

## Las sustancias húmicas y la nutrición vegetal

JC LOBARTINI Y GA ORIOLI

Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, 8000 Bahía Blanca

### RESUMEN

El objetivo de esta revisión se limita a un aspecto particular de las sustancias húmicas y es el referido a la relación de las mismas con la nutrición mineral de las plantas superiores a la luz de algunos resultados experimentales obtenidos por este grupo. Se presenta una breve descripción de la materia orgánica del suelo y de uno de sus principales componentes, las sustancias húmicas, algunas características físico-químicas, composición y fraccionamiento. Utilizando métodos de fraccionamiento físicos y la posterior marcación con radioisótopos de las fracciones, se determinaron algunas de sus características físico-químicas relacionadas con la nutrición mineral de las plantas. Se postula que las fracciones de bajo peso molecular juegan un papel importante en la movilidad y disponibilidad de los micronutrientes.

**Palabras clave:** Sustancias húmicas, ácidos fúlvicos, micronutrientes, suelos.

## The relationship between soil humic substances and the mineral nutrition of plants

### SUMMARY

The objective of this review is limited to a particular aspect of the soil humic substances referred to their relationship with the mineral nutrition of plants in the light of some experimental results obtained by this group. A short description of the soil organic matter is presented with emphasis in one of its main components, the humic substances. Some physico-chemical characteristics, composition and fractionation are presented. By means of physical fractionation and the subsequent labelled of the fraction with radioisotopes, it were determined some of their physico-chemical characteristics related to the mineral nutrition of the plants. It was postulated that the fractions of low molecular weight play an important role in the mobility and availability of micronutrients.

**Key words:** Soil humic substances, fulvic acids, micronutrients, soils.

Recibido el 7 de marzo de 1996. Aceptado el 14 de octubre de 1996.

## INTRODUCCIÓN

La materia orgánica de los suelos consiste de una mezcla de residuos de animales y vegetales en distintos estados de descomposición y de productos sintetizados biológicamente a partir de aquéllos por microorganismos y pequeños animales (Schnitzer y Kahn, 1972). Generalmente a los productos sintetizados biológicamente se los divide en: a) Sustancias no húmicas y en b) Sustancias húmicas (SH).

A la primera categoría pertenecen todos los compuestos orgánicos que proviniendo de plantas, animales y microorganismos todavía conservan una composición química reconocida como proteínas, aminoácidos, grasas, celulosa, almidón o hidratos de carbono más simples, ADN, ácidos orgánicos simples, etc. Estos tienen una permanencia relativamente corta en los suelos ya que son fácilmente atacados y usados por microorganismos como fuente de energía.

Las sustancias húmicas, que por el contrario presentan una composición química compleja y variada resistencia a la degradación microbiana, no sólo se encuentran en suelos sino que están ampliamente distribuidas, encontrándose también en ríos, mares y depósitos geológicos.

La importancia de las SH en los suelos se ha reconocido desde tiempos remotos ya que, con sólo un pequeño porcentaje presente en los suelos, le imparten a éstos propiedades singulares. Así, condiciones físicas como aireación, permeabilidad, etc. se ven favorecidas debido a la capacidad de las sustancias húmicas de formar agregados con la fase sólida mineral. Son amorfas, polielectrolitos y por lo tanto hidrofílicas, de reacción ácida, de color oscuro que va desde el marrón hasta el negro y cuyos pesos moleculares varían desde cientos a miles de unidades de masa atómica. De acuerdo a técnicas operacionales de extracción se dividen en: a) *ácidos húmicos* (AH) que es la parte soluble en medio alcalino y precipita cuando se

acidifica este medio; b) *ácidos fúlvicos* (AF) que son las sustancias que permanecen en solución después de acidificar el medio alcalino; y c) *humina* que es la fracción húmica que puede ser extraída solamente en álcali caliente.

Las definiciones usadas para las SH son a veces aplicadas a compuestos orgánicos extraídos de residuos cloacales, abonos orgánicos provenientes de criaderos de animales y composts. Todos ellos cumplen con las características de solubilidad mencionadas anteriormente, pero estas sustancias no deberían ser consideradas como verdaderas sustancias húmicas.

