

NOTA

COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE FRACCIONAMIENTO FÍSICO DE LA MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO

ALICIA IRIZAR¹; ADRIÁN ANDRIULO¹; DIEGO COSENTINO² & CATALINA AMÉNDOLA¹

¹ EEA INTA Pergamino, Ruta 32 km 4,5. CP: 2700. Pergamino. Argentina.

Correo electrónico: airizar@pergamino.inta.gov.ar

² Facultad de Agronomía, (UBA), INBA (CONICET).

Recibido: 03-09-10

Aceptado: 10-03-10

RESUMEN

Se compararon las concentraciones de carbono orgánico particulado (COP) y carbono sobrenadante (Cs) obtenidas por los métodos de fraccionamiento granulométrico (fracción > 53 μm) y densimétrico (densidad de licor: 2 g cm^{-3}), respectivamente, utilizando el análisis de regresión. Las muestras de suelo fueron tomadas de un ensayo de larga duración ubicado en la EEA-INTA Pergamino que compara cuatro secuencias de cultivo y dos sistemas de labranza. Los dos métodos estuvieron lineal y positivamente correlacionados para las profundidades 0-5 y 5-10 cm y las ordenadas al origen no difirieron de cero, indicando que ambos estimaron el carbono lábil de manera similar. Debido a que las pendientes no fueron distintas de uno, las diferencias entre los dos métodos fueron constantes en todo el rango de carbono lábil medido. Para la profundidad 10-20 cm, no hubo correlación y las concentraciones de Cs fueron superiores y menos variables que las de COP. La densidad del licor utilizada puede explicar la obtención de cantidades similares o superiores de Cs con respecto a COP, debido a una contribución importante del complejo órgano-mineral a la fracción sobrenadante.

Palabras clave. Fraccionamiento granulométrico, fraccionamiento densimétrico, materia orgánica lábil.

COMPARISON OF TWO PHYSICAL FRACTIONATION METHODS FOR SOIL ORGANIC MATTER

ABSTRACT

Regression analysis was used to compare particulate organic carbon (COP) and light carbon (Cs) concentrations obtained by size (fraction > 53 μm) and density fractionation (liquor density = 2 g cm^{-3}) methods, respectively. The soil samples were taken from a long-term experiment located at the EEA-INTA Pergamino comparing four cropping sequences and two tillage systems. Both methods were linearly and positively correlated to depths of 0-5 and 5-10 cm and the y-intercept did not differ from zero, indicating that both methods resulted in a similar estimate for labile C. As the slopes did not differ from unity, the differences between the two methods remained constant throughout all the labile range measured. There was no correlation for a depth of 10-20 cm, and Cs concentrations were higher and less variable than those of COP. The liquor density used might explain the obtention of similar or greater amounts of Cs than of COP because of the important contribution of the organomineral complex to the light fraction.

Key words. Particle-size fractionation, density fractionation, labile organic matter.

INTRODUCCIÓN

El término materia orgánica del suelo (MOS) representa un compartimento extremadamente heterogéneo que abarca tanto azúcares muy simples, como productos recalcitrantes, surgidos de transformaciones microbianas. Presenta un grado de evolución continuo que va desde material grosero (conserva la estructura del vegetal original) hasta humus (material orgánico transformado con características propias). Debido a su composición extremadamente heterogénea, la comunidad científica internacional recomienda que los esfuerzos de investigación se focalicen en la cuantificación de las fracciones lábiles

(Christensen, 2001) que guarden una estrecha relación con la productividad del suelo y que sean capaces de cambiar rápidamente frente a alteraciones en el manejo de los ecosistemas. La fracción lábil MOS está compuesta por restos de plantas, recientemente incorporadas, animales y desechos microbianos con un tiempo de reciclado menor a una década (Trumbore, 1993; Buyanovsky *et al.*, 1994).

Existen diversas metodologías para la separación de la fracción lábil del carbono del suelo. Se han utilizado procedimientos químicos (Feller & Beare, 1997; Schnitzer, 2000), biológicos (Jenkinson & Powlson, 1976; Anderson

& Dormsch, 1990), físicos (Richter *et al.*, 1975; Balesdent *et al.*, 1991; Cambardella & Elliott, 1992), isotópicos (Balesdent *et al.*, 1988; Andriulo *et al.*, 1999) o algunas de sus combinaciones. En consecuencia, cada método obtiene fracciones de características propias.

