

Factores ambientales asociados a la fijación simbiótica de N en soja y arveja

Caviglia, O.P.^{1,2}; Novelli L.E.^{1,2,3}; Michel, A.^{1,2}; Re, D.A.^{1,2}; Maltese N.E.^{1,2}; Reynoso, L.^{1,2}; Modon, G.^{1,2}; Gregorutti V.C.^{1,2}; Appelhans S.C.^{1,2}; Arevalo, E.S.^{1,2}

Autoras/es: ¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Entre Ríos. RP N° 11, km 10,5. Oro Verde, Entre Ríos. ²CONICET. ³INTA EEA Paraná. RP N° 11, km 12,5. Oro Verde, Entre Ríos.

Contacto: octavio.caviglia@uner.edu.ar

ARK: <https://id.caicyt.gov.ar/ark:/s22504559/khi5wpxhl>

RESUMEN

El manejo eficiente del nitrógeno (N) y de otros recursos en sistemas de producción agrícola es clave para mejorar la sostenibilidad y la productividad. En este marco, se llevaron a cabo estudios sobre la fijación biológica de N (FBN) en leguminosas, la influencia de la aireación del suelo en la nodulación, la calibración de modelos de simulación y el balance de N en diferentes secuencias de cultivos. Estas investigaciones buscan optimizar el uso del N, mejorar la productividad del maíz y la soja, y diseñar estrategias agronómicas que reduzcan pérdidas y maximicen la eficiencia del sistema. Se realizaron experimentos para evaluar la morfología de nódulos en arveja bajo diferentes niveles de aireación del suelo. Los resultados mostraron efectos significativos sobre la biomasa radicular y nodular, así como en la forma y distribución de los nódulos. En la evaluación de fijación biológica de N (FBN) a campo, se encontró que la soja presentó mayor %Ndfa que la arveja. El modelo APSIM fue calibrado con alta precisión para fenología, biomasa y rendimiento para maíz. Finalmente, el balance de N mostró que las secuencias con trigo/soja-arveja/maíz registraron los mayores aportes de N, destacando la importancia de la diversificación y el uso de leguminosas para mejorar la eficiencia del N en sistemas productivos.

Palabras clave: Sustentabilidad; Rotaciones; Fijación biológica de N.

1. Objetivos propuestos y cumplidos

Objetivos propuestos

Objetivo General

Generar conocimientos sobre factores ambientales asociados a la fijación biológica del N (FBN) orientados a mejorar el balance negativo del nutriente en los suelos agrícolas.

Objetivos Específicos

- Analizar el efecto de diferentes niveles de aireación del suelo sobre la nodulación en arveja (*Pisum sativum*), caracterizando la morfología, ubicación y biomasa de los nódulos en respuesta a variaciones en la disponibilidad de oxígeno.
- Cuantificar la fijación biológica de nitrógeno (FBN) en arveja y soja en distintas secuencias de cultivos, determinando el porcentaje de N derivado de la atmósfera (%Nd_{fa}) y su variabilidad en función de la configuración de la rotación.
- Ajustar y validar el modelo APSIM para la simulación de secuencias de cultivos en diferentes condiciones agroclimáticas, evaluando su capacidad predictiva en términos de fenología, biomasa y rendimiento.
- Determinar la disponibilidad y dinámica del nitrógeno en distintas secuencias de cultivos, considerando el aporte de la FBN, la mineralización del suelo y la fertilización, para mejorar la eficiencia del uso del N en sistemas productivos.
- Diseñar y evaluar estrategias de manejo agronómico que optimicen la eficiencia del nitrógeno y otros recursos en secuencias de cultivos y en el cultivo de maíz, promoviendo la sostenibilidad y la productividad del sistema.

Estos objetivos se abordaron desde distintas aproximaciones, a través de: experimentos en invernáculo, un experimento de larga duración con diferentes secuencias de cultivos a campo, a través del análisis de datos de ensayos a campo, uso del modelo APSIM y análisis de bases de datos preexistentes.

Objetivos cumplidos

El plan de actividades *ex ante* incluía tres actividades: 1) determinación de factor b en arveja, 2) evaluación de FBN a campo en soja y arveja y 3) Simulación de FBN en soja mediante APSIM.

Lamentablemente, el proyecto desde su inicio debió enfrentar una serie de inconvenientes que llevaron a la necesidad de redefinir actividades y objetivos. Los principales inconvenientes fueron los siguientes: 1) A pocos días de su inicio (2 de Marzo de 2020), el proyecto se vio súbitamente afectado por las restricciones impuestas por la situación sanitaria generada por la pandemia de COVID19 durante prácticamente 2 años. 2) Durante el periodo de ASPO (DNU 297/2020) el invernáculo destinado a los experimentos fue parcialmente destruido por la caída de un árbol sobre el mismo, 3) cuando fue posible iniciar algunas actividades, recién a partir de septiembre de 2021,

comenzó a expresarse una fuerte condición de sequía relacionada con el fenómeno ENSO que duró dos años más, siendo uno de los eventos de sequía más pronunciados y extensos de la historia reciente, 4) el presupuesto asignado originalmente al proyecto, no recibió ningún tipo de actualización en los montos en un periodo marcado por una alta inflación anual, lo que licuó en gran medida la disponibilidad de fondos para determinaciones analíticas críticas.

Las consecuencias de los inconvenientes que se presentaron incluyeron: 1) el retraso en el inicio de actividades por inclemencias climáticas y restricciones sanitarias, 2) la escasa disponibilidad de fondos para costear determinaciones analíticas costosas como el análisis isotópico de ^{15}N , 3) la falta de contraste en la aireación de los suelos a campo por la extrema e inusual sequía, 4) la necesidad ineludible de redefinir actividades para garantizar la continuidad del proyecto y lograr al menos algunos aportes en base a las posibilidades reales y concretas.

