

Artículo de divulgación

Fijación biológica de nitrógeno en cultivares de soja de diferente concentración de proteína en grano

Barat-Carnino, Mercedes; Saenz, Ezequiel; Borrás, Lucas.

Facultad de Cs. Agrarias-UNR

merbarat@hotmail.com

Introducción:

La concentración de proteína en el grano es un factor determinante para el valor del cultivo de soja (*Glycine max (L.) Merr.*). En los últimos años grandes aumentos de rendimiento se corresponden con una caída en el porcentaje de proteína de los granos cosechados. Argentina es uno de los principales exportadores a nivel mundial de harinas proteicas. La baja concentración proteica es un tema de preocupación ya que se debe disminuir la humedad por debajo de la base de comercialización para concentrar la proteína, esto genera una disminución en los ingresos del agroexportador y del monto de divisas percibidas a nivel país. La elección de cultivares con una alta concentración de proteína en grano es una de las principales herramientas al alcance del productor para revertir la situación (Bosaz et al., 2019).

La soja es el cultivo con mayor requerimiento de nitrógeno (N) (Sinclair y de Wit, 1975). Las fuentes de abastecimiento de N de las que se nutre este cultivo son dos, pudiendo provenir del suelo por mineralización de la materia orgánica o del aire a partir del proceso de fijación biológica (FBN) (Layzell, 1990). Este último es el resultado de una asociación simbiótica entre el cultivo y bacterias del género *Rhizobium* donde el balance de N del suelo juega un rol importante ya que aumentos en el porcentaje de FBN corresponden a un balance de N del suelo menos negativo (Santachiara et al., 2017).

Factores ambientales como disponibilidad de agua (Purcell et al., 2004), fertilidad del suelo (Gelfand y Robertson, 2015), cepas de bacterias presentes en el suelo (Weber et al., 1989; Hungria et al., 2015) y temperatura (Lindemann y Ham, 1979), contribuyen a la variabilidad del porcentaje de N capturado por FBN. Estos son difíciles de predecir en condiciones de campo. También, se ha observado que distintos cultivares difieren

en su capacidad para fijar N atmosférico (Mastrodomenico y Purcell, 2012). Es por ello que para desarrollar estrategias que logren balances de N neutros debe ponerse más énfasis en el estudio de la relación entre el genotipo y el porcentaje de FBN.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la captura de N y el rol de la fijación biológica de N en genotipos de soja que fueron seleccionados por diferente concentración de proteína en grano. En la actualidad se desconoce si los genotipos de soja que son seleccionados por alto porcentaje de proteína tienen un porcentaje de FBN más alto que el resto de los genotipos.

Materiales y Métodos:

El experimento se llevó a cabo en el Campo Experimental Villarino, ubicado en Zavalla, Santa Fe, Argentina (33°1' S, 60°53' W; altitud 24.6m). Se implantó sobre un rastrojo de maíz en un suelo Argiudol Vértico, serie Roldán.

Se evaluaron cinco cultivares de grupo de madurez III. Dos de ellos son cultivares experimentales de alta concentración de proteína en grano (NK34-00 x PI55396)55 y (SP3X1 x AI3011)66 y los otros tres genotipos restantes son cultivares comerciales actualmente utilizados por los productores de la región (DM3100, NK34-00 y SP3X1). Los genotipos experimentales fueron seleccionados por su alta concentración proteica a partir de poblaciones obtenidas por dos cruzamientos biparentales entre genotipos comerciales (NK 34-00 y SP3X1) y genotipos donantes de alta proteína provenientes del banco de germoplasma del USDA (PI55396 y AI3011). Ambas poblaciones fueron conducidas mediante el método de descendencia de semilla única (Single Seed Descent, SSD) con el fin de conservar toda la variabilidad genética hasta el momento de la selección (Poeta, 2016).