Los métodos de fraccionamiento físico de la MOS, sean por densidad o por tamaño de partículas, son simples, rápidos, sensibles y menos destructivos que los métodos de fraccionamientos químicos (Galantini, 2008). Debido a que las fracciones lábiles de la MOS varían rápidamente frente a los cambios en las prácticas de manejo (Janzen *et al.*, 1992; Hassink *et al.*, 1997), numerosos trabajos de investigación han aislado físicamente y caracterizado estas fracciones para evaluar el efecto que producen el uso de la tierra (Quiroga *et al.*, 1995; Fabrizzi *et al.*, 2003; Dubeux *et al.*, 2006), los diferentes sistemas de labranza (Bayer *et al.*, 2002; Moraes Sá & Lal, 2009; Dominguez *et al.*, 2008), las distintas secuencias de cultivo (Morón *et al.*, 2004; Apesteguía, 2005; Zotarelli *et al.*, 2007) y la fertilización nitrogenada (Diekow *et al.*, 2005; Andriulo *et al.*, 2008). Además, el fraccionamiento físico de la MOS puede contribuir a la validación de modelos conceptuales, en especial si son combinados con mediciones de carbono (C) de la biomasa microbiana, técnicas isotópicas o estudios de mineralización (Bonde *et al.*, 1992). La fracción de la MOS separada físicamente está compuesta por una mezcla de restos de plantas, animales y microorganismos en diferentes estados de descomposición, incluyendo, polen, esporas, semillas y fitolitos (Gregorich *et al.*, 2006). Esta mezcla heterogénea hace que su composición sea muy variable y sea considerada un pool intermedio entre los residuos frescos de los cultivos y la MOS estabilizada.

El fraccionamiento densimétrico se basa en que la fracción liviana o sobrenadante de la MOS es más lábil y reactiva que los minerales del suelo y los complejos órgano-minerales. Debido a que las partículas del suelo presentan un amplio rango de densidades, es muy difícil separar una fracción homogénea (Gregorich *et al.*, 2006). Los líquidos utilizados para realizar el fraccionamiento densimétrico son tetrabromoetano, bromoformo etanol, tetracloroetano, soluciones de sales inorgánicas como el ioduro de sodio y el politungstato de sodio y suspensiones estables de sílica (Monnier *et al.*, 1962; Richter *et al.*, 1975; Meijboom *et al.*, 1995; Galantini, 2008).

El fraccionamiento granulométrico se basa en que la MOS está asociada con partículas de diferentes tamaños, que difieren en composición mineralógica, estructura y función (Christensen, 1992). Mientras la fracción arena presenta afinidades débiles con la MOS, las arcillas y los limos presentan numerosos sitios reactivos donde la MOS se adsorbe fuertemente (Lützow *et al.*, 2007). Por lo tanto,

la fracción de la MOS del tamaño de la arena se considera más lábil que aquella del tamaño del limo y las arcillas (Hassink *et al.*, 1997).

El fraccionamiento ideal de la MOS consistiría en separar físicamente los compuestos que forman los complejos órgano-minerales de las otras fracciones (restos vegetales, biomasa microbiana, etc.), sin recurrir a extracciones químicas selectivas. Debería ser igualmente efectivo para todos los suelos y las fracciones obtenidas deberían estar definidas lo mejor posible, con la misma cantidad de impurezas (Andriulo *et al.*, 1991). Ningún método ha alcanzado estos objetivos completamente.

Gregorich *et al.* (2006) revisaron los resultados obtenidos por ambos métodos, utilizando información proveniente de 65 estudios de suelos bajo agricultura. Sin embargo, en nuestra región, donde predominan minerales livianos en el complejo órgano-mineral (Pecorari *et al.*, 1990; Cosentino & Pecorari, 2002) éstos no han sido sistemáticamente comparados para comprobar si fraccionan la MOS de igual manera y si resultan similarmente sensibles frente a cambios provocados por el uso y manejo del suelo. El objetivo del presente trabajo fue comparar las concentraciones de C lábil obtenidas por dos métodos de fraccionamiento físico, utilizando una base de datos proveniente de un ensayo de larga duración con cuatro secuencias de cultivo y dos sistemas de labranza.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo utilizado para este estudio se encuentra localizado en la EEA Pergamino de INTA, ubicada a 33° 51' S y 60° 40' O. El clima es templado húmedo, siendo la precipitación media anual de 946 mm y la temperatura media anual de 16,4 °C. El suelo corresponde a un Argiudol Típico de textura franco limosa de la serie Pergamino sin fases por erosión, con pendiente < 0,5% (INTA, 1972). Los valores medios de arcilla y limo del horizonte Ap fueron de 23 y 58%, respectivamente.

