



## PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS A CAMPO Y SU POSTERIOR MANEJO EN LABORATORIO PARA LA OBTENCIÓN DE DATOS DE NODULACIÓN.

Santa Cruz de la Sierra – BOLIVIA

Marzo de 2006

***Importante:*** Las muestras que arriban de campo deben procesarse con celeridad. Tómese en cuenta que una vez retirado el follaje tanto raíces como nódulos dejan de funcionar y se inicia su descomposición. Por ello conviene depositar las muestras con suelo en cuartos o cámaras frías y las muestras lavadas y nódulos en heladera a 4 - 10°C.

**EN CAMPO:**

**Momento del muestreo.-** Como regla general la fase de plena floración (R2) en soya es un buen momento de muestreo. Si se quiere una indicación temprana no conviene tomar muestras antes de los 20 dds (días después de la siembra) porque aún muchos nódulos son minúsculos. Fases posteriores a R2 presentan un mayor número de nódulos senescentes (color interior del nódulo virando de rojo a café) y un fácil desprendimiento de nódulos de la raíz, por lo que se deben extremar las precauciones en el manipuleo del bloque de suelo y en la celeridad de procesamiento de las muestras.

**Elección del sitio de muestreo.-** Se debe tomar la precaución de no tomar muestras en bajuras, franjas o puntos donde se hizo quema de cordones o de rastrojo, áreas enmalezadas o cualquier otra situación de desuniformidad del lote. Sobre las áreas uniformes del lote es preferible seleccionar las más próximas a los accesos de vehículo, ya que el volumen de suelo extraído por muestra es considerable.

**Unidad muestral.-** En nuestra experiencia son pocos los campos que presentan al momento del muestreo una uniformidad razonable de plantas por metro lineal. Esto hace que una aleatorización completa en el sitio de muestreo elegido aumente la variación por causas ajenas a las estudiadas. Para reducir estas se define como unidad muestral **un bloque de suelo de 20 (ancho) x 30-40 (largo) x 15 cm (profundidad) que contenga 4-5 raíces de plantas bien distribuidas y uniformemente desarrolladas.** Pequeñas variaciones en las dimensiones del bloque de suelo no tienen gran incidencia en los datos obtenidos ya que la nodulación se concentra en torno a la raíz principal y cerca del cuello de la planta. Sí incide el número de raíces extraídas por lo que **se deben tomar todas las muestras con el mismo número de raíces.**

**Elección de los puntos de muestreo.-** Es más operativo a campo muestrear a lo largo de un surco de siembra y, de ser posible, que corresponda al mismo tacho de la sembradora para todos los tratamientos. Definido dicho surco, los puntos de muestreo se toman con separación de al menos 20 m y **donde se encuentre en 30-40 cm las 4 (o 5) plantas bien distribuidas y uniformemente desarrolladas.** Estas condiciones no son comunes en los campos sojeros bolivianos, por lo que la elección del sitio de muestreo es morosa.

**Repeticiones.-** Generalmente tomamos 6 muestras/tratamiento. Esta cantidad está más determinada por la capacidad de procesamiento de las muestras en laboratorio que por consideraciones matemáticas. La limitante principal es el lavado inicial (hemos procesado adecuadamente 12 muestras/día).

**Toma de la muestra.-** En el punto elegido, se limpia la superficie, se corta y retira el follaje de las plantas elegidas, se marca el área del bloque, se corta el bloque de suelo, se lo coloca cuidadosamente en una bolsa plástica y, finalmente, se identifica la muestra. Las muestras se retiran del campo para procesarlas en laboratorio.



## EN LABORATORIO

**Lavado inicial de la muestra.-** Tiene por objeto retirar todo el suelo. La muestra se coloca en una malla plástica (tela de mosquitero) y se la deja en remojo; luego se la lava con agua a presión. En la malla queda retenido: nódulos sueltos, nódulos en raíces y raicillas, rastrojo, semillas, insectos diversos, otros. Las raíces con nódulos se colocan en una bolsa plástica que **mantiene la identificación de la muestra** y en la que **se anota el número de raíces principales** (a pesar del cuidado tomado al tomar la muestra a campo ocurren errores y se toman muestras con más o menos plantas). El resto del material retenido (residuo) se coloca en otra bolsa que también **mantiene la identificación de la muestra**. Las bolsas se conservan en heladera

