

Elementos trazas en suelos derivados de cenizas volcánicas

I. "Disponibilidad" de cinc, cobre, hierro y manganeso.

Estudio comparativo de diversos métodos de extracción¹

Eduardo Schalscha B.², Raquel Riquelme G.³, Graciela Vergara H.³ e Inés Vergara S.⁴

INTRODUCCION

Los elementos trazas o microelementos deben encontrarse presente en cantidades adecuadas en todos los suelos agrícolas. El hecho de ser esenciales para el crecimiento de las plantas y que éstas los requieren sólo en muy pequeñas cantidades —de allí su nombre de elementos trazas— hace necesario conocer las cantidades de ellos existentes en los suelos y la fracción que pudiere estar "disponible" para las plantas. Un exceso o una deficiencia de ellos puede producir graves trastornos en los vegetales que crecen en estos suelos.

El cinc desempeña en las plantas una función bioquímica de importancia en la activación de enzimas de respiración, además de desempeñar un papel fundamental en las fermentaciones y transformaciones del ciclo del nitrógeno (10).

El cobre desempeña un papel de importancia en el metabolismo vegetal siendo constituyente de algunas enzimas, como la de óxido-reducción polifenoloxidasa, la oxidasa ascórbico, etc. Indirectamente también desempeñaría una función en la fotosíntesis (14).

Por su parte, el manganeso interviene en el metabolismo del nitrógeno, favoreciendo su asimilación. Juega además un papel importante en la síntesis de proteínas y en los fenómenos respiratorios de la planta (14).

El hierro es un elemento esencial para las plantas y aun cuando en el suelo se encuentra en macrocantidades, su "disponibilidad" y aprovechamiento por las plantas hacen de él

un microelemento o elemento traza. Su papel en la fotosíntesis es de sobra conocido y su deficiencia en las plantas provoca diversos tipos de clorosis (14).

No son muy numerosas las publicaciones que se refieren a los niveles de elementos trazas existentes en suelos derivados de cenizas volcánicas y dada la importancia que estos suelos tienen en nuestro país, hemos estimado de utilidad efectuar un estudio comparativo de métodos de extracción de cinc, cobre, manganeso y hierro, tratando de evaluar los resultados y, de acuerdo con la literatura (3), establecer cuáles de ellos podrían ser de utilidad en el diagnóstico directo de la "disponibilidad" de dichos elementos en suelos derivados de cenizas volcánicas. Junto con esto hemos tratado de dilucidar, aunque fuere sólo en forma preliminar, los posibles estados de combinación de estos iones en el suelo y la importancia que esto pudiera tener en la interpretación de los resultados respectivos.

MATERIALES Y METODOS

Descripción de los suelos.

Los suelos estudiados están ubicados en la zona comprendida entre las provincias de Biobío y Llanquihue en el sur del país⁵. Todos son suelos derivados de cenizas volcánicas y sus características generales están incluidas en el Cuadro 1.

Preparación de la muestra.

Los suelos se tamizaron por tamiz N° 10 sin secarlos previamente (13). Separadamente se determinó la humedad de cada suelo para así poder expresar los resultados sobre suelo seco a 105°C.

¹Los datos analíticos contenidos en el presente trabajo constituyen parte de las Tesis de Prueba para optar a la Licenciatura de Químico Farmacéutico de las candidatas más abajo citadas. Recepción manuscrito: 16 de mayo de 1968.

²Profesor de la Cátedra de Química Analítica Cuantitativa de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de Chile.

³Candidatas a la Licenciatura de Químico Farmacéutico de la Universidad de Chile.

⁴Profesor Auxiliar de la Cátedra de Química Analítica Cuantitativa de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de Chile.

⁵Recolección planificada por el Ing. Agr. profesor Alberto Valdés, Universidad de Chile.

Todos los reactivos empleados fueron de grado "pro análisis" y el material volumétrico de clase "A". Para la extracción y determinación del cinc se utilizó material exento de cinc.

