

METODOLOGIA DE MUESTREO DE SUELOS,
ANALISIS QUIMICO DE SUELOS Y TEJIDO VEGETAL
Y DE INVESTIGACIONES EN INVERNADERO

Roberto Díaz-Romeu
Arvel Hunter

Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE
Turrialba, Costa Rica
1982

CONTENIDO

	<u>Página</u>
Prólogo	i
INTRODUCCION	1
MUESTREO PARA ANALISIS DE RUTINA	1
Tamaño de muestra	2
Instrucciones para envío	3
MUESTRAS CONTROL	6
MUESTRAS DE SUELO PARA EVALUACION DE NUTRIMENTOS	7
ANALISIS QUIMICO DE SUELOS Y TEJIDO VEGETAL	8
AGENTE DE FLOCULACION "SUPERFLOC 127"	19
ANALISIS QUIMICO DE MUESTRAS DE TEJIDO VEGETAL	28
TECNICAS DE LABORATORIO E INVERNADERO PARA ESTUDIOS DE NUTRIMENTOS CON MIRAS A DETERMINAR LAS ENMIENDAS DE SUELO REQUERIDAS PARA UN OPTIMO CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS	39
ESTUDIOS DE LABORATORIO	43
USO DE DATOS DE INVERNADERO PARA LA DETERMINACION DE NIVELES CRITICOS DE ELEMENTOS	59
REFERENCIAS	61
APENDICE	62

PROLOGO

El presente manual fue elaborado en el proyecto Centroamericano de Fertilidad de Suelos, en 1978, por el Ing. M. S. Roberto Díaz-Romeu y el Dr. Arvel Hunter, para uso de las instituciones y personal técnico que se dedican al análisis, interpretación y recomendaciones sobre los aspectos de la fertilidad de suelos.

Con el objeto de contribuir, en general, a la difusión de esta valiosa información, y de ser utilizado en particular, en el curso intensivo de "Fertilidad y Conservación de Suelos", se ha considerado necesario la primera reimpresión; posteriormente, y con posibles correcciones de forma, será nuevamente publicado para una mayor distribución para su uso por técnicos y estudiantes dedicados en el estudio de los suelos.

El curso de Fertilidad y Conservación de Suelos fue realizado dentro del proyecto cooperativo entre la Fundación W. K. Kellogg y el CATIE, denominado "Capacitación Agropecuaria en el Istmo Centroamericano"; en la ejecución también contribuyó, financieramente, la Organización de los Estados Americanos, con su proyecto multinacional de tecnología y Ciencias Agropecuarias. A ambas instituciones, se les agradece el interés y esfuerzo que realizan en beneficio de la educación agropecuaria forestal de América Latina.

MUESTREO DE SUELOS E INSTRUCCIONES EN COMO MANEJAR LAS

MUESTRAS PARA ENVIARLAS AL LABORATORIO DEL CATIE

Roberto Díaz-Romeu*
Arvel Hunter**

El muestreo de suelos es extremadamente importante ya que la muestra debe representar correctamente el área de la cual se desea información. El suelo de la capa arable es muy heterogéneo debido a fenómenos naturales y al hecho de que es la capa de suelo a la cual se incorpora "materiales". Los residuos vegetales y animales u otros materiales agregados como cal y fertilizantes, no pueden ser distribuidos uniformemente o mezclados completamente con el volumen total del suelo en la capa arable; por lo tanto, debe tenerse mucho cuidado para asegurarse de que las muestras que se envían al laboratorio sean representativas del área de la cual se desea información. Esto puede hacerse únicamente siguiendo las siguientes instrucciones muy cuidadosamente y/o también las instrucciones en las bolsas de muestreo del CATIE.

Muestreo para análisis de rutina

Para obtener una muestra representativa de cierta área (volumen) de suelo (muestra compuesta), se debe tomar un gran número de submuestras. Para la mayoría de campos cultivados, cada muestra compuesta debe consistir de un mínimo de 20 submuestras. Cada submuestra debe tener un volumen de aproximadamente 30 ml (2 cm de diámetro, 15 cm de profundidad).

Las dimensiones del área que se incluye en una muestra compuesta depende de la variabilidad del campo. Las prácticas de manejo anteriores tales como encalado o fertilización y/o diferencias en el tipo de suelo.

*Edafólogo, M.S. Director del Laboratorio de Suelos del CATIE.

**Ph.D. Director del Laboratorio de Suelos de Agricultural Environmental Systems, Inc. (AES). U.S.A.

Si se desea información sobre partes o áreas específicas en un mismo campo, deben tomarse muestras compuestas de dichas áreas. Sin embargo, el número de submuestras por muestra compuesta, no está relacionado con el tamaño del área muestreada; por lo tanto, siempre se recomienda tomar 20 submuestras por muestra compuesta aún cuando se trate de un área pequeña.

Debe prepararse un mapa de las áreas muestreadas anotándose los números de las muestras en el mapa y en las bolsas que se envían al laboratorio para luego saber cuál fue el área de la cual se tomó la muestra al recibir los resultados.

Mezcla de las submuestras para obtener muestras compuestas

Cualquier descuido al hacer la mezcla homogénea de las 20 submuestras de suelo podrá conducir a error. Por ejemplo, si una de las submuestras contiene unos cuantos granos de fertilizantes, debe mezclarse completamente con las otras submuestras para obtener una muestra compuesta representativa y homogénea. La mejor forma de hacerlo es recolectar 20 submuestras en una cubeta limpia, desmenuzarlas con la mano en partículas pequeñas y luego mezclarlas muy bien con la mano, hasta que el conjunto se vea homogéneo.

Tamaño de la muestra para enviar al laboratorio

Para hacer estudios de rutina y de fijación (sorción), se necesitan alrededor de 300 ml (350 gramos o 3/4 lb) de suelo. El suelo debe secarse al aire antes de cerrarse la bolsa para su envío. Es importante secar el suelo porque pueden ocurrir cambios químicos cuando el suelo está húmedo y se mantiene dentro de una bolsa cerrada por muchas horas.

Muestreos de suelos para estudios en invernadero

Para los estudios de reconocimiento de nutrimentos en el invernadero será necesaria una muestra compuesta de 16 litros (aproximadamente 18 kg o 40 lbs). Estas muestras también deben ser representativas del área de la cual se necesita la información. La muestra compuesta debe consistir de un mínimo de 20 submuestras de aproximadamente 800 ml cada una (900 gramos). El muestreo debe hacerse únicamente a profundidad de arado (generalmente de 0 hasta 15 cm). Se dice generalmente de 0 hasta 15 cm porque se trata de cultivos anuales en este caso. Sin embargo, en el caso de cultivos perennes como pastos, café, frutales, etc., la profundidad de muestreo no debe ser mayor que de 0 hasta 5 cm.

La muestra compuesta total debe guardarse y colocarse en cajas especiales de cartón o en bolsas de tela fuerte para muestras. Generalmente se envían dos bolsas de aproximadamente 8 litros de volumen (aproximadamente 9 kg) cada una, ya que así se facilita el manejo y esterilización de las muestras. Las muestras deben ser secadas al aire antes de colocarlas dentro de las bolsas para su envío.

Instrucciones para el envío

Las muestras de suelo pueden ser transportadoras de muchas plagas y enfermedades, tanto de plantas como de animales. Por lo tanto, es imperativo que se tomen todas las precauciones posibles para evitar transmitir plagas y enfermedades de un área a otra. Para las muestras que vienen fuera de Costa Rica se requieren permisos especiales y deben colocarse etiquetas de cuarentena en cada envase que contenga muestras de suelo. Se requiere una etiqueta de cuarentena en cada envase que contenga

muestras de suelo. Se requiere una etiqueta de cuarentena por cada grupo de 25-30 muestras pequeñas y una etiqueta para cada una o para cada grupo de 2 bolsas de muestras para estudio de invernadero.

Las muestras que se reciben para análisis de rutina y fijación son tratadas al entrar en Costa Rica y en el CATIE después de que se hacen los análisis. Las muestras que serán usadas para cultivar plantas en invernadero, en las cuales pueden anidarse huevos de insectos, etc., deben ser esterilizadas en el lugar de entrada a Costa Rica. Esto generalmente se hace con vapor.

Las muestras pueden empacarse en cajas plegables de cartón fuerte o de madera. Debe tenerse cuidado de que las muestras estén empacadas en la caja en forma compacta y no puedan moverse durante el transporte. El movimiento puede hacer que las bolsas de muestras o las cajas de envío se rompan.

Nota importante

No deben mezclarse muestras pequeñas para análisis de laboratorio en las cajas de envío con las muestras grandes para estudios de invernadero.

Para las muestras a las que se les va a poner la etiqueta de cuarentena se debe usar la siguiente dirección adyacente a la etiqueta:

CATIE
Programa de Fertilidad de Suelos
Turrialba, Costa Rica

USAR LA ETIQUETA CORRECTA PARA EL TIPO DE MUESTRA QUE ESTA ENVIANDO

Es conveniente enviar inmediatamente una carta por correo AEREO a la dirección del CATIE arriba mencionada, dando información sobre

el número de muestras enviadas, tipo de estudios deseados, fecha y método de envío (si el envío es por carga aérea incluya el número de la guía aérea. Esta información nos ayudará a localizar las muestras si estas no llegaran en un tiempo prudencial).

Información que debe incluirse con cada muestra

La persona que envía la muestra debe adjuntar una hoja para cada muestra con la siguiente información:

Información sobre la muestra Fecha _____
 Nombre del remitente y dirección _____
 Donde se deberán enviar los resultados _____

Identificación de la muestra _____

Localización de la Finca muestreada _____

Número de campo y muestra _____

Cultivo a ser fertilizado _____

Meta de rendimiento _____

Cultivo anterior _____

Rendimiento aproximado del cultivo anterior _____

Fertilizante aplicado en el cultivo anterior _____

Cal aplicada al cultivo anterior _____ Año _____

Abono aplicado al cultivo anterior _____ Año _____

Enumérese cualquier condición anormal o información específica que se desee proporcionar: _____

Tipo o clase de análisis deseado _____

Otros elementos o estudios _____

Preparar un mapa e indicar en este la localización de la(s) muestra(s) tomada(s).

MUESTRAS CONTROL

Suelos

Se deben recolectar alrededor de 5 muestras control. Estas deben ser seleccionadas para que cubran más o menos el ámbito de características físicas y químicas de los suelos. Es obvio que 5 sitios no pueden representar adecuadamente todas las condiciones del suelo, pero este número probablemente es adecuado como muestras control.

Las muestras control proveen un medio de controlar variaciones día-a-día y año-a-año en los resultados analíticos. Este es un factor muy importante en infundir y mantener la confianza en los servicios del laboratorio.

Se sugiere el siguiente procedimiento para recoger y preparar las muestras control de suelos:

- a. De un sitio escogido en el campo, tomar 60 litros o más (aproximadamente 60 kilogramos) de suelo de un área lo más pequeña posible. Estos se deben sacar de la capa arable o el horizonte A.
- b. Secar el suelo al aire esparciéndolo en una capa delgada sobre una lámina de plástico en un área donde esté protegido de contaminación por materias extrañas.
- c. Triturar la muestra y pasarla a través de un tamiz de 2 mm.
- d. Mezclar la muestra total completamente y guárdela en un área fresca y seca.

Plantas

Se deben recolectar alrededor de 3 muestras control de plantas. El tipo de material de planta debe ser similar al tipo de material más frecuentemente analizado.

Se sugiere el siguiente procedimiento para recolectar y preparar la muestra control de planta:

- a. Se debe recolectar tres o más kilogramos del mismo tipo de tejido de plantas en un área lo más pequeña posible para obtener una muestra uniforme.
- b. El material debe estar lo más limpio posible y se debe colocar en un horno para su secado.
- c. El material debe ser molido de tal forma que pase a través de un tamiz de malla 25.
- d. Mezclar completamente la muestra total y almacenar en un área fresca y seca.

