

COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO Y AZUFRE EN PLANTA: IMPLICANCIA EN EL DIAGNÓSTICO DE AZUFRE EN TRIGO

NAHUEL I REUSSI CALVO ¹; HERNÁN E ECHEVERRÍA ² & HERNÁN SAINZ ROZAS ^{1,2}

¹ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

² Unidad Integrada FCA UNMDP-INTA EEA Balcarce

E-mail: hecheverr@balcarce.inta.gov.ar

Recibido: 25/03/08

Aceptado: 23/09/08

RESUMEN

La relación nitrógeno (N): azufre (S) total es utilizada frecuentemente para el diagnóstico de deficiencias de S en trigo. Para determinar este índice es necesario la realización de dos análisis diferentes, y por lo tanto, es afectada por dos errores analíticos. El objetivo fue comparar la precisión del método de combustión seca de Dumas para la determinación de N y S total en planta, respecto a los métodos tradicionales de digestión húmeda y su utilización en el diagnóstico de S en trigo. La determinación de N y S se realizó en muestras de planta provenientes de cuatro experimentos de trigo conducidos durante la campaña 2006 en el sudeste bonaerense. Se obtuvo una correlación significativa entre los métodos utilizados ($r = 0,99$ y $r = 0,74$ para N y S, respectivamente). La cantidad de N recuperada por el método de Dumas no difirió respecto del método de Kjeldahl, sin embargo, la precisión del primero fue superior (menores CV). Para S, se determinó una subestimación del 20% en la concentración de S por el método turbidimétrico, respecto al método de Dumas. Además, el porcentaje de S recuperado de una muestra estándar por el método turbidimétrico fue sólo del 83%, mientras que por el método de Dumas la recuperación fue del 96%. La subestimación de la concentración de S en planta se vio reflejada en un bajo porcentaje de muestras correctamente diagnosticadas (25, 18,7 y 50% para los estadios Z22, Z24 y Z31, respectivamente). Sin embargo, cuando se empleó el método de Dumas, dicho porcentaje se incrementó en forma considerable (94, 94 y 100% para los estadios Z22, Z24 y Z31, respectivamente). En síntesis, la baja recuperación del S determinado por el método turbidimétrico afectó la estimación de la relación N:S para el diagnóstico de S; por el contrario, el porcentaje de N recuperado por ambos métodos fue similar.

Palabras clave. Métodos de análisis vegetal, nitrógeno y azufre.

COMPARISON BETWEEN TWO PLANT NITROGEN AND SULPHUR DETERMINATION METHODS: IMPACT ON WHEAT SULPHUR DIAGNOSTICS

ABSTRACT

The nitrogen and sulphur ratio (N:S) in plants is often used as a sulphur diagnostics tool in wheat. This ratio requires two different analyses results for its calculation, and thus involves two sources of analytical error. The objective of this work was to compare the accuracy and reliability of the Dumas dry combustion method for N and S determination in plant, compared to traditional methods of wet digestion, and its use as a sulphur diagnostics tool in wheat. The N and S determination was carried out in wheat plant samples from four experiments carried out in the 2006 growing season in the southwestern Buenos Aires province. A highly significant correlation was obtained between both methods ($r = 0.99$ and $r = 0.74$ for N and S, respectively). The quantity of N recuperated by the Dumas method was not significantly different to the Kjeldahl method, however, the reliability of the former was higher (low variability coefficient). The method of turbidimetry with wet digestion underestimated (20%) the sulphur concentration compared to the Dumas method. Moreover, the sulphur percent recovered from standard samples was 83 % and 96 % for the turbidimetry and Dumas methods, respectively. The underestimation of plant sulphur concentration by the turbidimetry method resulted in a low percentage of samples correctly diagnosed (25, 18.7 and 50% for Z22, Z24 and Z31, respectively). However, the percent of samples correctly diagnosed was high by the Dumas method (94, 94 and 100% for Z22, Z24 and Z31, respectively). The results of this work indicate that the reliability of the N:S ratio is limited by the S analysis accuracy. On the other hand, the N recovery for both methods was similar.

Key words. Methods of plant analysis, nitrogen and sulphur.

INTRODUCCIÓN

Para el diagnóstico de las deficiencias de azufre (S) en trigo, se han propuesto, entre otros, métodos basados en el análisis de muestras de material vegetal (Blake

Kalff *et al.*, 2000; 2002). La ventaja de estos métodos, es que el S determinado en material vegetal está relacionado con la cantidad de S disponible para el cultivo al momento de muestreo (Melsted *et al.*, 1969).

