

## Ocupación de nódulos por rizobios provenientes del inoculante en distintas secuencias agrícolas con soja

Marianela B. Fontana, Ma. Alejandra Sterren, Walter G. Uhrich; Silvia M. Benintende; Guillermo A. Rondán; Pedro A. Barbagelata

**Autoras/es:** Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Entre Ríos, Ruta 11 Km 10.5, Entre Ríos, Argentina

Contacto: [marianela.fontana@uner.edu.ar](mailto:marianela.fontana@uner.edu.ar)

**ARK:** <https://id.caicyt.gov.ar/ark:/s22504559/b5illdr2>

### Resumen

Las sucesivas biofertilizaciones con inoculantes en soja han generado poblaciones naturalizadas de *Bradyrhizobium japonicum* (BN). Adaptadas al suelo, podrían competir más eficientemente por sitios de infección en la raíz frente a los bradyrhizobios del inoculante (BI). El objetivo de este proyecto fue evaluar la competencia entre los bradyrhizobios naturalizados y los del inoculante en los puntos de infección ubicados en la zona del cilindro central de la raíz de soja, en distintas secuencias agrícolas basadas en soja. El estudio se realizó en un ensayo de larga duración, en INTA-EEA Paraná, considerando cuatro secuencias: i) monocultivo de soja fertilizada ( $S_{j_f}$ ), ii) cultivo de cobertura (CC)/soja fertilizada ( $CC/S_{j_f}$ ), iii) CC fertilizado/soja fertilizada ( $CCN/S_{j_f}$ ), y iv) CC fertilizado/soja fertilizada en rotación ( $CCN/S_{j_f}$ -trigo/soja-maíz). La ocupación de nódulos se determinó a partir de diferencias fenotípicas de colonias, tras la inoculación con la cepa SEMIA5079. Independientemente de los tratamientos, un 61% de los nódulos fueron ocupados por los BI. Además,  $S_{j_f}$  exhibió una menor ocupación de nódulos por BN (23%, comparado con 42-50% en tratamientos con CC). Esto sugiere que la competencia entre BN y BI puede estar relacionada con una capacidad competitiva diferencial derivada de adaptaciones a los ambientes edáficos contrastantes de las secuencias.

**Palabras clave:** Biofertilizaciones – inoculantes – rizobios naturalizados - rotaciones

## 1. Objetivos

### Objetivos propuestos y cumplidos

Objetivo General:

- Evaluar la competencia entre los rizobios naturalizados y los del inoculante en los puntos de infección ubicados en la zona del cilindro central de la raíz de soja, en distintas secuencias agrícolas basadas en soja.

Objetivos Específicos:

- Determinar el porcentaje de ocupación de los nódulos del cilindro central de la raíz de soja, por los rizobios provenientes del inoculante.
- Analizar el efecto de las distintas secuencias agrícolas basadas en soja, sobre el porcentaje de ocupación de los nódulos del cilindro central de la raíz de soja con los rizobios del inoculante.

Durante la ejecución del PID se lograron cumplir todos los objetivos planteados, aunque se realizaron ajustes metodológicos para la obtención de los resultados. Estos resultados se enmarcan dentro de una investigación más amplia, centrada en el efecto de secuencias de cultivos basadas en soja sobre distintos indicadores de salud del suelo (físicos, químicos y biológicos). De este modo, los resultados y discusiones presentados se enriquecen con otros hallazgos relevantes, como la carga de bradyrizobios naturalizados en el suelo en distintas secuencias y la caracterización de los ambientes edáficos correspondientes.

## 2. Marco teórico y metodológico

En las últimas décadas, el cultivo de soja [*Glycine max* (L). Merr.] ha experimentado un notable aumento en su extensión, desplazando a otros cultivos agrícolas. Este fenómeno se ha observado tanto en Sudamérica, como en Argentina y Entre Ríos (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2020; Sistema de Información de la Bolsa de Cereales de Entre Ríos, 2023). En este contexto, se ha generado un interés considerable en comprender las complejas interacciones entre la soja y los microorganismos del suelo, en especial los rizobios, que desempeñan un papel importante en el ciclo del N y, por ende, en la productividad del cultivo.

El cultivo de soja emplea dos vías de asimilación de N: puede tomarlo de la solución del suelo en forma de  $\text{NH}_4^+$  o  $\text{NO}_3^-$ , o bien mediante la simbiosis con bacterias fijadoras de N, denominadas rizobios (Lodeiro, 2015). En este proceso simbiótico, los rizobios transforman el  $\text{N}_2$  del aire en una forma asimilable por la planta ( $\text{NH}_4^+$ ), mientras que la planta le provee compuestos carbonados y un ambiente favorable para el desarrollo de dichas bacterias (Lodwig y Poole, 2003). En Argentina, la mayoría de los suelos originalmente no contenían rizobios simbiotes de la soja (Lodeiro, 2015), por lo que se introdujeron, y continúan incorporándose, a través de un producto biotecnológico denominado inoculante, cuya utilización se generalizó rápidamente y su mercado se ha desarrollado íntimamente asociado al desarrollo del cultivo de soja en el país (Balatti, 2007). De hecho, el 94 % de los productores del país emplean inoculantes en todas (o casi todas) las siembras de soja, mientras que, en el NEA, y en la provincia de Entre Ríos, esta cifra se eleva al 100 % (Piccinetti et al., 2013).

