



## PROTOCOLO MUESTREO DE LÍNEA DE BASE - SUELOS

---

### Objetivo

- Proporcionar los lineamientos de muestreo necesarios para estimar una línea de base del contenido de carbono orgánico del suelo (COS) en los establecimientos del Proyecto PSC, con miras a la participación en Programas de Compensación de Carbono (Carbon Programs)
- 

### JUSTIFICACIÓN

Los suelos son la base para la producción de alimentos y distintos servicios ecosistémicos esenciales. Los suelos se han convertido también en uno de los recursos clave para la mitigación y adaptación al cambio climático, ya que constituyen el principal reservorio de carbono orgánico (COS) en los ecosistemas terrestres. El mantenimiento y/o incremento del COS mejora la salud general del suelo, su fertilidad física y química, así como la resiliencia y la sostenibilidad de los sistemas agrícolas. El papel de los suelos frente al cambio climático ha sido ampliamente reconocido científicamente. El Acuerdo de París, el Trabajo Conjunto en Agricultura de Koronivia y el reciente informe del Panel Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC, 2019), contribuyen al desarrollo proyectos orientados a la adopción de prácticas de manejo sostenible basadas en el mantenimiento y/o secuestro del COS.

Sin embargo, el COS y otras propiedades del suelo resultan altamente variables, y los cambios en el tiempo pueden ser de difícil detección. El desarrollo y adopción de plataformas de medición/monitoreo, reporte y verificación (MRV) creíbles y confiables, tanto para el reporte nacional como para el comercio de emisiones, resulta por lo tanto aún una barrera clave para implementar programas de secuestro de SOC a gran escala (Smith et al., 2021). Es por eso que es fundamental seguir un sistema de MRV creíble y robusto, pero a la vez escalable, que reduzca el riesgo de las inversiones en proyectos orientados a soluciones basadas en la naturaleza (NBS, Nature Based Solutions), y que sea ampliamente reconocido o intercambiable entre distintos Programas de compensación de carbono.

Se propone por lo tanto la implementación y adaptación local del Protocolo GSOC MRV desarrollado por FAO-ITPS (Food and Agriculture Organizations of the United Nations - International Technical Panel on Soils) en 2020 para Proyectos Agropecuarios. Este protocolo permitirá cuantificar los contenidos iniciales de carbono y emisiones del sistema, y actuar como línea de base para distintos programas de compensación privados y públicos.

## **PROTOCOLO MUESTREO DE LÍNEA DE BASE - PROYECTO LIF: PASOS PROPUESTOS**

El siguiente protocolo contempla los siguientes 8 pasos, que se desarrollarán en cada sección.

1. Identificación y georreferenciación de límites del Proyecto: establecimientos, lotes de producción y áreas de intervención.
2. Recopilación y armonización de información espacial relevante.
3. Verificación de criterios de elegibilidad - áreas restrictivas
4. Diferenciación y georreferenciación de estratos o unidades de evaluación homogéneas
5. Definición de la Estrategia de Muestreo, incluyendo:
  - 5.1. El diseño de Muestreo de Suelo (SSD)
  - 5.2. Número de muestras
  - 5.3. Los sitios de muestreos
  - 5.4. las profundidades de muestreo
  - 5.5. frecuencia de muestreo y tiempos de muestreo
6. Identificación de metodologías de muestreo de campo
7. Consideraciones de procesamiento de muestras
8. Identificación de todo el material de muestreo, insumos y los recursos humanos necesarios

## **DESARROLLO DE PASOS**

### **1. Definir los Límites del proyecto y Áreas de Intervención**

- El "área del proyecto" se refiere a la superficie dentro de los límites espaciales de los distintos establecimientos/fincas que participan del proyecto. Las áreas de intervención (AI) se refieren a aquellas áreas para las cuales se estimarán las existencias de COS y línea de base de emisiones, y donde se efectuarán o podrán efectuarse a futuro las prácticas de manejo sustentable similares (no necesariamente incluye la totalidad de la superficie de los establecimientos). Las AI pueden constituir uno o varios establecimientos dentro de una misma zona agroecológica. Se deberá recopilar la información georreferenciada referente a los perímetros de los establecimientos, lotes de producción y áreas de intervención (polígonos) que participarán del proyecto. Se deberán identificar las áreas de intervención (AI) específicas del proyecto (pueden coincidir o no con el área total). Los establecimientos/lotes, áreas de intervención participantes deberán estar claramente identificados, delineadas y mapeadas, indicando claramente las diferentes AI del proyecto (en hectáreas), utilizando el software GIS preferido (p. ej., QGIS, ARCGIS).

- Los polígonos georreferenciados actualizados se deberán guardar como archivos en formato vectorial de polígonos, en dos formatos: .shp (ESRI shapefile) y . kml (Keyhole Markup Language) Utilizar el Sistema Geodésico Mundial (WGS84) como sistema de coordenadas de referencia. Estimar las superficies de todas las Areas de Intervención del proyecto. Inicialmente, las áreas de intervención (AI) pueden referirse a los polígonos de los distintos establecimientos dentro cada área agroecológica.

Para este Proyecto, se sugiere como mínimo la identificación de las siguientes 6 áreas de intervención:

- Campos integrantes Zona Paraguay:
  - o Palmeiras
  - o Jeroviá
- Campos integrantes Zona SE Santiago - SO Chaco:
  - o SubZona Chacra Sachayoj
  - o SubZona Chacra SO Chaco
- Campos integrantes Zona Tucumán: los distintos establecimientos incluidos en esta zona
- Campos integrantes Zona Bandera: los distintos establecimientos incluidos en esta zona

## 2. Recopilar Información de base necesaria

La recopilación de toda la información espacial y de manejo histórico relevante disponible es esencial para definir la estratificación y el plan de muestreo del COS. Esto permitirá definir estratos o áreas homogéneas representativas, donde se instalarán luego observatorios de muestreo que darán valores representativos de esas áreas (Ver punto 4).