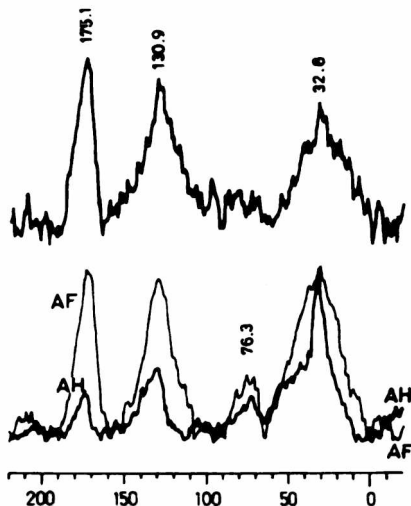
## COMPOSICIÓN DE LAS SUSTANCIAS HÚMICAS

Existen innumerables trabajos sobre la composición química de estas sustancias. Estas no tienen una estructura definida sino que por el contrario varían dependiendo del origen, del método de extracción y otros parámetros. Sin embargo, como la mayoría de los estudios sobre las SH no reconocen que el sujeto de su investigación es una mezcla compleja y mal definida, luego los resultados son difíciles de comparar. Lamentablemente hasta la fecha no se han obtenido técnicas de separación y purificación que aísle una SH químicamente pura. Así, por ejemplo, los análisis por resonancia magnética nuclear del  $^{13}\text{C}$  de SH obtenidas por métodos usuales muestran la presencia de carbohidratos y de compuestos alifáticos y aromáticos (Fig. 1), cuya proporción varía notablemente para las distintos suelos (Lobartini y Tan, 1988; Tan *et al.*, 1992). Los grupos funcionales principales son carboxilos, alcoholes, hidroxilos fenólicos y carbonilos (Tabla 1). La presencia de esos grupos funcionales ha sido confirmada mediante estudios de espectroscopia de infrarrojo (Fig. 2) que muestran poco o nada de variación entre fracciones de

distinto peso molecular (Lobartini y Orioli, 1996). En cambio, no ocurre lo mismo entre los AH y los AF, ya que los AF tienen una acidez total, dada por los grupos carboxilos y fenólicos, mayor que la de los AH. La composición elemental de las sustancias húmicas, tal como se puede ver en la Tabla 1, presenta diferencias entre ácidos húmicos y fúlvicos. Como una generalidad, los AH tienen un mayor porcentaje de C y un menor contenido de O que los AF. Un error que se ha cometido a menudo en el análisis elemental de estas sustancias, fue determinar C e H y calcular el

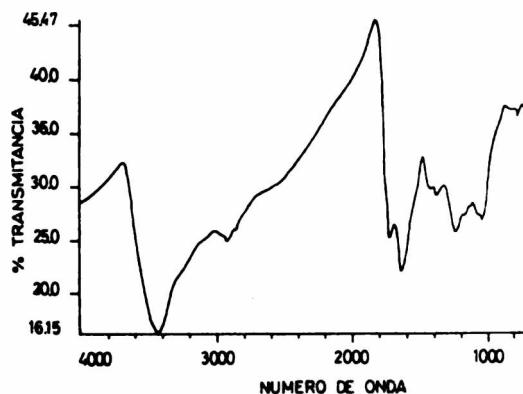
porcentaje de O por diferencia. Se cree que N, P y S también entran en la composición de las moléculas de estas sustancias, aunque una parte podría corresponder a aminoácidos, ADN, etc. presentes en las SH y que no pueden ser separados en el proceso de purificación.

Más detalles sobre las síntesis, propiedades físico-químicas e importancia de las sustancias húmicas de los suelos pueden encontrarse en excelentes revisiones tales como Schnitzer y Khan (1972, 1978), Stevenson (1982, 1985) y Aiken *et al.* (1985). En nues-



**Figura 1.** Espectro de resonancia magnética nuclear del  $^{13}\text{C}$  en estado sólido (CP-MAS  $^{13}\text{C}$ -NMR) de: (arriba) suelo sin fraccionar con 2,6% de C orgánico y (abajo) AH y AF extraído de ese mismo suelo. El espectro puede ser dividido en tres grandes regiones: 0-105, 106-165 y 166-185 ppm correspondientes al C formando compuestos alifáticos, aromáticos y carboxilos respectivamente. Modificado de Tan *et al.* (1992).