Dentro de los métodos basados en el análisis de material vegetal, la relación nitrógeno N:S en planta es la más utilizada para el diagnóstico de deficiencias de S en trigo (Rassmusen *et al.*, 1977; Blake Kalff *et al.*, 2002). Varios autores han propuesto relaciones N:S críticas, tanto para condiciones controladas (Freney *et al.*, 1978) como a campo (Blake Kalff *et al.*, 2000). Sin embargo, un aspecto clave a considerar, es que para la confección de esta relación es necesario la realización de dos determinaciones analíticas, y por lo tanto, la incorporación de dos errores (Jones, 1986). En base a lo mencionado, es necesario contar con métodos precisos para la determinación de N y S total en planta, de manera tal que los errores incorporados en dicha relación, sean de baja magnitud y no afecten el diagnóstico de S para los cultivos.

La determinación tradicional de N en planta se basa en la digestión de la muestra vegetal con ácido Sulfúrico concentrado con o sin la presencia de un reductor (ácido Salicílico), el que permite incluir o no las formas de N oxidadas, básicamente nitratos. Finalizada la digestión, el amonio producido es cuantificado por destilación y posterior titulación, en forma manual o semiautomática (Walinga *et al.*, 1995). De manera análoga, la mayoría de los métodos utilizados para la determinación de S total en planta, se basan en una destrucción inicial de la materia orgánica por digestión con una mezcla de ácidos, o en el calcinado de la muestra en un horno de mufla y posterior disolución de las cenizas en un ácido diluido (Blanchar, 1986). Posteriormente, el S en solución puede determinarse por inducción de plasma acoplado (ICP), por colorimetría con azul de metileno, por turbidimetría con la formación de sulfato de bario o con un cromatógrafo de iones (Echeverría, 2005). Para Inglaterra, Crosland *et al.* (1998) concluyeron que los métodos más utilizados son ICP y turbidimétricos y que en general, los primeros son de mayor precisión. En la Argentina, San Martín *et al.* (1986) proponen, para la determinación de S total en planta, la utilización de un método basado en una digestión con ácido nítrico y perclórico, con posterior detección turbidimétrica de S como sulfato de bario empleando Tween 80 como estabilizador. Otro método que ha surgido recientemente para la determinación de S total en planta, es el análisis por combustión seca basado en el método de Dumas (Kowalenko & Laerhoven, 1998; Crosland *et al.*, 2001). La muestra de planta es rápidamente oxidada a altas temperaturas y el S es determinado por detección infrarroja. También, el N puede analizarse por este método, realizando una detección por termoconductividad (LECO, 2008). Las ventajas del método de Dumas son su alta precisión, exactitud y corto tiempo de análisis (Crosland *et al.*, 2001; LECO, 2008).

Los objetivos de este trabajo fueron: 1.- comparar la precisión del método de Dumas para la determinación de

N y S total en planta, respecto a los métodos tradicionales, y 2.- evaluar el impacto de los mismos sobre el diagnóstico de S en trigo, basado en la relación N:S en planta.

MATERIALES Y MÉTODOS

La determinación del N total en planta se realizó por dos metodologías. 1) Kjeldahl: digestión con ácido sulfúrico (Nelson & Sommers, 1973) y posterior destilación y titulación con equipo semiautomático (Tecator 1.030). 2) Método de Dumas: Combustión de la muestra a altas temperaturas (950 °C) y posterior detección por termoconductividad (LECO, 2008), para lo cual se utilizó un analizador TruSpec CN. El equipo fue calibrado utilizando como estándar una muestra de alfalfa con una concentración de 3,88 g N 100 g⁻¹ muestra vegetal (LECO, 2008). Al igual que para N, la determinación de la concentración de S total en planta se realizó por dos metodologías. 1) digestión nítrica-perclórica (Shaw, 1959) y posterior turbidimetría con BaCl₂, utilizando Tween 80 como estabilizador (San Martín *et al.*, 1986). 2) Método de Dumas: para este caso la combustión de la muestra fue a 1.350 °C y se utilizó para la cuantificación del S un analizador LECO TruSpec S. Este equipo fue calibrado empleando como estándar alfalfa con una concentración de 0,324 g S 100 g⁻¹ muestra vegetal (LECO, 2008).