**Lavado final de la muestra.-** Tiene por objeto retirar todos los nódulos contenidos en el residuo de la muestra. Se preparan dos platos hondos con agua; preferentemente de fondo blanco. En uno se coloca un poco del residuo retenido. Ocurre una separación por densidad: raicillas con nódulos, semillas, insectos, restos vegetales y carbones flotan; arcillas, limos, arenas, gravas, arcilla quemada y nódulos sueltos van al fondo. Agitando y añadiendo agua con cuidado se retira el material flotante y la mayoría de limos y arcillas. En esta operación se debe tener el máximo cuidado para no perder nódulos que pueden estar adheridos a raicillas o atrapados en material flotante (al agitar el agua nódulos sueltos tienden a subir a la superficie). Ya con agua clara, con ayuda de una pinza se van retirando los nódulos al segundo plato con agua. La operación se repite poco a poco hasta agotar el residuo retenido. Finalmente se escurre el agua, se colocan los nódulos colectados en papel toalla y se guardan en una bolsa plástica **con la identificación de la muestra**. Se conservan en heladera.

**Clasificación y conteo de nódulos.-** A esta altura cada muestra cuenta con dos bolsas: una con raíces limpias con nódulos y otra con nódulos sueltos retirados del residuo. De las raíces se desprenden los nódulos presentes los que se suman a los nódulos sueltos del residuo. Por unos minutos se los coloca sobre un papel para secarlos al aire. Con la ayuda de zarandas ranuradas (ancho de ranura de 2 y de 4 mm) se separan en tres tamaños. Visualmente se termina la clasificación por tamaño. Se cuenta el número de nódulos de cada grupo: menores a 2 mm, de 2 a 4 mm y mayores a 4 mm. Se guardan por separado en pequeños sobres de papel en los que se anota: identificación de la muestra, categoría de tamaño y número de nódulos. Los datos de las bolsitas se registran en planillas. Hasta el secado de nódulos los sobres de papel se guardan en heladera.

**Secado de nódulos.-** Para secar los nódulos, los sobrecitos se colocan en estufa por 12 horas a 40°C. Se pesan los nódulos en balanza de precisión. La operación de pesado debe ser inmediata al retiro de los nódulos de la estufa para evitar errores por rehidratación de los nódulos. Los datos de peso seco se registran en planillas.



EN GABINETE:

**Cruce de registros.-** Para cada muestra y grupo de tamaño se calcula el valor de peso seco promedio del nódulo:  $\text{peso seco} / \text{número de nódulos}$ . Los valores de peso seco promedio de las diferentes muestras deben ser similares para las categorías de: nódulos menores a 2 mm y nódulos de 2 a 4 mm. (los valores para nódulos mayores a 4 mm son muy variables y también en muchas

muestras no hay nódulos de este tamaño). Valores discrepantes se ponen en duda hasta su recuento y/o repesaje.

**Parámetros.-** Consideramos al **peso seco de nódulos total** como el mejor parámetro de nodulación. Este parámetro en general tiene buena correlación con el **número de nódulos grandes (mayores a 2 mm)**. El número de nódulos total muchas veces esta muy influenciado por la cantidad de nódulos menores a 2 mm, que son de menor relevancia en la Fijación Biológica de Nitrógeno.

