

METODOLOGÍA DE MUESTREO DE SUELO

Protocolo básico común: *CARBONO ORGÁNICO DEL SUELO*

ANDRIULO, Adrián; BASANTA, María; GALARZA, Carlos; LUPI, Ana María; OSTINELLI, Miriam; QUIROGA, Alberto; SÁNCHEZ, María Cristina

1. Objetivo del muestreo

El objetivo del muestreo es obtener una muestra representativa del sitio con la mayor precisión y el menor costo económico posibles, para la determinación del **carbono orgánico del suelo** (COS).

Dada la heterogeneidad de los ambientes, las diferencias de manejo y de objetivos de muestreo, no siempre es posible contar con una estrategia única y óptima. Ante esta complejidad posiblemente resulte más apropiado establecer pautas generales que permitan al ejecutor de la tarea contar con pautas básicas que se adapten a los objetivos del muestreo.

Los resultados de COS pueden expresarse en términos de concentración (%; g.kg^{-1}), cantidad o stock (Mg.ha^{-1}) a profundidad constante, o cantidad (Mg.ha^{-1}) en masa equivalente. La utilización de la última expresión tiene en cuenta la variación de la densidad aparente (Dap) con la profundidad entre diferentes sistemas de labranza y/o sistemas de cultivos, siendo la expresión recomendada para evitar errores de sub o sobrestimación (Powlson y Jenkinson, 1981); es por ello que, paralelamente al muestreo para COS, se requeriría realizar un muestreo para Dap. Por otro lado, se debe considerar que, al muestrear tratamientos con distintas densidades aparentes a una misma profundidad, estaremos comparando distintas masas, lo cual también introduce error. Lo más adecuado sería conocer antes la densidad aparente y luego establecer la profundidad (que resultará variable) a fin de muestrear la misma masa. Esta estrategia de muestreo sería la más adecuada cuando el objetivo sea realizar balances de C.

2. Materiales necesarios

Para la tarea de campo se requiere de cierta planificación de tal manera de ser eficientes y efectivos. De ser posible es necesario investigar si se dispone de información previa (muestreos) del área en estudio. Entre los elementos esenciales a disponer en el momento del muestreo se encuentran:

Materiales y Herramientas	Utilidad
Mapa, imagen, foto	Para marcar aspectos particulares de las unidades de muestreo (UM)
GPS	Para georeferenciar parcelas o puntos de muestreo según la situación. Es aconsejable para evaluaciones posteriores y evaluaciones a largo plazo
Planilla	Para registro de datos complementarios
Barreno recto/muestreador hidráulico	Para tomar la muestra
Pala/espátula/cuchillo	Para extraer el cilindro y enzararlo
Recipiente (balde)	Para homogeneizar las submuestras
Cinta métrica/regla graduada	Para controlar la profundidad de muestreo
Bolsas plásticas limpias, sin uso previo	Para contener la muestra formada
Etiquetas, lápiz, marcadores con tinta indeleble	Para identificar la muestra.
Cilindros	Para determinar densidad aparente (Dap) del suelo
Clinómetro	Para medir pendientes en terrenos donde éstas son elevadas

3. Pautas para la toma de muestras

3.1. Delimitación de ambientes o Unidades de Muestreo (UM) y tipo de muestreo

El área de trabajo debe ser dividida en zonas o ambientes homogéneos, respecto a:

- Posiciones topográficas
- Tipo de suelos
- Uso del suelo, prácticas de manejo, cultivos, vegetación natural indicadora
- Tratamientos a evaluarse

En lotes con ambientes heterogéneos, se recomienda sectorizar el muestreo de modo de obtener una muestra compuesta de cada uno de los sectores homogéneos definidos. Cada uno de esos ambientes homogéneo representará una UM donde se realizará un *muestreo al azar*. Para la separación de los ambientes puede recurrirse a imágenes satelitales, fotografías aéreas, mapas de rendimiento, división de lotes, según corresponda.

