

Extracción secuencial de Níquel, Cromo y Zinc en un suelo de la Cuenca del Lago de Valencia y su acumulación en plantas de sorgo

Sequential extraction of Nickel, Chromium and Zinc in a soil of the Valencia Lake basin and its accumulation in sorghum plants

M. Barrios S. y S. Longa M.

Departamento de Agronomía, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela Maracay 2101

Resumen

Se realizó un ensayo en invernadero a fin de determinar las diferentes formas químicas de Ni, Cr y Zn en un suelo cultivado con sorgo, 35 días después de la siembra (dds). Las fracciones químicas de estos metales fueron caracterizadas a través de un proceso de extracción secuencial en cinco fases. Se aplicaron al suelo tres dosis de cada elemento (D0, D1 y D2). Los resultados mostraron que la fracción asociada a óxidos de Fe y Mn fue mayoritaria para Ni y Zn a D1 y D2, mientras que en Cr predominaron formas asociadas a la fracción soluble. A D0, la fracción más abundante de Cr y Zn fue la residual, mientras que el Ni se asoció a óxidos de Fe y Mn. En este suelo predominan las fracciones de Ni y Zn asociadas a óxidos de Fe y Mn, seguida por la fracción asociada a materia orgánica. Cuando estos metales fueron determinados en la planta, la mayor acumulación ocurrió en las raíces. La mayor producción de materia seca (hojas y raíces) se obtuvo a la D1 en los tratamientos con Zn y Cr, mientras que para Ni fue mayor a la D0. Se observaron síntomas de toxicidad por Cr y una disminución significativa del rendimiento en materia seca (tallos + hojas). Con respecto al Ni, a la D2 las hojas presentaron clorosis intervenal localizada y la producción de materia seca de raíces se redujo. En los tratamientos con Zn no se observaron síntomas de toxicidad en la planta. Se obtuvieron mayores valores de altura de planta a ambas dosis de Ni y la longitud promedio de raíces fue mayor a la dosis más baja de Cr.

Palabras clave: Lago de Valencia, extracción secuencial, níquel, cromo, zinc, sorgo.

Abstract

Different chemical forms of Ni, Cr and Zn were determined in a soil cultivated with sorghum, 35 days after planting. The chemical fractions of the metals were characterized by sequential extraction analysis in five steps. Three rates of each metal were applied to soil (D0, D1 and D2). Results showed that Ni and Zn appeared as forms mainly associated with the Fe and Mn oxides at rates D1 and D2, while Cr resulted mainly associated with the exchangeable fraction. At rate D0, the most abundant fraction of Cr and Zn was the residual one, while Ni appeared mainly associated with Fe and Mn oxides. It seems in this soil there is a predominance of Ni and Zn fractions associated to Fe and Mn oxides, followed by the fraction associated to organic matter. When these metals were determined in plants, the highest concentration was found in roots. The highest production of dry matter, both leaves and roots, was found at the lowest rate (D1) for Zn and Cr treatments, while for Ni, it was higher at D0. Were observed Cr toxicity symptoms and a significant decrease in dry matter yield. In Ni treatments, leaves showed interveinal chlorosis and dry matter production of roots decreased. In Zn treatments it wasn't observed toxicity symptoms in plants. The highest height plant values were found at both rates of Ni (D1 and D2) and root length was higher at the lowest rate of Cr (D2).

Key words: Valencia Lake, sequential extraction, Nickel, Chromium, Zinc, Sorghum.

Introducción

La composición mineral y mecánica del suelo tiene un gran efecto sobre los metales pesados; particularmente las asociaciones con las distintas fases y componentes del suelo, parecen ser fundamentales en su comportamiento. La composición de metales pesados en los suelos está relativamente bien establecida, aunque existen discrepancias en cuanto a los resultados analíticos, especialmente en lo que respecta a las mediciones de cantidades muy pequeñas. Conocer la distribución de estos elementos entre los componentes del suelo y la forma química en la cual se presentan (especiación) es importante para determinar su efecto. Las cantidades

Introduction

The soil mineral and mechanic composition have a high effect on the heavy metals; particularly the associations with different phases and soil components. seems to be fundamental in its behavior. Composition of heavy metals in soils is relatively well established even there are discrepancies respect to the analytical results, specially in relation to measurements of very little quantities. To know the distribution of this elements between the soil components and the chemical form in which they are present (speciation) is important for determining its effect. The total quantities presents in soil do not represent an adequate

totales presentes en el suelo no representan una medida adecuada de la potencial toxicidad de un determinado metal (4, 10, 11), su especiación química va a influir no solo en su disponibilidad (según esté disuelto, adsorbido, ligado o precipitado) sino también en su grado de toxicidad.

Venezuela ha experimentado en las últimas tres décadas un importante crecimiento poblacional, especialmente en la región centro-norte-cosquera. La Cuenca del Lago de Valencia ha sido una de las zonas más seriamente afectadas por la actividad humana: desarrollo de áreas industriales y actividades agrícolas, conjuntamente a la descarga de desechos sólidos y líquidos no tratados, que han afectado tanto las aguas como los suelos de la cuenca (15) (16). El estudio de los efectos de la contaminación por metales pesados sobre los organismos vivos, se facilita a través del uso de plantas indicadoras, ya que ellas constituyen sistemas abiertos y representan el primer eslabón en las cadenas tróficas de los ecosistemas. En el presente trabajo se utilizó la planta de sorgo como biomonitor de la acción de los metales Ni, Cr y Zn sobre su productividad, evaluando además algunos efectos tóxicos sobre la morfofisiología de la planta.

En este estudio se analizan los contenidos totales de Ni, Cr y Zn, su especiación en la fase sólida y las relaciones de estos elementos con otros componentes del suelo, además se estudian las relaciones entre los contenidos totales de estos metales y el crecimiento de plantas de sorgo, 35 días después de la siembra.

measurement of the potential toxicity of a determined metal (4, 10, 11); its chemical speciation influencing not only in its availability (depending on be dissolved, adsorbed, linked or precipitated) but also in its toxicity degree.

In the last three decades, Venezuela has experimented a great population growing, specially in the north-cost region. Valencia Lake basin have been one of the more affected regions by the human activity: developing of industrial areas and agricultural activities, in addition to the discharge of solid and liquid wastes without any treatment, which have affected not only waters but also basin soils (15) (16). The study of the effects of pollution by heavy metals on the live organisms is facilitate through the use of indicators plants, since they constitute open systems and represent the first link in the throphic chains of ecosystems. Sorghum plant was used in this work like biomonitor of the metals Ni, Cr and Zn action on its productivity by also evaluating some toxic effects on the plant morphophysiology.

In this study the total contents of Ni, Cr and Zn are analyzed. its speciation in the solid phase and the relationships of these elements with other soil components besides the relationships of the total contents of these metals with sorghum plant growing, 35 days after planting.

Materials and methods

Simple superficial samples (0-20 cm) were taken from a *Mollic*

Materiales y métodos

Se tomaron muestras superficiales simples (0-20 cm) del suelo *Mollic ustifluvent* (con las características generales mostradas en el cuadro 1) en un área de una hectárea, localizada en la Estación Experimental Samán Mocho, ubicada en la zona de influencia de la Cuenca del Lago de Valencia (10 05' 58" N; 67 51' 40" E) (figura 1). Esta zona está caracterizada por una fuerte antropización, dada la proximidad de zonas industriales y la utilización, durante muchos años de estos suelos, con fines agrícolas. El suelo triturado, tamizado y mezclado, fue colocado en bolsas de polietileno negro sobre platos de lixiviación, en el invernadero. Se utilizó un diseño de bloques al azar con 5 repeticiones. Los elementos evaluados fueron Ni, Cr y Zn, a dos dosis cada uno (D1 y D2), más un testigo (D0). En el cuadro 2 se muestran las dosis aplicadas, las cuales se seleccionaron en función de los valores críticos de suficiencia y toxicidad para cultivos agronómicos reportados en la literatura (2, 5, 10, 19). Las dosis fueron agregadas al suelo en las bolsas antes de la siembra del cultivo.

