

## DETERMINACION DE MATERIA ORGANICA EMPLEANDO EL METODO DE WALKLEY Y BLACK EN FRACCIONES GRANULOMETRICAS DEL SUELO

J A GALANTINI, R A ROSELL, J O IGLESIAS

Laboratorio de Humus (LAHBIS), Dpto. de Agronomía (UNS), 8000 Bahía Blanca, Argentina

### ORGANIC MATTER DETERMINATION IN SOIL GRANULOMETRIC FRACTIONS WITH THE WALKLEY AND BLACK METHOD

Differences in organic matter and/or carbon content obtained by comparing the wet (Walkley and Black) and dry combustion methods in texturally-different Haplustoll soils were studied. The wet combustion procedure requires oxidation coefficients to calculate the final values. It is recommended to utilize 0.90, 0.79 and 1.00 factors, instead of = 0.76 proposed for Walkley and Black, to estimate the organic carbon percentage in the 0-2000, 0-100 and 100-2000  $\mu\text{m}$  soil fractions, respectively, of the aforementioned soils.

**Key words:** Semi-arid region soils-Granulometric fractions-Organic carbon determination

### INTRODUCCION

La materia orgánica (MO) ha sido estudiada durante años por su relación con numerosas propiedades benéficas para el manejo y la fertilidad del suelo y para la productividad de los cultivos. En las regiones semiáridas la variabilidad de la textura puede dificultar la interpretación de los niveles obtenidos de MO (Quiroga *et al.* 1991, Buschiazzo *et al.* 1991).

El fraccionamiento de la MO o del carbono orgánico (CO) del suelo puede proveernos información sobre el ciclo de diferentes materiales orgánicos y sus características funcionales o estructurales (Cambardella, Elliott 1993). Los métodos clásicos de fraccionamiento, basados en la solubilización con extractantes químicos para obtener huminas, ácidos húmicos y fúlvicos, no han precisado el significado funcional de estas fracciones en la dinámica de la MO en los suelos cultivados (Tiessen, Stewart 1983).

Diferentes métodos de fraccionamiento granulométrico del suelo han sido propuestos para caracterizar la MO asociada a diferentes tamaños de agregados o de partículas (Richter *et al.* 1975, Turchenek, Oades 1979, Anderson *et al.* 1981, Tiessen, Stewart 1983, Dalal, Mayer 1986, 1987, Andriulo *et al.* 1990, Cambardella, Elliott 1992). Estos métodos han demostrado ser útiles para detectar diferencias en propiedades estructurales y dinámicas de la MO (Dalal, Mayer 1986, 1987, Christensen 1987, Elliott, Cambardella 1991, Bonde *et al.* 1992, Cambardella, Elliott 1993). Al fraccionar se separan compuestos orgánicos variables en su complejidad, en su grado de asociación con las partículas finas del suelo y en su contenido de CO, aspectos que deberían ser considerados cuando se estiman los valores de MO por el método de Walkley y Black (Nelson, Sommers 1982). Por ello, se plantea la hipótesis de que el método de Walkley y Black no brindaría resultados fehacientes al ser aplicado en diferentes fracciones granulométricas del suelo.

El objetivo del presente trabajo fue cuantificar la magnitud de los errores que pueden producirse al estimarse el contenido de MO por el método de Walkley y Black en diferentes fracciones granulométricas en suelos texturalmente diferentes en relación con los valores obtenidos por el método de combustión seca.

### MATERIALES Y METODOS

Se analizaron 27 suelos no cultivados (3 muestras compuestas de cada uno en 0-0,15 m) de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA)-Bordenave del INTA, ubicada en la Región Semiárida Bonaerense (Argentina) (35-41°S; 61-63°O).