Todas las extracciones y determinaciones se efectuaron en duplicado, dándose el promedio obtenido, que en ningún caso tiene una fluctuación superior al 5% relativo.

Cinc "disponible".

Para extraer el cinc "disponible" se utilizaron cuatro soluciones reactivas citadas en la literatura:

1. Solución de ácido clorhídrico 0,1 M (2).
2. Solución de cloruro de potasio 0,5 M, pH 3,2 (7).
3. Solución de ditizona, acetato de amonio 1 M, pH 7 (9).
4. Solución de EDTA 0,05 M, pH 9 (15).

Antes de efectuar las determinaciones fue necesario destruir la materia orgánica, lo cual se efectuó por oxidación mediante una mezcla de ácido nítrico concentrado y peróxido de hidrógeno al 30% en razón 3:1 (9).

El cinc extraído se determinó en un espec-

trofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer N° 303, leyéndose a una longitud de onda de 213,8 milimicrones (1).

Cobre "disponible".

Se utilizaron cuatro métodos diferentes descritos en la literatura, para extraer el cobre "disponible", a saber:

1. Solución de ácido clorhídrico 0,1 M (2).
2. Solución de acetato de sodio 1 M, pH 4,8 (12).
3. Solución de acetato de amonio 1 M, pH 7 (11).
4. Solución de etilendiamino tetracetato de sodio (EDTA), 0,05 M, pH 9 (15).

La materia orgánica del extracto fue eliminada en forma similar a la descrita para el cinc.

El cobre extraído se determinó por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) a una longitud de onda de 324 milimicrones (1).

Manganeso "disponible"

El manganeso se extrajo con cinco soluciones extractivas descritas en la literatura:

Cuadro 1 — Características generales y elementos totales.

SUELO	HORI- ZONTE	UBICACION PROVINCIA	pH	H ₂ O %	Fe TOTAL %	Mn TOTAL PPM.	Cu TOTAL PPM.	Zn TOTAL PPM.
Arrayán	A	Bío-Bío	6,0	26,4	7,5	1510	114	196
T. Santa Bárbara	A	Bío-Bío	5,3	27,1	10,3	2530	137	640
	B		5,6	23,9	10,5	2490	263	512
Collipulli	A	Malleco	5,3	20,8	10,2	2510	94	378
	B		5,4	20,8	9,5	1220	108	189
T. Padre Las Casas	A	Temuco	5,4	21,9	9,9	3120	108	262
	B		5,5	22,2	9,7	3230	116	288
T. Temuco	A	Temuco	5,4	35,7	8,3	1610	93	295
	B		6,5	36,3	9,7	1220	157	510
T. Osorno	A	Osorno	5,6	35,1	4,9	2340	116	317
	B		5,9	30,4	9,2	1830	94	258
T. Puerto Octay	A	Llanquihue	5,5	46,1	5,6	2640	120	426
	B		6,0	51,8	6,6	1010	207	715
Ñ. Frutillar	A	Llanquihue	5,3	51,3	4,9	720	154	1025
	B		5,8	52,4	6,5	410	178	315
Ñ. Paraguay	A	Llanquihue	4,9	45,3	3,8	510	110	695
	B		5,7	42,3	2,7	420	347	206
Promedio horizontes	A				7,26	1943	116	470
Promedio horizontes	B				8,06	1453	184	374

1. Solución de ácido fosfórico 0,1 N, pH 2 (12).
2. Solución de fosfato de amonio dihidrogenado 1 M, pH 4 (12).
3. Solución de acetato de amonio 1 M, pH 7 (9).
4. Solución de acetato de amonio 1 M, pH 7 con hidroquinona al 0,2% (12).
5. Solución de EDTA al 1%, pH 9 (11) (15). En este caso la materia orgánica se eliminó con una mezcla de 3:2, de HNO₃ concentrado y H₂O₂ al 30%.