**Para este Proyecto, se sugiere recopilar la siguiente información como base para la definición de estratos homogéneos:**

- **Información referente al uso de la tierra (clases: monte, agrícola, ganadero, mixto o con historia reciente de pasturas perennes), actual e histórico. Esta información deberá ser espacializada. En caso de no disponer esta información, se sugiere como fuente;**
  - o Global Land Cover - 250 m resolución - European space Agency
- **Años desde habilitación/desmonte. Esta información deberá ser espacializada. En caso de no disponer esta información, se sugiere como fuente;**
  - o Global Forest Change - 250 m resolución – Maryland University
- **Secuencias de cultivo y rendimiento de cultivos (al menos últimos 5 años), para definir nivel de aportes de residuos: Ejemplo**
  - o Alto aportes
  - o Medios aportes
  - o Bajo aportes

Esta información (clases, o niveles de aportes de MS promedio anual) deberá ser espacializada.
- **Imágenes satelitales e imágenes e índices multiespectrales (por ejemplo, NDVI, NEDWI, EVI, promedio de al menos 5 campañas; etc.).**
- **Información de suelos disponible. Estudios previos, Cartas de Suelo, u otras bases Nacionales o Globales. Esta información deberá ser espacializada. En caso de no disponer esta información, se sugiere como fuente;**
  - o SoilGrids Database - 250 m resolución – ISRIC

- **Mapas de Altimetría: alturas absolutas, alturas relativas, y pendientes**

**NOTA:** Se adjunta al Proyecto la información proveniente de las bases de datos Globales sugeridas en caso de no contar con la información necesaria.

### **3. Verificar la presencia y distribución de áreas restringidas (o potencialmente no elegibles).**

Algunos protocolos y programas de Carbono restringen la participación dentro de los proyectos de determinado uso de la tierra actual, cambios recientes en el uso de la tierra, tipo de suelo, y/o actividades a implementar.

Por ejemplo, tanto las normas VCS VM42 como el protocolo GSOC FAO establecen que, para proyectos de C agropecuarios, son elegibles sólo las tierras que:

- sean agrícolas o ganaderas al comienzo del proyecto y permanezcan así a lo largo del proyecto;
- no hayan sido deforestadas (o han sufrido un cambio de uso desde un ecosistema nativo) dentro de los últimos 10 años antes del inicio del proyecto;
- no están ubicados en áreas que son o han sido humedales, turberas, suelos orgánicos;

Además, estas tierras serán elegibles siempre y cuando las actividades y prácticas del proyecto no causen cambios en el uso de la tierra fuera de los límites del proyecto ("leakage").

Estas restricciones buscan, entre otros motivos:

- evitar la certificación de cambios en el COS en sistemas/condiciones (ej. Montes recientemente deforestados, o humedales) en los cuales existen muchas incertidumbres en la estimación y verificación de esos cambios (ya sea por muestreo, modelado, o su combinación) en forma estable en el tiempo.
- evitar la promoción de cambios en el uso de la tierra de ecosistemas nativos.

**En el actual Proyecto LIF PSC, las tierras que han sido desmontadas recientemente (últimos 10 años, 2012-2022) pueden entrar dentro de la categoría de tierras no elegibles (dependiendo del protocolo y sus actualizaciones), en especial para programas de la categoría de Manejo Sustentable en Tierras Agrícolas (SALM) y/o Manejo Sustentable del Pastoreo (Sustainable Grassland Management - SGM). Estas áreas deberán ser identificadas espacialmente y georreferenciadas a partir de bases de información espacial como las suministradas en el punto 2.**

**Se sugiere de todos modos el muestreo inicial de suelos en sitios representativos de estas condiciones (sitios de desmonte reciente) pues servirán para una adecuada caracterización de la línea de base, y para el ajuste de modelos de dinámica de COS en la zona (necesarios para protocolos como FAO o Verra VCS).**

**Deberá tenerse en claro, que, a pesar de haber sido muestreadas, estas áreas pueden ser objetadas para la generación de créditos o unidades de carbono, y pueden ser excluidas de un Programa de compensación de Carbono en Agricultura (SALM o SGM).**

### **4. Definir Estratos - Unidades de Evaluación homogéneas representativas**

#### **4.1. Criterio de estratificación**

La estratificación se refiere a dividir las áreas de intervención en diferentes grupos o unidades relativamente homogéneas llamadas estratos. La estratificación en un proyecto a gran escala resulta clave al reducir la incertidumbre, los errores, aumentar la probabilidad de detectar cambios en el COS, y optimizar los costos de muestreo. La estratificación generalmente se basa en factores que afectan los cambios en las existencias de COS, como el clima, el tipo de suelo, la topografía, la hidrología, el uso de la tierra y el historial de manejo de la tierra, entre otros factores (FAO, 2019). Estos estratos o unidades de evaluación homogéneas representan las distintas condiciones (combinaciones de variables) que nos podemos encontrar en el proyecto. Una vez identificados los estratos de cada área de intervención y del total del proyecto,

**Para este Proyecto, en base a los efectos esperados sobre la variabilidad y dinámica del COS, se sugiere la identificación y división de estratos siguiendo el siguiente criterio y orden jerárquico:**

- 1. ZONA AGROECOLÓGICA: (definida por precipitación promedio, Et promedio, temperatura media anual promedio)**
  - o Zona Paraguay
  - o Zona SE Santiago - SO Chaco
    - Subzona Chacra Sachayoj
    - Subzona Chacra SO Chaco
  - o Zona Tucumán: los distintos establecimientos incluidos en esta zona
  - o Zona Bandera: los distintos establecimientos incluidos en esta zona
- 2. AÑO DE HABILITACIÓN. Ejemplo:**
  - o Bosque/Monte
  - o <5 años;
  - o 5-10 años;
  - o 10-15 años;
  - o 15 a 20 años;
  - o + 20 años
- 3. USO de la tierra. Ejemplo:**
  - o Bosque/Monte
  - o Agrícola (agricultura continua desde habilitación)
  - o Ganadero (pasturas perennes desde habilitación)
  - o Mixto (o con historia de +50% pasturas perennes en la rotación desde habilitación).
- 4. NIVEL DE APOORTE de residuos reciente (para situaciones agrícolas)**
  - o ALTO APOORTE
  - o MEDIO APOORTE
  - o BAJO APOORTE

