

## CAPITULO 11

# DETERMINACION DE LOS MICRONUTRIMENTOS COBRE, HIERRO, MANGANESO, ZINC, BORO, MOLIBDENO Y SELENIO DISPONIBLES

Por: Rodrigo Lora Silva\*

### 11.1. Introducción

La necesidad y el uso de los micronutrientes cobre, hierro, manganeso, zinc, boro y molibdeno se ha incrementado en los últimos años como consecuencia de los factores tales como remoción por parte de las cosechas, cambios en la tecnología de fabricación de fertilizantes a base de nitrógeno, fósforo y potasio que permiten obtener productos casi libres de micronutrientes, introducción de nuevas variedades de híbridos y deficiencias inducidas por otras prácticas de fertilizantes y manejo. El selenio aún cuando no es esencial para las plantas, sí lo es para los animales en pequeñas cantidades. En Colombia, existe en algunas zonas exceso de este elemento, produciéndose intoxicación para los animales que consumen forrajes u otros productos agrícolas que crecen en estos suelos. Esta intoxicación es llamada seleniosis. Por tanto la cuantificación del selenio disponible en el suelo se incluye en este Manual.

### 11.2. Determinaciones de Cu, Fe, Mn y Zn

Existen varias técnicas para la extracción de estos elementos separada o simultáneamente.

Adams (1), Fiskell (8), Viets y Boawn (17) Jackson (9), describen métodos para determinar separadamente estos nutrientes, y detallan las técnicas a seguir.

---

\* Ing. Químico M.S. Programa Suelos. Instituto Colombiano Agropecuario. Apartado Aéreo 233. Palmira. 1989

Cox y Kamprath (6), Viets y Lindsey (18). presentan los métodos utilizados interpretación de resultados y los niveles críticos de cada elemento.

Extracciones simultáneas de Cu, Fe, Mn y Zn han sido desarrolladas por Hunter (10), Lindsey y Norvell (11) Viro (20), Chapman y Pratt (7).

En el presente Manual se hace referencia básicamente al método de Olsen modificado según Hunter (10) y el denominado método de North Carolina o del doble ácido (13).

### **11.3. Método Olsen Modificado**

#### **11.3.1. Principio**

Arvel Hunter modificó el método original de Olsen para fósforo agregando un agente quelatante y aumentando el pH hasta 8.5. Bajo estas condiciones el bicarbonato de sodio extrae parte de las formas intercambiables de los nutrimentos bajo estudio, y el EDTA (quelato) extrae las formas unidas especialmente a la materia orgánica. En el extracto los elementos son determinados por espectrofotometría de absorción atómica.

En el proceso se utiliza el agente de floculación denominado superfloc 127, el cual es una poliacrilamida de gran peso molecular, y de alta efectividad como agente de floculación en suspensiones ácidas, neutras y alcalinas. Este agente es una ayuda efectiva para filtración de las suspensiones de suelos cuando se usa adecuadamente.

#### **11.3.2. Reactivos**

- Solución extractora modificada de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ )

Disolver 42 g de  $\text{NaHCO}_3$  en 100 mL de agua. Disolver 3.72 g de disodio-EDTA en 150 mL de agua. Disolver 0.1 g de superfloc 127 en 100 a 200 mL de agua, para lo cual se agita por 1 o 2 horas a menos de 400 rpm para evitar el rompimiento de las moléculas del agente floculante. Mezclar las tres soluciones antes mencionadas con agua y llevar a volumen de un litro. Ajustar el pH a 8.5 con NaOH y guardar la solución en un frasco de polietileno.

### 11.3.3. Preparación de los Estándares

Se empleen soluciones concentradas (1000 ppm de Cu, Fe, Mn, Zn) ya preparadas comercialmente, a partir de las cuales se hacen soluciones diluidas de 100 ppm para cada uno de los elementos, tomando 10 mL de la de 1000 ppm y llevando a volumen de 100 mL con agua desmineralizada.