El clima que domina a la región es continental templado; estando influido por condiciones ecológicas del tipo Bahía Blanca (Glave 1975). Las precipitaciones se concentran en otoño y primavera existiendo una estación seca a fines del invierno y otra semiseca a mediados del verano. La precipitación y la temperatura medias anuales son ca. 650 mm y 15 °C, respectivamente. Los suelos son Haplustoles énticos con un amplio intervalo de texturas, desde arenoso franco a franco arcilloso liviano (N. Amiotti, comunicación personal).

En un frasco de vidrio de 120 ml con tapa hermética se adicionaron 50 g de suelo, ca. 100 ml de agua destilada (relación 1:2) y 10 bolitas de vidrio, para incrementar la desagregación y reducir los posibles problemas creados por diferentes contenidos de arena (Elliott, Cambardella 1991). Se agitó vigorosamente durante 40 a 50 minutos para desintegrar los agregados y se pasó a través de un tamiz de 12 cm de diámetro y 0,1 mm de abertura de malla, lavando con agua destilada. Se recogieron en forma separada las dos fracciones (0-100 y 100-2000  $\mu\text{m}$ ) y se secaron a temperatura menor de 100°C.

Sobre las fracciones y la muestra original (0-2000  $\mu\text{m}$ ) se determinó por triplicado el contenido de CO (Nelson, Sommers 1982). Se obtuvieron de esta forma los contenidos de CO viejo o humificado (COV), joven (COJ) y total (COT) en las fracciones granulométricas 0-100, 100-2000 y 0-2000  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Sobre 12 de las muestras se determinó CO por el método de combustión seca, mediante un analizador de carbono Carlo Erba, en las fracciones 0-100 y 0-2000  $\mu\text{m}$ .

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presentan los valores medios de la fracción fina (FF) y del CO de las fracciones granulométricas separadas de los 27 suelos. Se incluyen los valores máximos y mínimos, su desvío estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV). El porcentaje medio de fracción fina (0-100  $\mu\text{m}$ ) fue 35,8%. La dispersión de los valores demuestra las diferencias texturales de los suelos. Variaciones de magnitud semejante se observaron en los contenidos de COV, COJ y COT.

El valor medio de COT determinado en la fracción 0-2000  $\mu\text{m}$  fue aproximadamente 10% superior al de la suma de las fracciones 0-100 y 100-2000  $\mu\text{m}$ . Estas diferencias podrían adjudicarse a la variabilidad textural, es decir que habría una protección variable a la oxidación de la MO, en función del contenido de material fino. Factores variables de la oxidación de la MO fueron obtenidos por otros autores y oscilaron entre 0,46 y 0,92 (Bremner, Jenkinson 1960, Kalembasa, Jenkinson 1973, Orphanos 1973, Richter *et al.* 1975).

En la Tabla 2 se presentan los valores medios de CO en las fracciones 0-100 y 0-2000  $\mu\text{m}$  de 12 muestras de suelos. Los valores obtenidos en la fracción 0-100  $\mu\text{m}$  no difirieron significativamente entre métodos. El factor de oxidación obtenido fue 0,79, factor utilizado para los cálculos posteriores, ya que es aconsejable utilizar un factor obtenido experimentalmente para las condiciones regionales (Nelson, Sommers 1982).

Cuando se consideran los valores obtenidos en el suelo no fraccionado (0-2000  $\mu\text{m}$ ) hay una sobreestimación de los valores de CO por el método de combustión húmeda. El valor promedio obtenido fue 17% mayor que con combustión seca, correspondiendo a un factor de oxidación de 0,90. La variabilidad de los factores fue marcadamente mayor para la fracción 0-2000  $\mu\text{m}$ .

No se encontraron diferencias significativas al comparar el COT por el método de combustión seca y el obtenido de la suma COV y COJ por combustión húmeda. Se utilizaron los factores 0,79 y 1,0 para la estimación del COV y COJ, respectivamente.

Tabla 1: Valores medios, máximos, mínimos, desvío estándar (DE) y coeficiente de variación (CV) de la fracción fina (FF) y del contenido de CO de 27 suelos de la Región Semiárida Bonaerense.

