

DETERMINACIÓN DE CU, FE, MN Y ZN EN MUESTRAS DE SUELO Y TEJIDO VEGETAL DE SORGO (*Sorghum spp.*)

Determination of Cu, Fe, Mn and Zn in soil and plant tissue samples Sorghum (*Sorghum spp.*)

Cordero, Inelba¹; Contreras, Froilan¹; Zambrano, Alexis¹; Hernández, Eduylson¹; Bianchi Ballesteros, Guillermo¹; Bianchi Pérez, Guillermo²; Varela, Ricardo³ y Noguera, José³

1) Laboratorio de Investigaciones en Análisis Químico Industrial y Agropecuario (LIAQIA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela.

2) Departamento de Medición y Evaluación Facultad de Humanidades y Educación, Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela.

3) Laboratorio de Suelos. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Mérida). Mérida-Venezuela.

Inicio de la investigación: septiembre 2011

Fin de la investigación: septiembre 2013

Correspondencia con el autor: fcontrer@ula.ve

RESUMEN

La investigación acerca del sorgo está creciendo y parece estar conectada (entre otros factores) al gran potencial productivo, lo que está ligado a la variedad y disponibilidad de nutrientes del suelo. Los micronutrientes se consideran de gran importancia en los estudios de fertilidad del suelo para conocer su estado nutricional. En esta investigación se determinó el contenido de Cu, Fe, Mn, Zn en muestras de suelos y tejido vegetal, para evaluar la disponibilidad de éstos elementos en un suelo cultivado con *Sorghum spp* y la concentración de estos en el tejido vegetal. Los resultados indican que los niveles de Fe > Mn > Zn > Cu en el suelo, siguiendo este mismo patrón de acumulación en la planta.

Palabras clave: Mehlich 3, micronutriente, cobre, hierro, manganeso, zinc, sorgo

ABSTRACT

Research on sorghum is growing and seems to be connected (among other factors) to the great productive potential, which is linked to the variety and availability of nutrients from the soil. Micronutrients are considered of great importance in the study of soil fertility for their nutritional status. This research determined the content of Cu, Fe, Mn, Zn in soil and plant tissue samples, to evaluate the availability of these elements in a soil cultivated with *Sorghum*

spp. and the concentration in the plant tissue. The results indicate that the levels of Fe > Mn > Zn > Cu in the soil, following this same pattern of accumulation in the plant.

Key words: Mehlich 3, micronutrient, copper, iron, manganese, zinc, sorghum.

INTRODUCCIÓN

El análisis de nutrientes es importante dentro del mantenimiento de un suelo agrícola. El objetivo de los análisis de suelos es determinar su estado de fertilidad para así identificar los elementos nutritivos que podrían limitar el crecimiento de plantas, ya sea por encontrarse en exceso o déficit. El interés en torno al control del estado nutricional del suelo ha centrado la atención en los métodos de análisis de micronutrientes y en sus interpretaciones.

Los micronutrientes del suelo juegan un papel importante en la producción de cultivos, por lo que su disponibilidad puede afectar tanto el crecimiento y desarrollo, como la producción y calidad de los cultivos, ya que estos desempeñan funciones complejas en la nutrición de las plantas y en los sistemas enzimáticos (Lobos *et al.*, 2013).

De los elementos conocidos como esenciales para el crecimiento de las plantas, siete son requeridos en tan pequeñas cantidades que por ello se les llama elementos micronutrientes, oligoelementos o elementos trazas, los cuales son: Cu, Fe, Mn, Zn, Cl, B y Mo (Buckman y Brady, 1996).

Durante las últimas décadas se han estado desarrollando métodos para evaluar el estado nutricional del suelo y su cantidad de micronutrientes disponibles, con el objetivo de encontrar un extractante que sea eficiente, válido para un amplio rango de suelos y para determinar un gran número de elementos.