Cada unidad experimental estuvo constituida por 5 bolsas. Se sembraron 6 semillas por bolsa y se realizó un entresaque a los 15 dds, dejando 2 plantas por bolsa. Las muestras de suelo y de planta se tomaron 35 dds. El suelo fue guardado en bolsas plásticas y las plantas fueron separadas e identificadas por órganos y tratamientos para su posterior análisis en el laboratorio.

ustifluvent soil (with general characteristics showed in table 1) in an area of one hectare located in the Experimental Station "Samán Mocho" located in the influence region of the Valencia Lake basin (10 05' 58" N; 67 51' 40" E) (figure 1). This region is characterized by a strong anthropization, because the proximity of industrial regions and the utilization during many years of these soils with agricultural purposes. The grind, sieve and mixed soil was placed in black polyethylene bags on lixiviation plates in the greenhouse. A split plot design with five replications was used. The evaluated elements were Ni, Cr and Zn, at two doses each one (D1 and D2), besides a control (D0). In table 2 the doses applied are shown which were chosen as a function of critical values of sufficiency and toxicity for agronomical cultures reported in literature (2, 5, 10, 19). Doses were added to soil in bags before crop planting.

Each experimental unit was formed by five bags, six seeds were planted by bag, and a picking out was made on day 15 days after planting, by leaving 2 plants by bag. The soil and plant samples were taken 35 days after planting. Soil was kept in plastic bags and plants were separated and identified by organs and treatments for its subsequent analysis in lab.

Determination and analysis of soil sample

The following analytical determinations were accomplished: pH in water and in KCl; N soil solution 1:2,5; electric conductivity

Cuadro 1. Propiedades físico químicas del suelo bajo estudio.**Table 1. Physical and chemical properties of the studied soil.**

| Arcilla (%) | Limo (%) | Arena (%) | Textura | pH en agua 1:1 | CE (dS/m) | Materia orgánica (%) | CaCO ₃ (%) |
|---|----------|-----------|---------|----------------|-----------|----------------------|-----------------------|
| 19,2 | 28 | 52,8 | Fa | 7,53 | 1,23 | 5,53 | 30 |
| Contenidos totales (mg.kg ⁻¹) en el suelo | | | | P | K | Na | Ca |
| | | | | 87 | 70 | 54 | 2034 |
| | | | | Mg | Ni | Cr | Zn |
| | | | | 176 | 1,09 | 0,44 | 7,83 |

Determinación y análisis de las muestras de suelo

En este suelo se realizaron las siguientes determinaciones analíticas: pH en agua y en KCl; N (relación suelo-solución 1:2,5); conductividad eléctrica (relación suelo-solución 1:5); análisis mecánico (método de Boyoucos); carbonatos totales (me-

soil solution 1:5; mechanic analysis (Boyoucos method); total carbonates (through acid neutralization); cation exchange capacity; Fe and Mn oxides (6); organic matter; total nitrogen (Kjeldhal modified) and changeable bases (ammonium acetate). The methodology used is describe in the Soils and Plants Analysis Methods



Figura 1. Ubicación relativa del área de estudio (Fuente cartográfica: Servicio Autónomo de Geografía y Cartografía Nacional).

Figure 1. Relative location of the study area (Chartographic source: Autonomous Service of National Geography and Cartography).

Cuadro 2. Tratamientos y dosis de Ni, Cr y Zn aplicados al suelo bajo estudio.**Table 2. Treatments and doses of Ni, Cr and Zn applied to the studied soil.**

| Dosis (mg.kg ⁻¹) | Tratamientos | | | | | | |
|---------------------------------|---|----|--|----|---|----|---------|
| | Níquel | | Cromo | | Zinc | | Testigo |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 0 |
| | 30 | 90 | 30 | 60 | 15 | 30 | 0 |
| Fuente | Sulfato de Níquel (NiSO ₄ x6H ₂ O) | | Trióxido de Cromo (CrO ₃ (VI)) | | Acetato de Zinc (ZnCH ₃ CO ₍₂₎ x2H ₂ O) | | - |

dianete neutralización ácida); capacidad de cambio total; óxidos de Fe y Mn (6); materia orgánica; nitrógeno total (Kjeldhal modificado) y bases cambiables (acetato de amonio). Se utilizó la metodología descrita en los Métodos de Análisis de Suelos y Plantas utilizados en el Laboratorio General del Instituto de Edafología, Facultad de Agronomía, UCV(7).

Para la determinación de los contenidos de Ni, Cr y Zn en el suelo, se pesaron 0,5 g de muestra en un beaker, se le agregaron 5 mL de HNO₃ y se colocó en una plancha de calentamiento (hasta formar una pasta). Se dejó enfriar. Se le agregaron 5 mL de agua destilada y 10 ml de HClO₄ (calentando hasta formar humus amarillo intenso). Se centrifugó para ser analizado en absorción atómica (17).

El fraccionamiento de los elementos se efectuó mediante un procedimiento de extracción secuencial en 5 fases: soluble y/o de cambio, asociada a carbonatos y/o extraíble a pH 5, asociada a oxihidróxidos de Fe y Mn, asociada a materia orgánica y

used in the General Laboratory of the Institute of Edaphology. Agronomy Faculty. UCV(7).

For determining contents of Ni, Cr and Zn in soil, 0,5 g of sample were weighted in a beaker; 5 ml of HNO₃ were added and it was placed on a heating griddle (until forming a paste). It left getting cold, 5 ml of distilled water and 10 ml of HClO₄ were added (by heating until forming intense yellow humus). It was centrifuged for being analyzed on the atomic absorption (17).

The elements fractioning was made through a sequential extraction procedure in 5 phases: soluble and/or of change, associated to carbonate and/or extractable to pH 5, associated to oxihydroxides of Fe and Mn, associated to organic matter and residual, based on method proposed by Tessier *et al.* (18) and modified by Cala *et al.* (4). Experimental results show that standard deviation of this procedure of sequential extraction is generally better than ±10%, so its precision is satisfactory (18). The ex-

residual, basado en el método propuesto por Tessier et al., (18) y modificado por Cala *et al.* (4). Resultados experimentales demuestran que la desviación estándar de este procedimiento de extracción secuencial es generalmente mejor que $\pm 10\%$, por lo que su precisión es satisfactoria (18). Las condiciones experimentales se resumen en el cuadro 3. Las concentraciones de Ni, Cr y Zn fueron determinadas en todos los extractos por espectrofotometría de absorción atómica (Perkin Helmer Modelo 3110).

Determinación y análisis de las muestras de plantas

Se tomaron dos plantas por tratamiento, las cuales fueron separadas e identificadas por órganos (raíces, tallos y hojas) y por tratamientos. Luego se lavaron con agua destilada estéril para eliminar restos de impurezas y de suelo. Se secaron en una estufa a 75°C y se determinaron los pesos secos de raíces, tallos y hojas. Estas muestras fueron maceradas para luego ser colocadas en un digestor y ser analizadas por espectrofotometría de absorción atómica (3).