El manganeso extraído se determinó por EAA a una longitud de onda de 279,4 milimicrones.

Hierro "disponible".

Se utilizaron tres reactivos extrayentes:

1. Solución de acetato de amonio 1 N, pH 3 (9).
2. Solución de acetato de amonio 1 N, pH 7 (9).
3. Solución de EDTA al 1%, pH 9 (11).

El hierro extraído se determinó por EAA a una longitud de onda de 248,3 milimicrones.

Elementos totales.

Las cantidades totales de cinc, cobre, manganeso y hierro, fueron determinadas en el producto de la fusión alcalina de los suelos según el procedimiento descrito por Jackson (9).

Determinación del pH de los suelos.

20 gramos de suelo tamizado se suspendieron en 100 ml de agua destilada, se agitó durante 1 hora y se determinó el pH en un medidor de pH Beckman (9).

RESULTADOS Y DISCUSION

Cinc.

Los resultados obtenidos usando diferentes métodos de extracción (Cuadro 2) señalan una gran variabilidad en los datos.

El reactivo que extrajo mayor cantidad de Zn de todos los suelos estudiados, excepción hecha del horizonte B del Nadi Paraguay, es el EDTA, que llegó a extraer hasta 71,5 ppm. Los otros tres reactivos extrajeron cantidades menores. Esto podría explicarse por la marcada acción quelante del EDTA el que podría, por ello, desplazar al cinc de sus combinaciones con la materia orgánica del suelo. A su vez este hecho señalaría que una parte importante del cinc estaría unida con fracciones orgánicas del

Cuadro 2 — ppm. de cinc extraídas por diversas soluciones reactivos.

SUELO	HORIZONTE	HCl 0,1M pH 1	HCl 0,5M pH 3,2	EDTA pH 7	EDTA 0,05M pH 9
Arrayán	A	2,2	5,0	6,4	13,7
T. Santa Bárbara	A	1,6	4,9	3,4	7,8
	B	1,6	5,2	0,7	9,7
Collipulli	A	3,8	3,8	15,6	18,1
	B	2,0	5,0	4,1	5,9
T. Padre Las Casas	A	3,8	5,8	2,6	13,5
	B	3,9	3,3	14,2	19,8
T. Temuco	A	5,9	6,8	7,8	15,6
	B	2,1	3,4	7,4	7,4
T. Osorno	A	13,5	5,2	6,2	13,8
	B	4,5	7,2	2,2	21,6
T. Puerto Octay	A	6,1	7,4	5,1	14,9
	B	4,0	7,9	2,1	7,0
N. Frutillar	A	14,8	5,8	5,1	26,5
	B	1,3	7,1	9,4	9,2
N. Paraguay	A	18,4	13,1	22,9	71,5
	B	2,9	5,2	44,3	24,3
Promedio horizontes	A	7,8	6,4	8,3	21,7
Promedio horizontes	B	2,8	5,5	10,5	13,1

suelo formando diversos complejos, muchos de ellos menos estables que el formado por el Zn con el EDTA (8). De las otras formas en que puede estar presente el cinc, está la adsorbida en forma iónica en la superficie de minerales, que sería la que extrae de preferencia la solución KCl; en cambio, el HCl 0,1 M extraería junto a esta fracción también aquel cinc que se encuentra ocluido en minerales del suelo (5), ya que éste podría ser liberado por los iones Hidrógeno. Esto explicaría las diferencias que es dable observar en algunos casos entre lo extraído por las soluciones de HCl y de KCl. Indudablemente, y tal como las cifras obtenidas lo señalan, hay siempre una fracción del cinc total que no es extraíble y que puede corresponder a estados de combinación más estables, tanto con la materia orgánica como con los constituyentes minerales del suelo.

Las cifras obtenidas permiten aseverar que no se presentarían deficiencias de cinc "disponible" en estos suelos (3).