Para enfrentar el desafío de garantizar la continuidad del proyecto se tomó la decisión de: 1) poner a punto el invernáculo e instalar el equipamiento necesario para llevar adelante algunas actividades originalmente planeadas a campo, en condiciones más controladas, donde era posible manipular las condiciones de aireación mediante el manejo del riego controlado. Para ello, fue necesario adquirir un equipo automatizado de riego con la finalidad de obtener diferentes niveles de aireación del suelo, 2) debido a que los costos de los análisis de ^{15}N se volvieron inaccesibles para el magro presupuesto disponible, licuado por el alto proceso inflacionario, se comenzaron a evaluar otras variables relacionadas con la FBN, como número, peso y morfología de nódulos, 3) teniendo en cuenta que la finalidad del proyecto era aportar conocimientos novedosos para mejorar el preocupante balance negativo de nitrógeno (N) en los suelos agrícolas, las actividades se orientaron a generar información sobre el balance N y la eficiencia de uso del nutriente y de otros recursos en secuencias de cultivos y al estudio y desarrollo de prácticas de manejo sostenible del N en el cultivo de maíz.

Por lo tanto, las actividades redefinidas para garantizar la continuidad y finalización exitosa del proyecto fueron:

- a. Evaluación de morfología de nódulos en arveja en condiciones contrastantes de aireación de suelos,
- b. evaluación de la FBN en arveja y soja en diferentes secuencias de cultivos,
- c. calibración de APSIM para modelación de secuencias de cultivos,
- d. estimación del balance de N en secuencias de cultivos y
- e. desarrollo de conceptos y tecnologías para el manejo eficiente del N y de otros recursos en secuencias de cultivos y en el cultivo de maíz.

Esta redefinición permitió cumplir la totalidad de los objetivos establecidos en base al contexto *ex post*.

2. Marco teórico y metodológico

2.1. Economía del N en las secuencias agrícolas de Argentina

Debido a las crecientes demandas de alimentos, fibras y biocombustibles a nivel global se proyecta una presión progresiva sobre las tierras más productivas, ya que existen pocas posibilidades de incorporar nuevas tierras para la agricultura (Andrade et al., 2017).

La Región Pampeana Argentina, al igual que otros países de Sudamérica, tiene un alto potencial para enfrentar el desafío de suplir una parte importante de las demandas proyectadas, lo que podría generar un importante ingreso de divisas para el país. Sin embargo, la situación actual de los sistemas agrícolas de Argentina, en especial en los aspectos económicos, ambientales y sociales, genera importantes interrogantes sobre la posibilidad de enfrentar dicho desafío en forma exitosa.

En la actualidad, los sistemas agrícolas de la Región Pampeana de Argentina están basados en cultivos estivales con una predominancia marcada de la soja (*Glycine Max* (L.) Merrill) con una notable simplificación en su manejo. En términos agronómicos, dichos sistemas están caracterizados principalmente por una baja eficiencia en el uso de los recursos (agua, radiación solar y nutrientes) (Caviglia et al., 2004; 2013), una baja reposición de los nutrientes extraídos por los cultivos (García y González San Juan, 2013), un alto uso de productos fitosanitarios (Andrade et al., 2017), un bajo retorno de residuos de cosecha al suelo (Caviglia and Andrade, 2010) y un estancamiento en los niveles de rendimiento de los principales cultivos agrícolas (Estimaciones agrícolas, 2019). La particular configuración de las secuencias agrícolas de la Región Pampeana de Argentina ha sido asociada con numerosas consecuencias que involucran la degradación de los suelos por un balance negativo de carbono (Studdert y Echeverría, 2000; Novelli et al., 2011), erosión hídrica (Sasal et al., 2010) y por una reducción en su fertilidad (Romaniuk et al., 2018) tanto por las pérdidas de suelo como por la baja reposición vía fertilización y/o enmiendas.

Los largos periodos de barbecho, la predominancia de la soja con alta susceptibilidad al ataque de numerosas adversidades bióticas y el manejo poco racional de fitosanitarios con aplicaciones sistemáticas para su control han llevado a que en Argentina se utilice un 450% más en la dosis de fitosanitarios por unidad de área comparados con el promedio mundial (Andrade et al., 2017). Ante este uso desmedido, no resulta sorprendente que se comiencen a generar reportes de contaminación del suelo, agua y aire con los fitosanitarios utilizados o sus metabolitos (e.g. Alonso et al., 2018). Sumado a ello, la configuración de la secuencia sólo permite aprovechar una fracción de la lluvia y radiación solar disponible a lo largo del año. Tales ineficiencias, que generan excesos de agua y baja productividad de biomasa, han sido asociadas con ascensos de la napa freática (Mercau et al., 2016), inundaciones (Nosetto et al., 2013), procesos erosivos (Sasal et al., 2010) y reducción en los niveles de carbono orgánico del suelo (Studdert y Echeverría, 2000). Asimismo, los rendimientos unitarios de trigo, soja y maíz permanecen estancados en los últimos 15 años (Estimaciones agrícolas, 2019), lo que evidencia que el progreso genético ampliamente reportado para dichos cultivos parece ser compensado por el deterioro del ambiente. La degradación de las propiedades físicas y químicas del suelo resultan en una prolongación en el tiempo de la vigencia de la actual configuración de las secuencias agrícolas ya que la soja, debido a su alta plasticidad vegetativa y reproductiva, es la que mejor se adapta a esa situación sin requerir de altos costos para mejorar la condición del suelo. Todos estos problemas han generado cuestionamientos crecientes al sistema productivo desde sectores rurales y urbanos, que en muchos casos han resultado en la aplicación de normativas que restringen o anulan las posibilidades de producción agrícola en áreas periurbanas.

Debido a que la configuración de la secuencia agrícola aparece como el factor que genera la mayor parte de los problemas mencionados, se han propuesto cambios en la misma que contemplan la realización de cultivos dobles o cultivos de cobertura du-

rante el periodo previo a los cultivos estivales, así como la inclusión más frecuente de gramíneas.

La implementación de estos cambios en las secuencias lleva implícito mejorar la reposición de nutrientes, particularmente N, si es que se pretende mejorar los rendimientos unitarios de los cultivos y los indicadores de eficiencia y sustentabilidad de los sistemas. Sin embargo, la reposición de N mediante el uso de mayores dosis de fertilizantes puede generar reducciones en la eficiencia en el uso del N (EUN) a nivel de cultivo (Cassman et al., 2002) y generar consecuencias ambientales y económicas no deseadas.

