del  $\text{CaCO}_3$  del suelo y desplaza a otros cationes del complejo de adsorción del suelo. Por otra parte, en el extractante M3, el ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) es quien reemplaza los cationes del complejo de intercambio, mientras que el EDTA actúa como agente quelante (Mehlich, 1984). Para suelos arcillosos de Paraná (Brasil), Sarto *et al.* (2011) concluyeron que Zn-DTPA correlacionó mejor que Zn-M3 con la absorción de Zn en trigo y poroto (*Phaseolus vulgaris* L.), debido a que Zn-M3 solubilizaría fracciones no disponibles para las plantas.

Por su parte, las RIC son polímeros orgánicos sólidos con carga electrostática negativa que es neutralizada por iones de carga opuesta (Skogley y Dobermann, 1996). Este método se realiza sin la adición de ningún ácido, base, reactivo precipitante o quelante, que por el contrario son comúnmente empleados en otros procedimientos de extracción química. Qian *et al.* (1992) sugirieron que la superioridad de las extracciones con resinas frente a las extracciones convencionales (con soluciones extractoras) para predecir la absorción de fósforo (P) y potasio (K) por las plantas podría deberse a dos factores: i) las resinas remueven los iones del suelo de manera análoga a las raíces de las plantas y causan poca alteración de las propiedades del suelo porque solo remueven los iones en solución, junto con la

fracción más lábil de los iones en sitios de intercambio; ii) el pH de la suspensión del suelo durante la extracción con resina es muy similar al pH del suelo.

Para el caso particular del Zn, la información disponible sobre el uso de RIC es escasa, incompleta y contradictoria. Acquaye *et al.* (1972) fueron los primeros en evaluar el uso de Zn-RIC reportando correlaciones moderadas ( $r=0,56$ ) entre la concentración de Zn-RIC ( $1,8-3,8 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en suelos tropicales ( $\text{pH}=3,9-5,3$ ) y la concentración de Zn en plantas de *Phaseolus mungo* L. Luego, Hamilton y Westermann (1991) compararon Zn-RIC y Zn-DTPA en relación con la concentración de Zn en plantas de porotos, esta vez en un suelo calcáreo ( $\text{pH}=8$ ). Estos autores concluyeron que, debido a que el coeficiente de correlación fue levemente más alto para Zn-RIC (0,30) que para Zn-DTPA (0,22), la metodología Zn-RIC es un mejor estimador de la disponibilidad de Zn para las plantas de porotos que el Zn-DTPA. A pesar de que ambas correlaciones fueron débiles y que Zn-RIC y Zn-DTPA estaban estrechamente correlacionadas entre sí ( $r=0,93$ ), Hamilton y Westermann (1991) sugirieron que las RIC extraerían Zn lábil del suelo no extraído con DTPA y, por lo tanto, simularían mejor la absorción de la planta. Por el contrario, Srivarastava *et al.* (2000) reportaron que Zn-RIC falló para predecir la disponibilidad de Zn para el arroz (*Oryza sativa* L.) en suelos calcáreos inundados. Estos autores atribuyeron este hecho a que, en suelos calcáreos, las Zn-RIC funcionarían de una manera análoga a un extractante ácido, debido a la acidificación producida por protones liberados por la resina a cambio de cationes distintos al Zn [Ca, magnesio (Mg), sodio (Na), potasio (K), hierro (Fe)].

Dado que las especies vegetales difieren en sus requerimientos de Zn, en su arquitectura radical y en su sensibilidad a la deficiencia de Zn (Marschener, 1993), se desconoce la capacidad de diagnóstico de Zn-RIC, Zn- $\text{CaCl}_2$ , Zn-M3 y Zn-DTPA para cereales en suelos de regiones templadas. Por ende, se consideró necesario comparar la capacidad predictiva de estas metodologías indicadoras de la disponibilidad de Zn respecto a la absorción de Zn en maíz en Molisoles.

Debido a que las metodologías para estimar el Zn disponible se diferencian en cuanto a su modo de acción o principio químico, es esperable que cuantifiquen distintas fracciones químicas de Zn. En este sentido, el extractante  $\text{CaCl}_2$  ha sido incluido en algunos esquemas de fraccionamiento o extracción química secuencial como estimador de la fracción Ex-Zn (McGrath y Cegarra, 1992). Por otra parte, Lu *et al.* (2012) informaron para suelos calcáreos de China que el DTPA extrae las fracciones Ex-Zn, MO-Zn y unida a óxidos. Para el caso de M3, Joshi *et al.* (2014) en

suelos ácidos de India observaron que esta metodología extrae Zn de las mismas fracciones anteriores sumado a una mayor solubilización desde los óxidos. La similitud entre los valores de Zn extraídos mediante DTPA y RIC informados por Hamilton y Westermann (1991), sugiere que ambos métodos extraen Zn desde compartimientos fisicoquímicos similares del suelo. Sin embargo, estos autores estudiaron un solo tipo de suelo (calcáreo) y exploraron un rango limitado de concentraciones de Zn (0,3-1,2 mg kg<sup>-1</sup>). Al momento, no existen estudios que hayan evaluado las fracciones de Zn extraídas por Zn-RIC. Tampoco se ha comparado el comportamiento y la aptitud de diagnóstico de Zn de estas metodologías (CaCl<sub>2</sub>, DTPA, M3 y RIC) en suelos templados, ligeramente ácidos a neutros.

### **2.1.3. Fertilización con Zn y fracciones de Zn en el suelo**

Los problemas de deficiencia de Zn generalmente se asocian a suelos tropicales, muy lixiviados, de texturas gruesas o, por el contrario, a suelos calcáreos y/o alcalinos (Alloway, 2008). Son escasas las situaciones donde suelos con elevados niveles de Zn nativo (prístinamente fértiles en Zn) hayan sufrido agotamiento de su disponibilidad debido a la producción de cultivos sin la adecuada reposición de este nutriente. En la región pampeana se estima que la agricultura redujo la disponibilidad de Zn de los suelos (determinada mediante DTPA) respecto de la condición prístina en un 80-86%, dependiendo de la zona (Sainz Rozas *et al.*, 2019).

El fraccionamiento del Zn en suelos de uso agrícola, que tengan degradada su fertilidad nativa de Zn, permitiría conocer el impacto de la agricultura extractiva, sin reposición de nutrientes, sobre la distribución del Zn en formas de distinta disponibilidad para los cultivos. Además, dicho fraccionamiento combinado con experimentos de agregado de Zn al suelo permitirá analizar la redistribución del Zn entre las fracciones más y menos disponibles causada por la fertilización. Por lo tanto, la comprensión de la distribución de las fracciones de Zn nativo y la redistribución del Zn agregado contribuye a caracterizar la dinámica del Zn en los suelos y su disponibilidad potencial para las plantas.

En Argentina, los estudios de fraccionamiento del Zn se han orientado a problemas de contaminación (Torri y Lavado, 2009), al uso de enmiendas orgánicas (Torri y Lavado, 2008) y a la caracterización de suelos (Aruani y Sánchez, 2003; Carrizo *et al.*, 2013). Sin embargo, no se han realizado estudios regionales en suelos de prolongado uso agrícola, que tengan degradada su fertilidad prístina de Zn, orientados al diagnóstico de Zn para los cultivos y a la reconstrucción de la disponibilidad de Zn.

Evaluar las relaciones entre las diferentes fracciones de Zn en el suelo con metodologías indicadoras de su disponibilidad (metodologías de extracción simple) permitirá explicar causalmente la capacidad predictiva de cada metodología y conocer el comportamiento del nutriente al ser agregado al suelo.

#### **2.1.4. Hipótesis**

Para Molisoles de la región pampeana se plantean las siguientes hipótesis:

- I. El Zn-CaCl<sub>2</sub> se correlaciona con las fracciones Ex-Zn, mientras que Zn-DTPA y Zn-RIC se correlacionan con las fracciones Ex-Zn y MO-Zn y Zn-M3 se correlaciona con Ex-Zn, MO-Zn, MnOX-Zn y FeOx-Zn.
- II. Zn-DTPA y Zn-RIC tienen mayor correlación con el Zn absorbido por las plantas de maíz que el Zn-M3 y el Zn-CaCl<sub>2</sub>.
- III. En suelos de prolongado uso agrícola el Zn nativo se encuentra mayormente asociado a la fracción RES-Zn.
- IV. El Zn agregado al suelo se distribuye entre las fracciones de Zn del suelo de manera diferencial según alguna de las siguientes propiedades edáficas: pH, MO, CIC y/o arcilla.

#### **2.1.5. Objetivos específicos**

Para Molisoles de la región pampeana se plantea:

- Determinar la distribución de Zn nativo y aplicado en las fracciones de Zn en suelos con distinto pH y contenido de arcilla, MO y CIC.
- Estudiar la relación entre la absorción de Zn por la planta de maíz, las fracciones de Zn del suelo y los índices estimadores de la disponibilidad de Zn en el suelo.
- Comparar la aptitud de los indicadores Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-M3, Zn-DTPA y Zn-RIC como estimadores de la disponibilidad de Zn para maíz.

## **2.2. Materiales y métodos**

### **2.2.1. Ensayo en condiciones controladas**

Se tomaron muestras de suelo (0-20 cm) de 10 lotes con prolongada historia de uso agrícola de diferentes zonas geográficas de la región pampeana argentina (Figura 1). Todos los suelos seleccionados para este estudio son no calcáreos, corresponden al

horizonte superficial (A) y pertenecen al orden de los Mollisoles (Tabla 1) (Soil Survey Staff, 2014). Estos tipos de suelos se consideran representativos de los suelos agrícolas de la región pampeana argentina (Panigatti, 2010; Rubio *et al.*, 2019). El muestreo se realizó con pala y el suelo fue colocado en macetas de plástico de 4 litros (25 cm de alto, 16 cm de diámetro), sin moler para conservar su estructura. Una vez puesto el suelo en las macetas, se pre-incubaron durante un mes con un contenido de humedad equivalente a capacidad de campo y a temperatura ambiente, con el fin de re-establecer la actividad biológica basal luego del disturbio de muestreo (Oehl *et al.*, 2001).

**Tabla 1.** Posición geográfica, partido de procedencia y clasificación de los suelos utilizados en el experimento en condiciones controladas.

Sitio	Latitud	Longitud	Partido	Tipo de suelo
1	34° 41' S	60° 58' O	Junín	Hapludol Típico
2	33° 55' S	60° 32' O	Pergamino	Argiudol Típico
3	35° 31' S	62° 58' O	América	Hapludol Éntico
4	33° 23' S	60° 17' O	San Nicolás	Argiudol Vértico
5	33° 39' S	60° 10' O	Arrecifes	Argiudol Vértico
6	34° 24' S	62° 46' O	Villegas	Hapludol Típico
7	35° 05' S	62° 48' O	Villegas	Hapludol Típico
8	35° 31' S	61° 55' O	Pehuajó	Hapludol Tapto Nátrico
9	37° 45' S	58° 17' O	Balcarce	Argiudol Típico
10	32° 43' S	62° 06' O	Marcos Juárez	Argiudol Típico



**Figura 1.** Posiciones georreferenciadas de los 10 sitios de donde se tomaron muestras de suelo para realizar el ensayo en condiciones controladas.

El diseño experimental utilizado fue en bloques completos al azar con tres repeticiones y se evaluaron dos tratamientos (total de 60 macetas): i) testigo sin aplicación de Zn; y ii) Zn-aplicado = 50 mg de Zn por maceta ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) como  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  aplicado en superficie. Esta dosis equivale a aproximadamente  $25 \text{ kg Zn ha}^{-1}$  en los primeros 20 cm de suelo. La dosis fue seleccionada en base a información reportada en trabajos similares (Liang *et al.*, 1991; Srivastava *et al.*, 2000; Do Nascimento *et al.*, 2007; Naik y Das, 2007; Srivastava y Srivastava, 2008) con el fin de provocar cambios cuantificables mediante espectrofotometría de absorción atómica (EAA) en las fracciones de Zn del suelo. Se aseguraron condiciones no limitantes de macronutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio y azufre).

Se sembraron dos semillas de maíz en cada maceta. El híbrido utilizado fue Nidera AX 852 RR MG. Este híbrido fue seleccionado por adaptarse ampliamente a la región pampeana (Bodega *et al.*, 2012; Ventimiglia y Torens Baudrix, 2013). Luego de la emergencia ( $V_E$ ) (Ritchie y Hanway, 1982), se raleó dejando una planta por maceta. Las macetas se mantuvieron dentro de un invernáculo en el que la temperatura varió entre 25 y 32 °C. El contenido de agua en las macetas se mantuvo a capacidad de

campo a lo largo del ensayo mediante riego. En el estadio de 6 hojas ( $V_6$ ), se cosechó la parte aérea de las plantas por corte al ras del suelo. La duración promedio de siembra a  $V_6$  fue de 43 días. El material vegetal se secó a 60 °C, y se pesó para determinar materia seca. Luego, el material vegetal se molió para posteriormente realizar el análisis de Zn en planta entera. Una vez cosechada la parte aérea, el suelo de cada maceta se volcó en una bandeja de plástico, se apartaron las raíces, se homogeneizó el suelo y se realizó un cuarteo para obtener una muestra representativa de suelo por cada maceta. Inmediatamente el suelo fue secado en estufa a 30 °C, molido y tamizado por 0,35 y 2 mm según análisis.

## 2.2.2. Análisis de suelo

2.2.2.1. Caracterización físico-química: A fin de caracterizar los suelos, a partir de las muestras tamizadas por 2 mm, se determinó el contenido de MO por calcinación (Schulte y Hopkins, 1996), la acidez activa (pH, potenciómetro relación 1:2,5 suelo en agua), la CIC por el método de acetato de amonio (Thomas, 1982) y la textura por el método de la pipeta de Robinson (Gee y Bauder, 1986).

2.2.2.2. Concentración de Zn total en suelo: Esta determinación se realizó siguiendo la metodología descrita por Reed y Martens (1996). Se transfirió 1 g del suelo seco finamente molido (0,35 mm) en un tubo de teflón. Se mojó la muestra con unas gotas de agua destilada, se agregaron 3 mL de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) (70%) y se dejó reposar durante una noche. Al día siguiente, se calentó el digesto suavemente hasta que cesó la efervescencia. Se añadieron 2 mL de  $\text{HClO}_4$  (70%), 5 mL de ácido fluorhídrico (HF) (48%) y 1 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) (95%). Se calentó la mezcla ácido-suelo a 80-90 °C hasta que desaparecieron los humos de color marrón oscuro de la reacción del  $\text{HNO}_3$  con la MO. A continuación, se lavaron las partículas de las paredes del tubo con 1 mL de  $\text{HClO}_4$ , y se calentó durante 20 minutos adicionales hasta que desaparecieron los humos blancos de  $\text{HClO}_4$  y aparecieron los humos de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Cuando el residuo se disolvió completamente, se dejó enfriar y se añadieron 5 mL de agua destilada. Luego, se transfirió el contenido a un matraz aforado de 25 mL, se diluyó al volumen con agua destilada y se filtró a través de papel de filtro Whatman N° 42. Finalmente, el contenido de Zn se determinó mediante EAA (Sección 2.2.2.3).

2.2.2.3. Cuantificación de Zn en los extractos: El contenido de Zn en los extractos se determinó por EAA (Model AA-6200, Shimadzu Co., Kyoto, Japan), utilizando la

técnica de adición estándar en todos los métodos. Brevemente el método analítico de EAA consiste en nebulizar la muestra en forma de aerosol dentro de una llama de aire-acetileno. Los átomos de Zn absorben la radiación de una lámpara de cátodo hueco de Zn a 213,9 nm de longitud de onda y se mide la absorbancia. Para la técnica de adición estándar, primero se realizan las lecturas de las soluciones estándar y se obtiene una curva de calibración. Luego, se determina la absorbancia de las soluciones problema, estas se interpolan en la curva de calibración y, de esta manera, se obtiene la concentración de Zn. Las soluciones estándar de Zn se prepararon usando la solución extractora de cada metodología como solvente con el fin de evitar interferencias. Todos los reactivos utilizados fueron de calidad analítica y las soluciones se prepararon con agua desionizada doblemente destilada. Se incluyeron soluciones blanco y muestra patrón en todas las determinaciones.

2.2.2.4. Extracción química secuencial de Zn (fraccionamiento de Zn): Se utilizó la técnica descrita por Álvarez (2007), la cual es una integración de las técnicas descritas por Chao (1972), Shuman (1985) y Mandal *et al.* (1992). En detalle, se colocaron 2,5 g de suelo seco y tamizado por 0,35 mm en tubos de centrifuga de 50 mL de teflón. Luego de cada extracción mediante agitación horizontal de vaivén, se centrifugó a 9000 rpm y se filtró el sobrenadante a través de papel de filtro Whatman N° 42. Se lavó el residuo sólido de cada fracción con 10 mL de agua destilada para remover los restos de sal antes de realizar la extracción de la fracción siguiente. El contenido de Zn de los distintos extractos se determinó mediante EAA (Sección 2.2.2.3.). Se determinaron 4 fracciones de manera secuencial (Figura 2):

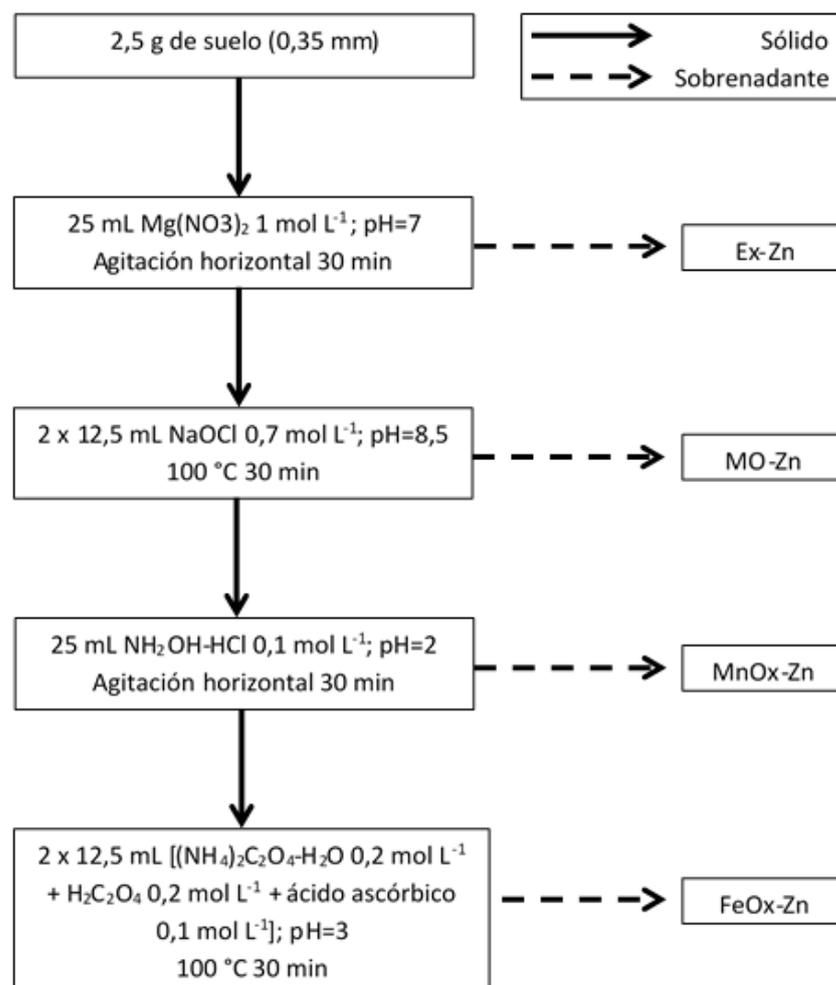
2.2.2.4.1. *Fracción soluble en agua e intercambiable (Ex-Zn):* Se agregaron 25 mL de nitrato de magnesio  $[\text{Mg}(\text{NO}_3)_2]$   $1 \text{ mol L}^{-1}$  regulado a pH 7. Se agitó de manera horizontal durante 30 min.

2.2.2.4.2. *Fracción asociada a la MO (MO-Zn):* Al residuo sólido anterior se le agregó 12,5 mL de hipoclorito de sodio (NaOCl)  $0,7 \text{ mol L}^{-1}$  ajustado a pH 8,5 y se calentó a baño maría (100 °C) durante 30 min, agitando esporádicamente. Este paso se repitió y se mezclaron ambos extractos. Estos extractos provocan la formación de burbujas en el capilar del equipo de EAA por lo que, para analizarlos, se evaporaron los extractos en un baño de vapor y se recogieron en un volumen igual de  $\text{HNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

2.2.2.4.3. *Fracción asociada a los óxidos de Mn (MnOx-Zn)*: Al residuo anterior se le agregó 25 mL de cloruro de hidroxilamonio ( $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ )  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ajustado a pH 2 y se agitó durante 30 min.

2.2.2.4.4. *Fracción asociada a óxidos de Fe (FeOx-Zn)*: Al residuo de la extracción anterior se agregó una solución extractora compuesta por 12,5 mL de diamonio oxalato monohidrato [ $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ ]  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ , ácido oxálico ( $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ )  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  y ácido ascórbico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , regulada a pH 3. Se calentaron los tubos a baño maría ( $100 \text{ }^\circ\text{C}$ ) durante 30 min, agitando esporádicamente. Este paso se repitió y se mezclaron ambos extractos (25 mL).

2.2.2.4.5. *Fracción residual (RES-Zn)*: Se obtuvo por diferencia entre la concentración de Zn total y la suma de las otras 4 fracciones (Srivastava *et al.*, 2000; Álvarez, 2007).



**Figura 2.** Esquema de fraccionamiento o extracción química secuencial de Zn.

#### 2.2.2.5. Metodologías de indicadores de la disponibilidad de Zn en el suelo

2.2.2.5.1. *Ácido dietilentriaminopentaacético (Zn-DTPA)*: Se pesaron 10 g de suelo (tamizado por 2 mm) y se añadieron 20 mL de la solución extractora ajustada a pH 7,3 (DTPA 0,005 mol L<sup>-1</sup>, CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup> y trietanolamina 0,1 mol L<sup>-1</sup>) (Lindsay y Norvell, 1978). Se agitó (120 golpes min<sup>-1</sup>) durante 2 horas y se filtró. El contenido de Zn en el extracto se determinó por EAA (Sección 2.2.2.3.).

2.2.2.5.2. *Mehlich-3 (Zn-M3)*: Solución compuesta por ácido acético (CH<sub>3</sub>COOH) 0,2 mol L<sup>-1</sup>; nitrato de amonio (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) 0,25 mol L<sup>-1</sup>; fluoruro de amonio (NH<sub>4</sub>F) 0,015 mol L<sup>-1</sup>; HNO<sub>3</sub> 0,013 mol L<sup>-1</sup>; y EDTA (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) 0,001 mol L<sup>-1</sup> (Mehlich, 1984). Se ajustó a pH final de 2,5. Se realizó una extracción 1:10 (p/v); se pesaron 2,5 g de suelo (tamizado por 2 mm). Se agregó 25 mL de solución extractora y se agitó durante 5 minutos (200 golpes min<sup>-1</sup>). Se filtró y luego se determinó el contenido de Zn en el extracto mediante EAA (Sección 2.2.2.3.).

2.2.2.5.3. *Cloruro de calcio (Zn-CaCl<sub>2</sub>)*: Se pesaron 10 g de muestra de suelo seca y tamizada por 2 mm y se agregó una solución de CaCl<sub>2</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> en una relación 1:2 (p/v) (Houba *et al.*, 2000). Se agitó mecánicamente durante 2 h (220 golpes/minuto). Luego, se centrifugó, se filtró y se determinó la concentración de Zn mediante EAA (Sección 2.2.2.3.).

2.2.2.5.4. *Resinas de intercambio catiónico (Zn-RIC)*: Se utilizó una adaptación de las técnicas de Hamilton y Westermann (1991) y Agbenin y Welp (2012). Se calibró un método que consiste en adicionar una membrana-resina en una solución suelo/agua. Se utilizó la membrana de intercambio catiónico CMI-7000 (Membranes International Inc), compuesta por un gel de poliestireno reticulado con divinilbenceno que tiene como grupo funcional al ácido sulfónico (quelante de iones metálicos polivalentes). Esta membrana tiene una CIC de 1,6 meq g<sup>-1</sup> o 0,1 meq cm<sup>-2</sup>. Inicialmente, se realizaron ensayos de recuperación con soluciones de concentración conocida de Zn. Luego, se realizaron ensayos para determinar la relación suelo/agua. La relación más adecuada resultó ser 5 g de suelo y 25 mL de agua. Teniendo en cuenta el tamaño de los recipientes de poliestireno (tubos Falcon de 50 mL; 2,7 cm de diámetro por 10 cm de alto), la CIC de los suelos en estudio y la CIC de la membrana, se cortaron tiras de 2,4 cm por 7 cm, de manera que la CIC de la membrana-resina no

sea limitante. Luego, se llevó a cabo un ensayo usando 9 repeticiones de 3 muestras (de baja, media y alta disponibilidad de Zn) para determinar el tiempo de extracción necesario para alcanzar la máxima extracción de Zn por la resina (5 días) (Figura I, Apéndice). La resina húmeda se preparó sumergiéndola en NaCl al 10% durante 24 h para asegurar la regeneración completa a la forma  $\text{Na}^+$ . Luego se enjuagó con agua destilada para remover el exceso de NaCl. Se colocaron las muestras de suelo en tubos Falcon, se agregó agua destilada y la membrana-resina en las proporciones antes indicadas. Se agregó una gota de cloroformo a cada tubo para evitar el crecimiento microbiano. Luego, se colocó en un agitador ( $160 \text{ golpes min}^{-1}$ ) a temperatura ambiente durante 120 h. Posteriormente, la membrana-resina se enjuagó con agua destilada hasta remover todos los residuos de suelo visibles. La membrana-resina luego se colocó en otro recipiente de polietileno con 25 ml de HCl  $1 \text{ mol L}^{-1}$  para extraer Zn de la resina. La resina se agitó en el ácido durante 2 h. Después se determinó la concentración de Zn de la solución mediante EAA (Sección 2.2.2.3.).

### **2.2.3. Análisis de material vegetal**

Para digerir el material vegetal se utilizó la técnica descrita por Shaw (1959). Esta técnica consiste en una digestión húmeda con  $\text{HNO}_3$  70% y  $\text{HClO}_4$  70%. Para tal fin, se pesaron 0,5 g de material vegetal molido y seco en estufa ( $60 \text{ }^\circ\text{C}$ ) y se colocó en un tubo de ensayo de 70 mL. Se agregaron 2 perlas de vidrio y 2,5 mL de  $\text{HNO}_3$ . Se dejó en reposo durante la noche cubriendo la boca de los tubos con pequeños embudos de vidrio. Luego se digirió a  $150 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 1 h. Se dejó enfriar y se agregaron 2,5 mL de  $\text{HClO}_4$  y se digirió a  $205 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 2 h. Finalizada la digestión, se dejó enfriar, se llevó a volumen final de 25 mL con agua destilada y se determinó la concentración de Zn de la solución mediante EAA (Sección 2.2.2.3.).

### **2.2.4. Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó utilizando el software estadístico INFOSTAT (2011). Los cambios en las fracciones de Zn se analizaron mediante ANOVA. Las medias de tratamiento fueron comparadas mediante el test de diferencias mínimas significativas ( $p < 0,05$ ). Los sitios se tomaron como efectos fijos. Para analizar la asociación entre variables se calcularon coeficientes de correlación de Pearson. Para ajustar un modelo entre la biomasa relativa (biomasa testigo / biomasa fertilizado con Zn \* 100) y los indicadores de disponibilidad de Zn en suelo se utilizó la Curva de

Calibración de Arcoseno Logaritmo (ALCC) descrita por Dyson y Conyers (2013), modificada por Correndo *et al.* (2017).

### **2.3. Resultados y discusión**

#### **2.3.1. Caracterización de los suelos en estudio**

El gradiente de clase textural de los suelos fue desde arenoso-franco a franco arcillo-limoso (Tabla 2). El contenido de arcilla ( $9,9 - 28,3 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ) se encuentra dentro del rango de valores informados por Rubio *et al.* (2008). En general, el tamaño de partículas decrece siguiendo el sentido sudoeste-noreste previamente reportado para la región, debido al origen y al movimiento eólico del material parental (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación [SAGyP] - INTA, 1990; Rubio *et al.*, 2019). En cuanto al pH de suelo (Tabla 2), los valores observados ( $5,3 - 7,2$ ) se consideran de fuertemente ácidos a neutros (Soil Quality Institute, 2001). El rango de pH está dentro del informado por Sainz Rozas *et al.* (2019) para suelos agrícolas de la región pampeana y está en línea con el proceso de acidificación que se ha reportado para los suelos de esta región (Sainz Rozas *et al.*, 2019; Álvarez *et al.*, 2020). La MO del suelo ( $8 \text{ a } 46 \text{ g kg}^{-1}$ ) es considerada baja si se tiene en cuenta que el rango notificado para la condición prístina de los suelos de la región es de  $20 \text{ g kg}^{-1}$  a más de  $60 \text{ g kg}^{-1}$  (Sainz Rozas *et al.*, 2019). Respecto a la CIC (Tabla 2), los valores ( $7,5 - 19,2 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ) están dentro del rango previamente reportado por Sainz Rozas *et al.* (2015) para los suelos de la región.

En el tratamiento testigo (sin aplicación de Zn), el contenido de Zn total varió de 47 a  $84 \text{ mg kg}^{-1}$  (Tabla 3). Estos valores se encuentran dentro del rango reportado para suelos agrícolas en la bibliografía internacional ( $10\text{-}160 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Adhikari y Rattan, 2007; Han *et al.*, 2011; Chirwa y Yerokun, 2012; Joshi *et al.*, 2014; Perumal *et al.*, 2019). Para Molisoles de la región pampeana, Lavado *et al.* (1998) y Torri y Lavado (2008) informaron valores similares de Zn total ( $80 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $47\text{-}59 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente). Por otro lado, Lavado y Porcelli (2000), Buffa y Ratto (2009) y Carrizo *et al.* (2013) reportaron valores ligeramente inferiores de Zn pseudo-total (Buenos Aires,  $55 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Córdoba,  $34\text{-}56 \text{ mg kg}^{-1}$  y Santa Fe,  $45\text{-}75 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente). Estas diferencias probablemente se deban, en parte, a que la técnica de Zn pseudo-total empleada por dichos autores utiliza  $\text{HNO}_3$  y  $\text{HClO}_4$  pero no usa HF, lo que no permite la total disolución de los silicatos. Los valores de Zn total observados son similares a la concentración de Zn promedio de la corteza terrestre

(78 mg kg<sup>-1</sup>; Alloway, 2008), similares a la concentración de Zn del material parental (48 a 72 mg Zn kg<sup>-1</sup> Loess; Gallet *et al.*, 1998) y considerablemente menores a los determinados en suelos contaminados del área metropolitana de Buenos Aires (300-3400 mg kg<sup>-1</sup>: Llosa *et al.*, 1990; 120-280 mg kg<sup>-1</sup>: Manassero *et al.*, 2013).

**Tabla 2.** Características edáficas (0-20 cm) [contenido de arcilla, contenido de arena, clase textural, pH, materia orgánica (MO) y capacidad de intercambio catiónico (CIC)] de los suelos utilizados en el experimento en condiciones controladas.

Sitio	Arcilla	Arena	Clase textural	pH	MO	CIC
	-----g 100g <sup>-1</sup> -----				g kg <sup>-1</sup>	cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>
1	12,1	71,0	Franco arenoso	6,1	25	13,5
2	21,4	31,2	Franco	6,2	37	17,0
3	9,9	70,5	Franco arenoso	5,3	21	11,0
4	28,3	17,4	Franco arcillo-limoso	6,0	32	15,6
5	24,9	16,6	Franco limoso	6,2	33	14,9
6	12,4	63,6	Franco arenoso	7,2	28	10,0
7	11,7	71,3	Franco arenoso	5,5	24	9,9
8	7,0	85,4	Arenoso franco	6,7	8	7,5
9	25,1	46,8	Franco	6,0	46	19,1
10	27,3	16,5	Franco arcillo-limoso	5,8	34	19,2

### 2.3.2. Fracciones de Zn en el suelo

Los contenidos de las fracciones de Zn de los suelos estudiados se presentan en la Tabla 3. La distribución promedio de las fracciones de Zn en el tratamiento testigo fue: RES-Zn (74,6%)> FeOx-Zn (20,2%)> MnOX-Zn (3,7%)> MO-Zn (0,62%)> Ex-Zn (0,4%). Estos resultados indican que en los suelos de la región pampeana el Zn está predominantemente asociado a la estructura de los silicatos, es decir en la fracción RES-Zn. Torri y Lavado (2009) reportaron un patrón de distribución similar del Zn [RES-Zn (85%)> Zn-inorgánico (8,8%)> MO-Zn (3,9%)> Ex-Zn (2,3%)] en suelos prístinos de la región pampeana. Obrador *et al.* (2007), Han *et al.* (2011) y Joshi *et al.* (2014) también observaron un gradiente de distribución similar para suelos no calcáreos de España, China e India, respectivamente.

**Tabla 3.** Distribución de zinc (Zn) en distintas fracciones [fracción soluble en agua e intercambiable (Ex-Zn), fracción asociada a la MO (MO-Zn), fracción asociada a los óxidos de Mn (MnOx-Zn), fracción asociada a óxidos de Fe (FeOx-Zn) y fracción residual (RES-Zn) por sitio y tratamiento. P-valor para el ANOVA entre tratamientos testigo y fertilizado con Zn.

Sitio	Tratamiento	Ex-Zn	MO-Zn	MnOx-Zn	FeOx-Zn	RES-Zn	Zn Total
-----mg kg <sup>-1</sup> -----							
1	Testigo	0,18	0,38	1,66	15,84	42,74	60,82
	Zn	0,77	0,41	5,84	15,40	55,75	78,43
	p-valor	<0,01	ns	<0,01	ns	Ns	0,01
2	Testigo	0,19	0,31	7,68	27,40	44,14	83,67
	Zn	0,71	0,49	11,82	36,85	42,25	96,63
	p-valor	<0,01	0,03	<0,01	0,06	Ns	0,05
3	Testigo	0,08	0,41	1,08	11,73	56,81	69,84
	Zn	0,69	0,53	3,91	17,30	64,56	87,92
	p-valor	<0,01	ns	<0,01	<0,01	Ns	0,02
4	Testigo	0,22	0,44	1,66	10,62	60,20	73,75
	Zn	3,16	0,48	7,24	11,48	61,35	83,50
	p-valor	<0,01	ns	<0,01	ns	Ns	0,04
5	Testigo	0,09	0,35	2,23	10,41	60,08	73,72
	Zn	3,10	0,36	8,51	11,75	61,62	86,48
	p-valor	<0,01	ns	<0,01	0,01	Ns	0,03
6	Testigo	0,44	0,82	4,00	10,09	40,08	56,11
	Zn	2,34	0,79	8,47	12,63	34,84	58,90
	p-valor	<0,01	ns	<0,01	ns	Ns	ns
7	Testigo	0,57	0,25	0,85	10,20	46,56	57,23
	Zn	6,07	0,41	4,38	12,86	44,77	68,89
	p-valor	<0,01	<0,01	<0,01	0,02	Ns	<0,01
8	Testigo	0,27	0,10	2,22	7,27	38,79	47,78
	Zn	3,99	0,24	7,48	8,83	45,27	64,41
	p-valor	<0,01	ns	<0,01	0,03	Ns	0,01
9	Testigo	0,14	0,64	1,60	12,60	44,14	59,76
	Zn	3,93	0,65	7,50	16,36	46,74	72,10
	p-valor	<0,01	ns	<0,01	0,01	Ns	0,02
10	Testigo	0,45	0,20	1,41	15,55	43,18	60,82
	Zn	7,75	1,25	10,50	18,81	45,17	81,82
	p-valor	<0,01	0,02	<0,01	0,01	Ns	0,01
Promedio	Testigo	0,31	0,41	2,47	13,03 b	48,00	64,21 b
	Zn	3,15	0,54	7,46	16,08 a	50,46	77,68 a
p-valor							
Tratamiento		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	Ns	<0,0001
Sitio		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Sitio x Tratamiento		<0,0001	<0,0001	<0,0001	ns	Ns	ns

ns = no significativo.

En los suelos estudiados, el Zn asociado a la fracción FeOx-Zn (7,3-27,4 mg kg<sup>-1</sup>) fue mayor que el MnOx-Zn (0,8-7,6 mg kg<sup>-1</sup>) (Tabla 3). Esta distribución se debe a que, a pesar de que la reactividad química de los óxidos de Mn es mayor que la de los óxidos de Fe (Brümmer *et al.*, 1986), la abundancia de óxidos de Fe es mayor que la de óxidos de Mn (Chao y Theobald, 1976). En este sentido, en los suelos de la región pampeana se han determinado mayores contenidos de óxidos de Fe (4,56-5,72%) que de óxidos de Mn (0,09-0,12%) (Relación óxidos de Fe / óxidos de Mn = 50:1; Imbellone y Zárate, 1983; Gallet *et al.*, 1998).