El cinc total encontrado indica además una reserva adecuada de él (3).

Cobre.

Los resultados obtenidos (Cuadro 3) permiten apreciar que la mayor cantidad de cobre

es extraída por el EDTA. El HCl extrae también cantidades apreciables pero inferiores a la anterior. El acetato de amonio, a ambos pH, extrae poco Cu pero es posible apreciar un efecto del pH ya que la extracción es mayor a pH más bajo.

Estos datos están señalando, al igual que en el caso del cinc, que una cantidad apreciable del cobre está complejoado con la materia orgánica y otra porción adsorbida y formando parte de las redes cristalinas de las arcillas. El cobre adsorbido propiamente tal es de baja monta y su desorción es función del pH.

Los resultados obtenidos permiten también establecer la importancia de la extracción con EDTA que al dar cuenta de una parte del cobre unido a la materia orgánica hace más significativos los datos obtenidos, ya que esta forma del cobre es también parcialmente aprovechable por las plantas.

No hay deficiencia de Cu aprovechable en estos suelos y el cobre total encontrado indica que existen reservas adecuadas de él (3).

Hierro.

Las cantidades de hierro extraídas (Cuadro 4) por las soluciones de acetato de amonio (pH 3 y pH 7) son bastante similares en los casos de los suelos Arrayán, Collipulli, Pa-

Cuadro 4 — ppm. de hierro extraídas por diversas soluciones reactivo.

SUELO	HORIZONTE	NH ₄ OAC IN pH 3	NH ₄ OAC IN pH 7	EDTA 1% pH 9
Arrayán	A	3,0	5,5	110,3
Santa Bárbara	A	10,4	26,9	163,3
	B	3,5	2,6	371,0
Collipulli	A	8,6	5,1	240,0
	B	7,0	5,5	117,3
T. Padre Las Casas	A	5,8	5,4	359,0
	B	7,6	3,8	571,0
T. Temuco	A	9,3	7,5	335,3
	B	13,5	6,7	125,3
T. Osorno	A	4,9	4,3	234,3
	B	14,0	11,1	541,0
T. Puerto Octay	A	13,8	3,4	135,0
	B	11,5	5,5	327,3
N. Frutillar	A	19,8	3,7	627,3
	B	25,4	9,7	422,3
N. Paraguay	A	31,1	2,9	438,3
	B	4,2	1,7	98,3
Promedio horizontes	A	11,8	7,2	293,3
Promedio horizontes	B	10,8	6,0	321,3

Cuadro 3 — ppm. de cobre extraídas por diversas soluciones reactivo.

SUELO	HORIZONTE	HCl 0,1 M pH 1	Na OAc 1M pH 4,8	NH ₄ OAC pH 7	EDTA 0,05M pH 9
Arrayán	A	2,2	1,4	0,4	8,1
T. Santa Bárbara	A	3,8	0,8	0,6	20,7
	B	3,7	3,7	0,9	20,3
Collipulli	A	7,6	1,8	0,4	20,2
	B	6,7	3,1	0,8	15,2
T. Padre Las Casas	A	12,5	1,5	0,4	20,5
	B	11,7	1,6	0,4	20,3
T. Temuco	A	9,9	2,4	0,6	21,0
	B	13,5	4,6	0,7	25,9
T. Osorno	A	4,3	1,4	0,4	13,1
	B	7,7	4,5	0,1	38,8
T. Puerto Octay	A	12,3	8,5	0,4	27,3
	B	17,4	1,5	0,2	33,7
N. Frutillar	A	8,5	3,5	1,0	33,4
	B	13,9	3,4	1,0	24,7
N. Paraguay	A	11,2	4,3	1,0	39,2
	B	6,6	0,0	0,4	21,1
Promedio horizontes	A	8,0	2,9	0,6	22,6
Promedio horizontes	B	10,1	2,8	0,6	25,0

dre Las Casas, Temuco y Osorno. No así en los suelos Paraguay, Frutillar y Puerto Octay. Esto estaría señalando que el hierro extraído en el primer conjunto antes señalado está constituido en su mayor parte por Fe⁺² y la cantidad de Fe⁺³ extraída es pequeña. En cambio en el otro grupo hay una predominancia marcada de Fe⁺³. Esto puede ser de importancia para la evaluación de los resultados obtenidos, ya que en general se estima que el Fe⁺² sería la forma más asimilable por las plantas.