Se ha observado que esta leguminosa es nodulada por un grupo acotado de especies de rizobios correspondientes a cuatro géneros: *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium* y *Ensifer* (Nakei et al., 2022). Sin embargo, por las características climáticas en la región pampeana argentina, se utilizan mayoritariamente inoculantes a base de *Bradyrhizobium japonicum*, por lo que dichas bacterias podrían denominarse como bradyrhizobios. Además, las sucesivas biofertilizaciones generadas por la aplicación de inoculantes para la siembra de soja, ha dado lugar a la aparición de poblaciones de bradyrhizobios naturalizados (BN) capaces de persistir largos períodos de tiempo como saprófitos en el suelo en ausencia de la planta hospedera (Sadowski y Graham, 1998). En este sentido, la sobrevivencia de los BN está estrechamente relacionada a diversos factores, como el contenido de materia orgánica y arcillas en el suelo, así como la frecuencia de cultivo de soja en la rotación, los cuales proporcionan condiciones óptimas para su desarrollo y persistencia (Rutherford y Juma, 1992; Revellín et al., 1996; Zengeni et al., 2006). Por otro lado, el suelo es un sistema dinámico, influenciado por las prácticas de manejo agronómico, como puede ser la rotación de cultivos, que impactan en sus propiedades físicas y químicas. Estas alteraciones afectan el ambiente edáfico de los microorganismos (Dorr de Quadros et al., 2012) y, consecuentemente, podría afectar a la composición de la biota del suelo en general, y a la cantidad de BN en particular.

La diversidad bioquímica y genética exhibida por las poblaciones naturalizadas de bradyrhizobios (BN) ha sido documentada por investigadores como López et al. (2013), quienes identificaron una notable variabilidad genética en los aislamientos de BN obtenidos de campos argentinos tras largos períodos de cultivo de soja. Esta variabilidad de los BN es debido a adaptaciones a diferentes situaciones de estrés a las que han sido expuestas, ya sea altas temperaturas, sequías y desecación, inundaciones, aplicaciones de agroquímicos (Graham, 2008; Piccinetti et al., 2013). Esta diversidad justifica la necesidad de estudiar estas poblaciones, ya que la infectividad o capacidad de nodular constituye un rasgo adaptativo, mientras que las tasas de FBN pueden mostrar heterogeneidad entre BN (Piccinetti et al., 2013; Lodeiro, 2015). Por lo tanto, es crucial comprender que, si bien algunos BN pueden exhibir un comportamiento altamente competitivo debido a su capacidad de formar nódulos, las tasas de FBN podrían variar significativamente.

Esta posible disparidad en las tasas de FBN entre los BN plantea interrogantes sobre la eficacia de los bradyrhizobios de los inoculantes comerciales (BI) en la colonización de los sitios de infección en las raíces de la soja. Con cada biofertilización sucesiva, los BN, que han persistido y se han adaptado al suelo, podrían presentar una mayor eficiencia para ocupar los sitios de infección en comparación con los BI. Consecuentemente, si los BI ocupan una proporción cada vez menor de los nódulos, esto podría tener implicancias significativas en el rendimiento del cultivo, especialmente considerando que los BN pueden mostrar variaciones en su capacidad de FBN. Este fenómeno de competencia entre BI y BN no es exclusivo de la región pampeana argentina, sino que se ha observado a nivel global y en diferentes cultivos de leguminosas (Althabegoiti et al., 2008). Todos estos antecedentes dan fundamento para investigar *¿cómo se modifican las poblaciones naturalizadas de bradyrhizobios, con los cambios del ambiente edáfico provocados por distintas secuencias de cultivos?*, y *¿cómo inciden estos cambios en la ocupación de nódulos de la raíz de soja por los bradyrhizobios del inoculante?*

### 3. Materiales y métodos

**Caracterización del área del ensayo:** El presente ensayo se realizó sobre un Ensayo de Larga Duración (ELD) situado en la EEA Paraná del INTA, en Argentina (31°51' S; 60°32' O) (Figura 1.a, 1.b). El suelo en el que está instalado el ELD es un Argiudol ácuico (Soil Survey Staff, 2010) (serie Tezanos Pinto), que se clasifica dentro de la familia fina, mixta y térmica. La serie Tezanos Pinto es un suelo profundo, moderadamente bien drenado (Plan Mapa de Suelos, 1998). El horizonte superficial (Ap) tiene una profundidad de 17 cm, una textura franca, con 27,6% de arcilla, 67,9% de limo y 4,5% de arena, y estructura granular y en bloques subangulares. El horizonte subsuperficial textural (B21t) tiene una textura arcillo-limosa con 41,5% de arcilla, 54,6% de limo y 3,9% de arena, y estructura en prismas compuestos irregulares que rompen en bloques angulares irregulares (Plan Mapa de Suelos, 1998).