MUESTRAS DE SUELO PARA EVALUACION DE NUTRIMENTOS

Las muestras de suelo para evaluación de nutrientes para los primeros estudios deberían incluir 4 ó 5 sitios de alrededor de 5 ó 6 diferentes clases de suelos. Se deben de tomar de campos que ya están bajo cultivo y de áreas de importancia agrícola. Los campos que se tiene en mente utilizar para futuros experimentos de campo serían sitios excelentes para estas muestras ya que la información obtenida se podrá utilizar en los experimentos de campo.

De un sitio escogido, tómese una muestra compuesta de la capa arable que será representativa del campo. El volumen de suelo necesario para el estudio de invernadero es de aproximadamente 5 a 20 litros.

Secar los suelos al aire, triturarlos y pasarlos a través de un tamiz de 2 mm. Mezclar completamente la muestra antes de tomar una submuestra pequeña para análisis.

Almacenar las muestras en un área fresca y seca.

ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS Y TEJIDO VEGETAL

ANÁLISIS DE P, K, Cu, Fe, Mn y Zn EN SUELOS UTILIZANDO LA SOLUCIÓN
EXTRACTORA MODIFICADA DE BICARBONATO DE SODIO (NaHCO_3)

Un gran número de soluciones extractoras del suelo han sido utilizadas en diversas partes del mundo para los análisis de suelos, con el fin de evaluar el estado nutritivo o de fertilidad de los mismos. La solución doble de ácido débil de Carolina del Norte (Mehlich) es ampliamente usada para suelos con un pH debajo de 6,5 y la solución NaHCO_3 (Olsen) para suelos con un amplio rango de pH desde ácido hasta alcalino. Con el extractante Mehlich se puede obtener no solamente medidas para K y P, sino también muchas veces para Ca, Mg, Mn y Zn. Se ha encontrado que las correlaciones entre la respuesta del cultivo con el P y el K extraídos, son más efectivas que para los otros elementos. La solución extractora de Olsen generalmente ha servido solamente para indicar el estado de disponibilidad de P y de K.

El Proyecto Internacional de Evaluación y Mejoramiento de la Fertilidad del Suelo introdujo una solución extractora modificada de NaHCO_3 que aparenta ser ideal para indicar el estado de disponibilidad de P, K, Cu, Mn y Zn; el Fe también puede ser determinado con esta solución. Aunque hasta la fecha no se ha desarrollado un análisis de rutina para B y S extractables con dicha solución, existe una buena posibilidad de que ésta pueda indicar el estado de dichos elementos.

Anteriormente la ejecución de los procedimientos analíticos de rutina era difícil y tediosa cuando se usaba la solución Olsen. Este procedimiento simplificado usando la solución modificada de NaHCO_3 se presenta

aquí con el deseo de que éste pueda estimular los estudios de correlación, los cuales confirmarían su valor como un indicador del estado de fertilidad de los diversos nutrimentos indicados anteriormente.

I. SOLUCION EXTRACTORA MODIFICADA DE NaHCO_3

0,5 N NaHCO_3 , 0,01 M EDTA con 0,5 g de Superfloc 127 por 10 litros

Preparación:

- a) Disolver 420 g de NaHCO_3 en agua destilada.
- b) Disolver 37,2 g de EDTA, sal disodica ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en agua destilada.
- c) Disolver 0,5 g de Superfloc 127 en 200 a 400 ml de agua destilada.

Mezclar las tres soluciones antes mencionadas con agua destilada y llevar a volumen de 10 litros. Ajustar el pH a 8,5 con NaOH y luego guardar la solución en un frasco de polietileno.

Reactivos para la determinación de P

Solución concentrada de Cloruro Estanoso

Solución A. Disolver 3 gramos de Cloruro Estanoso en 10 ml de ácido clorhídrico concentrado. Calentar levemente si fuera necesario. Diluir con agua destilada a un volumen de 100 ml y mantenerla en un frasco ambar, herméticamente cerrado y en la refrigeradora.

Solución concentrada de Molibdato de Amonio

- Solución B.
1. Disolver 25 g de Molibdato Amonio en aproximadamente 200 ml de agua destilada.
 2. Agregar 275 ml de Acido Sulfúrico concentrado a aproximadamente 600 ml de agua destilada.
 3. Cuando las soluciones 1 y 2 antes mencionadas se han

enfriado, mezclarlas y diluir a un volumen de 1 litro.

Colocar en la refrigeradora.

Solución diluida de Cloruro Estanoso

Solución C. El día que se va a usar, diluir 5 ml. de solución A a un volumen de 1 litro con una solución conteniendo 1 g de gelatina, libre de fósforo, por litro.

Solución diluida de Molibdato de Amonio

Solución D. El día en que se va a usar, diluir 100 ml de solución B a un volumen de 1 litro.

II. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION

1. Colocar 2,5 ml de suelo y 25 ml de la solución extractora en un frasco o vaso de precipitación.
2. Agitar a una velocidad lenta (aproximadamente a 400 rpm) durante 10 minutos.
3. Filtrar usando un papel filtro poroso (S y S No. 860 ó Whatman No. 1 o un papel de calidad similar).

III. PROCEDIMIENTOS ANALITICOS

1. Determinación de P: Usando una combinación del instrumento diluidor-dispensador, tomar una alícuota de 2 ml del filtrado (II-3) y agregar 8 ml de solución diluida de Cloruro Estanoso (solución C) y 10 ml de solución diluida de Molibdato de Amonio (solución D). Dejar reposar durante 10 minutos o más para el desarrollo del color y leer el porcentaje de transmitancia o absorbancia o densidad óptica en un espectrofotómetro (colorímetro) a 660 ó 680 m μ . El color es estable durante tres horas por lo menos.

NOTA: La solución modificada de NaHCO_3 frecuentemente extrae más color del suelo que la solución Olsen. Por lo tanto, algunos filtrados pueden ser de un color café muy oscuro. Comparaciones hechas entre la cantidad medida de fósforo usando carbón indican que generalmente hay menos de $1 \mu\text{g P/ml}$ de suelo de diferencia cuando la cantidad extraída de P es menor de $20 \mu\text{g P/ml}$ de suelo. La diferencia puede ser algo mayor cuando se extraen más de $20 \mu\text{g P/ml}$ de suelo.

2. Determinación de K: Usando la misma combinación del instrumento diluidor-dispensador que se utilizó para P, tomar una alícuota de 2 ml del filtrado (II-3) y agregar 18 ml de agua destilada. El K se determina utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica o por medio de emisión de llama.
3. Determinación de Cu, Fe, Mn y Zn: Estos elementos pueden determinarse directamente en el filtrado (II-3), utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica. En caso de que el contenido sea alto, se harán las diluciones necesarias.

Soluciones Patrón para Análisis de Suelo

Las soluciones patrón deben ser preparadas en la solución extractora modificada de NaHCO_3 .

Para mayor conveniencia, Cu, Fe, Mn y Zn pueden prepararse todos en la misma solución patrón. Las soluciones patrón para P y K deben prepararse separadamente. Las siguientes concentraciones se recomiendan para las soluciones patrón altas:

3 $\mu\text{g Cu}$ por ml
 15 $\mu\text{g Fe}$ por ml
 15 $\mu\text{g Mn}$ por ml
 4 $\mu\text{g Zn}$ por ml
 12 $\mu\text{g P}$ por ml
 40 $\mu\text{g K}$ por ml

Cuando se hacen diluciones para la determinación de los elementos, las soluciones patrón deben ser diluidas en la misma forma que la muestra.

IV. PROCEDIMIENTOS ALTERNOS PARA LA DETERMINACION DE FOSFORO

ALTERNATIVA 1.

Solución A - Reactivo Concentrado:

1. Colocar 1 g de Tartrato doble de Potasio y Antimonio en un frasco volumétrico de 1 litro y agregar alrededor de 400 ml de agua destilada. Añadir despacio, mientras se mezcla, 165 ml de H_2SO_4 concentrado. Dejar enfriar.
2. Disolver 7,5 g de Molibdato de Amonio en aproximadamente 300 ml de agua destilada.
3. Cuando la solución de ácido y Tartrato de Potasio y Antimonio (1) se ha enfriado, añadir la solución de Molibdato de Amonio (2) y llevar a volumen de 1 litro con agua destilada.

NOTA: Esta solución es sensitiva al calor y a la luz; sin embargo, cuando se almacena en un refrigerador se conserva durante varios meses sin deteriorarse.

Solución B - Solución diluida de Molibdato de Amonio y Tartrato

de Potasio y Antimonio (reactivo de color para P):

1. En el día en que se va a utilizar esta solución, diluir 150 ml de solución A (3) a 1 litro con una solución conteniendo 1 g de gelatina libre de fósforo, por litro y luego agregar y mezclar 1 g de Ácido ascórbico.

La solución de gelatina y la solución B deben prepararse frescas cada día, ya que se descomponen después de 24 horas.

Determinación de P: Usando una combinación del instrumento diluidor-dispensador, tomar una alícuota de 2 ml del filtrado (II-3), agregar 8 ml de agua destilada y 10 ml de solución diluida de Molibdato de Amonio (solución B). Después de 40 minutos leer el porcentaje de transmitancia, o absorbancia o densidad óptica en un espectrofotómetro (colorímetro) a 660 o 680 m μ .

ALTERNATIVA 2

Solución A - Reactivo Concentrado:

Colocar 6,5 g de Subcarbonato de Bismuto (o 7,5 g de Subnitrito de Bismuto) en un balón aforado de 2 litros y agregar 1000 ml de agua destilada. Agitar hasta que el Subcarbonato de Bismuto se disuelva. Agregar inmediatamente 250 ml de Acido Sulfúrico concentrado y agitar rápidamente. Dejar enfriar completamente la solución y luego agregar una solución que contenga 15 g de Molibdato de Amonio disuelto en 400 ml de agua destilada. Agitar completamente y llevar a volumen de 2 litros con agua destilada. Guárdese esta solución en un lugar fresco y oscuro.

Solución B - Solución diluida de molibdato de amonio y

Subcarbonato de Bismuto:

El día que se va a utilizar, tomar 200 ml de solución A y llevar a volumen de 1 litro con agua destilada, agregando 1 g de ácido ascórbico. Esta solución debe prepararse fresca cada día que se van a hacer análisis.

Determinación de P: Usando una combinación del instrumento diluidor-dispensador, tomar una alícuota de 2 ml del filtrado (II-3), agregar 10 ml de la solución B (reactivo para desarrollar color) y 8 ml

de agua destilada. Después de 30 minutos leer el porcentaje de transmitancia o absorbancia o densidad óptica en un espectrofotómetro (colorímetro) a 660 m μ . El color es estable durante 6 horas por lo menos.

DETERMINACION DE P Y K EN SUELOS UTILIZANDO LA SOLUCION EXTRACTORA

DE CAROLINA DEL NORTE

V. SOLUCION EXTRACTORA DE ACIDO DEBIL. 0,05 N de HCl y 0,025 N de H₂SO₄

Preparación

Agréguense separadamente 40,5 ml de HCl concentrado y 7 ml de H₂SO₄ concentrado a aproximadamente 5 litros de agua destilada y llevar a un volumen final de 10 litros con agua destilada. Agitar completamente antes de usarla.