Por otra parte el EDTA extrae cantidades 10 a 20 o más veces superiores a la de los otros dos reactivos y no puede diferenciarse aquí si se trata de Fe⁺² o Fe⁺³.

Manganeso.

De acuerdo con los datos obtenidos (Cuadro 5), la cantidad de Mn fácilmente intercambiable (el soluble en acetato de amonio) en estos suelos es baja y aún más, insuficiente en la mayor parte de los suelos estudiados (3). La reservas fácilmente asequibles de Mn, o sea el Mn tetravalente y el trivalente, muestran cuantías muy superiores, pero existe un conjunto de estos suelos en que hay insuficiencia de reservas, como es el caso de los suelos Arrayán, Frutillar y Paraguay. El Mn extraído por EDTA, según Heintze (6), puede atribuirse ca

Cuadro 5 — ppm. de manganeso extraídas por diversas soluciones reactivos.

SUELO	HORIZONTE	H ₃ PO ₄ pH 2	NH ₄ H ₂ PO ₄ pH 4	NH ₄ OAC pH 7	NH ₄ OAC-HQ pH 7	EDTA 1% pH 9
Arrayán	A	6,2	6,1	0,7	30,4	7,6
T. Santa Bárbara	A	11,3	12,3	1,9	192,0	30,0
	B	9,9	7,9	1,3	188,0	34,0
Collipulli	A	19,3	13,5	0,7	364,0	111,0
	B	5,7	3,9	0,6	125,1	54,8
T. Padre Las Casas	A	13,5	10,0	0,6	397,0	109,5
	B	12,9	12,8	0,6	395,5	123,4
T. Temuco	A	12,0	10,0	0,8	185,0	18,2
	B	4,7	2,5	0,6	146,0	2,6
T. Osorno	A	17,5	16,5	0,7	406,0	24,8
	B	8,2	5,2	0,6	223,0	18,6
T. Puerto Octay	A	35,3	15,7	0,8	456,0	22,6
	B	6,3	16,9	1,1	126,5	11,6
Ñ. Frutillar	A	12,3	8,7	1,0	45,0	10,3
	B	4,2	1,6	1,1	5,0	2,9
Ñ. Paraguay	A	33,7	8,9	2,6	69,3	10,3
	B	21,7	3,5	0,9	42,2	8,5
Promedio horizontes	A	17,9	11,3	1,1	238,0	38,2
Promedio horizontes	B	9,2	6,8	0,8	156,0	32,0

exclusivamente al Mn quelado con la materia orgánica del suelo. En algunos casos —Collipulli y Padre Las Casas— puede observarse la presencia de grandes cantidades de esta forma; en cambio en los demás suelos su cuantía es mucho más discreta. Por su parte, el Mn extraído por el H₃PO₄ y el fosfato de amonio señala cifras menores bastante semejantes entre sí, que podrían ser atribuidas a óxidos del Mn trivalente (Mn₂O₃ y Mn₃O₄) siendo estos óxidos disponibles para las plantas (6). Su cuantía señala también que estos suelos, considerados en conjunto, no son capaces de entregar Mn en cantidades adecuadas, sobre todo a aquellas especies exigentes en Mn como lo son, entre otras, la remolacha y las leguminosas (3).

Correlaciones estadísticas.