La densidad de siembra consistió en 30 plantas m⁻², donde las parcelas fueron sobresembradas y raleadas manualmente para lograr la densidad planeada. Cada parcela contaba con 6 surcos, con un distanciamiento de 0.52m, y 5.5m de longitud. Las fechas de siembra fueron 8 de Noviembre de 2018 y 27 de Diciembre de 2018. Las plagas y enfermedades fueron controladas químicamente durante toda la campaña. Las semillas fueron inoculadas con RizoLiq LLI® (Rizobacter Company, Argentina) en la dosis recomendada. Se aplicó insecticida y fungicida Cruiser Advanced® (Syngenta Company, Argentina) para semilla en una dosis de 1cm³ kg⁻¹ de semilla. El diseño experimental utilizado fue en bloques con tres repeticiones en cada fecha de siembra, los genotipos fueron distribuidos al azar dentro de cada bloque.

Se muestreó la biomasa aérea de 1.04m² de superficie en cuatro estadíos fenológicos (R1, R3, R5 y R7). Las plantas fueron cortadas a mano en la superficie del suelo, embolsadas y secadas en estufa a 60°C hasta peso constante. El rendimiento fue determinado en madurez fisiológica, en una superficie de 2,10 m². Luego de pesadas las muestras, fueron molidas a un tamaño de 1 mm. En R7 las semillas fueron separadas de las partes vegetativas utilizando una trilladora experimental. La concentración de N fue determinada a través del método de Kjeldahl (McKenzie y Wallace, 1954).

La fijación biológica de nitrógeno fue determinada a partir de biomasa de tallo molida por el método de abundancia de ureidos. Este método se basa en la abundancia de ureidos relativa a aminoácidos (asparagina y glutamina) y nitratos en tallo. La biomasa del tallo fue obtenida de cinco plantas adicionales cortadas en cada fecha de muestreo. La concentración de aminoácidos, nitratos y ureidos fue estimada colorimétricamente siguiendo Young y Conway (1942), Cataldo et al. (1975), y Yemm y Cocking

(1955), respectivamente. La abundancia relativa de ureidos fue calculada como:

$$\% N - Ureidos = (4U / (4U + AA + N)) * 100$$

Donde U, AA, y N son las concentraciones de ureidos, aminoácidos y nitratos respectivamente (Herridge y Peoples, 1990). En cada fecha de muestreo, el % de N relativo a ureidos fue multiplicada por el N total de la biomasa aérea (kg Nha⁻¹) para calcular la cantidad de N fijado biológicamente (kg ha⁻¹) siguiendo Herridge et al. (1990). La FBN total en madurez (kg ha⁻¹) fue calculada como la suma de las cantidades de N fijado biológicamente en cada fecha de muestreo. El porcentaje de FBN fue calculado como la relación entre N fijado biológicamente (kg Nha⁻¹) y el total de N capturado en madurez fisiológica. Finalmente, el N mineral absor-

bido del suelo fue calculado como la diferencia entre el total de N capturado (kg Nha⁻¹) y el total de N fijado biológicamente (kg Nha⁻¹).

Resultados:

El cultivar más rendidor fue NK 34-00 con 3872 kg ha⁻¹, arrojó el menor valor de concentración de proteína en grano siendo el mismo 36%. Sin embargo, el segundo lugar en el ranking de rendimiento lo obtuvo el cultivar (SP3X1 x AI3011) 66, con 3838 kg ha⁻¹, y se ubicó también segundo en cuanto a la concentración de proteína en grano.

El rendimiento promedio fue mayor en la fecha de siembra temprana que en la fecha de siembra tardía, como era de esperarse. Respecto a los diferentes cultivares, los

valores de rendimiento y concentración de proteína en grano no guardaron una relación negativa. La concentración de proteína en grano no varió entre ambientes, siendo 38% en ambas fechas de siembra. Pero la diferencia sí fue significativa para el rendimiento de proteína, en fecha de siembra temprana se obtuvieron en promedio 1486 kg ha⁻¹, mientras que en fecha de siembra tardía se obtuvieron 1183 kg ha⁻¹. Los cultivares más rendidores obtuvieron los mayores valores de rendimiento de proteína por hectárea.