Reactivos para la Determinación de P

Solución A - Reactivo Concentrado

1. Colocar 1 g de Tartrato doble de Potasio y Antimonio en un frasco volumétrico de 1 litro y agregar alrededor de 400 ml de agua destilada. Añadir despacio, mientras se mezcla, 165 ml de H₂SO₄ concentrado. Dejar enfriar.
2. Disolver 7,5 g de Molibdato de Amonio en aproximadamente 300 ml de agua destilada.
3. Cuando la solución de ácido y Tartrato de Potasio y Antimonio (1) se ha enfriado, añadir la solución de Molibdato de Amonio (2) y llevar a volumen de 1 litro con agua destilada.

NOTA: Esta solución es sensitiva al calor y a la luz; sin embargo, cuando se almacena en un refrigerador se conserva durante varios meses sin deteriorarse.

Solución B - Solución diluida de Molibdato de Amonio y Tartrato de Potasio y Antimonio (reactivo de color para P)

1. En el día en que se va a utilizar esta solución, diluir 150 ml de solución A (3) a 1 litro con una solución conteniendo 1 g de gelatina libre de fósforo por litro y luego agregar y mezclar 1 g de Ácido Ascórbico.

La solución de gelatina y la solución B deben prepararse frescas cada día, ya que se descomponen después de 24 horas.

VI. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION

1. Colocar 5 ml de suelo y 25 ml de la solución extractora en un frasco o vaso de precipitación.
2. Agitar a una velocidad lenta (aproximadamente a 400 rpm), durante 5 minutos.
3. Filtrar usando un papel filtro Whatman, No. 1, No. 2 o un papel de calidad similar.

VII. PROCEDIMIENTOS ANALITICOS

1. Determinación de P: Usando una combinación del instrumento diluidor-dispensador, tomar una alícuota de 2 ml del filtrado (VI-3), agregar 8 ml de agua destilada y 10 ml de solución diluida de Molibdato de Amonio (solución B). Después de 40 minutos leer el porcentaje de transmitancia o absorbancia o densidad óptica en un espectrofotómetro (colorímetro) a 680 m μ .
2. Determinación de K: Usando la misma combinación del instrumento diluidor-dispensador que se utilizó para P, tomar una alícuota de 2 ml del filtrado (VI-3) y agregar 18 ml de agua

destilada. Si el contenido de K es bajo se puede hacer una dilución menor. El K se determinará utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica o por medio de emisión de llama.

3. Determinación de Cu, Fe, Mn y Zn: Estos elementos pueden determinarse con esta solución extractora, directamente en el filtrado (VI-3), utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica. En caso de que el contenido sea alto, se harán las diluciones necesarias.

Soluciones Patrón para Análisis de Suelos

1. Las soluciones patrón deben ser preparadas en la solución extractante de Carolina del Norte (0,05 N de HCl y 0,025 N de H_2SO_4).

Para mayor conveniencia, Cu, Fe, Mn y Zn pueden prepararse todos en la misma solución patrón. Las soluciones patrón para P y K deben prepararse separadamente. Las siguientes concentraciones son recomendadas para las soluciones patrón altas:

3 μ g Cu por ml

15 μ g Fe por ml

15 μ g Mn por ml

4 μ g Zn por ml

12 μ g P por ml

40 μ g K por ml

Cuando se hacen diluciones para la determinación de los elementos, las soluciones patrón deben ser diluidas en la misma forma que la muestra.

Preparación de Curvas Patrón

Fósforo: Patrón Concentrado de 100 $\mu\text{g P/ml}$.

Pesar 0,4393 g de Fosfato Monopotásico y colocarlo en un matraz aforado de 1 litro. Agregar 500 ml de solución extractora y agitar hasta que se disuelva. Llevar a volumen de 1 litro con solución extractora y agitar nuevamente.

Curva Patrón: 0 a 10 $\mu\text{g P/ml}$

Diluir con solución extractora, las siguientes cantidades del patrón concentrado de 100 $\mu\text{g P/ml}$ a un volumen de 100 ml:

Curva Patrón $\mu\text{g P/ml}$ (A)	Ml de Patrón Concentrado de 100 $\mu\text{g P/ml}$ (B)	Ml de Solución extractora (C)
0	0	100
1	1	99
2	2	98
3	3	97
5	5	95
8	8	92
10	10	90
12	12	88

La curva patrón (A) debe diluirse en la misma forma que se diluyen los extractos de suelo.

Potasio: Patrón concentrado de 1000 $\mu\text{g K/ml}$.

Pesar 1,906 g de cloruro de potasio, seco, y colocarlo en un matraz aforado de 1 litro. Agregar 500 ml de solución extractora y agitar hasta que se disuelva. Llevar a volumen de 1 litro con solución extractora y agitar nuevamente.

Patrón concentrado de 100 $\mu\text{g K/ml}$.

Diluir 100 ml de la solución de 1000 $\mu\text{g K/ml}$ a un volumen de 1 litro, con solución extractora.

Curva Patrón: 0 a 40 µg K/ml

Diluir con solución extractora, las siguientes cantidades del patrón concentrado de 100 µg K/ml a un volumen de 100 ml:

Curva Patrón µg K/ml	Ml de Patrón Concentrado de 100 µg K/ml	Ml de Solución extractora
(A)	(B)	(C)
0	0	100
5	5	95
10	10	90
20	20	80
40	40	60

La Curva Patrón (A) debe diluirse en la misma forma que se diluyen los extractos de suelo.

Patrones Concentrados para Fe, Cu, Mn y Zn

Patrones especiales para espectroscopía de absorción atómica pueden obtenerse directamente de varias compañías químicas. La concentración de estos patrones es generalmente de 1000 µg del elemento por ml, y de estas se pueden preparar patrones que contengan 100 µg del elemento por ml, diluyendo 100 ml de la solución patrón concentrada (1000 µg/ml) a 1 litro con la solución extractora respectiva. Se puede preparar una solución de 10 µg/ml del elemento diluyendo 10 ml de la solución concentrada de 1000 µg/ml a 1 litro con solución extractora.

Para preparar la curva patrón de los diferentes elementos, utilizar la siguiente fórmula:

$$X = \frac{A \times B}{C} \quad \text{donde}$$

- X = Ml del patrón concentrado requerido
- A = Concentración del patrón diluido a prepararse
- B = Volumen del patrón diluido requerido, en ml
- C = Concentración de la solución madre (patrón concentrado)

Ejemplo 1: Cuántos ml de una solución conteniendo 100 µg Mn/ml se deben diluir a 1 litro para obtener una solución de 0,8 µg Mn/ml?

Solución:
$$X = \frac{0,8 \times 1000}{100} = 8 \text{ ml}$$

Ejemplo 2: Se quiere preparar 100 ml de solución patrón conteniendo 50 µg Fe/ml, a partir de una solución concentrada conteniendo 1000 µg Fe/ml. Cuántos ml de la solución concentrada hay que diluir a un volumen final de 100 ml?

Solución:
$$\frac{50 \times 100}{1000} = \frac{5000}{1000} = 5 \text{ ml}$$

AGENTE DE FLOCULACION SUPERFLOC* 127

Información General

El agente de floculación Superfloc 127 es una poliacrilamida noniónica de gran peso molecular. Es altamente efectivo como agente de floculación en suspensiones ácidas, neutras y alcalinas.

La casa comercial American Cyanamid ha llevado a cabo una extensa investigación experimental con animales, así como también experimentos con seres humanos para poder establecer el uso seguro del producto. Todo este trabajo nos lleva a la conclusión de que esta agente de floculación es farmacológicamente un material muy inerte y está prácticamente desprovisto de toxicidad, ya sea aguda o crónica, y no posee facultad

* Marca registrada por la casa comercial American Cyanamid Co.

significativa de irritar o sensibilizar la piel humana.

Uso y Preparación

Se ha encontrado que Superfloc 127 es una ayuda efectiva para el filtrado de las suspensiones del suelo cuando se usa en una proporción aproximada de 0,5 gramos por 10 litros de solución.

ANALISIS DE Ca, Mg NH_4 Y ACIDEZ EXTRACTABLE EN SUELOS UTILIZANDO LA SOLUCION DE CLORURO DE POTASIO (KCl) 1N

I. SOLUCION EXTRACTORA DE CLORURO DE POTASIO (KCl) 1N

Colocar 74,56 g de Cloruro de Potasio en un balón aforado de 1 litro, y disolverlo en aproximadamente 400 ml de agua destilada. Una vez disuelto, llevar a volumen de 1 litro con agua destilada.

Reactivos para la determinación de Ca y Mg

Solución de Lantano al 1%

Colocar 11,73 g de Oxido de Lantano (La_2O_3), en un balón aforado de 1 litro, y humedecer con aproximadamente 50 ml de agua destilada. Despacio y cuidadosamente, agregar 50 ml de HCl concentrado para disolver el óxido de Lantano y finalmente llevar a volumen de 1 litro con agua destilada.

Reactivos para la determinación de Nitrógeno Amoniacal ($\text{NH}_4\text{-N}$)

1. Fenol básico: Disolver 100 g de NaOH en 1 litro de agua destilada. Dejar enfriar y agregar 140 ml de Fenol líquido al 92% o 130 g de Fenol en cristales.
2. Solución de NaClO: Diluir 1 volumen de NaClO (clorox) al 5,25% con 9 volúmenes de agua destilada.

II. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION

1. Colocar 2,5 ml de muestra de suelo en un vaso de extracción y agregar 25 ml de solución de cloruro de potasio 1N a la muestra.
2. Agitar durante 10 minutos (aproximadamente a 400 rpm).
3. Filtrar, usando un papel filtro Whatman No. 1, No. 2, o un papel filtro de calidad similar.

III. PROCEDIMIENTOS ANALITICOS

Determinación de Ca y Mg

Usando un instrumento diluidor-dispensador, tomar una alícuota de 1 ml de filtrado (II-3), agregar 9 ml de agua destilada y 15 ml de solución de lantano al 1%.

El Ca y Mg se determinan utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica.

Patrones Concentrados para Ca y Mg

Se pueden utilizar patrones especiales para espectroscopía de absorción atómica, cuya concentración es generalmente de 1000 μg del elemento por ml. Estas soluciones se obtienen ya preparadas, o se pueden obtener ampollitas las cuales hay que diluir a un volumen determinado (1 litro, por ejemplo) para obtener un patrón de 1000 μg del elemento por ml.

Las soluciones patrón preparadas en cloruro de potasio 1N y conteniendo ambos elementos pueden utilizarse. La concentración del patrón de calcio más alta debe ser de 200 μg Ca/ml.

lo cual es equivalente a 1 meq Ca/100 ml de suelo, y la de magnesio debe ser de 48 μg Mg/ml, lo cual es equivalente a 0,4 (0,395) meq Mg/100 ml de suelo.

NOTA: El contenido de Ca y Mg extraíble puede variar desde bajo hasta alto. El interés principal es poder medir los niveles bajos de estos elementos con la mayor exactitud. Sacrificando un poco la exactitud, los niveles más altos pueden determinarse también en la misma dilución original (1:25), colocando la cabeza del quemador en ángulo con el rayo de luz.

Determinación de Nitrógeno Amoniacal. $\text{NH}_4\text{-N}$

Tomar 2 ml de alícuota del filtrado (II-3) y agregar 8 ml de fenol básico. (Esto puede hacerse utilizando el lado del diluidor del instrumento combinado diluidor-dispensador). Dejar reposar durante 3 minutos aproximadamente. Agregar 10 ml de reactivo NaClO . (Esto puede hacerse utilizando el lado del dispensador del instrumento combinado diluidor-dispensador). Dejar reposar por una hora en un lugar en el cual las soluciones no estén expuestas a la luz directa, ya que de esta forma el color es estable durante más o menos dos horas. Leer el porcentaje de transmitancia, o absorbancia o densidad óptica en un espectrofotómetro (colorímetro) a 630 $\text{m}\mu$.