Los tratamientos incluidos en este trabajo forman parte de una experiencia más amplia que estudia el impacto ambiental de cinco sistemas de laboreo, cuatro secuencias de cultivo, dos niveles de fertilización nitrogenada y dos cultivos antecesores sobre los diferentes compartimentos del ambiente (suelo, agua, aire) y sobre la biodiversidad. Los tratamientos evaluados fueron siembra directa (SD) y labranza vertical (LV) con aplicación de fertilizante nitrogenado en dos bloques de cada una de las cuatro secuencias de cultivo (maíz-trigo/soja; trigo/soja, monocultivo de maíz y de soja) luego de 25 años de agricultura continua. La labor principal bajo LV se realizó con un arado de cinchel a 0-15 cm de profundidad y las labores secundarias se realizaron con rastras de discos y de dientes en el espesor 0-10 cm. El control de malezas en SD se realizó químicamente utilizando glifosato.

Las muestras de suelo fueron tomadas en junio de 2004 a tres profundidades: 0-5, 5-10 y 10-20 cm. Se eligieron al azar 4 sitios

de submuestreo en cada uno de los tratamientos. Las muestras extraídas fueron secadas en estufa y tamizadas por 2 mm. Las propiedades edáficas estudiadas fueron: COP (Cambardella & Elliott, 1992) y Cs (Richter *et al.*, 1975).

En el método original de Cambardella & Elliott (1992) se reemplazó la dispersión química por la mecánica mediante la agitación en agua con bolitas de vidrio (Bruckert *et al.*, 1978; Feller, 1979; Andreux *et al.*, 1980), luego de haber comparado los resultados del fraccionamiento con ambos tipos de dispersión (química vs. mecánica) y diferentes tiempos de agitación (cinco horas vs. toda la noche). Se pesaron 40 g de suelo y se agregaron 200 mL de agua destilada y 5 bolitas de vidrio. La agitación fue de 5 horas a 40 rpm. El tamizado se realizó con un tamiz de 53 μm de diámetro de malla haciendo movimientos de vaivén hasta que el agua de salida a través del mismo resultase límpida. Se recogió la fracción > 53 μm , se la secó en estufa a 105 °C hasta peso constante, se pesó y se le determinó C por combustión seca, utilizando un analizador de C marca LECO (Tabla 1). A esta fracción de C se la llamó COP.

En el método de fraccionamiento densimétrico se pesaron 0,5 g de suelo tamizado por 0,5 mm y se agregaron 8 mL de solución de bromoformo etanol con una densidad de 2 g cm^{-3} , sugerida por los autores del método para determinaciones de rutina. Se agitó manualmente durante un minuto y luego se centrifugó a 3.000 rpm durante cinco minutos. Se filtró el sobrenadante utilizando un papel de fibra de vidrio de 1 cm de diámetro y posteriormente se realizaron cuatro lavados con alcohol y cuatro con agua destilada. Finalmente, a la fracción sobrenadante recogida se le determinó C por el método de combustión húmeda (Tabla 1).

Para comparar los dos métodos de fraccionamiento físico de MOS se utilizó el software Reduced Major Axis Regression