Una de las soluciones que ha generado interés para ser empleada como solución extractora es Mehlich 3, (Mehlich, 1984). La cual consiste en una solución ácida (pH 2,5) que contiene un agente complejante, la misma tiene la ventaja de poder extraer simultáneamente del suelo fósforo, calcio, sodio, potasio, magnesio y micronutrientes como cobre, hierro, manganeso y zinc, dicha solución puede ser empleada en un amplio rango de pH pero principalmente para suelos ácidos. En esta investigación se determinaron los micronutrientes cobre, hierro, manganeso zinc de un suelo ácido de uso agrícola del estado Barinas, así como también, la cantidad de éstos en muestras de tejido vegetal (*Sorghum spp.*), para lo cual se utilizó el método oficial de la Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo (Sadzawka *et al.*, 2004).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estado Barinas se encuentra situado en la región suroccidental de Venezuela con la mayor parte de su territorio ubicado en los Llanos y la otra parte en los Andes, el estudio se realizó en una finca situada al sur del estado a 8°23'50" latitud norte, 69°49'59" longitud oeste específicamente en el sector Los Naranjos, parroquia

justo debajo de la yema de crecimiento de las ramas principales y se almacenaron en bolsas de papel (Sadzawka, 2004).

Parámetros fisicoquímicos del suelo

Estos estudios se realizaron con el fin de tener información general de las condiciones del suelo bajo estudio. En la Tabla 1 se presentan los parámetros fisicoquímicos realizados.

Tabla 1. Resumen de los métodos y técnicas empleados en la determinación de los parámetros para la caracterización fisicoquímica del suelo.

Parámetro	Método utilizado	Referencia
Textura (suelo)	Bouyucos-Granulometría	Bouyucos, 1962.
pH	Potenciométrico con electrodo de vidrio combinado en una relación suelo: agua (1:2,5).	López <i>et al.</i> , 1990.
CE (dS/m)	Conductimétrico en una relación suelo: agua (1:5).	López <i>et al.</i> , 1990.
MO (%)	Walkley-Black modificado-Espectrofotometría visible = 600 nm	López <i>et al.</i> , 1990.
Fósforo y Potasio	Olsen modificado-Espectrofotometría visible = 882 nm	Olsen y Watanabe, 1965.
Calcio y magnesio	Morgan modificado-Acetato de sodio 0,1250 M, en una relación suelo: extractante (1:2).	López <i>et al.</i> , 1990.

CE: Conductividad eléctrica; MO: Materia orgánica

Preparación de la solución extractante de Mehlich 3

Esta solución se preparó para extraer los micronutrientes (Cu, Fe, Mn y Zn), en las muestras de suelo tamizadas a 2mm, de la siguiente manera:

- Solución (A): NH_4F 3,75 M + EDTA 0,25 M.
- Solución (B) mezclando: NH_4NO_3 0,25 M + HNO_3 0,013 M + CH_3COOH 0,2 M + 8 mL de la solución A, en un matraz aforado de 2 L el cual se llevó hasta su aforo con agua destilada.

Extracción de Cu, Fe, Mn y Zn del suelo por el método de Mehlich 3

Se tomaron porciones de 5 g de suelo en recipientes de polietileno de 100 mL de capacidad con tapas de rosca, se le añadieron 25 mL de la solución extractante Mehlich 3, se agitó durante 5 minutos con un agitador recíproco ajustable. AROS 160™, a 200 rpm, las soluciones se filtraron a través de un papel de filtro Advanted N° 2. Al filtrado se le determinaron las concentraciones de Cu, Fe, Mn y Zn con un espectrómetro de absorción atómica, SpectrAA220, VARIAN con mezcla de aire-acetileno ultra puro.

Procedimiento empleado para la determinación de Cu, Fe, Mn y Zn en tejido vegetal

Para ello se tomaron muestras de 18 plantas, de manera individual a los 72 días después de la siembra en diferentes sitios de manera aleatoria (Sadzawka, 2004). Se tomaron porciones de 5 g de tejido vegetal, se calcinaron en una mufla a 500 °C, se tomaron cantidades de 0,5 g agregándole 2 mL de agua destilada y 10 mL de HCl 2M. Se calentó a ebullición y luego de reposar se midió la concentración de Fe, Cu, Mn y Zn por absorción atómica.