Solución patrón concentrada de 100 μg N/ml

Colocar 0,382 g de Cloruro de Amonio (NH_4Cl) en un balón aforado de 1 litro. Disolver y llevar a volumen con solución extractora de KCl 1N. La concentración del patrón más alto de la curva patrón debe ser de 40 μg N/ml. Las curvas patrón de Ca, Mg y $\text{NH}_4\text{-N}$ pueden prepararse utilizando la siguiente fórmula:

$$X = \frac{A \times B}{C}$$

donde:

X = Ml de la solución madre (patrón concentrado) requerida

A = Concentración del patrón diluido a prepararse

B = Volumen del patrón diluido requerido, en ml.

C = Concentración de la solución madre (patrón concentrado)

En todas las determinaciones antes mencionadas las soluciones patrón deben recibir la misma dilución que la muestra.

Determinación de acidez extractable

Usando el instrumento diluidor, tomar 10 ml del filtrado (II-3), agregar 10 ml de agua destilada y 2 a 4 gotas de fenolftaleína. Mientras se agita, titular con una solución de NaOH 0,01N. Al utilizar este procedimiento, la siguiente fórmula es aplicable:

1 ml de NaOH 0,01N = meq de acidez por 100 ml de suelo

IMPORTANTE: La alícuota para la determinación de acidez extractable debe tomarse antes de tomar la alícuota para la determinación de Ca y Mg, debido a que pueden producirse errores si se llegara a contaminar el filtrado cuando se agrega la solución de lantano (que contiene HCl) para la determinación de Ca y Mg.

DETERMINACION DE LA ACIDEZ (pH) DEL SUELO

Reactivo:

Solución de Cloruro de Calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,01M

Disolver 14,7 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 1 litro de agua destilada y

llevar a un volumen final de 10 litros. El pH de esta solución debe estar entre 5 y 6,5. Si esto no ocurre, entonces ajustar el pH agregando un poco de Ca(OH)_2 o de HCl.

Determinación del pH en Agua

Colocar 10 ml de suelo en un vaso de extracción, agregar 25 ml de agua destilada y agitar durante 5 minutos. Dejar en reposo durante 20 minutos aproximadamente, luego agitar nuevamente por dos minutos y finalmente medir el pH, en un potenciómetro, mientras se agita la muestra.

Determinación del pH en una solución de CaCl_2 0,01M

Colocar 10 ml de suelo en un vaso de extracción, agregar 25 ml de solución de cloruro de Calcio 0,01M y agitar durante cinco minutos. Dejar en reposo durante 30 minutos y agitar nuevamente por dos minutos. Dejar en reposo durante 30 minutos y finalmente medir el pH, en un potenciómetro, sin agitar.

NOTA: El electrodo de vidrio debe sumergirse lo suficiente dentro de la suspensión que ha empezado a cuajar, pero no tan profundamente que rompa las partículas de suelo ya cuajadas. El electrodo de calomel debe sumergirse únicamente lo necesario para establecer un buen contacto.

ANÁLISIS DE AZUFRE Y BORO UTILIZANDO LA SOLUCIÓN EXTRACTORA DE FOSFATO DE CALCIO ($\text{CaH}_4(\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

I. SOLUCIÓN EXTRACTORA DE FOSFATO DE CALCIO. 500 ppm de P.

Disolver 20,3 g de $\text{CaH}_4(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en aproximadamente 2 litros de agua agregando 10 ml de HCl concentrado. Agregar 0,5 g de Superfloc 127 disuelto previamente, y llevar a un volumen final de 10 litros.

Reactivos para la determinación de Azufre (S-SO₄)

A. Solución ácida de inicio de reacción:

Añadir 65 ml de HNO₃ concentrado y 250 ml de ácido Acético glacial a aproximadamente 500 ml de agua. Agregar 2 ml de una solución patrón de azufre de 1000 µg S/ml y llevar a volumen de 1 litro.

B. Reactivo Turbidimétrico:

Disolver 10 g de "Polyvinylpyrrolidone" (PVP) K30 en aproximadamente 100 ml de agua caliente. Disolver 150 g de BaCl₂·2H₂O en aproximadamente 500 ml de agua.

Mezclar las soluciones de PVP y cloruro de Bario y llevar a volumen de 1 litro con agua destilada. Filtrar la solución y guardar en una botella de color ambar en la refrigeradora (esta solución debería estar fría cuando se use).

Reactivos para la determinación de Boro (B)

C. Curcumina en HOAC

Disolver 0,10 g de Curcumina en 100 ml de ácido Acético Glacial.

D. H₂SO₄ concentrado.

E. Metanol o Etanol.

II. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION

1. Colocar 10 ml de suelo en un vaso de extracción y agregar 25 ml de la solución extractora.
2. Agitar durante 10 minutos (aproximadamente a 400 rpm).
3. Filtrar utilizando un papel filtro Whatman No. 2, 42 o equivalente.

III. PROCEDIMIENTOS ANALITICOS

Determinación de S. Procedimiento Turbidimétrico.

Tomar una alícuota de 10 ml del filtrado (II-3) y agregar 12 ml de solución ácida de inicio de reacción (A) y 8 ml del reactivo turbidimétrico (B). Mezclar bien y dejar reposar durante veinte minutos. Leer el porcentaje de transmitancia o la absorbancia en un espectrofotómetro (colorímetro) a 420 m μ , usando una cuveta de más o menos 2 cm de paso de luz.

Determinación de B

1. Tomar una alícuota de 1 ml del filtrado (II-3), agregar 8 ml de Curcumina en HOAc (C) y mezclar completamente.
2. Agregar 2 ml de H₂SO₄ concentrado (D), mezclar completamente y dejar en reposo durante unos minutos.
3. Tomar 2 ml de la mezcla antes mencionada (1, 2) y agregar 10 ml de Metanol o Etanol (E). Mezclar y dejar en reposo durante treinta minutos. Leer el porcentaje de transmitancia (%T) o la absorbancia en un espectrofotómetro (colorímetro) a 555 m μ .

NOTA: Los recipientes en los cuales se mezclan el filtrado con los reactivos de Curcumina y Acido Sulfúrico deben ser de plástico desechable, debido a que es muy difícil lavar bien estos recipientes, evitando así contaminaciones posteriores.

Patrón Concentrado de Azufre. 100 μ g S/ml

Colocar 0,5435 g de Sulfato de Potasio (K₂SO₄) seco, en un balón de 1 litro, disolverlo y llevar a volumen con solución extractora de Fosfato de Calcio.

Patrones Concentrados de Boro. 100 µg B/ml y 10 µg B/ml

Colocar 0,572 g de Acido Bórico (H_3BO_3) en un balón aforado de 1 litro. Disolver y llevar a volumen de 1 litro con la solución extractora de Fosfato de Calcio. Esta solución contiene 100 µg B/ml. Para preparar una solución de 10 µg B/ml, tomar 100 ml de la solución de 100 µg B/ml y diluir a 1 litro.

Curvas patrón de S y B

Utilizando la fórmula mencionada anteriormente, preparar curvas patrón de S, cubriendo el rango de 0 a 40 µg S/ml. Para boro, preparar la curva patrón cubriendo el rango de 0 a 2 µg B/ml; utilizando el patrón de 10 µg B/ml. Las curvas patrón deben recibir las mismas diluciones que los filtrados de las muestras.

ANÁLISIS QUÍMICO DE MUESTRAS DE TEJIDO VEGETAL

El siguiente sistema y los procedimientos que aquí se presentan para el análisis de tejido vegetal para poder evaluar la fertilidad del suelo, han sido elaborados de tal forma que los mismos aparatos múltiples, portavasos, bandejas, etc. pueden usarse tanto para análisis de suelos como también para análisis de tejido vegetal. El sistema utiliza diluciones comunes, alícuotas de reactivos comunes, recipientes de laboratorio comunes, etc. para ambos tipos de análisis y elimina las diluciones preparadas en frascos volumétricos. De esta manera, un laboratorio puede analizar fácilmente muestras de suelo un día y muestras de plantas el siguiente día o bien puede analizar ambas clases de muestras el mismo día sin necesidad de cambiar ninguno de los procedimientos de rutina. Existen algunas ventajas muy marcadas en que un programa de evaluación de fertilidad de suelos cuente con un laboratorio que tenga la capacidad para analizar ambos tipos de muestras. Estas ventajas son:

1. Los análisis de tejido vegetal proveen una fuente de información adicional en la evaluación de la fertilidad de suelos.
2. Los resultados de los análisis de tejido vegetal correlacionados y considerados conjuntamente con la información obtenida de los análisis de suelos, debería mejorar enormemente la utilidad de ambos datos en lo que se refiere a la evaluación de la fertilidad de suelos.
3. Teniendo un laboratorio con la suficiente capacidad para llevar a cabo ambos tipos de análisis sería factible una incrementación en

la eficiencia de dicho laboratorio, que a su vez ayudaría a disminuir por determinación la inversión hecha en las instalaciones y en el personal. Generalmente, la época de menor afluencia de muestras de suelos es la época de mayor afluencia de muestras de tejido vegetal.

I. PREPARACION DE LA MUESTRA

La muestra fresca de tejido vegetal debe secarse en una estufa con una corriente de aire forzado a una temperatura de 70°C. Posteriormente es molida en un molino Wiley de acero inoxidable, utilizando un tamiz de 20 mesh o de 40 mesh.

II. REACTIVOS

Preparación de las soluciones para digestión húmeda

Solución de Ceniza A:

1. Metanol ácido - agregar despacio y cuidadosamente 83 ml de H_2SO_4 concentrado de grado reactivo a más o menos 250 ml de Metanol en un frasco volumétrico pyrex de 1 litro. Dejar que se enfríe y llevar a volumen de 1 litro con Metanol.
2. El día en que se va a utilizar dicha solución, preparar suficiente solución de ceniza A agregando 3 ml de H_2O_2 al 30% por cada 12 ml de solución de Metanol ácido (1).

Solución de Ceniza B:

El día en que se va a utilizar dicha solución, preparar suficiente solución de ceniza B, mezclando igual volumen de H_2O_2 al 30% y de Metanol.

P R E C A U C I O N !!! Debe tenerse cuidado de que ninguna de las dos soluciones arriba mencionadas entre en contacto con la piel o la ropa.

Reactivo de Color para Fósforo

Solución A - Reactivo Concentrado:

1. Colocar 0,24 g de Tartrato doble de Potasio y Antimonio en un balón aforado de 1 litro y agréguesele alrededor de 400 ml de agua destilada. Añádase despacio, mientras se mezcla, 145 ml de H_2SO_4 concentrado. Dejar enfriar.
2. Disolver 7,5 g de Molibdato de Amonio en aproximadamente 300 ml de agua destilada.
3. Cuando la solución de ácido y de Tartrato doble de Potasio y Antimonio se ha enfriado, añadir la solución de Molibdato de Amonio y llevar a volumen de 1 litro con agua destilada.

NOTA: Esta solución es algo sensible al calor y a la luz; sin embargo, cuando se almacena en un refrigerador se conserva durante varios meses sin deteriorarse.

Solución B - Reactivo de Color para P:

1. El día en que se va a utilizar esta solución, diluir 150 ml de solución A a 1 litro con agua destilada. Luego mezclar alrededor de 1 g de ácido ascórbico.

Solución de Lantano al 1%

Humedecer 58,64 gramos de Oxido de Lantano, La_2O_3 , con aproximadamente 50 ml de agua destilada. Despacio y cuidadosamente agréguese 250 ml de HCl concentrado para disolver el La_2O_3 y luego llevar a volumen de 5 litros con H_2O destilada.