Una vez identificados estos estratos, se sugiere una sub- estratificación dentro de cada estrato, para dirigir los muestreos (ver punto 5) de forma equitativa y dirigida

- 5. GRUPO DE SUELO / UNIDAD CARTOGRÁFICA / textura superficial (No excluyente si no se cuenta con la capa de información)**
- 6. NDVI promedio últimos 5 años-**
  - o ALTO – ALTA PRODUCTIVIDAD/NPP
  - o MEDIO – MEDIA PRODUCTIVIDAD/NPP
  - o BAJO – BAJA PRODUCTIVIDAD/NPP

Esta estratificación podrá realizarse de manera jerárquica, subdividiendo progresivamente los estratos en estratos menores para identificar finalmente las distintas

combinaciones, o directamente generando clústeres homogéneos (ej. Algoritmo k-means) a partir de la superposición de capas espaciales.

#### 4.2. Número total de estratos

En la práctica el número total de estratos que se utilice resulta de un compromiso entre representar todos los posibles factores que inciden en la variabilidad del COS en el proyecto, y el esfuerzo adicional requerido para muestrear cada uno de los estratos agregados.

Para este Proyecto, en base a la información disponible se sugiere un mínimo de unos 30-40 estratos homogéneos totales, contemplando unos 5-10 estratos por área de intervención (que podrán ser sub-estratificados para dirigir los muestreos).

#### 5. Estrategia de Muestreo:

##### 5.1. Diseño de Muestreo de Suelo (SSD): Estratificado, con Estaciones de referencia/ (benchmark sites) – estático en el tiempo

El diseño de muestreo se refiere a la distribución de las muestras en el espacio a muestrear. Al tratarse de un proyecto agrupado, de al menos 15.000 has propuestas como áreas de intervención totales, y más de 100.000 has de área total de proyecto (considerando el área de cada establecimiento), resultará antieconómico muestrear la totalidad de la superficie siguiendo un criterio de un número fijo de hectáreas/muestra tradicional (común en muestreos químicos de suelo).

**Para este Proyecto, se sugiere un diseño de muestreo estratificado con estaciones georreferenciadas u observatorios (stratified, benchmark sampling), repartidas dentro de cada estrato, cuyos resultados sean representativos de áreas de mayor extensión. Las determinaciones se deberán repetir en las mismas estaciones georreferencias (muestreo estático en el tiempo, ver “frecuencia de muestreo” punto 5.5)**

Estas estaciones permitirán:

- obtener datos que sirvan para mapeos de COS posteriores asociados a otras variables (generadas por ejemplo por sensores remotos), extendiendo la posibilidad de determinar stocks en otras áreas del proyecto y abaratar costos posteriores de muestreo.
- asociar los resultados de COS a otros monitoreos (ej. Especies, diversidad forestal, biomasa forestal) e indicadores.

Procedimiento sugerido:

- Dentro de cada estrato diferenciado (ver punto 4) se ubicarán georreferenciadas a gabinete estaciones de muestreo de referencia (parcelas, sitios centinela, observatorios).
- Se deberá guardar la coordenada del punto central de cada estación de muestreo, expresando:
  - o primero la longitud (x) y luego la latitud (y)
  - o en formato decimal, con 6 decimales Ej. (-63.335553; -35.322254)
  - o con proyección WGS 84 (World Geodetic System 1984)
- Los sitios de referencia deberán representar un área de 0,1 a 1 ha como máximo (por ejemplo, parcelas circulares con un radio de 20 a 50 m, o parcelas rectangulares de 40 x 40 a 100 x 100 m), de donde se recolectarán las diferentes muestras/indicadores (Figura 1).

- Es importante usar la misma forma y tamaño para todas las parcelas dentro del proyecto y mantenerlo así para las diferentes rondas de muestreo. Dentro de cada estrato, los sitios de referencia pueden asignarse al azar o ser dirigidos (Desde un punto de vista estadístico, los sitios de referencia deben asignarse aleatoriamente dentro de un estrato; sin embargo, ubicar los sitios en áreas representativas del estrato puede traer ventajas en términos de representatividad de los cambios de suelo objetivo, y disminución de costos de muestreo). El número de sitios de referencia por estrato puede ser proporcional al tamaño y variabilidad esperada (ver punto 5.2), pero como mínimo se deberán contemplar 3 estaciones por estrato. Dentro de cada estación se deberán realizar 10-15 piques de barreno que se unirán para formar una muestra compuesta por estación de muestreo (por profundidad) para enviar a laboratorio (para determinaciones de COS total, y opcionalmente para POC o carbono particulado). En esas estaciones deberán también realizarse las determinaciones de densidad aparente. Se sugiere la inclusión de otros indicadores de salud de suelos como evaluación visual de estructura (VSA), resistencia a la penetración, y otros (figuras 2 y 3).

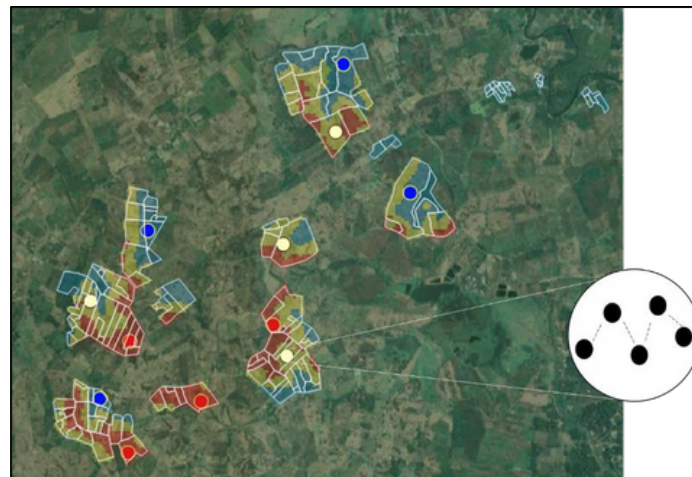


Figura 1. Fuente: FAO, 2022 (en desarrollo). Ejemplo de diseño de muestreo estratificado con estaciones de referencia, en un Proyecto agregado, integrado por múltiples pequeños productores. En esta IA se diferenciaron 3 estratos (azul: estrato 1; amarillo: estrato 2; y rojo: estrato 3); y se ubicaron al menos 3 estaciones por estrato.