(RMA) (Bohonak, 2004). Este análisis es más apropiado que el análisis común de regresión de cuadrados mínimos cuando ambas variables, x e y, son independientes y medidas con error (Sokal & Rohlf, 1981). Se establecieron las relaciones funcionales entre el fraccionamiento granulométrico y el densimétrico, y se determinaron los parámetros de dichas relaciones. Se probó si la ordenada al origen era significativamente distinto de cero y si la pendiente era significativamente distinto de uno ($p < 0,05$) (Webster, 1997; Balabane & Plante, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra las relaciones obtenidas entre ambos métodos de fraccionamiento físico de la MOS a tres profundidades de suelo distintas. Los dos métodos estuvieron correlacionados positivamente para las profundidades 0-5 ($r = 0,59$) y 5-10 ($r = 0,34$) cm. Sin embargo, no hubo correlación para la profundidad 10-20 cm. El análisis de las relaciones funcionales entre los métodos, mostró que las ordenadas al origen no difirieron significativamente de cero ($p = 0,21$ y $p = 0,06$ para 0-5 y 5-10 cm, respectivamente), indicando que ambos métodos estimaron el C lábil de igual manera. Adicionalmente, debido a que las pendientes no fueron significativamente distintas de 1 ($p = 0,18$ y $p = 0,34$ para 0-5 y 5-10 cm, respectivamente), las diferencias entre los dos métodos se mantuvieron constantes independientemente del nivel de C de la fracción lábil. Si bien existió buena correlación entre ambos métodos

Tabla 1. Descripción de los métodos de fraccionamiento granulométrico y densimétrico.

Table 1. Description of size and density fractionation methods.

	Fraccionamiento granulométrico	Fraccionamiento densimétrico
<i>Peso muestra de suelo</i>	40 g de suelo tamizado por 2 mm	0,5 g de suelo tamizado por 0,5 mm
<i>Dispersión</i>	Mecánica – 5 bolitas de vidrio y 200 mL de agua destilada. Agitación 5 horas – 40 rpm	
<i>Fraccionamiento</i>	Tamizado en agua, hasta que el agua de pasaje resulte límpida – tamiz de 53 μm Secado en estufa a 105 °C hasta peso constante. Pesado de la fracción > 53 μm	Agregado de 8 mL de solución de bromoformo etanol ($\bar{n} = 2 \text{ g cm}^{-3}$). Agitado manual durante 1'. Centrifugación a 3.000 rpm durante 5'. Filtrado con papel de fibra de vidrio ($\varnothing = 1 \text{ cm}$) Recolección del sobrenadante. Cuatro lavados con alcohol y cuatro con agua destilada.
<i>Determinación de C</i>	Combustión seca de la fracción > 53 μm – analizador de C total	Combustión húmeda en el filtrado

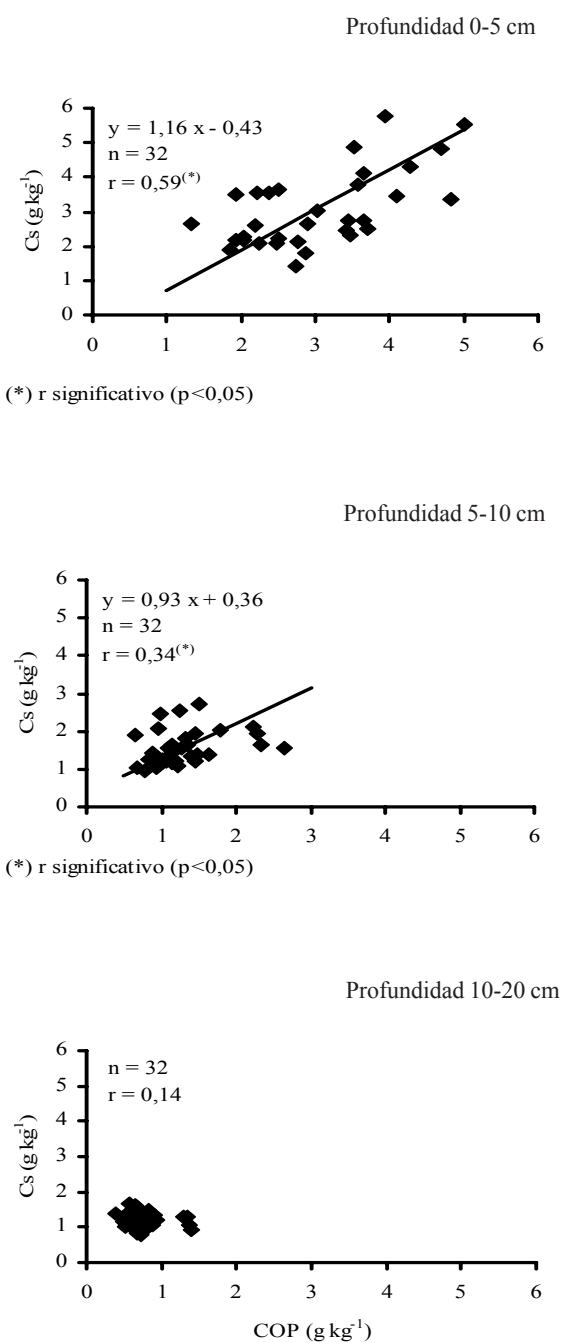


Figura 1. Relaciones funcionales entre Cs y COP obtenidas de datos provenientes de un ensayo de larga duración que compara cuatro secuencias de cultivo y dos sistemas de labranza