Las determinaciones de N y S total se realizaron en muestras vegetales provenientes de cuatro experimentos de trigo conducidos durante la campaña 2006-2007, en lotes con prolongada historia agrícola del sudeste bonaerense bajo condiciones de secano. El Sitio 1 se ubicó en el partido de Gral. Pueyrredon, mientras que los Sitios 2, 3 y 4 en el partido de Balcarce. Para los Sitios 1 y 3 el cultivo antecesor fue Soja y el sistema de labranza utilizado fue siembra directa, mientras que en los Sitios 2 y 4 el cultivo antecesor fue girasol sembrado bajo labranza convencional. El tipo de suelo, en todos los sitios experimentales, fue un complejo Argiudol Típico fino, mixto, térmico y Paleudol Petrocalcico, fino, lítico, térmico, textura superficial franca. Los experimentos se desarrollaron sin deficiencias de P y N, para lo cual se aplicaron dosis de 30 kg P ha⁻¹ y de 180 kg N ha⁻¹, respectivamente. El diseño experimental fue en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones y los tratamientos evaluados fueron cuatro dosis de S (0, 5, 10 y 20 kg S ha⁻¹), aplicadas al voleo a la siembra del cultivo bajo la forma de sulfato de calcio (20% S, 16% Ca).

Al momento de la siembra del trigo se determinó, en todas las unidades experimentales el contenido de N-NO₃⁻ y S-SO₄⁼ en el perfil del suelo (0-20, 20-40 y 40-60 cm) y de carbono orgánico (CO), P disponible y pH en superficie (0-20 cm). La concentración de N-NO₃⁻ se extrajo con KCl y se determinó por colorimetría (Keeney & Nelson, 1982). El contenido de S-SO₄⁼ se extrajo con Ca(H₂PO₄)₂ (Islam & Bhuiyan, 1998) y se cuantificó por turbidimetría con BaCl₂ y Tween 80 como estabilizador (Johnson, 1987). El P disponible se extrajo por el método Bray & Kurtz (1945) y se determinó por colorimetría según Murphy & Riley (1962), mientras que el contenido de CO se determinó por el método de Walkley & Black (1934) y el pH en relación 1:2,5 (suelo-agua). En la Tabla 1 se presentan las propiedades químicas de los suelos de cada Sitio.

Durante el ciclo del cultivo de trigo se llevaron a cabo muestreos de plantas, en todas las unidades experimentales, para determinar

la concentración de N y S total. Los momentos de muestreo fueron en los estadios 22, 24, 31 y 39 según Zadoks *et al.* (1974). En cada muestreo se cortó la biomasa aérea de 1 m de longitud (0,573 m²) a nivel del suelo de tres surcos al azar. Todo el material vegetal recolectado se secó a 60 °C en estufa hasta peso constante y una fracción de las muestras fue molida (0,84 mm de malla) para determinar N y S total en planta. En cada momento de muestreo, se determinó la relación N:S mediante el cociente entre la concentración de N y de S total en planta.

Para determinar el número de muestras diagnosticadas de forma correcta o incorrecta se utilizó la metodología de los cuadrantes descripta por Cate & Nelson (1965). Para ello es necesario definir la reducción en rendimiento relativo aceptable y el umbral crítico del índice de disponibilidad de S, que en este trabajo es la relación de N:S en planta. Se definió como plantas deficientes a aquellas que tenían un rendimiento inferior al 90% del máximo y como relación N:S crítica 16:1 (Spencer & Freney, 1980; Blake Kalf, 2000). En función de lo mencionado quedan definidos cuatro posibles cuadrantes: 1) plantas deficientes y diagnóstico correcto (rendimiento menor al 90% del máximo y relaciones mayores al nivel crítico); 2) plantas deficientes y diagnóstico incorrecto (rendimiento menor al 90% del máximo y relaciones menores al nivel crítico); 3) plantas suficientes en S y diagnóstico correcto (rendimiento mayor al 90% del máximo y relaciones menores al nivel crítico) y por último 4) plantas suficientes en S pero el diagnóstico es incorrecto (rendimiento mayor al 90% del máximo y relaciones mayores al nivel crítico). Los cuadrantes 1 y 3 se consideran positivos (diagnóstico correcto) y los 2 y 4 negativos (diagnóstico incorrecto).

A la cosecha se evaluó el rendimiento del cultivo mediante el corte de plantas a nivel del suelo de 12 surcos al azar de 1 m de longitud (1,14 m²) y las espigas fueron desgranadas en una trilladora estacionaria (Tabla 4). Se midió el contenido de humedad en grano y el rendimiento se expresó al 14%. Se determinó la concentración de N y S total en grano mediante los métodos descriptos. Además, se calculó el rendimiento relativo mediante el cociente entre el rendimiento de cada tratamiento con respecto al tratamiento con 20 kg S ha⁻¹.