Respecto a las fracciones Ex-Zn y MO-Zn, los valores obtenidos en el tratamiento testigo (0,08-0,57 mg kg<sup>-1</sup> y 0,1-0,82 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente) son menores a los reportados por Lavado y Torri (2009) para la condición prístina de Argiudoles Típicos y Hapludoles Típicos de la región pampeana (Ex-Zn: 1,00-1,61 mg kg<sup>-1</sup> y MO-Zn: 1,97-2,62 mg kg<sup>-1</sup>). Estas diferencias son esperables debido a que las fracciones Ex-Zn y MO-Zn son las fracciones más lábiles, por lo tanto, en suelos bajo uso agrícola serían las primeras fracciones en ser agotadas por la extracción de los cultivos. Sin embargo, al momento de realizar este tipo de comparaciones se debe ser cauteloso porque las metodologías de extracción química secuencial utilizadas son diferentes: Lavado y Torri (2009) utilizaron la técnica propuesta por McGrath y Cegarra (1992) (Ex-Zn: 0,1 mol L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> y MO-Zn: 0,5 mol L<sup>-1</sup> NaOH] la cual puede ser considerada de mayor agresividad por el tiempo de agitación (16 h para cada una de las fracciones).

Dado que el tamaño relativo de las fracciones Ex-Zn y MO-Zn en su conjunto es pequeño (1%), la mayor parte del Zn de los suelos agrícolas de la región pampeana se encuentra asociado a óxidos de Fe y Mn y minerales primarios. De manera análoga, Cavallaro y McBride (1984) concluyeron que el contenido de óxidos del suelo es más significativo que el contenido de MO en la sorción y fijación de Zn. Esta es una gran diferencia de la dinámica del Zn en el suelo comparado a otros nutrientes deficientes para los cultivos en la región pampeana: la fracción orgánica representa aproximadamente 98% del N total, 80% del P total y 90% del S total (Wyngaard, 2015).

En el tratamiento con Zn aplicado, el rango de Zn total fue de 58 a 96 mg kg<sup>-1</sup>, lo que representa un aumento promedio de 17,5% del contenido de Zn respecto al tratamiento testigo. En general, se produjeron cambios significativos ante la aplicación de Zn en todas las fracciones excepto en las fracciones MO-Zn y RES-Zn (Tabla 3). El Zn agregado proveniente de la fertilización (10 mg kg<sup>-1</sup>) se distribuyó en promedio MnOx-Zn (37%)> FeOx-Zn (22%)> Ex-Zn (21,5%)> RES-Zn (18,5%)> MO-Zn (1%).

Liang *et al.* (1991) también reportaron que la mayor parte del Zn aplicado se distribuyó hacia la fracción MnOx-Zn en un set de suelos ácidos a alcalinos. Sin embargo, estos autores atribuyeron ese hecho al esquema de fraccionamiento utilizado: a diferencia de la metodología utilizada en este estudio, Liang *et al.* (1991) primero extrajeron la fracción MnOx-Zn mediante cloruro de hidroxilamonio y después la fracción MO-Zn mediante pirofosfato de potasio. En esta experiencia, el patrón de redistribución se debería a que, ante la aplicación de una dosis alta de Zn ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ), la fracción Ex-Zn se satura rápidamente. En cambio, en la fracción MO-Zn, en algunos sitios el reactivo limitante no sería el Zn sino la MO lábil (Shuman, 1991), por lo que no hay aumentos de esta fracción ante la aplicación de Zn inorgánico. El remanente de Zn aplicado se distribuye entre el resto de las fracciones, siendo la fracción MnOx-Zn la de mayor reactividad química (Brümmer *et al.*, 1986). Se destaca el hecho de que casi el 60% del Zn aplicado se distribuyó en las fracciones Ex-Zn y MnOx-Zn, consideradas fracciones disponible y potencialmente disponible, respectivamente.

### **2.3.3. Relaciones entre fracciones de Zn y propiedades edáficas**

En la Tabla 4 se presentan los coeficientes de correlación entre propiedades edáficas y las fracciones de Zn del tratamiento testigo. La fracción Ex-Zn se asoció positivamente con las fracciones MO-Zn y MnOx-Zn (Tabla 4). Estas dos últimas fracciones (MO-Zn y MnOx-Zn) también se correlacionaron positivamente entre ellas. La fracción MnOx-Zn se correlacionó positivamente con la fracción FeOx-Zn y el Zn total del suelo. Por último, la fracción FeOx-Zn y el Zn total también se correlacionaron positivamente. Estos resultados indican que todas las fracciones se correlacionan con la fracción inmediata en la secuencia de extracción, sugiriendo la existencia de un equilibrio entre ellas. En este sentido, Lindsay (1991) propuso que debido a la absorción de  $\text{Zn}^{+2}$  de la solución del suelo por las raíces de las plantas (o por la remoción del mismo mediante una extracción química), se altera el equilibrio entre las diferentes fracciones de Zn del suelo y, para volver a alcanzar el equilibrio, el Zn asociado a diferentes fracciones sólidas del suelo se libera para reponer el Zn de la solución.

**Tabla 4.** Coeficientes de correlación entre fracciones de zinc (Zn) del suelo [fracción de Zn soluble en agua e intercambiable (Ex-Zn), fracción de Zn asociado a la MO (MO-Zn), fracción de Zn asociada a óxidos de Mn (MnOx-Zn), fracción de Zn asociada a óxidos de Fe (FeOx-Zn), fracción de Zn residual (Res-Zn) y Zn total] y propiedades edáficas [arcilla, arena, pH, materia orgánica (MO) y capacidad de intercambio catiónico (CIC)].

r/p <sup>†</sup>	Ex-Zn	MO-Zn	MnOx-Zn	FeOx-Zn	Res-Zn	Zn Total	Arcilla	pH	MO	CIC
Ex-Zn	1	0,03	0,01	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
MO-Zn	0,50*	1	0,05	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
MnOx-Zn	0,57*	0,44*	1	0,01	ns	<0,01	ns	ns	ns	ns
FeOx-Zn	-0,03	0,16	0,57*	1	ns	<0,01	ns	ns	ns	ns
Res-Zn	-0,08	-0,14	-0,13	-0,17	1	0,01	ns	ns	ns	ns
Zn-Total	0,21	0,18	0,61*	0,65*	0,56*	1	0,05	ns	ns	ns
Arcilla	0,15	0,27	0,22	0,25	0,27	0,42*	1	ns	<0,01	<0,01
pH	-0,08	0,12	0,29	-0,13	-0,51	-0,35	-0,15	1	ns	ns
MO	0,03	0,41	0,23	0,43	0,04	0,36	0,81*	-0,13	1	<0,01
CIC	0,08	0,32	0,23	0,48	0,12	0,44	0,89*	-0,26	0,88*	1

<sup>†</sup> En la parte inferior a la diagonal se muestran los coeficientes de correlación (r), mientras que en la parte superior a la diagonal se presentan los valores de probabilidad (p-valor).

ns = no significativo.

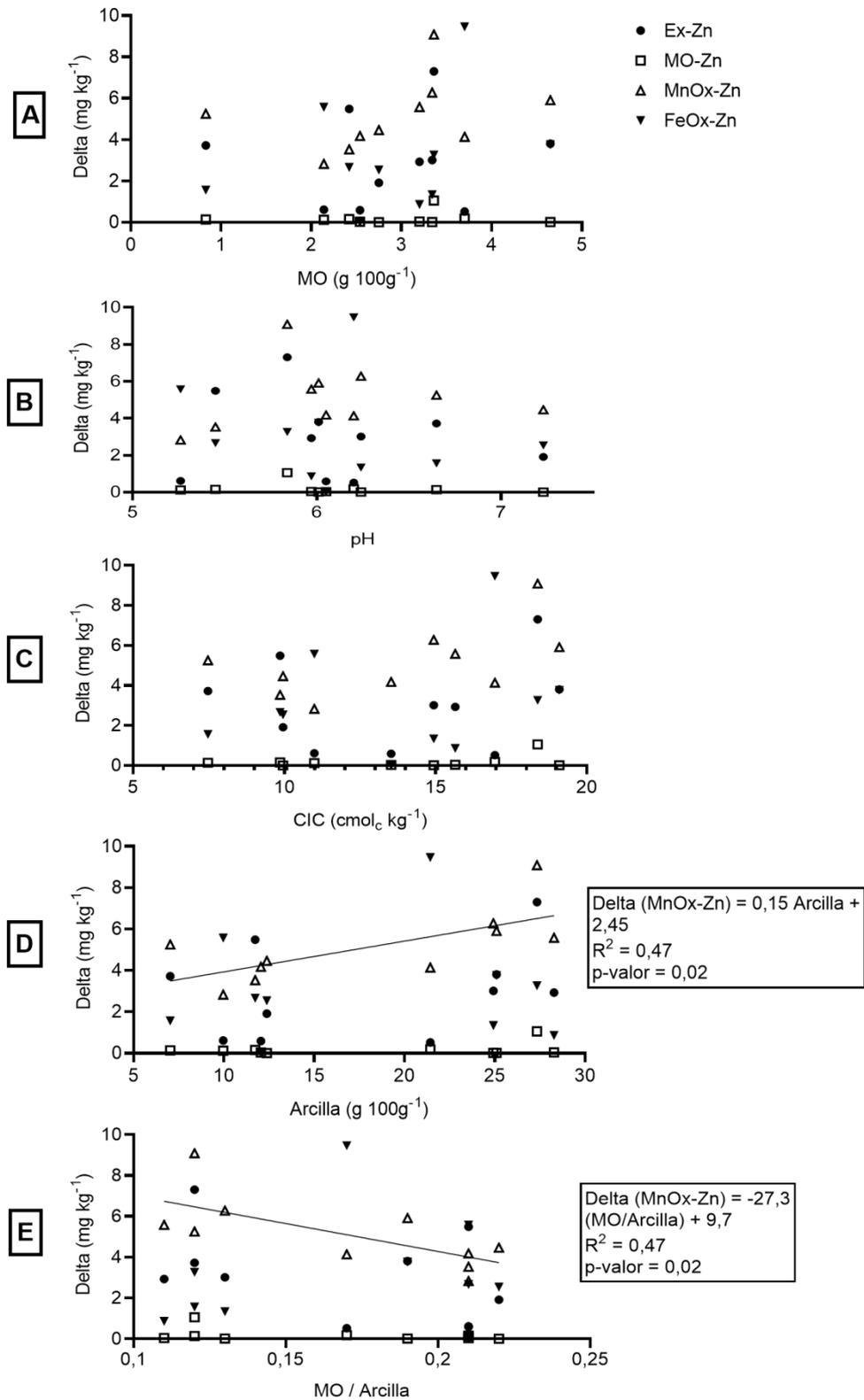
\* = correlación significativa (p<0,05).

En cuanto a las propiedades edáficas, MO, pH y CIC no se correlacionaron con ninguna fracción de Zn del suelo (Tabla 4). Por el contrario, otros autores (Mahmoud soltani *et al.*, 2015; Sarangthem *et al.*, 2019) han reportado correlaciones significativas especialmente entre las fracciones Ex-Zn y/o MO-Zn con pH y/o contenido de MO.

El Zn total se asoció de manera positiva con el contenido de arcilla (Tabla 4). Resultados similares fueron reportados tanto para suelos de la región pampeana (Lavado *et al.*, 1998), como para suelos de Estados Unidos (Ma *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 1997), Europa (Kabata Pendias y Pendias, 1992; Baize, 1997), India (Sharma *et al.*, 2000) y Zambia (Chirwa y Yerokun, 2012). Esto indica que en suelos de textura más finas el Zn total es mayor que en suelos de textura más gruesas. Esto es una consecuencia de concentraciones de Zn más altas en los materiales parentales de las arcillas y también de la mayor capacidad de los suelos arcillosos para adsorber y retener Zn en comparación a suelos de texturas más gruesas (Shuman, 1979; Alloway, 2008).

#### 2.3.4. Redistribución del Zn aplicado entre fracciones de Zn en relación a propiedades edáficas

En cuanto a la distribución del Zn aplicado (delta de concentración = fertilizado con Zn - testigo) en función del pH del suelo (Figura 3A) no se observó ningún patrón definido para el delta de concentración de ninguna de las fracciones estudiadas (Ex-Zn; MO-Zn; MnOx-Zn y FeOx-Zn). Esto puede explicarse en parte por el hecho de que en condiciones de pH de suelo por debajo de 6,5 la actividad del Zn en el suelo se mantiene independiente del pH (Wu y Aasen, 1994), sumado a que en el rango de pH de suelo explorado (5,3-7,2) solo hay dos suelos con pH superior a 6,5. Resultados similares fueron reportados por Joshi *et al.* (2014) quienes atribuyeron la falta de correlación entre pH y la redistribución de Zn a un efecto de enmascaramiento debido a los diferentes contenidos de MO y arcilla y la CIC de los suelos estudiados. El delta de las fracciones de Zn tampoco se asoció con el contenido de MO ni con la CIC del suelo (Figura 3B y Figura 3C). Solo se determinaron relaciones lineales significativas entre el delta de la fracción MnOx-Zn y el contenido de arcilla (Figura 3D;  $R^2=0,47$ ) y entre el delta de la fracción MnOx-Zn y la relación MO/arcilla (Figura 3E;  $R^2=0,47$ ). La similitud de los coeficientes de determinación entre las dos relaciones lineales anteriores indica que la MO no contribuye a explicar el delta de la fracción MnOX. Si bien el tamaño de la fracción MnOx-Zn no se encuentra asociado al contenido de arcilla (Tabla 4), como se mencionó anteriormente, sí se observó relación entre la redistribución del Zn aplicado (delta de concentración) y el contenido de arcilla (Figura 3). Lo primero se explica por el hecho de que el tamaño de la fracción MnOx-Zn puede variar con la historia agrícola del suelo (balance entre la exportación de Zn del suelo por los cultivos y la fertilización con Zn), mientras que el contenido de arcilla es una propiedad intrínseca del suelo, que depende de la mineralogía del material parental y de la edad geológica del suelo (meteorización) pero que prácticamente no varía en tiempos agronómicos. Por otro lado, el hecho de que si existe una relación entre el delta de la fracción MnOx-Zn y el contenido de arcilla se explica por el hecho de que la superficie de las arcillas se encuentra recubierta por óxidos de manganeso (Jenne, 1968; Farrah *et al.*, 1976; Boonfueng *et al.*, 2005), por lo tanto, a mayores contenidos de arcilla existe una mayor redistribución del Zn aplicado hacia la fracción MnOx-Zn.



**Figura 3.** Relación entre la diferencia en concentración de Zn ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) (Delta concentración = fertilizado con Zn – testigo) para cada una de las fracciones de Zn (Ex-Zn; MO-Zn; MnOx-Zn; FeOx-Zn) y propiedades edáficas de los suelos estudiados

(pH, MO, CIC y arcilla). La línea llena del gráfico D indica la relación significativa entre el Delta de la fracción MnOx-Zn y el contenido de arcilla. La línea llena del gráfico E indica la relación significativa entre el Delta de la fracción MnOx-Zn y la relación MO / arcilla.

### 2.3.5. Indicadores de disponibilidad de Zn en el suelo

En la Tabla 5 se presentan los valores promedios por sitio y tratamiento de los indicadores de disponibilidad de Zn. Los valores de Zn-DTPA de los tratamientos testigo (sin aplicación de Zn) variaron entre 0,17 y 3,81 mg kg<sup>-1</sup>. Estos valores se ubican dentro del rango reportado previamente para la región pampeana (0,09-4,79 mg kg<sup>-1</sup>; Sainz Rozas *et al.*, 2019). El rango de valores de Zn-M3 observados en el tratamiento testigo fue de 1,24-7,46 mg kg<sup>-1</sup> y también se encuentran dentro del rango informado previamente para la región de estudio (0,8-14,8 mg kg<sup>-1</sup>; García *et al.*, 1997). En cuanto al Zn-CaCl<sub>2</sub> y Zn-RIC, las concentraciones extraídas en el tratamiento testigo variaron entre 0,01 y 0,32 mg kg<sup>-1</sup>, y entre 0,48 y 1,79 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Contrariamente a Zn-DTPA y Zn-M3, no existen reportes de Zn-CaCl<sub>2</sub> y Zn-RIC para suelos de la región. Sin embargo, tanto las concentraciones de Zn-CaCl<sub>2</sub> como las de Zn-RIC observadas en los tratamientos testigo son similares a los rangos informados por otros autores para otras regiones (Zn-CaCl<sub>2</sub>: 0-1 mg kg<sup>-1</sup>, Davis *et al.*, 1995; Zn-RIC: 0,3-1,1 mg kg<sup>-1</sup>; Hamilton y Westermann, 1991). En general, la aplicación de Zn incrementó significativamente la concentración de este micronutriente para todos los indicadores de disponibilidad de Zn en suelo. En los tratamientos fertilizados, los rangos fueron de 0,29 a 2,09 mg kg<sup>-1</sup> para Zn-CaCl<sub>2</sub>; de 0,86 a 3,73 mg kg<sup>-1</sup> para Zn-RIC; de 5,09 a 11,85 mg kg<sup>-1</sup> para Zn-DTPA y de 6,19 a 15,19 mg kg<sup>-1</sup> para Zn-M3. El orden de la capacidad extractora de las distintas metodologías de extracción fue: Zn-M3 > Zn-DTPA > Zn-RIC > Zn-CaCl<sub>2</sub>.

**Tabla 5.** Concentración de indicadores de disponibilidad de zinc (Zn) en suelo (Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-RIC) y absorción de Zn en planta, promedio por sitio y tratamiento. Letras iguales entre tratamientos dentro de una misma columna indican diferencias no significativas (p-valor<0,05).

Sitio	Tratamiento	-----mg kg <sup>-1</sup> -----				Absorción de Zn µg planta <sup>-1</sup>
		Zn-CaCl <sub>2</sub>	Zn-DTPA	Zn-M3	Zn-RIC	
1	Testigo	0,07 b	0,80 b	1,67 b	1,79 b	21,2 b
	Zn	1,23 a	6,28 a	8,45 a	3,73 a	71,2 a
2	Testigo	0,32 a	3,81 b	7,46 b	1,69 a	98,5 a
	Zn	0,67 a	10,92 a	15,19 a	2,09 a	135,7 a
3	Testigo	0,23 b	0,79 b	1,57 b	1,36 a	47,9 b
	Zn	2,09 a	5,08 a	6,19 a	2,73 a	125,7 a
4	Testigo	0,06 b	0,79 b	1,58 b	0,68 b	65,2 b
	Zn	0,92 a	6,41 a	8,20 a	1,00 a	114,2 a
5	Testigo	0,01 b	1,10 b	3,52 b	0,77 b	69,5 b
	Zn	0,80 a	11,53 a	14,27 a	0,96 a	136,5 a
6	Testigo	0,06 b	2,79 b	5,44 b	0,89 b	153,6 a
	Zn	0,29 a	7,64 a	11,48 a	1,41 a	122,9 a
7	Testigo	0,08 b	0,91 b	1,24 b	0,67 b	12,8 b
	Zn	1,35 a	7,33 a	11,92 a	2,58 a	25,7 a
8	Testigo	0,11 b	0,17 b	2,44 b	0,50 b	42,7 b
	Zn	0,78 a	6,82 a	11,65 a	2,22 a	155,4 a
9	Testigo	0,06 b	1,03 b	2,06 b	0,69 a	64,0 a
	Zn	0,81 a	11,85 a	12,87 a	0,86 a	72,5 a
10	Testigo	0,09 b	1,13 b	1,62 b	0,48 b	52,6 b
	Zn	1,75 a	9,20 a	12,63 a	1,04 a	197,1 a

El propósito de los análisis de suelo no solo es determinar cuándo un nutriente es deficiente, sino que también, si es posible, estimar la cantidad de fertilizante que se necesita aplicar para revertir dicha deficiencia (Lindsay y Cox, 1985). Por lo tanto, los sistemas de recomendación de reconstrucción y mantenimiento, deben ir acompañados de modelos predictivos sobre la cantidad de nutriente que se requiere aplicar para aumentar la concentración disponible del nutriente en el suelo desde un valor inicial a un valor objetivo (Rubio *et al.*, 2008; Ciampitti *et al.*, 2011). El tamaño del conjunto de datos no es suficiente para realizar regresiones consistentes entre la disponibilidad inicial de Zn y el aumento de Zn disponible (datos no mostrados). Sin embargo, dado que esta información es útil y escasa, se presentan estadísticas descriptivas para la tasa de aumento del Zn disponible para las distintas metodologías de extracción (Tabla 6).

**Tabla 6.** Estadística descriptiva de la tasa de aumento de la concentración de zinc (Zn) ante la fertilización con Zn al suelo ( $\text{mg Zn extractable kg}^{-1} / \text{kg Zn aplicado ha}^{-1}$ ) para indicadores de disponibilidad de Zn en suelo (Zn- $\text{CaCl}_2$ , Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-RIC). Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Extractante	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvío estandar	Coefficiente de variación
	----- $\text{mg Zn kg}^{-1} / \text{kg Zn ha}^{-1}$ aplicado-----					%
Zn- $\text{CaCl}_2$	0,04 b	0,03	0,01	0,07	0,02	55,0
Zn-DTPA	0,28 a	0,26	0,17	0,43	0,09	31,8
Zn-M3	0,34 a	0,34	0,18	0,44	0,09	28,0
Zn-RIC	0,04 b	0,02	0,01	0,08	0,03	80,9

El orden de sensibilidad de las metodologías estudiadas frente a la aplicación de Zn al suelo fue: Zn-M3 = Zn-DTPA > Zn- $\text{CaCl}_2$  = Zn-RIC. A partir de los resultados informados por Liu *et al.* (2017) se calculó una tasa de aumento similar ( $0,22 \text{ mg kg}^{-1} / \text{kg Zn aplicado ha}^{-1}$ ) para Zn-DTPA en un suelo calcáreo (4,5%  $\text{CaCO}_3$ ) de China. Los extractantes quelantes (Zn-DTPA y Zn-M3) tuvieron coeficientes de variación menores que Zn-RIC y Zn- $\text{CaCl}_2$ , lo que demuestra que los primeros son mejores indicadores de cambios en la disponibilidad de Zn del suelo ante la fertilización. La metodología Zn-RIC fue la que presentó menor sensibilidad y mayor coeficiente de variación lo que la posiciona como la técnica más falible. Esta información es de gran utilidad práctica y al momento no se conocen reportes de cuanto Zn ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) es necesario aplicar para elevar la concentración de cada metodología estimadora de la disponibilidad de Zn ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en el suelo. En promedio, se necesitarían aplicar 2,94, 3,57, 25 y 25  $\text{kg Zn ha}^{-1}$  para elevar  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  de Zn-M3, Zn-DTPA, Zn- $\text{CaCl}_2$  y Zn-RIC (en los primeros 20 cm de suelo), respectivamente.

### 2.3.6. Relaciones entre indicadores de disponibilidad de Zn en el suelo y fracciones de Zn

En la Tabla 7 se muestran los coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) entre las distintas metodologías de diagnóstico de la disponibilidad de Zn y las fracciones químicas del Zn del suelo. El Zn- $\text{CaCl}_2$  se correlacionó estrechamente con el Ex-Zn ( $r=0,63$ ), débilmente con el MO-Zn ( $r=0,37$ ) y moderadamente con el MnOx-Zn ( $r=0,50$ ). Tanto Zn-DTPA como Zn-M3, es decir los dos extractantes que utilizan agentes quelantes, se correlacionaron muy estrechamente con MnOx-Zn ( $r=0,89$  y  $r=0,92$ , respectivamente), estrechamente con el Ex-Zn ( $r=0,67$  y  $r=0,69$ , respectivamente) y débilmente con MO-Zn ( $r=0,39$  y  $r=0,36$ , respectivamente). Por

último, Zn-RIC no correlacionó significativamente con ninguna de las fracciones químicas de Zn determinadas (Tabla 7).

**Tabla 7.** Coeficientes de correlación entre indicadores de zinc (Zn) disponible (Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-RIC), fracciones de Zn del suelo [fracción de Zn soluble en agua e intercambiable (Ex-Zn), fracción de Zn asociado a la MO (MO-Zn), fracción de Zn asociada a óxidos de Mn (MnOx-Zn) y fracción de Zn asociada a óxidos de Fe (FeOx-Zn)] y absorción de Zn en planta (Abs-Zn)

c/p <sup>†</sup>	Zn-CaCl <sub>2</sub>	Zn-DTPA	Zn-M3	Zn-RIC	Ex-Zn	MO-Zn	MnOx-Zn	FeOx-Zn	Abs-Zn
Zn-CaCl <sub>2</sub>	1	<0,01	0,01	0,01	<0,0	<0,01	0,03	ns	0,05
Zn-DTPA	0,61*	1	<0,01	<0,01	<0,0	<0,01	<0,01	ns	0,01
Zn-M3	0,58*	0,97*	1	ns	<0,0	<0,01	<0,01	ns	<0,01
Zn-RIC	0,60*	0,32*	0,37	1	ns	ns	ns	ns	ns
Ex-Zn	0,63*	0,67*	0,69*	0,12	1	0,03	0,01	ns	0,06
MO-Zn	0,37*	0,39*	0,36*	-0,05	0,50*	1	0,05	ns	<0,01
MnOx-Zn	0,50*	0,89*	0,92*	0,28	0,57*	0,44*	1	0,01	<0,01
FeOx-Zn	0,23	0,41	0,42	0,32	-0,03	0,16	0,57*	1	ns
Abs-Zn	0,45*	0,58*	0,63*	0,10	0,43	0,60*	0,75*	0,26	1

<sup>†</sup> En la parte inferior izquierda se muestran los coeficientes de correlación (r), mientras que en la parte superior derecha se presentan los valores de probabilidad (p-valor).

ns = no significativo.

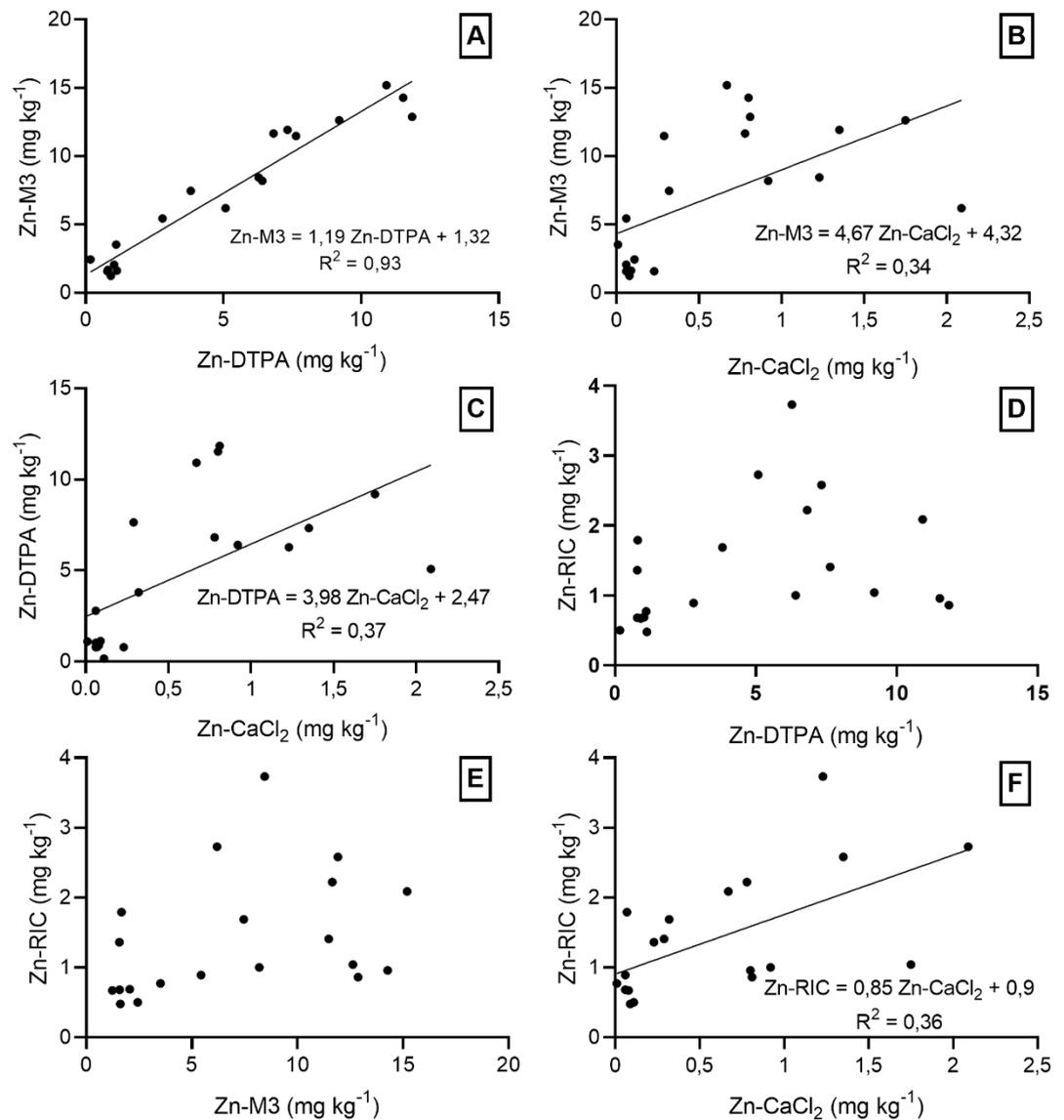
\* = correlación significativa (p<0,05).

Al comparar las metodologías de extracción entre sí (Figura 4), se observaron pendientes significativas entre Zn-M3 y Zn-DTPA (Figura 4A; R<sup>2</sup> = 0,93), Zn-M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub> (Figura 4B; R<sup>2</sup> = 0,34), Zn-DTPA y Zn-CaCl<sub>2</sub> (Figura 4C; R<sup>2</sup> = 0,37) y Zn-RIC y Zn-CaCl<sub>2</sub> (Figura 4F; R<sup>2</sup> = 0,36). Los extractantes quelantes Zn-M3 y Zn-DTPA tienen un principio de extracción similar: reducen la actividad de iones metálicos libres en solución a través de la formación de complejos solubles metal-quelato, provocando, a su vez, la disolución de metales desde las fracciones sólidas (Sims y Johnson, 1991). La cantidad extraída por estos extractantes refleja tanto el factor intensidad (concentración inicial en la solución del suelo) como el factor capacidad (capacidad de la fracción sólida del suelo de re-abastecer nutrientes a la solución del mismo) (Viets y Lindsay, 1973). El EDTA contenido en extractante M3 y el DTPA tienen eficiencias de quelación de Zn similares (Haq y Miller, 1972; Norvell, 1991), pero Mehlich (1984) descartó el uso de DTPA para desarrollar su multi-extractante debido a que este agente quelante precipita complejos de fosfo-molibdato impidiendo la determinación colorimétrica de P (Murphy y Riley, 1962). Estas similitudes entre Zn-DTPA y Zn-M3

(principio de extracción análogo y agentes quelantes de similar eficiencia de quelación), explican que ambas metodologías correlacionen con las mismas fracciones químicas de Zn del suelo: MnOx-Zn ( $r=0,89$  y  $r=0,92$ , respectivamente) y Ex-Zn ( $r=0,67$  y  $r=0,69$ , respectivamente) (Tabla 7). Sin embargo, el extractante M3 es más agresivo que DTPA debido a que con un menor tiempo de agitación (5 min vs 2 h) y una mayor acidez de la solución extractora ( $\text{pH}_{\text{M3}}=2,5$  vs  $\text{pH}_{\text{DTPA}}=7,3$ ) extrae mayores concentraciones de Zn (Tabla 5). Esto también se evidencia en la pendiente mayor a uno en la relación Zn-M3 y Zn-DTPA (Figura 4A). A su vez, la mayor agresividad del extractante M3 y su corto tiempo de agitación (5 min) hace que la extracción (agitación, centrifugado y filtración) sea un paso crítico, donde errores y demoras del operario pueden generar mayores fuentes de error.

El extractante Zn-CaCl<sub>2</sub> es un extractante del tipo sal neutra. La metodología Zn-CaCl<sub>2</sub> a veces es utilizada como indicadora de Ex-Zn (McGrath y Cegarra, 1992; Lavado y Torri, 2009) y, de hecho, en esta tesis fue con la fracción que presentó mayor correlación ( $r=0,63$ ) (Tabla 7). Por lo tanto, a diferencia de los extractantes quelantes, Zn-CaCl<sub>2</sub> extrae poco de otras fracciones de Zn que contribuyen al factor capacidad. El tiempo de extracción de la metodología Zn-CaCl<sub>2</sub> es el mismo que en la metodología de Zn-DTPA (2 h). Además, ambas metodologías contienen CaCl<sub>2</sub> en su composición, por lo que Zn-CaCl<sub>2</sub> podría ser considerado como una extracción parcial de Zn-DTPA. Esto explica su menor capacidad de extracción de Zn del suelo (Tabla 5) y el coeficiente de determinación observado entre Zn-DTPA y Zn-CaCl<sub>2</sub> (Figura 4C).

La metodología Zn-RIC mostró una capacidad de extracción intermedia (Tabla 5). Esta metodología no correlacionó con ninguna fracción química de Zn del suelo (Tabla 7). Zn-RIC solo se asoció a Zn-CaCl<sub>2</sub> (Figura 4F), pero al observar la distribución de puntos se aprecia una gran dispersión de los mismos. Al tratarse de un polímero orgánico sólido con carga electrostática negativa que es neutralizada por iones de carga opuesta (Skogley y Dobermann, 1996), la resina compite con la CIC del suelo hasta llegar a una situación de equilibrio. Probablemente, el hecho de que el Zn es un micronutriente que ocupa una parte muy pequeña de la saturación de la CIC del suelo (Junus y Cox, 1987) hace que otros nutrientes (Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>; Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>; entre otros), que también compiten por los sitios de sorción de la resina, dificulten la extracción de Zn. Además, comparada con las otras técnicas, el tiempo de extracción (5 días) para lograr concentraciones estables y cuantificables mediante EAA hace que la metodología sea difícilmente adaptable a los procedimientos de rutina de los laboratorios de diagnóstico de fertilidad de suelos.



**Figura 4.** Relaciones entre los indicadores de zinc (Zn) disponible en el suelo (Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-RIC).

### 2.3.7. Relaciones entre absorción de Zn en planta y Zn en el suelo

Igual que lo determinado para los indicadores de disponibilidad de Zn en suelo, la aplicación de este micronutriente incrementó significativamente la absorción de Zn en planta (Tabla 5). Las plantas del tratamiento testigo absorbieron entre 12,8 y 153,6  $\mu\text{g Zn planta}^{-1}$ , mientras que en el tratamiento de Zn aplicado absorbieron entre 25,7 y 197  $\mu\text{g Zn planta}^{-1}$ . Rangos de absorción de Zn en planta similares fueron informados por otros autores (8-136  $\mu\text{g Zn planta}^{-1}$ : Khoshgoftarmansh *et al.*, 2012; 3,5-433  $\mu\text{g Zn planta}^{-1}$ : Joshi *et al.*, 2014).