Figure 1. Functional relations between Cs and COP obtained from the data of a long-term experiment comparing four cropping sequences and two tillage systems

de fraccionamiento y éstos midieron el mismo tamaño de la fracción lábil de C, no puede decirse que miden la misma fracción lábil porque no se contó con información más detallada sobre la calidad de dicha fracción (por ej. N lábil, espectro del ^{13}C por resonancia magnética nuclear - NMR - al estado sólido, resonancia de spin electrónico - ESR, presencia de lignina).

La información proveniente de 65 estudios de suelos bajo agricultura que no incluyó a suelos pampeanos mostró que los valores medios de COP (21,6% de COS) eran más elevados que los de Cs (7,5% de COS), utilizando un tamiz de $53\ \mu\text{m}$ y una densidad de licor $< 1,9\ \text{g cm}^{-3}$, para los fraccionamientos granulométrico y densimétrico, respectivamente (Gregorich *et al.*, 2006). La cantidad obtenida de Cs es muy sensible a la fluctuación en la densidad del líquido, indicando que la elección de la densidad y su ajuste durante el proceso, son factores críticos para el resultado del fraccionamiento densimétrico (Christensen, 2001). En nuestro estudio, que ambos métodos hayan determinado el mismo contenido de la fracción lábil pudo deberse a la mayor densidad de licor utilizada ($2\ \text{g cm}^{-3}$). Richter *et al.* (1975) obtuvieron el doble de concentraciones de fracciones lábiles, con densidades comprendidas entre $1,9$ y $2\ \text{g cm}^{-3}$ con respecto a densidades comprendidas entre $1,6$ y $1,9\ \text{g cm}^{-3}$. Este aumento de la concentración se debe a la incorporación de mayores cantidades de complejos órgano-minerales (Galantini & Suñer, 2008). Además, en nuestro caso, al utilizarse suelos de pradera de gramíneas hay una elevada presencia de fitolitos o minerales de baja densidad en su fracción limo fino (30% de la fracción de limo fino del horizonte A) (Pecorari *et al.*, 1990; Cosentino & Pecorari, 2002). Éstos tienen una densidad $< 2,30\ \text{g cm}^{-3}$, y su inclusión en la fracción lábil podría estar incrementando el contenido de Cs obtenido. Por lo tanto, en la fracción lábil obtenida por separación densimétrica puede existir una cantidad relativamente importante de fracción de MOS unida a la fracción mineral.

La presencia de residuos recientes y/o pocos transformados generalmente disminuye con la profundidad del suelo, particularmente bajo SD o debajo de la profundidad de laboreo. Por lo tanto, en el espesor 10-20 cm, es esperable encontrar valores más bajos de C lábil que en el espesor 0-10 cm. Esto puede observarse en la Figura 1: en 10-20 cm los valores encontrados se situaron entre $0,4$ y $1,6\ \text{g kg}^{-1}$ y entre $0,7$ y $5,8\ \text{g kg}^{-1}$ en 0-10 cm. En el espesor 10-20 cm, los valores medios de Cs fueron superiores y menos variables que los respectivos valores medios de COP ($1,2 \pm 0,2$ vs. $0,8 \pm 0,2\ \text{g kg}^{-1}$, para Cs y COP, respectivamente). La mayor variabilidad observada en los valores de COP se corresponde con posibles diferencias atribuidas a los sistemas de labranza y secuencias de cultivo: en monocultivo de maíz bajo LV existieron 4

valores entre 1,2 y 1,4 g kg⁻¹, lo cual puede indicar una elevada presencia de complejos órgano-minerales y poca sensibilidad frente a posibles cambios de manejo del método de fraccionamiento densimétrico.