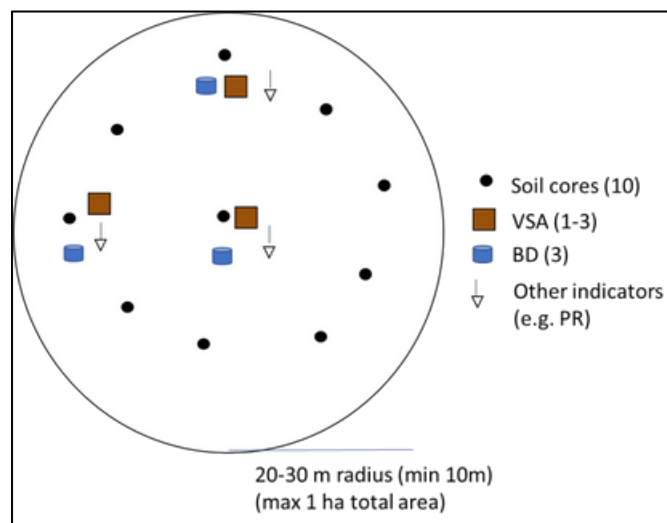




Figura 2. Fuente: FAO, 2022 (en desarrollo). Ejemplo de patrones de muestreo dentro de una estación de muestreo permanente circular de 20 m de diámetro. Se recolectarán 10 muestras simples de suelo con barrenos a las profundidades indicadas y 3 muestras de densidad aparente (BD). Se sugiere la inclusión de otros indicadores de salud de suelo: ejemplo 3 sitios de evaluación visual del suelo (VSA), e indicadores como la resistencia del penetrómetro (PR). Las muestras de suelo se deben agrupar antes de enviarlos al laboratorio para formar muestras compuestas.

## 5.2. Número de muestras sugerido

El número de muestras y sitios de muestro resulta clave para permitir una correcta estimación de las existencias de SOC y/o la detección de cambios en el SOC en el tiempo, optimizando a su vez los costos totales de muestreo. El número de muestras dependerá del objetivo, del número de áreas de intervención y estratos identificados, de la variabilidad esperada y, en la práctica, del presupuesto disponible.

El número de muestras totales se puede estimar evaluando el número de estaciones de muestreo o muestras compuestas necesarias para estimar las existencias medias de COS con una precisión deseada. Este enfoque se describe completamente en la Herramienta Metodológica UNFCCC A/R ("Calculation of the number of sample plots for measurements within A/R CDM project; UNFCCC, 2010), y es un requisito mínimo necesario en distintos protocolos de C.

Los pasos y cálculos pueden verse en el ANEXO, pero básicamente a través de esta metodología se estima el número de muestras requeridas para calcular las existencias promedio de COS de un Proyecto, con un margen de error del 5-10 % y un nivel de confianza del 90-95 %. Luego el número de muestras es distribuido en los diferentes estratos en función del área y variabilidad en los niveles de COS esperada de cada estrato (método de "Neyman allocation"), pudiendo usarse un coeficiente de variación del 25 % por defecto para dar una primera estimación de los requisitos de muestreo.

NOTA: Se adjunta planilla Excel con las fórmulas detalladas en ANEXO para ayudar en los cálculos finales, desarrollada para FAO RECSOIL. La hoja de cálculo de Excel se adaptó de la herramienta metodológica A/R de la CMNUCC v2.01 y Winrock International. Estas hojas de cálculo pretenden ser una guía y su uso no es obligatorio.

**Para este Proyecto, en base a las zonas agroecológicas, áreas de intervención y criterios de estratificación sugeridos en los puntos anteriores, y una variabilidad aproximada en los niveles de COS de los distintos estratos de entre 15-25 % de CV (GSOC map FAO), 5% de margen de error, y 90-95% de confianza se sugiere:**

- **75-95 estaciones de muestreo de suelo/muestras compuestas para área Paraguay (mínimo 14-15 estratos)**
- **60-80 para Sachayoj + Sudoeste de Chaco (7-8 estratos)**
- **50-60 para área Chacra Bandera (7-8 estratos)**
- **30-40 para área Tucumán (5-6 estratos)**

**Total: 215-275 estaciones totales (x 2 profundidades = 430 a 550 Muestras a Laboratorio)**

**Suponiendo las 15.000 comprometidas, implicaría una estación de muestreo /muestra compuesta cada 50-70 hectáreas**

Sin embargo, independientemente de los factores mencionados anteriormente, los requisitos de muestreo estarán limitados por el presupuesto disponible y los costos estimados. Aun así, el protocolo de FAO se sugiere:

- Un mínimo de 3-5 estratos por área de intervención
- Un mínimo de 3-5 estaciones de muestreo por estrato



- Un mínimo de 25-30 estaciones de muestreo en todo el proyecto

#### 5.4. Profundidades de muestreo sugeridas

La profundidad del muestreo depende del indicador o indicadores a evaluar. En el caso de COS, de acuerdo con distintos protocolos, las muestras para la concentración de SOC deben alcanzar, como mínimo, hasta 30 cm de profundidad (0-30 cm). Idealmente los muestreos deberían incluir estratos más profundos para detectar cambios en profundidad. En términos de muestreo de densidad aparente/masa de tierra fina y contenido de grava, se requiere que las muestras se tomen de las mismas profundidades donde se analizará la concentración de COS.