Secado de las muestras

Se limpió cada muestra cuidadosamente para eliminar las partículas de polvo, se introdujo cada una dentro de un vaso de precipitado, se colocaron en la estufa Marca THELCO, modelo 18, durante cuatro horas a 70 °C, una vez transcurrido el tiempo de secado, se dejaron enfriar, se molieron en una licuadora industrial Marca Metvisa y se pasaron a través de un tamiz (1 mm), almacenándose posteriormente en bolsas de papel a temperatura ambiente.

Calcinación de las muestras

Se tomaron porciones de 5 g de tejido vegetal, seco y molido, se colocaron en crisoles de porcelana y se calcinaron a 500 °C en una mufla marca Lindberg, modelo 51894, durante cinco horas. Se dejó enfriar cada muestra y se almacenaron en recipientes de polietileno a temperatura ambiente.

Extracción y determinación de Cu, Fe, Mn y Zn en muestras de tejido vegetal

Del material previamente calcinado, se tomaron porciones de 0,5 g de cada muestra en vasos de precipitado de 50 mL de capacidad, se agregó 2 mL de agua destilada y 10 mL de HCl 2 M a cada muestra de suelo. Las mismas se calentaron hasta ebullición, se dejaron enfriar y se filtraron a través de un papel de filtro Advanted N° 2. Finalmente, se determinó la concentración de Cu, Fe, Mn y Zn en un espectrómetro de absorción atómica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de las variables fisicoquímicas del suelo estudiado

Se realizó con el fin de conocer las características fisicoquímicas del suelo estudiado, para poder interpretar los resultados de micronutrientes obtenidos.

En cuanto a la textura del suelo se obtuvo los resultados representados en la Figura 2, se realizó el estudio en 14 muestras de suelo, resultando que todas corresponden a suelos de textura media, el sitio de estudio se dividió en cuatro grupos de texturas. Las muestras 1; 2; 3; 4; 7 y 13 son de textura franco arcillo arenosa (FAa), las muestras 9; 11; 14 son de textura franco (F), las muestras 5 y 6 son de textura franco arenosa (Fa) y las muestras 8, 10 y 12 son de textura franco arcillosa (FA).

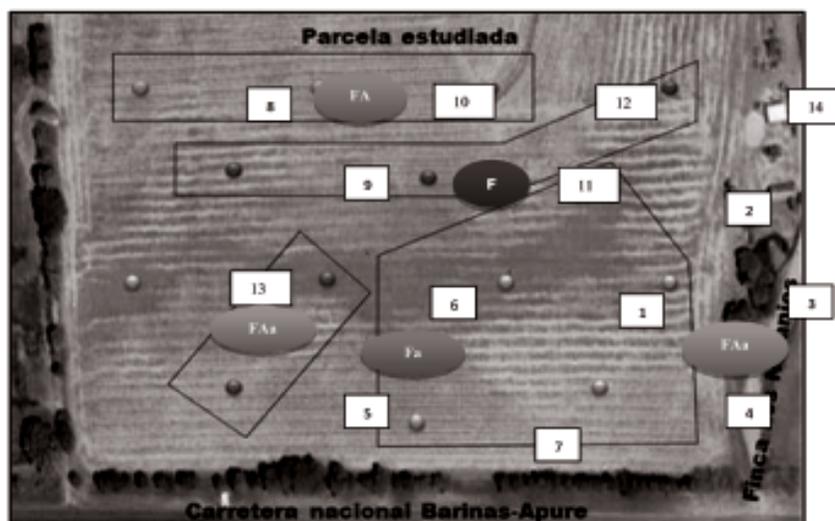


Figura 2. Muestreo y textura del suelo estudiado.

La Tabla 2 muestra los resultados de los parámetros asociados a la fertilidad química del suelo. En este sentido, dicho suelo es fuertemente ácido con pH= 5,43 el cual coincide con el rango óptimo de disponibilidad de micronutrientes en suelos cultivados con sorgo a pH entre 5,0-7,5. (Rodríguez y Rodríguez, 2002).