Solid state  $^{13}\text{C}$  Nuclear magnetic resonance spectra (CP/MAS  $^{13}\text{C}$  NMR) of whole soil with 2,6% of organic matter (above) and HA and FA extracted from that soil (below). The spectrum can be divided in three main regions: 0-105, 106-165 and 166-185 ppm corresponding to aliphatic, aromatic and carboxyl C respectively.



**Figura 2.** Espectro infrarrojo de AH extraído de un Molisol. La banda de absorción a  $3400\text{ cm}^{-1}$  corresponde a los grupos -OH, la banda de  $2980$  a  $2900\text{ cm}^{-1}$  corresponde a los enlaces C-H, dos picos a  $1720$  y  $1650\text{ cm}^{-1}$  corresponden al estiramiento de C=O y COOH antisimétrico o la vibración del H enlazado al carboxilo respectivamente, una banda a  $1240\text{ cm}^{-1}$  corresponde a C de compuestos aromáticos, y una banda de absorción a  $1040\text{ cm}^{-1}$  corresponde a una contaminación por sílice. Modificado de Lobartini y Tan (1988).

Infrared spectrum of a HA extracted from a Mollisol. The absorption band to  $3400\text{ cm}^{-1}$  is due to -OH groups, the absorption band from  $2980$  to  $2900\text{ cm}^{-1}$  attributed to C-H bonds, two peaks to  $1720$  and  $1650\text{ cm}^{-1}$  corresponding to C=O stretching and COOH antisymmetrical stretch or H bond carboxyl vibration respectively, the absorption band to  $1240\text{ cm}^{-1}$  is attributed to aromatic C, and the absorption to  $1040\text{ cm}^{-1}$  is due to silica contamination.

**Tabla 1.** Acidez total, grupos carboxilos y fenólicos (me/100g) y composición elemental (%) de ácidos húmicos y fúlvicos.

Total acidity, carboxyl and phenolic groups (me/100g) and elemental composition (%) of humic and fulvic acids.

	Acidos Húmicos	Acidos Fúlvicos
Acidez total	560 - 890	640 - 1420
Grupos Carboxílicos	150 - 570	520 - 1120
Grupos Fenólicos	210 - 570	30 - 570
Carbono	50 - 60	40 - 50
Oxígeno	30 - 35	44 - 50
Hidrógeno	4 - 6	4 - 6
Nitrógeno + Azufre + Fósforo	2 - 6	2 - 5

Fuente: Stevenson (1982) y Schnitzer (1978).

tro país se ha trabajado y continua trabajando sobre distintos aspectos y propiedades de las SH. Así, por ejemplo, en la Universidad Nacional de Córdoba Ceppi *et al.* (1996) han estudiado la adsorción de las SH en suelos diferentes, y en la Universidad Nacional del Sur, Rosell *et al.* (1981), han estudiado la materia orgánica de varios suelos de la Argentina. Existen otros grupos de investigación interesados en su caracterización y determinar sus propiedades.

## OBJETIVO

El tema que se va a desarrollar a continuación se limita a un aspecto particular de las SH y es el referido a su relación con la nutrición mineral de las plantas superiores a la luz de algunos resultados experimentales.

## EFFECTOS DIRECTOS E INDIRECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

Desde punto de vista de la nutrición mineral de las plantas, las SH no deben ser consideradas como fuente de N, P ó S, ya

que no solamente su contenido en estos elementos es muy bajo sino que, además, su mineralización es muy lenta. Sin embargo, el efecto benéfico de estas sustancias en la nutrición de las plantas ha sido otro motivo para que hayan sido y sigan siendo estudiadas. En general se acepta que los efectos benéficos son indirectos (aireación, porosidad, quelación), aunque se le atribuyen también efectos directos sobre las plantas.

En su mayoría los efectos directos no tienen que ver con la nutrición mineral de las plantas, sino con su crecimiento y desarrollo. Así, por ejemplo, hay abundante literatura sobre el efecto de las SH sobre generación de raíces y su crecimiento, germinación de semillas, etc., efectos atribuidos a sus propiedades de tipo hormonal (Casenave *et al.*, 1990a y 1990b). También se han descrito efectos directos sobre algunos pasos metabólicos, como por ejemplo la respiración, efectos ligados a su contenido de grupos fenólicos (Casenave *et al.*, 1990c) etc.