Las configuraciones alternativas al monocultivo de soja pueden incluir tanto leguminosas con la capacidad de fijar N atmosférico como gramíneas que requieren la aplicación de fertilizantes nitrogenados y cambiar la ubicación temporal de los cultivos que afecten el ajuste entre la oferta de N por mineralización desde el suelo con la demanda de absorción del nutriente. Estos cambios en la dinámica del N a lo largo del año pueden llevar a modificaciones en las vías de pérdida de nutriente y afectar la EUN a nivel de sistema. Las posibilidades de generar configuraciones alternativas de secuencias agrícolas son amplias en la mayor parte de la Región Pampeana, sin embargo, las mismas deben incluir cultivos y prácticas de manejo que sean factibles de implementarse y adoptarse rápidamente por el sector productivo.

En este sentido, el rol que juegan las leguminosas involucradas en secuencias de cultivos mejoradas como la soja de segunda (sembrada luego de un cultivo invernal) y arveja (*Pisumsativum* L.) como componente invernal de las secuencias puede ser crítico para lograr una alta EUN del sistema debido a su capacidad de fijación biológica de N (FBN).

2.2. Fijación biológica de N (FBN)

En todos los cultivos de agrícolas, pastizales y sistemas agroforestales, la capacidad de las leguminosas para fijar el N_2 atmosférico reduce la necesidad de fertilizantes químicos y proporciona importantes beneficios económicos y ambientales (Peoples et al., 1995). Entre un tercio y la mitad del total de N utilizado en las tierras agrícolas a nivel global es atribuible a la simbiosis de leguminosas-rizobios (Herridge et al., 2008; FAOSTAT, 2019), mientras que en Sudamérica, y en Argentina en particular, esta proporción es seguramente mayor. Como resultado de ello y de la baja reposición de nutrientes, la EUN a nivel de sistema en Argentina es muy elevada, a expensas sin embargo, de un paulatino empobrecimiento del nivel de nutrientes en el suelo que es compatible con el estancamiento de los rendimientos mencionado previamente.

Por lo tanto, las modificaciones en la configuración de la secuencia orientadas a mejorar la sustentabilidad de los sistemas deberían estar acompañas de mantener, al menos en parte, una proporción de leguminosas que permita sostener una alta EUN por su aporte por FBN.

La fijación biológica de nitrógeno se lleva a cabo por un grupo especializado de procariotas. Estos organismos utilizan la enzima nitrogenasa para catalizar la conversión de N_2 en una forma amoniacal (NH_3). Las plantas pueden asimilar fácilmente la forma amoniacal para producir las biomoléculas nitrogenadas involucradas en su metabolismo. Estos procariotas incluyen organismos acuáticos, como cianobacterias, bacterias del suelo de vida libre, como *Azotobacter*, bacterias que forman relaciones asociativas

con plantas, como *Azospirillum*, y lo más importante, bacterias, como *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*, que forman simbiosis con leguminosas y otras plantas (Postgate 1982).

Las bacterias *Rhizobium* o *Bradyrhizobium* colonizan el sistema de raíces de la planta huésped y hacen que las raíces formen nódulos para albergar a las bacterias. El proceso de nodulación es una interacción orquestada entre la bacteria y la planta huésped (Napoli and Hubbell, 1975; Kamst et al., 1998; Van Rhyn and Vanderleyden, 1995; Cheng and Walker, 1998). El proceso comienza cuando los rizobios son atraídos por los flavonoides liberados por las raíces de la leguminosa huésped. Para las leguminosas como la alfalfa, el trébol y la soja, las bacterias comienzan a adherirse a las extensiones de las células epidérmicas de la raíz llamadas pelos radicales. La leguminosa huésped luego detecta los químicos producidos por los rizobios llamados factores Nod, que hacen que los pelos de las raíces colonizadas se enrosquen. Luego, los rizobios penetran en los pelos de la raíz y generalmente forman una estructura tubular llamada hilo de infección. Una vez que las bacterias alcanzan la raíz, estimulan las divisiones de las células corticales que conducen a la formación de un nódulo. Cuando el nódulo comienza a formarse, las bacterias se rodean por una membrana derivada de la planta y se liberan dentro de las células de la planta que forman el nódulo. Posteriormente, las bacterias pierden sus paredes celulares y experimentan un cambio profundo en la morfología celular para formar células grandes, de forma irregular, llamadas bacteroides. Desde ese momento, dependen totalmente de la planta huésped para sus necesidades energéticas. A cambio, las bacterias fijan nitrógeno para la planta. Desde el nódulo se exportan tanto como aminoácidos (Glutamina y Aparragina) y/o como N-ureidos a través del xilema (Unkovich et al., 2008), dependiendo de la especie de leguminosa considerada.

La interacción entre la bacteria y la leguminosa huésped es tan intrincada que un *Rhizobium* o *Bradyrhizobium* en particular sólo nodulará un número selecto de géneros de plantas. Esta especificidad del huésped se refiere a la señalización celular del grupo de inoculación cruzada entre la bacteria y el huésped de la leguminosa. Las variaciones en las estructuras de los factores Nod mencionados anteriormente determinan la especificidad del huésped para la bacteria. Más aún, tal especificidad puede ampliarse a la interacción entre cepas de rizobios y genotipos dentro de un mismo cultivo, por lo que una particular asociación cepa/genotipo puede tener una diferente eficiencia para fijar el N_2 , situación que en arveja aún no ha sido documentada.

Los métodos de medición de la FBN disponibles, como el de abundancia isotópica natural y el de N-ureidos (Collino et al., 2015) en la región han sido escasamente utilizados y requieren valores de referencia que son frecuentemente obtenidos en otras regiones que difieren en el ambiente edafoclimático y en el manejo agronómico de los cultivos. La metodología clásica de evaluación de la FBN mediante abundancia isotópica natural, requiere de la utilización del factor b, que es la abundancia natural del isótopo ^{15}N en la leguminosa que depende sólo de la FBN (Collino et al., 2015), que varía de entre diferentes especies de leguminosas o dentro de una misma especie según la combinación genotipo/cepas de rizobios (Pauferro et al., 2010). En general, estos métodos permiten estimar la proporción del N que es derivado de la FBN y a partir de ese valor estimar la cantidad de N fijado por unidad de área.