**Para este Proyecto, se sugiere obtener muestras de COS y densidad aparente de dos profundidades fijas en todas las estaciones de muestreo:**

- **0-20 cm**
- **20-40 cm**

**de modo de:**

- **cumplir con el requisito mínimo de 0-30 cm indicado por los distintos protocolos;**
- **poder detectar cambios en los niveles de COS a profundidades mayores que las usualmente medidas (0-20 cm);**
- **poder realizar otros análisis químicos complementarios de rutina en los primeros 0-20 cm (por ejemplo, P, pH u otros);**
- **contar con datos de MO 0-20 cm comparables a otros proyectos zonales y datos pre-existentes.**

#### 5.5. Frecuencia de muestreo y tiempos de muestreo sugeridos

La frecuencia de muestreo se refiere al intervalo entre rondas de muestreos sucesivas. Un muestreo más frecuente (períodos de tiempo más cortos entre muestreos) aumentará la precisión y permitirá la detección de variaciones menores en el COS u otros indicadores del suelo, a expensas de mayores costos de muestreo asociados. Teniendo en cuenta la velocidad de cambios en el COS, los distintos protocolos sugieren un compromiso entre estas variables, con un intervalo de muestreo de entre 3-5 años.

Con respecto al momento del muestreo, el carbono orgánico del suelo (en especial fracciones más lábiles) puede variar dentro de la temporada, por lo que es importante tomar muestras de suelo aproximadamente en la misma época del año en diferentes rondas de muestreo. La campaña de muestreo no debe durar más de 2 meses dentro de la misma temporada. Las rondas de muestreo deben realizarse: preferentemente cuando la actividad biológica es mínima, cuando las condiciones de humedad del suelo permitan extraer muestras con menor posibilidad de errores y con menor esfuerzo de muestreo (i.e. evitar muestreos en suelos secos).

Por último, el muestreo de línea de base y el comienzo de las prácticas mejoradoras deberían coincidir. Sin embargo, como existen componentes estacionales, logísticos o económicos que puede generar un retraso en el inicio de actividades adicionales en relación con el muestreo de suelo de referencia, protocolos como FAO GSOC RECSOIL ofrecen una ventana de 24 meses relevante para este período de tiempo (es decir, comienzo de actividades hasta 24 meses antes o después del muestreo de línea de base).

**Para este Proyecto, se sugiere el muestreo en alguno de los siguientes momentos:**

- Fines de primavera-Principios de verano: Mediados de diciembre a mediados enero (mayores condiciones de humedad en regímenes estivales; cultivos estivales en etapas iniciales)
- Otoño: abril-mayo (condiciones de humedad generalmente favorables en regímenes estivales; cultivos estivales en etapas finales o cosechados)

Una vez realizado el primer muestreo en una determinada área de intervención, la fecha/época del año se debe mantener entre muestreos sucesivos. Se sugiere una segunda ronda de muestreos al 4to o 5to año, en aquellos sitios en donde se hayan implementado estrategias de manejo sustentables/mejoradoras/de restauración.

## **6. Muestreo de campo**

### **6.1. Extracción de muestras para determinación de COS**

El COS se refiere al carbono orgánico total presente en la fracción del suelo que pasa a través del tamiz de 2 mm, es decir, la fracción de tierra fina. El enfoque básico del muestreo involucra la recolección de muestras verticales de suelo a una profundidad de suelo específica (ver punto 5) utilizando un barreno de suelo, o (manual o automatizado) de volumen conocido.

1. Ubicar el punto central de los sitios georreferenciados a gabinete y re-ubicar de ser necesario. Debe evitarse el muestreo en áreas atípicas, como senderos, cabeceras, hileras de cultivo, esquinas de potreros, aguadas, áreas recientemente labradas, etc. Dejar una distancia de 30-50 metros desde los alambrados perimetrales o cortinas.
2. Delimitar un área de 20-30 m de radio donde se realizarán 10-15 piques de barreno homogéneamente distribuidos, para obtener muestras simples que formarán una muestra compuesta por profundidad (1 muestra compuesta de 0-20 cm y otra muestra compuesta de 20-40 cm):

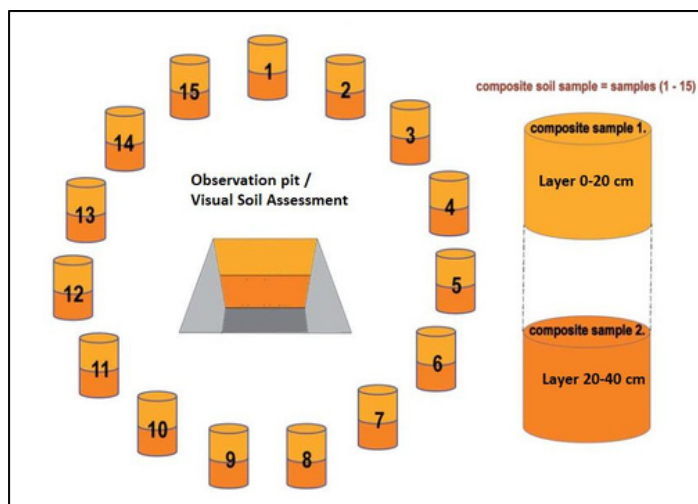


Figura 3. Fuente: Adaptado de Mesic et al 2008. Ejemplo de extracción de muestras simples para formar muestras compuestas por profundidad, dentro de cada estación de muestreo.

3. Remover cuidadosamente el rastrojo superficial antes del calado de suelo en cada punto de extracción. Muestrear en el entre-surco del cultivo anterior.
4. Insertar el barreno o calador de suelo verticalmente desde la superficie, para extraer una muestra simple, procurando minimizar el disturbio del suelo durante la extracción. (Si es necesario, golpear suavemente con masa/martillo de punta de goma). Es conveniente realizar el muestreo en condiciones de suelo húmedo (pero no saturado) para facilitar el proceso. No muestrear inmediatamente después de una lluvia (dejar pasar 2-3 días).
5. Controlar cuidadosamente la profundidad de extracción (ej. 0-20 y 20-40 cm)
  - a. Se recomienda usar un dispositivo lo suficientemente largo para alcanzar la profundidad total de suelo deseada en una sola inserción;
  - b. Si no es posible, se puede volver a insertar el barreno en el orificio muestreado para recolectar una muestra a un estrato más profundo, pero debe tenerse especial cuidado en que no caiga material superficial al orificio.
6. Si se utiliza un barreno/calador con un diámetro de corte  $> 3,8\text{-}4\text{ cm}$ , podrá utilizarse la misma muestra para la determinación del contenido de C del suelo y la densidad aparente (DAP) o la masa del suelo en una misma operación.