Para determinar el contenido de Cr, Ni y Zn en el tejido vegetal, se utilizó el método de oxidación a alta temperatura (cenizas) (3): se pesó 1 g de muestra seca en un crisol de porcelana, incinerándolo en una mufla a 500°C por 2 horas. Luego se agregó agua destilada (10 mL) y de 3 a 4 mL de HNO_3 , se evaporó en un plato de calentamiento a $100\text{-}120^{\circ}\text{C}$ y se disolvieron las cenizas con HCl a un volumen de 15 mL. El análisis se realizó por espectrofotometría de absorción atómica.

Experimental conditions are summarized in table 3. Concentrations of Ni, Cr and Zn were determined in all the extracts by spectrophotometry of atomic absorption (Perkin Helmer Model 3110).

Determination and analysis of the plants samples

Two plants were taken by treatment which were separated and identified by organs (roots, stems and leaves) and by treatment then, they were washed with sterile and distilled water for eliminating any rest of impurity and soil. They were dried in a gas heater to 75°C and dry weights of roots, stems and leaves were determined. These samples were macerated and then placed in a digester for being analyzed by spectrophotometry of atomic absorption (3).

For determining content of Cr, Ni and Zn in vegetal tissue. it was used the oxidation method at high temperature (ashes) (3) was used: 1 g of dry sample which was weighed in a porcelain crucible; then, it was incinerated in a muffle furnace at 500°C by two hours. Then it was added 10 mL of distilled water plus 3 to 4 mL of HNO_3 , was evaporated in a heating plate to $100\text{-}120^{\circ}\text{C}$ and ashes were dissolved with HCl to a volume of 15 mL. Analysis was accomplished through spectrophotometry of atomic absorption.

Statistical analysis

Each response variable was submitted to analysis of variance and test of multiple ranks of Duncan besides of determining correlations

Cuadro 3. Esquema de fraccionamiento para Ni, Cr y Zn.

Table 3. Scheme of fractioning for Ni, Cr and Zn.

| Fracción | Solución | mL de solución extractante | Condiciones |
|--|--|----------------------------|--|
| F1. Soluble y/o de cambio | MgCl ₂ M(pH7) | 16 | 30-60 min |
| F2. Asociada a carbonatos y/o extraíble a pH 5 | NaOAc/HOAc(pH 5) | 16 | Agitación 5 horas |
| F3. Asociada a oxihidróxidos de Fe y Mn | NH ₂ OH.HCl 0,04 M en HOAc 25% | 40 | Baño agua 6 horas |
| F4. Asociada a materia orgánica | a) HNO ₃ 0,02 + H ₂ O ₂ 30% b) H ₂ O ₂ 30% c) NH ₄ OAc 3,2 M en HNO ₃ 20% | 6-10 | Baño agua 2 horas Baño agua 3 horas Agitación 30 minutos |
| F5. Residual | HF conc. -HClO ₄ conc. | — | — |

Análisis Estadístico

Cada variable de respuesta fue sometida a análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan. Además se determinaron las correlaciones entre formas químicas de Ni, Cr y Zn y algunas características del suelo. Se utilizó el análisis de la varianza para relacionar los metales con las variables de planta.

Resultados y discusión

La caracterización de las diferentes formas químicas de Ni, Cr y Zn añadidos al suelo, se llevó a cabo 35 días después de la siembra del cultivo.

Contenidos totales de Ni, Cr y Zn en el suelo

Las concentraciones totales de Ni, Cr y Zn obtenidas en el suelo a través del procedimiento de extracción secuencial, se muestran en el cuadro 4. Los valores obtenidos se encuentran dentro de los intervalos de variación citados para suelos del mundo (11, 13), con excepción del Cr, cuya concentración estuvo por debajo de los valores promedio.

Extracción secuencial de Ni, Cr y Zn 35 dds

Los resultados muestran que con la aplicación de este método el metal menos extraído fue el Cr (1,72 a 27,64%) aún cuando la distribución de este elemento en las diferentes fracciones indica una mayor asociación del metal a formas móviles y disponibles, tanto a la D1 como a la D2 (figuras 2, 3 y 4). Esto pudiera estar relacionado con las cantidades significativas de Cr asociadas además a óxidos de Fe y Mn. La presencia de compuestos de Mn pudiera tener el

between chemical forms of Ni, Cr and Zn and some characteristics of soil. The analysis of variance was used for relating metals with plant variables.

Results and discussion

The characterization of the different chemical forms of Ni, Cr and Zn added to soil was made 35 days after planting.

Total contents of Ni, Cr and Zn in soil

The total concentrations of Ni, Cr and Zn obtained in soil through sequential extraction procedure are shown in table 4. The values obtained are inside the intervals of variation cited for soils of the world (11, 13) with exception of Cr whose concentration was below of mean values.

Sequential extraction of Ni, Cr and Zn 35 days after planting.

Results shown that with the application of this method, the metal less extracted was Cr (1.72 to 27.64%) even when distribution of this element in the different fractions shows a major association of this metal to mobile and available forms (figures 2, 3 and 4). This could be related with significant quantities of Cr associated to oxides of Fe and Mn. The Mn compounds presence could have the effect of oxidize the Cr III in the soil, which is insoluble, to forms more available for plants (13). On the other hand, soils have a high probability of transforming Cr III to Cr VI, soluble and toxic (8). The pH of the soil and redox conditions also influence on the Cr solubility, specially at alkaline pH, at which Cr is highly mobile (20). These two oxidation states (Cr III and

Cuadro 4. Contenidos totales de Ni, Cr y Zn, a las dosis 0, 1 y 2, extraídos en las distintas fracciones de suelo.**Table 4. Total contents of Ni, Cr and Zn, to the doses of 0.1 and 2, extracted in different soil fractions.**

| Repet. | Trat. | | | | | | Total |
|------------------------|-------|------|------|-------|-------|------|-------|
| | | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | |
| (mg.kg ⁻¹) | | | | | | | |
| Níquel | | | | | | | |
| 1 | D0 | 0 | 0 | 0,89 | 0,84 | 0,49 | 2,23 |
| | D1 | 0,21 | 0,77 | 3,80 | 2,86 | 0,63 | 8,27 |
| | D2 | 1,58 | 1,94 | 19,5 | 16,32 | 3,84 | 47,34 |
| 2 | D0 | 0 | 0,07 | 0,97 | 0,89 | 1,03 | 2,96 |
| | D1 | 0,77 | 2,04 | 8,10 | 5,89 | 1,92 | 18,72 |
| | D2 | 1,94 | 5,85 | 21,09 | 16,09 | 5,28 | 50,25 |
| 3 | D0 | 0 | 0 | 0,85 | 0,88 | 0,88 | 2,61 |
| | D1 | 0,31 | 1,77 | 8,44 | 5,59 | 1,81 | 17,92 |
| | D2 | 0,64 | 4,70 | 20,76 | 13,66 | 4,39 | 44,15 |
| 4 | D0 | 0 | 0 | 0,85 | 0,86 | 0,50 | 2,24 |
| | D1 | 0,21 | 0,73 | 3,38 | 2,80 | 0,60 | 7,72 |
| | D2 | 1,54 | 6,10 | 20,0 | 16,27 | 3,79 | 47,7 |
| 5 | D0 | 0 | 0,02 | 0,81 | 0,79 | 0,50 | 2,12 |
| | D1 | 0,19 | 0,76 | 3,74 | 2,80 | 0,61 | 8,10 |
| | D2 | 1,55 | 6,17 | 19,05 | 16,40 | 3,78 | 46,95 |
| Cromo | | | | | | | |
| 1 | D0 | 0,43 | 0,26 | 0,08 | 0,21 | 0,74 | 1,72 |
| | D1 | 5,69 | 0,98 | 3,01 | 4,37 | 0,86 | 14,91 |
| | D2 | 9,17 | 1,86 | 3,15 | 4,00 | 1,08 | 19,26 |
| 2 | D0 | 0,43 | 0,27 | 0,05 | 0,24 | 1,22 | 2,21 |
| | D1 | 3,66 | 0,81 | 1,92 | 3,02 | 0,95 | 10,36 |
| | D2 | 8,78 | 3,18 | 4,89 | 6,30 | 1,24 | 24,39 |
| 3 | D0 | 0,39 | 0,30 | 0,09 | 0,20 | 1,09 | 2,07 |
| | D1 | 5,00 | 2,05 | 3,19 | 3,52 | 1,21 | 14,97 |
| | D2 | 9,14 | 5,02 | 5,94 | 6,58 | 0,96 | 27,64 |