|    | A                               | B               | C                 | D                                  | E            | F                    | G   | H             | I                       | J       | K     | L      | M       | N     |
|----|---------------------------------|-----------------|-------------------|------------------------------------|--------------|----------------------|---|---------------|-------------------------|---------|-------|--------|---------|-------|
| 1  | Planilla de datos de nodulación |                 |                   |                                    |              |                      |   |               |                         |         |       |        |         |       |
| 2  |                                 |                 |                   |                                    |              |                      |   |               |                         |         |       |        |         |       |
| 3  |                                 |                 |                   | OKINAWA-1                          |              |                      | Datos de 4 plantas contiguas en 30-40 cm de surco |               |                         |         |       |        |         |       |
| 4  |                                 |                 |                   | lectura de nodulación; 18 ene 2006 |              |                      |   |               |                         |         |       |        |         |       |
| 5  |                                 |                 |                   |                                    |              |                      |   |               |                         |         |       |        |         |       |
| 6  | Parcela/rep.                    | Trat.           | Número de nódulos |                                    |              | Peso seco de nódulos |   |               | Peso seco x 100 nódulos |         |       |        |         |       |
| 7  |                                 |                 | chicos            | grandes                            | Total        | chicos               | grandes   | Total         | chicos                  | grandes | Total | chicos | grandes | Total |
| 8  |                                 |                 |                   |                                    |              |                      |   |               |                         |         |       |        |         |       |
| 9  | LOTE 1NORTE                     |                 |                   | VARIEDAD: CAICO-103                |              |                      | FASE FENOLOGICA: R-1                              |               |                         |         |       |        |         |       |
| 10 |                                 |                 |                   |                                    |              |                      |   |               |                         |         |       |        |         |       |
| 11 | <b>N2</b>                       |                 |                   |                                    |              |                      |   |               |                         |         |       |        |         |       |
| 12 | 1                               | 1N N2           | 212               | 162                                | 374          | 0.1360               | 0.8805  | 1.0165        | 0.0642                  | 0.5435  |       |        |         |       |
| 13 | 2                               | 1N N2           | 348               | 219                                | 567          | 0.2536               | 1.2452  | 1.4988        | 0.0729                  | 0.5686  |       |        |         |       |
| 14 | 3                               | 1N N2           | 434               | 242                                | 676          | 0.2725               | 1.4999  | 1.7724        | 0.0628                  | 0.6198  |       |        |         |       |
| 15 | 4                               | 1N N2           | 546               | 219                                | 765          | 0.4198               | 1.2933  | 1.7131        | 0.0769                  | 0.5905  |       |        |         |       |
| 16 | 5                               | 1N N2           | 267               | 256                                | 523          | 0.1870               | 1.5558  | 1.7428        | 0.0700                  | 0.6077  |       |        |         |       |
| 17 | 6                               | 1N N2           | 325               | 175                                | 500          | 0.2301               | 1.1038  | 1.3339        | 0.0708                  | 0.6307  |       |        |         |       |
| 18 | X                               |                 | 355.33            | 212.17                             | <b>567.5</b> | 0.2498               | 1.2631  | <b>1.5129</b> | 0.0696                  | 0.5935  |       |        |         |       |
| 19 |                                 | Dev. Típica     | 119.89            | 36.886                             | 137.66       | 0.097                | 0.251   | 0.296         |                         |         |       |        |         |       |
| 20 |                                 | Coef. Variación | 33.7%             | 17.4%                              | 24.3%        | 38.7%                | 19.9%   | 19.6%         |                         |         |       |        |         |       |
| 21 |                                 |                 |                   |                                    |              |                      |   |               |                         |         |       |        |         |       |
| 22 | <b>Rendimax</b>                 |                 |                   |                                    |              |                      |   |               |                         |         |       |        |         |       |
| 23 | 1                               | 1N R            | 480               | 141                                | 621          | 0.1611               | 0.4936  | 0.6547        | 0.0336                  | 0.3501  |       |        |         |       |
| 24 | 2                               | 1N R            | 486               | 88                                 | 574          | 0.2104               | 0.1538  | 0.3642        | 0.0433                  | 0.1748  |       |        |         |       |
| 25 | 3                               | 1N R            | 229               | 182                                | 411          | 0.1539               | 0.7128  | 0.8667        | 0.0672                  | 0.3916  |       |        |         |       |
| 26 | 4                               | 1N R            | 345               | 238                                | 583          | 0.2176               | 1.3292  | 1.5468        | 0.0631                  | 0.5585  |       |        |         |       |
| 27 | 5                               | 1N R            | 203               | 157                                | 360          | 0.1264               | 0.7313  | 0.8577        | 0.0623                  | 0.4658  |       |        |         |       |
| 28 | 6                               | 1N R            | 277               | 134                                | 411          | 0.2241               | 0.7799  | 1.0040        | 0.0809                  | 0.5820  |       |        |         |       |
| 29 | X                               |                 | 336.67            | 156.67                             | <b>493.3</b> | 0.1823               | 0.7001  | <b>0.8824</b> | 0.0584                  | 0.4205  |       |        |         |       |
| 30 |                                 | Dev. Típica     | 123.23            | 50.461                             | 111.52       | 0.040                | 0.386   | 0.394         |                         |         |       |        |         |       |