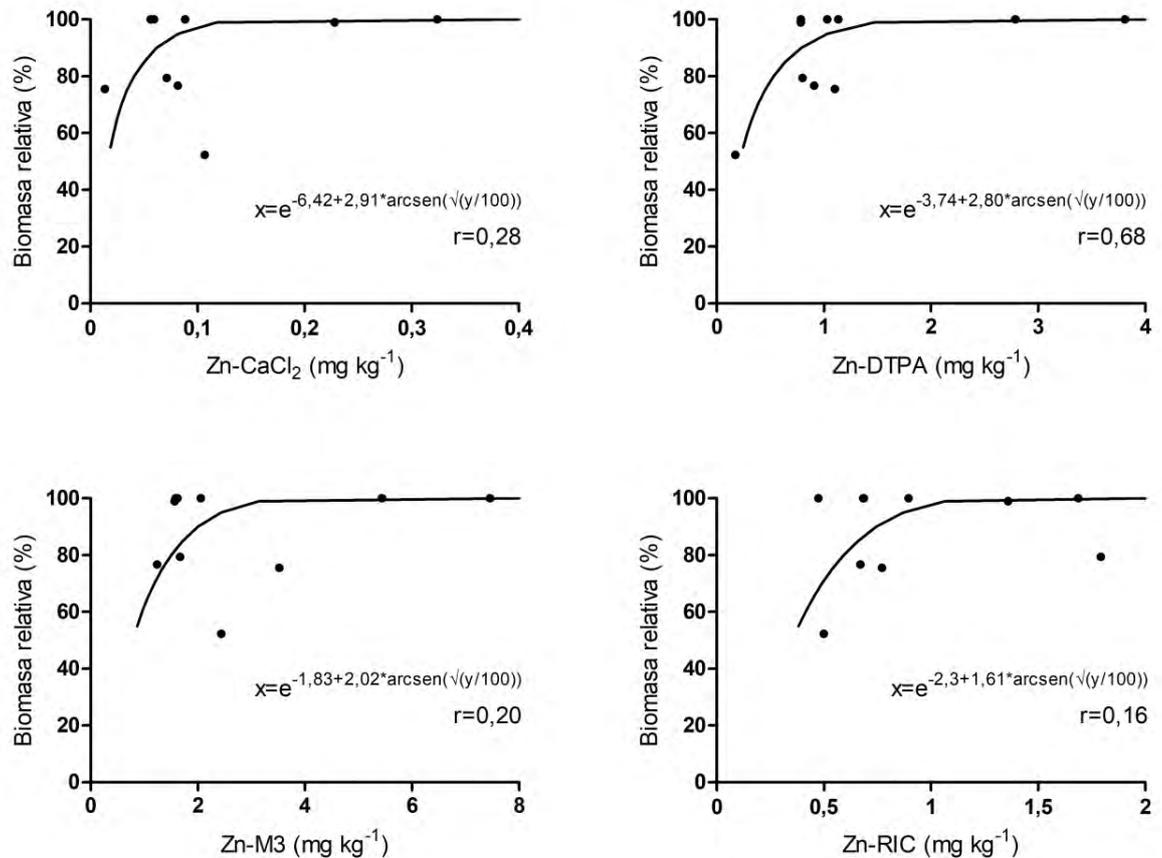
La influencia de las diferentes fracciones de Zn en la absorción de Zn por la planta de maíz también se examinó mediante análisis de correlación (Tabla 7). Todas las fracciones se asociaron a la absorción de Zn, excepto la fracción FeOx-Zn. Esto se debe a la alta estabilidad del Zn asociado a los óxidos de Fe, en este sentido, Ma y Lindsay (1990) y Catlett *et al.* (2002) propusieron que la franklinita ( $ZnFe_2O_4$ ) sería el último mineral que controla la solubilidad del Zn en el suelo. Los resultados muestran que las fracciones que más influyen en la absorción de Zn del maíz son MnOx-Zn ( $r=0,75$ ), MO-Zn ( $r=0,60$ ) y Ex-Zn ( $r=0,43$ ).

Para cuantificar la capacidad de predicción de la disponibilidad de Zn de las distintas metodologías de extracción se realizó un análisis de correlación entre la concentración de Zn determinada por las distintas metodologías y absorción de Zn de las plantas de maíz (Tabla 7). Los extractantes quelantes Zn-DTPA y Zn-M3 fueron los que mostraron coeficientes de correlación más altos ( $r=0,58$  y  $r=0,63$ ; respectivamente), seguidos por Zn- $CaCl_2$  ( $r=0,45$ ), mientras que Zn-RIC no mostró correlación significativa (Tabla 7). El hecho de que Zn-DTPA y Zn-M3 tengan coeficientes de correlación con absorción de Zn similares entre sí (Tabla 7) se explica por su funcionamiento análogo y porque extraen las mismas fracciones químicas de Zn del suelo (Tabla 7). Los extractantes quelantes, por su modo de acción, son capaces de cuantificar no solo la fracción Ex-Zn, considerada de mayor disponibilidad para los cultivos, pero de tamaño relativamente pequeño respecto a las otras fracciones, sino que también cuantifican la fracción MnOx-Zn que es la fracción que más influye en la absorción de Zn (Tabla 7).

### **2.3.8. Aptitud de los indicadores de disponibilidad de Zn en el suelo como metodologías de diagnóstico de Zn en maíz**

El desarrollo de un método de diagnóstico requiere de correlación, calibración e interpretación (Dahnke y Olson, 1990). La razón de ser del primer paso, la correlación, es seleccionar aquellas metodologías que por su desempeño y practicidad muestren una mayor aptitud para diagnosticar la disponibilidad del nutriente (Sims y Johnson, 1991). Para evaluar si los cambios de biomasa siguen alguna función en relación a cambios de Zn en el suelo entre los tratamientos, se analizaron las relaciones entre biomasa relativa (testigo/fertilizado) y disponibilidad de Zn en suelo relativa (testigo/fertilizado). No se encontraron relaciones significativas para ninguna metodología de extracción (datos no mostrados). Esto probablemente se deba a que la demanda de Zn de la planta a V6 (momento en que se realizó la determinación) es

baja y, por lo tanto, valores bajos de disponibilidad de Zn en el suelo aún no se traducen en una condición limitante para el crecimiento de la misma. Con el propósito de obtener una aproximación de la capacidad de predecir la respuesta del cultivo al agregado del nutriente se ajustaron modelos ALCC entre la biomasa relativa (%) y la concentración de Zn extractable en el tratamiento testigo para cada metodología (Figura 5). El orden de las metodologías indicadoras de Zn disponible según la magnitud del coeficiente de correlación fue: Zn-DTPA > Zn-CaCl<sub>2</sub> > Zn-M3 > Zn-RIC. Sin embargo, cabe mencionar que los resultados de macetas, donde se evalúa la acumulación de biomasa aérea en V<sub>6</sub>, muy probablemente no sean extrapolables a las condiciones de campo donde el volumen de suelo explorado por el cultivo es mayor, el periodo de absorción de Zn es mayor y se evalúa el rendimiento de grano (Corey, 1987). Por lo tanto, los pasos de calibración e interpretación de análisis de suelo deben determinarse mediante experimentos de campo para identificar con precisión las zonas de no-respuesta, transición y respuesta (Viets y Lindsay, 1973; Havlin y Soltanpour, 1981).

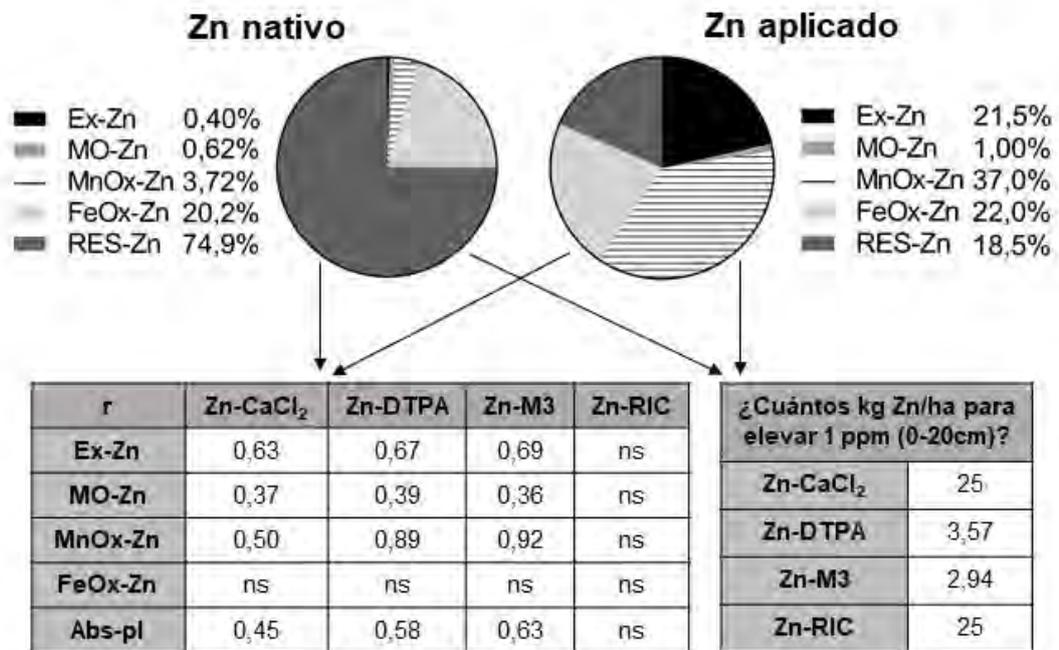


**Figura 5.** Relación entre biomasa aérea relativa (%) en el estadio V<sub>6</sub> [tratamiento testigo/tratamiento fertilizado con zinc (Zn)] y los indicadores de disponibilidad de Zn en el suelo (tratamiento testigo).

### 2.3.9. Síntesis de resultados

En síntesis (Figura 6), los resultados observados en este capítulo indican que el contenido de Zn total nativo varió de 47 a 84 mg kg<sup>-1</sup> y la distribución promedio de las fracciones de Zn nativo fue: RES-Zn (74,6%)> FeOx-Zn (20,2%)> MnOx-Zn (3,7%)> MO-Zn (0,62%)> Ex-Zn (0,4%). En cuanto a las propiedades edáficas, MO, pH y CIC no se correlacionaron con ninguna fracción de Zn del suelo, mientras que el contenido de arcilla se asoció de manera positiva con el Zn total. El Zn agregado proveniente de la fertilización (10 mg kg<sup>-1</sup>) se distribuyó en promedio MnOx-Zn (37%)> FeOx-Zn (22%)> Ex-Zn (21,5%)> RES-Zn (18,5%)> MO-Zn (1%). A mayores contenidos de arcilla en el suelo se observó una mayor redistribución del Zn aplicado hacia la fracción MnOx-Zn. En cuanto a las metodologías de extracción simple, el orden de la capacidad extractora fue: Zn-M3 > Zn-DTPA > Zn-RIC > Zn-CaCl<sub>2</sub>; y el orden de sensibilidad frente a la aplicación de Zn al suelo fue: Zn-M3 = Zn-DTPA > Zn-CaCl<sub>2</sub> = Zn-RIC (Figura 6). Tanto Zn-DTPA como Zn-M3 (los extractantes quelantes), se

correlacionaron muy estrechamente con MnOx-Zn, estrechamente con el Ex-Zn y débilmente con MO-Zn. El Zn-CaCl<sub>2</sub> se correlacionó estrechamente con el Ex-Zn, moderadamente con el MnOx-Zn y débilmente con el MO-Zn. Por último, Zn-RIC no correlacionó significativamente con ninguna de las fracciones de Zn. Los resultados muestran que las fracciones que más influyen en la absorción de Zn del maíz son MnOx-Zn, MO-Zn y Ex-Zn (Figura 6). Los extractantes quelantes Zn-DTPA y Zn-M3 fueron los que mostraron mayor correlación con la absorción de Zn del maíz, seguidos por Zn-CaCl<sub>2</sub>, mientras que Zn-RIC no mostró correlación significativa.



**Figura 6.** Esquema de síntesis del Capítulo I. r = coeficiente de correlación; ns= no significativo.

#### 2.4. Conclusión

Se reunieron evidencias para rechazar la Hipótesis I, dado que el Zn-CaCl<sub>2</sub> correlacionó mayormente con la fracción Ex-Zn y MO-Zn, Zn-DTPA y Zn-M3 correlacionaron con las fracciones Ex-Zn, MO-Zn y MnOx-Zn, mientras que Zn-RIC no correlacionó con ninguna de las fracciones estudiadas.

Por otra parte, las evidencias recopiladas permiten rechazar la Hipótesis II, que planteaba que Zn-DTPA y Zn-RIC tienen mayor correlación con el Zn absorbido por las

plantas de maíz que el Zn-M3 y el Zn-CaCl<sub>2</sub>. Los resultados señalan que el orden de correlación con la absorción de Zn fue: Zn-DTPA ~ Zn-M3 > Zn-CaCl<sub>2</sub> > Zn-RIC.

Se recopilaron evidencias suficientes para no rechazar la hipótesis III que postulaba que el Zn nativo de suelos de prolongado uso agrícola se encuentra mayormente asociado a la fracción RES-Zn.

Se reunieron evidencias suficientes para no rechazar la hipótesis IV que planteaba que el Zn agregado al suelo se distribuye entre las fracciones de Zn de manera diferencial según alguna de las siguientes propiedades edáficas: pH, MO, CIC y/o arcilla. Concretamente los resultados muestran que el Zn agregado se distribuye mayormente a la fracción MnOx-Zn a medida que aumenta el contenido de arcilla.

### 3. CAPÍTULO II: EVALUACIÓN DE INDICADORES DE DISPONIBILIDAD DE ZINC A PARTIR DE ANÁLISIS DE SUELO

#### 3.1. Introducción

La deficiencia de Zn es el déficit nutricional por micronutriente más frecuente en los cultivos y afecta a más de 160 millones de hectáreas cultivables en todo el mundo (Alloway, 2009). Dentro de las especies afectadas por dicha deficiencia, el maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos más susceptibles (Brown *et al.*, 1993). Argentina es el tercer exportador y el cuarto productor mundial de maíz (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2020), siendo este cultivo de gran relevancia para los sistemas productivos argentinos. Se estima que la brecha de rendimiento promedio nacional, es decir, la diferencia entre el rendimiento potencial en seco y el rendimiento real, es de 41% para maíz (Aramburu Merlos *et al.*, 2015). Si bien existen numerosos factores responsables de esta brecha productiva, la inadecuada nutrición del cultivo es uno de los más relevantes. Para el caso de deficiencias de Zn, estas se pueden remediar mediante la aplicación de fertilizantes de Zn (Montalvo *et al.*, 2016). Sin embargo, para manejar racionalmente la fertilización con Zn, es necesario desarrollar métodos de diagnóstico de la disponibilidad de Zn en suelo que sean adecuados, es decir, que eviten sobre- y sub-aplicaciones de Zn, reduciendo pérdidas económicas y evitando impactos ambientales negativos (Clay *et al.*, 2016).

Para desarrollar un método de análisis de suelo satisfactorio se requiere de al menos tres pasos: correlación, calibración e interpretación (Dahnke y Olson, 1990). A su vez, el primer paso, la correlación, se divide en dos etapas. La etapa preliminar de la correlación consiste en realizar ensayos en condiciones controladas para pre-seleccionar aquellas metodologías de mayor aptitud para determinar la disponibilidad de un elemento en el suelo (Capítulo I). A partir de los resultados del Capítulo I se observó que el desempeño de las metodologías indicadoras de Zn disponible Zn-DTPA (Lindsay y Norvell, 1978), Zn-M3 (Mehlich, 1984) y Zn-CaCl<sub>2</sub> (Novozamsky *et al.*, 1993) fue promisorio, justificando su correlación a campo. Por el contrario, la metodología Zn-RIC no mostró un mejor desempeño que las otras metodologías y, a su vez, demora una semana, lo que la hace poco práctica como análisis de rutina en laboratorios de suelo. Por lo tanto, no justifica su correlación a campo.

La correlación a campo, es el proceso que consiste en determinar de manera empírica la relación entre un análisis de suelo y la respuesta de rendimiento en grano

del cultivo (Dahnke y Olson, 1990; Jordan-Meille *et al.*, 2012). Este paso es de suma importancia, debido a que sin información sobre la respuesta de rendimiento en grano a la fertilización en función del análisis de suelo, la determinación de un análisis de suelo por sí sola tiene un significado muy limitado (Evans, 1987). A pesar de su importancia y utilidad práctica, los trabajos de investigación de correlación a campo no abundan debido a su alto costo y falta de financiamiento (Beegle, 2005; Barbagelata, 2006). Por otro lado, debido al complejo equilibrio dinámico entre las distintas formas de Zn del suelo, no se conoce un método de análisis efectivo para todos los tipos de suelos (Martens y Lindsay, 1990). En este sentido, la metodología de Zn extractable más adecuada es aquella que explique de mejor manera el rendimiento en grano en función de la disponibilidad del nutriente en el suelo. Al momento no se conocen estudios que realicen comparaciones de metodologías indicadoras de Zn disponible para maíz en condiciones de campo.

Para la región pampeana, Barbieri *et al.* (2017) ajustaron la metodología de Zn-DTPA para el diagnóstico de Zn en maíz. No obstante, recientemente ha aumentado la adopción de la metodología de extracción M3 en los laboratorios de análisis de suelo (Barbagelata y Mallarino, 2013). Esto se debe a que esta metodología permite extraer simultáneamente macronutrientes (P, K, Ca y Mg) y micronutrientes (Mn, Fe, Cu y Zn). A pesar de la creciente adopción del extractante M3, Melgar *et al.* (2001) y Ruffo *et al.* (2016) no lograron determinar a campo umbrales de Zn-M3 para maíz. Tampoco se conocen umbrales de Zn-CaCl<sub>2</sub> ni su desempeño para diagnosticar la disponibilidad de Zn en maíz. Por lo tanto, es necesario comparar la capacidad predictiva de la respuesta a Zn de estas metodologías indicadoras de Zn disponible (Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub>).

Por otro lado, existen estudios que sugieren que se puede mejorar la capacidad predictiva de los análisis de micronutrientes en el suelo mediante el empleo de regresiones múltiples que incluyan, además de indicadores de disponibilidad de Zn, ciertas propiedades edáficas que afectan la disponibilidad de micronutrientes (Sims y Johnson, 1991). Junus y Cox (1987) y Sobral *et al.* (2013) informaron que la correlación entre el Zn acumulado en plantas de soja y maíz y el Zn-M3 aumentó cuando el pH fue incluido como variable predictiva. La contribución del pH al modelo se basa en el efecto de esta variable sobre la reposición de Zn a la solución del suelo a partir de fases sólidas (Gupta *et al.*, 2016) y también en la capacidad del M3 para extraer fracciones químicas de Zn que no están disponibles para las plantas en suelos alcalinos (Srivastava y Srivastava, 2008). Barbieri *et al.* (2017) reportaron que el Zn-

DTPA permitió un diagnóstico adecuado de la disponibilidad de Zn para el cultivo de maíz, pero la inclusión del pH en el modelo no mejoró el ajuste. Sin embargo, no se ha probado si la inclusión del pH a un modelo de Zn-M3 o Zn-CaCl<sub>2</sub> mejora su capacidad predictiva de la respuesta a Zn en condiciones de campo. Otras propiedades del suelo que pueden afectar la disponibilidad de Zn son el contenido de MO (Catlett *et al.*, 2002), el contenido de arcillas (Singh y Takar, 1981) y la CIC (Junus y Cox, 1987). No obstante, aún no se ha determinado si alguna de estas determinaciones mejora la capacidad de predecir la respuesta a Zn de los indicadores de Zn disponible, en condiciones de campo.

Encontrar una metodología que permita predecir adecuadamente la probabilidad de respuesta a Zn en un amplio rango de condiciones edafo-climáticas representaría un avance metodológico significativo. En Argentina, el uso de fertilizantes de Zn es bajo y es probable que la deficiencia de Zn aumente en los próximos años, provocando que la aplicación de dicho nutriente sea una práctica cada vez más frecuente. Esta tecnología de insumo puede contribuir a la disminución de brechas entre los rendimientos reales y potenciales. Además, la eliminación de un factor limitante como es la deficiencia de Zn, no solo resulta en un aumento del rendimiento, sino que mejora la eficiencia de uso de otros recursos del ambiente (por ej. agua y radiación incidente) como también mejora la eficiencia de uso de otros nutrientes. En la medida en que las brechas se cierran, aumentar los rendimientos a través del uso de insumos se torna cada vez más costoso, ineficiente y contaminante. A su vez, las reservas de fertilizantes de Zn en el mundo se tornan cada vez más escasas (Sutton *et al.*, 2013). Entonces, la tecnología a implementar para aumentar los rendimientos debe apuntar también a reducir la contaminación y a incrementar la eficiencia de uso de insumos y recursos, aplicándolos solo cuando el cultivo lo requiera. Para esto es necesario recurrir a tecnologías intensivas en procesos y conocimientos (Andrade, 2016). De aquí surge la importancia de calibrar y evaluar métodos de diagnóstico de la disponibilidad de Zn para maíz en condiciones de campo.

### **3.1.1. Hipótesis**

I. Las metodologías indicadoras de la disponibilidad de Zn en suelo mediante extractantes quelantes (Zn-DTPA y Zn-M3) presentan una mayor capacidad de predecir la respuesta a Zn en rendimiento en grano de maíz que metodologías basadas en sales neutras (Zn-CaCl<sub>2</sub>).

II. La asociación entre Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-M3 o Zn-DTPA con la respuesta en rendimiento en grano del maíz a la aplicación de Zn mejora si se incluye una o más de las siguientes variables al modelo: MO, arcilla, pH y/o CIC.

### 3.1.2. Objetivos específicos

- Determinar la respuesta en rendimiento de maíz a la aplicación de Zn y relacionar la misma con la medición de Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-DTPA y Zn-M3 en suelo, para zonas de condiciones edafo-climáticas contrastantes de Argentina.
- Determinar si la inclusión del pH, MO, arcilla o CIC a los modelos de Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-DTPA o Zn-M3 mejora su capacidad predictiva.

## 3.2. Materiales y métodos

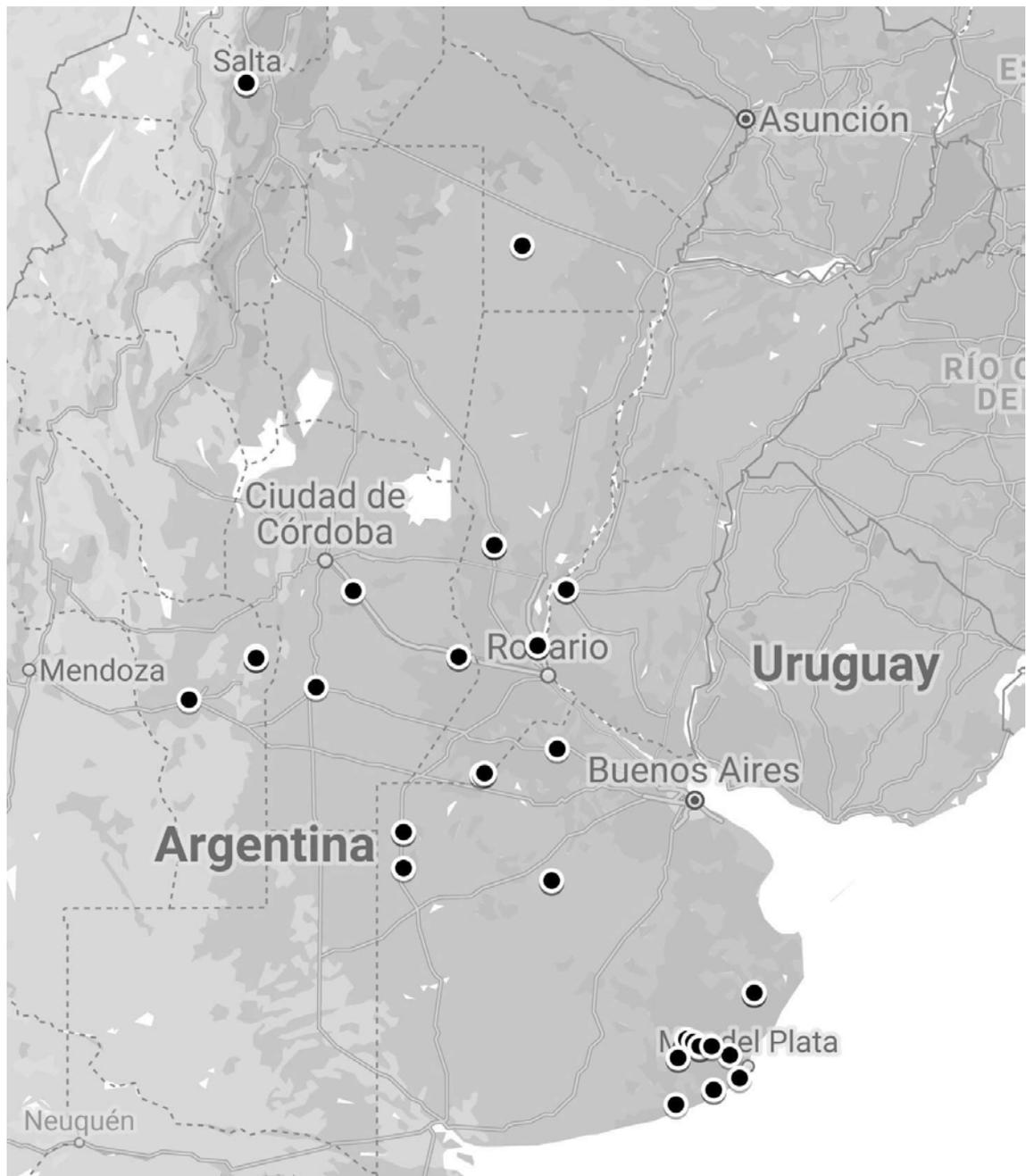
### 3.2.1. Diseño experimental

Se realizaron 45 ensayos de campo para evaluar la respuesta del maíz a la fertilización con Zn durante 2013 (12 sitios), 2014 (2 sitios), 2015 (3 sitios), 2016 (11 sitios), 2017 (11 sitios) y 2018 (6 sitios), cubriendo una extensa área de suelos de aptitud agrícola de Argentina (Figura 7). El conjunto de datos incluye 11 tipos de suelo (Argiudol Ácuico, Argiudol Petrocálcico, Argiudol Típico, Hapludol Éntico, Hapludol taptó Árgico, Hapludol Típico, Haplustol Éntico, Haplustol Óxico, Haplustol Típico, Ustochrepts Típico y Ustochrepts Údico; Tabla I, Apéndice) y es representativo de las zonas donde se cultiva maíz, lo que permite realizar una correlación y calibración de campo robusta (Dahnke y Olson, 1990). En todos los ensayos, el maíz se cultivó en sistema de labranza cero (siembra directa) y en secano. La densidad de siembra, el espaciamiento entre hileras y la fecha de siembra fueron seleccionadas para maximizar el rendimiento del maíz y variaron entre los ensayos (Tabla I, Apéndice).

Al momento de la siembra, todas las parcelas se fertilizaron con nitrógeno (N), fósforo (P) y azufre (S), como urea (46-0-0), superfosfato triple (0-46-0) y yeso (CaSO<sub>4</sub>), respectivamente. Las dosis de fertilización (70-200 kg N ha<sup>-1</sup>, 20-30 kg P ha<sup>-1</sup>, 10-20 kg S ha<sup>-1</sup>) se establecieron en base a análisis de suelo y modelos calibrados localmente (Carciochi *et al.*, 2016; Orcellet *et al.*, 2017) de manera de asegurar condiciones no limitantes de macronutrientes. Las malezas, plagas y enfermedades fueron controladas adecuadamente.

Se incluyeron dos tratamientos: fertilización con Zn (Zn-fertilizado) y testigo sin fertilizar. La aplicación de Zn se realizó a una dosis de 0,7 kg de Zn ha<sup>-1</sup> de una

suspensión fluida de óxido de Zn (ZnO) - etanodiol aplicada de manera foliar V<sub>6</sub>-V<sub>8</sub>. Estos tratamientos se evaluaron en cada ensayo utilizando un diseño de experimental en bloques completos al azar con tres o cuatro repeticiones. El tamaño de la unidad experimental (parcela) varió entre 30 a 50 m<sup>2</sup> dependiendo del distanciamiento entre líneas. El rendimiento de grano de maíz se determinó en madurez fisiológica mediante la recolección manual de 10 m<sup>2</sup> de las dos hileras centrales de cada parcela. El rendimiento de grano se expresó a un contenido de humedad de 155 g kg<sup>-1</sup>.



**Figura 7.** Posiciones georreferenciadas de los ensayos de campo de fertilización con zinc en maíz.

### **3.2.2. Muestreo y análisis de suelo**

En cada ensayo, se tomó una muestra de suelo compuesta por bloque (15 piques, 0 a 20 cm de profundidad) antes de la siembra de maíz utilizando un calador de acero inoxidable. Las muestras de suelo se secaron en estufa a 30 °C, se molieron y se tamizaron a través de un tamiz de 2 mm de apertura de malla. A partir de dichas muestras se determinó la acidez activa del suelo (pH, relación suelo/agua 1:2,5), el contenido de MO de suelo por calcinación (Schulte y Hopkins, 1996), la CIC por el método de acetato de amonio (Thomas, 1982), la textura por el método de la pipeta de Robinson (Gee y Bauder, 1986), Zn-CaCl<sub>2</sub> (Novozamsky *et al.*, 1993), Zn-DTPA (Lindsay y Norvell, 1978) y Zn-M3 (Mehlich, 1984). Estas metodologías ya fueron descritas detalladamente en el Capítulo I (sección 2.2.2.5.). No se realizaron muestreos de suelo luego de la cosecha del cultivo.

### **3.2.3. Análisis estadístico**

La respuesta en rendimiento de grano del maíz a la fertilización con Zn se analizó en cada ensayo mediante análisis de varianza (ANOVA) incluido en el programa estadístico INFOSTAT (2011). Los efectos se consideraron significativos con  $p < 0,1$ . Para analizar la asociación entre variables se calcularon coeficientes de correlación de Pearson. El rendimiento relativo se calculó dividiendo el rendimiento del tratamiento sin fertilizar (testigo) en cada ensayo por el rendimiento del tratamiento fertilizado con Zn, multiplicado por 100 (Bell *et al.*, 2013). La curva de calibración de arcoseno logaritmo (ALCC) (Dyson y Conyers, 2013; Correndo *et al.*, 2017) se utilizó para describir la relación entre la disponibilidad de Zn en el suelo y el rendimiento relativo. Se realizaron modelos de regresión lineal ( $p < 0,1$ ) para determinar la contribución de variables (pH, MO, arcilla y/o CIC) para explicar la respuesta de rendimiento en grano a partir de Zn-DTPA-Zn, Zn-M3-Zn o Zn-CaCl<sub>2</sub>.

## **3.3. Resultados y discusión**

### **3.3.1. Propiedades edáficas**

Los sitios experimentales abarcaron un amplio espectro de texturas de suelo: de franco arenoso a franco arcilloso (Tabla 8). El conjunto de datos de los sitios experimentales representa un amplio rango de pH de suelo (Tabla 8), considerados de

fuertemente ácidos a moderadamente alcalinos (Soil Quality Institute, 2001). El contenido de MO y la CIC (Tabla 8) de los sitios experimentales están dentro del rango previamente reportado por Sainz Rozas *et al.* (2015 y 2019) para suelos agrícolas de Argentina. Los valores de concentración de Zn extractable en el suelo fueron: Zn-M3 > Zn-DTPA > Zn-CaCl<sub>2</sub>. Los valores de Zn-M3 y Zn-DTPA concuerdan con los valores informados por García *et al.* (1997) y Sainz Rozas *et al.* (2019) para la región de estudio. La información detallada de las propiedades edáficas para cada ensayo se presenta en las Tablas I, II y III del Apéndice.

**Tabla 8.** Mínimos (Min) y máximos (Max) para cada propiedad edáfica [textura, pH, materia orgánica (MO), capacidad de intercambio catiónico (CIC), indicadores de disponibilidad de zinc (Zn) (Zn-M3, Zn-DTPA y Zn-CaCl<sub>2</sub>) determinadas previo a la siembra de 45 ensayos de fertilización con Zn en maíz.

	Arena -----g 100g <sup>-1</sup> -----	Arcilla -----g 100g <sup>-1</sup> -----	pH	MO g kg <sup>-1</sup>	CIC cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	Zn-M3 -----mg kg <sup>-1</sup> -----	Zn-DTPA -----mg kg <sup>-1</sup> -----	Zn-CaCl <sub>2</sub> -----mg kg <sup>-1</sup> -----
Min	5,6	7,8	5,4	16,7	9,5	0,42	0,07	0,03
Max	71,7	29,5	8,3	73,7	36,9	7,50	4,67	1,62

En la Tabla 9 se muestran los coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) entre propiedades edáficas e indicadores de disponibilidad de Zn en el suelo. Entre las variables pH y contenido de arcilla y pH y MO se mostraron correlaciones negativas ( $r=-0,33$  y  $r=-0,44$ , respectivamente). Esto se explicaría por el hecho de que un mayor contenido de arcilla se asocia a suelos más meteorizados y por lo tanto suelos más ácidos (Álvarez y Lavado, 1998) y por el efecto acidificante de la MO (Ritchie y Dolling, 1985). Se determinó estrecha correlación positiva entre las variables contenido de arcilla y MO ( $r=0,60$ ). Esto se debe al efecto de protección física y bioquímica que ejerce la arcilla sobre la MO (Plante *et al.*, 2006). La CIC correlacionó estrechamente con el contenido de arcilla ( $r=0,61$ ) y con el contenido de MO ( $r=0,86$ ), debido al aporte de cargas negativas de las arcillas (Helling *et al.*, 1964) y de los coloides orgánicos del suelo a la CIC (Weil y Brady, 2016).

**Tabla 9.** Coeficientes de correlación entre propiedades edáficas [arcilla, pH, materia orgánica (MO) y capacidad de intercambio catiónico (CIC)] y los indicadores de disponibilidad de zinc (Zn) en el suelo (Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub>).

c/p <sup>†</sup>	Arcilla	pH	MO	CIC	Zn-DTPA	Zn-M3	Zn-CaCl <sub>2</sub>
Arcilla	1	0,03	<0,01	<0,01	ns	ns	ns
pH	-0,33	1	<0,01	ns	<0,01	0,02	0,04
MO	0,6*	-0,44*	1	<0,01	<0,01	0,03	ns
CIC	0,61*	-0,18	0,86*	1	ns	ns	ns
Zn-DTPA	0,25	-0,45*	0,45*	0,30	1	<0,01	<0,01
Zn-M3	0,22	-0,34*	0,32*	0,15	0,91*	1	<0,01
Zn-CaCl <sub>2</sub>	0,16	-0,31*	0,15	0,07	0,83*	0,86*	1

† En la parte inferior izquierda se muestran los coeficientes de correlación (r), mientras que en la parte superior derecha se presentan los valores de probabilidad (p-valor).

ns = no significativo.

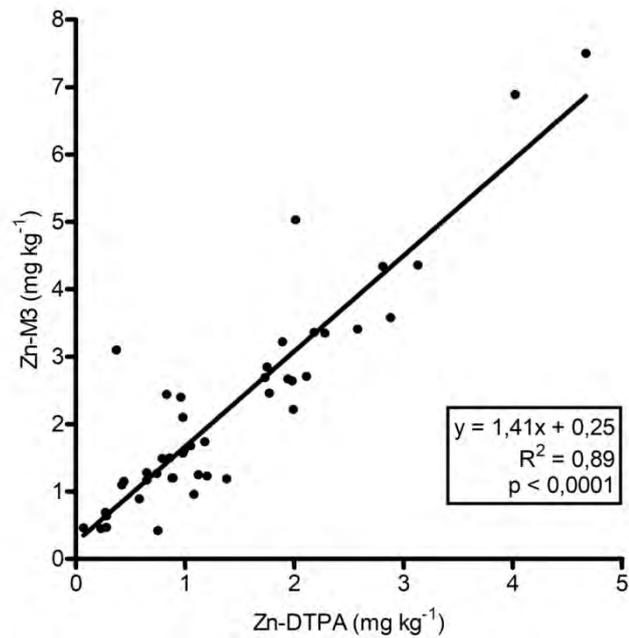
\* = correlación significativa (p<0,05).

Tanto el contenido de arcilla como la CIC no se correlacionaron significativamente con ninguna metodología indicadora de Zn disponible (Tabla 9). En cuanto al pH, esta variable correlacionó de manera negativa con todas las metodologías indicadoras de Zn disponible: moderadamente con Zn-DTPA ( $r=-0,45$ ) y débilmente con Zn-M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub> ( $r=-0,34$  y  $r=-0,31$ ; respectivamente). Las correlaciones negativas entre pH del suelo y las metodologías de Zn disponible pueden explicarse por el hecho de que la solubilidad de los minerales de Zn y la desorción de Zn de las arcillas y óxidos disminuyen con el aumento del pH (Harter, 1991). Respecto al contenido de MO, esta variable correlacionó de manera positiva y moderada con Zn-DTPA ( $r=0,45$ ) y de manera positiva y débil con Zn-M3 ( $r=0,32$ ), pero no correlacionó con Zn-CaCl<sub>2</sub>. Estos resultados sugieren que los extractantes quelantes tienen una mayor capacidad de extraer Zn asociado a la MO que las sales neutras como el CaCl<sub>2</sub>. A pesar de que a partir de los resultados del Capítulo I se concluye que estos tres extractantes correlacionan de manera similar con la fracción orgánica de Zn ( $r=$  entre 0,36 y 0,39; Tabla 6), hay que tener en cuenta que el rango de MO de suelo explorado en condiciones de campo (16,5 – 73,7 g kg<sup>-1</sup>; Tabla 8) es más amplio que el explorado en el ensayo de macetas (8 - 46 g kg<sup>-1</sup>, Tabla 8), con 33% de los datos por encima del valor máximo (> 46 g kg<sup>-1</sup>). Catlett *et al.* (2002) también observaron correlaciones negativas entre la actividad del Zn<sup>+2</sup> (determinada mediante extracción con EDTA) y el pH del suelo, y positivas entre la actividad de Zn<sup>+2</sup> y MO.