2.3 Factores ambientales que pueden afectar la FBN en Entre Ríos

Las proyecciones del cambio climático global y la gran variabilidad de suelos que existen en Entre Ríos, sugieren que proceso de FBN puede verse altamente afectado al momento de implementar secuencias agrícolas más sustentables. De acuerdo a la 3ra Comunicación Nacional de Cambio Climático (CIMA, 2015), las principales variables afectadas por cambio climático con impacto potencial sobre los sistemas agroproductivos son: i) el incremento de la temperatura media explicado principalmente por mayores temperaturas nocturnas; ii) cambios en el régimen de precipitaciones en cuanto a distribución y cantidad; iii) el incremento en la ocurrencia de eventos climáticos extremos como sequías prolongadas, olas de calor o frío e inundaciones y iv) el aumento del CO₂ atmosférico. Muchos suelos de Entre Ríos tienen una baja capacidad de aireación, que puede afectar a especies muy sensibles como la arveja y a su FBN. Sin embargo, hay muy pocos trabajos que se hayan centrado en la relación entre aireación del suelo y FBN. El nivel de aireación de los suelos durante el ciclo del cultivo puede cuantificarse a través del espacio poroso ocupado con agua (EPOA), que se calcula utilizando la humedad volumétrica basada en la densidad aparente del suelo. Si se considera que el cambio climático global hace prever que los eventos de lluvias podrían ser cada vez más variables e intensos, esto podría llevar a que los sistemas agrícolas se desarrollen ante condiciones de EPOA sumamente cambiantes, lo que puede ser más crítico en suelos como los vertisoles de Entre Ríos, los que presentan un intervalo hídrico óptimo para el crecimiento de los cultivos menor que otros suelos (Wilson et al., 2013).

Asimismo, la capacidad de aireación del suelo puede afectar al crecimiento aéreo del cultivo y a la FBN diferencialmente. Sin embargo, se desconoce cuál de los dos procesos es más afectado cuando se reduce el EPOA. Debido a que la fotosíntesis suele ser un proceso priorizado ante condiciones de estrés (e.g. Boyer, 1971; Sinclair and Horie, 1989, Trapani and Hall, 1996), se podría hipotetizar que el crecimiento aéreo es menos afectado que la FBN. Asimismo, la diferencia marcada en el crecimiento de las denominadas sojas de segunda (sembradas sobre un cultivo invernal) con respecto a las sojas de primera (sembradas como único cultivo en el año) podría tener importantes implicancias en la FBN, aunque se desconoce cuál es la relación entre ese menor crecimiento y la FBN.

Las estimaciones de la economía de N en una secuencia en general y de la FBN en particular requieren de numerosos y costosos experimentos a campo (Ojeda et al., 2018), por lo que el uso de modelos de simulación para estimar dichas variables es una herramienta valiosa que ha demostrado ser útil para evaluar el uso de recursos en sistemas de producción de granos y forrajes (Cullen et al., 2009, Caviglia et al., 2013; Ojeda et al., 2018). Particularmente, el modelo de simulación de sistemas de producción agrícola (Agricultural Production Systems Simulator, APSIM), es un modelo de simulación de cultivos que integra a través de submódulos, el manejo agronómico con datos climáticos de manera mecánica para simular el crecimiento y desarrollo de cultivos, así como la dinámica del agua del suelo y el N (Holzworth et al., 2018). El mismo se está volviendo un modelo cada vez utilizado con mayor frecuencia debido a su disponibilidad gratuita, su entorno amigable y la simplicidad de su lenguaje de programación. Sin embargo, APSIM cuenta con limitantes para estimar la FBN, ya que los parámetros que tiene el modelo por default no se encuentran calibrados para la zona en estudio.

2.4 Materiales y Métodos

2.4.1. Evaluación de morfología de nódulos en arveja en condiciones contrastantes de aireación de suelos

Se realizaron dos experimentos en un invernáculo de la Universidad Nacional de Entre Ríos, evaluando el efecto de tres frecuencias de riego (60, 85 y 100% de la capacidad del suelo) sobre la arveja (*Pisum sativum* L., var. Reussite). Se sembraron plantas en macetas de 5 L con suelo local, inoculadas con *Rhizobium leguminosarum* y tratadas con fungicida.

El diseño experimental fue completamente aleatorizado con tres tratamientos de riego y cuatro repeticiones. A los 50 días después de la siembra, se recolectaron plantas completas, separando raíces, parte aérea y nódulos, los cuales fueron secados y pesados. Se caracterizó la micromorfología de los nódulos mediante microscopía y análisis de imágenes con Fiji ImageJ, calculando número, tamaño y forma de los nódulos. Se midieron 15 nódulos por repetición y tratamiento.

2.4.2. Evaluación de la FBN en arveja y soja en diferentes secuencias de cultivos

Sobre un experimento de larga duración (ELD) de secuencias de cultivos iniciado en el año 2008, ubicado en la EEA Paraná del INTA en un suelo Molisol se analizaron 4 secuencias de cultivos (de un total de 8 que presenta en experimento) que varían en el tiempo de ocupación anual con cobertura vegetal viva (i.e. diferente nivel de intensificación de las secuencias de cultivos). El experimento presenta un diseño en bloques completos aleatorizados (DBCA), con 4 repeticiones.

Se cuantificó el N derivado de la FBN, tanto en arveja como en soja. Para ello, se utilizaron microparcels de cultivos no fijadores incluidas dentro de los tratamientos de secuencias. Se realizó el análisis de ^{15}N de un cultivo fijador (arveja y soja) y no fijador (trigo y maíz), las cuales se analizaron en el Laboratorio de Isótopos Estables en Ciencias Ambientales (LIECA) que funciona en el IANIGLIA (CONICET-Universidad Nacional de Cuyo).