Se realizó el análisis de la varianza utilizando el procedimiento GLM incluido en las rutinas del programa Statical Analysis System (SAS Institute, 1996). Cuando las diferencias entre tratamientos fueron significativas se empleó el Test de la diferencia

mínima significativa (LSD), con un nivel de probabilidad de 0,05 (SAS Institute, 1996). Algunas variables fueron evaluadas por correlación y regresión, utilizando el procedimiento PROC CORR y PROC REG incluido en las rutinas del programa Statical Analysis System (SAS Institute, 1996). Además, se calculó el coeficiente de variación (CV) entre los métodos propuestos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1, se muestra la relación entre los métodos utilizados para la determinación de N y de S total en planta. Para ambos nutrientes, se encontró una correlación significativa entre métodos (Fig. 1). La cantidad de N en planta que fue recuperada por el método de Dumas no difirió significativamente respecto del método de Kjeldahl (pendiente = 0,99; Figura 1a), lo cual se vio reflejado en bajos CV entre métodos (menores al 6 %) durante el ciclo del cultivo de trigo (Tabla 2). No obstante, en general, el CV del método de Dumas fue inferior al obtenido por Kjeldahl (Tabla 3). En línea con lo mencionado, Croslam *et al.* (2001) obtuvieron una estrecha relación entre el N determinado por el método de Dumas y por el método de Kjeldahl, no obstante la precisión del primero fue superior. Sin embargo, estos autores mencionan que para muestras provenientes de plantas con altos contenidos de nitrato, la cantidad de N recuperado por el método de Dumas es ligeramente superior a la determinada por el método de Kjeldahl. Estas diferencias podrían explicarse, porque la combustión del método de Dumas permite evaluar todas las formas de N en planta, mientras que por el método de Kjeldahl, se obtienen solamente las formas de N reducidas. En esta experiencia, se obtuvieron ligeros aumentos en la concentración de N en planta, cuando las muestras fueron analizadas por el método de Dumas (Tabla 3). En general, los resultados obtenidos sugieren que los contenidos de N no proteico en las muestras de planta de trigo fueron bajos.

Tabla 1. Propiedades químicas del suelo en cada sitio experimental.

Table 1. Soil chemical properties at each experimental site.

	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4
pH (0-20 cm)	6,1	5,8	5,8	5,9
CO (mg g ⁻¹) (0-20 cm)	35	27,3	31,9	29,6
N-NO ₃ (kg ha ⁻¹) (0-60 cm)	85,6	34,6	38,5	64,2
P (mg kg ⁻¹) (0-20 cm)	17,2	22,7	21,1	17,5
S-SO ₄ (kg ha ⁻¹) (0-60 cm)	28,8	25,5	19,6	26,2

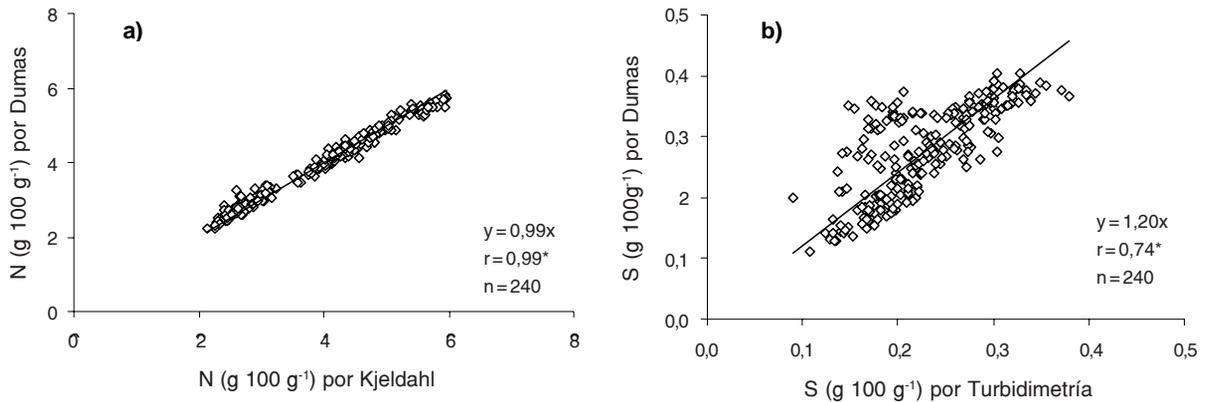


Figura 1. Relación entre el N determinado por el método de Dumas y por Kjeldahl (a), y relación entre el S determinado por el método de Dumas y por Turbidimetría (b). * indica coeficiente de correlación significativo ($P < 0,05$).

Figure 1. Relationship between nitrogen determination by Dumas and Kjeldahl methods (a), and relationship between sulphur determination by Dumas and Turbidimetry methods (b). *Coefficient correlation significative ($P < 0.05$)

Tabla 2. Coeficientes de variación (CV) ínter-métodos para N y S, en un sitio sin respuesta (1) y uno con respuesta en rendimiento por el agregado de S (3). Z22, Z24, Z31 y Z39 estados de crecimiento según la escala de Zadoks *et al.* (1974), respectivamente.