Valor	Frac. fina	COV (%)	COJ	COT		
				Calculado (Mg ha <sup>-1</sup> )	Determ.	Dif (%)
Medio	35,8	19,2	9,2	28,4	31,3	10
Mínimo	13,9	6,2	5,1		8,3	
Máximo	65,3	1,1	19,2		53,4	
DE	15,9	8,0	3,9		12,5	
CV	44,5	41,6	41,9		40,0	

COV, COJ y COT: carbono orgánico viejo, joven y total en las fracciones granulométricas 0-100, 100-2000 y 0-2000  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

Tabla 2: Valores medios de CO (g kg<sup>-1</sup>) determinados por combustión húmeda y seca en dos fracciones de suelo (0-100 y 0-2000  $\mu\text{m}$ ) y factores de oxidación resultantes

Fracción del suelo ( $\mu\text{m}$ )	Combustión		Dif. <sup>1</sup> (%)	Factor de oxidación		Combustión Húmeda COJ+COV
	Seca	Húmeda		Media	Intervalo	
0-100	10,88	<sup>a</sup> 10,99	<sup>a</sup> 1	0,79	0,754-0,816	
0-2000	13,96	<sup>b</sup> 16,39	<sup>a</sup> 17	0,90	0,814-0,990	14,8

<sup>b</sup>Letras diferentes en cada línea indican diferencias significativas en el contenido de CO dentro de cada fracción ( $P < 0,05$ , test de Tukey)

<sup>1</sup> Dif.: diferencia =  $100 * (\text{Combustión húmeda} - \text{Combustión seca}) / \text{Combustión seca}$

Las diferencias para el total de los valores de COT determinados y calculados (COV+COJ) corresponde a un factor de oxidación 0,89, semejante al obtenido en la Tabla 2. De esta forma la utilización de un factor de oxidación constante (0,76, Walkley, Black 1934; 0,77, Nelson, Sommers 1982) en el cálculo del CO por combustión húmeda puede dar resultados con sobreestimaciones variables. En este caso, las sobreestimaciones (Dif. %) oscilaron entre el 10 (Tabla 1) y 17 % (Tabla 2), pero pueden llegar al 29 % en suelos de textura gruesa. Para estimar el CO en suelos Haplustoles de la región semiárida pampeana debería emplearse la siguiente ecuación:

$$COC\% = \frac{[meq\ k_2Cr_2O_7 - meq\ Fe(NH_4)_2(SO_4)_2] \cdot 0,003 \cdot 100}{p \cdot f}$$

la cual, transformada en unidades de volumen, es:

$$CO(x)\% = meq \left(1 - \frac{A}{B}\right) \frac{0,3}{p} \frac{1}{f}$$

Donde: meq, miliequivalentes de  $K_2Cr_2O_7$  (1 N) adicionado; A y B, volumen (ml) de sal de Mohr  $[Fe(NH_4)_2(SO_4)_2]$  consumido por la muestra y el blanco, respectivamente; p, peso seco de la muestra (g); constante, 0,3 = 100 12/4000; f, factor de oxidación:

Fracción granulométrica μm	Factor de oxidación
0-100	0,79
100-2000	1,00
0-2000	0,90

Para expresar los resultados determinados por Walkley y Black en MO se debe tener presente que las distintas fracciones poseen diferente composición porcentual de CO. Se pueden encontrar valores desde 58 % de C en la MO humificada (equivalente al factor 1,724 que utiliza el método) hasta 40-42 % en residuos poco transformados (MO joven). Considerar una composición errónea de CO para una fracción orgánica puede dar subestimaciones del orden del 38 %, como por ejemplo al determinar MO en residuos.