Las secuencias seleccionadas para la evaluación fueron las siguientes:

- 1) Monocultivo de soja (Sj-Sj)
- 2) Trigo/soja 2°- maíz. (Fase 1 y 2)
- 3) Trigo/soja 2°- arveja/maíz 2°. (Fase 1 y 2)
- Arveja/maíz 2°- trigo/soja 2°. (Fase 2)
- 4) Arveja/soja.

2.4.3. Calibración de APSIM para modelación de secuencias de cultivos

Lamentablemente, por lo expresado en apartados anteriores, i.e. pocos resultados de laboratorio de FBN, no se pudo continuar con la calibración de la estimación de FBN en soja y arveja. Sin embargo, se avanzó considerablemente con rutinas de desarrollo y crecimiento del cultivo que servirán para cumplimentar los objetivos en su totalidad en un lapso breve cuando se obtenga la información necesaria.

Con los datos que se recolectaron de los ensayos de secuencia de cultivos que se llevaron a cabo en la EEA del INTA Paraná (31°50'S; 60°32'O), campo Experimental Dr. Ramón Roldán (31°84'S; 60°64'O) y en un campo agrícola de un productor privado

(31°50'S; 60°09'O) se construyó la base de datos necesaria para poder realizar la calibración del modelo de simulación de cultivos APSIM NextGeneration (Holzworth et al., 2018).

Debido a que las bases de datos de clima y suelo son las mismas para cualquier cultivo y a que la calibración del cultivo de maíz es más sencilla que la de soja por su menor complejidad en la respuesta del desarrollo a los factores ambientales se decidió comenzar a utilizar el modelo en este cultivo. Una vez disponibles las bases de datos y obtenido un mayor volumen de información de campo será posible proceder a calibrar el cultivo de soja y arveja.

2.4.4. Estimación del balance de N en secuencias de cultivos

Las estimaciones del ítem b) fueron un insumo clave para generar una estimación del balance de N en secuencias de cultivos, a partir del cual se generó una publicación (Novelli et al., 2023) en la prestigiosa revista *Agriculture, Ecosystem and Environment*. La metodología está completamente descrita en la misma.

2.4.5. Desarrollo de conceptos y tecnologías para el manejo eficiente del N y de otros recursos en secuencias de cultivos y en el cultivo de maíz

Como parte de la redefinición de actividades, se realizaron aportes desde este proyecto al avance en el desarrollo de conceptos y tecnologías para el manejo eficiente del N y de otros recursos en secuencias de cultivos y en el cultivo de maíz. El código del proyecto (PID-UNER 2227) está explícitamente mencionado en la sección de Acknowledgements de cada artículo. Dichos trabajos se enmarcaron dentro de las actividades redefinidas del PID, no solo por su pertinencia temática sino también porque insumieron parte de los tiempos dedicados, los que no pudieron asignarse a las actividades programadas pospuestas por la situación sanitaria y en consecuencia se dedicaron a la elaboración de los artículos publicados.

La metodología está descrita en cada una de las publicaciones que se listan a continuación, todas ellas publicadas en revistas de muy alto impacto en la disciplina: Videla-Mensegue et al. (2021), Maltese et al. (2021); Sadras et al. (2022); Videla-Mensegue et al. (2024), Maltese et al., (2024).

3. Síntesis de resultados

3.1. Evaluación de morfología de nódulos en arveja en condiciones contrastantes de aireación de suelos

Se llevaron a cabo dos experimentos para analizar los efectos de diferentes niveles de aireación del suelo en la nodulación de arveja (*Pisum sativum*). Se observaron impactos significativos en la partición biomasa raíz/biomasa nodular, así como en el número, peso, ubicación y morfología de los nódulos. Con riego bajo, los nódulos se agruparon en estructuras tipo ramillete con crecimiento indeterminado. Con riego medio, los nódulos se individualizaron, presentando características típicas de la especie. En condiciones de alta aireación, los nódulos fueron más pequeños y de forma redonda, similares a los de tipo determinado. Estos hallazgos, no reportados previamente, destacan la importancia de la aireación del suelo en la formación y desarrollo de los nódulos en leguminosas, que permiten diseñar estrategias para maximizar la FBN.

3.2. Evaluación de la FBN en arveja y soja en diferentes secuencias de cultivos

Los análisis isotópicos permitieron estimar el porcentaje de N atmosférico derivado de la fijación biológica (%Ndfa) en arveja y soja en diferentes secuencias de cultivos. Los valores obtenidos coincidieron con reportes previos, con pocas diferencias entre secuencias. En general, la soja presentó un %Ndfa superior al de la arveja, con un incremento en el segundo año de evaluación. Estos datos serán empleados para estimar la cantidad total de N fijado por unidad de área en cada sistema productivo. Los resultados confirman la relevancia de la fijación biológica de N en la sostenibilidad de los sistemas de producción, resaltando la contribución diferencial de las especies evaluadas y la escasa relevancia de la historia previa de cada cultivo.

3.3. Calibración de APSIM para modelación de secuencias de cultivos

Se calibró y validó el modelo APSIM utilizando datos de campo para fenología, biomasa y rendimiento en el cultivo de maíz. La precisión del modelo se evaluó mediante el error cuadrático medio (RMSE) y el coeficiente de determinación (R^2). Se estableció que la calibración era adecuada cuando R^2 superaba 0.8 y el RRMSE era menor al 15%. La validación con datos independientes arrojó predicciones precisas, lo que respalda el uso de APSIM como herramienta para la toma de decisiones agronómicas. Como resultado, se enviaron tres trabajos a congresos, evidenciando el potencial del uso del modelo en el análisis de secuencias productivas.

3.4. Estimación del balance de N en secuencias de cultivos

El balance de N en diferentes secuencias se evaluó considerando el N disponible en el suelo, la fijación biológica de N (FBN), la mineralización y la fertilización. Se cuantificó el N total disponible en cada sistema, mostrando que las secuencias con trigo/soja-arveja/maíz registraron los mayores aportes de N ($419 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ en promedio), sin diferencias significativas con el monocultivo de soja y la rotación arveja/soja. En contraste, el monocultivo de maíz mostró la menor disponibilidad de N, con un 52% menos que la secuencia más eficiente. Estos resultados evidencian la importancia de incluir leguminosas en las rotaciones para mejorar la sostenibilidad del sistema. Los resultados detallados están publicados en Novelli et al. (2023).