La mayoría de los autores coinciden en que los efectos indirectos son de mayor importancia cuando se trata de describir propiedades benéficas a las SH, como parte fundamental de la composición de los suelos orgánicos de alta fertilidad. Se pueden dividir por sus efectos sobre las propiedades físicas y propiedades químicas de los suelos. Según diversos autores (Stevenson, 1985) las características de las SH que explican su efecto sobre las propiedades físicas se originan en una asociación arcilla-metal-humus, en la cual el catión polivalente (Me) neutraliza las cargas negativas de las arcillas y del coloide orgánico sirviendo de puente entre ambos.

Los principales cationes polivalentes responsables de esa unión son Ca, Fe y Al (Stevenson, 1985). Esta asociación, al producir microagregados, aumenta la porosidad del suelo, afectando en consecuencia dos de las condiciones que definen la buena capacidad agrícola de un suelo, como son aireación y retención de agua.

Sus efectos sobre las propiedades quimi-

cas (capacidad de intercambio catiónico, pH, capacidad quelante, etc.), han sido los más estudiados y están directamente relacionados con su peso molecular y la presencia de grupos funcionales (especialmente grupos carboxilos, hidroxilos fenólicos y alcohólicos) que le dan la capacidad para solubilizar minerales y/o afectar su disponibilidad. Se puede pensar que en un polímero polidisperso y polielectrolítico (Weshaw y Aiken, 1985) cada fracción contribuye característicamente a cada una de las propiedades fisico-químicas del polímero, que en nuestro caso son las SH.

## FRACCIONAMIENTO Y MARCACIÓN CON RADIACTIVO

Durante el transcurso de estudios emprendidos sobre algunas de las relaciones entre las SH y la nutrición mineral de las plantas superiores, los investigadores se enfrentaron con problemas metodológicos que no les permitían discernir acerca del verdadero carácter del efecto. En general, la índole de los problemas que se han presentado es variada, pero dos han sido los principales: 1) La asociación entre peso molecular y efecto. Si bien por tratarse de polímeros heterogéneos sus propiedades están íntimamente relacionadas con un apropiado peso molecular promedio; en el caso de las SH la obtención de fracciones puras de distinto peso molecular es importante cuando se quiere estudiar su relación con un determinado efecto, y 2) La dificultad de marcar las SH con carbono radiactivo usando una metodología larga y no muy precisa en cuanto a cual es la fracción marcada.

El uso de técnicas de separación como cromatografía de permeación en columnas con geles apropiados (Curvetto y Orioli, 1982) y otras muchas, han sido usadas con distinto suceso. Recientemente la ultrafiltración seguida por isotacoforesis o enfocamiento isoelectrico (Miravé y Orioli, 1987) ha posibilitado un

fraccionamiento preparativo seguido por la identificación de las fracciones, demostrando que las de peso molecular promedio, obtenidas por ultrafiltración, están a su vez compuestas por otras fracciones que al menos difieren entre sí por sus propiedades eléctricas. La técnica usada aquí, isotacoforesis, (Curvetto *et al.*, 1974; 1975 y Curvetto y Orioli, 1982) distingue diferencias de movilidad en un campo eléctrico aplicado a una mezcla compleja de ácidos con una gran cantidad de valores de pK que se ordenan de acuerdo a su acidez. El resultado es un gradiente de pH que se mueve hacia el ánodo con los ácidos orgánicos formando un tren de zonas con el anión más ácido al frente, ya que éste tiene la más alta movilidad. Así entonces, puede observarse que las fracciones de menor peso molecular tienen mayor movilidad electroforética que las de mayor peso, y que a su vez cada fracción está compuesta por una serie de bandas. Como la técnica isotacoforética no distingue movilidad por diferencias de peso molecular, como sí lo hace la electroforesis a disco, no puede asegurarse que las bandas sean de diferente peso, pero sí que la cantidad de cargas negativas es diferente. La literatura sobre la materia concuerda en que hay una correlación negativa entre peso molecular y carga. El patrón de distribución isotacoforética de bandas de fracciones de distinto peso molecular obtenido por permeación en geles (Fig. 3) corrobora la anterior suposición. Puede entonces aceptarse con bastante certeza que las bandas de color marrón claro y alta movilidad contienen AH de menor peso molecular que las de color marrón oscuro con menor movilidad. El uso de nuevos equipos de enfocamiento isoelectrico preparativo y del "salting out" con sulfato de amonio (resultados no comunicados) permitirían obtener suficiente cantidad de alguna fracción como para poder realizar determinaciones de propiedades fisico-químicas para su caracterización y que den una idea de su importancia.