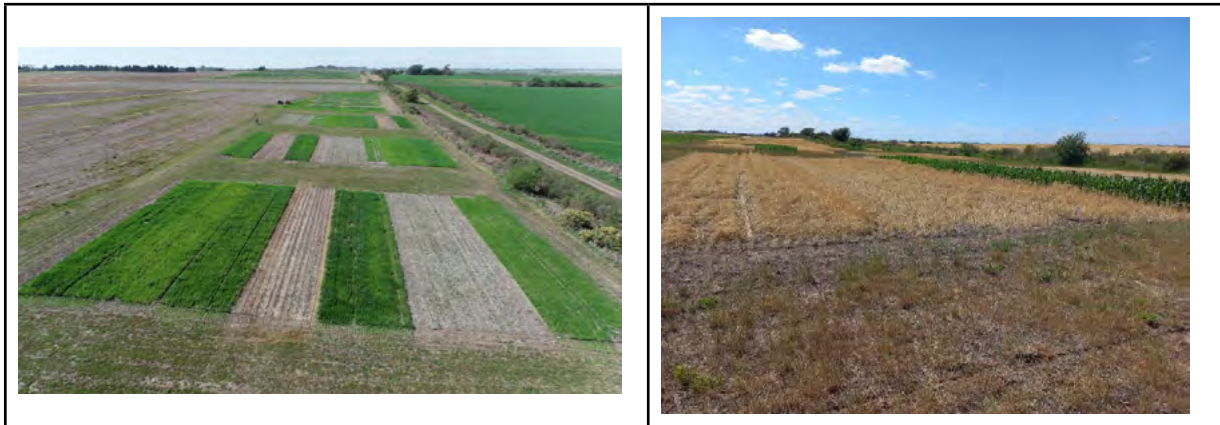
**Tratamientos:** En dicho experimento, se examinaron cuatro secuencias de cultivos. Los tratamientos evaluados fueron: i) monocultivo de soja fertilizado ( $S_{j_f}$ ), ii) cultivo de cobertura de invierno (CC)/soja fertilizada ( $CC/S_{j_f}$ ), iii) CC de invierno fertilizado con N/soja fertilizada ( $CCN/S_{j_f}$ ), y iv) CC de invierno fertilizado con N/soja fertilizada en una rotación de cultivos de  $CCN/S_{j_f}$  - trigo de cosecha/soja - maíz ( $CCN/S_{j_{f_{rot}}}$ ). Los tratamientos se organizaron en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Las parcelas experimentales tienen un ancho de 5,3 m × 30 m de longitud (Figura 1).

**Fertilización:** Las dosis de fertilizantes se definieron asegurando, al menos, el reabastecimiento de nutrientes críticos extraídos por los granos cosechados. El fertilizante nitrogenado (urea) se esparció en la superficie durante la siembra del maíz y del trigo (de cosecha y como CC). La fertilización de P y S se realizó con superfosfato triple de calcio y sulfato de calcio, respectivamente, antes de la siembra de los cultivos de invierno (Tabla 1).

**Tabla 1.** Descripción de los tratamientos y dosis de aplicación de fertilizantes para el ensayo de larga duración en Paraná, Argentina (31°51' S; 60°32' O).

Tratamiento	Descripción	Dosis de fertilizante (kg ha <sup>-1</sup> )		
		N	P	S
$S_{j_f}$	Monocultivo de soja fertilizado	0	24	15
$CC/S_{j_f}$	Cultivo de cobertura/soja fertilizada	0	24	15
$CCN/S_{j_f}$	Cultivo de cobertura fertilizado con N/soja fertilizada	46 <sup>†</sup>	24	15
$CCN/S_{j_{f_{rot}}}$	Cultivo de cobertura fertilizado con N/soja fertilizada en una rotación: Cultivo de cobertura fertilizado/soja fertilizada-trigo/soja - maíz	46 <sup>†</sup> 120 <sup>§</sup>	24*	1*

<sup>†</sup>para cultivo de cobertura (CC), <sup>§</sup>para maíz y trigo de cosecha, \*para soja.



**Figura 1.** Ensayo de Larga Duración. a) en primavera (imagen tomada con un dron), b) en diciembre (al momento de la siembra del ensayo pertinente a este proyecto).

**Manejo de las secuencias de cultivo:** El trigo, ya sea para producción de granos o como CC, se sembró con una densidad de siembra de  $120 \text{ kg ha}^{-1}$ , con un espaciamiento de  $0,175 \text{ m}$  entre hileras. El maíz se sembró con  $80.000 \text{ semillas ha}^{-1}$ , con un espaciamiento de  $0,52 \text{ m}$  entre hileras. Las semillas de soja se sembraron a una densidad de  $380.000 \text{ semillas ha}^{-1}$ , con un espaciamiento de  $0,52 \text{ m}$  entre hileras. Los CC se secaron con herbicidas específicos a principios de octubre, un mes antes de la siembra de soja, para no afectar la disponibilidad de agua para dicho cultivo (Caviglia y Andrade, 2010). Se utilizaron métodos químicos para controlar malezas, insectos y enfermedades durante las temporadas de crecimiento (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes, 2005).

**Recuento de bradyrhizobios naturalizados (BN) en el suelo:** Para determinar la cantidad de bradyrhizobios naturalizados (BN) en el suelo, se recolectaron muestras de suelo de los cuatro tratamientos del ELD, en un período de tiempo comprendido entre la supresión del cultivo de cobertura y la siembra de soja. El recuento de BN se llevó a cabo utilizando la técnica del número más probable (NMP), según lo descrito por Weaver y Graham (1994), con adaptaciones metodológicas. Este procedimiento consiste en la inoculación de semillas pregerminadas de soja con diluciones seriadas de suelo, seguida por la evaluación de nodulación después de 21 días.