Table 2. Inter-methods coefficient of variation (CV) for total plant N and S, at a site without (1) and with response to sulphur application (3). Wheat plants were sampled at Z22, Z24, Z31 and Z39. Growth stages were determined according to Zadoks *et al.* (1974).

		Momento del ciclo del cultivo: CV (%) ínter-métodos									
		Z22		Z24		Z31		Z39		Grano	
Sitio	Tratamiento	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S
1	Testigo	1	20	0	39	2	14	3	8	1	9
	20S	1	40	0	32	1	17	4	10	4	7
3	Testigo	1	29	3	26	2	13	4	2	3	10
	20S	0	13	2	34	0	5	5	14	1	8

Tabla 3. Valores medios ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) de nitrógeno y azufre total en planta y coeficientes de variación (CV), en un sitio sin respuesta (1) y uno con respuesta en rendimiento (3) al agregado de S [9 repeticiones de cada material, para el estadio Z24 según la escala Zadoks *et al.* (1974)].

Table 3. Mean ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) and Coefficient of Variation for total N and S analyses, at a site without response (1) and with response (3) in yield for sulphur application [9 replicates of each material, for growth stage Z24 according to Zadoks *et al.* (1974)].

		Nitrógeno				Azufre			
		Dumas		Kjeldahl		Dumas		Turbidimetría	
Sitio	Tratamiento	Media	CV (%)	Media	CV (%)	Media	CV (%)	Media	CV (%)
1	Testigo	5,1	3,0	5,1	3,9	0,41	2,5	0,20	4,8
	20S	5,2	1,8	5,2	3,0	0,43	1,0	0,24	6,8
3	Testigo	3,7	3,7	3,4	4,4	0,27	2,2	0,16	6,9
	20S	4,0	1,4	3,9	3,8	0,35	2,6	0,22	3,5