3.5. Desarrollo de conceptos y tecnologías para el manejo eficiente del N y otros recursos en secuencias de cultivos y en el cultivo de maíz

El estudio permitió consolidar estrategias para mejorar la eficiencia del N y otros recursos en secuencias de cultivos y en maíz. Se confirmó que la respuesta del maíz a la fertilización nitrogenada depende de su estatus nutricional en floración y de factores ambientales como la temperatura. La partición de la fertilización y la aplicación de N en R1 mejoraron la absorción y redujeron pérdidas, optimizando la eficiencia del uso del N.

En secuencias de cultivos, se verificó que la inclusión de cereales y leguminosas mejora la estabilidad productiva y la eficiencia en el uso del agua, destacando la importancia de los cultivos fijadores de N en el balance global del sistema. En el caso de la soja, la productividad estuvo influenciada por la fecha de siembra, el grupo de madurez y el uso de fungicidas, factores que interactúan con la variabilidad climática asociada al ENSO.

En conjunto, estos resultados refuerzan la necesidad de estrategias de manejo dinámicas, basadas en el monitoreo del estado del cultivo y las condiciones ambientales, para mejorar la sostenibilidad y productividad de los sistemas agrícolas cuando se incluyen leguminosas con FBN.

Conclusiones

Los resultados de este PID demuestran que la disponibilidad y eficiencia en el uso del nitrógeno (N) en sistemas agrícolas pueden mejorarse mediante la inclusión de leguminosas fijadoras de N, como la soja y la arveja, en secuencias de cultivos. Los resultados evidenciaron que la aireación del suelo influye significativamente en la morfología y distribución de los nódulos en arveja, lo que sugiere que el manejo del riego es un factor determinante para optimizar la fijación biológica de N. Asimismo, se confirmó que la soja presenta un mayor porcentaje de N derivado de la fijación biológica (%Ndfa) en comparación con la arveja, con valores más altos en el segundo año de evaluación. La calibración del modelo APSIM mostró alta precisión en la predicción de fenología, biomasa y rendimiento, validando su uso para la planificación agronómica. En términos de balance de N, las secuencias de trigo/soja-arveja/maíz registraron los mayores aportes de N, mientras que el monocultivo de maíz presentó una marcada reducción en la disponibilidad del nutriente.

Para futuras investigaciones, se recomienda profundizar en la relación entre la aireación del suelo y la eficiencia de la fijación biológica de N, así como evaluar estrategias de manejo que optimicen la nodulación y absorción de N. Además, se sugiere validar APSIM en distintas regiones agroclimáticas y estudiar la interacción del N con otros macronutrientes. Finalmente, sería clave analizar el impacto ambiental de diferentes secuencias de cultivos en términos de emisiones de gases de efecto invernadero y eficiencia en el uso de N, contribuyendo al desarrollo de sistemas agrícolas más sostenibles.

Indicadores de producción

Publicaciones en revistas científicas especializadas

- Videla-Mensegue, H.; Caviglia, O.P.; Degioanni, A.; Marcos, J.; Bonadeo, E. 2021. Modeling water productivity for ecological intensification of crop sequences in the Inner Argentinean Pampas. *Field Crops Research*, 271: 108246. ISSN 0378-4290.
- Maltese N. E.; Maddonni, G. A.; Melchiori, R. J. M.; Caviglia, O.P. 2021. Plant nitrogen status at flowering and kernel set efficiency in early- and late-sown maize crops. *Field Crops Research*, 270: 108216. ISSN 0378-4290
- Sadras, V.O.; Giordano, N.; Correndo, A.A.; Cossani, M.; Ferreyra, J.M.; Caviglia, O.P. Coulter, J.A. Ciampitti, I.A.; Lollato, R.P. 2022. Temperature-driven Developmental Modulation of Yield Response to Nitrogen in Wheat and Maize. *Frontiers in Agronomy*. ISSN 2673-3218. doi: <https://www.frontiersin.org/journals/agronomy/articles/10.3389/fagro.2022.903340/full>
- Videla-Mensegue, H.; Caviglia, O.P.; Sadras, V.O. 2022. Functional crop types are more important than diversity for the productivity, profit and risk of crop sequences in the inner Argentinean Pampas. *Agricultural Systems*, 196: 103333. ISSN 0308-521X

- Novelli, L.E., Caviglia, O.P., Jobbágy, E.G., Sadras, V.O. 2023. Diversified crop sequences to reduce soil nitrogen mining in agroecosystems. *AGRICULTURE ECOSYSTEMS AND ENVIRONMENT*. 341, 108208.
- Videla-Mensegue, H.; Córdoba, M.; Caviglia, O.P.; Sadras, V.O. 2024. Soybean yield and water productivity gaps associate with ENSO-dependent effects of fungicide, sowing date and maturity group. *European Journal of Agronomy*, 155: 127133. ISSN 0378-4290. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2024.127133>
- Maltese, N.E.; Carciochi, W.D.; Caviglia, O.P.; SainzRozas, H.R.; García, M.; Lapaz, A.O.; Ciampitti, I.A.; ReussiCalvo, N.I. 2024. Assessing the effect of split and additional late N fertilisation on N economy of maize. *Field Crops Research*, 308: 109279. ISSN 0378-4290. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2024.109279>