Por otro lado, dos diferencias importantes que pueden afectar los resultados entre ambas metodologías residen en:

- *el método de determinación del C lábil*. Para Cs se utilizó combustión húmeda y para COP combustión seca. Es sabido que con la metodología de la combustión húmeda se subestima el C a medida que su contenido disminuye (Miglierina, 1991),
- *el tamaño de partículas de partida de ambos métodos*. En el fraccionamiento granulométrico la muestra de suelo se tamizó por 2 mm mientras que en el densimétrico por 0,5 mm. En este último se podría estar subestimando COS lábil ocluido en agregados o libre del tamaño 0,5-2 mm.

Los resultados encontrados justifican la necesidad de continuar con los estudios de comparación de resultados de fraccionamiento. Particularmente para el método de fraccionamiento densimétrico, sería interesante probar el efecto de la disminución de la densidad del licor sobre el tamaño de Cs resultante, realizando la determinación de C de la fracción sobrenadante por combustión seca en analizador de C y utilizando el tamiz de 2 mm para la obtención de la muestra inicial. Además, realizar la determinación de N lábil por los dos métodos enriquecería la discusión sobre la calidad de las fracciones obtenidas. Por otro lado, la comparación con métodos de fraccionamiento biológico (C y N de la biomasa, respiración basal, N potencialmente mineralizable), que separan fracciones biológicamente activas, puede dar información de utilidad sobre la funcionalidad de los compartimentos de C lábil obtenidos por fraccionamiento físico.

Entre los problemas frecuentemente encontrados al utilizar fraccionamiento granulométrico pueden enumerarse:

- el material orgánico puede ser fragmentado por procesos como el secado, la molienda, el humedecimiento o rehumedecimiento durante el tamizado en agua (Gregorich *et al.*, 2006),
- la cantidad de energía utilizada para la dispersión del suelo y el lavado del C soluble durante el tamizado en húmedo afecta la cantidad obtenida de COP (Magid & Kjaergaard, 2001),
- la separación de fracciones, al resultar altamente dependiente del operador (Magid *et al.*, 1996),
- la gran diferencia del tamaño de la fracción arena, entre tamices de igual tamaño de malla pero distinto origen.

Sin embargo, el fraccionamiento granulométrico es sencillo y poco costoso en términos de materiales y labor (Gregorich *et al.*, 2006). Por ello, y en base a los resultados obtenidos en este trabajo, se lo recomienda para estudios similares.

CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones de este estudio, ambas metodologías estimaron el mismo tamaño de fracción de C lábil en el espesor 0-10 cm. En el espesor 10-20 cm los resultados de ambos métodos no se relacionaron entre sí y el fraccionamiento densimétrico mostró ser menos sensible que el fraccionamiento granulométrico frente a los cambios de manejo. Además, debido a la elevada densidad del licor utilizada, el fraccionamiento densimétrico probablemente midió una cantidad relativamente importante de COS unido a la fracción mineral, sobreestimando la fracción lábil de C. Por otro lado, el tamaño de la muestra inicial y la metodología para la determinación de C son dos factores que deben ser tenidos en cuenta cuando se comparan dichas metodologías de fraccionamiento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al personal del Laboratorio de Gestión Ambiental de Suelos y Aguas de la EEA Pergamino de INTA, por su colaboración en los fraccionamientos físico y en los trabajos de campo.

Trabajo financiado con fondos del proyecto Foncyt, PICT 2004 N° 21078.

REFERENCIAS

- Anderson, JPE & KH Domsch. 1990. Application of ecophysiological quotients (qCO₂ and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biol. Biochem.* 22: 251-255.
- Andreux, F; S Bruckert; A Correa & B Souchier. 1980. Sur une méthode de fractionnement physique et chimique des agrégats des sols: origines possibles de la matière organique des fractions obtenues. *C.R. Acad. Sci. Paris* 291: 381-384.
- Andriulo, A; J Galantini; C Pecorari & E Torioni. 1991. Materia orgánica del suelo en la región Pampeana Argentina. I. Un método de fraccionamiento por tamizado. Informe técnico N° 250. INTA EEA Pergamino.
- Andriulo, A; J Guérif & B Mary. 1999. Evolution of soil carbon with various cropping sequence on the rolling pampas. Determination of carbon origin using variations in natural ¹³C abundance. *Agronomie* 19: 349-364.