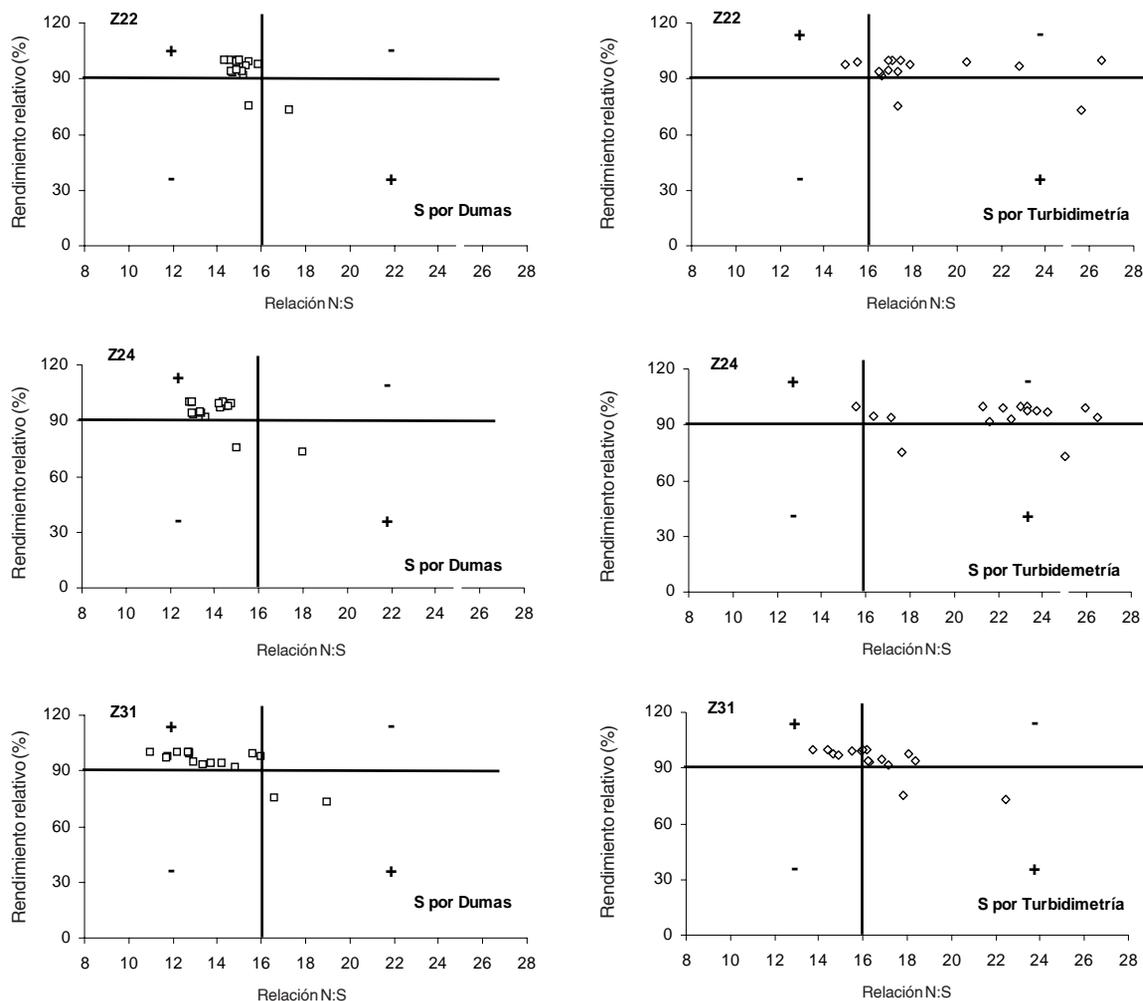


Figura 2. Rendimiento relativo y relación N:S en planta para inicio (Z22), mediados de macollaje (Z24) e inicio de encañazón (Z31), cuando el azufre fue determinado por el método de Dumas y por turbidimetría. La línea vertical indica el umbral crítico de 16:1 propuesto por Spencer & Freney, (1980) y Blake Kalff *et al.* (2000), y la línea horizontal el 90% del rendimiento máximo. (+) = diagnóstico correcto y (-) = diagnóstico incorrecto.

Figure 2. Relative yield and N:S ratio for early (Z22), medium of tillering (Z24) and early elongation (Z31), when sulphur was determination for Dumas and Turbidimetry methods. Vertical line correspond a N:S ratio of 16:1, value reported by Spencer & Freney, (1980) and Blake Kalff *et al.* (2000) as thresholds of plant S deficiency. Oblique line correspond the 90% of the maximum yield. (+) = correct diagnostic; (-) = incorrect diagnostic.

Tabla 4. Rendimiento del cultivo de trigo en cada sitio experimental.

Table 4. Wheat yield at each experimental site.

Tratamiento	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4
0 S	6.708a (± 316)	3.545a (± 120)	4.396b (± 400)	3.099b (± 103)
5 S	6.630a (± 316)	3.607a (± 167)	5.885a (± 256)	3.901a (± 332)
10 S	6.572a (± 135)	3.619a (± 294)	5.966a (± 263)	3.949a (± 151)
20 S	6.788a (± 265)	3.858a (± 53)	6.013a (± 226)	4.149a (± 419)

Valores en las columnas seguidos por la misma letra no difieren significativamente según el test de la mínima diferencia significativa (LSD) al 5% de probabilidad. Valor medio ± desviación estándar.

Finalmente, es válido mencionar que los tiempos de análisis requeridos por el método de Dumas son significativamente menores que para Kjeldahl y, además, no requiere la digestión con ácido sulfúrico, por lo tanto, considerando que ambos métodos permiten recuperar similares cantidades de N en planta, el método de Dumas representaría una alternativa promisoriosa para la determinación rutinaria de N en planta, con el único inconveniente del elevado costo del equipo y de los consumibles.

A diferencia de lo obtenido para N, se encontró que el S determinado por el método turbidimétrico subestima la concentración de S en planta en un 20%, respecto al método de Dumas (Pendiente = 1,2; Figura 1b). Además, la recuperación del estándar de S fue de sólo el 83% con el método turbidimétrico, mientras que con el método de Dumas fue del 96%. Crosland *et al.* (2001) informaron, para algunos laboratorios de Europa, que el método turbidimétrico e ICP subestiman el S recuperado respecto a otros métodos. Según estos autores, el método de Dumas, fue más exacto para cuantificar concentración de S del estándar utilizado. En general, las diferencias obtenidas entre métodos se vieron reflejadas en altos CV intermétodos a lo largo del ciclo del cultivo, independientemente del sitio y del tratamiento considerado. No obstante, para grano, los CV determinados fueron aceptables (Tabla 2). Cuando se realizó un análisis por separado, los CV obtenidos para el método de Dumas fueron inferiores a los determinados para el método turbidimétrico (Tabla 3). Lo mencionado, indica que a pesar de que con ambos métodos los CV fueron inferiores al 10%, se evidencia que la precisión y la exactitud del método de Dumas fueron superiores a la obtenida por el método turbidimétrico. La subestimación de la concentración de S del método turbidimétrico respecto al método de Dumas, podría explicarse por la baja estabilidad del núcleo de turbidez, lo cual produce una menor recuperación del S que está presente en la solución. Un aspecto a considerar es que dado la baja concentración de S en planta, para la determinación de dicho nutriente es necesario contar con métodos más exactos y precisos que para N.