Presentación en Congresos Nacionales y reuniones científicas

- Modon, G.R.; Maltese, N.E.; Caviglia, O.P.; Melchiori, R.J.M. 2021. Balance hídrico y su impacto en el rendimiento del maíz tardío en escenarios climáticos futuros. VI Congreso Maíz Tardío. 6 y 7 de Octubre de 2021. Exaltación de la Cruz, Buenos Aires
- Modon, G.R.; Maltese, N.E.; Caviglia, O.P.; Melchiori, R.J.M. 2021. El maíz tardío se adapta mejor al cambio climático? VI Congreso Maíz Tardío. 6 y 7 de Octubre de 2021. Exaltación de la Cruz, Buenos Aires
- Novelli, L., Caviglia, O.P., Jobbágy, E.G., Sadras, V.O. Secuencias de cultivos diversificadas para reducir la minería de suelos en agroecosistemas. XXVIII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Buenos Aires. Noviembre 2022.
- Novelli, L.E.; Maltese, N.E.; Gregorutti, V.C.; Melchiori, R.J.M.; Caviglia, O.P. Dinámica de nitratos y N mineralizado del suelo a escala de secuencias de cultivos. XXVIII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Buenos Aires. Noviembre 2022.
- Novelli, L.E., Maltese, N.E., Gregorutti, V.C., Ecclesia, R.P., Appelhans, S.C., Melchiori, R.J.M., Caviglia, O.P. Eficiencia de uso del N en secuencias agrícolas. XXVIII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Buenos Aires. Noviembre 2022.
- Modon G.R.; Maltese N.E.; Francia D.; Melchiori R.J.M.; Caviglia O.P. 2022. Fechas de siembras tempranas, tardías y ultra tardías de maíz: efecto de escenarios climáticos contrastantes sobre el rendimiento. VII Congreso Maíz Tardío. 6 de Octubre de 2022. Ezeiza, Buenos Aires
- Reynoso, L; Maltese, N.E.; Novelli, L.E.; Francia D.L.; Appelhans, S.C.; García M.; Caviglia, O.P. 2022. Efecto de diferentes cultivos antecesores invernales y dosis de N sobre el rendimiento de maíz tardío en el centro-oeste de Entre Ríos. VII Congreso Maíz Tardío. 6 de Octubre de 2022. Ezeiza, Buenos Aires
- Michel, A.; Caviglia, O.P.; Ré, D A. 2023. Efecto de diferentes niveles de humedad de suelo sobre la morfología de nódulos en plantas de arveja (*Pisum sativum* L) crecidas bajo invernáculo. Reunión de Investigación, Extensión y Docencia (RIED 2023). FCA-UNER
- Michel, A; Arévalo, E.S.; Caviglia, O.P. 2023. Contenido hídrico del suelo y dosis de nitrógeno: su efecto sobre el crecimiento de plantas de arveja (*Pisum sativum* L). Reunión de Investigación, Extensión y Docencia (RIED 2023). FCA-UNER
- Michel, A.; Appelhans, S. C.; Sequin, C. J.; Bianchi, M.; Trossero, J. A.; Caviglia, O. P. 2023. Relationships between reactive oxygen species and growing variables of *Pisum sativum* L., under different soil moisture levels. RAFV Conference 2023. XXXIV Argentinian Meeting of Plant Physiology. September 24 - 27, Rosario, Argentina.

- Michel, A.; Caviglia, O.P.; Ré, D. A. 2023. Soil moisture levels affect nodule development in field pea (*Pisum sativum* L.). RAFV Conference 2023. XXXIV Argentinian Meeting of Plant Physiology. September 24 - 27, Rosario, Argentina.
- Michel, A.; Appelhans, S. C.; Sequin, C. J.; Bianchi, M.; Trossero, J. A.; Caviglia, O. P. 2023. Estrés oxidativo y su relación con el crecimiento en plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) bajo diferentes niveles de aireación de suelo. Reunión de Investigación, Extensión y Docencia (RIED 2023). FCA-UNER
- Michel, A., Caviglia, O. P. 2023. Efecto de diferentes niveles de humedad de suelo sobre la morfología de nódulos en plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) crecidas bajo invernáculo. I Jornada de Doctorandos - DIUNER. Oro Verde, 24 de noviembre de 2023

Bibliografía

- Alonso, L.L.; Demetrio, P.M.; Etchegoyen, M.A.; Marino, D.J. 2018. Glyphosate and atrazine in rainfall and soils in agroproductive areas of the pampas region in Argentina. *Science of the Total Environment*, 645: 89-96
- Andrade, F.H. (Ed). 2017. Los desafíos de la agricultura argentina - 1a ed. - Buenos Aires: Ediciones INTA, 2017. 120p.
- Boyer, J.S. 1971. Recovery of photosynthesis in sunflower after a period of low leaf water potential. *Plant Physiol* 47:816-820
- Cassman, K. G.; Dobermann, A.; Walters, D. T. 2002. Agroecosystems, Nitrogen-use efficiency, and Nitrogen management. *AMBIO* 31: 132-140
- Cataldo D.A., Haroon M., Schrader L.E. and Youngs V.L. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 6, 71-80
- Caviglia, O.P.; Andrade, F.H. 2010. Sustainable intensification of agriculture in the Argentinean Pampas: Capture and use efficiency of environmental resources.
- Caviglia, O.P.; Sadras, V.O.; Andrade, F.H. 2004. Intensification of agriculture in the south-eastern Pampas. I. Capture and efficiency in the use of water and radiation
- Caviglia, O.P.; Sadras, V.O.; Andrade, F.H. 2013. Modelling long-term effects of cropping intensification reveals increased water and radiation productivity in the south-eastern Pampas. *Field Crops Research* 149: 300-311.
- Cheng, H-P. and Walker, G. C. 1998. Succinoglycan is required for initiation and elongation of infection threads during nodulation of alfalfa by *Rhizobium meliloti*. *Journal of Bacteriology* 180, 5183-5191.
- CIMA 2015. 3ra Comunicación Nacional de Cambio Climático. Disponible en: <http://3cn.cima.fcen.uba.ar/> [Acceso: 01/08/2019].
- Collino, D. J.; Salvagiotti, F.; Perticari, A.; Piccinetti, C.; Ovando, G.; Urquiaga, S.; Racca, R. W. 2015. Biological nitrogen fixation in soybean in Argentina: relationships with crop, soil, and meteorological factors. *Plant Soil* 392: 239-252
- Cullen, B.R.; Johnson, I.R.; Eckard, R.J.; Lodge, G.M.; Walker, R.G.; Rawnsley, R.P.; McCaskill, M.R. 2009. Climate change effects on pasture systems in South-Eastern Australia. *Crop Pasture Sci* 60:933-942
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W. 2011. InfoStat Versión 2011 Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. (<http://www.infostat.com.ar>)