Tabla 2. Características fisicoquímicas del suelo estudiado.

pH	5,43 ± 0,02
Materia orgánica(%)	3,29 ± 0,03
Conductividad Eléctrica (dS/m)	0,03 ± 0,01
Ca (mg/kg)	17,9 ±0,07
Mg (mg/kg)	46,7 ±0,32
P (mg/kg)	46,0 ±0,97
K (mg/kg)	470 ±0,44

Ca: Calcio; Mg: Magnesio; P: Fósforo; P: Potasio.

Como el suelo estudiado es de textura media, los valores obtenidos se compararon con los señalados por Castellano (1991), para este tipo de suelo, el cual presenta un contenido de materia orgánica (MO) medio de 2,0 a 4,5. Una conductividad eléctrica (CE) de 0,03 dS/m, muy baja en comparación con la señalada por el Laboratorio de Suelo del INIA-Chile y la señalada por Acosta *et al.*, (2008), basados en suelos de la Península de Paraguaná, lo que indica que el suelo estudiado

no presenta problemas por la acumulación de sales. Con respecto al calcio el contenido encontrado es bajo, el magnesio es bajo en muestras que presentan valores menores de 38 mg/kg y medio en muestras que tienen valores comprendidos entre 38-100 mg/kg ya que generalmente en suelos ácidos, el contenido de ambos elementos es bajo. El contenido de fósforo se encuentra en el rango de valores altos indicados para suelos de textura media (25 y 75 mg/kg) por último el potasio está alto ya que se obtuvo resultados mayores a 300 mg/kg.

Determinación de Cu, Fe, Mn y Zn en muestras de suelo

Los micronutrientes fueron extraídos por la acción del ion NH_4^+ y del ácido etilendiaminotetracético (EDTA) que actúa como agente quelante (Mehlich, 1984), luego de la extracción se determinaron las concentraciones por EAA.

La Tabla 3 muestra las concentraciones obtenidas para Cu, Fe, Mn y Zn extraídas con solución de Mehlich 3.

Micronutrientes	Concentración (mg/kg)	S	CV	S²
Cobre	0,158	0,004	2,520	$1,6 \times 10^{-5}$
Hierro	57,71	1,430	2,492	2,134
Manganeso	3,971	0,094	2,582	0,014
Zinc	0,714	0,007	1,160	$4,9 \times 10^{-5}$

S: Desviación estándar; CV: coeficiente de variación; S²: Varianza

Como se observa en la Tabla 3, existe diferencia entre los valores de micronutrientes (Cu, Fe, Mn y Zn) que al ser comparados con los valores referidos en la literatura, la cual define para el caso del cobre, concentraciones menores a 0,5mg/kg se consideran bajos (Molina y Meléndez, 2002) de 0,8-1,2 mg/kg como medio (Castellanos, 1991) y finalmente 5 mg/kg de cobre es considerado como un valor alto (Neto, 2010).

Al comparar el valor de cobre obtenido en esta experiencia para la parcela estudiada el cual fue de 0,158 mg/kg con lo reportado, se considera que la misma se encuentra en déficit de este micronutriente.

El contenido de hierro obtenido para la parcela fue de 57,71 mg/kg, considerado como una concentración alta para suelos de este tipo de textura, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Castellano, (1991) y los establecidos oficialmente por el Laboratorio de Suelo del INIA-Chile, donde ambos definen como contenido alto a suelos con concentraciones de hierro superior a 15,0 mg/kg. Por otra parte, Molina y Meléndez en 2002, señalaron como concentración óptima de hierro en el suelo de 10-50 mg/kg, lo que indica que las muestras de suelo estudiadas tienen altos contenidos de ese micronutriente.

La concentración de manganeso obtenido en este ensayo fue de 3,970 mg/kg, lo que es considerada como una concentración alta, el cual coincide con los resultados obtenidos por Castellano (1991). El Laboratorio de Suelo del INIA-Chile

indica que concentraciones mayores a 1,0 ppm son altas, comparado con el resultado experimental obtenido, se puede decir que el suelo estudiado en general presenta altos contenidos de este micronutriente.