Según puede apreciarse en el Cuadro 6, hay una serie de coeficientes de correlación "r" que son estadísticamente significativos. Así, en el caso del Mn encontramos "r" significativos a nivel 0,01 entre los resultados obtenidos por el método del fosfato de amonio y el del acetato de amonio-hidroquinona y entre este último método y el con EDTA. Este hecho estaría señalando cierta similitud entre algunas de las especies extraídas por estos reactivos, pero la cuantía de lo extraído es notablemente diferente en la mayoría de los casos.

También en el hierro encontramos una co-

rrelación significativa aunque sólo a nivel 0,05 entre el método del EDTA y el del acetato de amonio pH 3. Como las cantidades extraídas son muy notablemente diferentes, esto sólo podría indicar una tendencia congruente entre las especies extraídas.

En el caso del cobre pueden apreciarse correlaciones significativas entre el método con EDTA y los con HCl y acetato de sodio, respectivamente. El nivel de significación es 0,05 y estaría señalando una situación análoga a la anterior. No sería demasiado aventurado postular en este caso un mecanismo de solubilización de cobre basado, en el caso del HCl, en la solubilización del cobre adsorbido y la ruptura simultánea de ciertos complejos, con lo que se liberaría el cobre unido a este complejo.

Al observar los índices de correlación obtenidos en la evaluación estadística de los métodos utilizados para la extracción del cinc, podemos ver de inmediato que existe una buena correlación a nivel hasta de 0,001 entre el método del EDTA con todos los demás métodos empleados. Esto estaría señalando que el EDTA solubiliza especies cincicas del suelo en proporción mayor que cualquiera de los otros métodos, pero con tendencia similar a los de ellos.

Las limitaciones propias de este tipo de cálculos estadísticos, y la escasez de informaciones de que se dispone sobre los constituyentes y las propiedades químicas de estos sue-

Cuadro 6 — Indices de correlación lineal simple para los diferentes métodos de extracción estudiados; horizontes A y B juntos; valores de "r".

MANGANESO					HIERRO		
	H ₃ PO ₄	NH ₄ H ₂ PO ₄	NH ₄ OAc	NH ₄ OAc-HQ	NH ₄ OAc (pH 3)		NH ₄ OAc (pH 7)
NH ₄ H ₂ PO ₄	0,400	—	—	—	NH ₄ OAc (pH 7)	0,009	—
NH ₄ OAc	0,394	0,072	—	—	EDTA	0,447*	0,107
NH ₄ OAc-HQ	0,340	0,665**	-0,335	—			
EDTA	0,053	0,320	0,310	0,558**			
COBRE				CINCO			
	HCl	NaOAc	NH ₄ OAc	HCl	KCl	DITIZONA-ACETATO DE AMONIO	
Na OAc	0,358	—	—	KCl	0,118	—	—
NH ₄ OAc	-0,020	-0,163	—	Ditizona-acetato de			
EDTA	0,551*	0,433*	0,174	amonio	0,158	0,080	—
				EDTA	0,751***	0,718**	0,479*

*Significativo a nivel 0,05.

**Significativo a nivel 0,01.

***Significativo a nivel 0,001.

los derivados de cenizas volcánicas, nos inducen a dar sólo un valor provisorio a las correlaciones en la interpretación de las especies extraídas.

CONCLUSIONES

Las tendencias generales, observables en los diferentes cuadros, permiten apreciar claramente las diferencias existentes entre las cantidades de cada elemento que se extrae con las diversas soluciones reactivas. Se aprecia claramente que la solución EDTA de pH 9 es la que extrae la mayor cantidad de los respectivos elementos, excepción hecha del manganeso para el cual el reactivo reductor señala mayor cuantía en las extracciones. Esta mayor cuantía unida al hecho que se extraen cantidades

apreciables de cada elemento, permite, de inmediato, llegar a la conclusión que la solución de EDTA podría ser considerada como un reactivo general para estos microelementos. Esto constituye una gran ventaja al simplificar y hacer menores las operaciones analíticas. Al disponer de un instrumental adecuado (Espectrofotómetro de Absorción Atómica) las determinaciones de cada elemento se simplifican enormemente ya que hay muy pocas interferencias y puede procederse directamente a realizar cada una de ellas. Cabe sí hacer presente que, pese a las correlaciones estadísticas significativas encontradas, será necesario realizar una serie de experiencias de invernadero y/o de campo para calibrar adecuadamente el método del EDTA y establecer los límites de suficiencia y deficiencia en cada caso.