En sitios con alta variabilidad del COS, o donde se desconoce su valor, es conveniente hacer el *muestreo de grilla* u otro tipo de diseño de muestreo sistemático (ejemplo: a intervalos regulares a lo largo de una transecta, grillas cuadrangulares o en triángulos equiláteros), que permita evaluar dicha variabilidad. En este aspecto, es útil el uso de los semivariogramas que permite conocer y medir la dependencia espacial de la variable COS (McBratney y Webster, 1983). Esto permitirá determinar el número de muestras por unidad experimental con representatividad del sitio, región, parcela, lote. Al realizar el análisis estadístico, es importante detectar y medir la variabilidad entre parcelas y dentro de ellas. Los mapas de rendimiento o de electroconductividad obtenidos por tecnología VERIS pueden dar una orientación al respecto.

3.2. Colecta de la muestra

Previo a la colecta de la muestra, debe separarse el rastrojo, piso forestal u otro material vegetal que se encuentre sobre la superficie del suelo, a fin de evitar la contaminación de la muestra.

Para la extracción de la muestra se recomienda la utilización de barreno, preferentemente barreno recto (calador), ya que este tipo permite evitar la mezcla de suelo proveniente de diferentes profundidades.

La precisión y la confianza del dato que brindará el laboratorio estarán relacionadas con la calidad del muestreo y, por lo tanto, con la cantidad de submuestras que conformen la muestra compuesta. El número de puntos de muestreo dependerá de la variabilidad del COS, de la cantidad (masa) extraída por punto y del tamaño de la UM. A tal fin, existe bibliografía estadística, especialmente para muestreos de suelos en ensayos agrícolas, que puede orientar en las decisiones al investigador. No obstante, se recomienda conformar una muestra compuesta con un mínimo de 15 puntos (submuestras) por UM, siguiendo un patrón de recorrido en *zig-zag que cubra toda la superficie de la unidad*.

Al efectuar el muestreo se deben evitar áreas pequeñas que difieran notablemente del resto de la UM (pequeños bajos, áreas con quemas, áreas salinas, sitios de carga de fertilizantes, cabeceras de lotes, bordes de alambrados, proximidad a aguadas, bordes de cursos de agua, caminos de animales), ya que estas submuestras introducirán errores en la determinación del COS.

A medida que se van colectando las submuestras, se deben ir colocando en un recipiente, posteriormente se debe homogeneizar todo el material recogido y extraer entre 500-1000 g de suelo, dependiendo del número de determinaciones analíticas que sean requeridas, además del COS.

La muestra debe colocarse en doble bolsa e identificarse correctamente, incluyendo una etiqueta entre ambas bolsas y otra externa a las mismas. La información básica a conservar para cada muestra es: fecha, tratamiento, profundidad, lote/empresa/ensayo. La misma puede incluirse directamente en las etiquetas o, si se muestrearan numerosas UM, en una planilla independiente.

Para ello se debe asignar un código (número, letra, código alfanumérico) que permita identificar unívocamente a cada muestra, el cual se consignará tanto en la planilla como en las etiquetas correspondientes. También es importante conservar registro de las muestras que se envían al laboratorio y, de ser posible, un duplicado de la muestra correctamente acondicionada (secada al aire y protegida de potenciales contaminaciones).

Información complementaria

Toda información que acompañe a la muestra de suelo ayuda a interpretar sus resultados. Así, contar con la historia del manejo del lote resulta de gran utilidad (número de años después del desmonte, de agricultura permanente o de siembra directa continua, proporción de diferentes cultivos en los años previos, niveles de productividad, fertilizantes empleados, etc.). Contar con información referida al régimen hídrico reciente y al contenido hídrico actual o a prácticas particulares (fertilización, agregado de enmiendas, etc.) también ayudará a mejorar la interpretación de resultados.

3.3 Profundidad de muestreo

La profundidad de muestreo dependerá, principalmente, del objetivo del estudio y de la profundidad en la que se prevén cambios en el contenido de COS.

Si el muestreo es por horizonte, se recomienda previamente establecer los límites (con el uso de Cartas de Suelo y la correspondiente verificación a campo), a fin de considerar los cambios texturales. Si el criterio es efectuar el muestreo por profundidades o capas fijas, se debería prestar atención en no incluir en una misma capa, cambios texturales o físicos importantes.