El contenido de zinc obtenido fue de 0,714 mg/kg, este valor se comparó con lo señalado por Cabalceta y Molina (2006), quienes señalan que concentraciones menores a 1,5 mg/kg son deficientes y entre 2 y 5 mg/kg como suficiente. De manera similar Almendros *et al.* (2008), establecen como concentración crítica en suelos de textura media 1,8 mg/kg, lo que indica, que las muestras de suelo estudiadas tienen un contenido bajo de este micronutriente.

Determinación de Cu, Fe, Mn y Zn en muestras de tejido vegetal (sorgo).

Este ensayo se realizó para determinar el contenido de cobre, hierro, manganeso y zinc presente en el tejido vegetal del sorgo.

La Tabla 4 muestra las concentraciones de Cu, Fe, Mn y Zn obtenidas para las muestras de tejido vegetal (sorgo). En esta experiencia, la concentración de cobre fue de 11,98 mg/kg el cual se encuentra dentro del rango de suficiencia comparándolas con el valor señalado por Raij *et al.* (1996) y Yamada, (2004) de 5-20 mg/kg para las hojas de sorgo. Jones (1967), señala como suficiente de 6 a 20 mg/kg en hojas de maíz el cual coincide con las concentraciones obtenidas en las muestras de sorgo estudiada, por tanto, las muestras de tejido vegetal de sorgo estudiadas poseen concentraciones suficientes de este micronutriente.

Tabla 4. Concentraciones de micronutrientes (Cu, Fe, Mn y Zn) obtenidos para tejido vegetal (sorgo).

Micronutriente	Concentración (mg/kg)	S	CV	S ²
Cobre	11,98	0,201	1,747	0,044
Hierro	911,7	1,696	0,256	2,939
Manganeso	161,0	1,497	0,977	2,358
Zinc	39,05	0,608	1,840	0,455

S: Desviación estándar; CV: coeficiente de variación; S²: Varianza

La concentración de hierro obtenida fue de 911,7 mg/kg, el cual se encuentra por encima del contenido adecuado señalado por Yamada (2004), de 65 a 100 mg/kg, por otra parte Hernández-Herrera *et al.*, (2005) considera como concentración promedio de hierro, 211,3 mg/kg y Jones, (1967) considera como excesivas concentraciones mayores a 350 mg/kg, lo que indica que todas las muestras se encuentran fuera del rango de concentración adecuada (Aref, 2011), señala 121 mg/kg como alto para las hojas de maíz, es decir, cada muestra presenta un contenido alto de este elemento.

La concentración de manganeso obtenida fue de 161,0 mg/kg que al compararlo con lo propuesto por Raij *et al.* (1996) que considera 10-190 mg/kg como contenido adecuado del micronutriente y lo señalado por Jones (1967), de 20-

150 mg/kg para el tejido vegetal del maíz, se puede decir que este elemento se encuentra en cantidades adecuadas en el tejido vegetal estudiado.

La concentración de zinc fue de 39,05 mg/kg que al compararla con los valores señalados en la literatura (21-71 mg/kg) Jones (1967), se considera que este elemento se encuentra en niveles óptimos.

La tendencia de acumulación de micronutrientes en el tejido vegetal (Fe>Mn>Zn>Cu), coincide con la disponibilidad de estos minerales en el suelo estudiado. Resultados similares consiguen Santi *et al.*, (2005), al evaluar las deficiencias minerales en sorgo bajo invernadero en sustratos con arena lavada.

Análisis estadístico de los datos experimentales

Al observar las varianzas de los resultados obtenidos se puede apreciar que el método de extracción de manera general es preciso, pero se aprecian claras diferencias entre las muestras analizadas de suelo y tejido vegetal, donde el método mostro mayor precisión con las primeras a excepción del estudio del hierro, que para ambos casos se podría decir que el comportamiento fue muy parecido.

Ahora bien basándose en las variables de fertilidad de suelo y estado nutricional de las plantas se clasificaron mediante un análisis de cluster jerárquico, cuyo algoritmo define la distancia entre dos grupos de una manera simple.