#### Soluciones estándares para cobre (Cu) y zinc (Zn)

mL de 100 ppm de Cu y Zn	Volumen final con agua (mL)	Concentración de Cu y Zn (ppm)
0.0	100	0.0
0.5	100	0.5
1.0	100	1.0
2.0	100	2.0
4.0	100	4.0
6.0	100	6.0

#### Soluciones estándares para hierro (Fe) y manganeso (Mn)

mL de 100 ppm de Fe y Mn	Volumen final con agua	Concentración de Fe y Mn (ppm)
0.0	100	0.0
1.0	100	1.0
2.0	100	2.0
4.0	100	4.0
6.0	100	6.0
10.0	100	10.0

Las soluciones patrón finales deben ser preparadas en la solución extractora modificada de  $\text{NaHCO}_3$ . Así mismo, cuando se hacen diluciones posteriores para la determinación de los elementos, éstas deben ser diluidas en solución de  $\text{NaHCO}_3$ .

#### 11.3.4. Procedimiento

colocar 2.5 g de suelo en un vaso de extracción y adicionar 25 mL de solución extractora. Agitar a una velocidad lenta durante 10 minutos. Filtrar la solución usando papel de filtro poroso.

Leer directamente en el extracto obtenido, los elementos menores, utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica, utilizando los parámetros de funcionamiento que aparecen en el catálogo del equipo.

#### Cálculos

$$\text{Factor de dilución (FD)} = \frac{25}{1000} \times \frac{1000}{2.5} = 10$$

ppm Cu, Fe, Mn y Zn = ppm Cu, Fe, Mn y Zn en solución x el factor de dilución (FD), que en este caso es de 10.

#### 11.4. Método del Doble Acido

En la universidad de Carolina del Norte, Nelson y colaboradores (13) desarrollaron para el fósforo disponible el método de extracción utilizando como extractante la solución  $0.05\text{N HCl} + 0.025\text{N H}_2\text{SO}_4$ . Posteriormente esta solución se utilizó por investigadores de la misma universidad para la extracción simultánea de los elementos menores Fe, Cu, Mn y Zn. Especialmente para suelos ácidos, en general, este método ha mostrado ser adecuado para evaluar la disponibilidad de los micronutrientes antes considerados. Inicialmente fué empleado especialmente para zinc (16).

### 11.4.1. Reactivos

- Solución extractora ácido clorhídrico-ácido sulfúrico (HCl 0.05N + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.025N)

Mezclar 50 mL de HCl y 2.5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10N, llevar a volumen de un litro con agua.

### 11.4.2. Procedimiento

Pesar 5.0 g de suelo seco a 50°C y tamizado en tamiz No.10 (2 mm). Transferir a un vaso de 50 mL y añadir 20 mL de la solución extractora. Agitar por 15 minutos y filtrar a través de papel de filtro Whatman No. 42 o equivalente.

En el extracto obtenido, leer directamente los elementos menores Cu, Fe, Mn y Zn en un espectrofotómetro de absorción atómica. el factor de dilución (FD) es el siguiente:

$$\text{Factor de dilución (FD)} = \frac{20}{1000} \times \frac{1000}{5} = 4$$

$$\text{ppm Cu, Fe, Mn y Zn} = \text{ppm Cu, Fe, Mn y Zn en solución} \times 4$$

#### Preparación de estándares

A partir de soluciones estándares concentradas, preparadas comercialmente (1000 ppm Cu, Fe, Mn, Zn), se hacen diluciones así:

### Soluciones estándares para cobre (Cu) y zinc (Zn)

mL de 1000 ppm de Cu y Zn	Volumen final con agua (mL)	Concentración de Cu y Zn (ppm)
0.0	250	0.0
0.25	500	0.5
0.25	250	1.0
0.50	250	2.0
1.00	250	4.0

### Soluciones estándares de Hierro (Fe) y manganeso (Mn)

mL de 1000 ppm de Fe y Mn	Volumen final con agua (mL)	Concentración de Fe y Mn (ppm)
0.00	250	0.0
0.25	250	1.0
0.50	250	2.0
1.00	250	4.0
1.50	250	6.0
2.50	250	10.0
5.00	250	20.0