- Andriulo, AE; MC Sasal; AB Irizar; SB Restovich & F Rimatori. 2008. Efecto de diferentes sistemas de labranza, secuencias de cultivo y de la fertilización nitrogenada sobre los stocks de C y N edáficos. *En: «Estudio de las fracciones orgánicas en suelos de Argentina» (ed. JA Galantini). Asociación Argentina de la Ciencia de Suelo. Pp. 117-129.*
- Apezteguía, HP. 2005. Dinámica de la materia orgánica de los suelos de la región semiárida central de Córdoba (Argentina). 151 p. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Balabane, M & AF Plante. 2004. Aggregation and carbon storage in silty soil using physical fractionation techniques. *Eur. J. Soil Sci. 55: 415-427*
- Balesdent J; GH Wagner & A Mariotti. 1988. Soil organic matter turnover in long-term field experiments as revealed by carbon-13 natural abundance. *Soil Sci. Soc. Am. J. 52: 118-124.*
- Balesdent J; JP Pétraud & C Feller. 1991. Effets des ultrasons sur la distribution granulométrique des matières organiques des sols. *Sci du Sol. 29: 95-106.*
- Bayer, C; J Mielniczuk; L Martin-Neto & PR Ermani. 2002. Stocks and humification degree of organic matter fractions as affected by no-tillage on a subtropical soil. *Plant and Soil* 238: 133-140.
- Bohonak, AJ. Software for Reduced Major Axis Regression. Disponible en: <<http://www.bio.sdsu.edu/pub/andy/rma.html>>septiembre2004>. Acceso el: 13 de Mayo de 2009.
- Bonde, TA; BT Christensen & CC Cerri. 1992. Dynamics of soil organic matter as reflected by natural ¹³C abundance in particle size fractions of forested and cultivated oxisols. *Soil Biol. Biochem. 26: 1459-1468.*
- Bruckert, S; F Andreux; A Correa; KJM Ambouta & B Souchier. 1978. *In: Proc 11° Congrès A.I.S.S., Edmonton, Canada.*
- Buyanovsky GA; M Islam & GH Wagner. 1994. Carbon turnover in soil physical fractions. *Soil Sci. Soc. Am. J. 58: 1167-1173.*
- Cambardella, CA & ET Elliott. 1992. Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence. *Soil Sci. Soc. Am. J. 56: 777-783.*
- Christensen, BT. 1992. Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle-size and density separates. *Adv. in Soil Science* 20: 2-99.
- Christensen, BT. 2001. Physical fractionation of soil and structural and functional complexity in organic matter turnover. *Eur. J. Soil Sci. 52: 345-353.*
- Cosentino, D & C Pecorari. 2002. Limos de baja densidad: impacto sobre el comportamiento físico de los suelos de la región pampeana. *Ciencia del Suelo* 20(1): 9-16.
- Diekow, J; J Mielniczuk; H Knicker; C Bayer; D Dick & I Kögel-Knabner. 2005. Carbon and nitrogen in physical fractions of a subtropical Acrisol as influenced by long-term no-till cropping systems and N fertilization. *Plant and Soil* 268: 319-328.
- Dominguez, GF; NV Diovisalvi; GA Sttudet & MG Monte-rubbianesi. 2008. Soil organic C and N fractions under continuous cropping with contrasting tillage system on mollisols of the southeastern Pampas. *Soil Till. Res. 102: 93-100.*
- Dubeux, JCB; LE Sollenberger; NB Comerford; JM Scholberg; AC Ruggieri; JMB Vendramini; SM Interrante & KM Portier. 2006. Management intensity affects density fractions of soil organic matter form grazed bahiagrass swards. *Soil Biol. Biochem. 38: 2705-2711.*
- Fabrizzi, K; A Morón & F García. 2003. Soil Carbon and nitrogen in degraded vs. non-degraded Mollisols in Argentina. *Soil Sci. Soc. Am. J. 67: 1831-1841.*
- Feller, C. 1979. Une méthode de fractionnement granulométrique de la matière organique du sol. *Cah. ORSTOM sér. Pédol., XVII, 339-346.*
- Feller, C & MH Beare. 1997. Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. *Geoderma* 79: 69-116.
- Galantini, JA. 2008. Fraccionamiento de la materia orgánica del suelo. *En: «Estudio de las fracciones orgánicas en suelos de Argentina» (ed. JA Galantini). Asociación Argentina de la Ciencia de Suelo. Pp. 19-39.*
- Galantini JA & L Suñer. 2008. Las fracciones orgánicas del suelo: análisis en los suelos de la Argentina. *Agriscientia XXV (1): 41-55.*
- Gregorich, EG; MH Beare; UF McKim & JO Skjemstad. 2006. Chemical and biological characteristics of physical uncomplexed organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J. 70: 975-985.*
- Hassink, J; A Whitmore & J Kubát. 1997. Size and density fractionation of soil organic matter and the physical capacity of soils to protect organic matter. *Europ. J. Agronomy* 7: 189-199.
- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 1972. Carta de suelos de la República Argentina. Hoja Pergamino (3360-32). 106 pp. + anexos.
- Janzen, HH; FJ Larney & BM Olson. 1992. Soil quality factors of problem soils in Alberta. *Proceedings of the Alberta Soil Science Workshop* 17-28.
- Jenkinson, DS & DS Powelson. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. I. Fumigation with chloroform. *Soil Biol. Biochem. 8: 167-177.*
- Lützw, M; I Kögel-Knabner; K Ekschmitt; H Flessa; G Guggenberger; E Matzner & B Marschner. 2007. SOM fractionation methods: Relevant to functional pools and to stabilization mechanisms. *Soil Biol. Biochem. 39: 2183-2207.*
- Magid, J; A Gorissen & KE Giller. 1996. In search of the elusive «active» fraction of soil organic matter : three size-density fractionation methods for tracing the fate of homogeneously ¹⁴C labeled plant materials. *Soil Biol. Biochem. 28: 89-99.*
- Magid, J & C Kjaergaard. 2001. Recovering decomposing plant residues from the particulate soil organic matter fraction: size versus density separation. *Biol. Fertil Soils* 33: 252-257.
- Meijboom, FW; J Hassink & M Van Noordwijk. 1995. Density fractionation of soil macroorganic matter using silica suspensions. *Soil Biol. Biochem. 27: 1109-1111.*
- Miglierina, AM. 1991. *Materia Orgánica y Sistemas de Producción en la Región Semiárida Bonaerense. 94 pp. Tesis de Magister en Ciencias del Suelo. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina.*
- Monnier, G; C Turc & C Jeanson-Luusinang. 1962. Une méthode de fractionnement densimétrique para centrifugation des matières organiques du sol. *Annales Agronomiques* 13: 55-63.
- Moraes Sá, JC & R Lal. 2009. Stratification ratio of soil organic matter pools as an indicator of carbon sequestration in a tillage chronosequence on a Brazilian Oxisol. *Soil Till. Res. 103: 46-56.*
- Morón, A; H Marelli; J Sawchik; V Gudelj; C Galarza & J Arce. 2004. Indicadores de la calidad de suelos en experimentos de rotaciones de cultivos en Córdoba Argentina. *En: Actas XIX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Paraná, Entre Ríos, Argentina. En CD.*