Para profundidades de muestreo superiores al espesor de laboreo o en muestreos en suelos forestales, puede reducirse el número de puntos que conforman la muestra, dado que es de esperar una menor variabilidad del COS. En ambientes semiáridos, los horizontes calcáreos y algunos procesos de formación propios de estos ambientes pueden ser causa de patrones particulares de comportamiento del COS. Los ambientes difieren en pH, contenido hídrico y actividad biológica en cada estrato de profundidad, por lo que deberían ser

registrados conjuntamente con el COS para su correlación y/o corrección al interpretar los valores analíticos.

En bosques nativos o cultivados es aconsejable extraer las muestras a cierta distancia de la base de los árboles o arbustos. Para bosques nativos el número de muestras por UM deberá ser mayor que bajo agricultura ya que se trata de un ambiente natural de alta heterogeneidad, factor de alto impacto en el contenido de COS. En bosques cultivados, el muestreo deberá complementarse incluyendo puntos en sitios ubicados en la fila y otros entre las filas de la plantación o bien, de ser necesario, según el tratamiento, estratificar ambas situaciones.

Para estudios cuyo objetivo es conocer el stock actual de COS o la evolución del stock de COS, es recomendable evaluar los cambios por horizontes. Para estudios de mayor detalle, o donde se pretende captar variaciones por depósito de materiales orgánicos, se recomienda separar las siguientes capas: 0-5 cm; 5-10 cm; 10-20 cm y 20-30 cm. En tal sentido, la estratificación también estará asociada al tipo de variable a analizar y al sistema de manejo que se aplique.

Si se trata de un sistema de manejo convencional, el muestreo puede considerar la profundidad de laboreo ya que en ella el suelo generalmente se encuentra homogeneizado. Sin embargo, para sistemas manejado bajo siembra directa (SD), se recomienda la estratificación en capas, según lo mencionado anteriormente.

En pasturas continuas o pastizales naturales, debido a la ausencia de remoción del suelo, pueden integrarse las capas de 0-10 cm y 10-20 cm. Similar criterio podría adoptarse en bosques nativos o cultivados (diferenciar efecto planta, de efecto bosque). Si el objetivo del muestreo en pasturas, pastizales o en bosques nativos o cultivados es el uso como valor de referencia de las variables en estudio, se deberá trabajar con las mismas profundidades de muestreo que son utilizadas en los tratamientos a evaluar o, mejor aún, referir los valores medidos a una masa de suelo dada. Debe tenerse presente que, luego de haber descartado que no existen variaciones texturales significativas, muchas veces se presenta el fenómeno de erosión luego del cambio de uso de la tierra y al

muestrear a la misma profundidad no puedan distinguirse las causas de pérdida del COS (es una oxidación biológica pero también una pérdida por erosión) y, en definitiva, la pérdida puede resultar exageradamente elevada.

Para trabajos a escala regional/nacional donde se analiza la evolución del stock de COS, se recomienda tomar muestras hasta 1 m de profundidad, estratificando por horizontes (A, B, C). En estos casos se deberá discutir y analizar la intensidad de muestreo o grilla de muestreo de tal manera que se encuentren discriminados usos del suelo contrastantes.

Generalmente, la concentración de COS disminuye con la profundidad. En suelos agrícolas se sugiere medir el COS al menos hasta los 30 cm⁽¹⁾ dividiendo dicha profundidad en varias capas según condiciones específicas (por ej. estratificación de COS por manejo, cambio de horizonte y/o textural dentro de la profundidad evaluada, etc.). No obstante, el criterio de tomar los 30 cm superficiales no debe considerarse de aplicación universal, ya que, como se dijo, la profundidad de muestreo será un criterio fijado en función del objetivo del estudio.

En caso de comparar stock de COS entre situaciones contrastantes de suelo (por ej. agrícola vs. bosque nativo), es necesario cuantificar en masas equivalentes de suelo (del mismo horizonte genético). De esta manera se evitará la sobrestimación de COS en agricultura que suele tener mayor densidad aparente en los primeros 20 cm superficiales respecto a la situación tomada como prístina (Lee *et al.*, 2009).