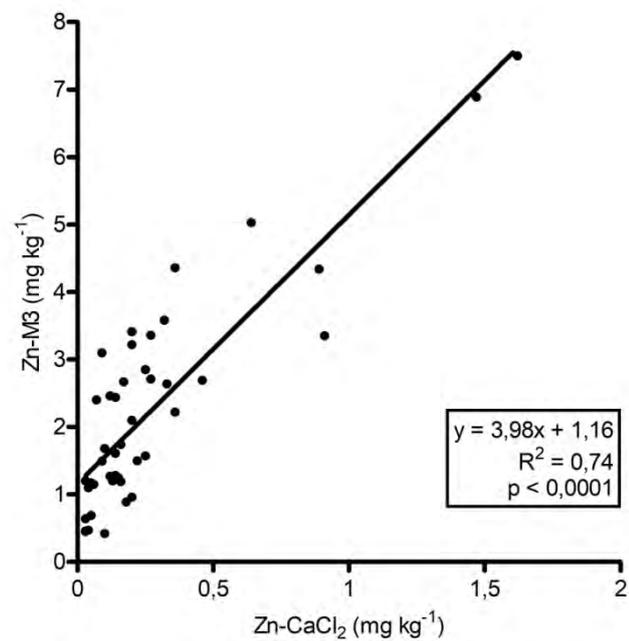
### 3.3.2. Relaciones entre indicadores de Zn disponible

Se estableció una regresión lineal significativa entre las concentraciones de Zn-M3 y Zn-DTPA representando el 89% de la varianza ( $n=45$ ; Figura 8). Este tipo de regresión ha sido informada anteriormente por varios autores (Tabla IV, Apéndice). Sin embargo, la pendiente y la ordenada al origen de los modelos lineales variaron notablemente entre los estudios (Tabla IV, Apéndice). En este estudio, la pendiente del modelo lineal (1,41; Figura 8) fue menor al 25% de los valores descritos por otros autores, mientras que el coeficiente de regresión se ubicó entre la mediana (0,86) y el tercer cuartil (0,94) (Tabla IV, Apéndice). Estas diferencias pueden deberse a los tipos de suelo en estudio como también a la falta de estandarización de los procedimientos de muestreo, preparación de la muestra y extracción (Quevauviller, 1998). Las mayores concentraciones de Zn extractable mediante Zn-M3 en relación con Zn-DTPA (Figura 7) es consecuencia de la mayor acidez del extractante M3 respecto a la solución extractora DTPA ( $\text{pH}=2,5$  versus  $\text{pH}=7,3$ ), lo que provoca una mayor solubilización y desorción de Zn (Harter, 1991).

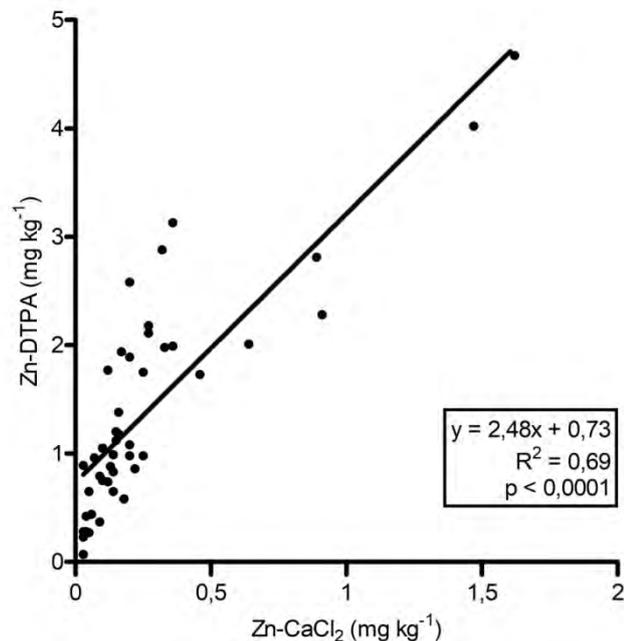
El ajuste de regresión lineal entre Zn-M3 y Zn- $\text{CaCl}_2$  (Figura 9) y entre Zn-DTPA y Zn- $\text{CaCl}_2$  (Figura 10) fue de 74% y 69%, respectivamente. Estos menores ajustes entre los extractantes quelantes y el Zn- $\text{CaCl}_2$  se explica por el hecho de este último extrae principalmente la fracción intercambiable de Zn y parte de la asociada a la MO, mientras que, Zn-M3 y Zn-DTPA, no solo extraen las fracciones intercambiable y asociada a la MO, sino que también extraen la fracción asociada a óxidos de manganeso (Tabla 7, Capítulo I). Las diferencias en los valores de las pendientes de las Figura 8, 9 y 10 (Capítulo II) con los gráficos análogos de la Figura 4 (Capítulo I) puede deberse a que el gráfico de la Figura 4 se construye con los datos de macetas testigo y fertilizadas con Zn mientras que el gráfico de la Figura 8 solo se construye con los datos de la condición testigo (ya que la fertilización con Zn en los ensayos de campo fue foliar), además, el tamaño de datos es mayor a campo ( $n=45$ ) que en macetas ( $n=20$ ; 10 testigo y 10 Zn-aplicado).



**Figura 8.** Relación entre las concentraciones de Zn-M3 y Zn-DTPA (0-20 cm) para 45 ensayos de fertilización con zinc.



**Figura 9.** Relación entre las concentraciones de Zn-M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub> (0-20 cm) para 45 ensayos de fertilización con zinc.



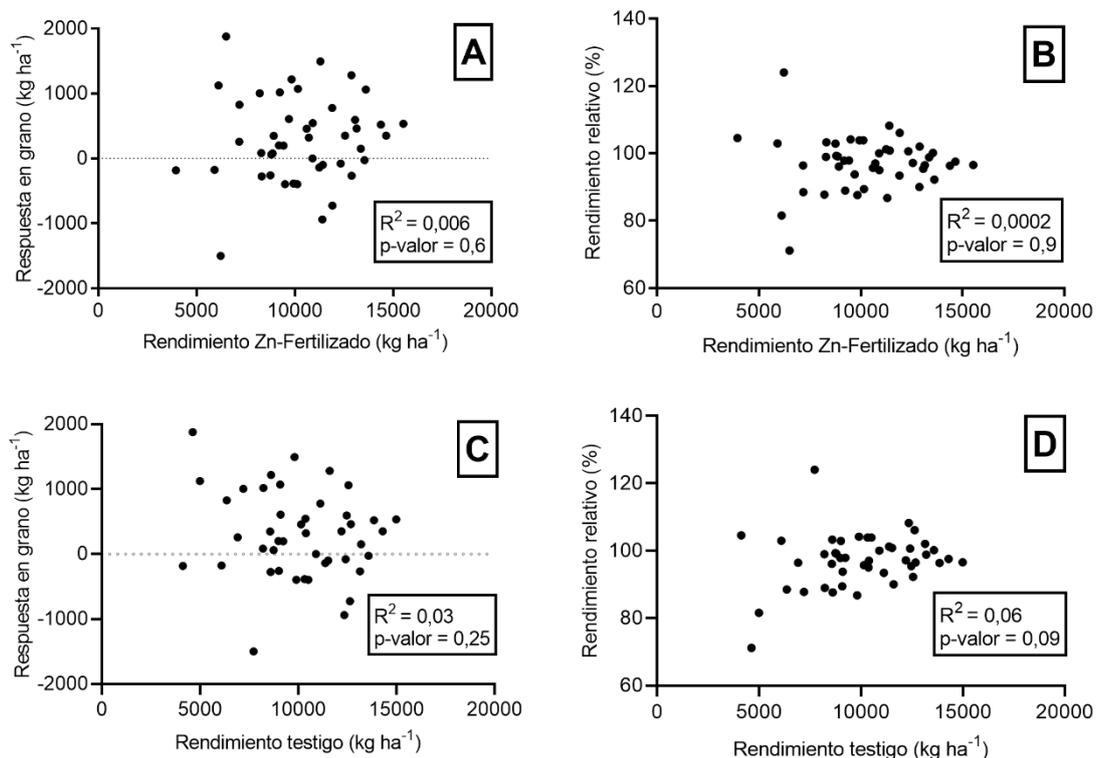
**Figura 10.** Relación entre las concentraciones de Zn-DTPA y Zn-CaCl<sub>2</sub> (0-20 cm) para 45 ensayos de fertilización con zinc.

### 3.3.3. Respuesta de rendimiento en grano a la fertilización con Zn

Los ensayos de respuesta de rendimiento en grano, realizados a campo abarcando una amplia gama de condiciones edafo-climáticas y de sistemas productivos, ofrecen una base adecuada para la calibración de los análisis de suelo (Barbagelata y Mallarino, 2013). Así, los rendimientos de grano para el tratamiento testigo variaron de 4,9 a 14,5 Mg ha<sup>-1</sup>, mientras que para el tratamiento fertilizado con Zn que variaron de 3,9 a 15,5 Mg ha<sup>-1</sup> y promediaron 10,3 Mg ha<sup>-1</sup> (Tabla III, Apéndice). La proporción de sitios con respuesta significativa al agregado de Zn fue del 29% (13 sitios de 45), siendo la respuesta promedio a través de todos los sitios de 0,29 Mg ha<sup>-1</sup> y a través de los sitios con respuesta de 1,01 Mg ha<sup>-1</sup>. En los sitios con respuesta significativa, los rangos de valores de Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-DTPA y Zn-M3 fueron de 0,03-0,25 mg kg<sup>-1</sup>, 0,29-0,99 mg kg<sup>-1</sup> y 0,64-1,61 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Los valores máximos de concentración de Zn-DTPA y Zn-M3 en el suelo (4,67 mg kg<sup>-1</sup> y 7,5 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente; Tabla 8) fueron considerablemente menores que los umbrales de toxicidad de Zn para maíz reportados en condiciones de invernadero (11 mg kg<sup>-1</sup> Zn-DTPA, Takkar y Mann, 1978; 318 mg kg<sup>-1</sup> Zn-M3, Borkert *et al.*, 1998). En tal sentido, ninguno de los ensayos presentó respuesta de rendimiento negativa significativa a la aplicación de fertilizante de Zn (Tabla III, Apéndice). Por tanto, se desestima la posibilidad de fitotoxicidad por Zn.

Ni la respuesta en rendimiento en grano (Figura 11A y 11C) ni el rendimiento relativo (Figura 11B y 11D) se correlacionaron con el rendimiento de los tratamientos fertilizados con Zn ni con el rendimiento de los tratamientos testigo. Este tipo de comportamiento ya ha sido reportado para Zn (Barbieri *et al.*, 2017) y para otros nutrientes poco móviles en el suelo como P (Dodd y Mallarino, 2005) y K (Barbagelata, 2006), que alcanzan la superficie radicular por difusión y/o por interceptación radicular. Las plantas que crecen en ambientes altamente productivos tienen un mayor crecimiento y, en consecuencia, una mayor demanda de Zn, pero también una mayor capacidad de exploración del volumen del suelo debido a una mayor superficie de sorción de la raíz (Bray, 1954; Bray, 1963). Por lo tanto, la mayor demanda de Zn por parte de las plantas se compensa con el mayor acceso al Zn del suelo. Como resultado, ambientes con mayor rendimiento potencial no están asociados con una mayor respuesta de rendimiento en grano a la fertilización con Zn.



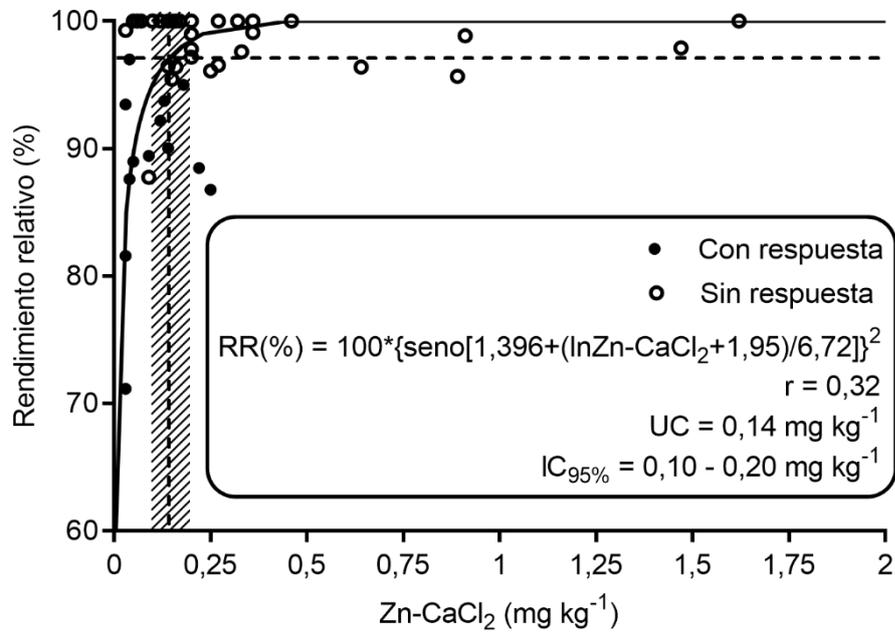
**Figura 11.** A: Relación entre respuesta en grano (kg ha<sup>-1</sup>) y rendimiento (kg ha<sup>-1</sup>) del tratamiento fertilizado con zinc (Zn). B: Relación entre el rendimiento relativo (%) y rendimiento del tratamiento fertilizado con Zn (kg ha<sup>-1</sup>). C: Relación entre respuesta en grano (kg ha<sup>-1</sup>) y rendimiento del testigo (kg ha<sup>-1</sup>). D: Relación entre el rendimiento relativo (%) y rendimiento del tratamiento testigo (kg ha<sup>-1</sup>).

### 3.3.4. Umbrales de suficiencia para los indicadores de Zn disponible

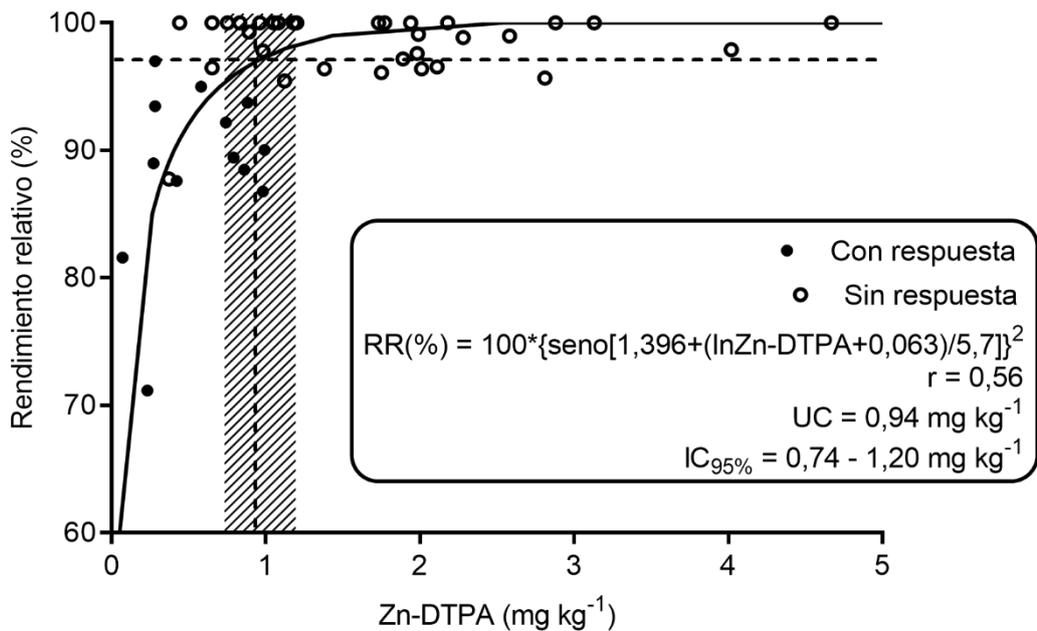
Las relaciones entre el rendimiento relativo de maíz y la concentración de Zn disponible en el suelo determinada con las distintas metodologías se muestran en las Figuras 12, 13 y 14. Estos datos muestran la relación clásica entre la respuesta en rendimiento y la concentración de análisis de suelo de nutrientes poco móviles (Barbagelata, 2006). Utilizando el enfoque de nivel de suficiencia, los umbrales críticos de Zn disponible en el suelo para lograr un rendimiento relativo del 97% variaron ampliamente entre metodologías: 0,14 mg kg<sup>-1</sup> para Zn-CaCl<sub>2</sub> (de 0,10 a 0,20 mg kg<sup>-1</sup> considerando un Intervalo de confianza del 95%) (Figura 12), 0,94 mg kg<sup>-1</sup> para Zn-DTPA (de 0,74 a 1,20 mg kg<sup>-1</sup> considerando un intervalo de confianza del 95%) (Figura 13) y 1,6 mg kg<sup>-1</sup> para Zn-M3 (de 0,74 a 1,20 mg kg<sup>-1</sup> considerando un intervalo de confianza del 95%) (Figura 14). Estudios previos de correlación realizados en condiciones controladas (macetas e invernáculos) reportaron umbrales de Zn-DTPA para maíz similares al determinado en este estudio: 0,8 mg kg<sup>-1</sup> (Lindsay y Norvell, 1978), 0,5 a 1,0 mg kg<sup>-1</sup> (Lindsay y Cox, 1985), 1,2 mg kg<sup>-1</sup> (Rashid y Rafique, 1989) y 1,35 mg kg<sup>-1</sup> (Khoshgoftarmansh *et al.*, 2012). Las diferencias entre estos umbrales probablemente se deban a los tipos de suelo, el método estadístico y el rendimiento relativo objetivo utilizado al momento de la calibración (Tang *et al.*, 2009; Zamuner *et al.*, 2016). En un estudio de calibración de campo para la región pampeana, Barbieri *et al.* (2017) determinaron un umbral de Zn-DTPA de 0,99 mg kg<sup>-1</sup> para el objetivo de rendimiento relativo del 97%, similar al reportado en esta experiencia. A diferencia de Zn-DTPA, este estudio es la primera calibración de campo de Zn-M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub> para maíz. Melgar *et al.* (2001) y Ruffo *et al.* (2016) informaron relaciones no significativas entre Zn-M3 y la respuesta de rendimiento de grano a la fertilización con Zn. Probablemente, la falta de asociación en esos estudios sea una consecuencia del menor conjunto de datos (Melgar *et al.*, 2001: n=14; Ruffo *et al.*, 2016: n=10) y el limitado rango de concentraciones exploradas (de 0,7 a 2,1 mg kg<sup>-1</sup> y de 0,9 a 2,9 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente).

Los coeficientes de correlación entre el rendimiento relativo y las metodologías indicadoras de Zn disponible fueron: r=0,56; r=0,39 y r=0,32 para Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub> (Figuras 12, 13 y 14). Estos resultados son coincidentes con el orden de correlación de Zn adsorbido en planta mostrados en el Capítulo I (Tabla 7). El porcentaje de sitios correctamente diagnosticados fue 71%, 60% y 49% para Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub>, respectivamente. Los resultados indican que Zn-DTPA es la metodología que mejor explica el rendimiento relativo de maíz, seguido por Zn-M3

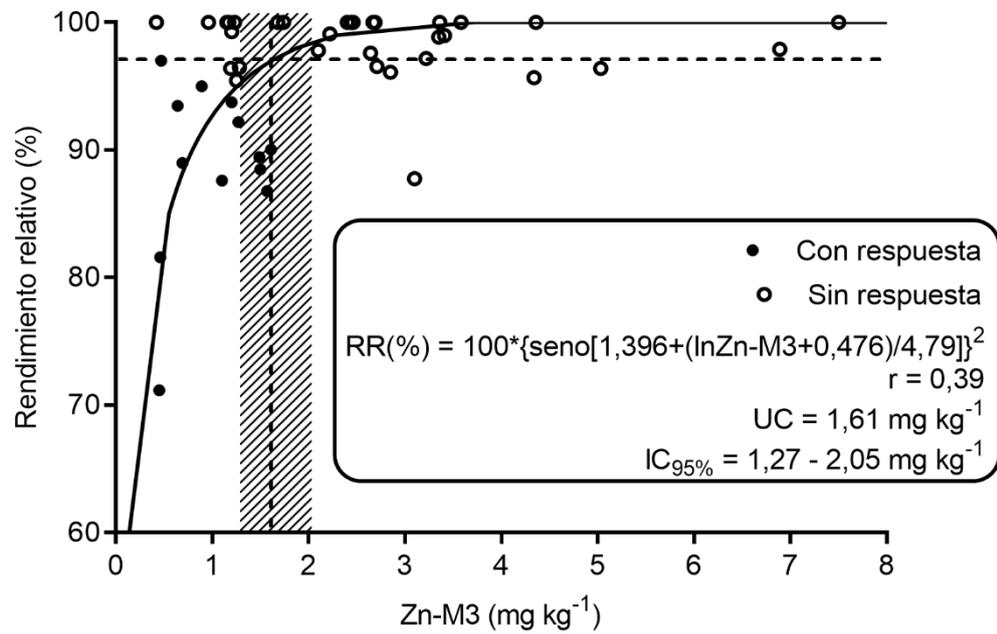
(que tiene la ventaja de ser un extractante “multi-nutriente”) y, en último lugar, Zn-CaCl<sub>2</sub>.



**Figura 12.** Relación entre el rendimiento relativo (RR) (%) de maíz y la concentración de Zn-CaCl<sub>2</sub> en suelo (0-20 cm). UC: umbral crítico para 97% de rendimiento relativo. IC<sub>95%</sub>: intervalo de 95% de confianza para el umbral crítico.



**Figura 13.** Relación entre el rendimiento relativo (RR) (%) de maíz y la concentración de Zn-DTPA en suelo (0-20 cm). UC: umbral crítico para 97% de rendimiento relativo. IC<sub>95%</sub>: intervalo de 95% de confianza para el umbral crítico.



**Figura 14.** Relación entre el rendimiento relativo (RR) (%) de maíz y la concentración de Zn-M3 en suelo (0-20 cm). UC: umbral crítico para 97% de rendimiento relativo. IC<sub>95%</sub>: intervalo de 95% de confianza para el umbral crítico.

### 3.3.5. Modelos de regresión múltiple para predecir la respuesta en rendimiento en grano ante la fertilización con Zn

Se ajustaron modelos lineales múltiples para predecir la respuesta en rendimiento de maíz a la fertilización con Zn a partir de los distintos indicadores de la disponibilidad de Zn (Tabla 10). El orden de bondad de ajuste fue: Zn-DTPA > Zn-M3 > Zn-CaCl<sub>2</sub>. Tanto el contenido de arcilla como la MO contribuyeron a mejorar significativamente los modelos de Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub>. La incorporación de la variable CIC mejoró significativamente los modelos de Zn-DTPA y Zn-M3. Tanto el contenido de arcilla, como la MO y la CIC contribuyeron con parámetros negativos, es decir, a medida que aumentan dichas variables disminuye la respuesta. En el caso de la arcilla esto se debería a que suelos más arcillosos tienen mayor cantidad de Zn total y mayor capacidad de sorción de Zn asociado a la fracción de óxidos de manganeso, que contribuye a reabastecer a la solución del suelo (factor capacidad) (Capítulo I). El contenido de MO contribuiría con la fracción del Zn asociado a la MO y el Zn intercambiable (Wijebandara *et al.*, 2011; Han *et al.*, 2011). La CIC aumenta la capacidad buffer de Zn (Shuman, 1975) y, a su vez, es una variable que está relacionada positivamente con el contenido de MO y la arcilla (Tabla 9). En cambio, el pH no contribuyó significativamente en ninguno de los modelos.

Lins y Cox (1988), en un ensayo de macetas con Oxisoles, informaron que el contenido de arcilla no contribuyó a mejorar el diagnóstico del extractante Mehlich-1 (Mehlich, 1953) sobre la respuesta a Zn del maíz. Estos autores atribuyeron el hecho a que los suelos estudiados tenían una CIC muy baja que era rápidamente saturada por los protones del extractante ácido Mehlich-1. Junus y Cox (1987), en un ensayo de condiciones controladas utilizando Ultisoles, reportaron que tanto la inclusión de la CIC como del pH, a un modelo de Zn-M3, contribuyeron a mejorar la predicción de la concentración de Zn en plantas de maíz, pero no la respuesta en rendimiento. De manera similar Payne *et al.* (1986), también en un ensayo de macetas en Ultisoles, informaron que la inclusión de la variable pH a un modelo de Zn-DTPA incrementó la capacidad de predicción de la concentración de Zn en plantas de soja. Las diferencias entre los resultados informados por otros autores pueden deberse a: i) la baja CIC y el pH ácido de los Oxisoles y Ultisoles y ii) el hecho de que se trata de ensayos en macetas, donde se modificó el pH aplicando tratamientos de adición de carbonatos

En línea con los resultados informados en esta tesis, mediante ensayos de campo realizados en diferentes tipos de suelo y observando la respuesta de rendimiento en

grano de trigo, Sillanpää (1982) informó que la inclusión del pH del suelo no contribuyó a mejorar el desempeño de los modelos basados en Zn-DTPA.

Desde un punto de vista pragmático, el contenido de arcilla es la variable que más contribuyó a mejorar los modelos (74% para Zn-DTPA, 126% para Zn-M3 y 186% para Zn-CaCl<sub>2</sub>), sin embargo, la textura no es una determinación de rutina en los laboratorios de análisis de suelo. Tanto MO como CIC contribuyeron de manera similar (29% para Zn-DTPA y 63% para Zn-M3), siendo la MO una determinación más simple que la CIC y más frecuentemente realizada.

**Tabla 10.** Modelos para predecir la respuesta a zinc (Zn) a partir de indicadores de disponibilidad de Zn el suelo [Zn-DTPA (mg kg<sup>-1</sup>), Zn-M3 (mg kg<sup>-1</sup>) o Zn-CaCl<sub>2</sub> (mg kg<sup>-1</sup>)] y propiedades edáficas [pH, materia orgánica del suelo (MO; g 100g<sup>-1</sup>), contenido de arcilla (g 100g<sup>-1</sup>) y CIC (cmol<sub>c</sub> kg<sup>-1</sup>)].

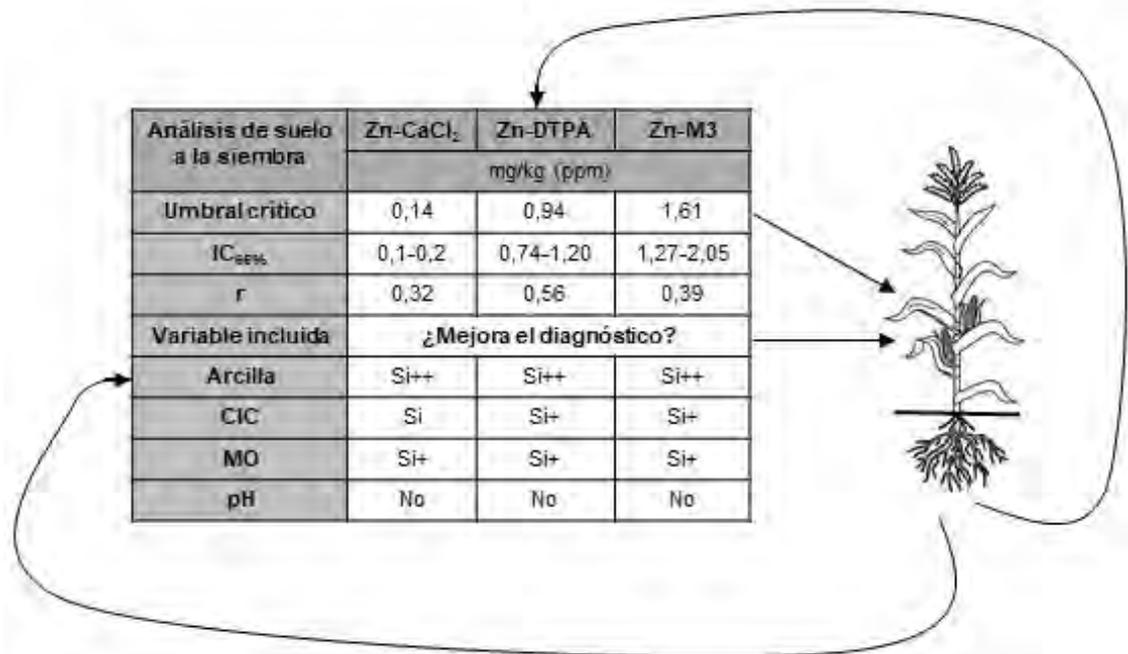
Modelo	p-valor	Ra <sup>2</sup>
Respuesta a Zn = 1012,2 - 289,1 Zn-DTPA <sup>§</sup>	0,001	0,31
Respuesta a Zn = 1723,3 - 212,7 Zn-DTPA <sup>§</sup> - 42 arcilla <sup>§</sup>	<0,0001	0,54
Respuesta a Zn = 1310,2 - 212 Zn-DTPA <sup>§</sup> - 114 MO <sup>§</sup>	<0,0001	0,40
Respuesta a Zn = 1417,7 - 230,8 Zn-DTPA <sup>§</sup> - 25 CIC <sup>§</sup>	<0,0001	0,40
Respuesta a Zn = 372,8- 251,8 Zn-DTPA <sup>§</sup> + 94,6 pH	0,034	0,31
Respuesta a Zn = 930,9 – 134,8 Zn-M3 <sup>§</sup>	0,01	0,19
Respuesta a Zn = 1709 - 83,7 Zn-M3 <sup>§</sup> - 46,8 arcilla <sup>§</sup>	<0,0001	0,43
Respuesta a Zn = 1310,7 - 72,4 Zn-M3 <sup>§</sup> - 142,7 MO <sup>§</sup>	0,003	0,31
Respuesta a Zn = 1445,6 - 72,4 Zn-M3 <sup>§</sup> - 103 CIC <sup>§</sup>	0,003	0,31
Respuesta a Zn = -159,2 - 99,2 Zn-M3 + 162,5 pH	0,03	0,19
Respuesta a Zn = 798,5 – 558,4 Zn-CaCl <sub>2</sub> <sup>§</sup>	0,03	0,15
Respuesta a Zn = 1673,2 - 380,2 Zn-CaCl <sub>2</sub> <sup>§</sup> - 48 arcilla <sup>§</sup>	0,002	0,43
Respuesta a Zn = 1301 - 378,3 Zn-CaCl <sub>2</sub> - 154,2 MO <sup>§</sup>	0,002	0,33
Respuesta a Zn = 1366,3 - 420,8 Zn-CaCl <sub>2</sub> - 31,6 CIC	0,004	0,29
Respuesta a Zn = - 428,3 - 410,3 Zn-CaCl <sub>2</sub> + 190 pH	0,03	0,18

§ parámetro significativo p<0,1.

### 3.3.6. Síntesis de resultados

En este capítulo se determinó que los umbrales de suficiencia para rendimiento de grano variaron considerablemente entre metodologías de extracción (Figura 15). Los resultados indican que Zn-DTPA es la metodología que mejor explica el rendimiento relativo de maíz, seguido por Zn-M3 y, en último lugar, Zn-CaCl<sub>2</sub> (Figura 15). Tanto el contenido de arcilla, la CIC, como la MO contribuyeron a mejorar significativamente los modelos de Zn-DTPA, Zn-

M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub> para predecir la respuesta en rendimiento de grano de maíz a la aplicación con Zn (Figura 15).



**Figura 15.** Esquema de síntesis del Capítulo II. IC<sub>95%</sub> = intervalo del 95% de confianza; r = coeficiente de correlación.

### 3.4. Conclusión

Se recopilaron evidencias suficientes para no rechazar la Hipótesis I que postulaba que las metodologías indicadoras de la disponibilidad de Zn en suelo mediante extractantes quelantes (Zn-DTPA y Zn-M3) presentan una mayor capacidad de predecir la respuesta a Zn en rendimiento en grano de maíz que metodologías basadas en sales neutras (Zn-CaCl<sub>2</sub>). Concretamente, la respuesta del rendimiento de grano del maíz a la aplicación con Zn se asocia mejor con la determinación Zn-DTPA, seguido por la metodología Zn-M3 y, por último, Zn-CaCl<sub>2</sub>.

También se reunieron evidencias para no rechazar la Hipótesis II que planteaba que la asociación entre Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-M3 o Zn-DTPA con la respuesta del rendimiento en grano del maíz a la aplicación de Zn mejora si se incluye una o más de las siguientes variables al modelo (MO, arcilla, pH y/o CIC). En general, el orden de mejora en la predicción de la respuesta fue: arcilla > MO ~ CIC. El pH no contribuyó a mejorar ninguno de los modelos.

#### 4. CAPÍTULO III: EVALUACIÓN DE INDICADORES DE DISPONIBILIDAD DE ZINC A PARTIR DE ANÁLISIS DE MATERIAL VEGETAL

##### 4.1. Introducción

De manera complementaria a los análisis de suelo, surge la necesidad de desarrollar y evaluar métodos de diagnóstico para monitorear el estatus de Zn durante el ciclo del cultivo de maíz. En este sentido, una alternativa es el uso de metodologías basadas en el análisis de material vegetal, que presentarían la ventaja comparativa frente a los análisis de suelo de integrar los factores edáficos, climáticos y biológicos que afectan la disponibilidad, la absorción y la demanda del nutriente en cuestión (Marschner, 2012). El análisis de material vegetal está relacionado a un tejido específico y a una etapa de crecimiento determinada en la cual se maximiza la correlación con la respuesta en rendimiento de grano (Benton Jones Jr., 2003). Como regla general, para la mayoría de los nutrientes, se recomienda muestrear a mitad del período vegetativo y cuando comienza el período reproductivo (Benton Jones Jr., 1991). Además, el tejido u órgano de la planta seleccionado para su análisis debe ser fácil de identificar y coleccionar y estar relacionado con el movimiento del nutriente dentro de la planta (Munson y Nelson, 1990). En general, para interpretar los resultados de análisis de material vegetal se utiliza el criterio de rango de suficiencia. El mismo se define como el rango de concentración entre el nivel crítico y la concentración por encima de la cual se produce consumo de lujo (Benton Jones Jr. *et al.*, 1990).

Para el caso del Zn, el uso de planta entera como unidad de muestreo no es aconsejable debido a que el proceso de muestreo y acondicionamiento de las muestras es engorroso y, a su vez, la concentración de Zn total decrece a lo largo del ciclo de cultivo (Brennan *et al.*, 1993; Ciampitti y Vyn, 2013). Por otro lado, los análisis de hoja presentan la ventaja pragmática de que permiten tomar un mayor número de sub-muestras para minimizar la variabilidad (Benton Jones Jr., 1991). Comúnmente, para el monitoreo de la nutrición del cultivo de maíz, se recomienda el muestreo en la hoja completamente desarrollada por debajo de la espiga al momento de floración ( $R_1$ ; Ritchie y Hanway, 1982) (Peaslee, 1980). Se propone la hoja por debajo de la espiga como órgano de muestreo debido a que existen reportes de rangos de concentración de Zn para este órgano, porque es un órgano fácil de identificar al momento de floración (practicidad de muestreo) y porque también se usa para diagnosticar otros nutrientes.

Actualmente, existe escasa información sobre valores críticos de Zn en planta de maíz y estos varían ampliamente entre las fuentes; por lo que no deben interpretarse como absolutos, sino más bien como orientativos. Por ejemplo, para maíz en R<sub>1</sub>, Benton Jones Jr. *et al.* (1990) informaron un rango de suficiencia de Zn de 50-150 mg kg<sup>-1</sup>, mientras que Mills *et al.* (1996) informaron un rango de 15-60 mg kg<sup>-1</sup>. En la región pampeana, Ratto *et al.* (1991) comunicaron que la concentración de Zn en hojas de maíz en R<sub>1</sub> estuvo cerca o ligeramente por encima de los umbrales críticos reportados en la bibliografía internacional (Benton Jones Jr. *et al.*, 1990; Mills *et al.*, 1996). Sin embargo, el uso de valores críticos reportados en la bibliografía internacional para híbridos antiguos puede ser una práctica inapropiada. En tal sentido, es necesario obtener valores umbrales de concentración de Zn en R<sub>1</sub> en la hoja debajo de la espiga para híbridos de reciente liberación.

Por otra parte, revertir una deficiencia de Zn en R<sub>1</sub> no resulta sencillo por la conjunción de motivos operacionales, logísticos y fisiológicos: i) el tiempo que transcurre entre el muestreo, el análisis de laboratorio, la toma de decisión y la eventual aplicación de Zn es crítico y limitante, ya que la respuesta a la fertilización con Zn se debe a un aumento en el número de granos (Martínez Cuesta *et al.*, 2021), el cual se define durante el período crítico que dura aproximadamente desde 10 días antes a 20 días después de inicio de R<sub>1</sub> (Andrade *et al.*, 1999); ii) la altura de la canopia del cultivo al estadio de R<sub>1</sub> (Yin *et al.*, 2011) generalmente exige aplicaciones con avión, encareciendo el costo de la fertilización. Por lo tanto, surge la necesidad de evaluar un método que permita detectar una deficiencia del nutriente en estadios más tempranos.