Sea R y Q dos grupos con |R| y |Q| elementos cada uno, una disimilaridad $d(R, Q)$ dada por el promedio de todas las disimilaridades $d(i, j)$ donde i son los elementos de R y j son los elementos de Q¹⁷. Formalmente,

$$d(R, Q) = \frac{1}{|R||Q|} \sum_{\substack{i \in R \\ j \in Q}} d(i, j)$$

Las variables empleadas en el análisis de clúster de fertilidad de suelo corresponden a la concentración media disponible de macronutrientes: calcio, magnesio, fósforo, potasio; micronutrientes: cobre, hierro, manganeso, zinc, así como también la textura, pH, CE, MO.

Las variables en el análisis de cluster de la nutrición de las plantas de sorgo corresponden a la concentración media de micronutrientes cobre, hierro, manganeso y zinc.

Discusión del análisis estadístico

El análisis de clúster desarrollado a partir de las variables asociadas a la fertilidad del suelo, revela una alta similitud entre las muestras 2; 3; 5; 6, que junto a las muestras 1; 4; 9; 10 conforman uno de los tres subconjuntos principales con características de fertilidad equivalentes, las muestras 11; 14 forman un subconjunto con características de fertilidad similares, al igual que las muestras 12; 13, por último, el tercer subconjunto (muestras 7; 8) presentan fertilidad disímil al resto de las muestras (Figura 3).

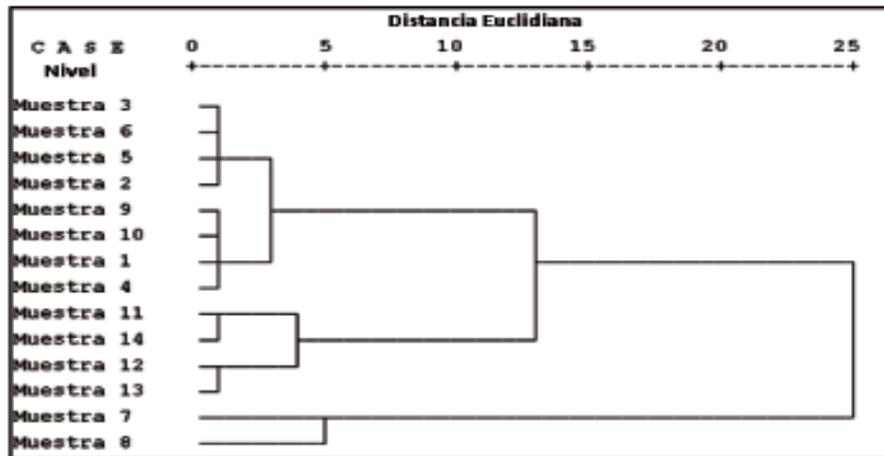


Figura 3. Dendrograma basado en la fertilidad del suelo (Método UPGMA-Distancia Euclidiana).

Mostrado en la Figura 4, el análisis de clúster desarrollado a partir de las concentraciones medias de cobre, hierro, manganeso y zinc en el tejido vegetal de sorgo, revela una alta similitud entre las muestras del primer subconjunto (4; 5; 6; 7), las muestras 1; 2; 3 (segundo subconjunto) presentan concentraciones de micronutrientes similares, con características equivalentes a las muestras 8 y 9 (tercer subconjunto), los tres subconjuntos mencionados anteriormente presentan un estado de nutrición similar, mientras que las muestras 10-18 conforman un subconjunto diferente.

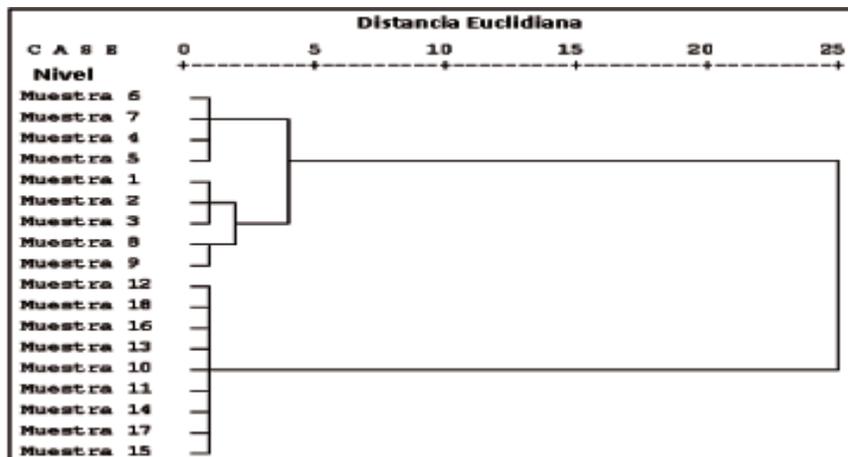


Figura 4. Dendrograma basado en la nutrición de las plantas de sorgo (Método UPGMA-Distancia Euclidiana).