Las precipitaciones registradas durante el ciclo del cultivo de trigo fueron de aproximadamente 420 mm en los Sitios 1, 3 y 4, sin embargo, en el Sitio 2 fue de solo 314 mm. El rendimiento promedio de los cultivos en los Sitios 1, 2, 3 y 4 fueron de 6.675, 3.657, 5.565 y 3.775 kg ha⁻¹, respectivamente. Para los Sitios 3 y 4, se encontraron diferencias significativas en el rendimiento por el agregado de S, siendo la magnitud de la respuesta de 37 y 34%, respectivamente, con la dosis de 20 kg S ha⁻¹ (Tabla 4). La elevada respuesta al agregado de S se explicaría por la baja disponibilidad de S en el suelo a la siembra del cultivo y los bajos contenidos de CO (Tabla 1), los cuales son característicos de lotes con prolongada historia agrícola

del sudeste bonaerense (Studdert & Echeverría, 2000). Beaton & Soper (1986), determinaron una disponibilidad de S crítica de 36 kg ha⁻¹ (0-60 cm), lo cual explicaría en gran parte los resultados obtenidos en esta experiencia. Además, para el sudeste bonaerense y en años normales, Reussi Calvo *et al.* (2006) obtuvieron similares niveles críticos en trigo. Si bien en el Sitio 1 la disponibilidad de S a la siembra fue similar a la de los otros sitios (28,8 kg S ha⁻¹ de 0-60 cm, Tabla 1), el elevado contenido de CO explicaría la falta de respuesta al agregado de S (35 mg g⁻¹ de MO, Tablas 1 y 4). En el Sitio 2 no se determinaron incrementos en rendimiento probablemente debido a la baja disponibilidad hídrica durante el período crítico del cultivo (37 mm, desde 20 días antes hasta 10 días después de anthesis). Los valores de respuesta encontrados en los sitios 3 y 4 se ubican dentro del rango reportado para trigos invernales (desde 4 al 81%) (Zhao *et al.*, 2002).

En la Figura 2, se muestra el efecto del método empleado para la determinación de la concentración de S total en planta, sobre el diagnóstico de S en trigo en base a la relación N:S. Cuando se utilizó el método turbidimétrico, se determinó mediante el conteo de puntos en los cuadrantes positivos (Cate & Nelson, 1965) un 25, 18,7 y un 50% de muestras correctamente diagnosticadas para los estadios Z22, Z24 y Z31, respectivamente. Esto indica que la subestimación de la concentración de S que cuantifica el método turbidimétrico, produjo un incremento en la relación N:S, y por lo tanto, un alto porcentaje de muestras mal diagnosticadas (Fig. 2). En línea con lo mencionado, Crosland *et al.* (2001) determinaron que la subestimación de la concentración de S en planta realizada por varios métodos, entre ellos el turbidimétrico, produce un incremento en el número de muestras mal diagnosticadas. De manera contraria, cuando en esta experiencia se empleó el método de Dumas para determinar la concentración de S total en planta, se determinó un 94% de muestras correctamente diagnosticadas para los estadios Z22 y Z24, y un 100% para el estadio Z31 (Fig. 2). Lo mencionado, remarca la importancia de trabajar con métodos de elevada precisión y exactitud, particularmente, en situaciones en las cuales los valores obtenidos de los mismos son utilizados para la confección de índices de disponibilidad de nutrientes.

CONCLUSIONES

- 1.- El porcentaje de N recuperado por el método de Dumas fue similar al determinado por el método de Kjeldahl, no obstante, el método turbidimétrico subestima la concentración de S total en planta, respecto al método de Dumas.

2.- La baja recuperación del S determinado por el método turbidimétrico, afectó la relación N:S y por consiguiente, el diagnóstico de la deficiencia de S en trigo.

A pesar del mayor costo del equipo, por la mayor precisión y el menor tiempo de análisis, el método de Dumas representa una muy buena alternativa para ser utilizado rutinariamente en la determinación de la concentración de N y S en planta.

AGRADECIMIENTOS

Al Sr. Paulo Alday de INTA Paraná por su colaboración en la puesta a punto del TruSpec CN y TruSpec S.

Este trabajo fue financiado por el PE INTA 5656, y por el proyecto AGR213 de la UNMP.