- Pecorari, C; J Guerif & P Stengel. 1990. Fitólitos en suelos pampeanos. Influencia sobre las propiedades físicas determinantes de la evolución de la estructura. *Ciencia del Suelo* 8: 135-141.
- Quiroga, AR; DE Buschiazio & N Peinemann. 1995. Soil organic matter particle size fractions in soils of the semiarid Argentinian Pampas. *Soil Sci.* 161(2): 104-108.
- Richter, M; I Mizuno; S Aranguez & S Uriarte. 1975. Densimetric fractionation of soil organo-mineral complexes. *Soil Sci.* 26 (2): 112-123.
- Schnitzer, M. 2000. A lifetime perspective on the chemistry of soil organic matter. *Adv. in Agronomy* 68: 1-58.
- Sokal, RR & FJ Rohlf. 1981. *Biometry*. 2nd edition. W. H. Freeman and Company., NY. 859 pp.
- Trumbore, SE. 1993. Comparison of carbon dynamics in tropical and temperate soils using radiocarbon measurements. *Global Biogeochem. Cycles* 7: 275-290.
- Webster, R. 1997. Regression and functional relations. *Eur. J. Soil Sci.* 48: 557-566.
- Zotarelli, L; BJR Alves; S Urquiaga; RM Boddey & J Six. 2007. Impact of tillage and crop rotation on light fraction and intra-aggregate soil organic matter in two Oxisols. *Soil Till. Res.* 95: 196-206.