Figura 4. Extracción de muestras para COS y densidad aparente (DAP/BDS) en una misma muestra, utilizando un barreno de  $\pm 4\text{ cm}$  de diámetro.

7. Si los barrenos/caladores tienen un diámetro de corte más pequeño, las muestras pueden comprimirse significativamente, y deberán tomar muestras separadas de densidad aparente (ver punto siguiente)



Figura 5. Extracción de muestras para COS utilizando barreno de menos de 4 cm de diámetro (10-15 piques) y densidad aparente (DAP/BDS) con cilindros de volumen conocido (3 muestras por estación por profundidad),

8. Colocar cada muestra simple correspondiente a cada profundidad en un balde o bolsa plástica diferente (una bolsa o recipiente por cada profundidad).
9. Homogeneizar las muestras simples para formar una muestra compuesta. en caso necesario, cuartearse hasta llegar a una cantidad de suelo de no más de medio kilogramo para enviar a laboratorio.
10. Las muestras de suelo deben recolectarse en bolsas de plástico herméticamente cerradas (idealmente bolsas tipo ziploc), eliminando la mayor parte del aire inmediatamente después del muestreo.
11. Las bolsas deberán estar adecuadamente rotuladas indicando:
  - a. Fecha de Extracción
  - b. Establecimiento
  - c. Lote
  - d. Código de Estrato
  - e. Número de estación de muestreo
  - f. Profundidad (e.g., 0-30 cm);
  - g. Tipo de determinación a realizar: ej. COS, DAP o COS+DAP
12. Colocar las muestras en heladera portátil (Telgopor/plástica) durante el muestreo, evitando la exposición directa al sol durante tiempos prolongados.
13. Las muestras de suelo deberán ser enviadas a laboratorio dentro 7-10 días luego de la extracción. Preferentemente, las muestras de suelo no deben almacenarse a temperaturas superiores a 4 °C (colocar en heladera de ser necesario hasta envío a laboratorio).

## **6.1. Extracción de muestras para determinación de Densidad Aparente (DAP / BD)**

### **Opción 1. DAP por Método de cilindro/anillo de volumen conocido:**

1. Ubicar el punto central de los sitios georreferenciados a gabinete y reubicar de ser necesario. Debe evitarse el muestreo en áreas atípicas, como senderos, cabeceras, hileras de cultivo, esquinas de potreros, aguadas, áreas recientemente labradas, etc. Dejar una distancia de 30-50 metros desde los alambrados perimetrales o cortinas. Delimitar un área de 20-30 m de radio donde se ubicarán 3 sitios homogéneamente distribuidos, para obtener 1 muestra de densidad aparente por profundidad (total por estación de muestreo = 3 muestras de densidad obtenidas del estrato 0-20 cm y 3 muestras obtenidas del estrato 20-40 cm)
2. En cada uno de los 3 sitios dentro de la estación de muestreo, remover el rastrojo superficial, y preparar una superficie horizontal plana en el suelo con ayuda de una pala de acuerdo con la profundidad de muestreo:
  - a. Para muestrear 0-20 cm, realizar la extracción directamente desde la superficie (0-5 cm)
  - b. Para muestrear 20-40 cm, cavar un pozo hasta 20 cm, aplanar la superficie, y realizar la extracción a partir desde los 20 cm (20-25 cm)
  - c. Esto permitirá agilizar el muestreo y considerar valores más conservadores de densidad aparente para los cálculos de stock de COS.

4. Realizar las extracciones utilizando un cilindro metálico, biselado en un extremo, de volumen conocido (5 cm diámetro x 5 cm de alto).
5. Tapar el cilindro con una bloque o plancha de madera (u otro material duro) y empujar o golpear suavemente la madera (con ayuda del mazo de goma) para clavar el anillo verticalmente en el suelo, con el borde biselado hacia abajo. Procurar disturbar el suelo lo menos posible.
6. Excavar alrededor del anillo, sin remover ni aflojar la tierra que contiene, taparlo con la madera o placa dura, y con ayuda de una pala o cuchillo debajo, retirarlo con cuidado de evitar cualquier pérdida de suelo.
7. Con ayuda de un cuchillo, retirar cualquier exceso de tierra del exterior del anillo y cortar raíces o tallos con tijeras.
8. Vaciar el contenido del cilindro en una bolsa de plástico y sellar. La mayor parte del aire debe eliminarse inmediatamente después del muestreo.
9. Las bolsas deberán estar adecuadamente rotuladas indicando:
  - a. Fecha de Extracción
  - b. Establecimiento
  - c. Lote
  - d. Código de Estrato
  - e. Número de estación de muestreo
  - f. Profundidad (e.g., 0-30 cm);
  - g. Tipo de determinación a realizar: ej. COS, DAP o COS+DAP
10. Las muestras de suelo se entregarán al laboratorio u oficina para obtener el valor de la masa seca (estufa 105C) en el volumen conocido (consulte el proceso de secado, molienda, tamizado y pesaje, secciones siguientes).



Figura 6. Extracción de muestras de densidad aparente (DAP/BDS) con cilindros de volumen conocido (3 muestras por estación por profundidad),

## Opción 2. DAP Barreno/calador

En este caso, las muestras de DAP corresponden a las mismas muestras recolectadas para la concentración de SOC, usando un calador de >3,8 cm de diámetro. Los pasos se describen en la anterior.