⁽¹⁾ La metodología propuesta en las Directrices del IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, (1996) considera sólo los primeros 30 cm de suelo, justificándose en el hecho de que las mayores concentraciones de C orgánico, así como las mayores respuestas a cambios de uso y gestión del suelo, se dan a esa profundidad. Además, a menudo, la información sobre contenidos de C orgánico a profundidades mayores es escasa. Sin embargo, la Guía sobre Buenas Prácticas para LULUCF (IPCC, 2003) deja abierta la posibilidad de incluir en los cálculos el contenido de C orgánico a profundidades mayores de 30 cm (Camps Arbustain y Pinto, 2004).

3.4 Momento de muestreo

En líneas generales, es recomendable realizar el muestreo posteriormente al momento de cosecha de los cultivos, siendo ventajoso en otoño-invierno, luego de la cosecha de los cultivos de verano, de modo que el suelo no haya presentado disturbios físicos importantes por un cierto período de tiempo.

En estudios de evolución temporal, es fundamental mantener la misma época de muestreo para minimizar los errores de interpretación que pudieran derivarse de las variaciones climáticas anuales. En ensayos de secuencias de cultivos, se recomienda extraer la muestra al final de una fase que puede ser de uno o varios años.

Un aspecto clave a considerar es efectuar el muestreo antes de aplicar los fertilizantes.

3.5. Frecuencia de muestreo

3.5.1. Temporal

En líneas generales, para estudios de monitoreo de la variación del contenido de COS en sistemas de producción agrícola, se recomienda una frecuencia de muestreo de 4-6 años en suelos de textura fina, y de 2-4 años en suelos arenosos. Para otras fracciones del COS, como por ejemplo C particulado o C en biomasa microbiana, los muestreos podrán tener una frecuencia temporal más intensiva. Para estos casos, donde es importante reducir las incertidumbres, es recomendable disponer de la posición georreferenciada de las parcelas o puntos de muestreos previos.

En sitios tomados como referencia, como pasturas permanentes, pastizales naturales o bosques, el muestreo debe realizarse simultáneamente a la situación que se está evaluando (coincidiendo tanto en momento como en frecuencia y profundidades).

En bosques cultivados, si se desea analizar el efecto de la cantidad de ciclos, o rotaciones, se recomienda tomar las muestras previo a la cosecha de cada ciclo o rotación. Si el objetivo es evaluar el efecto de un sistema de implantación (monitoreo), se recomiendan muestreos pre y post tratamientos, a

los 3-5 años, previo al cierre de la copa y luego del cierre de la copa muestrear a intervalos similares a los indicados arriba para sistemas de producción agrícola.

Algunas consideraciones adicionales a tener cuenta son:

- Considerar el periodo de rotación y/o sus fases.
- Considerar factores climáticos (periodos húmedos y secos), o modificaciones en el manejo que puedan afectar las entradas/salidas de C del suelo (por ej. los raleos en caso de los bosques cultivados).
- Para trabajos a escala regional/nacional se recomienda una frecuencia de muestreo entre 8-10 años (McBratney y Webster, 1983).

3.5.2. Espacial

En el caso de superficies extensas (lote, predio), resulta fundamental determinar estadísticamente el número de muestras necesarias para lograr un coeficiente de variación aceptable (ej. 15%). En el caso de parcelas experimentales, la variabilidad espacial puede ser acotada con submuestreos. Sin embargo, es necesario encontrar un equilibrio entre los beneficios de éste, y los perjuicios que trae, con el tiempo, la extracción excesiva del suelo de las parcelas.

3.6. Muestreo de un sitio de referencia o testigo

Consiste en seleccionar, si fuera posible, un área que podrá ser tomada como guía comparativa para analizar los niveles de COS, nutrientes u otras variables. Si no se dispone de un área con vegetación nativa, podrá ser empleada una pastura estable de largo tiempo y baja perturbación. El procedimiento de muestreo es similar al seguido en las UM. En ambientes considerados como “referencia” del estudio a realizar, es importante describir la vegetación presente en la UM (abundancia, tipo y diversidad de cada especie presente en los estratos bajos, medios y altos) y, posteriormente, preservar sus condiciones, de manera de habilitar su mantenimiento como sitio de referencia por si fuera necesario revisitarlo.