Reactivos para la Determinación de Nitrógeno Amoniacal ($\text{NH}_4\text{-N}$)

1. Fenol básico - disolver 100 g de NaOH en 1 litro de agua destilada. Dejar enfriar y añadir 140 ml de Fenol líquido al 92% ó 130 g de Fenol en cristales.
2. Solución NaClO - dilúyase 1 volumen de NaClO (clorox) al 5,25% con 9 volúmenes de agua destilada.

III. INCINERACION O DIGESTION DE LAS MUESTRAS

Puede usarse cualquiera de los dos métodos que se describen a continuación:

1. Procedimiento de Incineración en Seco

Pesar 1 g de la muestra de tejido vegetal dentro de un recipiente de evaporación, ya sea un crisol Gooch o un frasco pyrex Erlenmeyer de 50 ml, e incinerar de seis a diez horas en una mufla a una temperatura de 475° a 500°C . Enfriar y humedecer con agua destilada y luego agregar aproximadamente 2 ml de HCl concentrado. Evaporar muy lentamente en baño de maría o en una plancha caliente. Utilizando el dispensador múltiple, agregar 25 ml de una solución 1 N HCl y luego filtrar.

NOTA: El objeto de agregar HCl concentrado y evaporarla a sequedad es para deshidratar el elemento Si que pudiera interferir en la determinación de P y para disolver compuestos solubles difíciles de deshacer. En la mayoría de nuestras muestras este paso no ha sido necesario.

2. Procedimiento de Digestión Húmeda

Pesar 0,5 g de material vegetal que ha sido secado a 70°C, molido y pasado por un tamiz de 20 mesh o de 40 mesh dentro de un frasco tipo Florence de 50 ml (un frasco Erlenmeyer de 50 ml puede utilizarse si hay necesidad). Agregar 15 ml de solución de Ceniza A (Metanol ácido + H₂O₂ al 30%).

Colocar en una plancha caliente con la temperatura controlada para mantenerla a más o menos 350°F (177°C). Los gases deben extraerse del local donde se esté trabajando.

Permitir que reaccione hasta que el hervor ya no sea evidente. En este punto habrá más o menos 1 ml de solución en el fondo del frasco y normalmente será de color café claro a oscuro. Cuando la temperatura es correcta, se requieren de 30 a 45 minutos para llevar a esta etapa. Retirar los frascos de la plancha caliente y poner la temperatura a 450°F (232°C). Permitir que los frascos se enfríen un poco y agregar 5 ml de solución de Ceniza B (H₂O₂ al 30% + Metanol) lavando los lados del frasco.

Colocar nuevamente los frascos en la plancha caliente y permitir que reaccione hasta que el hervor no sea evidente. Esto generalmente requiere más o menos de 15 a 25 minutos. Remover de la plancha caliente, dejar enfriar y agregar 10 ml de agua destilada usando un dispensador. (NOTA: El dispensador del instrumento combinado diluidor-dispensador o un dispensador aparte puede usarse para esta operación). Agitar la solución para lavar los lados del frasco y filtrar utilizando un papel filtro Whatman No. 1, No. 2 o No. 42, u otro papel filtro equivalente. (NOTA: Como en la ceniza se queda 1 ml del ácido, el filtrado representa una dilución de 22 veces por 1 g de material vegetal seco).

IV. PROCEDIMIENTOS ANALITICOS

1. Tomar 1 ml de la alícuota del filtrado y agregar 24 ml de agua destilada.
2. Para determinar P, tomar 2 ml de alícuota de la dilución (1) y agregar 8 ml de agua destilada más 10 ml de reactivo B para desarrollar color. Dejar en reposo durante 30 minutos y leer el porcentaje de transmitancia o absorbancia o densidad óptica en un espectrofotómetro (colorímetro) a 660 o 680 mμ.

3. Para la determinación de Ca, tomar 2 ml de la alícuota de la dilución (1) y agregar 8 ml de H_2O destilada y 10 ml de solución de lantano al 1%. Analizar utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica.
4. Para la determinación de Mg, K y Na, tomar 1 ml de la alícuota de la dilución (1) y agregar 9 ml de solución de lantano al 1% y 15 ml de agua destilada. Analizar por medio de absorción atómica.
5. Para la determinación de Cu, Fe, Mn y Zn, se utiliza el filtrado original; analizar estos elementos por medio de absorción atómica.
6. El nitrógeno en forma amoniacal puede ser determinado usando la solución de digestión húmeda. La cantidad de nitrógeno encontrada es generalmente más baja que el N determinado por el método Kjeldahl, pero datos limitados indican que puede correlacionarse perfectamente con el estado de nitrógeno del material vegetal.

Para la determinación de NH_4-N , tomar 2 ml de la alícuota de la dilución (1) y agregar 10 ml de Fenol alcalino dejando reposar de 1 a 5 minutos. Agregar 10 ml de reactivo $NaClO$, dejar en reposo durante 1 hora y luego leer el porcentaje de transmitancia, absorbancia o densidad óptica en el espectrofotómetro a 630 m μ antes de 3 horas.

NOTA: Como la reacción con $NaClO$ es sensible a la luz, las soluciones no deben ser expuestas a la luz directa mientras el color está en proceso de desarrollo.

Soluciones Patrón para Análisis de Tejido Vegetal

1. Las soluciones patrón deben prepararse en una solución conteniendo 70 ml de H_2SO_4 por litro.

Para mayor conveniencia, los patrones de Cu, Fe, Mn y Zn pueden prepararse conjuntamente en la misma solución. Las concentraciones altas para estos elementos deben ser las siguientes:

2 μg Cu/ml, 20 μg Fe/ml, 15 μg Mn/ml, 3 μg Zn/ml

Los patrones de K, Mg y Na pueden prepararse conjuntamente en la misma solución con las siguientes concentraciones altas:

2500 μg K/ml, 500 μg Mg/ml, y 1000 μg Na/ml

Los patrones de P y de NH_4-N pueden prepararse conjuntamente en la misma solución con las siguientes concentraciones altas:

300 μg P/ml y 2500 μg N/ml

La solución patrón para Ca debe prepararse separadamente en una solución ligeramente ácida con unas pocas gotas de HNO_3 .

El Ca no se prepara en la solución con H_2SO_4 porque tiende a precipitarse después de un largo período de reposo. La concentración alta debe ser 1250 μg Ca/ml.

ANALISIS DE AZUFRE Y BORO EN TEJIDO VEGETAL

I. REACTIVOSSolución para Incineración

Nitrato de Magnesio en Metanol: Disolver 150 g de nitrato de Magnesio $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en aproximadamente 400 ml de Metanol. Llevar a un volumen final de 1 litro con Metanol.

Determinación de AzufreA. Solución ácida de inicio de reacción

Añadir 65 ml de HNO_3 concentrado y 250 ml de Acido Acético Glacial a más o menos 500 ml de agua. Añadir 2 ml de solución patrón a 1000 μg S/ml y llevar a volumen final de 1 litro.

B. Reactivo turbidimétrico

Disolver 10 g de "Polyvinylpyrrolidone" (PVP) K 30 en aproximadamente 100 ml de agua caliente. Disolver 150 gm de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en más o menos 500 ml de agua destilada. Mezclar el PVP y la solución de Cloruro de Bario y llevar a un volumen final de 1 litro con agua destilada.

Filtrar la solución y guardarla en una botella ambar en la refrigeradora.

Determinación de BoroC. Curcumina en HOAC

Disolver 0,10 g de Curcumina en 100 ml de Acido Acético Glacial.

D. H_2SO_4 concentrado

E. Metanol o Etanol.

II. INCINERACION DE LAS MUESTRAS

1. Pesar 0,25 gm de muestra de tejido vegetal, previamente molido, en un frasco Erlenmeyer de 50 ml, cuyo material no contenga boro (puede utilizarse material de vidrio Vycor).
2. Agregar 2 ml de una solución que contenga 15 gm de $MgNO_3$ en 100 ml de Metanol.
3. Evaporar la muestra hasta sequedad en una plancha caliente a baja temperatura, por ejemplo a $100^{\circ}C$.
4. Incinerar en una mufla a $450^{\circ}C$ por tres horas. (Precaución: La mufla necesita tener suficiente ventilación para que salgan libremente los gases del interior. La acumulación de gases puede causar una explosión).
5. Sacar de la mufla, enfriar a temperatura ambiente, agregar 25 ml de una solución que contenga una parte de Acido Acético Glacial y cinco partes de agua.
6. Agitar para disolver la ceniza y filtrar en papel filtro Whatman No. 1, No. 42, u otro de calidad similar.

III. PROCEDIMIENTOS ANALITICOS

Determinación de Azufre. Procedimiento turbidimétrico.

Tomar una alícuota de 10 ml de filtrado (II-6), agregar 10 ml de solución de inicio de reacción (A) y 4 ml del reactivo turbidimétrico (B). Mezclar cuidadosamente y dejar reposar durante veinte minutos. Leer el porcentaje de transmitancia o la absorbancia en un espectrofotómetro (colorímetro) a 420 m μ , usando una cuveta de más o menos 2 cm de paso de luz.

Determinación de Boro

1. Tomar una alícuota de 1 ml del filtrado (II-6), agregar 8 ml de Curcumina en HOAc (C) y mezclar completamente.
2. Agregar 2 ml de H_2SO_4 concentrado (D), mezclar completamente y dejar en reposo durante unos minutos.
3. Tomar 2 ml de la mezcla antes mencionada (1, 2) y agregar 10 ml de Metanol o Etanol (F). Mezclar y dejar en reposo durante treinta minutos. Leer el porcentaje de transmitancia (%T) o la absorbancia en un espectrofotómetro (colorímetro) a 555 m μ .

NOTA: Los recipientes en los cuales se mezcla el filtrado con los reactivos de Curcumina y ácido sulfúrico deben ser de plástico desechable, debido a que es muy difícil lavar bien estos recipientes, evitando así contaminaciones posteriores.

Soluciones Patrón de Azufre. Curva Patrón

Preparar una solución patrón concentrada de azufre que contenga 100 μg S/ml. De esta solución concentrada, tomar alícuotas para preparar una curva patrón que tenga un rango de concentración de 0 a 30 μg S/ml. Estas deben ser preparadas en una solución que contenga una parte de Ácido Acético glacial más cinco partes de agua. La curva patrón debe recibir las mismas diluciones y reactivos que los filtrados de las muestras. Estos patrones (0 a 30 μg S/ml) permiten determinar un rango de 0 a 0,30% de S en el tejido vegetal. Si la concentración de azufre es más alta que este rango, debe hacerse una dilución adecuada de el filtrado.

Soluciones Patrón de Boro. Curva Patrón.

Preparar soluciones patrón concentrado de 100 y 10 $\mu\text{g B/ml}$. De la solución de 10 $\mu\text{g B/ml}$ tomar alícuotas para preparar una curva patrón que tenga un rango de concentración de 0 a 2 $\mu\text{g B/ml}$. Estas deben prepararse en una solución que contenga una parte de Acido Acético Glacial más cinco partes de agua. La curva patrón debe recibir las mismas diluciones y reactivos que los filtrados de las muestras. Estos patrones (0 a 2 $\mu\text{g B/ml}$) permiten determinar un rango de 0 a 200 ppm de boro en el tejido vegetal.

TECNICAS DE LABORATORIO E INVERNADERO PARA ESTUDIOS DE NUTRIMENTOS

CON MIRAS A DETERMINAR LAS ENMIENDAS DE SUELO REQUERIDAS

PARA UN OPTIMO CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

Introducción

Un requerimiento fundamental en el establecimiento y mantenimiento de un programa efectivo de evaluación y mejoramiento de la fertilidad de suelos, es el de poder diagnosticar con exactitud el estado de fertilidad de los elementos nutritivos, que en el suelo afectan el crecimiento de las plantas. El estado de fertilidad de un elemento, depende de su disponibilidad en términos de un suministro adecuado o excesivo en relación a la necesidad de una especie o variedad de planta para que esta pueda mostrar todo su potencial genético de crecimiento y producción.