Los valores porcentajes de FNB fueron bajos, variando entre 32 y 41%, y las diferencias entre los distintos genotipos evaluados no fueron significativas. En fecha de siembra tardía el porcentaje de N capturado por FBN fue mayor que en fecha de siembra

Tabla 1: Descripción de rendimiento en grano, % de proteína y rendimiento de proteína. * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ns: no significativo.

GENOTIPO	FECHA DE SIEMBRA	RENDIMIENTO	PROTEÍNA EN SEMILLA	RENDIMIENTO DE PROTEÍNA
		(Kg ha ⁻¹)	(%)	(kg ha ⁻¹)
DM3100		3730 B	37 AB	1373 B
NK34-00		3872 B	36 A	1408 B
SP3X1		3554 B	38 BC	1335 B
(NK34-00 x PI55396)55		2796 A	39 D	1088 A
(SP3X1 x AI3011)66		3838 B	38 CD	1470 B
	TEMPRANA	3966 B	38 A	1486 B
	TARDÍA	3150 A	38A	1183 A
GENOTIPO (G)		**	***	**
FECHA DE SIEMBRA (FS)		***	ns	***
G X FS		ns	ns	Ns

Tabla 2: Descripción de N total aéreo a madurez fisiológica, N absorbido del suelo, N fijado biológicamente, y % del N total fijado biológicamente. * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ns: no significativo.

GENOTIPO	FECHA DE SIEMBRA	N TOTAL MF	N del SUELO	N de FBN	FBN
		(Kg ha ⁻¹)	(Kg ha ⁻¹)	(Kg ha ⁻¹)	(%)
DM3100		283 B	190 A	93 A	33 A
NK34-00		312 B	212 A	100 A	32 A
SP3X1		257 A	161 A	96 A	41 A
(NK34-00 x PI55396) 55		233 A	144 A	89 A	40 A
(SP3X1 x AI3011) 66		296 B	186 A	109 A	36 A
	TEMPRANA	345 B	238 B	107 A	30 A
	TARDÍA	208 A	119 A	88 A	43 A
GENOTIPO (G)		*	ns	ns	ns
FECHA DE SIEMBRA (FS)		***	***	ns	ns
G X FS		ns	ns	ns	ns

temprana, 43 y 30%, respectivamente. Los cultivares que presentaron mayor cantidad de N total capturado en madurez fisiológica presentaron porcentajes de FBN más bajos.

El N extraído del suelo (kg ha^{-1}), fue mayor que el N capturado por FBN (kg ha^{-1}) en ambas fechas de siembra y para todos los cultivares.

Conclusiones:

La concentración de proteína en grano arrojó diferencias significativas entre genotipos. No pudo observarse una correlación negativa entre porcentaje de proteína y rendimiento, por lo que genotipos de alto rinde y alta calidad fueron evidentes. Los cultivares más rendidores no necesariamente presentaron menos % de proteína en grano.

Se detectaron relaciones positivas entre N total aéreo capturado y rendimiento. Sin embargo, no se hallaron mayores valores de % FBN en aquellos cultivares que arrojaron valores más altos de N total aéreo capturado. Mayor concentración de proteína en grano no implica mayor porcentaje de N fijado biológicamente. El porcentaje de N fijado biológicamente no mostró diferencias significativas entre genotipos, es por ello que inferimos que los cultivares con mayor concentración de proteína en grano son más extractivos en cuanto al N total del suelo.

Bibliografía:

Cataldo, D.A., Haroon, M., Schrader, L.E., Youngs, V.L. (1975). "Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun.*" Soil science and Plant Analysis, vol. 6, (70–80).

Córdova, S.C., Castellano, M, J., Dietzel, R., Licht, M.A., Togliatti, k., Martinez-Feria, r., Archontoulis, S.V. (2019). "Soybean nitrogen fixation dynamics in Iowa, USA". Field Crops Research, vol. 236, (165–176).