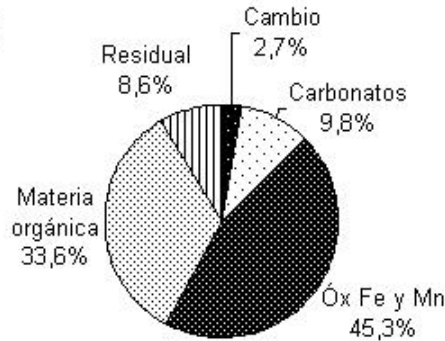
Cuadro 4. Contenidos totales de Ni, Cr y Zn, a las dosis 0, 1 y 2, extraídos en las distintas fracciones de suelo (Continuación).**Table 4. Total contents of Ni, Cr and Zn, to the doses of 0.1 and 2, extracted in different soil fractions (Continuation).**

| Repet. | Trat. | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | Total |
|--------------|-------|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | (mg.kg ⁻¹) | | | | | |
| Cromo | | | | | | | |
| 4 | D0 | 0,50 | 0,25 | 0,07 | 0,24 | 0,79 | 1,85 |
| | D1 | 3,69 | 0,99 | 2,97 | 4,35 | 0,85 | 12,85 |
| | D2 | 9,15 | 1,85 | 3,17 | 3,96 | 1,10 | 19,23 |
| 5 | D0 | 0,44 | 0,29 | 0,09 | 0,23 | 0,73 | 1,78 |
| | D1 | 3,68 | 0,95 | 2,70 | 4,15 | 0,85 | 12,3 |
| | D2 | 8,88 | 1,84 | 3,05 | 4,32 | 1,11 | 19,2 |
| Zinc | | | | | | | |
| 1 | D0 | 0,10 | 0,48 | 2,78 | 1,10 | 11,8 | 16,26 |
| | D1 | 0,51 | 8,04 | 15,2 | 13,15 | 7,27 | 44,17 |
| | D2 | 0,91 | 15,52 | 19,15 | 27,85 | 7,35 | 70,26 |
| 2 | D0 | 0,12 | 0,45 | 2,84 | 1,19 | 12,00 | 16,6 |
| | D1 | 0,55 | 6,44 | 8,56 | 2,93 | 11,50 | 29,98 |
| | D2 | 1,09 | 12,16 | 14,96 | 4,72 | 11,17 | 44,10 |
| 3 | D0 | 0,11 | 0,40 | 2,68 | 1,15 | 12,20 | 16,54 |
| | D1 | 0,69 | 15,62 | 12,9 | 3,00 | 1,70 | 33,91 |
| | D2 | 0,87 | 17,07 | 14,9 | 3,60 | 12,20 | 48,64 |
| 4 | D0 | 0,11 | 0,50 | 2,88 | 1,09 | 11,80 | 16,38 |
| | D1 | 0,51 | 7,68 | 15,68 | 12,90 | 7,25 | 44,02 |
| | D2 | 0,93 | 15,55 | 18,52 | 28,35 | 7,28 | 70,63 |
| 5 | D0 | 0,12 | 0,39 | 2,88 | 1,13 | 11,00 | 15,52 |
| | D1 | 0,51 | 7,68 | 15,75 | 12,95 | 7,28 | 44,17 |
| | D2 | 0,88 | 15,6 | 21,1 | 27,35 | 7,28 | 72,21 |

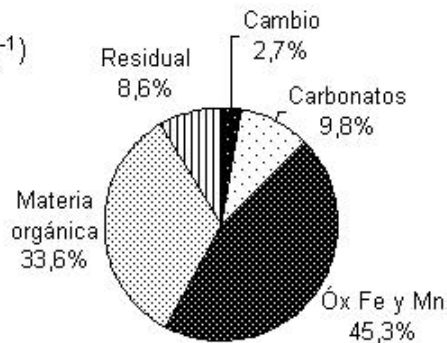
efecto de oxidar el Cr III en el suelo, el cual es insoluble, a formas más disponibles para las plantas (13). Por otra parte, los suelos tienen una gran

Cr VI) are easily Interconvertible and this depends on pH of the environment, presence of aerobic and anaerobic conditions and

D0 (0 mg.kg⁻¹)



D1 (30 mg.kg⁻¹)



D2 (90 mg.kg⁻¹)

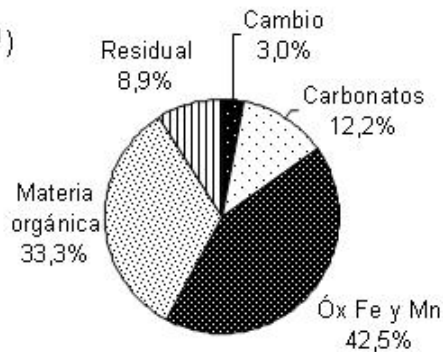


Figura 2. Distribución del níquel en las diferentes fracciones químicas.

Figure 2. Nickel distribution in the different chemical fractions.

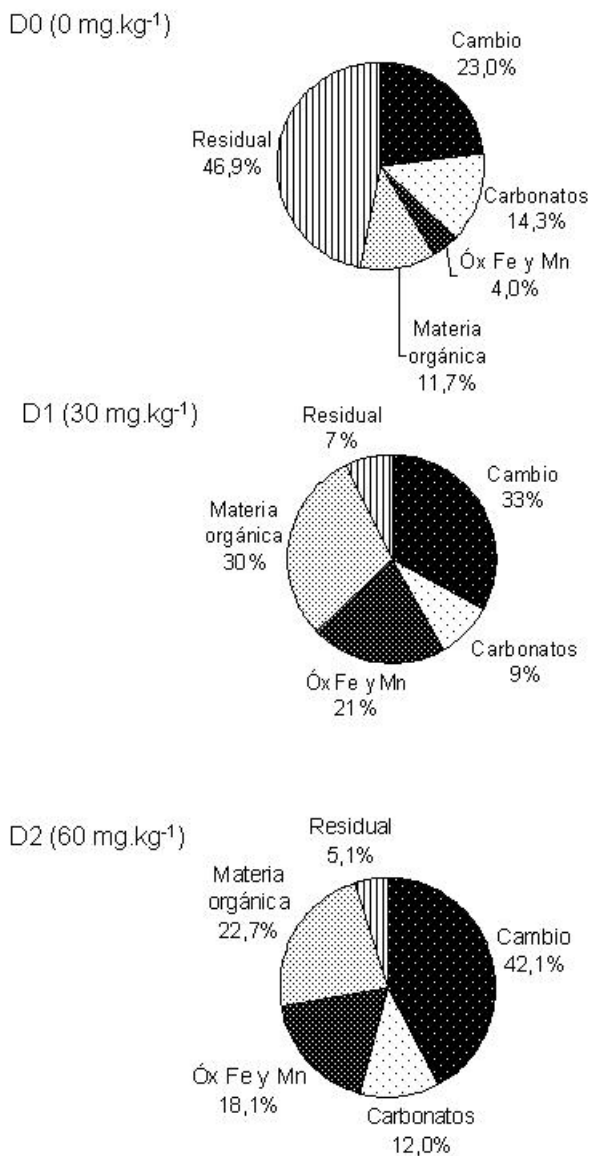


Figura 3. Distribución del cromo en las diferentes fracciones químicas.