La disponibilidad de dicho elemento, está relacionada con las características físico-químicas del suelo, características de la planta y otros factores que también afectan el crecimiento como: temperatura, humedad, luz, control de plagas, etc.

Hace más de un siglo, Justus Von Liebig estableció la "Ley del mínimo". Esta ley no sólo se aplica a los factores que afectan a la fertilidad, sino a todos los factores que intervienen en el crecimiento. En resumen, dice lo siguiente: "Una planta, crecerá o producirá sólo hasta que el factor primario más limitante lo permita". Si dicho factor primario es corregido hasta un nivel adecuado, entonces, el siguiente factor limitante pasará a ser el primero, etc. Si se hace una detección y corrección de cada factor limitante, se establece una condición tal, que en último caso sólo el potencial genético de la misma planta puede ser limitante.

Con respecto a la producción de cultivos, la corrección de los factores limitantes dependerá no sólo de los recursos y medios económicos disponibles, sino también de la habilidad para hacerlo.

Desde luego, el régimen de fertilidad del suelo es sólo uno de los factores de crecimiento. Afortunadamente, los recursos y tecnología para la corrección de los problemas de la fertilidad del suelo están ahora disponibles o podemos hacerlos disponibles cuando la situación lo requiera. Cuando la corrección se hace dentro de los límites adecuados, es beneficiosa y esto no es solamente posible, sino atractivo en la mayoría de las situaciones.

Siendo este el caso, el primer problema en la fertilidad del suelo es el diagnóstico correcto del estado inicial de los elementos del suelo en un lugar específico y la determinación de las cantidades de materiales requeridas para llevar el nivel de fertilidad hasta un nivel adecuado y balanceado para el crecimiento y rendimiento del cultivo. Cuando se haya hecho esto, y no antes, se estudiará entonces, la factibilidad económica de llevar a cabo dicha corrección.

Debido al gran número de variables encontradas, las técnicas de diagnóstico para determinar el estado de fertilidad son y pueden ser en extremo variables. La mejor prueba de la efectividad de cualquier técnica usada en el diagnóstico y corrección de los problemas de fertilidad de suelos, es aquella que demuestra que su uso es capaz de eliminar la infertilidad del suelo como factor limitante en la obtención de abundantes cosechas.

Sin duda alguna, continuará el progreso en las técnicas de diagnóstico a medida que avanzan las investigaciones y las informaciones se

tornan más disponibles. De todas maneras, la técnica aquí presentada ha sido encontrada relativamente rápida, eficiente y efectiva en la evaluación de los problemas de fertilidad del suelo.

La técnica involucra el uso de ciertos procedimientos analíticos e interpretaciones para determinar el estado de los distintos elementos, a fin de corregir dicho estado y además para demostrar, mediante procedimientos usados en el invernadero, la efectividad de la interpretación de los resultados analíticos y de las medidas correctivas.

En el uso de esta técnica, se debe reconocer que el crecimiento bajo condiciones de invernadero no es comparable con el crecimiento bajo condiciones de campo, pero puede ser correlacionado con el crecimiento en el campo, cuando otro factor que no sea el estado de fertilidad del suelo sea más limitante que la misma fertilidad. Debe reconocerse, también, que esta técnica concierne a los requerimientos biológicos implicados en el buen desarrollo de las plantas y que no toma en consideración los factores económicos.

Esto quiere decir que los resultados obtenidos en el invernadero, deben ser usados como una guía en la planificación de experimentos de campo, efectivos y comprensibles, los cuales pueden ser utilizados en el reajuste del "nivel crítico" para interpretaciones económicas.

El uso del análisis de suelos como un medio para determinar el estado de fertilidad, en términos de disponibilidad adecuada o excesiva de los varios elementos presentes en el suelo para las plantas, está basado en la teoría de que existen ciertos "niveles críticos", en relación al método analítico utilizado. Cuando el nivel de un elemento medido en el suelo está por debajo de este "nivel crítico", el crecimiento de la

planta estará restringido por el grado en que ese elemento se encuentre por debajo de dicho nivel.

El suelo es un sistema físico, químico y biológico dinámico y complicado y por esta razón, los criterios de análisis, medida e interpretación no deben ser aplicados igual a todas las situaciones específicas. Por lo tanto, si dicho criterio de análisis provee de la suficiente habilidad para poder conocer la manera de corregir los problemas de fertilidad, entonces deberíamos considerar que sirve para un propósito útil.

A causa de las características dinámicas del suelo, cuando se le agrega algún material o elemento, éste estará sujeto a cambios físicos, químicos y biológicos debido al cambio en las reacciones que se llevan a cabo en su seno. Por esta razón, es de esperar que su disponibilidad para la planta varíe debido no sólo al elemento agregado sino también a los elementos que ya se encontraban presentes. Por conveniencia de expresión, este cambio o reactividad de los elementos, será llamado en esta metodología "Sorción".

Ya que la "sorción" afecta la disponibilidad de los elementos para las plantas, es necesario disponer de medios para determinar la capacidad de "sorción" de los suelos, para los principales elementos nutritivos.

Es de esperarse que, el nivel crítico de algunos elementos no podrá ser tan bien determinado como el de otros y esto dependerá de lo adecuado de los datos o métodos experimentales para hacerlo. En este caso, los niveles críticos se conocerán como D (deficiencia) o T (toxicidad). El nivel crítico D, en la mayoría de los casos, está mejor definido

que el nivel crítico T. Waugh, Cate y Nelson (ISFEI Boletín Técnico N°7, 1973, "Modelos Discontinuos para una Rápida Correlación, Interpretación y Utilización de los Datos de Análisis de Suelos y las Respuestas a los Fertilizantes"), definen el nivel crítico D y presentan un método para su determinación. Hay ciertas evidencias que indican que los niveles críticos pueden ser diferentes dependiendo del cultivo y del tipo de suelos. A causa de la insuficiencia de datos, se presentará aquí, sólo un nivel crítico D.

Esta técnica de diagnóstico de los problemas de fertilidad, utiliza los siguientes pasos que se discuten más adelante con mayores detalles.

1. Análisis preliminar de la muestra de suelo original
2. Estudios de "sorción"
3. Demostración, mediante técnicas de invernadero, del rango en que varios elementos limitan el crecimiento vegetativo.

ESTUDIOS DE LABORATORIO

Muestra de Suelo

La manera de cómo la muestra del suelo debe ser tomada depende del tipo de información deseada y cómo ésta será usada. En general, se deberá tomar la muestra de tal manera que sea representativa de la profundidad o área de la cual sea necesaria la información. Por ejemplo, si la información va a ser utilizada en el establecimiento de experimentos de campo o demostraciones, en los cuales se usarían prácticas normales de manejo, será suficiente una muestra compuesta representativa, del sitio donde se llevará a cabo la demostración.

Se requiere un volumen de dieciséis litros de suelo pasado a través de una malla de 2mm (10 mesh), para la técnica básica de diagnóstico. Una submuestra representativa de toda la muestra se enviará al laboratorio para su análisis y estudios de "sorción".

Análisis preliminar de la muestra de suelo original

La submuestra es analizada para P, K, Cu, Fe, Mn y Zn, usando el procedimiento de extracción modificado de bicarbonato de sodio. Se analiza, también para $N-NH_4$, acidez extraíble, Ca y Mg usando el procedimiento de extracción con KCl 1 N y para azufre y boro, usando el procedimiento de extracción con $CaH_4(PO_4)_2 \cdot H_2O$.

Además, se determina materia orgánica y pH. Si el pH está por encima de 8,2 o si se sospecha la presencia de sales solubles, se procederá a determinar el sodio extraíble en KCl 1 N y la conductividad eléctrica.

Los suelos que tengan alto contenido de sales deberán ser tratados de tal manera que las sales sean eliminadas, antes de proseguir con estudios posteriores.

Estudios de "Sorción"

Estos estudios se llevan a cabo añadiendo al suelo, en una solución, distintas cantidades y niveles de elementos. La cantidad de solución agregada es suficiente para saturar completamente la muestra de suelo y dejar un ligero exceso cubriéndola. Esto producirá una condición anaeróbica en la muestra durante algunas horas. El recipiente que contiene la muestra se deja destapado hasta que ésta se seque, lo que usualmente toma alrededor de cuatro días. Este sistema permite que los

elementos reaccionen con el suelo bajo una condición de humedad hasta la sequedad, lo que reduce en un corto período de tiempo las reacciones que se llevan a cabo cuando esto sucede a nivel de campo.

Procedimiento de Estudios de "Sorci3n" para P, K, Cu, Mn y Zn

Preparaci3n de las Soluciones de "Sorci3n"

Soluci3n A

1. Disolver 7,20 g de $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ en aproximadamente 200 ml H_2O .
2. Disolver 2,14 g de $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ en aproximadamente 200 ml H_2O .
3. Disolver 3,34 g de $ZnCl_2$ en aproximadamente 200 ml H_2O .

Nota: Pueden utilizarse las cantidades adecuadas de nitratos o sulfatos, en lugar de cloruros.

4. Mezclar las 3 soluciones anteriores y completar el volumen a 1 litro. Esto dar3 una soluci3n conteniendo las siguientes concentraciones:

Cu = 800 $\mu g/ml$

Mn = 2000 $\mu g/ml$

Zn = 1600 $\mu g/ml$

Nota: Si la soluci3n final est3 turbia, agregar unas cuantas gotas de HCl concentrado s3lo hasta solubilizar el precipitado.

Soluci3n B

1. Disolver 6,15 g de KH_2PO_4 en aproximadamente 1500 ml de agua en un bal3n aforado de 2 litros.
2. Agregar 100 ml de la soluci3n A al bal3n aforado con la soluci3n de KH_2PO_4 y completar el volumen hasta 2 litros con agua destilada. La soluci3n B contendr3 las

siguientes concentraciones:

P = 700 $\mu\text{g/ml}$

Cu = 40 $\mu\text{g/ml}$

Mn = 100 $\mu\text{g/ml}$

Zn = 80 $\mu\text{g/ml}$

K = 2,27 meq/100 ml.

Soluciones para los Tratamientos de "Sorci3n"

Preparar una serie de cinco tratamientos de suelo como se indica en el Cuadro 1 por diluci3n de las cantidades indicadas de la soluci3n B a 100 ml.

Cuadro 1.

Tratamiento de "Sorci3n" N ^o	ml de Sol. B Diluidos a 100 ml	Concentraci3n de Elementos en las Soluciones de Tratamiento de "Sorci3n"				
		P	Cu	Mn	Zn	K
		$\mu\text{g/ml}$				meq/100 ml
1	5	35	2	5	4	0,11
2	10	70	4	10	8	0,22
3	20	140	8	20	16	0,45
4	40	280	16	40	32	0,90
5	80	560	32	80	64	1,80

Establecimiento del Estudio de "Sorci3n" para P, K, Cu, Mn y Zn

El estudio puede llevarse a cabo en los recipientes usados para an3lisis de rutina. Se usar3n 11 recipientes, el cual es un n3mero suficiente para hacer cinco tratamientos con dos repeticiones y un testigo.

Agregar 2,5 ml de suelo a cada uno de los once frascos. Usar el frasco N° 1 como testigo y agregar sólo 2,5 ml de agua destilada.

Agregar 2,5 ml de la solución de "sorción" 1 a los frascos N° 2 y 7.

Agregar 2,5 ml de la solución de "sorción" 2 a los frascos N° 3 y 8.