4. Pautas para la toma de muestras para la determinación de Dap

Como se mencionó anteriormente, en los estudios orientados a evaluar los stocks de COS o las variaciones en los stocks con el tiempo ($\Delta \text{Mg. ha}^{-1}_{(t2-t1)}$) se requiere determinar la masa de suelo contenida en un horizonte o en una capa

dada. Para ello es necesario, junto con la toma de muestra para COS, determinar la Dap, ya que los valores de COS deben ser calculados en masas de suelo equivalentes. Se recomienda determinar la Dap en paralelo, en cada una de las UM y profundidades de donde se obtiene la muestra para COS y con la misma frecuencia temporal.

La Dap se puede determinar por diferentes metodologías (ver *Protocolo básico común: Estructura del suelo*), pero la de uso más frecuente es el *método del cilindro*.

Si se muestrea todo el espesor del horizonte se pueden usar los *métodos del hueco relleno, del densitómetro de membrana o del cilindro*. Estos métodos utilizan un gran volumen de suelo (entre 500 y 1000 cm³) y presentan muy baja variabilidad.

Si es necesario muestrear en pequeños espesores dentro de un horizonte se pueden usar los *métodos del cilindro o del doble cilindro*. Estos métodos usan volúmenes de suelo menores (entre 50 y 200 cm³) y presentan mayor variabilidad, por lo que será necesario realizar mayor número de repeticiones.

En suelos agrícolas, pasturas o suelos forestales sin piedras se recomienda el *método del cilindro*. En suelos con presencia de piedras se recomienda el *método del hueco relleno*.

En cualquier caso, el cilindro siempre debe localizarse en la zona central de la capa a muestrear.

Precauciones:

- No tomar muestras en suelos muy húmedos o muy secos.
- En suelos con arcillas expandibles, muestrear con contenidos hídricos de suelo cercanos a capacidad de campo. Determinar, sobre la misma muestra, el contenido hídrico del suelo al momento del muestreo.
- Evitar la compactación de la muestra producida por el uso de muestreadores de golpe, y observar la posición correcta de los cilindros durante el muestreo.
- Realizar un correcto enrasado de la muestra de suelo en el cilindro.

- Repetir la toma de la muestra cuando se advierta la incidencia de factores que puedan afectar la medición (presencia de grandes raíces, canales de mesofauna, etc.)

5. Variables de suelo a considerar para interpretar datos de COS

Para la correcta evaluación de los datos de COS se requiere considerar otras variables edáficas y extra edáficas, tales como la textura, estructura y su estabilidad, pH, CIC, iones presentes, actividad biológica, abundancia de raíces en la profundidad de muestreo, cobertura vegetal (tipo, abundancia), contenido hídrico del suelo al momento del muestreo, historia/manejo del lote.

Es importante destacar que una de las herramientas rápidas y de bajo costo para conocer la calidad física-química de un suelo, consiste en relacionar el carbono orgánico y el análisis granulométrico del suelo, específicamente el contenido de fracciones finas (arcilla y limo). De esta manera es posible evaluar la condición potencial de entrega de nutrientes de un suelo separándola del efecto que ejerce la textura.

Por otra parte, algunos procesos edáficos ameritan muestreos y análisis de variables adicionales (suelos salinos, hidromórficos, calcáreos). Éstas son consideradas como factores de importancia en los cambios de cantidad y calidad de COS.

6. Archivo de muestras

La conservación de muestras de suelo secadas al aire y en ambiente protegido, lo que asegura una baja actividad química y biológica, permite el análisis comparativo en el tiempo, o la aplicación de metodologías analíticas distintas. Esto puede ser de gran utilidad en ensayos de larga duración para estudios de variables no contempladas en la caracterización inicial.