Las metodologías de fraccionamiento granulométrico separan el material humificado asociado a fracciones finas de los residuos orgánicos (semitransformados) mezclados con fracciones gruesas. Por este motivo, al igual que en suelos de textura gruesa, estas fuentes de error deben ser consideradas.

## REFERENCIAS

- Anderson D W, Saggart S, Bettany J R, Stewart J W B. 1981. Particle size fractions and their use in studies of soil organic matter: I. The nature and distribution of forms of carbon, nitrogen and sulfur. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45: 767-772.
- Andriulo A, Galantini J, Pecorari C, Torioni E. 1990. Materia orgánica del suelo en la Región Pampeana. I. Un método de fraccionamiento por tamizado. *Agrochimica* 34: 475-489.
- Bonde T A, Christensen B T., Cerri C. 1992. Dynamics of soil organic matter as reflected by natural  $^{13}C$  abundance in particle size fractions of forest and cultivated oxisols. *Soil Biol. Biochem.* 24: 275-277.
- Bremner J M, Jenkinson D S. 1960. Determination of organic carbon in soil. I. Oxidation by dichromate of organic matter in soil and plant materials. *J. Soil Sci.* 11: 394-402.
- Buschiazzo D E, Quiroga A R, Stahr K. 1991. Patterns of organic matter accumulation in soils of the semiárid Argentinian Pampas. *Z. Pflanzenem. Bodenk.* 154: 347-441.
- Cambardella C A, Elliott E T. 1992. Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56: 777-783.
- Cambardella C.A., Elliott E.T. 1993. Methods for physical separation and characterization of soil organic matter fractions. *Geoderma* 56: 449-457.
- Christensen B T. 1987. Decomposability of organic matter in particle size fractions from field soils with straw incorporation. *Soil Biol. Biochem.* 19: 429-435.
- Dalal R C, Mayer R J. 1986. Long-term trends in fertility of soils under continuous cultivation and cereal cropping in Southern Queensland. III Distribution and kinetics of soil organic carbon in particle-size fractions. *Aust. J. Soil Res.* 24: 293-300.
- Dalal R.C., Mayer R.J. 1987. Long-term trends in fertility of soils under continuous cultivation and cereal cropping in Southern Queensland. VI Loss of total nitrogen from different particle-size and density fractions. *Aust. J. Soil Res.* 25: 83-93.
- Elliott E T, Cambardella C A. 1991. Physical separation of soil organic matter. *Agric., Ecosys. Environ.* 34: 407-419.
- Glave A E. 1975. Caracterización física y económica de la región semiárida bonaerense. Informe 9, CIC, La Plata.
- Kalembasa D J, Jenkinson D S. 1973. A comparative study of titrimetric and gravimetric methods for the determination of organic carbon in soil. *J. Sci. Food Agric.* 24: 1085-1090.
- Nelson D W, Sommers L E. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: *Methods of soil analysis* A.L. Page et al. Eds., Part 2. Agronomy 9, 2<sup>nd</sup> edition, Madison, Wisconsin, USA. 539-579.
- Orphanos P I. 1973. On the determination of soil carbon. *Plant and Soil* 39: 706-708.
- Quiroga A., Buschiazzo D., Adema E. 1991. Características edáficas y de manejo en relación con la compactación de los suelos de la Región Semiárida Pampeana central. Resúmenes X CAPERAS, Bahía Blanca, Argentina, págs. 111-112.
- Richter M, Massen G, Mizuno I. 1975. Total organic carbon and oxidizable organic carbon by Walkley-Black procedure in some soils of the Argentine Pampa. *Agrochimica* 17: 462-472.
- Tiessen H, Stewart J W B. 1983. Particle-size fractions and their use in studies of soil organic matter: II. Cultivation effects on organic matter composition in size fractions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47: 509-514.
- Turchenek L W, Oades J M. 1979. Fractionation of organo-mineral complexes by sedimentation and density techniques. *Geoderma* 21: 311-343.
- Walkley A., Black I.A. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38.