Inicialmente, se procedió a la esterilización superficial de semillas homogéneas de soja mediante el uso de etanol al  $70 \%$  e hipoclorito de sodio al  $1 \%$  y posterior lavado con agua destilada estéril para eliminar cualquier resto de los agentes químicos utilizados. Estas semillas fueron pregerminadas durante 3 días (a  $25^\circ\text{C}$  con una exposición a 8 horas de luz diaria) en placas de Petri con algodón y papel tipo valot, previamente esterilizados. Luego, se sembraron siete semillas pregerminadas por cada dilución ( $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ ) en bandejas multicelda llenas de vermiculita estéril, que fue previamente lavada y acondicionada a un pH de 7. Además, se incluyeron controles negativos en cada bandeja multicelda, que consisten en semillas pregerminadas sin inocular, con el propósito de detectar cualquier contaminación en las bandejas.

Para la preparación de las diluciones de suelo, se realizó un muestreo ( $0-7,5 \text{ cm}$ ) antes de la siembra de soja, con procedimientos adecuados para evitar la contaminación cruzada entre muestras de suelo. En el laboratorio, las muestras se tamizaron y se prepararon diluciones decimales de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$  de cada una de ellas. Seguidamente, se procedió a la inoculación de las semillas pregerminadas. Por cada muestra, se ino-

cularon siete semillas por dilución (el volumen con el que se inoculó cada semilla fue 25  $\mu$ L). Las bandejas se trasladaron a un invernáculo durante 21 días, donde cada celda fue regada individualmente. Durante los primeros tres días, se utilizó agua destilada esterilizada, mientras que en los días subsiguientes se empleó una solución nutritiva según lo descrito por Weaver y Graham (1994). Los volúmenes diarios de riego fueron variables, según las condiciones de temperaturas y humedad. El criterio de riego consistió en regar cada celda hasta el momento previo a la aparición de percolación en la bandeja que sostenía la bandeja multicelda.

Después de 21 días desde el trasplante, se seleccionaron cinco plantas homogéneas y bien desarrolladas por cada dilución. Se contó la cantidad de plantas positivas por dilución, es decir, aquellas que contenían uno o más nódulos en la zona del cilindro central, y con estos datos se obtuvo la población estimada (número más probable - NMP) utilizando una tabla descriptiva en Woomer (1994), realizada para cinco repeticiones por nivel de dilución decimal. Finalmente, se corrigió dicho valor por el volumen de dilución sembrada (25  $\mu$ L) y la humedad de la muestra de suelo, para obtener el resultado en términos de NMP de bradyrhizobios por gramo de suelo seco (BN gss<sup>-1</sup>).

Inoculación y siembra de soja: La soja se sembró en fecha óptima (primeros días de diciembre). Se inoculó con *B. japonicum* cepa SEMIA 5079, ya que se conoce su buen comportamiento en la zona (Flocco, 1999) y no se ha utilizado previamente en el ensayo como inoculante.

Muestreo de plantas: Se recolectaron 2 o 3 plantas por parcela, alrededor de 30 días post-emergencia de las plántulas. Se seleccionaron plantas vigorosas, con hojas verdes y sanas (Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1988). La forma de muestreo consistió en el descalce de las mismas y posterior lavado de las raíces, con la precaución de no perder nódulos.

Recolección y conservación de nódulos: En el laboratorio, se recolectaron todos los nódulos de la zona del cilindro central de cada planta, obteniéndolos mediante el corte con un bisturí, para inmediatamente realizar el aislamiento de los bradyrhizobios de los nódulos. Se distinguió si se encontraban en la raíz principal (RP) o raíz secundaria (RS), dentro del cilindro central de la raíz (2,5 cm x 2,5 cm).

Aislamiento de bradyrhizobios de los nódulos: Se esterilizó la superficie de cada nódulo con dos agentes químicos: primero en alcohol etílico al 95% y luego con hipoclorito de sodio (NaClO) al 3%. Posteriormente, se lavó 5 veces con agua estéril. Se abrió cada nódulo con un bisturí y se realizó una siembra por estrías en medio Agar Levadura Manitol (ALM) con agregado de Rojo Congo, y dos germicidas: vancomicina y cicloheximida (Penna et al., 2013). Se incubaron las cajas de Petri a 28°C por 7-10 días. Este procedimiento se realizó las veces que sea necesario hasta purificar la colonia. Una vez purificada, se realizó un repique en tubos de ensayo con ALM en forma de pico de flauta. Se incubó y, una vez desarrollada la colonia, se conservó en heladera, hasta su utilización (Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1988). Este procedimiento se realizó en el Laboratorio de Microbiología Agrícola de la FCA-UNER. Una vez obtenidos todos los aislamientos de los rizobios de los nódulos correspondientes al cilindro central de la soja, se determinó su procedencia de acuerdo a estas diferencias a nivel de colonia.

Diferenciación a nivel de colonia: con el objetivo de analizar principalmente diferencias fenotípicas a nivel de colonias entre las cepas E109 y SEMIA 5079 de *B. japonicum*, se realizaron placas de aislamientos por estrías de cada cepa. Las placas se incubaron a 28-30 °C hasta observar un desarrollo considerable. Los parámetros evaluados a nivel de colonia fueron: i) velocidad de crecimiento, ii) elevación, iii) coloración y iv) consistencia de la colonia.