La concentración de Zn en la última hoja desarrollada en el estadio de seis hojas expandidas (V<sub>6</sub>) sería una metodología promisoría para detectar deficiencias en estadios tempranos. La misma se basa en que el contenido de Zn de las hojas jóvenes es generalmente más estable (Alloway, 2008). Sin embargo, según Bender *et al.* (2013), más del 70% de la absorción de Zn en maíz ocurre durante sólo un tercio de la temporada de crecimiento, específicamente durante el crecimiento vegetativo tardío y el crecimiento reproductivo temprano. Por lo expuesto, puede suceder que el análisis foliar en V<sub>6</sub> sobre o subestime la disponibilidad de Zn en el suelo. Es decir, valores bajos de concentración de Zn en hoja en este estadio pueden estar indicando “deficiencias de oportunidad” que luego son compensadas por una mayor absorción de Zn debido a un aumento en la intercepción radical (mayor volumen de suelo explorado) y en la difusión de Zn (mayor temperatura de suelo). Por otra parte, valores

altos podrían no reflejar suficiencia debido a que todavía no ocurrió el período de mayor demanda de Zn por parte de la planta. Es por ello que surge el interés de comparar la capacidad del análisis foliar de predecir respuesta a Zn en estado vegetativo ( $V_6$ ) versus estado reproductivo ( $R_1$ ).

Otro órgano de la planta comúnmente utilizado en el diagnóstico nutricional de los cultivos es la concentración de nutriente en grano (Benton Jones Jr., 2003). La determinación de concentración en grano es un análisis ex-post, retrospectivo o post-mortem, es decir, no permite realizar correcciones en el cultivo (Brennan *et al.*, 1993). Sin embargo, sería una herramienta útil para identificar lotes o zonas deficientes que requieren realizar acciones correctivas (i.e. fertilización) y/o calcular balances del nutriente a nivel de sistema (Brennan *et al.*, 1993). La determinación de la concentración de Zn en grano presenta las ventajas de que la toma de muestras es fácil, la fecha de muestreo no es crítica y el uso de semillas maduras reduce al mínimo las diferencias en la concentración de Zn debido a la etapa de desarrollo. En maíz, Kanwal *et al.* (2010) reportaron un aumento significativo de la concentración de Zn en grano ante incrementos en la dosis de Zn aplicada al suelo. Por lo tanto, esta determinación debería estar asociada con la respuesta en rendimiento a la fertilización con Zn. La estimación de los niveles de Zn críticos en las semillas puede ser práctica y técnicamente aceptable para monitorear la nutrición de Zn en las plantas y la disponibilidad de este nutriente en el suelo. Sin embargo, no existe información al respecto para el cultivo de maíz.

Las deficiencias de Zn no solo afectan la nutrición vegetal, ya que cerca de la mitad de la población mundial sufre deficiencias de Zn (Hotz y Brown, 2004). Generalmente, la localización de las poblaciones humanas que sufren deficiencias coincide con las áreas de suelos deficientes en Zn, debido a que consumen alimentos con baja concentración de este nutriente (Alloway, 2008). La alta concentración de Zn en grano es considerada un factor de calidad deseable porque aumenta el valor nutricional del grano para los seres humanos (Cakmak, 2008) y confiere vigor a las plántulas cuando se vuelve a sembrar en un suelo deficiente en Zn (Graham y Rengel, 1993). Entender la relación entre la concentración de Zn en grano y la disponibilidad de Zn en el suelo es importante debido al creciente interés por mejorar la calidad nutricional del mismo (Cakmak, 2008).

#### **4.1.1. Hipótesis**

I. La concentración de Zn en la hoja de la espiga en  $R_1$  se asocia mejor con la respuesta del rendimiento en grano del maíz a la fertilización con Zn que la concentración de Zn en la última hoja desarrollada en  $V_6$ .

II. La concentración de Zn en grano de maíz del tratamiento testigo está asociada positivamente con el Zn disponible en el suelo y negativamente con la respuesta en rendimiento en grano a la fertilización con Zn.

#### **4.1.2. Objetivos específicos**

- Evaluar la concentración de Zn en hoja (estadio  $V_6$  y  $R_1$ ) y en grano como métodos de monitoreo del estatus de Zn en el cultivo de maíz.
- Determinar la relación entre la exportación de Zn en grano del cultivo de maíz y el rendimiento de grano.

#### **4.2. Materiales y métodos**

##### **4.2.1. Experimentación a campo**

Se utilizaron parte de los ensayos de fertilización con Zn en maíz del Capítulo II (Tabla V, Apéndice). En el estadio  $V_6$  se tomaron muestras de la última hoja completamente desarrollada (collar visible) de 20 plantas de las parcelas del tratamiento testigo. En  $R_1$  se muestreó la hoja debajo de la espiga tomando 20 hojas por parcela del tratamiento testigo (Benton Jones Jr., 1991). Las muestras de hoja ( $V_6$  y  $R_1$ ) fueron lavadas con agua destilada y secadas a  $60^\circ$  C en estufa con circulación forzada de aire. Luego de la cosecha del cultivo se tomaron muestras de granos de cada unidad experimental, de los tratamientos testigo y fertilizado con Zn. Las muestras de material vegetal fueron molidas con molino de abrasión de acero inoxidable (Foss Tecator 1093 Cyclotec Sample Mill) y tamizadas por 0,84 mm.

##### **4.2.2. Determinación de la concentración de Zn en material vegetal**

Las muestras de materia vegetal (hoja o grano) se digirieron mediante una mezcla nítrico-perclórica (Shaw, 1959). Para ello las muestras ya molidas y tamizadas se volvieron a secar a  $60^\circ$  C durante 24 h para retirar la humedad higroscópica. Luego, se pesaron 0,5 g de material vegetal en tubos de ensayo de vidrio y se agregaron 2,5 mL de ácido nítrico. A cada tubo de ensayo se agregaron 2 perlas de vidrio y se dejó en reposo durante la noche cubriendo la boca de los tubos con pequeños embudos de

vidrio. Al día siguiente, se colocaron los tubos en un bloque de digestión de aluminio y se digirió a 150 °C durante 1 h. Se dejó enfriar y se agregaron 2,5 mL de ácido perclórico y se digirió a 205 °C durante 2 h. Finalizada la digestión, se dejó enfriar, se llevó a volumen final de 25 mL con agua bi-distilada y se determinó la concentración de Zn de la solución mediante EAA (Sección 2.2.2.3., Capítulo I).

#### **4.2.3. Análisis estadístico**

La concentración de Zn en grano se analizó mediante ANOVA y comparación de medias mediante el test de diferencias mínimas significativas (DMS) ( $p < 0,05$ ). Los sitios se tomaron como efectos fijos. Se calcularon estadísticos descriptivos (media, mediana, cuartiles, mínimo, máximo, coeficiente de variación). La exportación de Zn se calculó como el producto entre el rendimiento y la concentración de Zn. Algunas variables fueron evaluadas mediante regresión lineal simple.

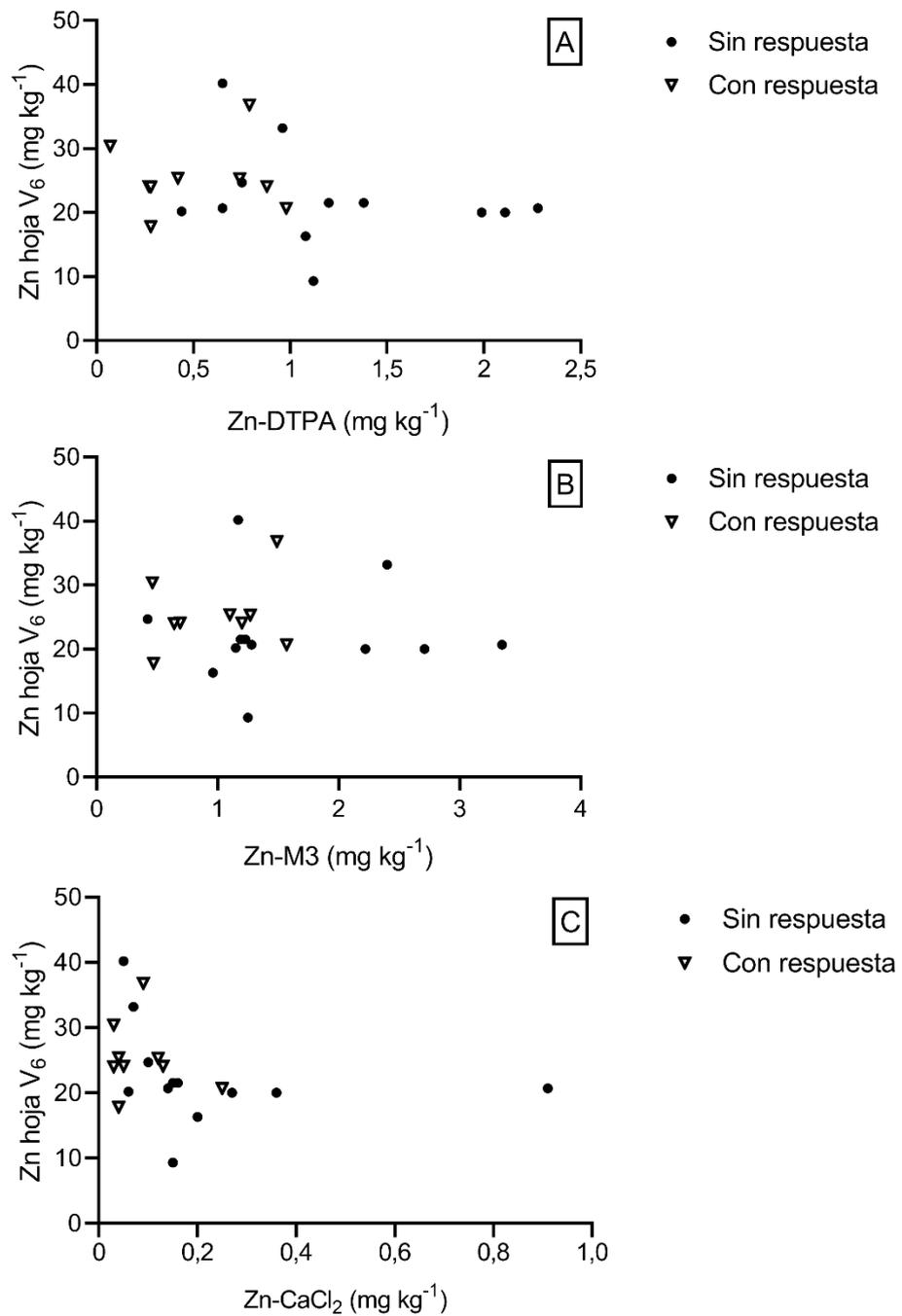
### **4.3. Resultados y discusión**

#### **4.3.1. Concentración de Zn en la última hoja desarrollada en el estadio V<sub>6</sub>**

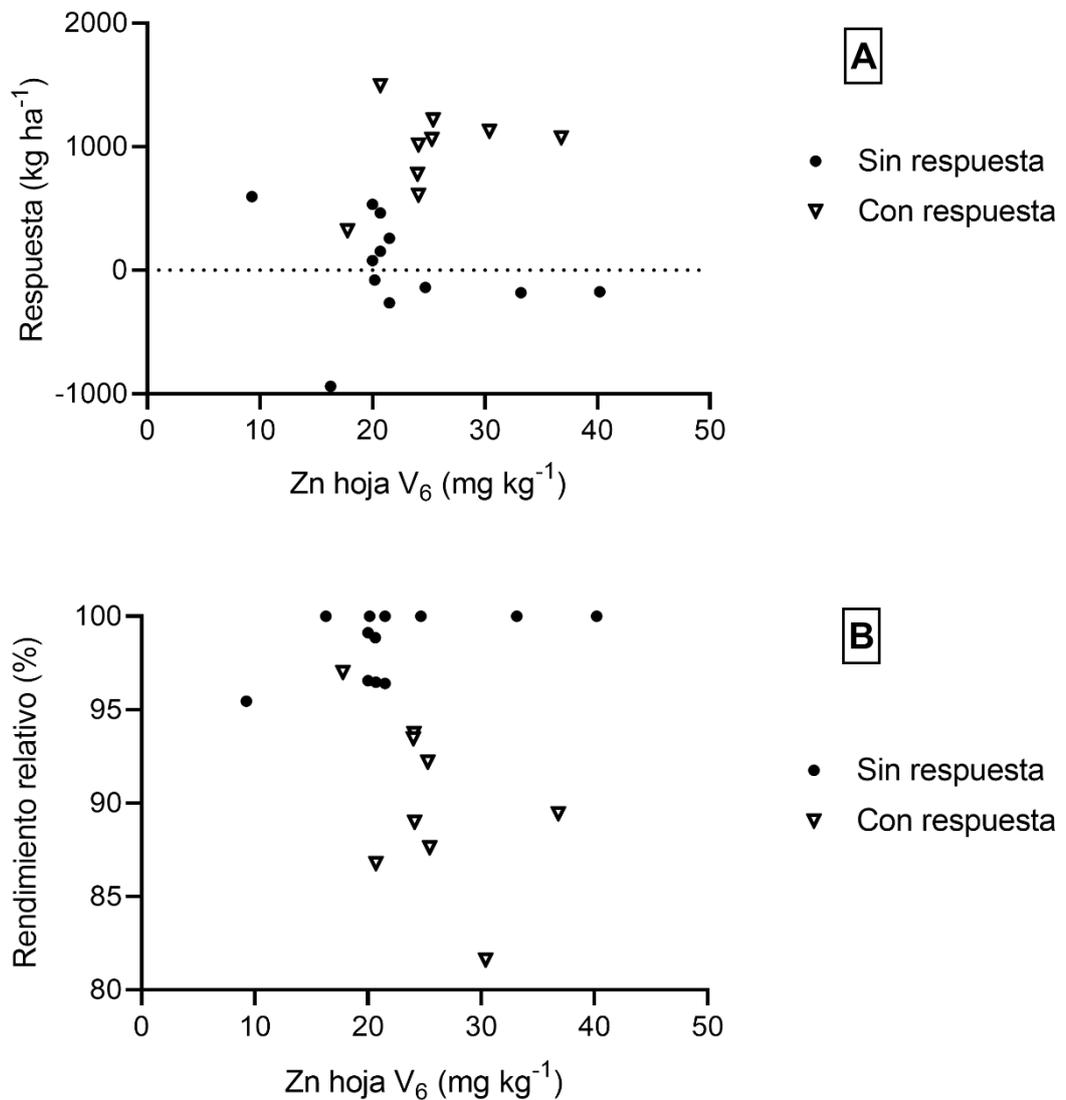
La concentración de Zn en la última hoja desarrollada en el estadio V<sub>6</sub> varió entre 9,3 y 40,2 mg kg<sup>-1</sup> (Tabla V, Apéndice). Al momento no se encontraron estudios que reporten concentración de Zn en hoja en V<sub>6</sub>. En la Figura 16 se muestra la relación entre la concentración de Zn en hoja en el estadio V<sub>6</sub> y el Zn disponible en el suelo por distintas metodologías: A) Zn-DTPA, B) Zn-M3 y C) Zn-CaCl<sub>2</sub>. Contrariamente a lo esperado, no se observó relación significativa entre la concentración de Zn en hoja en el estadio V<sub>6</sub> y la disponibilidad de Zn en el suelo para ninguna de las metodologías estudiadas. Esto podría explicarse por i) diferencias en factores ambientales que afectan la disponibilidad de Zn en el suelo y el crecimiento radical, como temperatura (Ma y Uren, 1997) y micorrización (Imaz *et al.*, 2014) y ii) diferencias en la eficiencia de absorción de Zn entre híbridos. En este sentido, Dong *et al.* (1995), en un estudio en macetas, reportaron diferencias en la eficiencia de absorción de Zn en estadios tempranos entre cultivares de trigo y lo atribuyeron a que las variedades más eficientes desarrollaron raíces más largas y finas. Al momento no se conocen estudios que comparen la eficiencia de absorción de Zn en estadios temprano de híbridos de maíz.

En cuanto a la repuesta en rendimiento en grano, en la Figura 17 se observa que no hay relación entre esta variable o el rendimiento relativo y la concentración de Zn

de la última hoja desarrollada al estadio V<sub>6</sub>. La concentración de Zn en hoja en V<sub>6</sub> del tratamiento testigo de los sitios con respuesta significativa de rendimiento en grano a la fertilización con Zn varió entre 20,7 y 36,8 mg kg<sup>-1</sup>. Mientras que en los sitios sin respuesta dicho rango fue entre 9,3 y 40,2 mg kg<sup>-1</sup>. La falta de asociación entre respuesta o rendimiento relativo y la concentración de Zn en hoja indica que la metodología de Zn en hoja al estadio de V<sub>6</sub> no es robusta para la predicción de la respuesta a Zn en maíz. Esto se debería a que en V<sub>6</sub> aún no ocurrió el momento de mayor requerimiento de Zn (Bender *et al.*, 2013; Ciampitti y Vyn, 2013) y a que al momento de V<sub>6</sub> pueden ocurrir “deficiencias de oportunidad”. En este sentido, se ha reportado la aparición de síntomas de deficiencias de Zn en maíz en la segunda o tercera semana del ciclo del cultivo, que pueden durar semanas y luego desaparecer por completo (Lindsay, 1972; Lins y Cox, 1988; Ratto y Míguez, 2006). Esto se explica por el hecho de que se trata de un nutriente poco móvil en el suelo (Bray, 1963) y a que el maíz tiene una primera etapa de crecimiento radicular lento (0,3-0,9 cm d<sup>-1</sup>; Ordóñez *et al.*, 2018). Aproximadamente luego de V<sub>5</sub> la tasa de crecimiento radical empieza a aumentar (2,5-3,5 cm d<sup>-1</sup>; Ordóñez *et al.*, 2018) lo que se traduce en un mayor volumen de suelo explorado. Consecuentemente, la planta logra una mayor disponibilidad de Zn mediante intercepción radical. A su vez, conforme avanza el ciclo del cultivo aumenta la colonización micorrícica (Imaz *et al.*, 2014) y la temperatura del suelo lo que favorece la solubilización y la difusión de Zn a las raíces a partir de fracciones potencialmente disponibles (Ellis *et al.*, 1964; Ma y Uren, 1997).



**Figura 16.** Relación entre la concentración de zinc (Zn) en hoja en el estadio V<sub>6</sub> (mg kg<sup>-1</sup>) y la disponibilidad de Zn en el suelo (mg kg<sup>-1</sup>) mediante distintas metodologías: A) Zn-DTPA; B) Zn-Mehlich-3 y C) Zn-CaCl<sub>2</sub>. Círculos llenos indican sitios sin respuesta significativa de rendimiento en grano a la fertilización con Zn, mientras que triángulos vacíos indican sitios con respuesta significativa a la fertilización con Zn.



**Figura 17.** Relación entre la respuesta en rendimiento en grano (kg ha<sup>-1</sup>) (A) o el rendimiento relativo (%) (B) y la concentración de zinc (Zn) en la última hoja desarrollada al estadio V<sub>6</sub> (mg kg<sup>-1</sup>) (n = 21). Círculos llenos indican sitios sin respuesta significativa de rendimiento en grano a la fertilización con Zn, mientras que triángulos vacíos indican sitios con respuesta significativa a la fertilización con Zn.

#### 4.3.2. Concentración de Zn en la hoja por debajo de la espiga en el estadio R<sub>1</sub>

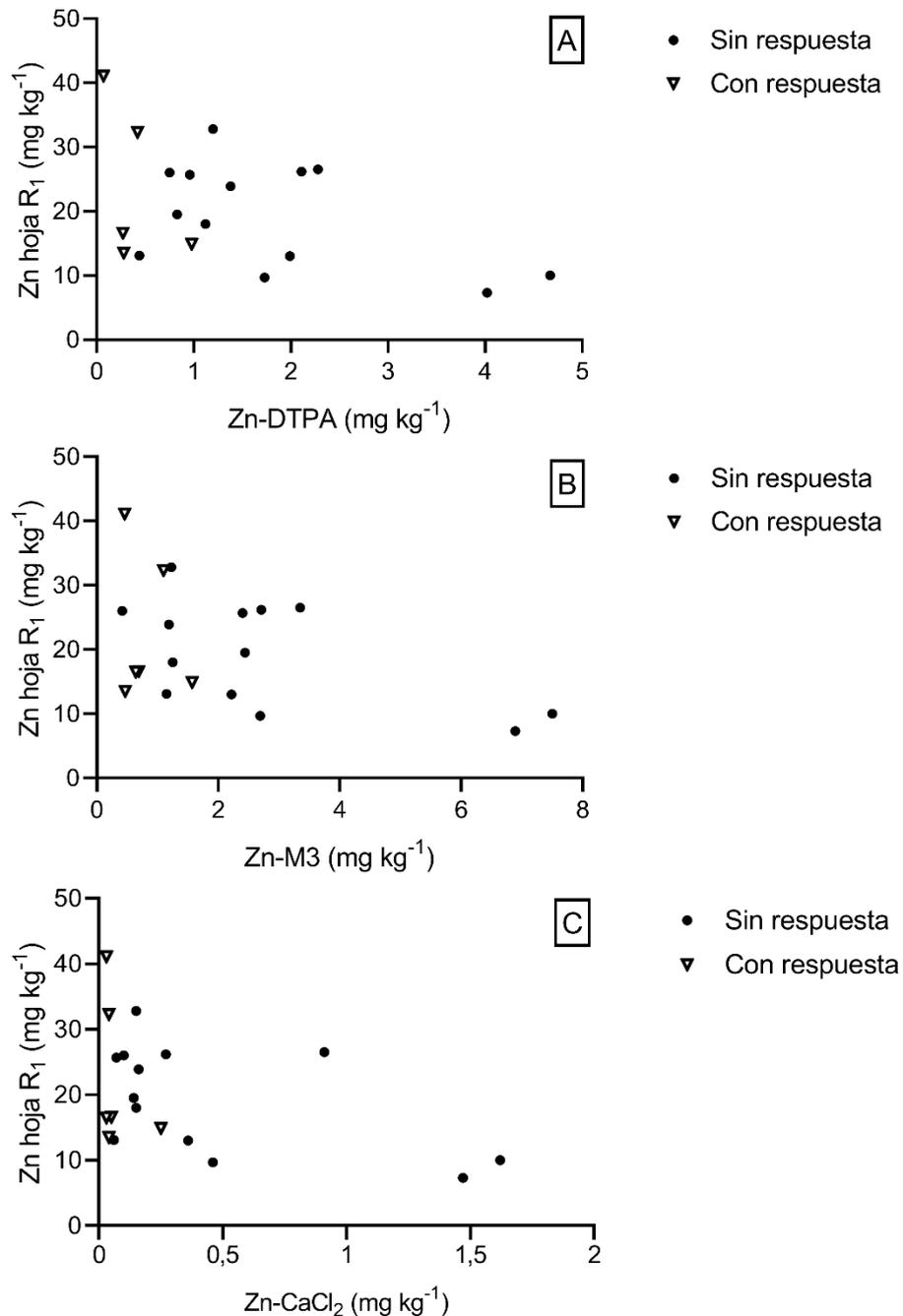
La concentración de Zn en la hoja por debajo de la espiga en el estadio R<sub>1</sub> varió entre 7,3 y 41 mg kg<sup>-1</sup> (Tabla V, Apéndice). Este rango es similar al determinado por Peaslee (1980) (7-30 mg kg<sup>-1</sup>), pero inferior y más estrecho que el informado para híbridos antiguos de maíz por Melsted *et al.* (1969) (17-54 mg kg<sup>-1</sup>). Bender *et al.* (2013) para seis híbridos de maíz modernos, reportaron una concentración promedio

de Zn en hoja en el estadio R<sub>1</sub> (29 mg kg<sup>-1</sup>) dentro del rango obtenido en este estudio. De manera análoga a lo sucedido con la concentración de Zn en hoja en V<sub>6</sub>, no hubo relación entre la concentración de Zn en la hoja por debajo de la espiga en R<sub>1</sub> y la disponibilidad de Zn en el suelo (Figura 18).

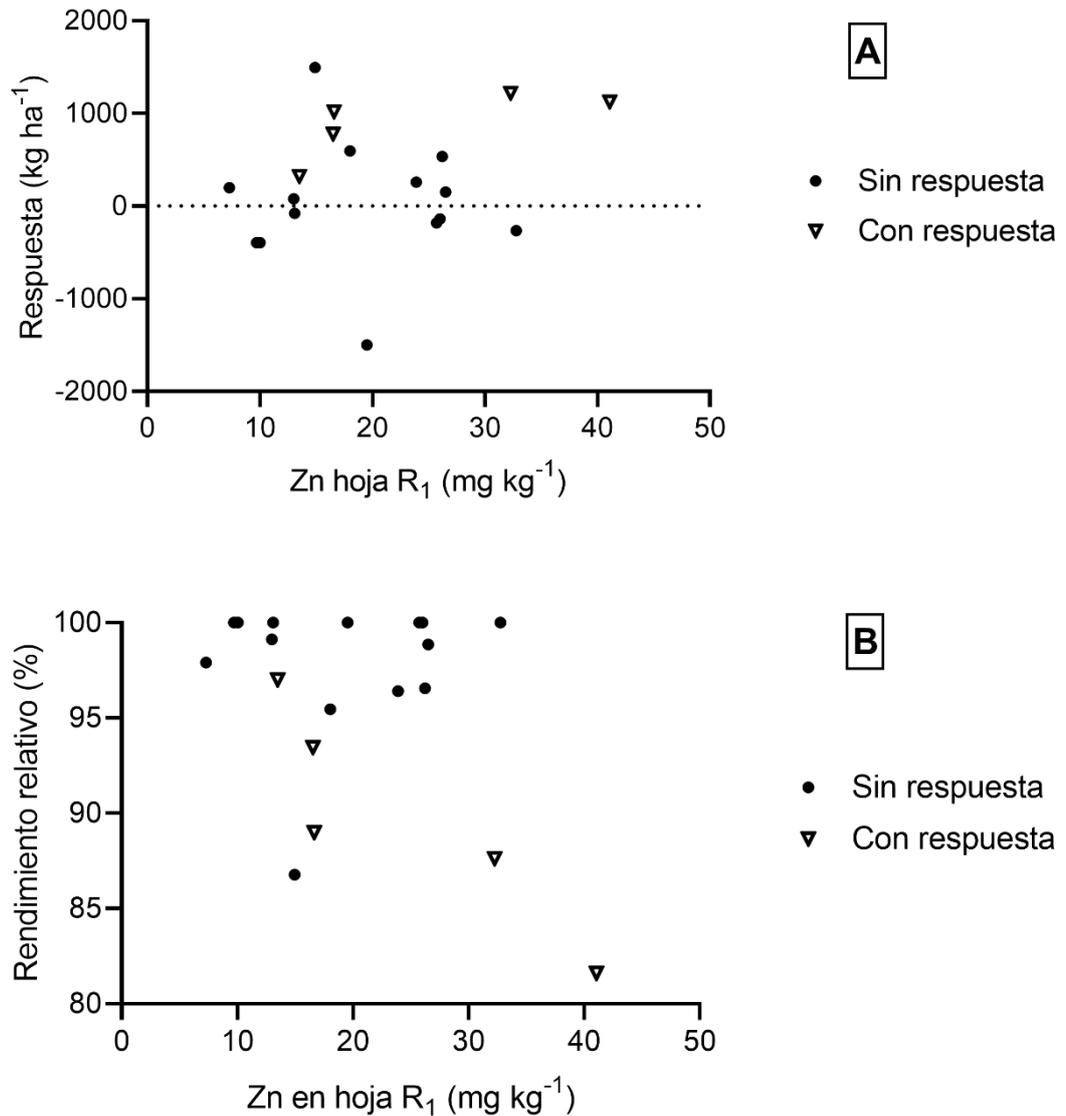
En cuanto a la respuesta en rendimiento en grano, tampoco hubo relación entre la concentración de Zn en la hoja por debajo de la espiga en R<sub>1</sub> y la respuesta de rendimiento en grano (Figura 19A) o el rendimiento relativo (Figura 19B). Al revisar la bibliografía internacional de rangos de suficiencia de Zn en maíz (Benton Jones Jr. *et al.*, 1990; Mills *et al.*, 1996) se encontró que los mismos son rangos de concentraciones de Zn en hoja de muestras de ensayos y/o cultivos de producción, pero no son calibraciones propiamente dichas. Es decir, en los trabajos publicados no se relaciona crecimiento, biomasa, rendimiento o alguna otra variable indicadora de una eventual deficiencia de Zn con la concentración de este nutriente en la planta. Los resultados de esta tesis indican que hay otras variables, genéticas o ambientales, que afectan la relación entre la respuesta en rendimiento y la concentración de Zn en hoja por debajo de la espiga. En este sentido, Bagci *et al.* (2007) reportaron diferencias en la eficiencia de uso de Zn (kg de grano kg de Zn absorbido<sup>-1</sup>) entre cultivares de trigo pan y trigo fideo (*Triticum durum* L.). Por lo tanto, esta metodología no permite una calibración robusta que abarque diversos híbridos y ambientes, sino que probablemente requeriría una calibración híbrido-específica.

Se esperaba que la concentración de Zn en R<sub>1</sub> fuera un mejor estimador de la respuesta en grano respecto a V<sub>6</sub>, ya que hasta R<sub>1</sub> se absorbe el 56% del total de Zn de la planta de maíz (en parte aérea, sin tener en cuenta las raíces) (Bender *et al.*, 2013; Ciampitti y Vyn, 2013). Sin embargo, del total de Zn absorbido por la planta al momento de R<sub>1</sub> (279 g Zn ha<sup>-1</sup>), el 11% (30 g Zn ha<sup>-1</sup>) se encuentra en estructuras reproductivas, el 39% (109 g Zn ha<sup>-1</sup>) en las hojas y el 50% (140 g Zn ha<sup>-1</sup>) en el tallo (Bender *et al.*, 2013; Ciampitti y Vyn, 2013). En este sentido, Tariq *et al.* (2014) al comparar tres híbridos de maíz, encontraron que la concentración de Zn en tallo (a la cosecha) fue muy sensible a la aplicación de Zn (27,1-29,7 mg kg<sup>-1</sup> testigo vs. 74,9-96,5 mg kg<sup>-1</sup> fertilizado con Zn). Por lo tanto, es posible hipotetizar que la concentración de Zn en tallo sea una determinación más sensible y robusta que la concentración de Zn en hoja por debajo de la espiga para utilizar en el diagnóstico de Zn. Un análisis en detalle de la variación de Zn dentro del canopeo al momento de floración podría ayudar a clarificar cuál es el mejor órgano de muestreo para diagnosticar Zn. En investigaciones futuras sería interesante medir el área foliar de

cada hoja para realizar ajustes de concentración específica de Zn basado en el área foliar. Esto podría mejorar a futuro el ajuste de las correlaciones al considerar cambios en el canopeo (como por ejemplo el causado por distintas densidades de plantas) y diferencias entre híbridos de maíz (Ciampitti, comunicación personal).



**Figura 18.** Relación entre concentración de zinc (Zn) en hoja en el estadio R<sub>1</sub> (mg kg<sup>-1</sup>) y la disponibilidad de Zn en el suelo (mg kg<sup>-1</sup>) mediante distintas metodologías: A) Zn-DTPA; B) Zn-Mehlich-3 y C) Zn-CaCl<sub>2</sub>. Círculos llenos indican sitios sin respuesta significativa de rendimiento en grano a la fertilización con Zn, mientras que triángulos vacíos indican sitios con respuesta significativa a la fertilización con Zn.



**Figura 19.** Relación entre la respuesta de rendimiento en grano (kg ha<sup>-1</sup>) (A) o el rendimiento relativo (%) (B) y la concentración de zinc (Zn) en la hoja por debajo de la espiga al estadio R<sub>1</sub> (mg kg<sup>-1</sup>) (n = 19). Círculos llenos indican sitios sin respuesta significativa de rendimiento en grano a la fertilización con Zn, mientras que triángulos vacíos indican sitios con respuesta significativa a la fertilización con Zn.

#### 4.3.3. Concentración de Zn en grano

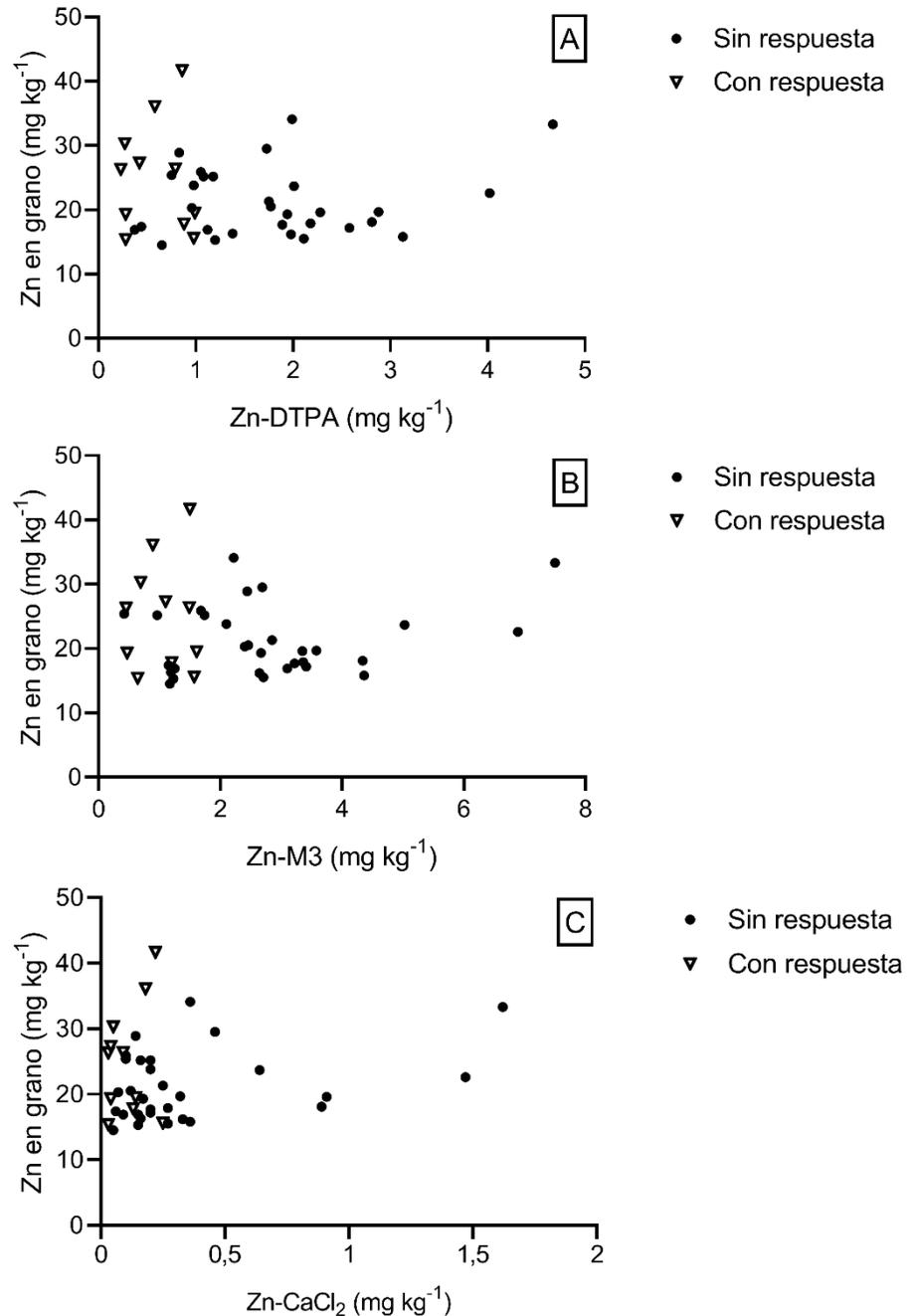
El rango de concentración de Zn en grano a través de los sitios fue de 14,5 a 41,7 mg kg<sup>-1</sup> para el tratamiento testigo y de 11,7 a 42,3 mg kg<sup>-1</sup> para el tratamiento fertilizado con Zn (Tabla V, Apéndice). La aplicación de Zn aumentó la concentración

de Zn en grano en 2 de 45 sitios (sitios 7 y 45; Tabla V, Apéndice) y solo 2 sitios (15 y 37; Tabla V, Apéndice) presentaron concentraciones de Zn en grano por encima del valor óptimo de Zn en grano de maíz para la salud humana ( $38 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Bouis y Welch, 2010). Estos resultados confirman otros (Cakmak y Kutman, 2018; Zhao *et al.*, 2020) previamente reportados para trigo y arroz (*Oryza sativa* L.), donde la aplicación de Zn en etapas tempranas del cultivo mejoró el rendimiento sin afectar la concentración de Zn en el grano. A su vez, Cakmak y Kutman (2018) informaron que la concentración de Zn en el grano de maíz respondió menos a la aplicación de Zn (9%) en comparación al trigo y el arroz (86% y 27%, respectivamente). Esto se debería a la menor removilización del Zn en planta: 15% en maíz (Bender *et al.*, 2013) vs. 50-60% en trigo (Liu *et al.*, 2019).