La marcación tradicional de las SH con



**Figura 3.** Densitogramas de separaciones isotacoforéticas en geles de poliacrilamida de AH y dos fracciones de AH obtenidas por permeación en geles. La flecha indica el sentido de la migración de los aniones. Modificada de Curvetto y Orioli (1982).

*Densitometric traces of the isotachopheretic separation of a humic acid sample and two molecular weight AH fractions obtained from it by gel permeation. The arrow indicates the direction in which the anionic species migrate.*

un isótopo radiactivo consiste en incubar el suelo con material vegetal marcado con  $^{14}\text{C}$  (Vaughan y Ord, 1985) y luego de un tiempo aislar las SH. Parte de radiactividad esta incorporada al material húmico, pero siempre fue imposible comprobar si el carbono marcado formaba parte del esqueleto de este material o son sólo moléculas orgánicas adsorbidas. Un método utilizado posteriormente para la obtención de material húmico marcada fue el de la cloramina-T, adaptado por Lobartini (1984) y Lobartini *et al.* (1982, 1986) del método original de Hunter y Greenwood (1962), para la marcación de las proteínas con yodo radioactivo. Esta última metodología permite marcar rápidamente las SH y sus diferentes fracciones con mucha seguridad

y con un radioisótopo más fácil de determinar que el  $^{14}\text{C}$ . Sin embargo si bien la corta vida media del  $^{125}\text{I}$  o del  $^{131}\text{I}$  únicamente permiten estudios de corta duración. La doble marcación con I y un metal ha posibilitado la obtención de resultados de sumo interés en cuanto a al efecto de las SH sobre la nutrición mineral de las plantas superiores. Sorprendentemente la marcación con yodo radiactivo no ha sido muy usada.

### EFFECTO EN LA NUTRICIÓN MINERAL DE LAS PLANTAS

Tal como se ha descrito en la sección anterior hoy se cuentan con metodologías de marcación, purificación y fraccionamiento que han permitido alcanzar resultados que aseguran una descripción mas detallada y precisa del proceso, o al menos confirmar o describir mas exactamente la naturaleza de algunos ya descritos. Así se comentan a continuación algunos efectos de las SH sobre la nutrición mineral que han sido últimamente estudiados utilizando estas metodologías.

Un efecto sobre la solubilidad de nutrientes minerales que ha sido descrito es la interacción de las sustancias húmicas con sustancias fosfatadas de muy escasa solubilidad, como son la apatita y fosfatos de hierro y de aluminio. En este caso la reacción química entre los fosfatos y las SH hace que el producto SH-Catión sea insoluble, mientras que el anión fosfato queda en la solución del suelo. Una prueba de que el equilibrio está desplazado a la derecha es que estudios de absorción de fósforo a partir de fuentes de escasa solubilidad, demuestran que el contenido de fósforo en las plantas fue proporcional a la cantidad del AH o AF agregados (Lobartini, 1990; Lobartini *et al.*, 1994). También pudo observarse la mayor eficiencia del AH con respecto al AF en la disolución de apatita y los fosfatos de Fe y Al a pesar de que los fúlvicos tienen mayor acidez total y