## **11.5. Determinación de Boro disponible (B)**

### **11.5.1. Principio**

El método mas conocido para la extracción de boro es el del agua caliente propuesto por Berger y Troug (3), el cual ha sido bastante estudiado en cuanto a la correlación que existe entre la cantidad que extrae del suelo y la que la planta absorbe. Sin embargo, existen inconvenientes para su utilización sobre todo en el análisis de rutina, como la necesidad de

utilizar material de vidrio libre de boro, pérdidas del elemento por arrastre de vapor y producción de extractos coloreados que interfieren en su determinación. Teniendo en cuenta lo anterior, en los Laboratorios de Suelos del ICA, se está utilizando el monofosfato de calcio ( $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 0.008M propuesto por Hunter (10) para la extracción del elemento, el cual, aunque extrae aproximadamente la tercera parte del obtenido por el agua caliente, tiene las siguientes ventajas según estudios realizados por el ICA (4).

La extracción puede hacerse a temperatura ambiente utilizando material plástico. La cantidad extraída correlaciona con lo que la planta absorbe. Los extractos son cristalinos.

Para la determinación del elemento, en este Manual se describe la utilización del reactivo de color azometina-H que es muy sensible al boro y forma con él un complejo boro-azometina-H de color amarillo el cual es estable por más de una hora. Este reactivo puede utilizarse directamente a partir del extracto sin necesidad de evaporar o utilizar tratamiento con ácidos concentrados, lo cual es necesario cuando se trabaja con otros reactivos de color. Para eliminar interferencias debido al cobre y al aluminio se utiliza EDTA, y para hierro, ácido tioglicólico (22).

### 11.5.2. Reactivos

- Fosfato monobásico de calcio ( $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 0.008M (solución extractante).

Pesar 2.03 g de fosfato monobásico de calcio monohidratado. Agregar 1 mL de ácido acético glacial y llevar a 1 L con agua destilada.

- Buffer

Disolver 10 g de acetato de amonio en 160 mL de agua, agregar 50 mL de ácido acético (densidad 1.05) y 2.68 g de EDTA (sal disódica); a esta mezcla añadir 2.4 mL de ácido tioglicólico (mercaptoacético), mezclar bien y dejar en reposo una noche. El reactivo permanece en buenas condiciones ocho días.

- Azometina-H

Colocar en un balón aforado de 100 mL, 0.9 g de Azometina-H y 2.0 g de ácido ascórbico, completar a volumen con agua desmineralizada destilada; si no se disuelve por completo calentar ligeramente (filtrar si la solución está turbia). Esta solución debe prepararse el día que se va a utilizar.

- Solución patrón (100 ppm de B)

Pesar 0.572 g de ácido bórico ( $H_3BO_3$ ), completar a un litro con agua. Almacenar en frasco de polietileno.

- Solución estándar (5 ppm de B)

diluir 25 mL de la solución patrón en un balón de 500 mL, llevar volumen con agua y almacenar en frasco de polietileno.

- Serie de estándares

Pipetear 0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 5.0 y 10 mL de la solución estándar (5 ppm) en balones milimétricos de 50 mL y llevar a volumen con la solución extractante. Esta serie corresponde a 0, 0.1, 0.15, 0.20, 0.25, 0.50, y 1.00 ppm de B. Almacenar en frasco de polietileno.

### 11.5.3. Procedimiento

A 10 g de suelo colocados en un vaso plástico de 50 mL agregar 25 mL de solución de fosfato monobásico de calcio 0.008M. Agitar por 10 minutos y filtrar.

Tomar del filtrado y de los estándares alícuotas de 2 mL, agregar 4 mL de solución buffer y 2 mL de azometina-H, mezclar bien. Dejar desarrollar el color por 40 minutos y leer en el colorímetro a 430 nm.