Por último, en la Figura 5 se observa el dendograma desarrollado para agrupar las características fisicoquímicas del suelo (calcio, magnesio, fósforo, potasio, CE, MO, pH, textura, cobre, hierro, manganeso, zinc) y las concentraciones medias de micronutrientes obtenidas para el tejido vegetal de sorgo (cobre, hierro, manganeso, zinc), cada número de muestra se corresponde al suelo y tejido vegetal estudiados (puntos de muestreo), en este se observa que las muestras 1; 2; 3, presentan la mayor similitud con características equivalentes a la de las muestras 5; 6, éstas a su vez forman un subconjunto con las muestras 4 y 7. Por otra parte, se observa un subconjunto de muestras con fertilidad química y nutrición de las plantas diferentes al primer subconjunto, atribuida a la diferencia entre los parámetros de pH, MO, contenido de cobre, hierro, manganeso, zinc en el suelo y tejido vegetal, dicho subconjunto está conformado por las muestras 11-14 con características similares, las cuales son parecidas a la de las muestras 8; 9 y 10.

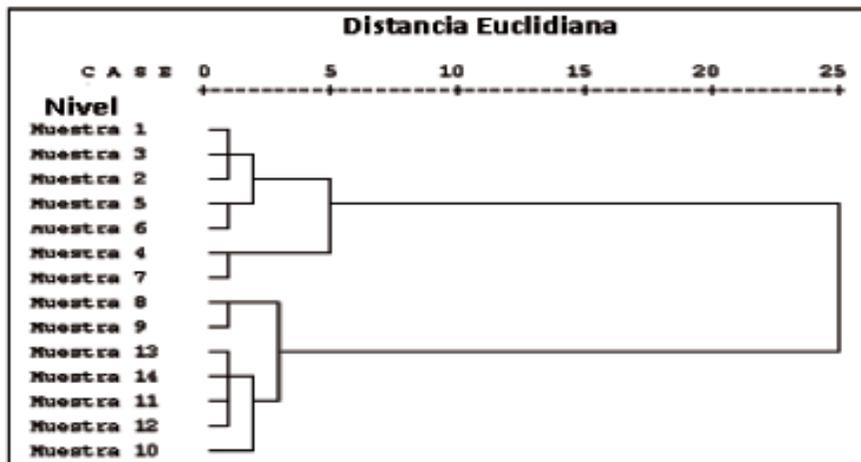


Figura 5. Dendograma basado en la fertilidad del suelo y nutrición de las plantas de sorgo (Método UPGMA-Distancia Euclidiana).

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados de las variables fisicoquímicas, se tiene que, el suelo estudiado presenta variabilidad espacial del contenido de macro y micronutrientes evaluados, por tanto, hay diferencia en cuanto a la disponibilidad de micronutrientes en cada sector del suelo estudiado para las plantas, la cual puede ser atribuida a la interacción entre ellos y parámetros determinantes como pH, MO y textura del suelo.

Se relacionaron las concentraciones de micronutrientes encontradas en el suelo con las absorbidas por el tejido vegetal del sorgo, donde, en los puntos que se encontró mayor contenido de estos, hubo mayor disponibilidad para las plantas, lo cual se corresponde con las altas concentraciones de micronutrientes en el tejido vegetal.

El análisis de varianza arrojó que el método de extracción de micronutrientes Mehlich 3 fue más preciso en las muestras de suelo que en las de tejido vegetal, a excepción del micronutriente hierro que para ambos casos su comportamiento fue muy parecido.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean manifestar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes de la Universidad de los Andes– CDCHTA-ULA, por haber financiado esta investigación bajo el código: C-1729-1108-B.