BIBLIOGRAFÍA

- Beaton, J & R Soper. 1986. Plant response to sulfur in Western Canada. *In: Sulfur in agriculture*. M Tabatabai (ed.). ASA-CSSA-SSSA. Madison, Wisconsin, EE.UU.
- Blake Kalf, MMA; MJ Hawkesford; FJ Zhao & SP McGrath. 2000. Diagnosing sulfur deficiency in field-grown oilseed rape (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant and Soil* 225: 95-107.
- Blake Kalf, MMA; FJ Zhao & SP McGrath. 2002. Sulfur deficiency diagnosis using plant tissue analysis. 1-23 p. *In: Proceedings* 503. International Fertilizer Society. York, UK.
- Blanchar, RW. 1986. Measurement of sulfur in soils and plants. *In: Sulfur in Agriculture*; MA Tabatabai, (ed.); American Society of Agronomy; Madison, WI. pp. 455-490.
- Bray, RH & L Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59: 39-45.
- Cate, RB & LA Nelson. 1965. A rapid method for correlation of soil test analyses with plant response data. North Carolina State Univ. Int. Soil testing series tech. Bull. 1.
- Crosland, AR; FJ Zhao & SP McGrath. 1998. Evaluation of the performance of commercial soil and plant testing laboratories for analysis of sulfur and nitrogen. HGCA, London.
- Crosland, AR; FJ Zhao & SP McGrath. 2001. Inter-laboratory comparison of sulfur and nitrogen analysis in plants and soils. *Communication in Soil Science Plant Anal.* 32: 685-695.
- Echeverría, HE. 2005. Azufre. Págs. 139-160. *En: HE Echeverría y FO García (eds). Fertilidad de Suelos y Fertilización de Cultivos*. Editorial INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Freney, JR; K Spencer & MB Jones. 1978. The diagnosis of sulfur deficiency in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* 29: 727-738.
- Islam, M & N Bhuiyan. 1998. Evaluation of various extractants for available sulfur in wetland rice (*Oryza sativa*) soils of Bangladesh. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 58: 603-606.
- Johnson, GV. 1987. Sulfate: Sampling testing, and calibration. 89-96 p. *Ind JR Brown (ed.). Soil testing: Sampling correlation, calibration and interpretation*. SSSA Spec. Publ. 21. SSSA, Madison, WI
- Jones, MB. 1986. Sulfur availability indexes. *In: Sulfur in Agriculture*, Vol 27. Ed. MA Tabatabai. 549-566 p. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.
- Keeney, DR & DW Nelson. 1982. Nitrogen inorganic forms. p. 643-698. *In: AL Page et al. (ed.) Methods of soil analysis*. Part 2. Agron. Monog 9 ASA and SSSA, Madison, WI.
- Kowalenko, CG & CJ Laerhoven. 1998. Total Sulphur Determination in Plant Tissue. *In: Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*; YP Kalra, (ed.); CRC Press: Boca Raton, FL, 93-102.
- LECO. 2008. Organic application notes. Disponible en <http://www.leco.com/>, verificado 18/02/2008.
- Melsted, SW; HL Motto & TP Peck. 1969. Critical plant nutrient composition values useful in interpreting plant analysis data. *Agronomy Journal* 61: 17-20.
- Murphy, J & JP Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Plant and Soil* 34: 467-481.
- Nelson, DW & LE Sommers. 1973. Determination of total nitrogen in plant material. *Agronomy Journal* 65: 109-112.
- Rasmussen, PE; RE Ramig; LG Ekin & CR Rohde. 1977. Tissue analyses guidelines for diagnosing sulfur deficiency in white wheat. *Plant Soil* 46: 153-163.
- Reussi Calvo, NI; HE Echeverría & H Sainz Rozas. 2006a. Comparación de métodos de diagnóstico de deficiencias de azufre en trigo. XX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Actas y CD 2 pp. Salta- Jujuy, Buenos Aires, Argentina.
- San Martin, NF; CA Navarro & HE Echeverría. 1986. Determinación de azufre total en material vegetal. *IDIA* 457-462:40-45. (Editado en 1991).
- SAS Institute. 1996. SAS/STAT Users Guide. Version 6.03 Edition. Cary, NC.
- Shaw, WM. 1959. Nitric-perchloric acid oxidation for sulfur in plant and animal tissues. *Agricultural and Food Chemistry* 7: 843-847.
- Spencer, K & JR Freney. 1980. Assessing the sulphur status of field-grown wheat by plant analysis. *Agronomy Journal* 72: 469-472.
- Studdert, GA & HE Echeverría. 2000. Maíz, girasol y soja en los sistemas de cultivo del sudeste bonaerense. *En: FH Andrade y V Sadras (eds.) Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja*. INTA – Facultad de Ciencias Agrarias (UNMP). Advanta Semillas SAIC. pp. 407-437.
- Walinga, I; JJ Van Der Lee; VJGHouba; W Van Vark & INovozamsky. 1995. Plant analysis manual. Kluwer Academic Publishers. pp. 0-133.
- Walkley, A & IA Black. 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-37.
- Zadoks, JC; TT Chang & CF Zonzak. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* 14: 415-421.
- Zhao, FJ; SP McGrath; MMA Blake Kalf; A Link & M Tucker. 2002. Crop responses to sulphur fertilization in Europe. *Proceedings of Fertiliser Society* 504: 1-7.