Figure 3. Chrome distribution in the different chemical fractions.

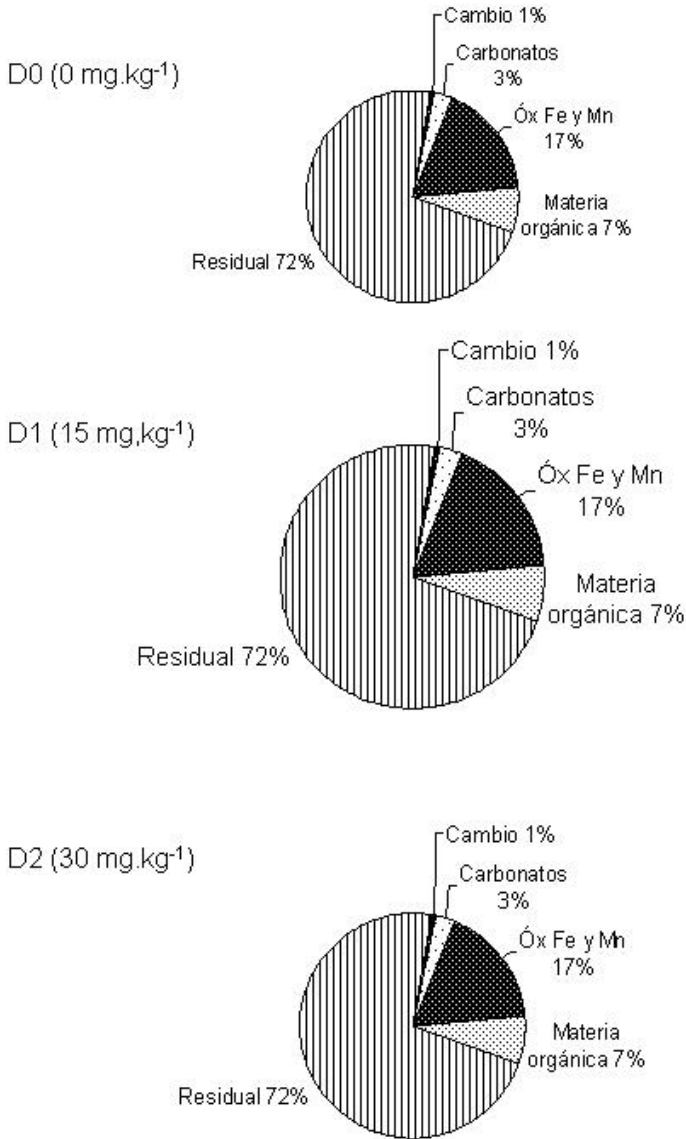


Figura 4. Distribución del zinc en las diferentes fracciones químicas.

Figure 4. Zinc distribution in the different chemical fractions.

probabilidad de transformar el Cr III a Cr VI, soluble y tóxico (8). El pH del suelo y las condiciones redox también influyen en la solubilidad del Cr, especialmente a pHs alcalinos, a los cuales el Cr es altamente móvil (20). Estos dos estados de oxidación (Cr III y Cr VI) son fácilmente interconvertibles y esto va a depender del pH del medio, de la presencia de condiciones aerobias o anaerobias y de la temperatura (8). A la D0 hubo predominio de formas asociadas a la fracción residual, lo que indicaría que la mayor parte del Cr en este suelo está asociado a formas no intercambiables o no disponibles. En el cuadro 5 se aprecian correlaciones significativas ($P \leq 0,05$) entre el Cr y los óxidos de Fe y Mn. El Zn obtuvo los valores más altos de extracción (15,52 a 72,21%) y el Ni obtuvo valores intermedios (2,12 a 50,25%) (cuadro 4). El Ni y el Zn se asociaron mayoritariamente a sólidos solubles del suelo, probablemente como consecuencia de la prevalencia de estos óxidos en el suelo analizado. Esta mayor abundancia de óxidos de Fe y Mn pudiera propiciar competencia con otros componentes del sistema en la retención de estos metales (11). La mayor afinidad relativa del Ni y el Zn por sólidos reactivos del suelo, tales como materia orgánica y óxidos de Fe y Mn, demuestran una mayor efectividad de estos compuestos en la retención de elementos traza. El Zn asociado a carbonatos también es significativo y es posible que de esta fracción proveyeran las cantidades de Zn extraídas (figuras 2, 3 y 4). En el cuadro 5 se observa además la relación negativa entre los contenidos de óxidos de Fe y

temperatura (8). At D0 there was predominance of forms associated to residual fraction that would indicate the high part of Cr in this soil is associated to forms no exchangeable or not available. In table 5 significant correlations ($P \leq 0.05$) are observed between Cr and oxides of Fe and Mn. Zn obtained the higher extraction values (15.52 to 72.21%) and Ni obtained intermediate values (2.12 to 50.25%) (table 4). Ni and Zn were associated principally to soluble solids in soil, probable as a consequence of a prevalence of these oxides in the analyzed soil. The high abundance of Fe and Mn oxides could cause competence with other components of the system in retention of these metals (11). The high relative affinity of Ni and Zn to reactive solids of soil, such as organic matter and Fe and Mn oxides show a high effectiveness of these compounds in the retention of these metals. Zn associated to carbonates is also significant and it is possible that from this fraction comes the quantities of Zn extracted (figures 2, 3 and 4). In table 5 it is also observed the negative relationship between contents of Fe oxides and all the fractions of Ni, Cr (except F5) and Zn, which could indicate that Fe oxides in this soil have a tendency to form more stable links with these metals by adsorption phenomenon of specific type (11). A negative relationship is also appreciated between Mn oxides and all the fractions, except the residual one; this would indicate a high association of Cr with these oxides considered traditionally like retainers of this metals (11) and which the ones they for links of some stability. It has

Cuadro 5. Coeficientes de correlación entre las formas de Ni, Cr y Zn y contenidos de óxidos de Fe y Mn ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) y materia orgánica (%) en el suelo, a los 35 días después de la siembra.