REFERENCIAS

- Acosta, Y., Paolini, J., Flores, S., El Zavahre, M., Reyes, N., García, H. (2008). Fraccionamiento de metales y materia orgánica en un suelo de la Península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela. *Multiciencia*, (8): 39-47.
- Almendros, P., Rico, L., López-Valdivia, M., Álvarez, M. (2008). Deficiencias de zinc en los cultivos y correctores de carencia del micronutriente. Concentración crítica del micronutriente e interpretación de análisis de suelo y planta. *Vida Rural*, 12-16.
- Aref, F. 2011. Influence of Zinc and Boron Nutrition on Copper, Manganese and Iron Concentration in the Maize Leaf. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5 (7): 52-62.
- Bouyucos, G. (1962). Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. *Agronomy Journal*, 54, 464-465.
- Buckman, H., Brady, N. (1996). *Naturaleza y propiedades de los suelos*. Hispanoamericana. México. 567 p.
- Cabalceta, G., Molina, E. (2006). Niveles críticos de nutrimentos en suelos de Costa Rica utilizando la solución extractora Mehlich-3. *Agronomía Costarricense*, 30 (2): 31-41.
- Castellano, D. (1991). *Análisis de suelo para diagnóstico de fertilidad. Manual de métodos y procedimientos de referencia*. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Maracay. 75 p.
- Hernández, J., Olivarez, E., Villanueva, I., Rodríguez, H., Vázquez, R., Pissani, J. (2005). Aplicación de lodos residuales, estiércol bovino y fertilizante químico en el cultivo de sorgo forrajero (*Sorghum vulgare Pers*). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 21 (1): 31-36.
- Jones, J. (1967). Interpretation of plant analysis for several agronomic crops. In soil testing and plant analysis, part II. *Soil Science Society of America*, 49-58.

- Lobos, D. (2013). Micronutrientes en agregados de un suelo de sabana, bajo un sistema maíz-ganado mejorado. *Venezuelos* 20:41-52.
- López, I., Gilabert, J., Pérez, R. (1990). Análisis de suelo para diagnóstico de fertilidad. Manual de Metodología y Procedimientos de Referencia. 1^{era} versión, Ministerio de Agricultura y Cría. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 89 p.
- Mehlich, A. (1984). Mehlich 3 Soils Test Extractant. A Modification of Mehlich 2. *Communications in Soils Science and Plant Analysis*, 15 (12): 1409-1416.
- Molina, E., Meléndez, G. (2008). Tabla de interpretación de análisis de suelos. Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica. 23 p.
- Neto, R. (2010). Influencias de fertilizantes orgánicos y químicos en las propiedades físico-químicas y biológicas del suelo sometidos a cultivos de maíz (*Zea mays*) en el Cantón Otavalo. Tesis (Ingeniero en Recursos Naturales Renovables). Universidad Técnica del Norte, Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias. Ecuador. 64 p.
- Olsen, S., Watanabe, F. (1965). Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO_3 extracts from soils. *Soil Science Society of America Journal*, 29: 677-678.
- Rajj, V., Cantarella, H., Quaggio, J., Furlani, A. (1996). *Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo*. Campinas: Instituto Agronômico-Fundação IAC, 285 p.
- Rodríguez, H., Rodríguez, J. (2002). *Métodos de análisis de suelos y plantas. Criterios de interpretación*. Trillas. México. 196 p.
- Sadzawka, A., Grez, R., Carrasco, M., Mora, M. (2004). *Método de Análisis de Tejido Vegetal*. Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. Método 8. 53 p.
- Santi, A., Camargos, S.L., Matos, P.W.L., Scaramuzza, J.F. (2005). Deficiências de micronutrientes em sorgo (*Sorghum bicolor*). *Revista de Ciências Agro-Ambientais, Alta Floresta*. 3(54): 54-63.
- Yamada, T. (2004). Deficiências de micronutrientes, ocorrência, detecção y corrección: "El éxito de la experiencia brasilera". *Informaciones Agronómicas*, (9): 25-30.