El diámetro interior de la punta de corte del dispositivo de extracción de muestras y la profundidad de muestreo real deben medirse y registrarse para calcular el volumen de la muestra. Al agrupar, se debe registrar el número de submuestras utilizadas para generar la muestra compuesta. No cuartear las muestras.

## 7. Almacenamiento y procesamiento de muestras

Una vez que se extrajeron las muestras, y antes de enviar a laboratorio, deben tenerse las siguientes precauciones:

1. Las muestras de suelo (incluidos COS, DAP, respiración del suelo u otros indicadores) deben recolectarse en bolsas de plástico herméticas y la mayor parte del aire debe eliminarse inmediatamente después del muestreo.
2. Las muestras compuestas deben homogeneizarse (bolsas plásticas, baldes)
3. Se debe usar una heladera de plástico o Telgopor para transportar y conservar las muestras empacadas durante la campaña de campo y evitar exponerlas al sol directo.
4. Se recomienda envío a laboratorio lo antes posible (dentro de 1-3 días preferentemente). Idealmente, enviar las muestras en heladera de Telgopor (ej. las utilizadas para transporte de vacunas).
5. Caso contrario, las muestras de suelo deben almacenarse a 4 °C en la oscuridad (heladera) para reducir la actividad microbiana, preferentemente durante no más de 28 días. No se recomienda congelar.

Una vez llegadas al laboratorio, deben tenerse las siguientes precauciones:

1. Si el COS, la densidad aparente y otras determinaciones se realizan en la misma muestra, entonces deben pesarse primero (peso húmedo) las muestras que llegan del campo y registrar este peso.
2. Luego, las muestras se extienden como una capa delgada en una bandeja poco profunda y se secan al aire en una habitación ventilada, un secador solar hecho a medida o un horno de ventilación forzada a 40 °C.
3. Los terrones más grandes deben romperse para acelerar el proceso de secado.
4. Luego, las muestras deben tamizarse y la fracción que pasa a través de un tamiz de 2 mm debe separarse para el análisis SOC.
5. Luego de este tamizado, las rocas, gravas y fragmentos de tamaño > 2 mm (fracción gruesa o grava) deben separarse y pesarse para corregir la determinación de densidad aparente (y sólo calcular la masa de suelo seco de la fracción fina).
6. En todos los casos, el contenido de COS se cuantificará solamente en la fracción de tierra fina (< 2 mm) que se obtiene al pasar el suelo por la malla de 2 mm.
7. La fracción de tierra fina debe homogeneizarse completamente, lo que se logra mejor moliendo la muestra. En la mayoría de los casos, las muestras de suelo se muelen y se reducen a polvo (<0,2 mm) para permitir una homogeneización adecuada.
8. Se podrá obtener una submuestra de 5-10 g de tierra fina para el análisis de laboratorio (humedad gravimétrica y determinaciones analíticas/COS).
9. Los parámetros finales que se deberán solicitar al laboratorio:
  - Masa de suelo húmedo (total de la muestra)
  - Masa de suelo seco de la fracción grava (>2mm)
  - Masa de suelo seco de la fracción tierra fina (<2mm)
  - Contenido de agua gravimétrico/humedad gravimétrica ( $HG = \% = \frac{[(\text{peso húmedo} - \text{peso seco})]}{\text{peso seco}} * 100$ )
  - Carbono orgánico (MO) total por oxidación húmeda Walkley Black ó (COP y otras determinaciones analíticas)
  - Combustión Seca-Dumas (requeridas).



## 8. Instrumental de campo necesario

- Barreno, calador o dispositivo de extracción (Extractor de suelo de acero inoxidable de tubo de muestra de 100 cm de longitud o barrena de suelo de acero inoxidable; mínimo de 20 cm de capacidad de muestreo).
- Maza de goma para introducir anillos de Densidad aparente o barreno.
- Para mediciones de DENSIDAD: 2 cilindros de acero con un volumen interior conocido (preferiblemente 100 cm<sup>3</sup> ; 5 x 5cm), 1 tapa/pieza de acero o madera adecuada para martillar los muestreadores en el suelo, tapas de protección para evitar caída de tierra.
- Bolsas de plástico estables transparentes (preferentemente cierre ziploc) para muestras de suelo.
- Baldes de plástico o bolsas grandes para almacenar la muestra de suelo cuando se recorre el campo y homogeneizar el suelo para formar muestras compuestas.
- Marcadores resistentes al agua para etiquetar las bolsas de muestras.
- Pala de punta
- Cuchillo de campo para quitar material de suelo de los anillos de DENSIDAD.
- Cepillo, para limpiar basto el muestreador y el equipo.
- Toalla o repasador para retirar los restos húmedos de la muestra del muestreador del suelo.
- Una cinta métrica de al menos 30 cm, para medir las profundidades de las capas del suelo o profundidad de las extracciones.
- Carpeta de campo
- Bolígrafos impermeables para llenar los formularios de muestreo de suelo.
- Dispositivo de medición GPS, teléfono celular o tableta con software GIS apropiado.
- Bolsa grande estable o caja plástica para almacenar el equipo de manera eficiente mientras se camina entre los puntos de muestreo.
- Caja de herramientas plástica para transporte de instrumental.
- Heladera de plástico o Telgopor para transportar y conservar muestras empacadas durante la campaña de campo
- Equipo personal: agua potable y alimentos, calzado resistente, repelente de mosquitos, protector para el sol.



## ANEXO

### A1. Determinación de número de muestras por UNFCC A/R Methodological Tool – Estimación de Stocks de C con una precisión aceptable.