Cuniberti, M y Herrero, R. (2018). "Problemática de la baja proteína de la soja". Calidad Industrial y Valor Agregado de Cereales y Oleaginosas. INTA-EEA Marcos Juárez, Cba. Gaspar, A.P., Laboski, C.A.M., Naeve, S.L., Conley, S.P. (2017). "Dry Matter and Nitrogen Uptake, Partitioning, and Removal across a Wide Range of Soybean Seed Yield Levels" Crop science, vol. 57.

Gelfand, I., Robertson, G.P. (2015). "A reassessment of the contribution of soybean biological nitrogen fixation to reactive N in the environment". Biogeochemistry vol. 123, (175–184).

Herridge, D.F., Peoples, M.B., (1990). "Ureide assay for measuring nitrogen fixation by nodulated soybean calibrated by ^{15}N methods". Plant Physiology vol. 93, (495–503).

Hungria, M., Mendes, I.C., De Bruin, F., (2015). "Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis". Biological nitrogen fixation 2, (1005–1019). Iowa Environmental Mesonet, IEM.

<https://mesonet.agron.iastate.edu/>. 2017. Lindemann, W.C., Ham, G.E., (1979). "Soybean plant growth, nodulation, and nitrogen fixation as affected by root temperature". Soil Science Society of America Journal vol. 43, (1134–1137).

Mastrodomenico, A.T., Purcell, L.C., (2012). "Soybean nitrogen fixation and nitrogen remobilization during reproductive development". Crop Science vol. 52, (1281–1289).

McKenzie HA, Wallace HS (1953) "The Kjeldahl determination of nitrogen: a critical

study of digestion conditions-temperature, catalyst, and oxidizing agent". Australian Journal of Chemistry vol. 7, (55–70).

Purcell, L.C., Serraj, R., Sinclair, T.R., De, A., (2004). "Soybean N_2 fixation estimates, ureide concentration, and yield responses to drought". Crop Science vol. 44, (484–492).

Rotundo, J.L., Borrás, L., Westgate, M.E., Orf, J.H., (2009). "Relationship between assimilate supply per seed during seed filling and soybean seed composition". Field Crops Research vol. 112, (90–96).

Santachiara, G., Gerde, J.A., Salvagiotti, F., Borrás, L., Rotundo, J.L., (2017). "Relative importance of biological nitrogen fixation and mineral uptake in high yielding soybean cultivars". Plant and Soil vol. 418, (191–203).

Santachiara, G., Salvagiotti, F., Gerde, J.A., Rotundo, J.L., (2018). "Does biological nitrogen fixation modify soybean nitrogen dilution curves?" Field Crops Research vol. 223, (171–17).

Sinclair, T.R., de Wit, C.T.T., (1975). "Photosynthate and nitrogen requirements for seed production by various crops". Science vol. 189, (565–567).

Poeta, F.B. 2016. Evaluación de estrategias contrastantes para el aumento de la concentración de proteína en semillas de soja: impacto a nivel ecofisiológico y bioquímico. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

Yemm, E.W., Cocking, E.C., (1955). "The determination of amino-acids with ninhydrin". Analyst vol. 80, (209–213).

Young, E.G., Conway, C.F., (1942). "On the estimation of allantoin by the Rimini-Schryver reaction". Journal of Biological Chemistry vol. 142, (839–853).

SECRETARÍA DE RELACIONES INTERNACIONALES FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS - UNR

Trabajamos para generar ámbitos de intercambio colaborativo y construir experiencias pedagógicas desde la generosidad y el entendimiento entre culturas

La Secretaría de Relaciones Internacionales de la Facultad de Ciencias Agrarias tiene por objetivo principal contribuir al logro de una "trascendencia internacional" de la Facultad. Para ello contamos con herramientas de difusión de información sobre oportunidades internacionales de participación, como así también brindamos asesoramiento personalizado a estudiantes, docentes e investigadores que deseen participar en convocatorias internacionales.

Nuestro interés por la cooperación internacional es prioritario. Su función es importante para institucionalizar los lazos pre-existentes con otras entidades fuera de nuestro país y fomentar nuevas vinculaciones, permitiendo a nuestra comunidad educativa profundizar colaboraciones académicas y de formación profesional.