#### Observaciones:

Cuando la extracción se hace con agua caliente, se debe tener en cuenta la relación suelo-agua utilizada en la extracción. Generalmente se utilizan 20 g de suelo y 40 mL de extractante. La ebullición se hace por 5 minutos, al cabo de los cuales se filtra y se determina el boro colorimétricamente por el método propuesto.

#### Cálculos

$$B \text{ (ppm)} = L \times \frac{Y}{pm}$$

en donde:

L = Lectura en la curva.

V = Volumen de extractante.

pm = Peso de la muestra.

En caso de no disponer del reactivo de color azometina-H, se puede preparar en el laboratorio en la forma siguiente:

Pesar 10 g de la sal sódica del ácido-H (sal monosódica del 8 amino 1 naftol-3,6, ácido disulfónico) en un vaso de precipitado. Agregar 500 mL de agua. Llevar a pH 7 con NaOH 2.5N. Agregar ácido clorhídrico concentrado hasta pH 1.5. Calentar (50-70°C) hasta que todo el precipitado se disuelva. Agregar 10 mL de ácido salicílico. Agitar vigorosamente durante una hora. Dejar en reposo 12 horas. Descartar el líquido sobrenadante y coleccionar el precipitado amarillo de azometina-H en tubos de centrifuga. Centrifugar por 10 minutos a 5,000 rpm. Descartar el sobrenadante después de centrifugar. Agregar etanol al sedimento y agitar para llevarlo a suspensión. Centrifugar la suspensión y descartar el sobrenadante. Repetir el tratamiento 3 veces.

Colocar el precipitado en un embudo buchner y retirar el etanol tanto como sea posible por succión. Secar la azometina-H a 100-105°C en un horno precalentado pero apagado; existe peligro de explosión si el horno está encendido). Guardar el reactivo en frasco oscuro dentro de un desecador.

## 11.6. Determinación de Molibdeno Disponible

### 11.6.1. Principio

La importancia de evaluar la disponibilidad de molibdeno (Mo) en el suelo se basa en 2 factores contrastantes de importancia.

i. La respuesta de su aplicación para algunos cultivos debido a la deficiencia en el suelo.

ii. Su presencia en suelos que producen plantas tóxicas en este elemento, para rumiantes especialmente. La determinación química del molibdeno disponible en suelos es

difícil debido a que para el normal desarrollo de la mayoría de los cultivos se necesitan cantidades extremadamente pequeñas.

El mejor reactivo y el más utilizado para la extracción de Mo es el llamado reactivo de Tamm, que consiste en una mezcla de ácido oxálico y oxalato de amonio. Su determinación puede ser colorimétrica utilizando reactivos como el tiocianato de potasio (21) o la rodamina-B (4). Estos métodos son dispendiosos debido a que es necesario concentrar el elemento para ser detectado. También puede detectarse por espectrofotometría de absorción atómica sin llama utilizando el horno de grafito. Esta técnica fue estandarizada en el laboratorio de suelos del ICA (Tibaitatá), la cual se comperó con el método colorimétrico de la rodamina-B (14). Según el análisis estadístico no se encontró diferencia significativa en la determinación del molibdeno utilizando las dos metodologías mencionadas, siendo más rápida la determinación de la espectrofotometría de absorción atómica.

### 11.6.2. Reactivos

- Oxalato de amonio (solución de Tamm)

Pesar 24.9 g de oxalato de amonio y 12.605 g de ácido oxálico en un balón volumétrico de un litro y llevar a volumen con agua.

-Curva patrón

Solución de 1000 ppm de Mo: Pesar 1.840 g de paramolibdato de amonio ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) en un litro de hidróxido de amonio al 1% v/v.

Solución de 10 ppm de Mo: Tomar 2.5 mL de la solución de 1000 y llevar a volumen de 250 mL con solución de Tamm.

- Solución de 0.1 ppm de Mo: Tomar 2.5 mL de la solución de 10 ppm de Mo y llevar a volumen de 250 mL con solución de Tamm.