Agregar 2,5 ml de la solución de "sorción" 3 a los frascos N° 4 y 9.

Agregar 2,5 ml de la solución de "sorción" 4 a los frascos N° 5 y 10.

Agregar 2,5 ml de la solución de "sorción" 5 a los frascos N° 6 y 11.

Después de que todas las soluciones han sido agregadas al suelo, se agita suavemente los frascos para que toda la solución se mezcle con el suelo. Luego se dejan los frascos destapados en un lugar libre de polvo hasta que su contenido esté seco, lo que generalmente toma de tres a cuatro días.

Análisis y Estudio de "Sorción" para P, K, Cu, Mn y Zn

Después que las muestras se han secado al aire, agregar 25 ml. de la solución extractora modificada de NaHCO_3 ; agitar durante diez minutos y filtrar. Analizar los varios elementos en el filtrado utilizando el procedimiento rutinario para cada uno de ellos.

(Nota: Se espera que algunos de los tratamientos excederán el rango de concentraciones establecidos para análisis de rutina; sin embargo, no hay necesidad de medir concentraciones más allá de ese rango).

Procedimientos para Estudio de "Sorción" de B y S

Preparación de las Soluciones de "Sorción"

Solución C

Poner unos 500 ml de agua destilada en un volumétrico de 1 litro. Agregar 5,44 g de K_2SO_4 y 0,88 g de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$. Disolver bien y

completar el volumen. Esta solución contendrá 1000 μg S/ml y 100 μg B/ml.

Soluciones para los Tratamientos de "Sorci3n"

Preparar una serie de soluciones como se indica en el Cuadro 2, a base de la soluci3n C, para obtener 5 soluciones de tratamientos.

Cuadro 2.

Tratamiento de "Sorci3n" N°	ml de Sol. C Diluidos a 100 ml	Concentraci3n de Elementos en las Soluciones de Tratamiento de "Sorci3n"	
		<u>S</u> $\mu\text{g}/\text{ml}$	<u>B</u>
1	1	10	1
2	2	20	2
3	5	50	5
4	10	100	10
5	20	200	20

Establecimiento del Estudio de "Sorci3n" para B y S

El estudio de sorci3n para B y S se lleva a cabo de igual manera que para los otros elementos, con la excepci3n de que el volumen de suelo y de la soluci3n es de 10 ml cada uno.

Análisis y Estudio de "Sorci3n" para B y S

Despu3s que las muestras se han secado al aire, se realiza la extracci3n y análisis de rutina para B y S.

Cuadro 3. Los resultados de los Estudios de "Sorci3n"

Cómputo de los Resultados de los Estudios de "Sorción"

Se construyen gráficos para cada elemento y en uno de los ejes se marca la cantidad de elemento extraído y en el otro, la cantidad de elemento agregado. La cantidad de elemento agregado es igual a la concentración de las soluciones utilizadas en el trabajo de sorción (Cuadros 1 y 2). Una curva de sorción típica para P se ilustra en la Figura 1. Estas curvas de sorción se utilizarán para determinar la cantidad de elementos a agregar en los estudios de invernadero.

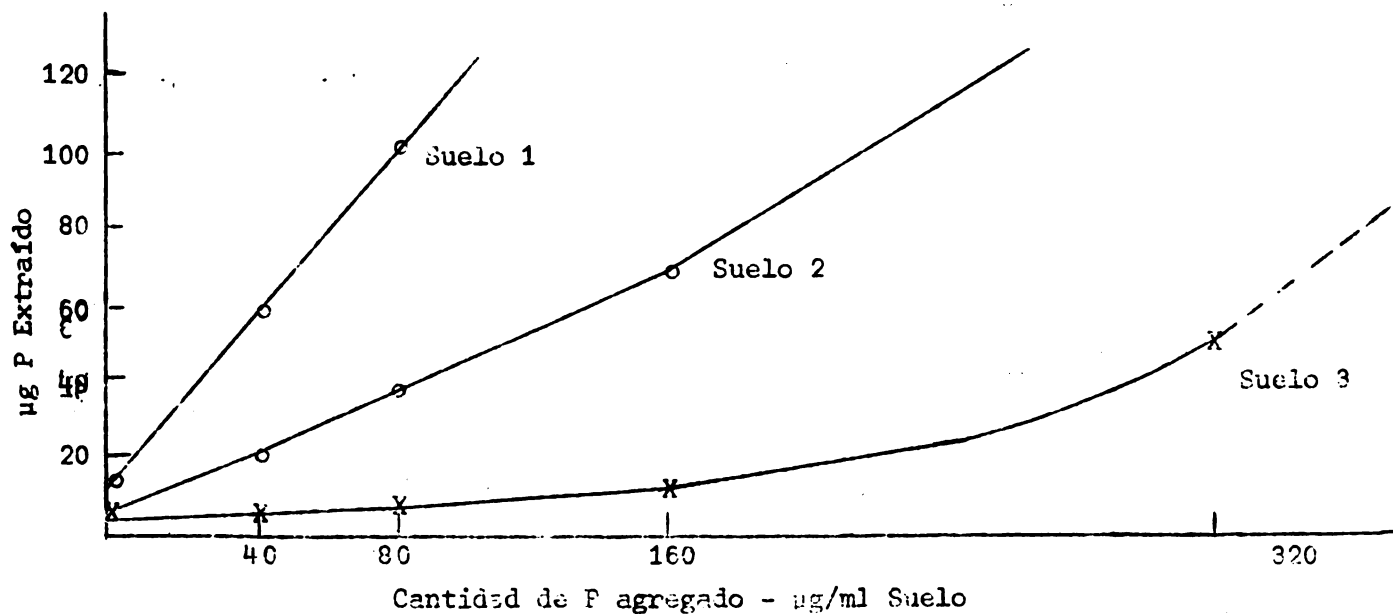


Fig. 1. Curvas Típicas de Sorción para P en diferentes Suelos.

ESTUDIOS DE INVERNADERO

Determinación de las Cantidades de Elementos a Ser Usados en elTratamiento Optimo

Excepto para N y Mo, el tratamiento óptimo deberá estar basado en los datos obtenidos del laboratorio. Constrúyanse las curvas de sorción para P, K, Cu, Mn, Zn, S y B. Si la cantidad de elemento extraído del suelo original está por debajo de tres veces el nivel crítico-D, entonces debe agregársele la cantidad de ese elemento necesario para obtener tres veces el nivel crítico, usando para ello las curvas de sorción construidas.

A continuación se da una lista de niveles críticos-D tentativos para los siguientes elementos:

P = 12 μg P/ml de suelo

K = 0,20 meq K/100 ml de suelo

Cu = 1 μg Cu/ml de suelo

Mn = 5 μg Mn/ml de suelo

Zn = 3 μg Zn/ml de suelo

S = 12 μg S/ml de suelo

B = 0,2 μg B/ml de suelo

Requerimiento de Cal

El requerimiento de cal puede basarse en el siguiente criterio. Si la acidez extraíble es mayor de 0,2 meq acidez/100 ml de suelo, entonces se agregará Ca CO_3 en polvo en una relación calculada con la siguiente fórmula:

meq acidez/100 ml suelo X 0,10 = g CaCO₃/100 ml suelo

(Es preferible no usar dolcmita en estos estudios para poder ver por separado los efectos de calcio y magnesio).

En adición al criterio expresado anteriormente, deberá agregarse Ca, Mg y K para tener los siguientes requerimientos. En suelos arenosos, si la cantidad de calcio extraída de la muestra original (más la cantidad agregada según el requerimiento de cal) es menor de 2,5 meq Ca/100 ml de suelo, entonces se agregará suficiente CaCO₃ hasta obtener 2,5 meq Ca/100 ml de suelo. En suelos de otra textura se agregará suficiente CaCO₃ para obtener 4 meq Ca/100 ml de suelo.

En suelos arenosos, si la cantidad extraída de Mg de la muestra original es menor de 1 meq Mg/100 ml de suelo, entonces se agregará suficiente MgO para obtener 1 meq Mg/100 ml de suelo. En suelos de otras texturas se agregará suficiente MgO para obtener un total de 1,5 meq Mg/100 ml de suelo.

Después que se han llenado esos requisitos, si la relación Ca/mg está por debajo de 1,2 o por encima de 6,2, entonces se debe agregar más Ca o Mg hasta estar dentro de esos límites. Si la relación Mg/K está por debajo de 1,6 o por encima de 14, entonces se agregará suficiente cantidad de K o Mg hasta estar dentro de esos límites.

0,05 g CaCO₃ agregados a 100 ml de suelo = 1 meq Ca/100 ml de suelo
 0,02 g MgO agregados a 100 ml de suelo = 1 meq Mg/100 ml de suelo

Si la cantidad de Fe extraído de la muestra original es menor que 10 µg/ml de suelo se deberá agregar 20 µg Fe/ml de suelo. El hierro no actúa muy bien en este tipo de estudio de sorción por lo cual no es utilizado.

Casi todos los suelos necesitan N además del que tienen, por lo cual este elemento se agrega en una proporción de 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de suelo. En adición a esto se usa 1,5 g de $\text{NH}_4\text{NO}_3/5$ litros en el agua destilada de irrigación.

No existe un método rápido y eficaz para la determinación de molibdeno por lo que su estado deberá determinarse por separado en un tratamiento especial de la misma manera como se hizo para los otros elementos.

En adición a lo descrito para el tratamiento óptimo (tratamiento N° 1) se establecerán otros trece tratamientos para determinar el estado de cada uno de los elementos esenciales y el estado de fertilidad del suelo original sin ningún tratamiento. Los tratamientos dos hasta 13 recibirán igual adición de elementos como se hizo para el óptimo, excepto que no se agregará el elemento que está siendo probado cuando existan cantidades adecuadas en la muestra de suelo original.

Cuadro 3. Cantidad de elemento agregado al tratamiento cuando no se agrega el elemento al óptimo.

Tratamiento N°	Descripción	Cantidad de elemento agregado por 100 ml de suelo si no fuera agregado al óptimo
1	Optimo	
2	Opt. + Ca	0,05 g CaCO_3 = 1 meq Ca/100 ml suelo
3	Opt. + Mg	0,02 g MgO = 1 meq Mg/100 ml suelo
4	Opt. - N	No se agregará N al agua de irrigación
5	Opt. + P	100 μg P/ml suelo
6	Opt. + K	0,2 meq K/100 ml suelo
7	Opt. + B	2 μg B/ml suelo
8	Opt. + Cu	2 μg Cu/ml suelo

.....

Cuadro 3 (continuación)

Tratamiento Nº	Descripción	Cantidad de elemento agregado por 100 ml de suelo si no fuera agregado al óptimo
9	Opt. + Fe	20 µg Fe/ml suelo
10	Opt. + Mn	30 µg Mn/ml suelo
11	Opt. + Mo	2 µg Mo/ml suelo
12	Opt. + S	50 µg S/ml suelo
13	Opt. + Zn	10 µg Zn/ml suelo
14	Testigo	Nada agregado

Establecimiento de los tratamientos del suelo

El estudio de invernadero es, realmente, un reconocimiento preliminar del estado de fertilidad del suelo por lo que un mínimo de tres repeticiones son adecuadas para este fin. Si se necesita más información detallada de un elemento, entonces se puede aumentar el número de repeticiones.

El volumen de suelo requerido por maceta en este estudio ha sido estudiado en rangos que varían desde 50 ml hasta 2 litros. Cuando se usa el mismo número de plantas por 100 ml y cuando la humedad es mantenida a un rango óptimo, los resultados son comparables entre todos los volúmenes de suelo. Por conveniencia en el establecimiento de este estudio, se ha escogido un volumen de 150 ml por maceta.