R E S U M E N

Se determinó cinc, cobre, hierro y manganeso en 9 suelos de origen de cenizas volcánicas, utilizando tres a cinco soluciones reactivas para cada uno de los elementos y establecer así la cantidad "disponible" de él. Se encontró que una solución de EDTA de pH 9 extrae, en todos los casos, cantidades apreciables de cada elemento y que las cantidades extraídas por ésta correlacionan en forma significativa con otros métodos usados. De acuerdo con los resultados, los suelos estudiados no presentan deficiencias de Cu, Zn, Fe, pero sí tienen problemas en cuanto a su Mn disponible.

S U M M A R Y

The available Cu, Zn, Mn and Fe content of 9 volcanic ash soils of southern Chile were determined using 3 to 5 different extractions procedures for each element. A 0,05 M EDTA solution of pH 9 was found to be the most efficient extractant. Results obtained with this extractant gave a significant statistical correlation with some of the others methods used in each case. The results obtained point to a potential manganese deficiency in these soils. Cu, Zn and Fe availabilities seem to be adequate.

LITERATURA CITADA

1. ANONYMOUS. Absorption newsletter. Norwalk, Conn. Perkin Elmer Corp. Nº 24. september, 1964. 2 p.
2. BLACK, C. A. Methods of soil analysis. Part II, Madison, Wisconsin. Am. Soc. Agr., Inc. Publisher, 1965. pp. 1087, 1098.
3. CHAPMAN, HOMER D., (Editor) Diagnostic criteria for plants and soils. Univ. of California. Division of Agricultural Sciences. 1965. pp. 170, 267, 272 y 489.
4. CHENG, K. L. and BRAY, R. H. Two specific methods of determining copper in soil and plant material. Anal. Chem. 25: 655-659. 1953.
5. DALE DE REMER, E., and SMITH, R. L. A preliminary study on the nature of a zinc deficiency in field beans as determined by radioactive zinc. Agr. J. 56: 67-70. 1964.
6. HEINTZE, S. G. Studies on soil manganese. J. Soil. Sci. 8: 287-300. 1957.
7. HIBBARD, P. L. The chemical status of zinc in the soil with methods of analysis. Hilg. 13: 1-99. 1940.
8. HIMES, F. L., and BARKER, S. A. Chelating ability of soil organic matter. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 21: 368-373. 1957.
9. JACKSON, M. L. Análisis químico de suelos. Traducción de Martínez, J. B. Barcelona, Ediciones Omega S. A. 1964. pp. 78, 304, 384, 528, 530, 533 y 547.
10. JENSEN, H. L., and LAMM, C. G. On the zinc content of danish soils. Acta Agr. Scand. XI (I): 63-81. 1961.
11. LAGUNAS GIL, R. Estudio comparativo de distintos métodos de extracción de hierro, cobre y manganeso de suelos forestales. An. Edaf. y Agrobiol. 23: 8. 1964.
12. LAMB, C. A., BENTLEY, D. G. and BEATTIE, J. M. Trace elements London. Academic Press 1958. p. 111.
13. SCHALSCHA, E. B. *et al.* Effect of drying on volcanic ash soils in Chile. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 29: 481-482. 1965.
14. STEWARD, F. C. Plant Physiology. London. Academic Press. 1963. v. 3. pp. 192, 218, 477 y 494.
15. VIRO, P. I. Use of ethylenediaminetetraacetic acid in soil analysis I. Experimental. Soil Sci. 79: 459-465. 1955.