De la solución de 0.1 ppm de Mo tomar alícuotas de 0, 5, 10, y 25 mL separadamente y llevar a volumen de 250 mL con solución de Tamm. La anterior serie corresponde a 0, 0.01, 0.02, 0.04, y 0.05 ppm de Mo.

### 11.6.3. procedimiento

Pesar 10 g de suelo seco, molido y tamizado a través de malla de 2 mm, y colocarlos en un erlenmeyer de 250 mL. Agregar 100 mL de solución de Tamm, dejar en reposo durante 14 horas. Agitar 2 horas, filtrar a través de papel de poro fino y desechar los primeros 15 mL.

Tomar con micropipeta alícuotas de 10 microlitros de los estándares y muestras. Leer en el horno de grafito ajustando los parámetros siguientes, de acuerdo con Puentes, Rodríguez y Lora (14). Para este estudio fué utilizado el espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo 603 con horno de grafito Perkin Elmer modelo HGA 2,200.

Longitud de onda	314.1 nm
Temperatura de secado	75 <sup>o</sup> C
Tiempo de secado	30 s
Temperatura de calcinado	400 <sup>o</sup> C
Tiempo de calcinado	30 s
Temperatura de atomizado	2,700 <sup>o</sup> C
Tiempo de integración	3 s
Gas de purga	Argón
Presión de salida del gas de purga	60 PSI
Flujo del gas de purga	40 cc/s

#### Cálculos

$$M_o (\text{ppm}) = L_c \times \frac{100}{p_m}$$

en donde:

$L_c$  = Lectura del espectrofotómetro de absorción atómica en ppm.

$p_m$  = Peso de la muestra (10 g)

La concentración final de Mo en la muestra para ser leída, no debe ser mayor de 0.1 ppm.

### Interferencias

Según Puentes, Rodríguez y Lora (14), el Mn y el Zn en cantidades mayores de 30 y 50 ppm respectivamente, afectan la determinación de Mo aumentando la señal. Esta interferencia se elimina pasando la muestra por resina de intercambio catiónico.

## **11.7. Determinación de Selenio Disponible (Se)**

### **11.7.1. Principio**

El selenio para las plantas disponibles existe en el suelo en forma de selenatos, selenitos y combinaciones orgánicas. Los reactivos más utilizados para extraerlo son la sal disódica del ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) en solución 0.05M y el cloruro de calcio en solución 0.01M (5).

Por su parte la determinación del elemento puede realizarse por el método fluorométrico utilizando el reactivo 3-3-diaminobencidina, o por medio de la espectrofotometría de absorción atómica sin llama.

En el laboratorio de suelos de ICA Tibaitatá, se han realizado varios trabajos pertenecientes al proyecto sobre la determinación e inhibición del selenio disponible del suelo y se ha concluido de acuerdo con Torres Jimenez y Lora (15) que el selenio extraído por el método de Williams y thronton (21) es el que mejor correlaciona con el absorbido por la planta. Por otra parte, se estandarizó la técnica para su determinación utilizando la espectrofotometría de absorción atómica sin llama por medio del horno de grafito (12). Esta metodología se comparó con el método fluorométrico que utiliza como reactivo 3,3 diaminobencidina.

El análisis estadístico de este trabajo mostró que no había diferencia significativa en la evaluación significativa del selenio utilizando los dos métodos mencionados, siendo más rápida y sencilla la determinación por espectrofotometría de absorción atómica.

### 11.7.2. Reactivos

- Sal disódica de ácido etilendiaminotetra-acético (EDTA) 0.05M

Pesar 18.612 g de EDTA en un balón volumétrico de un litro y llevar a volumen con agua destilada y desmineralizada.

- Acido nítrico concentrado
- Solución de nitrato de níquel ( 10,000 ppm de Ni)

Pesar 4.96 g de nitrato de níquel (  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  ) en un balón volumétrico de 10 mL y llevar a volumen con agua. La anterior solución es utilizada para estabilizar el selenio disponible y para inhibir interferencias químicas y puede ser reemplazada de acuerdo con Melo, Rodriguez y Lora ( 12), por solución de permanganato de potasio.