Table 5. Correlation coefficients between forms of Cr and Zn and contents of Fe and Mn oxides ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and organic matter (%) in soil at 35 days after planting.

| Formas químicas | Óx-Fe | Óx-Mn | Materia orgánica |
|---------------------------------------|---------|---------|------------------|
| Ni ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) | -0,64** | - | - |
| Cambio (F1) | -0,67** | - | - |
| Carbonatos (F2) | -0,70** | - | - |
| Óxidos Fe y Mn (F3) | -0,68** | - | 0,50* |
| Materia orgánica (F4) | -0,60* | - | - |
| Residual (F5) | -0,96** | - | - |
| Total | | 0,90** | |
| Cr ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) | -0,84** | | - |
| Cambio (F1) | -0,61* | -0,65** | - |
| Carbonatos (F2) | -0,86** | -0,58* | - |
| Óx Fe y Mn (F3) | -0,91** | -0,60* | 0,51* |
| Materia orgánica (F4) | - | -0,58* | - |
| Residual (F5) | 0,80** | - | - |
| Total | | 0,69** | |
| Zn ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) | -0,79** | | - |
| Cambio (F1) | -0,83** | - | - |
| Carbonatos (F2) | -0,86** | - | - |
| Óx Fe y Mn (F3) | -0,57* | - | 0,51* |
| Materia orgánica (F4) | -0,74** | - | - |
| Residual (F5) | 0,82** | - | - |
| Total | | 0,89** | |

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; -: No significativo

todas las fracciones de Ni, Cr (excepto la F5) y Zn, lo que pudiera indicar que los óxidos de Fe en este suelo tienden a formar uniones más estables con estos metales por fenómenos de adsorción de tipo específico (11). Se aprecia también una relación negativa entre los óxidos de Mn y todas las fracciones, excepto la residual; esto indicaría una mayor asociación del Cr con estos óxidos, considerados tradi-

been showed that Cr of soil occurs like Cr III inside of crystal clear structures or mixed forms of Cr III and oxides of Fe III (13). The total values of Ni, Cr and Zn as much as its different chemical forms (except for the residual fraction of Cr) show highly significant correlations with oxides of Fe ($P \leq 0.01$). Also, it can be appreciated that organic matter plays in this soil a more limited role on

cionalmente como secuestradores de elementos traza (11) y con los cuales también forman uniones de cierta estabilidad. Se ha demostrado que el Cr del suelo ocurre principalmente como Cr III dentro de estructuras cristalinas o formas mezcladas de Cr III y óxidos de Fe III (13). Tanto los valores totales de Ni, Cr y Zn como sus distintas formas químicas (excepto la fracción residual de Cr) presentan correlaciones altamente significativas con los óxidos de Fe ($P \leq 0,01$). También se puede apreciar que la materia orgánica desempeña en este suelo un papel más limitado en la retención de estos metales traza ya que solo presenta relación significativa ($P \leq 0,05$) con las fracciones de Cr, Ni y Zn específicamente asociadas a este componente. Resultados similares fueron obtenidos por Graña et al (11).

Metales en la planta

La mayor acumulación de Ni, Cr y Zn se encontró en las raíces, en comparación con los tallos y las hojas ($P \leq 0,05$). Resultados similares fueron encontrados por Ahumada *et al.* (1) en raíces de celery y lechuga y por Hernández-Herrera *et al.* (12). En el caso de Zn los contenidos en las raíces fueron mayores a la dosis más baja (D1) ($P \leq 0,05$) (figura 5). Esto podría relacionarse con una rápida respuesta inicial de la planta a los primeros 15 mg.kg⁻¹ aplicados y a las cantidades iniciales, relativamente altas, de Zn en el suelo (7,83 mg.kg⁻¹). La mayor producción de materia seca en los tratamientos con Zn, se obtuvo igualmente a la D1 ($P \leq 0,05$) (figura 6). Es probable que el Zn del suelo no haya estado completamente retenido en los componentes minerales y haya pasa-

retention of these metals since only shows a significant relationship ($P \leq 0.05$) with fractions of Cr, Ni and Zn specifically associated to this compound. Similar results were obtained by Graña *et al.* (11).

Metals in plant

The high accumulation of Ni, Cr and Zn was found in roots in comparison with stems and leaves ($P \leq 0.05$). Similar results were found by Ahumada *et al.* (1) in celery and lettuce roots, and by Hernández-Herrera *et al.* (12). In the case of Zn contents in roots were superior at the lower dose (D1) ($P \leq 0.05$) (figure 5). This could be related to a rapid initial response of plant at the first 15 mg.kg⁻¹ applied and to the initial quantities, relatively higher of Zn in soil (7.83 mg.kg⁻¹). The higher production of dry matter in treatments with Zn was also obtained at D1 ($P \leq 0.05$) (figure 6). It is probably that soil Zn has not been totally retained in the mineral compounds and went to the aerial part of the plant (9). The highest mean plant height was observed in control treatment (D0) ($P \leq 0.05$) (figure 7). It is possible that the initial Zn of soil has been enough for supplying requirements of plant and starting from 15 mg.kg⁻¹ appeared toxicities problems to element. The roots mean length was less in control treatment and significant differences were established between D1 and D2 (figure 8). Marschner (14) pointed out that this element in high concentrations affects soil fertility and crop yield wherefore root shows a high growing and nutrients retention which after will be transported to the aerial part of plant. Cr and Ni were accumulated in roots at the lower dose. High

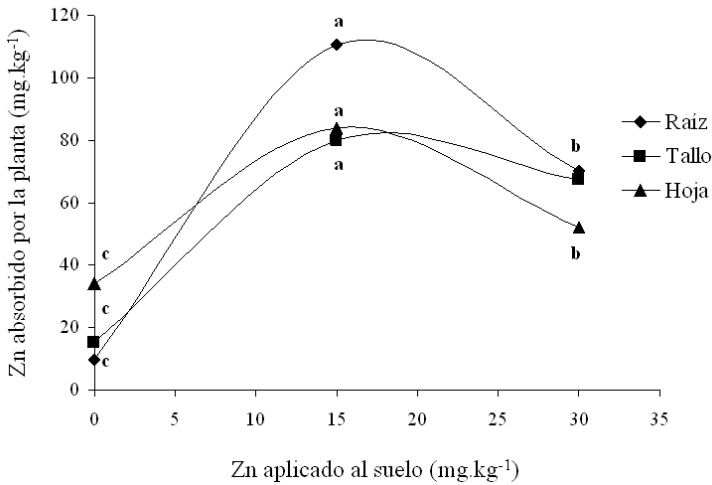


Figura 5. Relación entre el Zn total absorbido por la planta y el aplicado al suelo.

Figure 5. Relationship between the total Zn absorbed by plant and applied to soil.

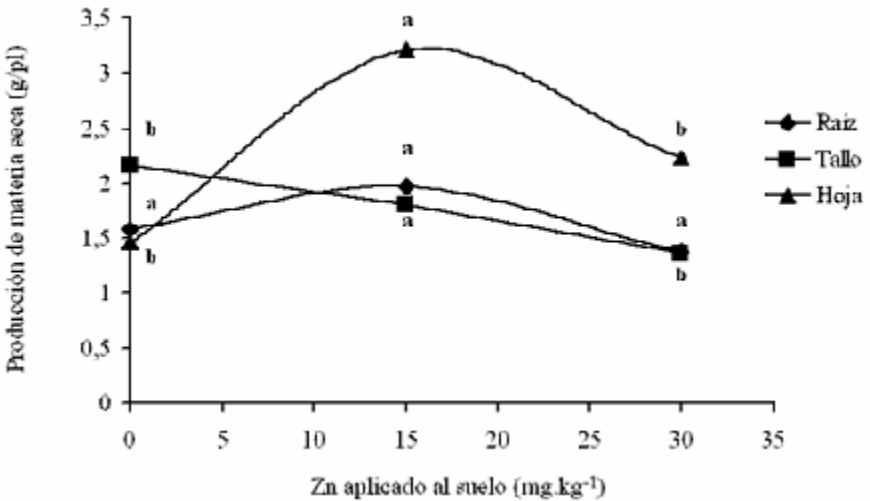


Figura 6. Relación entre la producción de materia seca y el Zn aplicado al suelo.