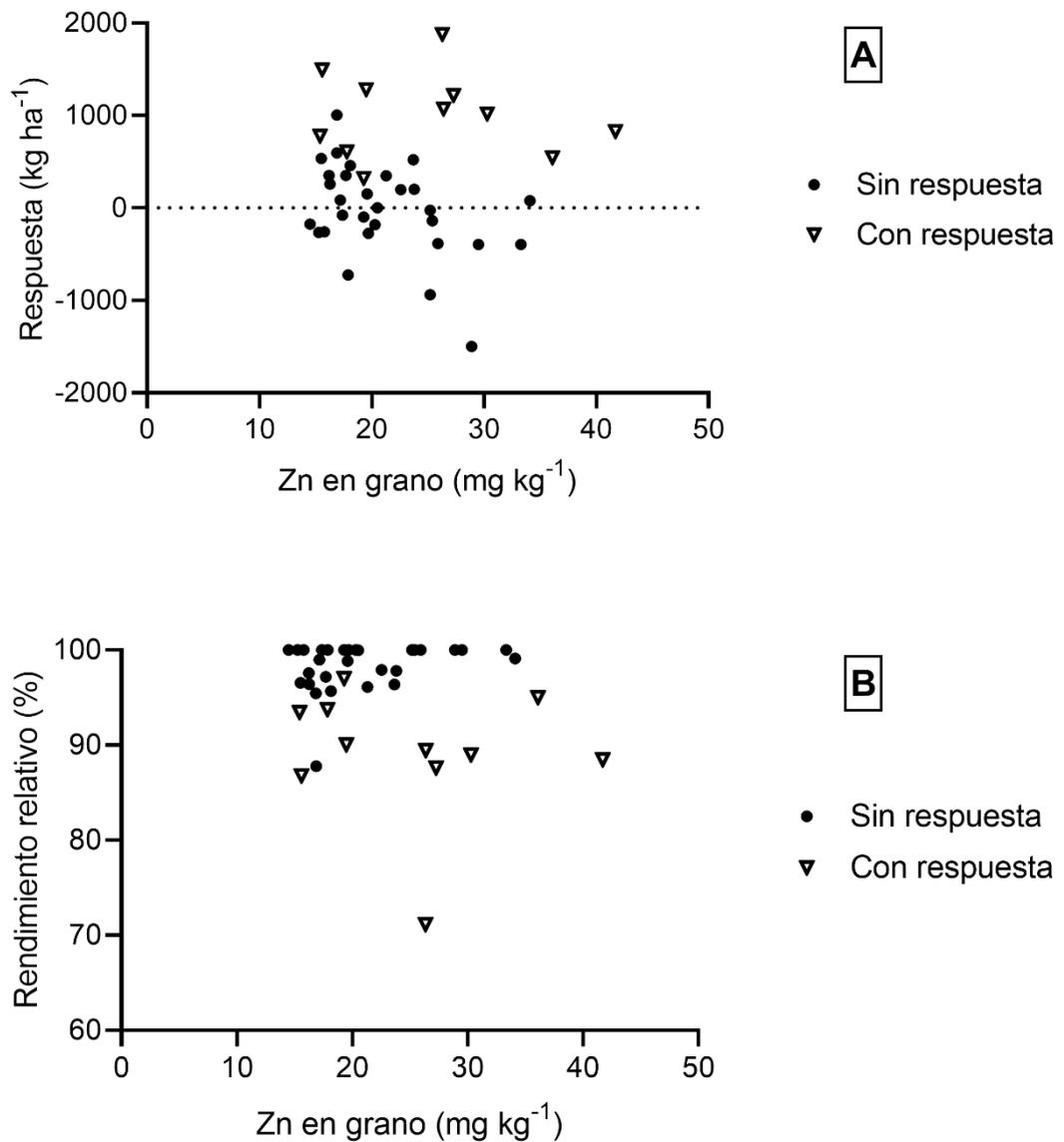
Contrariamente a lo hipotetizado, no hubo relación entre la concentración de Zn en grano del tratamiento testigo y la disponibilidad de Zn en el suelo (Figura 20) mediante ninguna de las metodologías estudiadas (Zn-DTPA, Zn-M3 o Zn- $\text{CaCl}_2$ ). Tampoco se observó relación alguna entre la respuesta de rendimiento en grano (Figura 21A) o el rendimiento relativo (Figura 21B) y la concentración de Zn en grano. En cambio, en un ensayo en macetas y usando un solo híbrido (H-652), Rashid y Fox (1992) lograron relacionar el rendimiento relativo con la concentración de Zn en grano de maíz, definiendo un umbral crítico de  $18 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Debido a limitaciones en el sistema experimental adoptado en esta tesis no se pueden discriminar los efectos genéticos de los del ambiente. Sin embargo, al no haber relación alguna entre la concentración de Zn en grano y la disponibilidad de Zn en el suelo (asumida como el factor más importante en la caracterización del ambiente en relación a la nutrición con Zn), los resultados permiten hipotetizar que en maíz existe un fuerte componente genético que condiciona la concentración de Zn en grano. En tal sentido, Massey y Loeffel (1966), compararon la concentración de Zn en grano de 29 líneas endogámicas de maíz, obteniendo un rango de 15,5 a  $38,4 \text{ mg kg}^{-1}$ . Más recientemente, en un estudio donde se compararon dos líneas endogámicas (B84 y Os6-2) pertenecientes a grupos de genes opuestos del germoplasma del cinturón maicero de EE. UU., Šimić *et al.* (2009) determinaron efecto del genotipo y del ambiente para la concentración de Zn en grano. Para el caso del maíz “colorado duro” o “Flint”, Zbinden *et al.* (2018) compararon dos híbridos (NT426 y ACA514) encontrando efecto del genotipo para la concentración de Zn en grano ( $24,9$  y  $21,6 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente). En tal sentido, el rango de concentración de Zn en grano de maíz observado en esta tesis ( $11,7$  a  $42,3 \text{ mg kg}^{-1}$ ), constituye un resultado promisorio

para identificar genotipos de maíz con alta concentración de Zn en grano destinados al consumo humano o animal, lo que se conoce como biofortificación genética (Cakmak, 2008) o, por el contrario, identificar genotipos altamente eficientes en el uso de Zn, que podrían ser destinados a usos no alimenticios como por ejemplo la producción de biocombustibles, entre otros, haciendo un uso racional del recurso Zn. Por otro lado, calibrar rangos críticos de concentración de Zn en grano híbrido-específicos, como los desarrollados para dos genotipos de maíz de Pakistán por Kanwal *et al.* (2010), es proponer un sistema muy complejo, difícil de alcanzar a escala de productor, lo que limitaría el uso de la herramienta de diagnóstico. Futuras investigaciones deberían focalizarse en observar la variación entre híbridos e identificar si esa variación se puede agrupar en función de características comunes de esos híbridos, como composición nutricional (proteína, aceite) y tipo de endosperma (amiláceo, córneo, vítreo, etc.) de la semilla (Ciampitti, comunicación personal).



**Figura 20.** Relación entre concentración de zinc (Zn) en grano del tratamiento testigo (mg kg<sup>-1</sup>) y la disponibilidad de Zn en el suelo (mg kg<sup>-1</sup>) mediante distintas metodologías: A) Zn-DTPA; B) Zn-Mehlich-3 y C) Zn-CaCl<sub>2</sub>. Círculos llenos indican sitios sin respuesta significativa de rendimiento en grano a la fertilización con Zn, mientras que triángulos vacíos indican sitios con respuesta significativa a la fertilización con Zn.



**Figura 21.** Relación entre la respuesta de rendimiento en grano ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) (A) o el rendimiento relativo (%) (B) y la concentración de Zn en grano de los tratamientos testigo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) ( $n = 41$ ). Círculos llenos indican sitios sin respuesta significativa de rendimiento en grano a la fertilización con Zn, mientras que triángulos vacíos indican sitios con respuesta significativa a la fertilización con Zn.

#### 4.3.4. Exportación de Zn en grano

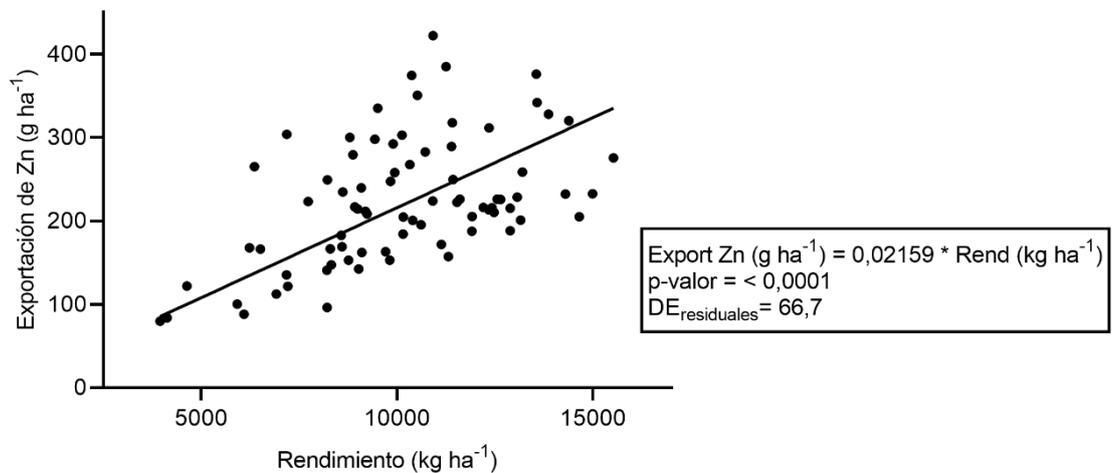
En la Tabla 11 se presentan estadísticos descriptivos para la exportación de Zn en grano. El rango de exportación de Zn para el tratamiento testigo fue de 83,9 a 374,4  $\text{g ha}^{-1}$ , mientras que para el tratamiento fertilizado con Zn fue de 79,9 a 422,2  $\text{g ha}^{-1}$ . Ciampitti y Vyn (2013) informaron un rango de exportación de Zn en maíz más amplio (81-523  $\text{g ha}^{-1}$ ). La variabilidad fue similar para ambos tratamientos (coeficiente de

variación de 31,9 y 34,9% para los tratamientos testigo y Zn-fertilizado, respectivamente). La exportación de Zn promedio (219 y 228 g ha<sup>-1</sup> para los tratamientos testigo y fertilizado, respectivamente) fue menor al promedio (280 g ha<sup>-1</sup>) reportado por Ciampitti y Vyn (2013).

**Tabla 11.** Estadística descriptiva para la exportación de zinc (Zn) en grano para los tratamientos testigo y fertilizado con Zn.

	Exportación de Zn	
	Testigo	Fertilizado con Zn
Promedio (g ha <sup>-1</sup> )	219,3	228,4
Coeficiente de variación (%)	31,9	34,9
Mínimo (g ha <sup>-1</sup> )	83,9	79,9
Cuartil 1 (g ha <sup>-1</sup> )	171,7	166,5
Mediana (g ha <sup>-1</sup> )	222,5	215,3
Cuartil 3 (g ha <sup>-1</sup> )	258,7	282,8
Máximo (g ha <sup>-1</sup> )	374,4	422,2

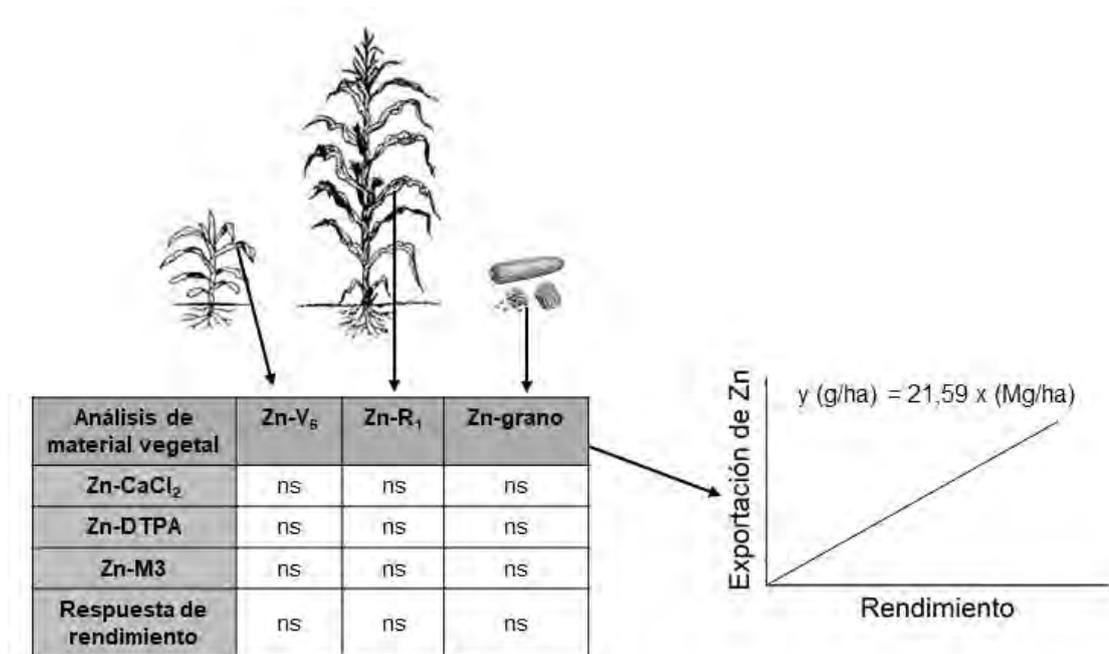
En la Figura 22 se muestra la relación entre la exportación de Zn en grano (g ha<sup>-1</sup>) y el rendimiento en grano de maíz (kg ha<sup>-1</sup>). En un primer momento se realizaron dos modelos, uno para el tratamiento testigo y otro para el tratamiento Zn-fertilizado. Luego de realizar pruebas F de comparación de pendientes se concluyó que las mismas no diferían significativamente entre ambos modelos (p-valor = 0,96). Por lo tanto, se graficó un solo modelo incluyendo todo el conjunto de datos y se forzó a cero la ordenada al origen (Figura 22). Esta información es de utilidad para filosofías de fertilización tanto de mantenimiento como de reconstrucción ya que, para la adopción tanto de una como de otra, se debe considerar la exportación de Zn fuera del sistema. Sin embargo, dada la gran variabilidad observada, sería conveniente realizar análisis de concentración de Zn en grano luego de cosechar el cultivo o usar valores “de tabla” híbrido-específicos.



**Figura 22.** Relación entre la exportación de zinc (Zn) en grano (g ha<sup>-1</sup>) y el rendimiento de grano de los tratamientos testigo y fertilizado con Zn (kg ha<sup>-1</sup>).

#### 4.3.5. Síntesis de resultados

En resumen, en condiciones de campo, no se observaron relaciones significativas entre la concentración de Zn en material vegetal (hoja V<sub>6</sub>, hoja R<sub>1</sub> o grano) y las metodologías de extracción de Zn en suelo (Zn-DTPA, Zn-M3 o Zn-CaCl<sub>2</sub>) (Figura 23). Tampoco hubo relación entre la repuesta en rendimiento en grano (o el rendimiento relativo) y la concentración de Zn en material vegetal (hoja V<sub>6</sub>, hoja R<sub>1</sub> o grano) (Figura 23). Por lo tanto, no se pudo calibrar umbrales críticos de Zn para estas metodologías. En general, la fertilización con Zn no aumentó la concentración de Zn en grano. Por otra parte, se ajustó una función para estimar la exportación de Zn fuera del sistema a partir del rendimiento de grano para las condiciones de la región pampeana (Figura 23).



**Figura 23.** Esquema de síntesis del Capítulo III. ns = no significativo.

#### 4.4 Conclusión

Se recopilaron evidencias suficientes para rechazar la hipótesis I, que profesaba que la concentración de Zn en la hoja de la espiga en R<sub>1</sub> se asocia mejor con la respuesta del rendimiento en grano del maíz a la fertilización con Zn que la concentración de Zn en la última hoja desarrollada en V<sub>6</sub>, ya que ninguna de las dos determinaciones se asoció con la respuesta en rendimiento ni con el rendimiento relativo.

Se rechaza la hipótesis II, la cual postulaba que la concentración de Zn en grano de maíz del tratamiento testigo está asociada positivamente con el Zn disponible en el suelo y negativamente con la respuesta en rendimiento en grano a la fertilización con Zn. No hubo relación alguna entre dichas variables.

Los resultados muestran que tanto Zn en hoja V<sub>6</sub>, como Zn en hoja por debajo de la espiga en R<sub>1</sub> o Zn en grano, no son metodologías de diagnóstico de Zn satisfactorias para maíz, ya que no hubo relación entre la respuesta de rendimiento en grano (o rendimiento relativo) y dichas variables (Figura 23). Sin embargo, es la primera vez que se intenta correlacionar y calibrar estas metodologías en condiciones de campo, ya que al momento solo existían estudios en macetas con un solo híbrido (Zn en grano) y los rangos de concentración informados por otros autores como rangos de

suficiencia ( $Zn-R_1$ ) no son calibraciones propiamente dichas, sino que se trata de valores de referencia, obtenidos en ensayos y campos de producción.

## 5. CONCLUSIONES GENERALES (SÍNTESIS E INTEGRACIÓN)

### 5.1. Síntesis de resultados

El propósito de esta tesis fue dar respuesta a ciertos interrogantes relacionados a la dinámica del Zn en suelo y al diagnóstico de la nutrición con Zn en maíz, que surgieron como consecuencia de la reducción y/o agotamiento de los niveles de Zn disponible en los suelos de la región pampeana por la actividad agrícola en el último siglo. La intención de esta tesis fue comprender e integrar la dinámica del Zn agregado al suelo, la relación del Zn del suelo con ciertas propiedades edáficas, el funcionamiento y la aptitud de distintas metodologías de diagnóstico de la disponibilidad de Zn en suelo y la correlación y calibración de umbrales. Para ello se realizó un experimento en condiciones controladas con distintos suelos, representativos de los suelos de aptitud agrícola de la región pampeana (Capítulo I), y se generó una amplia base de datos de ensayos de fertilización con Zn en maíz en condiciones de campo (Capítulos II y III). En la Figura 24 se presenta un esquema conceptual de síntesis e integración final de los resultados.

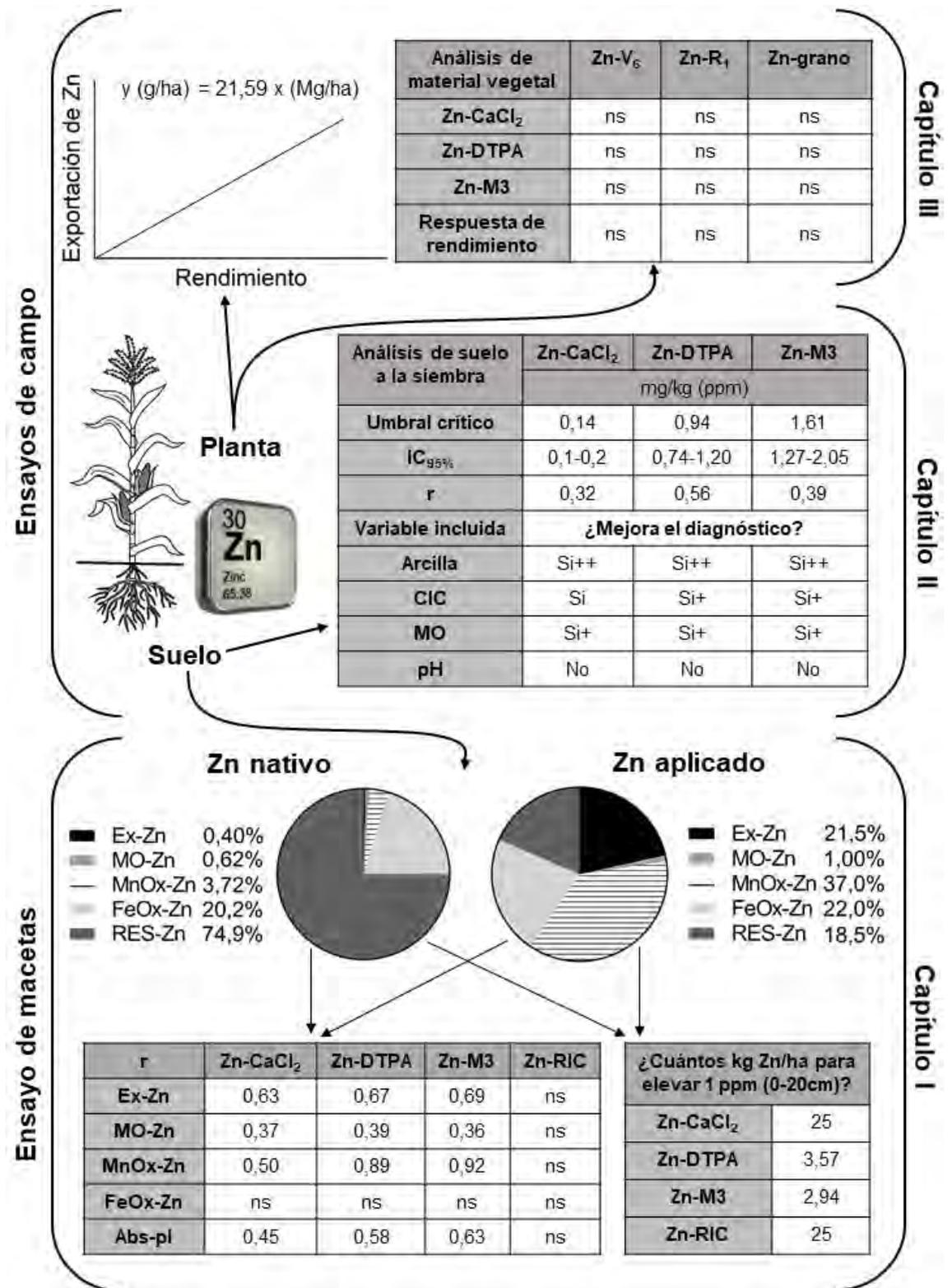
En el **Capítulo I** se planteó **determinar la distribución de Zn nativo** (sin agregado de Zn) **y aplicado** (con agregado de Zn) **en las distintas fracciones de Zn** de suelo. La distribución promedio de las fracciones de Zn nativo fue: RES-Zn (74,6%)> FeOx-Zn (20,2%)> MnOX-Zn (3,7%)> MO-Zn (0,62%)> EX-Zn (0,4%) (Figura 24). El Zn aplicado, proveniente de la fertilización se distribuyó en promedio MnOx-Zn (37%)> FeOx-Zn (22%)> Ex-Zn (21,5%)> RES-Zn (18,5%)> MO-Zn (1%). Otro objetivo consistió en **estudiar la relación entre la absorción de Zn por la planta de maíz, las fracciones de Zn del suelo y los índices estimadores de la disponibilidad de Zn en el suelo**. Tanto Zn-DTPA como Zn-M3 (los extractantes quelantes), se correlacionaron muy estrechamente con MnOx-Zn, estrechamente con el Ex-Zn y débilmente con MO-Zn (Figura 24). El Zn-CaCl<sub>2</sub> se correlacionó estrechamente con el Ex-Zn, moderadamente con el MnOx-Zn y débilmente con el MO-Zn. Por último, Zn-RIC no correlacionó significativamente con ninguna de las fracciones químicas de Zn. Los resultados muestran que las fracciones que más influyen en la absorción de Zn del maíz son MnOx-Zn, MO-Zn y Ex-Zn. Los extractantes quelantes Zn-DTPA y Zn-M3 fueron los que mostraron mayor correlación con la absorción de Zn del maíz, seguidos por Zn-CaCl<sub>2</sub>, mientras que Zn-RIC no mostró correlación significativa (Figura 24).

En el presente trabajo se realizó por primera vez la evaluación de Zn-RIC en relación a las fracciones de Zn del suelo que cuantifica, abarcando un amplio rango de propiedades edáficas y comparándola con otras metodologías de extracción. En la bibliografía internacional tampoco se conocen trabajos que reporten la dinámica del Zn aplicado (redistribución del Zn, asociación entre fracciones y propiedades edáficas, funcionamiento y aptitud de las metodologías de extracción, etc.) en Molisoles de horizonte superficial no calcáreo, ya que las deficiencias de Zn y, por lo tanto, las investigaciones relacionadas a esta deficiencia, son más frecuentes en suelos calcáreos o muy lixiviados. Además, por primera vez se comparó la sensibilidad de las distintas metodologías indicadoras de Zn disponible frente aplicación de Zn al suelo.

Por otra parte, en la bibliografía internacional son escasos los trabajos de correlación y comparación de metodologías de diagnóstico de micronutrientes en condiciones de campo, probablemente debido a su alto costo de tiempo y dinero. Sin embargo, para lograr un manejo intensificado y sustentable de la fertilidad de suelos y la nutrición de cultivos, es esencial contar con calibraciones robustas realizadas en condiciones de campo, porque, en definitiva, es en ese escenario (el lote, el ambiente, o la zona de manejo) donde se requiere aplicar dicha herramienta (diagnosticar) y, para ello, es necesario darle un “significado de rendimiento” (o rendimiento relativo) a cada valor de análisis de suelo o planta. En tal sentido, en el **Capítulo II** se planteó **analizar la respuesta en rendimiento en grano a la aplicación de Zn en el cultivo de maíz y relacionar la misma con la determinación Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-DTPA y Zn-M3 en pre-siembra y determinar si la inclusión de pH del suelo, contenido de MO, contenido de arcilla o CIC a los modelos de Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-DTPA o Zn-M3 mejora su capacidad predictiva**. Se observó respuesta significativa de rendimiento en grano a la fertilización con Zn en 13 de 45 sitios, siendo la respuesta promedio a través de los sitios con respuesta de 1,01 Mg ha<sup>-1</sup>. Los umbrales críticos para rendimiento en grano variaron considerablemente entre metodologías de extracción siendo de 0,14, 0,94 y 1,6 mg kg<sup>-1</sup> para Zn-CaCl<sub>2</sub>, Zn-DTPA y Zn-M3, respectivamente (Figura 24). Los resultados indican que Zn-DTPA es la metodología que mejor explica el rendimiento relativo de maíz, seguido por Zn-M3 y, en último lugar, Zn-CaCl<sub>2</sub>. Tanto el contenido de arcilla, la CIC, como la MO contribuyeron a mejorar significativamente los modelos de Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub> (Figura 24). En el presente trabajo se realizó por primera vez la comparación de metodologías de diagnóstico de Zn en suelo para maíz en condiciones de campo. Los umbrales de Zn-M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub> calibrados en este trabajo son los primeros reportados para maíz mediante ensayos en condiciones de

campo. Además, es la primera vez que se incluyen las variables contenido de arcilla y CIC a modelos de diagnóstico de Zn desarrollados a partir de análisis de suelos con el fin de mejorar la predicción de la respuesta a la fertilización con Zn en el cultivo de maíz.

Por último, se diseñó el Capítulo III con la intención de desarrollar métodos de diagnóstico de la disponibilidad de Zn basados en análisis de material vegetal que fueran complementarios a los de suelo (Capítulos I y II) y que permitan monitorear el estatus de Zn del cultivo. Trabajos previos sugerían metodologías de diagnóstico de Zn en  $R_1$ , momento en el cual revertir una eventual deficiencia es engorroso, por lo tanto, se propuso evaluar el estadio  $V_6$  como una alternativa más temprana. También se consideró útil contar con una metodología retrospectiva como podría ser el análisis de Zn en grano. Para ello se propuso **evaluar la concentración de Zn en hoja (estadio  $V_6$  y  $R_1$ ) y en grano como métodos de monitoreo del estatus de Zn en el cultivo de maíz**. Los resultados muestran que tanto Zn en hoja  $V_6$ , como Zn en hoja por debajo de la espiga en  $R_1$  o Zn en grano, no son metodologías de diagnóstico de Zn satisfactorias para maíz, ya que no hubo relación entre la respuesta de rendimiento en grano (o rendimiento relativo) y dichas variables (Figura 24). Sin embargo, es la primera vez que se intenta correlacionar y calibrar estas metodologías en condiciones de campo, ya que al momento solo existían estudios en macetas con un solo híbrido (Zn en grano) y los rangos de concentración informados por otros autores como rangos de suficiencia (Zn  $R_1$ ) no son calibraciones propiamente dichas, sino que se trata de valores de referencia, obtenidos en ensayos y campos de producción. Además, se planteó **determinar la relación entre la exportación de Zn en grano del cultivo de maíz y el rendimiento en grano**. Los resultados permitieron ajustar un modelo lineal para estimar la exportación de Zn en maíz a partir del rendimiento de grano para un amplio rango de condiciones edafoclimáticas de la región pampeana (Figura 24).



**Figura 24.** Esquema de síntesis e integración final de los resultados obtenidos en este trabajo de tesis, titulado “Comparación de métodos de análisis de suelo y planta para el diagnóstico de la disponibilidad de zinc en maíz”. IC95% = intervalo del 95% de confianza; r = coeficiente de correlación; ns= no significativo.

## **5.2. Implicancias en el manejo racional de la fertilización con Zn en maíz**

Los umbrales y rangos críticos calibrados a campo para las distintas metodologías de extracción de Zn en suelo (Figuras 12, 13 y 14 del Capítulo II) permiten (luego de realizar un correcto muestreo de suelos y determinaciones de laboratorio precisas) definir la probabilidad de respuesta a la aplicación con Zn. Aplicando un criterio de uso racional del Zn se sugiere: i) por encima del intervalo de confianza o rango crítico: no aplicar o solo aplicar dosis de mantenimiento (reposición de la extracción del cultivo); ii) dentro del intervalo de confianza: es el valor que requiere mayor interpretación por parte de los tomadores de decisiones y donde hay que tener en cuenta todos los factores que afectan la disponibilidad de Zn (por ej. incluir otras variables como el contenido de arcilla, la CIC y/o la MO) sumado a la relación de precios entre grano y fertilizante de Zn; y iii) por debajo del intervalo de confianza: es la zona de alta probabilidad de respuesta, donde se sugiere aplicar dosis de reconstrucción al suelo.

Para filosofías de mantenimiento, donde la dosis de nutriente a aplicar equivale a la exportación del mismo fuera del sistema, lo más preciso es realizar análisis de concentración de Zn en grano, dado la gran variabilidad que se observó para esta determinación en el Capítulo III. Sin embargo, el uso de la ecuación de la Figura 22 (Capítulo III) es una estimación técnicamente aceptable.

En el caso de filosofías de reconstrucción, la dosis a aplicar en el suelo debe cubrir la exportación del nutriente fuera del sistema y, a su vez, aportar un exceso de nutriente de manera de generar un balance positivo y aumentar la disponibilidad residual del mismo en el suelo. Por lo tanto, el cálculo de la dosis de reconstrucción tendrá dos términos: i) calcular la exportación mediante la ecuación de la Figura 22 (es el componente de mantenimiento) y ii) calcular la cantidad de Zn en exceso a aplicar para elevar la disponibilidad de Zn en el suelo, utilizando las tasas promedio de la Tabla 6 (Capítulo I), según la metodología de extracción utilizada para determinar la disponibilidad de Zn inicial.

## **5.3. Contribución a la sostenibilidad de los agro-ecosistemas**

El maíz es principal cereal de verano en Argentina y en el mundo. Entre los múltiples servicios ecosistémicos que brinda el cultivo de maíz, este se destaca por ser un excelente fijador de carbono atmosférico (metabolismo C4). Frente a un escenario mundial de aumento poblacional, contaminación ambiental y cambio climático, uno de

los grandes desafíos para las próximas décadas es satisfacer dos demandas sociales contrapuestas: aumentar la producción de alimentos en cantidad y calidad y disminuir el impacto ambiental de la agricultura basada en insumos. Es así como la sostenibilidad de los agroecosistemas, basada en los cuatro pilares: ambiente, economía, producción y sociedad, tiene cada vez mayor relevancia. En este sentido, se espera que las exigencias y demandas sociales sean particularmente importantes para el maíz, una especie que se caracteriza tanto por un alto potencial de rendimiento, como así también por su alta sensibilidad a la disponibilidad de recursos para alcanzar esos rendimientos potenciales. Es por ello que los esfuerzos de manejo del cultivo de maíz tienen como principales objetivos mejorar la eficiencia de uso de los recursos y aumentar y estabilizar los rendimientos en todos los ambientes.

La misión general de esta tesis, lograr un diagnóstico adecuado de la nutrición con Zn en maíz a través de un mayor conocimiento de los procesos inherentes a la misma, va en línea con ambos objetivos. Dicho de otra manera, comprender la distribución del Zn nativo y del Zn aplicado al suelo y aumentar la productividad del maíz por unidad de superficie mediante un manejo racional del Zn son conocimientos importantes y necesarios para una gestión eficaz, eficiente y sostenible de los recursos e insumos. Los resultados de esta tesis contribuyen a los cuatro pilares de la sostenibilidad de los agro-ecosistemas mediante: i) evitar pérdidas de rendimiento por deficiencia de Zn (producción y economía); ii) al evitar deficiencias de Zn, también se mejora la eficiencia de uso de otros recursos del ambiente (agua, espacio físico, nutrientes, radiación) como la eficiencia de uso de otros insumos (por ej. fertilizantes) (ambiente); iii) evitar problemas de toxicidad y contaminación por aplicaciones sistemáticas de Zn (ambiente y producción); iv) hacer un uso racional y responsable de los fertilizantes y las reservas minerales de Zn (ambiente y sociedad); y v) optimizar costos de producción (economía).

#### **5.4. Futuras investigaciones en relación al Zn en suelos y cultivos**

En cuanto a las futuras líneas de investigación de Zn en maíz, sería ventajoso identificar híbridos y líneas parentales con mayor capacidad de acumular Zn en grano, lo que se conoce como biofortificación genética, destinados a la alimentación humana. En contraposición, también sería útil identificar híbridos más eficientes en el uso de Zn (por ejemplo, menor requerimiento de Zn en planta para producir grano y/o menor concentración de Zn en grano) destinados a fines industriales como la producción de

biocombustibles. A futuro sería interesante desarrollar calibraciones para determinar condiciones de deficiencia de Zn utilizando otros órganos de muestreo (como el tallo) y/o tener en cuenta el tamaño del órgano muestreado (calibre de tallo, área foliar, etc.).

Enfocándose en el suelo, dado el actual proceso de agriculturización (exclusión de la ganadería y ausencia de pasturas) que causa la disminución de la MO (y el consecuente deterioro de otras propiedades bioquímicas y físicas del suelo), sumado a una mayor presión social por el manejo de efluentes y residuos de granjas avícolas y porcinas, corrales de engorde y tambos, se avizora un creciente uso de enmiendas orgánicas (estiércol, cama de pollo, etc.) como estrategia de economía circular. Es por ello que sería necesario conocer el impacto de estas enmiendas orgánicas sobre la redistribución y disponibilidad del Zn del suelo. De manera análoga, dado el actual proceso de acidificación de los suelos en la región pampeana, sería conveniente determinar el efecto de la aplicación de ciertas enmiendas correctoras del pH, como el encalado, sobre la dinámica del Zn en el suelo (redistribución del Zn entre fracciones) y la disponibilidad de Zn para los cultivos. Por otro lado, también sería conveniente desarrollar experimentos en macetas y campo, con aplicaciones de dosis crecientes de Zn y enfocados en el estudio de la residualidad del nutriente, para responder con mayor precisión, y en base a propiedades edáficas como el contenido de arcilla, la incógnita “¿cuánto Zn aplicar para elevar en cierto grado la disponibilidad de este nutriente en cada ambiente edáfico de la región?”. Otro aspecto importante a investigar sería el desarrollo de umbrales de disponibilidad de Zn en suelo para riesgo ambiental (movimiento por escorrentía y contaminación de acuíferos).

## 6. APÉNDICE

**Tabla I.** Información general de 45 ensayos a campo de fertilización con zinc en maíz: posición, tipo de suelo, fecha de siembra, densidad y cultivo antecesor.