- Solución de permanganato de potasio ( 4000 ppm de  $\text{KMnO}_4$  )

Pesar 0.4 g de  $\text{KMnO}_4$  en un balón volumétrico de 100 mL y llevar a volumen con agua.

- Curva patrón

A partir de una solución estandar de 100 ppm de Se preparar estandares que contengan 0.001, 0.002, 0.005, 0.04, 0.05 y 0.1 ppm de Se. Los anteriores estandares deben contener 0.8% de ácido nítrico concentrado (d:1.40), 1000 ppm de Ni o 400 ppm de  $\text{KMnO}_4$ .

### 11.7.3. Procedimiento

Extracción según Williams y Thronton (21). En un erlenmeyer de 250 mL pesar 20 g de suelo seco, molido y tamizado sobre malla de 2 mm, agregar 100 mL de EDTA 0.05M. Agitar en agitador mecánico por 24 horas. Centrifugar a 2,000 rpm por 20 minutos, tomar alícuota de 50 mL del sobrenadante y colocarla en un vaso de precipitado de 100 mL. Evaporar a  $95^\circ\text{C}$  hasta reducir el volumen a 10 mL. Agregar 1.5 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado y 2.5 mL de peróxido de hidrógeno. Calentar a  $105^\circ\text{C}$  hasta reducir la muestra a 10 mL. Transferir en forma cuantitativa a un balón de 50 mL. Agregar 50 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado, 5 mL de  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  de 10,000 ppm o 5 mL de solución de  $\text{KMnO}_4$  de 4,000 ppm. Completar a volumen con agua.

Para la determinación en el horno de grafito, tomar 20 microlitros de los estándares y las muestras y leer ajustando los siguientes parámetros utilizados para los equipos: espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo 603 y horno de grafito Perkin Elmer modelo HGA 2,200(12).

Flujo de agua circulante: Aproximadamente 2.5 litros/min

Gas de purga	Argón
Longitud de onda	196.2 nm
Presión de salida del gas de purga	50 PSI
Flujo del gas de purga	50 cc/min
Interrupción del gas de purga	3 s
Temperatura de secado	1100°C
Tiempo de secado	30 s
Temperatura de secado	1000°C
Tiempo de calcinado	30 s
Temperatura de atomizado	2,700°C
tiempo de atomizado	10 s
Tiempo de integración	3 s
Utilizar rampa de temperatura	

### Cálculos

$$Se \text{ (ppm)} = Lc \times \frac{200}{pm}$$

en donde:

Lc = Lectura en el espectrofotómetro de absorción atómica en ppm.

pm = Peso de la muestra.

La concentración final de Se en la muestra para ser leída debe ser menor de 0.5 ppm.

### Interferencias

Según Melo, Rodríguez y Lora(12), las siguientes concentraciones afectan la determinación de Se: 50 ppm de Ca y 200 ppm de sulfatos aumentan la señal; 100 ppm de cloruros la disminuyen. Para eliminar este efecto debe agregarse a los estándares la cantidad de iones encontrados en la muestra o pasar la misma por resina de intercambio catiónico, cuando el ión de interferencia es el calcio.

Cuidados con el material de vidrio:

Como se trata de un análisis de trazas del elemento, deben tenerse en cuenta los siguientes cuidados con el material de vidrio:

Lavar con mezcla sulfocrómica preparada a partir de reactivos grado analítico, seguido de agua fría, agua caliente y etanol. Lavar nuevamente con agua desmineralizada caliente y luego fría.