Procesamiento de los datos y análisis estadístico: El recuento de bradyrhizobios naturalizados (BN) en el suelo se basa en la técnica del número más probable (NMP) descrita por Wooster (1994). Esta metodología se basa en una probabilidad de encontrar una cantidad de microorganismos, es decir estima el tamaño de la población microbiana (en este caso, de bradyrhizobios). Por lo tanto, se calcularon los límites inferiores y superiores utilizando un factor de confianza ( $P = 0,05$ ), descrito en una tabla de la técnica original. El valor de este factor de confianza para cinco repeticiones por dilución de tipo decimal fue de 3,3. Por lo tanto, el límite inferior se calculó como la división entre el NMP y 3,3, mientras que el límite superior se calculó como la multiplicación entre NMP y 3,3. Los resultados se expresaron de la siguiente manera: NMP (límite inferior - límite superior,  $P = 0,05$ ).

El análisis de los resultados del ensayo a campo sobre ocupación de nódulos, se realizó con el paquete estadístico INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2018), disponible en la FCA-UNER. Se calculó la proporción de nódulos de la raíz principal ocupados por BI, como así también la proporción del total de nódulos del cilindro central (es decir, nódulos de la raíz principal + nódulos de las raíces secundarias). Las variables a analizar fueron: proporción de nódulos en raíz principal con BI (NodRP-BI) y proporción de nódulos totales (es decir, raíz principal y raíz secundaria dentro del cilindro central) con BI (NodTotales-BI). Dado que la naturaleza inherente de ciertos tipos de datos, como las proporciones, no cumple con la condición de homogeneidad de varianzas, se procedió a transformar los datos utilizando la función arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción (Pérez-Giménez et al., 2011). Posteriormente, se corroboraron la normalidad de los datos transformados con una prueba de Shapiro-Wilk, y la homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene. Finalmente, se aplicaron: un ANOVA (considerando el bloque y tratamiento como variables de clasificación) y un test LSD para comparaciones de medias ( $\alpha = 0,05$ ).

Además, se calculó el índice raíz principal/raíz secundaria (RP/RS) para cada tipo de bradyrhizobio (BI o BN) como la relación entre la cantidad de nódulos ocupados por ese bradyrhizobio en RP y RS. Este índice se asocia a la capacidad de colonización en distintos tipos de raíces, asociado a la competencia por sitios de infección.

#### 4. Síntesis de resultados y conclusiones

##### Recuento de bradyrhizobios naturalizados en el suelo (BN)

La población estimada (NMP) de BN  $\text{gss}^{-1}$  en cada una de las secuencias, se presenta en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Número más probable (NMP), límite inferior y límite superior de bradyrhizobios naturalizados en el suelo (BN) en distintas secuencias de cultivos en un ensayo de larga duración en un Argiudol ácuico de Paraná, Argentina (31°51' S; 60°32' O).

Tratamientos	NMP (BN gss <sup>-1</sup> )	Límite inferior (BN gss <sup>-1</sup> )	Límite superior (BN gss <sup>-1</sup> )
S <sub>f</sub>	6,6*10 <sup>3</sup>	2,0*10 <sup>3</sup>	2,2*10 <sup>4</sup>
CC/S <sub>f</sub>	1,3*10 <sup>3</sup>	4,1*10 <sup>2</sup>	4,4*10 <sup>3</sup>
CCN/S <sub>f</sub>	1,1*10 <sup>3</sup>	3,5*10 <sup>2</sup>	3,9*10 <sup>3</sup>
CCN/S <sub>f</sub> rot	4,4*10 <sup>2</sup>	1,3*10 <sup>2</sup>	1,4*10 <sup>3</sup>

S<sub>f</sub>: monocultivo de soja fertilizado; CC/S<sub>f</sub>: cultivo de cobertura de invierno/soja fertilizada; CCN/S<sub>f</sub>: cultivo de cobertura de invierno fertilizado con N/soja fertilizada; CCN/S<sub>f</sub>rot: cultivo de cobertura de invierno fertilizado con N/soja fertilizada en una rotación. P = 0,05.

De acuerdo con la técnica del número más probable (Woomer, 1994), se considera que dos poblaciones estimadas difieren significativamente ( $P = 0,05$ ) cuando el límite superior de la estimación menor no se superpone con el límite inferior de la estimación mayor. Consecuentemente, en este ensayo solo existe una diferencia significativa ( $P = 0,05$ ) entre S<sub>f</sub> y CCN/S<sub>f</sub>rot.