Sitio	Posición	Tipo de suelo	Fecha de siembra	Densidad (pl ha <sup>-1</sup> )	Cultivo antecesor
1	34° 15' S; 61° 41' O	Argiudol Típico	07/10/2013	50000	Soja
2	34° 15' S; 61° 41' O	Argiudol Típico	07/10/2013	80000	Soja
3	34° 16' S; 61° 44' O	Argiudol Típico	07/10/2013	84000	Soja
4	37° 05' S; 57° 27' O	Argiudol Típico	29/09/2013	66000	Soja
5	37° 05' S; 57° 27' O	Argiudol Típico	23/09/2013	66000	Soja
6	37° 05' S; 57° 27' O	Argiudol Típico	12/10/2013	66000	Soja
7	37° 54' S; 58° 39' O	Argiudol Típico	15/10/2013	68000	Cebada
8	37° 54' S; 58° 39' O	Argiudol Típico	24/10/2013	80000	Soja
9	38° 09' S; 57° 41' O	Argiudol Típico	24/10/2013	70000	Soja
10	38° 18' S; 58° 05' O	Argiudol Típico	26/10/2013	71000	Soja
11	38° 18' S; 58° 05' O	Argiudol Típico	28/10/2013	71000	Soja
12	37° 45' S; 58° 07' O	Argiudol Típico	26/10/2013	57000	Soja
13	33° 17' S; 66° 20' O	Haplustol Típico	10/12/2014	58000	Soja
14	37° 45' S; 58° 18' O	Argiudol Típico	07/11/2014	74000	Soja
15	32° 34' S; 60° 51' O	Argiudol Típico	23/10/2015	80000	Soja
16	37° 46' S; 58° 18' O	Argiudol Típico	12/11/2015	74000	Soja
17	32° 44' S; 65° 17' O	Haplustol Éntico	12/12/2015	58000	Soja
18	32° 42' S; 65° 17' O	Hapludol Tipto Árgico	22/09/2016	75000	Soja
19	33° 07' S; 64° 20' O	Haplustol Típico	03/10/2016	72000	Soja
20	32° 34' S; 60° 51' O	Argiudol Típico	20/10/2016	80000	Soja
21	31° 49' S; 60° 24' O	Argiudol Ácuico	11/10/2016	75000	Soja
22	31° 49' S; 60° 24' O	Argiudol Ácuico	11/10/2016	75000	Soja
23	31° 13' S; 61° 32' O	Argiudol Típico	20/09/2016	70000	Soja
24	31° 13' S; 61° 32' O	Argiudol Típico	20/09/2016	65000	Soja
25	31° 13' S; 61° 32' O	Argiudol Típico	20/09/2016	50000	Soja
26	24° 45' S; 65° 26' O	Ustocrhepts Údico	21/12/2016	70000	Soja
27	32° 44' S; 65° 17' O	Haplustol Éntico	05/12/2016	80000	Soja
28	35° 01' S; 62° 58' O	Hapludol Tipto Árgico	29/12/2016	75000	Soja
29	31° 50' S; 63° 45' O	Haplustol Éntico	06/01/2017	82000	Soja
30	27° 04' S; 61° 06' O	Haplustol Óxico	16/02/2017	52000	Soja
31	35° 29' S; 62° 58' O	Hapludol Éntico	10/11/2017	65000	Maíz
32	32° 43' S; 62° 06' O	Argiudol Típico	19/09/2017	96000	Soja
33	32° 43' S; 62° 06' O	Argiudol Típico	14/09/2017	86000	Soja
34	37° 42' S; 58° 24' O	Argiudol Petrocálcico	10/10/2017	65000	Soja
35	32° 33' S; 60° 51' O	Argiudol Típico	13/10/2017	80000	Soja
36	35° 01' S; 62° 58' O	Hapludol Típico	17/10/2017	66000	Soja

37	33° 56' S; 60° 33' O	Argiudol Típico	10/10/2017	80000	Soja
38	24° 45' S; 65° 26' O	Ustochrepts Típico	20/12/2017	70000	Soja
39	32° 44' S; 65° 17' O	Haplustol Éntico	07/12/2017	52000	Centeno
40	35° 39' S; 60° 38' O	Haplustol Éntico	20/09/2018	80000	Soja
41	35° 39' S; 60° 38' O	Haplustol Éntico	23/09/2018	60000	Soja
42	37° 52' S; 57° 50' O	Argiudol Típico	26/10/2018	75000	Soja
43	38° 29' S; 58° 41' O	Argiudol Típico	19/10/2018	60000	Soja
44	37° 46' S; 58° 18' O	Argiudol Típico	15/11/2018	70000	Soja
45	37° 40' S; 58° 31' O	Argiudol Típico	20/10/2018	70000	Soja

**Tabla II.** Propiedades edáficas de 45 ensayos de fertilización con zinc en maíz determinadas a la siembra (0-20 cm): clase textural, proporción de arena, limos y arcilla, acidez activa (pH), contenido de materia orgánica de suelo (MO) y capacidad de intercambio catiónico (CIC).

Sitio	Textura	-----g 100g <sup>-1</sup> -----			pH	MO g 100g <sup>-1</sup>	CIC cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>
		Arena	Limos	Arcilla			
1	Franco arenoso	69,22	17,29	13,49	5,6	1,97	15,53
2	Franco arcillo-arenoso	52,27	27,70	20,03	6,0	3,20	21,37
3	Franco arenoso	71,71	14,91	13,38	5,9	3,03	14,92
4	Franco arenoso	54,13	26,35	19,52	5,8	6,23	27,40
5	Franco	47,22	30,65	22,14	6,0	6,97	28,37
6	Franco	43,63	34,99	21,39	6,0	6,17	25,93
7	Franco	41,14	33,44	25,42	6,0	5,70	27,02
8	Franco	46,68	32,58	20,74	5,4	5,57	30,22
9	Franco arcilloso	38,31	34,20	27,49	6,2	5,83	28,92
10	Franco arcilloso	25,12	45,34	29,54	6,0	6,00	28,07
11	Franco	42,89	33,58	23,53	5,9	7,37	29,28
12	Franco	43,14	31,70	25,15	5,9	5,47	27,15
13	Franco	38,69	43,40	17,91	6,4	2,91	10,40
14	Franco arcillo-arenoso	49,82	26,87	23,31	5,9	4,33	18,90
15	Franco limoso	5,80	73,00	21,20	6,1	3,05	15,18
16	Franco	46,40	28,30	25,30	5,5	6,63	25,62
17	Franco	43,60	48,60	7,80	8,1	1,71	13,50
18	Franco arenoso	63,30	21,65	15,10	6,0	2,00	9,55
19	Franco arenoso	64,13	23,50	12,37	5,8	1,98	13,41
20	Franco limoso	10,89	66,09	23,02	6,9	2,55	14,54
21	Franco limo-arcilloso	5,60	67,20	27,20	8,0	4,43	36,91
22	Franco limo-arcilloso	11,96	60,04	28,00	6,0	3,53	20,60
23	Franco limoso	13,93	61,23	24,84	5,8	4,07	16,05
24	Franco limoso	17,72	59,57	22,72	5,8	2,80	13,03
25	Franco limoso	19,65	58,46	21,89	6,3	3,13	19,27
26	Franco	45,90	38,10	16,00	6,9	2,28	12,21

27	Franco arenoso	64,29	21,62	14,09	7,0	2,05	14,73
28	Franco arenoso	64,83	21,33	13,84	6,4	2,53	15,28
29	Franco	35,49	47,10	17,41	6,9	2,55	17,33
30	Franco	29,33	45,94	24,73	7,2	2,00	12,48
31	Franco arenoso	58,32	27,66	14,02	5,6	2,80	14,53
32	Franco limo-arcilloso	16,28	56,33	27,39	5,9	3,40	18,38
33	Franco limoso	16,74	56,84	26,42	5,9	2,83	19,04
34	Franco	42,88	33,61	23,51	5,8	6,10	29,17
35	Franco limoso	11,30	66,00	22,70	5,9	3,00	16,38
36	Franco arenoso	62,50	23,70	13,80	5,8	2,83	13,98
37	Franco	32,84	47,58	19,58	6,0	3,17	17,50
38	Franco	46,55	37,12	16,32	6,5	1,80	13,88
39	Franco arenoso	52,10	39,70	8,20	8,3	1,65	15,34
40	Franco arenoso	62,52	21,67	15,81	6,1	3,95	16,78
41	Franco arenoso	65,06	20,04	14,89	6,1	3,44	15,95
42	Franco	42,90	33,20	23,90	5,7	5,35	25,40
43	Franco arenoso	56,81	23,29	19,90	5,8	5,16	22,55
44	Franco	44,94	29,10	25,96	5,9	5,35	24,54
45	Franco arcillo-arenoso	48,41	26,35	25,24	5,6	4,95	23,57
Mínimo		5,60	14,91	7,80	5,4	1,65	9,55
Media		41,49	38,15	20,36	6,2	3,86	19,78
Máximo		71,71	73,00	29,54	8,3	7,37	36,91
Mediana		43,63	33,58	21,39	6,0	3,20	17,50
Desvío estandar		18,61	15,59	5,48	0,6	1,64	6,51
Coeficiente de variación (%)		44,85	40,86	26,91	10	42,5	32,94

**Tabla III** Concentración de indicadores de disponibilidad de zinc (Zn) (Zn-DTPA, Zn-M3 y Zn-CaCl<sub>2</sub>) determinados a la siembra (0-20 cm), rendimiento en grano promedio del tratamiento testigo y del tratamiento fertilizado con zinc (Zn-Fert), respuesta de rendimiento en grano (Resp) y p-valor del ANOVA.

Sitio	Zn-DTPA	Zn-M3	Zn-CaCl <sub>2</sub>	Testigo	Zn-Fert	Resp	p-valor
	-----mg kg <sup>-1</sup> -----			-----kg ha <sup>-1</sup> -----			
1	2,81	4,34	0,89	10151	10610	459	0,43
2	2,18	3,36	0,27	12644	11920	-725	0,24
3	0,99	1,61	0,14	11604	12887	1283	0,01**
4	3,13	4,36	0,36	9021	8764	-257	0,41
5	2,88	3,58	0,32	8596	8320	-276	0,51
6	2,58	3,41	0,20	8211	8295	84	0,64
7	1,75	2,85	0,25	8577	8924	347	0,52
8	1,98	2,64	0,33	14303	14655	352	0,64
9	1,05	1,68	0,10	10323	9938	-386	0,34
10	1,77	2,46	0,12	10911	10911	0	0,99
11	1,94	2,67	0,17	11530	11432	-97	0,64
12	1,89	3,22	0,20	12204	12557	352	0,58

13	0,37	3,10	0,09	7210	8215	1005	0,15
14	0,98	2,10	0,20	8992	9193	202	0,60
15	0,86	1,50	0,22	6359	7186	827	0,03**
16	2,01	5,03	0,64	13866	14385	520	0,57
17	0,23	0,45	0,03	4631	6508	1877	0,08*
18	0,89	1,20	0,03	8747	8809	62	0,93
19	0,27	0,69	0,05	8225	9243	1017	0,08*
20	0,88	1,20	0,13	9100	9708	608	0,05**
21	0,28	0,47	0,04	10397	10717	320	0,06*
22	0,44	1,15	0,06	12420	12340	-80	0,83
23	4,67	7,50	1,62	10517	10123	-394	0,30
24	1,73	2,69	0,46	9902	9507	-395	0,25
25	4,02	6,89	1,47	9235	9433	198	0,78
26	0,83	2,44	0,14	7730	6233	-1497	0,21
27	0,42	1,10	0,04	8616	9834	1218	0,06*
28	0,79	1,49	0,09	9088	10161	1073	0,02**
29	0,28	0,64	0,03	11130	11908	778	0,02**
30	0,96	2,40	0,07	4128	3947	-181	0,66
31	0,98	1,57	0,25	9814	11309	1495	0,09*
32	0,74	1,27	0,12	12559	13621	1062	0,06*
33	0,65	1,28	0,14	12682	13145	463	0,50
34	2,28	3,35	0,91	13205	13357	153	0,91
35	1,99	2,22	0,36	8795	8873	78	0,66
36	1,18	1,74	0,16	13578	13552	-26	0,96
37	0,58	0,89	0,18	10372	10917	546	0,06*
38	0,65	1,17	0,05	6091	5916	-175	0,53
39	0,07	0,46	0,03	4993	6119	1125	0,07*
40	2,11	2,71	0,27	14992	15526	534	0,28
41	1,12	1,25	0,15	12474	13068	595	0,25
42	1,38	1,19	0,16	6919	7177	258	0,74
43	1,20	1,23	0,15	13155	12890	-265	0,39
44	1,08	0,96	0,20	12347	11410	-938	0,14
45	0,75	0,42	0,10	11388	11250	-138	0,88
Mínimo	0,07	0,42	0,03	4128	3947	-1497	-
Media	1,39	2,22	0,27	10038	10328	290	-
Máximo	4,67	7,50	1,62	14992	15526	1877	-
Mediana	1,05	1,68	0,16	10151	10161	258	-

\*\* Diferencia significativa con  $p \leq 0,05$ .

\* Diferencia significativa con  $p \leq 0,1$ .

**Tabla IV** Resultados de modelos de regresión lineal para predecir zinc Mehlich-3 ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en función de zinc DTPA ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

Pendiente	Ordenada	R <sup>2</sup>	Referencias†
1,82	0,79	0,94	Walworth <i>et al.</i> , 1992
1,73	0,24	0,92	Vocasek y Friedericks, 1994

1,78	0,01	0,88	Wendt, 1995
1,30	1,09	0,94	García <i>et al.</i> , 1997
1,82	0,37	0,96	Schmisek <i>et al.</i> , 1998
1,49	0,46	0,57	Cancela <i>et al.</i> , 2002
0,98	2,68	0,26	Maftoun <i>et al.</i> , 2003
3,46	-0,07	0,61	Zhang <i>et al.</i> , 2003
1,69	0,17	0,93	Wang <i>et al.</i> , 2004
1,55	1,03	0,46	Srivastava y Srivastava, 2008
2,03	0,06	0,86	Brennan <i>et al.</i> , 2008
2,49	0,38	0,79	Sobral <i>et al.</i> , 2013
2,86	4,71	0,86	Hosseiwnnpur y Motaghian, 2015
1,98	0,51	0,80	Iatrou <i>et al.</i> , 2015
2,16	-0,75	0,95	Enderson <i>et al.</i> , 2015
1,69	0,88	0,43	Zbiral, 2016
1,09	0,02	0,72	Seht <i>et al.</i> , 2017
1,41	0,25	0,89	Martínez Cuesta
Estadística descriptiva (n = 17)			
0,98	-0,75	0,26	Mínimo
1,55	0,06	0,61	Primer cuartil
1,78	0,38	0,86	Mediana
2,03	0,88	0,93	Tercer cuartil
3,46	4,71	0,96	Máximo
1,88	0,74	0,76	Promedio
32,8	169,3	28,4	Coefficiente de variación (%)

## †Referencias:

- Brennan, D.; Coulter, B.; Mullen, G.; Courtney, R. 2008. Evaluation of Mehlich 3 for extraction of copper and zinc from Irish grassland soils and for prediction of herbage content. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 39:1943-1962.
- Cancela, R.C.; De Abreu, C.A.; Paz-González, A. 2002. DTPA and Mehlich-3 micronutrient extractability in natural soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 33:2879-2893.
- Enderson, J.T.; Mallarino, A.P.; Haq, M.U. 2015. Soybean yield response to foliar-applied micronutrients and relationships among soil and tissue tests. *Agronomy Journal*. 107:2143–2161.
- García, A.; De Iorio, A.F.; Barros, M.; Bargiela, M.; Rendina, A. 1997. Comparison of soil tests to determine micronutrients status in Argentina soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 28:1777–1792.
- Hosseiwnnpur, A.R.; Motaghian, H. 2015. Evaluating of many chemical extractants for assessment of Zn and Pb uptake by bean in polluted soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 15(1):24-34.
- Iatrou, M.; Papadopoulos, A.; Papadopoulos, F.; Dichala, O.; Psoma, P.; Bountla, A. 2015. Determination of soil-available micronutrients using the DTPA and Mehlich-3 methods for greek soils having variable amounts of calcium carbonate. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 46:1905–1912.
- Maftoun, M.; Nia, H.H.; Karimian, N.; Ronaghi, A.M. 2003. Evaluation of chemical extractants for predicting lowland rice response to zinc in highly calcareous soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 34:1269–1280.
- Schmisek, M.E.; Cihacek, L.J.; Swenson, L.J. 1998. Relationships between the Mehlich-III soil test extraction procedure and standard soil test methods in North Dakota. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 29:1719–1729.
- Seth, A.; Sarkar, D.; Datta, A.; Mandal, B.; Chowdhury, A.; Masto, R.E.; Chakravarty, A.K.; Hazra, G.C.; Badole, S.; Batyabal, K.; Saha, S. 2017. Suitability of complex extractants for assessment of available soil zinc for nutrition of rice (*Oryza sativa* L.) in subtropical India. *Soil Science*. 182:28–35.

- Sobral, L.F.; Smyth, J.T.; Fageria, N.K.; Stone, L.F. 2013. Comparison of copper, manganese, and zinc extraction with Mehlich 1, Mehlich 3, and DTPA solutions for soils of the Brazilian coastal tablelands. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 44:2507–2513.
- Srivastava, P.C.; Srivastava, P. 2008. Integration of soil pH with soil-test values of zinc for prediction of yield response in rice grown in mollisols. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 39:2456–2468.
- Vocasek, F.F.; Friedericks, J.B. 1994. Soil micronutrient extraction by Mehlich-3 compared to CaCl<sub>2</sub>-DTPA. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 25:1583–1593.
- Walworth, J.L.; Gavlakz, R.G.; Pancierar, M.T. 1992. Mehlich B, Cu, Fe, Mn, and Zn in cryic Alaskan soils 3 extractants for determination of available. *Canadian Journal of Soil Science*. 72:517–526.
- Wang, J.J.; Harrell, D.L.; Henderson, R.E.; Bell, P.F. 2004. Comparison of soil-test extractants for phosphorus, potassium, calcium, magnesium, sodium, zinc, copper, manganese, and iron in Louisiana soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 35:145–160.
- Wendt, J.W. 1995. Evaluation of the Mehlich 3 soil extractant for upland Malawi soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 26:687–702.
- Zbiral, J. 2016. Determination of plant-available micronutrients by the Mehlich 3 soil extractant – A proposal of critical values. *Plant, Soil and Environment*. 62:527–531.
- Zhang, M.; He, Z.; Calvert, D.V.; Stoffella, P.J.; Yang, X. 2003. Surface runoff losses of copper and zinc in sandy soils. *Journal of Environmental Quality*. 32:909-915.

**Tabla V.** Híbrido, concentración de zinc (Zn) en tratamiento testigo (hoja en V<sub>6</sub>, hoja en R<sub>1</sub> y grano) y fertilizado con Zn (grano) por sitio.

Sitio	Híbrido	Zn en hoja	Zn en hoja	Zn en	Zn en
		V <sub>6</sub> (Testigo)	R <sub>1</sub> (Testigo)	grano	grano
		-----mg kg <sup>-1</sup> -----			
				(Testigo)	(Zn-fertilizado)
1	DK 670 MG			18,1 a	18,4 a
2	DK 670 MG			17,9 a	17,2 a
3	DK 692			19,5 a	14,6 a
4	P 31Y05 HR			15,8 a	17,5 a
5	DK 670 VT3P			19,7 a	17,7 a
6	P1778YR			17,2 a	20,1 a
7	DK 692			21,3 b	24,3 a
8	AX 852			16,2 a	14,0 a
9	LG 30820 MGRR			25,9 a	26,0 a
10	DK 670 MGRR			20,5 a	20,5 a
11	DK 190 MGRR			19,3 a	21,8 a
12	DK 692			17,7 a	18,0 a
13	DK 692			16,9 a	11,7 a
14	DK 7210 V3P			23,8 a	23,0 a
15	LT 626 VT3P			41,7 a	42,3 a
16	DK 7210 V3P			23,7 a	22,3 a
17	LT 632 RR			26,3 a	25,6 a
18	DK 692 VT3P				
19	DK 7020 VT3P	24,1	16,6	30,3	
20	LT 626 VT3P	24,1		17,8 a	16,8 a
21	DK 7210 VT3P	17,8	13,5	19,3 a	26,4 a
22	DK 7210 VT3P	20,2	13,1	17,4 a	17,3 a
23	ACA 474 VT3P		10,0	33,3 a	29,9 a
24	ACA 474 VT3P		9,7	29,5 a	35,3 a

25	ACA 474 VT3P		7,3	22,6 a	31,6 a
26	Pioneer 2950 TG Plus		19,5	28,9 a	26,9 a
27	LT 621	25,4	32,3	27,3 a	25,2 a
28	Syn 875	36,8		26,4 a	20,1 a
29	Pioneer 1780	24,0	16,5	15,4 a	15,7 a
30	LT 790 MGRR2	33,2	25,7	20,3 a	20,2 a
31	Dow M507 PW	20,7	14,9	15,6 a	13,9 a
32	AX 7784 VT3P	25,3			
33	AX 7822 CL VT3P	20,7			
34	LT 722 VT3P	20,7	26,5	19,6	
35	-	20,0	13,0	34,1 a	31,5 a
36	AX 7822 VT3P			25,2 a	27,7 a
37	AX 7822 VT3P			36,1 a	38,7 a
38	Pioneer 2950 TG Plus	40,2		14,5 a	17,0 a
39	719 LT DT PRO	30,4	41,1		
40	DK 7310 VT3P	20,0	26,2	15,5 a	17,8 a
41	DK 7310 VT3P	9,3	18,0	16,9 a	17,5 a
42	Nidera 7761 VT3P	21,5	23,9	16,3 a	18,8 a
43	Pioneer 2005 HYR	21,5	32,8	15,3 a	16,7 a
44	Dow 505	16,3		25,2 a	27,9 a
45	Sursem 566	24,7	26,0	25,4 b	34,2 a
n		21	19	41	39
Mínimo		9,3	7,3	14,5	11,7
Media		23,7	20,3	22,2	22,6
Máximo		40,2	41,1	41,7	42,3
Desvío estándar		6,9	9,1	6,5	7,2
Coeficiente de variación		29,3	44,6	29,3	32,0

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas según LSD test ( $p < 0,1$ ).



**Figura I.** Extracción de zinc con resinas (Zn-RIC; mg kg<sup>-1</sup>) en función del tiempo de agitación (A, B y C son muestras con distinta disponibilidad de zinc).

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Acquaye, D.K.; Ankomah, A.B.; Kanabo, I. 1972. Estimation of available copper, iron, manganese and zinc in soils using cation exchange resin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 23(8):1035-1044. DOI: 10.1002/jsfa.2740230814
- Adhikari, T.; Rattan, R.K. 2007. Distribution of zinc fractions in some major soils of India and the impact on nutrition of rice. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 38(19-20):2779-2798. DOI: 10.1080/00103620701663032
- Agbenin, J.O.; Welp, G. 2012. Bioavailability of copper, cadmium, zinc, and lead in tropical savanna soils assessed by diffusive gradient in thin films (DGT) and ion exchange resin membranes. *Environmental Monitoring and Assessment*. 184(4):2275-2284. DOI: 10.1007/s10661-011-2116-5
- Alloway, B.J. 2008. Zinc in soils and crop nutrition. Bruselas, Bélgica: Asociación Internacional del Zinc. 137 p.
- Alloway, B.J. 2009. Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environmental Geochemistry Health*. 31:537-548. DOI: 10.1007/s10653-009-9255-4
- Álvarez, J.M. 2007. Influence of soil type on the mobility and bioavailability of chelated zinc. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(9):3568-3576. DOI: 10.1021/jf063236g
- Álvarez, R.; Gimenez, A.; Pagnanini, F.; Recondo, V.; Gangi, D.; Caffaro, M.; ...; Berhongaray, G. 2020. Soil acidity in the Argentine Pampas: Effects of land use and management. *Soil and Tillage Research*. 196:104434. DOI: 10.1016/j.still.2019.104434.
- Álvarez, R.; Lavado, R.S. 1998. Climate, organic matter and clay content relationships in the Pampa and Chaco soils, Argentina. *Geoderma*. 83(1-2):127-141. DOI: 10.1016/S0016-7061(97)00141-9
- Andrade, F.H. 2016. Los desafíos de la agricultura. Acassuso, Argentina: International Plant Nutrition Institute. 136 p.
- Andrade, F.H.; Vega, C.; Uhart, S.; Cirilo, A.; Cantarero, M.; Valentinuz, O. 1999. Kernel number determination in maize. *Crop Science*. 39(2):453-459. DOI: 10.2135/cropsci1999.0011183X0039000200026x
- Aramburu Merlos, F.; Monzon, J.P.; Mercau, J.L.; Taboada, M.; Andrade, F.H.; Hall, A.J.; ...; Grassini, P. 2015. Potential for crop production increase in Argentina through closure of existing yield gaps. *Field Crops Research*. 184:145-154. DOI: 10.1016/j.fcr.2015.10.001
- Aruani, M.C.; Sánchez, E.E. 2003. Fracciones de micronutrientes en suelos del Alto Valle de Río Negro, Argentina. *Ciencia del Suelo*. 21(2):78-81.
- Bagci, S.A.; Ekiz, H.; Yilmaz, A.; Cakmak, I. 2007. Effects of zinc deficiency and drought on grain yield of field-grown wheat cultivars in Central Anatolia. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 193(3):198-206. DOI: 10.1111/j.1439-037X.2007.00256.x
- Baize, D. 1997. Teneurs totales en elements traces metalligues dans les sols (France): Références et stratégies d'interprétation. Paris, Francia: INRA. pp. 23-35.

- Barbagelata, P.A. 2006. Evaluation of potassium soil tests and methods for mapping soil fertility properties in Iowa corn and soybean fields. Tesis *Doctor of Philosophy*. Ames, USA: College of Agriculture and Life Sciences, Iowa State University: 115 p.
- Barbagelata, P.A.; Mallarino, A.P. 2013. Field correlation of potassium soil test methods based on dried and field-moist soil samples for corn and soybean. *Soil Science Society of America Journal*. 77(1):318-327. DOI: 10.2136/sssaj2012.0253
- Barbieri, P.A.; Sainz Rozas, H.R.; Wyngaard, N.; Eyherabide, M.; Reussi Calvo, N.I.; Salvagotti, F.; ...; Echeverría, H.E. 2017. Can edaphic variables improve DTPA-based zinc diagnosis in corn? *Soil Science Society of America Journal*. 81(3), 556-563. DOI: 10.2136/sssaj2016.09.0316
- Beegle, D. 2005. Assessing soil phosphorus for crop production by soil testing. In: Thomas, S.; Sharpley, A.N. (eds.) *Phosphorus: Agriculture and the Environment*. Madison, WI, USA: ASA, CSSA, SSSA, pp. 123-143. DOI:10.2134/agronmonogr46.c5
- Begum, K.; Hossain, M.F.; Parveen, Z. 2016. Distribution of zinc fractions in relation to properties of some soils of Bangladesh. *Dhaka University Journal of Biological Sciences*. 25(1):19-25. DOI: 10.3329/dujbs.v25i1.28491
- Bell, R.; Reuter, D.; Scott, B.; Sparrow, L.; Strong, W.; Chen, W. 2013. Soil phosphorus–crop response calibration relationships and criteria for winter cereal crops grown in Australia. *Crop and Pasture Science*. 64:480-498. DOI: 10.1071/CP13016
- Bender, R.R.; Haegele, J.W.; Ruffo, M.L.; Below, F.E. 2013. Nutrient uptake, partitioning, and remobilization in modern, transgenic insect-protected maize hybrids. *Agronomy Journal*. 105: 161-170. DOI: 10.2134/agronj2012.0352
- Benton Jones, J. (Jr). 1991. Plant tissue analysis in micronutrients. In: Mortvedt, J.J. (ed.) *Micronutrients in agriculture*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 477-521. DOI: 10.2136/sssabookser4.2ed.c13
- Benton Jones, J. (Jr). 2003. *Agronomic handbook: Management of crops, soils and their fertility*. Boca Raton, FL, USA: CRC press. 445 p. DOI: 10.1201/9781420041507
- Benton Jones, J. (Jr); Eck, H.V.; Voss, R. 1990. Plant analysis as an aid in fertilizing corn and grain sorghum. In: Westerman, R. (ed.) *Soil testing and plant analysis*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 521-547. DOI: 10.2136/sssabookser3.3ed.c20
- Bodega, J.L.; de Dios, M.A.; Pereyra Iraola, M. 2012. Ensayo comparativo de rendimiento de maíz en Balcarce. Campaña 2011/12. INTA. EEA Balcarce. Recuperado de: <https://inta.gov.ar/documentos/ensayo-comparativo-de-rendimiento-de-maiz-en-balcarce.-campana-2011-12>
- Boga, L.; Ramírez, H. 2014. Efecto de la fertilización con fósforo, azufre y zinc en el cultivo de soja en la región pampeana norte de argentina. *Informaciones Agronómicas De Hispanoamérica, IPNI*, N° 16. pp. 17-20.
- Boonfueng, T.; Axe, L.; Xu, Y. 2005. Properties and structure of manganese oxide-coated clay. *Journal of Colloid and Interface Science*. 281(1):80-92. DOI: 10.1016/j.jcis.2004.08.048

- Borkert, C.M.; Cox, F.R.; Tucker, M.R. 1998. Zinc and copper toxicity in peanut, soybean, rice, and corn in soil mixtures. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 29:2991-3005. DOI: 10.1080/00103629809370171
- Bouis, H.E.; Welch, R.M. 2010. Biofortification: a sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global south. *Crop Science*. 50:20-32. DOI: 10.2135/cropsci2009.09.0531
- Bray, R.H. 1948. Requirements for successful soil tests. *Soil Science*. 66:83-89.
- Bray, R.H. 1954. A nutrient mobility concept of soil-plant relationships. *Soil Science*. 78(1):9-22.
- Bray, R.H. 1963. Confirmation of the nutrient mobility concept of soil-plant relationships. *Soil Science*. 95(2):124-130.
- Brennan R.F.; Armour J.D.; Reuter D.J. 1993. Diagnosis of zinc deficiency. In: Robson, A.D. (ed.) Zinc in soils and plants. Dordrecht, Netherlands: Springer, pp. 167-171. DOI: 10.1007/978-94-011-0878-2\_12
- Brown, P.H.; Cakmak, I.; Zhang, Q. 1993. Form and function of zinc plants. In: Robson, A.D. (ed.) Zinc in soils and plants. Dordrecht, Netherlands: Springer, pp. 93-106. DOI: 10.1007/978-94-011-0878-2\_7
- Brümmer, G.; Tiller, K.G.; Herms, U.; Clayton, P.M. 1983. Adsorption-desorption and/or precipitation-dissolution processes of zinc in soils. *Geoderma*. 31(4):337-354. DOI: 10.1016/0016-7061(83)90045-9
- Buffa, E.V.; Ratto, S.E. 2009. Contenido pseudototal de cobre, cinc, hierro y manganeso como estimador del fondo geoquímico en suelos de la llanura Chaco-Pampeana de Córdoba, Argentina. *Ciencia del Suelo*. 27(2):185-198.
- Cakmak, I. 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*. 302: 1-17. DOI: 10.1007/s11104-007-9466-3
- Cakmak, I.; Kutman, U.B. 2018. Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. *European Journal of Soil Science*. 69(1):172–180. DOI: 10.1111/ejss.12437
- Carciochi, W.D.; Wyngaard, N.; Divito, G.A.; Reussi Calvo, N.I.; Cabrera, M.L.; Echeverría, H.E. 2016. Diagnosis of sulfur availability for corn based on soil analysis. *Biology and Fertility of Soils*. 52(7):917-926. DOI: 10.1007/s00374-016-1130-8
- Carrizo, M.E.; Alesso, C.A.; Guedes, J.D.N; Del Carmen Imhoff, S. 2013. Reserva de micronutrientes y comparación de dos métodos de extracción en suelos agrícolas Santafesinos. *Ciencia del Suelo*. 31(1):15-22.
- Catlett, K.M.; Heil, D.M.; Lindsay, W.L.; Ebinger, M.H. 2002. Soil chemical properties controlling zinc<sup>2+</sup> activity in 18 Colorado soils. *Soil Science Society of America Journal*. 66(4):1182-1189. DOI: 10.2136/sssaj2002.1182
- Cavallaro, N.; McBride, M.B. 1984. Zinc and copper sorption and fixation by an acid soil clay: effect of selective dissolutions. *Soil Science Society of America Journal*. 48(5):1050-1054. DOI: 10.2136/sssaj1984.03615995004800050020x
- Chao, T.T. 1972. Selective dissolution of manganese oxides from soils and sediments with acidified hydroxylamine hydrochloride. *Soil Science Society of America Journal*. 36:764-768. DOI: 10.2136/sssaj1972.03615995003600050024x

- Chao, T.T.; Theobald, P.K. 1976. The significance of secondary iron and manganese oxides in geochemical exploration. *Economic Geology*. 71(8):1560-1569. DOI: 10.2113/gsecongeo.71.8.1560
- Chirwa, M.; Yerokun, O.A. 2012. The distribution of zinc fractions in surface samples of selected agricultural soils of Zambia. *International Journal of Soil Science*. 7(2):51-60.
- Ciampitti, I.A.; García, F.O.; Picone, L.I.; Rubio, G. 2011. Phosphorus budget and soil extractable dynamics in field crop rotations in Mollisols. *Soil Science Society of America Journal*. 75(1):131-142. DOI: 10.2136/sssaj2009.0345
- Ciampitti, I.A.; Vyn, T.J. 2013. Maize nutrient accumulation and partitioning in response to plant density and nitrogen rate: II. Calcium, magnesium, and micronutrients. *Agronomy Journal*. 105(6):1645-1657. DOI: 10.2134/agronj2013.0126
- Clay, D.E.; Reicks, G.; Chang, J.; Kharel, T.; Bruggeman, S.A. 2016. Assessing a fertilizer program: Short-and long-term approaches. In: Chatterjee, A.; Clay, D. (Eds.) *Soil fertility management in agroecosystems*. Madison, WI, USA: ASA, CSSA, SSSA, pp. 44-55. DOI: 10.2134/soilfertility.2015.0079
- Corey, R.B. 1987. Soil test procedures: Correlation. In: Brown, J.R. (ed.) *Soil testing: Sampling, correlation, calibration, and interpretation*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 15-22
- Correndo, A.A.; Salvagiotti, F.; García, F.O.; Gutiérrez-Boem, F.H. 2017. A modification of the arcsine–log calibration curve for analysing soil test value–relative yield relationships. *Crop and Pasture Science*. 68:297-304. DOI: 10.1071/CP16444
- Dahnke, W.C.; Olson, R.A. 1990. Soil test correlation, calibration, and recommendation. In: Westerman, R.L. (ed.) *Soil testing and plant analysis*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 45-71. DOI: 10.2136/sssabookser3.3ed.c4
- Davidson, C.M.; Thomas, R.P.; Mcvery, S.E. 1994. Evaluation of a sequential extraction procedure for the speciation of heavy metals in sediments. *Analytica Chimica Acta*. 291:277-286. DOI: 10.1016/0003-2670(94)80023-5
- Davis, J.G.; Gaines, T.P.; Parker, M.B. 1995. Comparison of soil zinc extractants for detection of applied zinc and prediction of leaf zinc concentration. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 26(17-18):2969-2981. DOI: 10.1080/00103629509369501
- De Abreu, C.A.; Van Raij, B. 1996. Soil reaction effect on DTPA and Mehlich-1 extractable zinc. *Bragantia*. 55(2):357-363.
- Do Nascimento, C.W.A.; De Melo, É.E.C.; Do Nascimento, R.S.D.M.P.; Leite, P.V.V. 2007. Effect of liming on the plant availability and distribution of zinc and copper among soil fractions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 38(3-4):545-560. DOI: 10.1080/00103620601174643
- Dodd, J.R.; Mallarino, A.P. 2005. Soil test phosphorus and crop grain yield responses to long-term phosphorus fertilization for corn-soybean rotations. *Soil Science Society of America Journal*. 69(4):1118-1128. DOI: 10.2136/sssaj2004.0279
- Dong, B.; Rengel, Z.; Graham, R.D. 1995. Root morphology of wheat genotypes differing in zinc efficiency. *Journal of Plant Nutrition*. 18(12):2761-2773. DOI: 10.1080/01904169509365098