Secar en estufa a 79-80° C

### **11.8. Referencias**

1. Adams, F. 1965. Manganese. In: Black C. A. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. Madison, Wisconsin, Amer. Soc. of Agr. p. 1011-1018 (agronomy series, No. 9).
2. Bennet, O. L., and L. E. Mathias 1975. Growth and chemical composition of crownvetch as affected by lime, boron soil source and temperature regime. Agron. J. 65:587-591.
3. Berger, K. C. and Troug, E. 1939. Boron determinations in soils and plants. In. Eng. Chen. (Analytical Edition) 11:540-544.
4. Camelo, D.E., A. Rojas y A. de Yunda. 1982. Evaluación de algunos métodos para la extracción de boro disponible en el suelo. Suelos Ecuatoriales (Colombia). 12:310-327.

5. Cary, E.E. and G. Gissel-Nelsen. 1973. Effect of fertilizer anions on the solubility of nature and applied selenium in soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 37:590-593.
6. Cox, F.R. and E. J. Kamprath. 1972. Micronutrient soil test. En: Mortvedt, J.J. and W. L. Lindsay ed. *Micronutrients in agriculture*. Madison, Wisconsin. Soil Sci. Soc. of America. p. 289-318.
7. Chapman, H.D. y P. F. Pratt. 1973. *Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas*. México, Trillas. 195 p.
8. Fiskell, J.C.A. 1965. Cooper. In: Black, C.A. ed. *Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties*. Madison, Wisconsin. American Soc. of Agronomy (Agr. Series No. 9) p. 1078-1089.
9. Jackson, M.L. 1964. *Análisis químico de suelos*. Ed. Omega, Barcelona, 662 p.
10. Hunter, A. H. 1973. *Methods commonly used for routine soil analysis in cooperating countries*. International Soil Fertility Evaluation and Improvement Project. North Carolina State University. 20 p.
11. Lindsay, W.L. and W. A. Norvell. 1978. Development of DTPA soil test. Madison, Wisconsin. *Soil Sci. Soc. of Amer. J.* 42:421-428.
12. Melo, T.A., J.C. Rodriguez y R. Lora. 1982. Estudio de la deselinización de aguas en cinco zonas seleníferas de Colombia. *Suelos Ecuatoriales (Colombia)* 12:328-330.
13. Nelson, W.L., A. Melich and E. Winter. 1953. The development, evaluation and use of soil test for phosphorous availability. *Agron.* 4:153-188.

14. Puentes, B.E. y C. N. Rodriguez. 1983. Determinación de molibdeno en un inceptisol de Sutagemarchón y estudio de la inhibición de su absorción en *Avena Sativa* L. Universidad Nacional, Bogotá (Tesis, Químico) p. 149-152.
15. Torres, C.I. M.A. Jiménez y R. Lora. 1977. Determinación de selenio en suelos y material vegetal. Estudio de la inhibición de su absorción en rye grass. Suelos Ecuatoriales. Colombia. 8:305-307.
16. Tucher, T.C. and Kurtz, L.T. 1955. A comparison of several chemical methods with bio-assay procedure for extracting zinc from soils. Soil Sci. of Amer. Proc. 19:477-481.
17. Viets, F.G. and L.C. Brown. 1965. Zinc. In: Black, C.A. ed. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. Amer. Soc. of Agron. Madison, Wisconsin. (Agr. Series No 9) p. 1090-1101.
18. Viets, F.G. and W.L. Lindsay. 1973. Testing soils for zinc, copper manganese and iron. In: Walsh, L.M. and J.D. Beaton ed. Soil testing and plant analysis. Soil Sci. Soc. of Amer.
19. Villar, H. 1980. Disponibilidad del elementos menores en algunos suelos tabacaleros de Santander. UN-ICA. (Tesis Magister Science). Bogotá.
20. Viro, P.J. 1955. Use of ethylenediaminetetracetic acid in soil analysis. II. Determination of soil fertility. Soil Sci. 80:69-74.
21. William, C. and I. Thronton. 1973. Use of soil extrantants to estimate plant available molibdenum and selenium in potencially toxic soils. Plant and Soil. 36:395-406.
22. Wolf, B. 197. Determination of boron in soil extracts, plant materials, composts, manures, water and nutrient solutions. Comm, Soil Sci. Plant Anal. 2:363-274.