El éxito de la fijación biológica simbiótica de N (FBN) está determinado por dos aspectos cruciales relacionados con los microorganismos simbiotes: la eficiente nodulación y la elevada tasa de fijación de N en las plantas (Cooper y Scherer, 2012). En suelos con historial de cultivo de soja, surge una competencia entre los bradyrhizobios del inoculante (BI) y los bradyrhizobios naturalizados en el suelo (BN) por colonizar los sitios de infección y formar los nódulos en la raíz de la soja, contribuyendo ambos a la FBN aunque con distintas tasas (López-García et al., 2002; Piccinetti et al., 2013; Lodeiro, 2015). Después de 16 años desde el inicio del Ensayo de Larga Duración (ELD), se realizó un recuento de BN, y se encontró una sobrevivencia de BN que varió entre  $4 \times 10^2$  y  $6 \times 10^3$  BN gss<sup>-1</sup> en las secuencias analizadas (Tabla 2). Estos resultados se asemejan a otros recuentos de BN realizados en suelos similares de la región, que se encuentran entre  $10^2$  a  $10^6$  BN gss<sup>-1</sup> (Tringali et al., 1997; Brutti et al., 1998; Peticari et al., 2003; López-García et al., 2009; Fornasero y Toniutti, 2015), aunque los valores obtenidos se encuentran en el extremo inferior de este rango. Se observaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) sólo entre los tratamientos S<sub>f</sub> y CCN/S<sub>f</sub>rot, lo que sugiere que, en secuencias de cultivos de distinta intensificación y predominio de soja, la frecuencia de cultivo de soja parece ser el factor determinante en la carga de BN. Este hallazgo concuerda con estudios que indican una relación inversamente proporcional entre la cantidad de BN y el tiempo transcurrido desde la última siembra de soja (Revellín et al., 1996; Brutti et al., 1998; Zengeni et al., 2006).

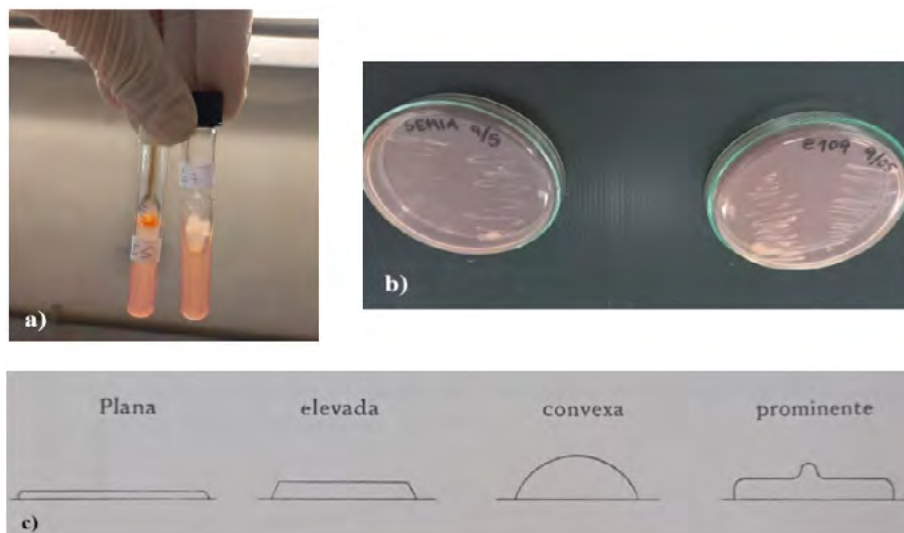
Además, dada la naturaleza saprófita de los BN, otro factor que podría influir en la sobrevivencia de BN es el contenido de materia orgánica (Revellín et al., 1996; Tringali et al., 1997). Sin embargo, este efecto no se manifestó en los resultados de este experimento. Si bien en un estudio previo sobre el mismo ensayo de larga duración (Fontana et al., 2024) se observaron mejoras en las condiciones del suelo (C orgánico de suelo) y en la biota edáfica (C de biomasa microbiana y C de biomasa bacteriana) con la inclu-

sión de CC (CC/S<sub>f</sub> y CCN/S<sub>f</sub>), las cantidades estimadas de BN en dichos tratamientos no mostraron diferencias estadísticamente significativas respecto a S<sub>f</sub> (Tabla 2). Estos resultados sugieren que la inclusión de CC podría generar un ambiente edáfico más favorable para ciertas poblaciones microbianas que compiten más eficazmente por los sustratos que los BN. En este sentido, la biota edáfica constituye una comunidad compleja de microorganismos que compiten por nutrientes y espacio, por lo que los microorganismos desarrollan diversas adaptaciones para ser competitivos (Rivera y Wright, 2013). En el caso de los BN, estos pueden encontrarse en dos estados en el suelo: sésil (sin flagelos, inmóvil en el suelo) o planctónico, con flagelos que le permiten un desplazamiento autopropulsado a velocidad reducida (Lodeiro, 2015). Debido a que los BN no tienen estructuras de resistencia para sobrevivir a situaciones adversas, en general se encuentran en el suelo en estado sésil, formando biofilms (Danhorn y Fuxa, 2007). Esta limitación de movilidad (McDermott y Graham, 1989) podría explicar por qué no se observó un aumento significativo en la carga de BN en los tratamientos con mayor contenido de C orgánico de suelo, ya que podrían estar en desventaja en la competencia por sustratos orgánicos frente a otros microorganismos.

#### Ensayo de laboratorio: diferencias entre cepas de bradyrhizobios

Con el objetivo de analizar principalmente diferencias fenotípicas a nivel de colonias entre las cepas E109 y SEMIA 5079 de *B. japonicum*, se realizaron placas de aislamientos por estrías de cada cepa. Las placas se incubaron a 28-30 °C hasta observar un desarrollo considerable. Los parámetros evaluados a nivel de colonia fueron: i) velocidad de crecimiento, ii) elevación, iii) coloración y iv) consistencia de la colonia.