Los siguientes pasos resumen cómo determinar los requisitos de muestreo utilizando este enfoque:

1. Estratificar el área del Proyecto y se proporcionará una estimación del área de cada estrato (ver punto).
2. Estimar la variabilidad del COS esperada de cada estrato (coeficiente de variación y desviación estándar de las existencias del COS en el estrato). El valor aproximado del coeficiente de variación y la desviación estándar en cada estrato en el momento de la estimación se conoce a partir de un estudio piloto, de datos existentes relacionados con un área similar, o de mapas pre-existentes (Ejemplo GSOC map). Si solo se puede evaluar una estimación de la variabilidad del COS dentro de todo el proyecto o para un solo estrato, se puede suponer una variabilidad similar para todos los estratos. Si no hay información disponible, utilizar un 25% de coeficiente de variación como valor por defecto.
3. Calcular o aproximar la superficie media de los lugares de muestreo (sitios de referencias). Esto se refiere al área de cada parcela de muestreo permanente, o el área promedio donde se distribuyen las muestras simples para formar una muestra compuesta.
4. Definir un margen de error aceptable (E). Para los proyectos SOC, normalmente establecido en 5-10% de la media.
5. A continuación, calcular iterativamente el número de parcelas de muestra o muestras compuestas requeridas para la estimación de las existencias de COS dentro de los límites del proyecto. En la primera iteración, el número total de parcelas de muestra o el total de muestras compuestas para el área del proyecto se calcula como:

$$n = \frac{N * t^2 * val * (\sum_i w_i^2 * sdi)}{N * E^2 + t^2 * val * \sum_i w_i^2 * sdi}$$

where:

n es el número de parcelas de muestreo o muestras compuestas requeridas para la estimación de las existencias de COS dentro de los límites del proyecto; adimensional

N es el número total de posibles parcelas de muestreo o muestras compuestas dentro de los límites del proyecto (es decir, el espacio de muestreo o la población: el área total dividido el área de las parcelas); adimensional tval es el valor t de Student bilateral, con infinitos grados de libertad, para el nivel de confianza

requerido; adimensional. Se recomienda un nivel de confianza del 90% o superior. En esta metodología se establece un valor predeterminado del 90%.  $w_i$  es el Peso relativo del área del estrato i (es decir, el área del estrato i dividida por el área del proyecto); adimensional

sdi es la desviación estándar estimada del stock (o contenido) de COS en el estrato i; (en tC/ha o %)

E es el margen de error aceptable (es decir, la mitad del intervalo de confianza) en la estimación de las existencias (o contenido) de SOC dentro de los límites del proyecto (en tC/ha o %, es

decir, en las unidades utilizadas para sdi). Se establecerá un margen de error aceptable para los proyectos SOC del 5 al 10 % de la media. En esta metodología se establece un valor predeterminado del 10%.

i 1, 2, 3, ... estratos de estimación dentro de los límites del proyecto

6. Si el número de parcelas de muestreo (o muestras compuestas) n calculado en la primera iteración es 30 o más, entonces no se lleva a cabo ninguna iteración adicional y el valor de n obtenido en la primera iteración es el valor final de n.

7. Si el número de parcelas de muestreo n calculado en la primera iteración es menor que 30, entonces se aplica la ecuación 1 en la segunda iteración usando el valor t para grados de libertad iguales a (n-1). El valor de n obtenido en la segunda iteración es el valor final de n.

8. Para una pequeña fracción de muestreo (es decir, cuando el área muestreada es inferior al 5% del área total del proyecto), se puede usar la siguiente ecuación simplificada para estimar el número de parcelas de muestra:

$$n = \left( \frac{t_{val}}{E} \right)^2 * \left( \sum_i w_i s_i^2 \right)$$

dónde:

n es el número de parcelas de muestra o muestras compuestas requeridas para la estimación de las existencias de COS dentro de los límites del proyecto; adimensional

tval es el valor t de Student bilateral, con infinitos grados de libertad, para el nivel de confianza requerido; adimensional Se recomienda un nivel de confianza del 90% o superior. En esta metodología se establece un valor predeterminado del 90%. E es el margen de error aceptable (es decir, la mitad del intervalo de confianza) en la estimación

de las existencias (o contenido) de SOC dentro de los límites del proyecto (en tC/ha o %, es decir, en las unidades utilizadas para sdi). Se establecerá un margen de error aceptable para los proyectos SOC del 5 al 10 % de la media. En esta metodología se establece un valor predeterminado del 10%. wi es el Peso relativo del área del estrato i (es decir, el área del estrato i

dividida por el área del proyecto); adimensional

sdi es la desviación estándar estimada del stock (o contenido) de COS en el estrato i; (en tC/ha o %)

i 1, 2, 3, ... estratos de estimación dentro de los límites del proyecto

9. Para una fracción de muestreo grande (es decir, cuando el área muestreada es más del 5 % del área del proyecto), el número de parcelas o muestras compuestas calculado con la ecuación 5.5 se ajusta como:

$$n_a = n * \frac{1}{1 + \frac{n}{N}}$$

dónde:

na es el número ajustado de parcelas de muestra o muestras compuestas requeridas para la estimación de las existencias de COS dentro de los límites del proyecto; adimensional

n es el Número de parcelas de muestreo o muestras compuestas, calculado a partir de la ecuación anterior; adimensional

N es el número total de posibles parcelas de muestreo o muestras compuestas dentro de los límites del proyecto (es decir, el espacio de muestreo o la población); adimensional

10. Se utiliza un método de asignación óptima (Neyman) para asignar el número de parcelas de muestra o muestras compuestas a diferentes estratos según la variabilidad esperada y el área de cada estrato. El número de parcelas de muestra asignadas a un estrato se calcula como:

$$n_i = n \frac{w_i * s_{di}}{\sum_i w_i * s_{di}}$$

dónde:

$n_i$  es el Número de parcelas de muestreo o muestras compuestas asignadas al estrato  $i$ ; adimensional

$n$  es el Número de parcelas de muestra o compuesto necesario para la estimación de las existencias de COS dentro de los límites del proyecto; adimensional

$w_i$  es el Peso relativo del área del estrato  $i$  (es decir, el área del estrato  $i$  dividida por el área del proyecto); adimensional

$s_{di}$  es la desviación estándar estimada del stock de SOC en el estrato  $i$ ;

$i$  1, 2, 3, ... son los estratos de estimación dentro del límite del proyecto

11. Se requiere un conjunto mínimo de 3 parcelas de muestreo compuestas o permanentes por estrato y se recomienda un mínimo de 3-5 estratos por área de intervención.