móvil y agua como líquido desarrollante, observaron que quelatos de Fe y Zn con fracciones de alto peso molecular marcadas con  $^{131}\text{I}$  permanecían en el punto de siembra, mientras que las de bajo peso molecular eran movilizadas. Las fracciones de bajo peso molecular, que tienen mayor solubilidad, son las que tendrían mayor importancia en el movimiento de micronutrientes en el suelo. Pero, desde el punto de vista de la nutrición mineral de las plantas, todas las fracciones de SH son importantes, aun las de alto peso molecular. En efecto, éstas, si bien tienen menor o nula movilidad, retienen gran parte de los micronutrientes al formarse complejos orgánicos insolubles. Así por ejemplo, si se forma Fe-AH de alto peso molecular, el Fe al ser excluido de la solución acuosa del suelo no quedará inmovilizado por reacciones químicas que lo precipitan como óxidos de muy poca solubilidad, sino que por el contrario queda sustraído del medio, pero disponible para las plantas. En efecto, por la acción de sideróforos y quelatos naturales excretados desde las raíces hacia la rizosfera (p. ej. citrato), y de otros ligandos orgánicos derivados del decaimiento de la M.O. (p. ej. AF), se posibilita la movilidad del Fe desde Fe-AH, hacia el apoplasto de la raíz. Este efecto positivo para las plantas se debe a que estos quelatos bioquímicos (L), si bien puede tener una constante de formación menor, son solubles y forman complejos móviles. Así aunque compitan con mediano éxito por el metal ligado al complejo Fe-AH que tiene una constante de formación mayor, la resultante sería un aumento del micronutriente disponible para las plantas en la inmediata vecindad de sus raíces.

Como se dijo más arriba, otro compartimiento del suelo en el que los cationes micronutrientes pueden estar es el intercambiable. Por eso, otra importante propiedad química de las SH es su capacidad de intercambio catiónico (CIC) que puede ser perfectamente entendida si se consideran las SH como micelas coloidales componiendo una matriz cuya superficie es fuertemente negativa, de-

bido a la ionización de los grupos carboxilos e hidroxilos ácidos, y que debido a su bajo potencial zeta el coloide flocula fácilmente con cationes polivalentes. Así entonces, en un suelo con un contenido alto de materia orgánica, entre un 30 y 90% de la CIC de ese suelo puede ser debida a las SH, componiendo un compartimiento importante en lo que hace a los cationes macronutrientes, pero reducido para los cationes micronutrientes. Estas propiedades de las SH de alto peso molecular, formar complejos insolubles y poseer alta CIC, marcan su importancia cuando se consideran problemas de contaminación por metales pesados, ya que la reacción SH-Metales pesados forma complejos de escasa solubilidad y movilidad impidiendo así la contaminación de acuíferos. Además, el comportamiento de muchos compuestos orgánicos adicionados a los suelos esta relacionado con su adsorción a las SH. La bioactividad, persistencia, degradabilidad, lixiviación y volatilidad de los compuestos orgánicos son afectados al interactuar con las SH como lo demuestran estudios realizados con pesticidas agregados a los suelos (Stevenson, 1985).

## BIBLIOGRAFÍA

- Casenave de Sanfillippo E, JA Argüello, and GA Orioli (1990a)** The effect of humic acids and their different mass fractions on germination in sunflower. *Biologia Plantarum* 32: 42-48.
- Casenave de Sanfillippo E, JA Argüello, G Abdala and GA Orioli (1990b)** Content of auxin-inhibitor- and gibberellin-like substances in humic acids. *Biologia Plantarum* 32: 346-351.
- Casenave de Sanfillippo E, JA Argüello, NS Correa and GA Orioli (1990c)** The effect of humic acids on root growth and endogenous levels of auxin and inhibitory-like substances. *Revista de Ciencias Agropecuarias* 7: 9-12
- Coppi SB, ML Velazco y CP De Pauli (1996)** Ácidos húmicos: características de su adsorción sobre partículas de suelo. *Actas XV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Santa Rosa, La Pampa: 87-88.*
- Curvetto NR, AN Balmaceda and GA Orioli (1974)** Isotachopheresis and isoelectrofocusing of soil