Se observaron diferencias entre las cepas. Aquellos aislamientos de la cepa E109 tuvieron una velocidad de crecimiento de 5-7 días, con colonias convexas, blancuzcas y de consistencia viscosa. Por el contrario, los aislamientos de la cepa SEMIA 5079, mostraron una velocidad de crecimiento de 8-10 días, las colonias fueron elevadas, de coloración algo rosada y consistencia mantecosa. Las diferencias en la coloración pueden observarse en la Figura 2.a, la velocidad de crecimiento puede observarse a partir de la diferencia de crecimiento de las cepas sembradas el mismo día en la Figura 2.b, mientras que en la Figura 2.c puede observarse un diagrama de los tipos de elevación que pueden tener las colonias.



**Figura 2.** Observaciones fenotípicas a nivel de colonia de las cepas E109 y SEMIA 5079 de *Bradyrhizobium japonicum*. (a) coloración de la colonia, (b) Diferencias de crecimiento de ambas cepas sembradas en un mismo momento, (c) tipos de elevación que pueden tener las colonias bacterianas (tomado de Harrigan y McCance, 1968).

Ensayo a campo: ocupación de nódulos por los bradyrhizobios del inoculante (BI)

Independientemente de los tratamientos, los nódulos dentro del cilindro central que estaban ubicados en la raíz principal (NodRP) fueron ocupados en mayor proporción (65 %) por los BI (Tabla 2). Similar comportamiento se observó cuando se analizó la totalidad de los nódulos del cilindro central (NodTotales). Al analizar el efecto de las secuencias de cultivo sobre las proporciones de nódulos ocupados por los BI y BN, se observó que en el monocultivo de soja ( $S_j$ ), la proporción de nódulos totales ocupados por los bradyrhizobios del inoculante (NodTotales-BI) fue mayor en comparación con las secuencias que incluyeron CC (Tabla 2). Es relevante destacar que el coeficiente de variación (CV) para NodRP-BI fue del 30,6 %, mientras que para NodTotales-BI fue de 26,3 %. Además, a pesar de detectarse una tendencia hacia una mayor proporción de NodRP-BI en  $S_j$ , la variabilidad de los datos (evidenciada en el elevado CV dentro de cada tratamiento) impidió la detección de diferencias significativas entre los tratamientos.

**Tabla 3.** Ocupación de nódulos por bradyrhizobios del inoculante (BI) y naturalizados en el suelo (BN): proporción de nódulos en la raíz principal (NodRP) y de nódulos totales (NodTotales); en un ensayo de larga duración en un Argiudol ácuico de Paraná, Argentina (31°51' S; 60°32' O).

	NodRP-BI	NodRP-BN	NodTotales-BI	NodTotales-BN
$S_j$	0,79 a	0,21 a	0,77 a	0,23 b
CC/ $S_j$	0,54 a	0,46 a	0,50 b	0,50 a
CCN/ $S_j$	0,64 a	0,36 a	0,55 b	0,45 a
CCN/ $S_{j\text{rot}}$	0,60 a	0,40 a	0,58 b	0,42 a
Promedio	0,65 A	0,35 B	0,61 A	0,39 B

Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas en la proporción de BI y BN en los nódulos de la raíz principal (NodRP) según LSD Fisher ( $\alpha < 0,05$ ). Letras mayúsculas cursivas diferentes indican diferencias significativas en la proporción de BI y BN en los nódulos totales del cilindro central (NodTotales) según LSD Fisher ( $\alpha < 0,05$ ). Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas para cada variable entre las secuencias de cultivos según LSD Fisher ( $\alpha < 0,05$ ).  $S_j$ : monocultivo de soja fertilizado; CC/ $S_j$ : cultivo de cobertura de invierno/soja fertilizada; CCN/ $S_j$ : cultivo de cobertura de invierno fertilizado con N/soja fertilizada; CCN/ $S_{j\text{rot}}$ : cultivo de cobertura de invierno fertilizado con N/soja fertilizada en una rotación.