Figure 6. Relationship between dry matter production and the Zn applied to soil.

do a la parte aérea de la planta (9). La mayor altura promedio de plantas se observó en el testigo (D0) ($P \leq 0,05$) (figura 7). Es posible que el Zn inicial del suelo haya sido suficiente para suplir los requerimientos de la planta y que a partir de 15 mg/kg se hayan presentado problemas de toxicidad al elemento. La longitud promedio de raíces fue menor en el testigo y no se establecieron diferencias significativas entre la D1 y la D2 (figura 8). Marschner (14) señala que este elemento en altas concentraciones afecta la fertilidad del suelo y el rendimiento del cultivo, por lo que la raíz presenta un mayor crecimiento y retención de nutrientes que luego serán trasladados hacia la parte aérea de la planta. El Cr y el Ni se acumularon mayormente en las raíces a la dosis más baja. Las altas concentraciones de estos elementos crean pro-

concentrations of these elements causes toxicity problems which are traduced in decreasing of grow and dry matter productions plants in Cr treatment, present red coloration and burnt leaves, besides a great roots elongation (figures 9, 10, 11 and 13).

Conclusions

In this soil are predominant the fractions of Ni, Cr and Zn associated to Fe and Mn oxides at the three doses applied, followed by the fraction associated to the organic matter. In respect to Cr and Zn, the forms that can be easily bioavailable (the exchangeable and the associated to carbonates) represent between 40 and 25% respectively of the total extracted metals; this indicate that metals in this forms can be absorbed by plants with risk of being transferred through

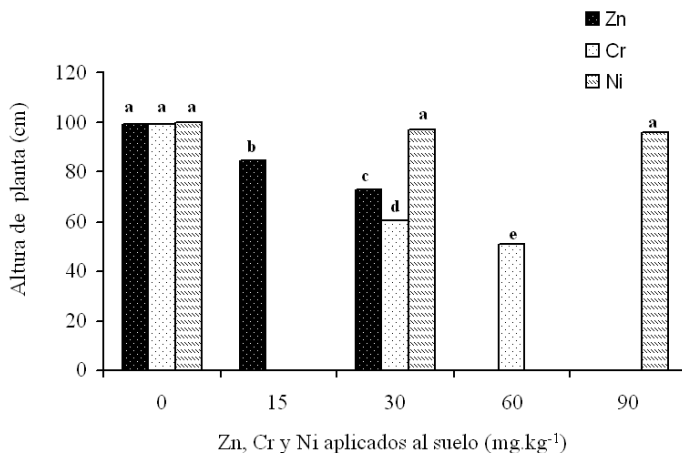


Figura 7. Relación entre la altura de la planta y el Zn, Cr y Ni aplicados al suelo.

Figure 7. Relationship between the plant height and Zn, Cr and Ni applied to soil.

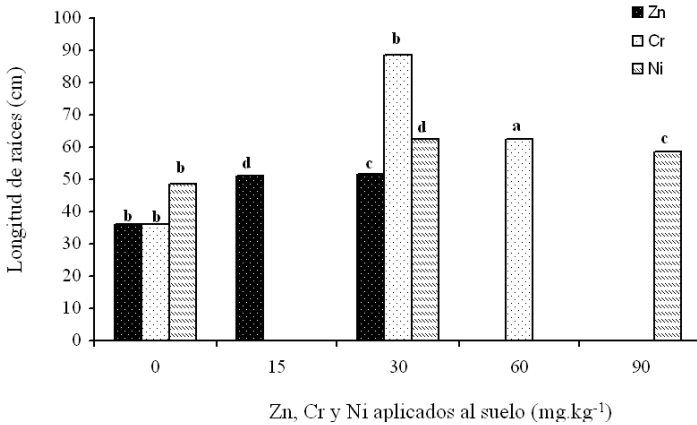


Figura 8. Relación entre la longitud promedio de las raíces y el Zn, Cr y Ni aplicados al suelo.

Figure 8. Relationship between mean length of roots and the Zn, Cr and Ni applied to soil.

blemas de toxicidad que se traducen en disminución del crecimiento y la producción de materia seca; en el caso del Cr hay la aparición de coloraciones rojizas y quemado de las hojas y una mayor elongación de las raíces (figuras 9, 10, 11 y 12).

the food chain as far as to the human beings.

Since the prevailing form of Ni and Zn is the associated to Fe and Mn oxides, this would indicate that this fraction could be a reserve of heavy metals that would be released when a

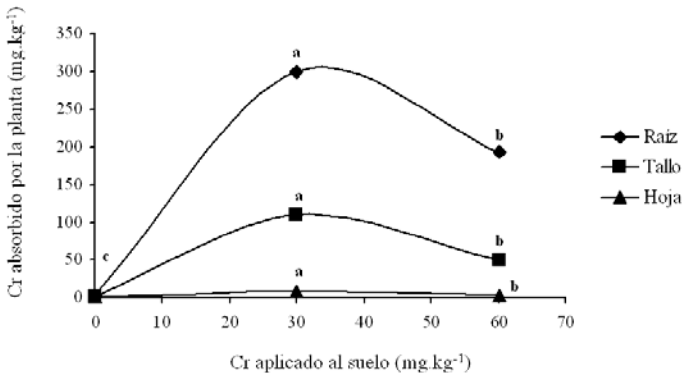


Figura 9. Relación entre el Cr total absorbido por la planta y el Cr aplicado al suelo.

Figure 9. Relationship between the total Cr absorbed by plant and Cr applied to soil.

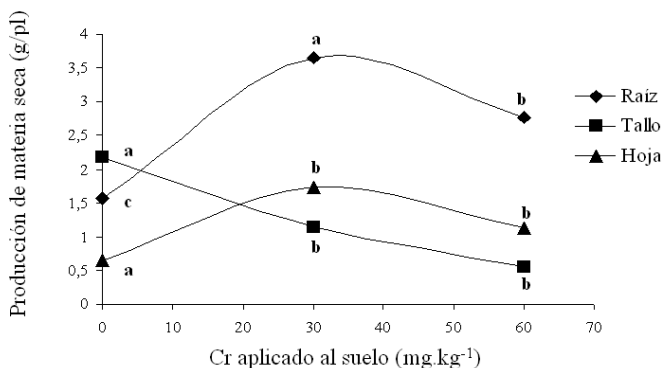


Figura 10. Relación entre la producción de materia seca y el Cr aplicado al suelo.

Figure 10. Relationship between the dry matter production and the Cr applied to soil.

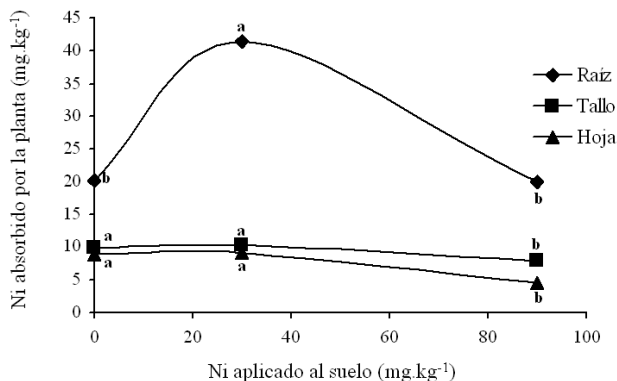


Figura 11. Relación entre el Ni total absorbido por la planta y el Ni aplicado al suelo.

Figure 11. Relationship between the total Ni absorbed by plant and the Ni applied to soil.