- humic substances in polyacrylamide gel. *Journal of Chromatography* 93: 248-250.
- Curvetto NR, AN Balmaceda and GA Orioli (1975)** Electrophoretic methods for fractionation of humic and fulvic acids. *Turrialba* 25: 265-270.
- Curvetto NR and GA Orioli (1982)** Electrophoretic subfractionation of low and high molecular weight humic acid fractions. *Plant and Soil* 66: 205-215.
- Hunter WM and FC Greenwood (1962)** The preparation of <sup>131</sup>I-labelled human hormone of high specific radioactivity. *Nature* 194: 95-496.
- Lobartini JC (1984)** Radioiodinación como técnica para el estudio del efecto del ácido húmico en la absorción de hierro por las plantas. Tesis Magister, Universidad Nacional de Sur, Bahía Blanca, Argentina. 126 pp.
- Lobartini JC (1990)** Composition of humic substances and their interaction with phosphorus. Ph D Tesis. University of Georgia, Athens, Georgia. USA. 138 pp.
- Lobartini JC and GA Orioli (1988)** Absorption of iron from Fe-humate in nutrient solutions by plants. *Plant and Soil* 106: 153-157.
- Lobartini JC y GA Orioli (1996)** Características de distintas fracciones de las sustancias húmicas del suelo. Actas XV Congreso Argentina de la Ciencia del Suelo. Santa Rosa, La Pampa: 115-116.
- Lobartini JC and KH Tan (1988)** Differences in humic acids characteristics as determined by carbon-13 nuclear magnetic resonance, scanning electron microscopy, and infrared analysis. *Soil Science Society of America Journal* 52: 125-130.
- Lobartini JC, NR Curvetto and GA Orioli (1982)** Labelling of humic acid with radioiodine. *International Journal of applied radiation and isotopes*. 33: 1131-1134.
- Lobartini JC, NR Curvetto and GA Orioli (1986)** Optimization of the labelling of humic acid with radioiodine. *Applied Radiation and Isotopes* 37: 237-238.
- Lobartini JC, KH Tan and C Pape (1994)** The nature of humic acid-apatite interaction products and their availability to plant growth. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 25: 2355-2369.
- Miravé JP and GA Orioli (1987)** Edaphic mobility of complete humic acid and fractions of high and medium molecular weight. *Plant and Soil* 104: 169-174.
- Miravé JP and GA Orioli (1989)** Zinc absorption and transport from complete humate and medium molecular weight fractions. *The Science of the Total Environment* 82: 679-682.
- Miravé JP, JC Lobartini y GA Orioli (1987)** Absorción y transporte de hierro a partir de fuentes orgánicas de distinto peso molecular. *Ciencia del Suelo* 5: 31-35.
- Orioli GA and NR Curvetto (1982)** Evaluation of extractants for soil humic substances. I. isotachophoretic studies. *Plant and Soil* 66: 353-361.
- Rosell R, H Schöttig, C Salfeld and N Flaig (1981)**. Organics components in Argentine soils. *Agrochimica* 25: 286-297.
- Schnitzer M (1978)**. Humic substances: chemistry and reactions. En: *Soil Organic Matter. Developments in soil science*. Vol. 8. M Schnitzer and SU Khan, Eds. Elsevier Press, Oxford: 1-64.
- Schnitzer M (1982)** Organic matter characterization. En: *Methods of soil analysis. Part 2. 2nd edition Agronomy*. AL Page, RH Miller and DR Keeney, Eds. Soil Science Society of America, Pub., Madison, Wisconsin USA: 581-594.
- Schnitzer M and SU Kahn (1972)** Humic substances in the environment. Marcel Dekker, New York. 327 pp.
- Stevenson FJ (1982)** Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions. J. Wiley & son, New York. 443 pp.
- Stevenson FJ (1985)** Geochemistry of soil humic substances. En: *Humic substances in soil, sediment and water*. G R Aiken, DM McKnight and RL Wershaw, Eds. Wiley and sons, Inc., New York: 13-52.
- Tan KH (1980)** The release of silicon, aluminum, and potassium during decomposition of soil minerals by humic acid. *Soil Science* 129: 5-11.
- Tan, KH, DS Himmelsbach and JC Lobartini (1992)** The significance of solid-state <sup>13</sup>C NMR spectroscopy of whole soil in the characterization of humic matter. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 23: 1513-1532.
- Vaughan D and BG Ord (1985)** Soil organic matter - A perspective on its nature, extraction, turnover and role in soil fertility. En: *Soil organic matter and biological activity*. D Vaughan and RE Malcolm, Eds. Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publisher, Boston: 4-36.
- Wershaw RL and GR Aiken (1985)** Molecular size and weight measurements of humic substances. En: *Humic substances in soil, sediment and water*. G R Aiken, DM McKnight and RL Wershaw, Eds. Wiley and sons, Inc., New York: 477-492.