- Dyson, C.B.; Conyers, M.K. 2013. Methodology for online biometric analysis of soil test-crop response datasets. *Crop and Pasture Science*. 64:435-441. DOI: 10.1071/CP13009
- Ellis, R.(Jr.); Davis, J.F.; Thurlow, D.L. 1964. Zinc availability in calcareous Michigan soils as influenced by phosphorus level and temperature. *Soil Science Society of America Journal*. 28(1):83-86. DOI: 0.2136/sssaj1964.03615995002800010038x
- Evans, C.E. 1987. Soil test calibration. In: Brown, J.R. (Ed.) *Soil testing: sampling, correlation, calibration, and interpretation*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 23–29.
- Farshadirad, A.; Hosseinpour, A.R.; Motaghian, H.R.; Ghorbani Dashtaki, S. 2017. Zn fractionation and availability in different soil aggregate fractions from Isfahan region, Central Iran. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 63(10):1419-1430. DOI: 10.1080/03650340.2017.1280729
- Fortin, M.C. 1993. Soil temperature, soil water, and no-till corn development following in-row residue removal. *Agronomy Journal*. 85(3):571-576. DOI: 10.2134/agronj1993.00021962008500030010x
- Gallet, S.; Jahn, B.M.; Van Vliet Lanoe, B.; Dia, A.; Rossello, E. 1998. Loess geochemistry and its implications for particle origin and composition of the upper continental crust. *Earth and Planetary Science Letters*. 156:157-177. DOI: 10.1016/S0012-821X(97)00218-5
- García, A.; De Iorio, A.F.; Barros, M.; Bargiela, M.; Rendina, A. 1997. Comparison of soil tests to determine micronutrients status in Argentina soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 28(19-20):1777-1792. DOI: 10.1080/00103629709369915
- Gee, G.W.; Bauder, J.W. 1986. Particle size analysis. In: Klute, A. (ed.) *Methods of soil analysis*. Madison, WI, USA: ASA, SSSA, pp. 383-411.
- Graham, R.D.; Rengel, Z. 1993. Genotypic variation in zinc uptake and utilization by plants. In: Robson, A.D. (ed.) *Zinc in soils and plants*. Dordrecht, Netherlands: Springer, pp. 107-118. DOI: 10.1007/978-94-011-0878-2\_8
- Grupo InfoStat 2011. InfoStat versión 2011[Software estadístico] 2011. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina Recuperado de <http://www.infostat.com.ar>.
- Gupta, N.; Ram, H.; Kumar, B. 2016. Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 15(1):89-109. DOI: 10.1007/s11157-016-9390-1
- Hafeez, B.; Khanif, Y.M.; Saleem, M. 2013. Role of zinc in plant nutrition-a review. *Journal of Experimental Agriculture International*. 374-391. DOI: 10.9734/AJEA/2013/2746
- Hamilton, M.A.; Westermann, D.T. 1991. Comparison of DTPA and resin extractable soil Zn to plant Zn uptake. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 22:517-528. DOI: 10.1080/00103629109368435
- Han, X.; Li, X.; Uren, N.; Tang, C. 2011. Zinc fractions and availability to soybeans in representative soils of Northeast China. *Journal of Soils and Sediments*. 11(4):596-606. DOI: 10.1007/s11368-011-0336-5

- Haq, A.U.; Miller, M.H. 1972. Prediction of available soil Zn, Cu, and Mn using chemical extractants. *Agronomy Journal*. 64(6):779-782. DOI: 10.2134/agronj1972.00021962006400060022x
- Harter, R.D. 1991. Micronutrient adsorption-desorption reactions in soils. In: Mortvedt, J.J. (Ed.) *Micronutrients in agriculture*. Madison, WI, USA: SSSA Book Series, pp. 59–86. DOI: 10.2136/sssabookser4.2ed.c3
- Haslett, B.S.; Reid, R.J.; Rengel, Z. 2001. Zinc mobility in wheat: uptake and distribution of zinc applied to leaves or roots. *Annals of Botany*. 87(3):379-386. DOI: 10.1006/anbo.2000.1349
- Havlin, J.L.; Soltanpour, P.N. 1981. Evaluation of the  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ -DTPA soil test for iron and zinc. *Soil Science Society of America Journal*. 45(1):70-75. DOI: 10.2136/sssaj1981.03615995004500010016x
- Helling, C.S.; Chesters, G.; Corey, R.B. 1964. Contribution of organic matter and clay to soil cation-exchange capacity as affected by the pH of the saturating solution. *Soil Science Society of America Journal*. 28(4):517-520. DOI: 10.2136/sssaj1964.03615995002800040020x
- Hotz, C.; Brown K.H. 2004. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutrition Bulletin*. 25: 94-204
- Houba, V.J.G.; Temminghoff, E.J.M.; Gaikhorst, G.A.; Van Vark, W. 2000. Soil analysis procedures using 0.01 M calcium chloride as extraction reagent. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 31(9-10):1299-1396. DOI: 10.1080/00103620009370514
- Ibrahim, A.K.; Usman, A.; Abubakar, B.; Aminu, U.H. 2011. Extractable micronutrients status in relation to other soil properties in Billiri Local Government Area. *Journal of Soil Science and Environmental Management*. 3:282-285.
- Imaz, P.A.; Barbieri, P.A.; Echeverría, H.E.; Sainz Rozas, H.R.; Covacevich, F. 2014. Indigenous mycorrhizal fungi from Argentina increase Zn nutrition of maize modulated by Zn fertilization. *Soil and Environment*. 33(1):23–32.
- Imbellone, P.; Zárate, M. 1983. Glébulas sesquioxídicas en un Argialbol. General Mansilla, prov. Bs. As. *Ciencia del Suelo*. 1(2):173-181.
- Iyengar, S.S.; Martens, D.C.; Miller, W.P. 1981. Distribution and plant availability of soil zinc fractions. *Soil Science Society of America Journal*. 45:735-739. DOI: 10.2136/sssaj1981.03615995004500040012x
- Jenne, E.A. 1968. Controls on Mn, Fe, Co, Ni, Cu, and Zn concentrations in soils and water: the significant role of hydrous Mn and Fe oxides. In: Baker, R.A. (ed.). *Trace inorganics in water*. Washington, DC, USA: Advances in Chemistry; American Chemical Society, pp. 337-387. DOI: 10.1021/ba-1968-0073.ch021
- Johnson, G.V.; Fixen, P.E. 1990. Testing soils for sulfur, boron, molybdenum, and chlorine. In: Westerman, R.L. (ed.) *Soil Testing and Plant Analysis*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 265-273. DOI: 10.2136/sssabookser3.3ed.c10
- Jordan-Meille, L.; Rubæk, G.H.; Ehlert, P.A.I.; Genot, V.; Hofman, G.; Goulding, K.; Recknagel, J.; Provolò, G.; Barraclough, P. 2012. An overview of fertilizer-P recommendations in Europe: soil testing, calibration and fertilizer recommendations. *Soil Use and Management*. 28:419-435. DOI: 10.1111/j.1475-2743.2012.00453.x

- Joshi, D.; Srivastava, P.C.; Dwivedi, R.; Pachauri, P.S. 2014. Chemical speciation of Zn in acidic soils: suitable soil extractant for assessing Zn availability to maize (*Zea mays* L.). *Chemical Speciation & Bioavailability*. 26(3):148-157. DOI: 10.3184/095422914X14035354272035
- Junus, M.A.; Cox, F.R. 1987. A zinc soil test calibration based upon Mehlich 3 extractable zinc, pH, and cation exchange capacity. *Soil Science Society of America Journal*. 51(3):678-683. DOI: 0.2136/sssaj1987.03615995005100030023x
- Kabata Pendias, A.; Pendias, H. 1992. Trace Elements in Soils and Plants. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. pp. 140-151.
- Kanwal, S.; Rahmatullah, A.R.; Ahmad, R. 2010. Zinc partitioning in maize grain after soil fertilization with zinc sulfate. *International Journal of Agriculture & Biology*. 12(2):299-302.
- Khoshgoftarmansh, A.H.; Abadi, H.K.; Khanmohammadi, Z.; Sararoudi, F.A.; Barzin, M.; Shahri, A.P. 2012. Critical deficiency level of zinc for corn on calcareous salt-affected soils in central Iran. *Journal of Plant Nutrition*. 35(12):1806-1818. DOI: 10.1080/01904167.2012.706677
- Lavado, R.S.; Porcelli. 2000. Contents and main fractions of trace elements in Typic Argiudolls of the Argentinean Pampas. *Chemical Speciation & Bioavailability*. 12(2):67-70. DOI: 10.3184/095422900782775553
- Lavado, R.S.; Zubillaga, M.S.; Alvarez, R.; Taboada, M.A. 2004. Baseline levels of potentially toxic elements in pampas soils. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*. 13(5):329-339. DOI: 10.1080/10588330490500383
- Lee, B.D.; Carter, B.J.; Basta, N.T.; Weaver, B. 1997. Factors influencing heavy metal distribution in six Oklahoma benchmark soils. *Soil Science Society of America Journal*. 61(1):218-223. DOI: 10.2136/sssaj1997.03615995006100010030x
- Leleyter, L.; Rousseau, C.; Biree, L.; Baraud, F. 2012. Comparison of EDTA, HCl and sequential extraction procedures, for selected metals (Cu, Mn, Pb, Zn), in soils, riverine and marine sediments. *Journal of Geochemical Exploration*. 116-117:51-59. DOI: 10.1016/j.gexplo.2012.03.006
- Liang, J.; Karamanos, R.E.; Stewart, J.W.B. 1991. Plant availability of Zn fractions in Saskatchewan soils. *Canadian Journal of Soil Science*. 71(4):507-517. DOI: 10.4141/cjss91-049
- Lindsay W.L.; Norvell, W.A. 1978. Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal*. 42:421-428. DOI: 10.2136/sssaj1978.03615995004200030009x
- Lindsay, W.L. 1972. Zinc in soils and plant nutrition. *Advances in Agronomy*, 24: 147-186.
- Lindsay, W.L. 1991. Inorganic equilibria affecting micronutrients in soils. In: Mortvedt, J.J. (ed.) *Micronutrients in Agriculture*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 89-112. DOI: 10.2136/sssabookser4.2ed.c4
- Lindsay, W.L.; Cox, F.R. 1985. Micronutrient soil testing for the tropics. In: Vlek, P.L.G. (ed.) *Micronutrients in Tropical Food Crop Production*. Dordrecht, Netherlands: Springer, pp. 169-200. DOI: 10.1007/978-94-009-5055-9\_7
- Lins, I.D.G.; Cox, F.R. 1988. Effect of soil pH and clay content on the zinc soil test interpretation for corn. *Soil Science Society of America Journal*. 52(6):1681-1685. DOI: 10.2136/sssaj1988.03615995005200060033x

- Liu, D.Y.; Zhang, W.; Yan, P.; Chen, X.P.; Zhang, F.S.; Zou, C.Q. 2017. Soil application of zinc fertilizer could achieve high yield and high grain zinc concentration in maize. *Plant and Soil*. 411(1-2):47-55. DOI: 10.1007/s11104-016-3105-9
- Liu, D.Y.; Liu, Y.M.; Zhang, W.; Chen, X.P.; Zou, C.Q. 2019. Zinc uptake, translocation, and remobilization in winter wheat as affected by soil application of Zn fertilizer. *Frontiers in Plant Science*. 10, 426. DOI: 10.3389/fpls.2019.00426
- Llosa, R.; Noriega, G.; De Aguirre, E.N.; Kesten, E. 1990. Niveles de plomo, cadmio, zinc y cobre en suelos del área metropolitana y suburbana de Buenos Aires. *Ciencia del Suelo*. 8:3-8.
- López Julián, P.L.; Mandado Collado, J.M. 2002. Extracciones químicas secuenciales de metales pesados: Aplicación en Ciencias Geológicas. *Estudios Geológicos*. 58(5-6):133-144. DOI: 10.3989/egeol.02585-6118
- Lu, X.; Cui, J.; Tian, X.; Ogunniyi, J.E.; Gale, W.J.; Zhao, A. 2012. Effects of zinc fertilization on zinc dynamics in potentially zinc-deficient calcareous soil. *Agronomy Journal*. 104(4):963-969. DOI: 10.2134/agronj2011.0417
- Ma, L.Q.; Rao, G.N. 1997. Chemical fractionation of cadmium, copper, nickel, and zinc in contaminated soils. *Journal of Environmental Quality*. 26(1):259-264. DOI: 10.2134/jeq1997.00472425002600010036x
- Ma, L.Q.; Tan, F.; Harris, W.G. 1997. Concentrations and distributions of eleven metals in Florida soils. *Journal of Environmental Quality*. 26(3):769-775. DOI: 10.2134/jeq1997.00472425002600030025x
- Ma, Q.; Lindsay, W.L. 1990. Divalent zinc activity in arid-zone soils obtained by chelation. *Soil Science Society of America Journal*. 54(3):719-722. DOI: 10.2136/sssaj1990.03615995005400030015x
- Ma, Y.B.; Uren, N.C. 1997. The effects of temperature, time and cycles of drying and rewetting on the extractability of zinc added to a calcareous soil. *Geoderma*. 75(1-2):89-97. DOI: 10.1016/S0016-7061(96)00080-8
- Mahmoud Soltani, S.; Hanafi, M.M.; Wahid, S.A.; Kharidah, S.M.S. 2015. Zinc fractionation of tropical paddy soils and their relationships with selected soil properties. *Chemical Speciation & Bioavailability*. 27(2):53-61. DOI: 10.1080/09542299.2015.1023091
- Manassero, M.J.; Da Silva, M.M.; Boff, L.D.; Hurtado, M.A. 2013. Metales pesados en suelos de la planicie costera del río de la plata, partidos de Ensenada y Berisso. *Ciencia del Suelo*. 31(2):253-264.
- Mandal, B.; Chatterjee, J.; Hazz, G.C.; Mandal, L.N. 1992. Effect of preflooding on transformation of applied zinc and its uptake by rice in lateritic soils. *Soil Science*. 153:250-257.
- Mandal, B.; Gazra, G.Z.; Pal, A.K. 1988. Transformation of zinc in soils under submerged conditions and its relation with zinc nutrition of rice. *Plant and Soil*. 106:121-126. DOI: 10.1007/BF02371203
- Marschner, H. 1993. Zinc uptake from soils. In: Robson, A.D (ed.) Zinc in soils and plants. Dordrecht, Netherlands: Springer, pp. 59-77. DOI: 10.1007/978-94-011-0878-2\_5
- Marschner, P. 2012. Marschner's mineral nutrition of higher plants. New York, USA: Academic Press. pp. 307-312.

- Martens, D.C.; Lindsay, W.L. 1990. Testing soils for copper, iron, manganese and zinc. In: Westerman, R.L. (ed.) *Soil Testing and Plant Analysis*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series. pp. 229. DOI: 10.2136/sssabookser3.3ed.c9
- Martínez Cuesta, N.; Carciochi, W.; Sainz Rozas, H.; Barbieri, P.; Silva, S.; Salvagiotti, F.; Ferraris, G. 2016. Tecnologías de fertilización con cinc: concentración y exportación del nutriente en granos de soja. En: *Actas XXV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo*. Córdoba, 27 de junio al 1° de julio de 2016.
- Martínez Cuesta, N.; Carciochi, W.; Sainz-Rozas, H.; Salvagiotti, F.; Colazo, J.C.; Wyngaard, N., ...; Barbieri, P. 2021. Effect of zinc application strategies on maize grain yield and zinc concentration in mollisols. *Journal of Plant Nutrition*. 44(4):486-497. DOI: 10.1080/01904167.2020.1844754
- Martínez Cuesta, N.; Carciochi, W.; Salvagiotti, F.; Sainz Rozas, H.; Wyngaard, N.; López de Sabando, M.; Barbieri, P. 2021. DTPA-extractable zinc threshold for wheat grain yield response to zinc fertilization in Mollisols. *Soil Science Society of America Journal*. 85(5): 1858-1862 DOI: 10.1002/saj2.20295
- Massey, H.F.; Loeffel, F.A. 1966. Variation in zinc content of grain from inbred lines of corn. *Agronomy Journal*. 58(2):143-144. DOI: 10.2134/agronj1966.00021962005800020004x
- Mattiello, E.M.; Ruiz, H.A.; Neves, J.C.; Ventrella, M.C.; Araújo, W.L. 2015. Zinc deficiency affects physiological and anatomical characteristics in maize leaves. *Journal of Plant Physiology*. 183:138-143. DOI: 10.1016/j.jplph.2015.05.014
- Mcbride, M.B.; Blasiak, J.J. 1979. Zinc and copper solubility as a function of pH in an acid soil. *Soil Science Society of America Journal*. 43(5):866-870. DOI: 10.2136/sssaj1979.03615995004300050009x
- Mcbride, M.B.; Pitiranggon, M.; Kim, B. 2009. A comparison of tests for extractable copper and zinc in metal-spiked and field-contaminated soil. *Soil Science*. 174(8):439-444.
- Mcgrath, S.P.; Cegarra, J. 1992. Chemical extractability of heavy metals during and after long-term applications of sewage sludge to soil. *Journal of Soil Science*. 43(2):313-321. DOI: 10.1111/j.1365-2389.1992.tb00139.x
- Mehlich, A. 1953. Determination of P, Ca, Mg, K, Na, and NH<sub>4</sub>. In: *Short test methods used in Soil Testing Division, Department of Agriculture, Raleigh, North Carolina, USA*. pp. 23-89.
- Mehlich, A. 1984. Mehlich 3 soil test extractant: a modification of Mehlich 2 extractant. . *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 15:1409-1416. DOI: 10.1080/00103628409367568.
- Melgar, R.J.; Lavandera, J.; Torres Duggan, M.; Ventimiglia, L. 2001. Respuesta a la fertilización con boro y zinc en sistemas intensivos de producción de maíz. *Ciencia del Suelo*. 19(2):109-114.
- Mills, H.A.; Jones, J.B.; Wolf, B. 1996. *Plant analysis handbook II: a practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide*. Athens, Georgia: Micromacro Publishing, pp. 6-18.
- Miravé, J.P.; Orioli, G.A. 1989. Zinc absorption and transport from complete humate and high and medium molecular weight fractions. *Science of the Total Environment*. 81:679-682. DOI: 10.1016/0048-9697(89)90178-2

- Montalvo, D.; Degryse, F.; Da Silva, R.C.; Baird, R.; Mclaughlin, M.J. 2016. Agronomic effectiveness of zinc sources as micronutrient fertilizer. *Advances in Agronomy*. 139:215-267. DOI: 10.1016/bs.agron.2016.05.004
- Moraghan, J.T.; Mascagni, H.J. 1991. Environmental and soil factors affecting micronutrient deficiencies and toxicities. In: Mortvedt, J.J.; et al. (eds.). *Micronutrients in Agriculture*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 371-425. DOI: 10.2136/sssabookser4.2ed.c11
- Mortvedt, J.J. 1991. Micronutrient fertilizer technology. In: Mortvedt, J.J.; et al.(eds.). *Micronutrients in Agriculture: Segunda edición*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 523-548. DOI: 10.2136/sssabookser4.2ed.c14
- Mossa, A.W.; Young, S.D.; Crout, N.M. 2020. Zinc uptake and phyto-toxicity: Comparing intensity-and capacity-based drivers. *Science of The Total Environment*. 699:134314. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.134314
- Munson, R.D.; Nelson, W.L. 1990. Principles and practices in plant analysis. In: Westerman, R.L. (ed.) *Soil testing and plant analysis*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 359-387. DOI: 10.2136/sssabookser3.3ed.c14
- Murphy, J.A.; Riley, J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*. 27:31-36. DOI: 10.1016/S0003-2670(00)88444-5
- Naik, S.K.; Das, D.K. 2007. Effect of lime, humic acid, and moisture regime on the availability of zinc in alfisol. *The Scientific World Journal*. 7:1198-1206. DOI: 10.1100/tsw.2007.192
- Novozamsky, I.; Lexmond, T.M.; Houba, V.J.G. 1993. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. *International Journal of Environmental Analysis and Chemistry*. 51(1-4):47-58. DOI: 10.1080/03067319308027610
- Oehl, F.; Oberson, A.; Sinaj, S.; Frossard, E. 2001. Organic phosphorus mineralization studies using isotopic dilution techniques. *Soil Science Society of America Journal*. 65:780-787. DOI: 10.2136/sssaj2001.653780x
- Orcellet, J.; Reussi Calvo, N.I.; Sainz Rozas, H.R.; Wyngaard, N.; Echeverría, H.E. 2017. Anaerobically incubated nitrogen improved nitrogen diagnosis in corn. *Agronomy Journal*. 109(1):291-298. DOI: 10.2134/agronj2016.02.0115
- Ordóñez, R.A.; Castellano, M.J.; Hatfield, J.L.; Helmers, M.J.; Licht, M.A.; Liebman, M.; Córdova, S.C. 2018. Maize and soybean root front velocity and maximum depth in Iowa, USA. *Field Crops Research*. 215:122-131. DOI: 10.1016/j.fcr.2017.09.003
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2019. FAOSTAT. [Base de datos]. FAO: Roma. Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/en/#home>
- Ortiz, O.; Alcañiz, J.M. 2006. Bioaccumulation of heavy metals in *Dactylis glomerata* L. *Bioresource Technology*. 97:545-552. DOI: 10.1016/j.biortech.2005.04.014
- Panigatti, J.L. 2010. Argentina 200 años, 200 suelo. Buenos Aires, Argentina: Ediciones INTA. pp. 23-25.

- Payne, G.G.; Sumner, M.E.; Plank, C.O. 1986. Yield and composition of soybeans as influenced by soil pH, phosphorus, zinc, and copper. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 17(3):257-273. DOI: 10.1080/00103628609367712
- Peaslee, D.E. 1980. Effect of extractable zinc, phosphorus, and soil pH on zinc concentrations in leaves of field-grown corn. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 11(4):417-425. DOI: 10.1080/00103628009367048
- Perumal, M.D.; Selvi, D.; Chitdeshwari, T.; Balachandar, D. 2019. Study of relationship between zinc fractions and selected soil properties of rice soils. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 8(2):1643-1646.
- Plante, A.F.; Conant, R.T.; Stewart, C.E.; Paustian, K.; Six, J. 2006. Impact of soil texture on the distribution of soil organic matter in physical and chemical fractions. *Soil Science Society of America Journal*. 70(1):287-296. DOI: 10.2136/sssaj2004.0363
- Qian, P.; Schoenau, J.J.; Huang, W.Z. 1992. Use of ion exchange membranes in routine soil testing. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 23:1791-1804. DOI: 10.1080/00103629209368704
- Quevauviller, P. 1998. Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis I. Standardization. *Trends in Analytical Chemistry*. 17(5):289-298. DOI: 10.1016/S0165-9936(97)00119-2
- Raksasataya, M.; Langdon, A.G.; Kim, N.D. 1996. Assessment of the extent of lead redistribution during sequential extraction by two different methods. *Analytica Chimica Acta*. 332(1):1-14. DOI: 10.1016/0003-2670(96)00227-9
- Rashid, A.; Fox, R.L. 1992 Evaluating internal zinc requirements of grain crops by seed analysis. *Agronomy Journal*. 84: 469-474. DOI: 10.2134/agronj1992.00021962008400030022x
- Rashid, A.; Rafique, E. 1989. Zinc requirement of maize grown on two calcareous soils of Pakistan. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 152:405-408. DOI: 10.1002/jpln.19891520501
- Ratto, S.E.; Fatta, N.; Lamas, M. 1991. Análisis foliar en maíz de cultivo. II. Microelementos. FAUBA. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 12(1):31-38.
- Ratto, S.E.; Miguez, F.H. 2006. Cinc en el cultivo de maíz, deficiencia de oportunidad. *Infomaciones Agronómicas*. 31:11-14.
- Reed, S.T.; Martens, B.C. 1996. Copper and Zinc. In: Sparks, D.L. (ed.) *Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 717-719.
- Ritchie, G.S.P.; Dolling, P.J. 1985. The role of organic matter in soil acidification. *Soil Research*. 23(4):569-576. DOI: 10.1071/SR9850569
- Ritchie, S.; Hanway, J.J. 1982. How a corn plant develops. Ames, IA, USA: Iowa State University. Special Report N° 48. 26 p.
- Rohman, P.C.; Cox, F.R. 1988. Evaluation of the modified Olsen extracting reagent for copper, zinc and manganese. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 19(16):1859-1870. DOI: 10.1080/00103628809368056
- Rubio G., Pereyra F.X., Taboada M.A. 2019. Soils of the Pampean Region. In: Rubio, G.; Lavado, R.S.; Pereyra, F.X. (eds.) *The Soils of Argentina*. Springer, Cham: World Soils Book Series, pp. 81-100. DOI: 10.1007/978-3-319-76853-3\_6

- Rubio, G.; Cabello, M.J.; Gutiérrez Boem, F.H.; Munaro, E. 2008. Estimating available soil phosphorus increases after phosphorus additions in Mollisols. *Soil Science Society of America Journal*. 72(6):1721-1727. DOI: 10.2136/sssaj2007.0049
- Ruffo, M.; Olson, R.; Daverede, I. 2016. Maize yield response to zinc sources and effectiveness of diagnostic indicators. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 47(2):137-141. DOI: 10.1080/00103624.2015.1108433
- Sadeghzadeh, B. 2013. A review of zinc nutrition and plant breeding. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 13(4):905-927. DOI: 10.4067/S0718-95162013005000072
- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. 1990. Atlas de Suelos de la República Argentina (Escala 1: 500.000 y 1: 1.000.000). Buenos Aires, SAGyP Tomo I: 731 p.
- Sainz Rozas, H.; Echeverría, H.E.; Calviño, P.A.; Barbieri, P.A.; Redolatti, M. 2003. Respuesta del trigo al agregado de cinc y cobre en suelos del sudeste bonaerense. *Ciencia del Suelo*. 21:52-58.
- Sainz Rozas, H.R.; Eyherabide, M.; Larrea, G.; Martínez Cuesta, N.; Angelini, H.; Reussi Calvo, N.; Wyngaard, N. 2019. Relevamiento y determinación de propiedades químicas en suelos de aptitud agrícola de la región pampeana. ACTAS Simposio de Fertilidad. Rosario, Argentina, mayo 8-9, 2019. pp. 146 – 158. Recuperado de <https://www.fertilizar.org.ar/subida/evento/Simposio2019/ActaSimposioFertilidad2019.pdf>
- Sainz Rozas, H.R.; Puricelli, M.; Eyherabide, M.; Barbieri, P.A.; Echeverría, H.E.; Reussi Calvo, N.I.; Martínez, J.P. 2015. Available zinc levels in soils of Argentina. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*. 7:59–71.
- Salvagiotti, F.; Castellarín, J.; Ferraguti, F. 2012. Respuesta a la fertilización con zinc y boro en el cultivo de trigo en el sur de santa fe. INTA EEA Oliveros. Para Mejorar la Producción N° 47, pp. 41-44.
- Sanders, J.R.; Adams, T.M.; Christensen, B.T. 1986. Extractability and bioavailability of zinc, nickel, cadmium and copper in three Danish soils sampled 5 year after application of sewage sludge. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 37:1155-1164. DOI: 10.1002/jsfa.2740371203
- Sanders, J.R.; Mcgrath, S.P.; Adams, T.M. 1987. Zinc, copper and nickel concentrations in soil extracts and crops grown on four soils treated with metalloaded sewage sludges. *Environmental Pollution*. 44(3):193-210. DOI: 10.1016/0269-7491(87)90003-0
- Sarangthem, I.; Kondareddy, A.N.; Sharma, L.D. 2019. Fractionation of zinc and their association with soil properties of Manipur. *The Pharma Innovation Journal*. 8(8):178-182.
- Sarto, M.V.M.; Steiner, F.; Lana, M.D.C. 2011. Assessment of micronutrient extractants from soils of Paraná, Brazil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 35(6):2093-2103. DOI: 10.1590/S0100-06832011000600024
- Schulte, E.E.; Hopkins, B.G. 1996. Estimation of organic matter by weight loss-on-ignition. In: Magdoff, F.R. (ed.) Soil organic matter: Analysis and interpretation. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Special Publication N° 46, pp. 21-31. DOI: 10.2136/sssaspepub46.c3

- Sharma, B.D.; Mukhopadhyay, S.S.; Sidhu, P.S.; Katyal, J.C. 2000. Pedospheric attributes in distribution of total and DTPA-extractable Zn, Cu, Mn and Fe in Indo-Gangetic plains. *Geoderma*. 96(1-2):131-151. DOI: 10.1016/S0016-7061(00)00008-2
- Sharma, P.N.; Chatterjee, C.; Agarwala, S.C.; Sharma, C.P. 1990. Zinc deficiency and pollen fertility in maize (*Zea mays*). In: van Beusichem M.L. (ed.) *Plant Nutrition — Physiology and Applications*. Springer, Dordrecht: Developments in Plant and Soil Sciences, pp. 261-265. DOI: 10.1007/978-94-009-0585-6\_44
- Shaw, W.M. 1959. Nitric-perchloric acid oxidation for sulfur in plant and animal tissues. *Agricultural and Food Chemistry*. 7:843-847.
- Shuman, L.M. 1975. The effect of soil properties on zinc adsorption by soils. *Soil Science Society of America Journal*. 39(3):454-458. DOI: 10.2136/sssaj1975.03615995003900030025x
- Shuman, L.M. 1979. Zinc, manganese, and copper in soil fractions. *Soil Science*. 127(1):10-17.
- Shuman, L.M. 1985. Fractionation method for soil microelements. *Soil Science*. 140(1):11-22.
- Shuman, L.M. 1991. Chemical forms of micronutrients in soils. In: Mortvedt, J.J.; Cox, F.R.; Shuman, L.M.; Welch, R.M. (eds.). *Micronutrients in Agriculture*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 113-144. DOI: 10.2136/sssabookser4.2ed.c5
- Sillanpää, M. 1982. Micronutrients and the nutrient status of soils: a global study. *FAO Soil Bulletin* 48: 161-178.
- Šimić, D.; Sudar, R.; Ledenčan, T.; Jambrović, A.; Zdunić, Z.; Brkić, I.; Kovačević, V. 2009. Genetic variation of bioavailable iron and zinc in grain of a maize population. *Journal of Cereal Science*. 50(3):392-397. DOI: 10.1016/j.jcs.2009.06.014
- Sims, J.T.; Johnson, G.V. 1991. Micronutrient soil tests. In: Mortvedt, J.J.; Giordano, P.M.; Lindsay, W.E. (eds.). *Micronutrients in Agriculture*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 442-476. DOI: 10.2136/sssabookser4.2ed.c12
- Singh, H.G.; Takkar, P.N. 1981. Evaluation of efficient soil test methods for Zn and their critical values in salt-affects soils for rice. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 12(4):383-406. DOI: 10.1080/00103628109367159
- Skogley, O.; Dobermann, A. 1996. Synthetic ion-exchange resins: soil and environmental studies. *Journal of Environmental Quality*. 25:13-24. DOI: 10.2134/jeq1996.00472425002500010004x
- Sobral, L.F.; Smyth, J.T.; Fageria, N.K.; Stone, L.F. 2013. Comparison of copper, manganese, and zinc extraction with Mehlich 1, Mehlich 3, and DTPA solutions for soils of the Brazilian coastal tablelands. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 44:2507–2513. DOI: 10.1080/00103624.2013.812731
- Soil Survey Staff. 2014. *Keys to Soil Taxonomy*, 12th ed. Washington, DC: USDA-Natural Resources Conservation Service, pp. 235-285.
- Soil Quality Institute. 2001. *Soil quality test kit guide*. USDA, Agricultural Research Service, National Resources Conservation Service. Recuperado de: [https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_DOCUMENTS/nrcs142p2\\_051907.pdf](https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_051907.pdf)

- Sposito, G. 2008. The chemistry of soils. New York, USA: Oxford University Press. pp. 16-23.
- Srivastava, P.C.; Dobermann, A.; Ghosh, D. 2000. Assessment of zinc availability to rice in mollisols of North India. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 31(15-16):2457-2471. DOI: 10.1080/00103620009370601
- Srivastava, P.C.; Srivastava, P. 2008. Integration of soil pH with soil-test values of zinc for prediction of yield response in rice grown in Mollisols. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 39(15-16):2456-2468. DOI: 10.1080/00103620802292830
- Sutton, M.A.; Bleeker, A.; Howard, C.M.; Bekunda, M.; Grizzetti, B.; De Vries, W.; ...; Zhang, F.S. 2013. Our Nutrient World: The challenge to produce more food and energy with less pollution. Global Overview of Nutrient Management. Edinburgh, UK: Centre for Ecology and Hydrology. 128 p.
- Takkar, P.N.; Mann, M.S. 1978. Toxic levels of soil and plant zinc for maize and wheat. *Plant and Soil*. 49:667-669. DOI: 10.1007/BF02183293
- Tang, X.; Ma, Y.; Hao, X.; Li, X.; Li, J.; Huang, S.; Yang, X. 2009. Determining critical values of soil Olsen-P for maize and winter wheat from long-term experiments in China. *Plant and Soil*. 323(1-2):143-151. DOI: 10.1007/s11104-009-9919-y
- Tariq, A.; Anjum, S.A.; Randhawa, M.A.; Ullah, E.; Naeem, M.; Qamar, R.; ...; Nadeem, M. 2014. Influence of zinc nutrition on growth and yield behaviour of maize (*zea mays* L.) hybrids. *American Journal of Plant Sciences*. 5:2646-2654. DOI: 10.4236/ajps.2014.518279
- Thomas, G.W. 1982. Exchangeable cations. In: Page, A.L. (ed.) *Methods of soil analysis, Part 2*. Madison, WI, USA: ASA, SSSA, pp. 159-165. DOI: 10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c9
- Torri, S.I.; Lavado, R. 2008. Zinc distribution in soils amended with different kinds of sewage sludge. *Journal of Environmental Management*. 88:1571-1579. DOI: 10.1016/j.jenvman.2007.07.026
- Torri, S.I.; Lavado, R. 2009. Plant absorption of trace elements in sludge amended soils and correlation with soil chemical speciation. *Journal of Hazardous Materials*. 166:1459-1465. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2008.12.075
- Vázquez, M.S.; Pagani, A. 2015. Calcio y magnesio. Manejo de fertilización y enmiendas. En: Echeverría, H.E.; García, F.O. (eds) *Fertilidad de Suelos y Fertilización de Cultivos*. Buenos Aires, Argentina: Ediciones INTA, pp. 317-355.
- Ventimiglia, L.; Torens Baudrix, L. 2013. Ensayos de híbridos de maíz – 2021/13 (9 de Julio Bs.As.) INTA.EEA Pergamino. UCT Agrícola Ganadero del Centro, AER 9 de Julio. Recuperado de: [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_9\\_de\\_julio\\_ensayo\\_de\\_hbridos\\_de\\_maz\\_-\\_2012-13\\_hi.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_9_de_julio_ensayo_de_hbridos_de_maz_-_2012-13_hi.pdf)
- Viets, F.G.; Lindsay, W.L. 1973. Testing soils for zinc, copper, manganese and iron. In: Walsh, L.M.; Beaton, J.D. (eds.) *Soil testing and plant analysis*. Madison, WI, USA: Soil Science Society of America Book Series, pp. 153-172.
- Weil, R.R.; Brady, N.C. 2016. *The Nature and Properties of Soils*. New Jersey, USA: Pearson Press. pp. 364-381.

- Wijebandara, D.M.D.I.; Dasog, G.S.; Patil, P.L.; Hebbar, M. 2011. Zinc fractions and their relationships with soil properties in paddy-growing soils of northern dry and hill zones of Karnataka. *Journal of the Indian Society of Soil Science*. 59(2):141-147.
- Wu, X.; Aasen, I. 1994. Models for predicting soil zinc availability for barley. *Plant and Soil*. 163(2):279-285. DOI: 10.1007/BF00007977
- Wyngaard, 2015. Mineralization of N, P and S in soils amended with poultry litter or inorganic fertilizers: a comparison of methods. Tesis *Doctor of Philosophy*. Athens, USA: University of Georgia. 146 p.
- Yin, X.; McClure, M.A.; Jaja, N.; Tyler, D.D.; Hayes, R.M. 2011. In-season prediction of corn yield using plant height under major production systems. *Agronomy Journal*. 103(3):923-929. DOI: 10.2134/agronj2010.0450
- Zamuner, E.C.; Lloveras, J.; Echeverria, H.E. 2016. Comparison of phosphorus fertilization diagnostic methods of potato in mollisols. *Agronomy Journal*. 108:1237–1245. DOI: 10.2134/agronj2015.0467
- Zbinden, F.N.; Abdala, L.; Vitantonio-Mazzini, L.N.; Manavella, A.; Elias, G.; Borrás, L. 2018. Uso de fertilizantes y dureza y concentración de Zn en granos de maíz de tipo flint. *Agromensajes*, agosto, pp. 16-19.
- Zhao, A.; Wang, B.; Tian, X.; Yang, X. 2020. Combined soil and foliar ZnSO<sub>4</sub> application improves wheat grain Zn concentration and Zn fractions in a calcareous soil. *European Journal of Soil Science*. 71(4):681-694. DOI: 10.1111/ejss.12903