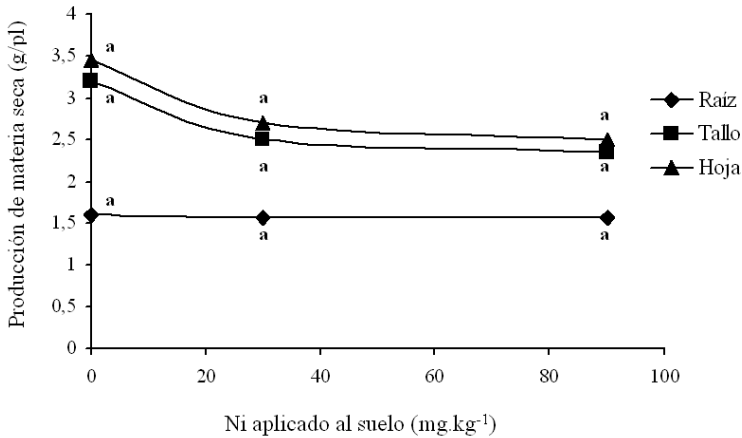


Figura 12. Relación entre la producción de materia seca y el Ni aplicado al suelo.

Figure 12. Relationship between the dry matter production and the Ni applied to soil.

Conclusiones

En este suelo predominan las fracciones de Ni, Cr y Zn asociadas a óxidos de Fe y Mn, a las tres dosis aplicadas, seguidas por la fracción asociada a materia orgánica. En el caso del Cr y el Zn, las formas que pueden ser más fácilmente biodisponibles (la intercambiable y la asociada a carbonatos) representan entre 40 y 25% respectivamente del total extraído de estos metales; esto indica que los metales en estas formas pueden ser absorbidos por las plantas, con el riesgo de ser transferidos a través de la cadena alimenticia, hasta los seres humanos.

Ya que la forma prevaleciente de Ni y Zn es la asociada a óxidos de Fe y Mn, esto indica que esta fracción puede ser reservorio de metales pesados que serían liberados al haber

change in the redox conditions occur and become bioavailable. Cr shows a tendency toward forms of high lability since contents of this metal are higher in fractions 1 to 4 whereas forms more retained (occluded in silicate nets) are lower. Significant differences were not found for Cr associated to residual forms and it shows a high tendency of association with fractions 1, 3 and 4.

Metals in plant are specially accumulated in the root zone. Likewise, dry matter production was seriously affected in Cr treatments and less affected in Ni treatments; in the last ones it was observed tanned roots, typical symptom of Ni toxicity. The plants height was lower in Cr treatments whereas in the case of Ni and Zn, significant differences were not found for this variable to any of doses applied. The roots elongation was significantly high Cr treatments

un cambio en las condiciones de óxido-reducción y pasar a ser biodisponibles. El Cr muestra una tendencia hacia formas de mayor labilidad, ya que los contenidos de este metal son superiores en las fracciones 1 a 4, mientras que las formas más retenidas (ocuidas en redes de silicatos) son menores. No se encontraron diferencias significativas estadísticamente para el Cr asociado a las formas residuales y muestra una mayor tendencia de asociación con las fracciones 1, 3 y 4.

Los metales en la planta ocurren principalmente en la zona radical. Igualmente, la producción de materia seca se vio afectada severamente en los tratamientos con Cr y menos en los tratamientos con Ni; en estos últimos se apreció bronceado de las raíces, síntoma específico de toxicidad al elemento. La altura de plantas fue menor en los tratamientos con Cr, mientras que en el caso de Ni y Zn no se encontraron diferencias significativas para esta variable, a ninguna de las dosis aplicadas. La elongación de las raíces fue significativamente mayor en los tratamientos con Cr, y no se apreciaron diferencias en esta variable para el Ni y el Zn.

Literatura citada

1. Ahumada, I., J. Mendoza, E. Navarrete and L. Ascar. 1999. Sequential extraction of heavy metals in soils irrigated with wastewater. *Communn. Soil Sci. Anal.*, 30 (9&10): 1507-1519.
2. Arrieche, I. y R. Ramírez 1999. Absorción de zinc y su relación con la materia seca del maíz y el zinc del suelo. *Agronomía Trop.*, 49 (3): 531-539.

and differences were not observed in this variable for Ni and Zn.

End of english version

3. Benton, J., J. Benjamín y H. Mills. 1991. *Plant Analysis Hand Book, a practical simple, preparation, analysis an interpretation guide.* Micro- Macro Publishing Inc. 197 p.
4. Cala, V., A.M. Alvarez, R. Vigil de la Villa y M. Gasca. 1992. Especiación química de zinc y cadmio en suelos de cultivo. *Suelo y Planta*, 2: 307-318.
5. Cox, F.R y L. Unruh. 2000. Reference sufficiency ranges field crops. *Grain Sorghum.* <http://www.ncagr.com/agronomi/saesd/sorghum.htm>.
6. Douchafour, P y B. Souchier. 1966. Note sur one méthode d'extraction combinée de l'aluminium et du fer dans les sols. *Sci. Du Sol*, 1 : 17-31.
7. FAGRO. 1993. Métodos de análisis de suelos y plantas utilizados en el Laboratorio General de Suelos y Plantas del Instituto de Edafología, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. *Cuadernos de Agronomía*, 1(6): 18-23.
8. Fernández, G y A. Guzmán. 2002. Presencia antropogénica de cromo (Cr) en el ambiente y su impacto en la salud de los pobladores de Las Toscas (santa Fe, Argentina). <http://www.ambiente-ecológico.com/ediciones/072000/aldoguzmanramos.html>.
9. Fontes, R. 1992. Zinc toxicity in soybean as affected by plant iron sulfur, Raleigh, North Carolina State University. 138 p.
10. García-Miragaya, J. y A.M. Sosa. 1994. Trace metal in Valencia Lake (Venezuela) sediments. *Water, Air and Soil Pollution*, 77: 141-150.

11. Graña, M.J., M.T. Barral, F.E. Guitián y F. Guitián. 1991. Formas de níquel, cobre y zinc en horizontes superficiales de suelos. *Suelo y Planta*, 1: 467-48.
12. Hernández-Herrera, J.M., E. Olivares-Sáenz, J. Villanueva-Fierro, H. Rodríguez-Fuentes, R. Vásquez-Alvarado y J.F. Pissani-Zúñiga. 2005. Lodos residuales en cultivo de sorgo. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 21 (1) 31-36. <http://www.atmosfera.unam.mx>
13. Kabata-Pendias, A. y H. Pendias. 1986. Trace elements in soils and plants. C.R.C. Press. Inc. Boca Raton, Florida (4 Ed.) 315 p.
14. Marschner, H. 1995. Mineral nutrition in higher plants. 2ª ed. San Diego Academic. 902 p.
15. Mogollón, J.L, C. Bifano y B. Davies. 1995. Distribution of mechanical fractions of soils from a lake catchment in Venezuela. *Environmental Geochemistry*, 17: 103-111.
16. Mogollón, J.J., C. Bifano y B.E. Davies. 1996. Geochemistry and anthropogenic inputs of metals in a tropical lake in Venezuela, 11: 605-616.
17. OAC. 1980. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 13ª Edition. Freeman, New York. 250 p.
18. Tessier, A., P.G.C. Campbell y M. Bisson. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51 (7):844-850.
19. Vitosh, D.D., D.D. Warncke y R.E. Lucas. 1997. Zinc. <http://www.msue.msu.edu/msue/imp/modfl/05209706.html>
20. Zalidis, G., N. Barbayarinis y T. Matsi. 1999. Forms and distribution of heavy metals in soils of the Axios Delta of Northern Greece. *Soil Sci. Plant Anal.*, 30 (5&6): 817-827.