- Estimaciones agrícolas, 2019. Ministerio de Agroindustria de Argentina. (<https://datos.agroindustria.gob.ar/dataset/estimaciones-agricolas/archivo/95d066e6-8a0f-4a80-b59d-6f28f88eacd5>, con acceso 01/8/2019)
- FAOSTAT 2019. Economic and Social Development Department, FAO, Rome, Italy. Disponible online en: <http://faostat3.fao.org/> [Acceso: 01/08/2019].
- García F.; González Sanjuan, M. F. 2013. La nutrición de suelos y cultivos y el balance de nutrientes: ¿Cómo estamos? Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica. 9:2-7. IPNI Cono Sur. Acassuso, Buenos Aires, Argentina.
- Herridge DF, Peoples MB, Boddey RM. 2008. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. *Plant Soil* 311:1-18
- Holzworth, D., Huth, N.I., Fainges, J., Brown, H., Zurcher, E., Cichota, R., Verrall, S., Herrmann, N.I., Zheng, B., Snow, V., 2018. APSIM next generation: overcoming challenges in modernising a farming systems model. *Environ. Model. Softw.* 103,43-51.
- Kamst, E. H., Spaink, P. and Kafetzopoulos, D. 1998. "Biosynthesis and Secretion of Rhizobial Lipochitin-Oligosaccharide Signal Molecules," in *Subcellular Biochemistry*, Volume 29. Plant-Microbe Interactions, eds. B. B. Biswas & H. K. Das. (Plenum Publishing, New York). 29-33.
- Kobayashi, K. and Us Salam, M.U., 2000. Comparing simulated and measured values using mean squared deviation and its components. *Agronomy Journal* 92, 345-352.
- Mercau, J. L.; Nosetto, M.D.; Bert, F.; Giménez, R.; Jobbágy, E.G. 2016. Shallow groundwater dynamics in the Pampas: Climate, landscape and crop choice effects. *Agricultural Water Management* 163: 159-168
- Napoli, C. A. and Hubbell, D. H. 1975. Ultrastructure of Rhizobium-induced infection threads in clover root hairs. *Applied and Environmental Microbiology* 30, 1003-1009
- Nosetto, M.D.; Acosta, A.M.; Jayawickreme, D.H.; Ballesteros, S.I.; Jackson, R.B.; Jobbágy, E.G. 2013. Land-use and topography shape soil and groundwater salinity in central Argentina. *Agricultural Water Management* 129: 120-129
- Novelli, L.E.; Caviglia, O.P.; Melchiori, R.J.M. 2011. Impact of soybean cropping frequency on soil carbon storage in Mollisols and Vertisols. *Geoderma* 167: 254-260.
- Ojeda, J.J.; Caviglia, O.P.; Irrisarri, G.; Agnusdei, M.G. 2018. Modelling inter-annual variation in dry matter yield and precipitation use efficiency of perennial pastures and annual forage crops sequences. *Agricultural and Forest Meteorology*.
- Peoples M.B., Herridge D.F. and Ladha J.K. 1995. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production? *Plant Soil* 174: 3-28.
- Postgate JR. 1982. Biological nitrogen fixation: fundamentals. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* 296: 375-385.
- Romaniuk, R.; Beltrán, M.; Brutti, L.; Costantini, A.; Bacigaluppo, S.; Sainz-Rozas, H.; Salvaggiotti, F. 2018. Soil organic carbon, macro-and micronutrient changes in soil fractions with different lability in response to crop intensification. *Soil and Tillage Research* 181: 136-143.
- Sasal, M.C.; Castiglioni, M.G.; Wilson, M.G. 2010. Effect of crop sequences on soil properties and runoff on natural rainfall erosion plots under no tillage. *Soil & Tillage Research* 108:24-29
- Sinclair, T.R., Horie, T. 1989. Leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency: a review. *Crop Sci.* 29:90-98

- Trapani, N. and Hall, A.J. 1996. Effects of leaf position and nitro-gen supply on the expansion of leaves of field grown sunflower (*Helianthus annuus*L.). *Plant Soil* 184, 331–340.
- Unkovich M., Herridge D., Peoples M., Cadisch G., Boddey R., Giller K., Alves B. and Chalk P. 2008. Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems. *ACIAR Monograph No. 136*, 258 pp.
- Van Rhyn, P. and Vanderleyden, J. 1995. The Rhizobium-plant symbiosis. *Microbiological Reviews* 59, 124-142.
- Wilson, M.G.; Sasal, M.C.; Caviglia, O.P. 2013. Critical bulk density for a Mollisol and a Vertisol using least limiting water range: effect on early wheat growth. *Geoderma* 192:354–361.
- Yemm E.W. and Cocking E.C. 1955. The determination of amino acids with ninhydrin. *Analyst* 80, 209–213.

PID2227

Denominación del Proyecto

Factores ambientales asociados a la fijación simbiótica de N en soja y arveja

Director

Caviglia, Octavio Pedro

Unidad de Ejecución

Universidad Nacional de Entre Ríos

Dependencia

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Contacto

octavio.caviglia@uner.edu.ar

Cátedra/s, área o disciplina científica

Grupo de Investigación en Agroecosistemas Sostenibles (GIMAS). Departamento de Producción Vegetal

Instituciones intervinientes públicas o privadas

INTA EEA Paraná y CONICET. Ambas instituciones se insertan en el marco de convenios vigentes. Su actividad está reconocida mediante DISPOSICIÓN SCyT N° 013 / 2021

Integrantes del proyecto

Docentes: Appelhans, Stefani Carolina; Arevalo, Edgardo Santiago; Maltese, Nicolás Elías; Novelli, Leonardo Esteban. Integrantes externos: Gregorutti, Viviana Carolina; Melchiori, Ricardo. Integrante estudiante de grado: Reynoso Lucia.

Fechas de iniciación y de finalización efectivas

02/03/2020 y 22/01/2024

Aprobación del Informe Final por Resolución C.S. N° 147/2025 (30-05-2025)