Para tres repeticiones se colocan 450 ml de suelo secado al aire en cada una de las 14 bolsas plásticas de tamaño adecuado. La cantidad de CaCO_3 y MgO para cada tratamiento es agregado al suelo en las bolsas plásticas y luego, mezclando perfectamente. Es más conveniente

agregar después los otros elementos en solución.

El Cuadro 4 indica la cantidad de elementos y compuestos requeridos para la preparación de las soluciones madres que serán usadas en los varios tratamientos. El formulario adjunto puede ser usado para anotar las cantidades de ml de solución madre requeridas en cada tratamiento.

Una manera rápida y efectiva para aplicar las soluciones al suelo, consiste en mezclarla en Beakers individuales y luego agregarlas a cada muestra de suelo contenida en las bolsas plásticas. Después que se agrega cada una de las soluciones a los distintos tratamientos, se deja secar al aire sin mover o agitar el suelo. La bolsa plástica debe estar abierta. Cuando el suelo está seco, se rompen los agregados formados por la humedad hasta su tamaño de tamizado y se mezcla de nuevo el suelo, de manera que quede completamente homogenizado.

El Suelo en los Vasos

Cuando se usa un volumen pequeño de suelo, como 150 ml, en estudios de invernadero normalmente se dificulta el mantener un adecuado sistema de irrigación, a menos que éste se haga por capilaridad.

Un sistema de riego por capilaridad que se ha probado que es muy satisfactorio, es el siguiente: Un filtro de cigarrillo de 1/2 x 15 cm hecho de fibra de celulosa actúa muy bien como tubo capilar y proporciona un eficaz movimiento de agua desde el recipiente de irrigación hasta el suelo. Vasos plásticos de 6-8 onzas de capacidad (200 ml) hechos de "styrofoam" (espuma plástica) sirven bien para nuestros propósitos, y además no permiten el paso de la luz. Son baratos y fácil de usar. Se

Cuadro 4. Cantidad de elementos y compuestos utilizados en la solución madre a ser usada en los tratamientos de suelo.

Elemento	Compuesto químico	Peso Molecular	Elementos por litro de sol. madre g	Compuestos por litro de sol. madre g	Cantidad del elemento agregado al suelo cuando un mililitro de la solución madre es agregado a 100 ml de suelo
N	NH_4NO_3	80,05	5	14,29	50 $\mu\text{g/ml}$ suelo
P	Conc. 85% H_3PO_4	98,00	10	37,22	100 $\mu\text{g/ml}$ suelo
K	KCl	74,56	7,8	14,90	9,2 meq/100 ml suelo
Mn	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	197,91	3	10,81	30 $\mu\text{g/ml}$ suelo
Cu	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	170,52	0,2	0,54	2 $\mu\text{g/ml}$ suelo
Zn	ZnCl_2	136,29	1	2,08	10 $\mu\text{g/ml}$ suelo
S	Conc. 96,5% H_2SO_4	98,08	3	9,50	30 $\mu\text{g/ml}$ suelo
B	H_3BO_3	61,84	0,2	1,15	2 $\mu\text{g/ml}$ suelo
Mo	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1235,95	0,2	0,37	2 $\mu\text{g/ml}$ suelo
Fe	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	270,32	2	9,68	20 $\mu\text{g/ml}$ suelo

hace un agujero en el fondo del vaso con un taladrador de corchos, algo menor que el diámetro del filtro de cigarrillos; insertándose éste a unos 3,2 cm dentro del vaso. La distancia de inserción debe ser igual en todos los vasos.

Los recipientes para el agua o la solución de NH_4NO_3 deben ser de plástico, de unos 15 cm de profundidad, con suficiente área para colocar encima los vasos con los doce tratamientos y suficiente espacio entre ellos. Antes de colocar los vasos que contienen el suelo deberá perforarse doce agujeros espaciados igualmente en una plancha de madera de manera que tape el recipiente y pueda introducirse por esos agujeros el otro extremo del filtro que estará en contacto con el agua o la solución de NH_4NO_3 . Cada tratamiento de suelo es dividido en volúmenes iguales, dependiendo del número de repeticiones, y colocado en vasos individuales que han sido marcados con el número de suelo y número de tratamiento. Cada repetición de los doce tratamientos de suelo que reciben nitrógeno serán colocados encima de un recipiente. Estos recipientes serán llenados con la solución de NH_4NO_3 , hasta 2,5 cm del borde. Los dos tratamientos que no llevan N (el testigo y el tratamiento-N) serán colocados en otro recipiente con agua destilada.

Siembra

Plantas como sorgo, arroz, trigo, girasol, maíz, rábanos, nabos o tomates, han sido usadas como plantas indicadoras en esta técnica. Quizás no haya una planta que sea la mejor indicadora para todos los elementos, pero el sorgo parece ser una de las mejores, siendo sensitiva a la mayoría de las deficiencias, crece rápido, tiene semillas pequeñas y crece bien en un amplio rango de condiciones climáticas.

La población de plantas debe ser lo suficientemente grande como para poner al suelo en un estado de sobrecarga de suministro de los distintos elementos. Un número adecuado para 150 ml es de 5 ó 6. Es deseable también tener este número para minimizar la variación genética entre cada planta del vaso.

Las semillas que germinan rápido como sorgo, nabo, rábanos, etc., deben plantarse directamente en los vasos; las que germinan más lentamente como el tomate, tabaco, girasol, etc., deberán ponerse a germinar en arena húmeda y luego transplantarse a los vasos.

Si se usa sorgo, distribúyase unas 10 semillas en la superficie del suelo de cada vaso y con la punta de un lápiz o un palillo, entiérrelos a 1 cm de profundidad.

Irrigación

Agregar suficiente agua destilada al suelo, como para mojar 3/4 del volumen. Cubra los vasos con un plástico u otro material para evitar la evaporación, hasta que las semillas hayan germinado. Agregar más agua destilada si es necesario.

Después que las plantas han emergido por lo menos 2,5 cm, llenar los recipientes con la solución de NH_4NO_3 o agua destilada, hasta 2,5 cm del borde. Colocar los vasos con las plantas encima del recipiente sobre el soporte de madera y asegurarse de que los filtros quedan sumergidos en la solución; de esta manera se provee irrigación por capilaridad.

Las soluciones en los recipientes deben ser cambiadas cada dos semanas. Si es necesario, agregar más solución para mantener por lo menos 2,5 cm o más los filtros dentro de la solución.

Raleo

Dos días después que las plantas han sido colocadas en la solución, raleo el número de plantas de cada vaso y dejar un número uniforme en cada uno de ellos, generalmente cinco o seis.

Observaciones y Cosecha

Durante el período de crecimiento, proteja las plantas contra los insectos, pájaros, etc. y anotar cualquier anomalía que pueda ocurrir.

El sorgo generalmente adquiere el máximo crecimiento, bajo estas condiciones, a las cuatro o cinco semanas dependiendo de la temperatura y horas luz. Las plantas deben ser cosechadas tan pronto como las mejores plantas hayan detenido su crecimiento. Cortar las plantas 1 cm por encima de la superficie del suelo y secarlas en una estufa con ventilación forzada a 70°C. Pesar el material seco para comparar la producción de materia seca de las plantas con respecto al tratamiento óptimo. Para la interpretación de los resultados, cada tratamiento deberá compararse con el tratamiento óptimo (número 1). La materia seca de las plantas puede ser molida en un molino de acero inoxidable para el análisis de todos los elementos.

USO DE DATOS DE INVERNADERO PARA LA DETERMINACION DE

NIVELES CRITICOS DE ELEMENTOS

1. El rendimiento en materia seca del tratamiento óptimo, tratamiento que se obtiene para cada suelo en base de los resultados de su análisis y de sus curvas de sorción, tiene que ser superior a cierto mínimo. La obtención de este rendimiento mínimo, depende del grado de experiencia que se tenga en la realización de pruebas de invernadero y de los siguientes aspectos: (a) localización y orientación del invernadero; (b) volumen de suelo usado; (c) variedad y clase de planta indicadora usada, (d) número de plantas por vaso o maceta; (e) sistema de riego; (f) longitud del período de crecimiento; (g) control de los factores climáticos, etc.
2. El rendimiento del óptimo predicho tiene que ser (Coeficiente de variación alrededor del 10%) igual o mayor al del rendimiento de cualquier otro tratamiento. En este caso, el tratamiento óptimo sería el "óptimo verdadero o real".
3. Si el criterio antes mencionado en (2) se satisface, entonces el porcentaje de rendimiento (% Y) se calcula utilizando la siguiente fórmula:

$$\% Y = \frac{\text{Tratamiento + el elemento con todos los otros factores al óptimo}}{\text{Tratamiento óptimo}} \times 100$$

4. Por medio del estudio y selección de los datos de los rendimientos relativos (% Y) obtenidos con los diferentes tratamientos, se deben separar los rendimientos que indiquen que hubo una respuesta positiva, de aquellos que acusen una respuesta negativa.
5. Para determinar el nivel crítico de deficiencia (D), hay que construir una gráfica de Cate y Nelson, ploteando en el eje de las abscisas los rendimientos relativos (% Y) de todos los rendimientos con respuesta (abajo del 80% Y) y sin respuesta (entre 80% y 100% de Y) y en el eje de las ordenadas los resultados del análisis químico del suelo original, cuyos valores de análisis comienzan en cero hasta el límite superior de la banda del óptimo, para cada elemento.
6. Para determinar el nivel de toxicidad (T), hay que construir una gráfica de Cate y Nelson, ploteando en el eje de las abscisas los rendimientos relativos (% Y) de todos los rendimientos con respuesta negativa (abajo del 80% de Y) y con respuesta positiva (arriba del 100% de Y) y en el eje de las ordenadas los resultados del análisis químico del suelo original, con los valores de análisis que comienzan en la mitad de la banda del óptimo en adelante, para cada elemento.
7. Una condición que hay que cumplir para poder determinar el nivel crítico de deficiencia (D), es que se debe trabajar con una gama de suelos de bajo a alto contenido natural de cada uno de los elementos nutritivos que se desee estudiar.

REFERENCIAS UTILES PARA UN LABORATORIO DE
ANALISIS DE SUELOS Y TEJIDO VEGETAL

1. BLACK, C. A. et al. eds. Methods of soil analysis. II. Chemical and microbiological properties. Madison. ASA. Agronomy no. 9. 1965. pp. 771-1572.
2. CHAPMAN, H. D. y PRATT, P. F. Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas. Trad. del inglés por Agustín Coutin. México, D.F., Trillas, 1973. 195 p.
3. GUITIAN OJEA, F. Técnicas de análisis de suelos; experiencias de campo. Madrid. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Monografías de Ciencia Moderna no. 70. 1964. 165 p.
4. JACKSON, M. L. Análisis químico de suelos. 3a. ed. Trad. del inglés por José Beltrán Martínez. Barcelona, Omega, 1976. 662 p.
5. LOPEZ RITAS, J. El diagnóstico de suelos y plantas. 2a. ed. Madrid, Mundi-Prensa, 1972. 286 p.
6. RICHARDS, L. S., ed. Suelos salinos y sódicos. 6a. ed. Trad. del inglés por Nicolás Sánchez Durón, Enrique Ortega Torres, Rodolfo Vera y Zapata y Rodolfo Chena González. México, D.F., Limusa, 1973. 172 p.
7. SAIZ DEL RIO, J. F. y BORNEMISZA S., E. Análisis químico de suelos; Métodos de laboratorio para diagnosis de fertilidad. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1961. 107 p.
8. WALSH, L. M. y BEATON, J. D., ed. Soil testing and plant analysis. Rev. ed. Wisconsin, SSSA, 1973. 491 p.