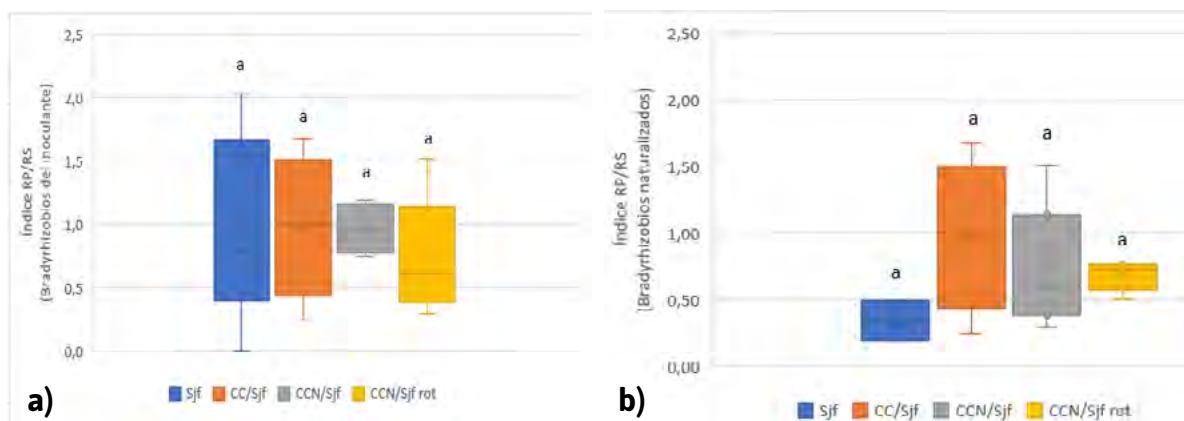
La competitividad de los bradyrhizobios por los sitios de infección en la raíz de soja no sólo depende del número de estas bacterias, sino también de otros factores como su posición en el suelo o en la rizósfera (López-García et al., 2002; Graham, 2008). En este capítulo, se observaron proporciones de nódulos ocupados por los bradyrhizobios del inoculante (BI) del 65 % en la raíz principal (NodRP) y del 61 % en el total de nódulos (NodTotales) (Tabla 3), cifras más altas que las reportadas en estudios previos que indican una ocupación del 5-20 % de los nódulos por los BI (Caldwell y Vest, 1970; Kuykendall y Weber, 1978; McDermott y Graham, 1989). Estas discrepancias pueden atribuirse a dos factores principales: primero, el momento de muestreo, que en este experimento fue a los 30-35 días después de emergencia (estadio vegetativo V4-V5), en contraste con los estudios previamente mencionados que analizaron estadios reproductivos; y segundo, la zona de la raíz analizada, ya que este estudio se centró en el cilindro central en lugar de examinar toda la raíz de soja. La elección de estudiar la ocupación de nódulos en el cilindro central de la raíz se fundamenta en que los nódulos formados en las raíces secundarias alejadas del cuello de la raíz tienen una menor actividad nitrogenasa, debido a una menor contribución energética por parte de la planta en esta área (Racca, 1986), lo que implica que los nódulos fuera de este cilindro central contribuyen menos al suministro de N por FBN. Para analizar las causas de la mayor ocupación de nódulos del cilindro central (NodTotales) y en la raíz principal dentro de este cilindro (NodRP) por parte de los BI, es necesario tener en cuenta los siguientes aspectos: una vez sembrada la semilla inoculada, los BI se liberan al suelo en la zona que rodea a la semilla, donde posteriormente emerge de la radícula y ocurre la infección temprana de la raíz de soja (Lodeiro, 2015). Desde este momento, los bradyrhizobios entran en competencia directa con otros microorganismos del suelo, incluidas otras cepas de bradyrhizobios con capacidad para nodular la soja (Lodeiro, 2015). Por lo tanto, los resultados obtenidos pueden deberse a dos factores: por un lado, una ventaja posicional (López-García et al., 2002) como consecuencia de la ubicación de los BI en una zona del suelo cercana a la emergencia de la radícula (McDermott y Graham, 1989) y, por otro lado, también podría influir una menor presión competitiva debido a la carga de BN que, como se mencionó anteriormente, se encuentra en los límites inferiores de los rangos de la región pampeana.

Por último, la capacidad competitiva de los bradyrhizobios también puede ser afectada por las condiciones del ambiente donde se desarrollan, como ser pH, temperatura o restricciones nutricionales (Graham, 2008). Al analizar el efecto de las secuencias de cultivos sobre la ocupación de los NodRP y NodTotales (Tabla 3), se observó que el  $S_j$  presentó la mayor ocupación de NodTotales con BI, comparado con los tratamientos con CC ( $CC/S_j$ ,  $CCN/S_j$ ,  $CCN/S_{j_{rot}}$ ). La misma tendencia se encontró en los NodRP, aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Es decir, el tratamiento  $S_j$  presentó una mayor carga de BN, pero además tuvo una mayor ocupación de nódulos con los BI. En otras palabras, estos resultados aparentemente sugieren que los BN del tratamiento  $S_j$  son menos competitivos que los BN de los tratamientos con CC. Estos resultados podrían atribuirse a diferencias en los niveles de adaptación de los BN a diversos estreses en el suelo, lo que sugiere la existencia de mecanismos diferenciales que contribuyen a su adaptación a distintos ambientes edáficos (Graham, 2008). En este experimento, un factor relevante capaz de marcar diferencias entre tratamientos con CC ( $CC/S_j$ ,  $CCN/S_j$ ,  $CCN/S_{j_{rot}}$ ) y sin CC ( $S_j$ ), podría ser el contenido de N inorgánico en el suelo en el invierno (período previo al inicio de este ensayo). La inclusión de trigo como CC puede

generar un ambiente edáfico con deficiencia de N inorgánico, incluso cuando se aplica fertilizante nitrogenado, debido a la alta demanda de N por parte del trigo (Divito et al., 2017). Por consiguiente, los BN crecidos en un suelo con escasez de N inorgánico (es decir, en los tratamientos con CC) podrían exhibir rasgos más favorables para la infección temprana y nodulación, incluyendo una mayor eficiencia de nodulación y competitividad, en comparación con los BN desarrollados en suelos no privados de N (como el S<sub>j</sub>) (López-García et al., 2001)

### Distribución nodular de bradyrhizobios del inoculante y naturalizados en soja

El índice raíz principal/raíz secundaria (RP/RS) se calculó para cada tipo de bradyrhizobio (BI o BN) como la relación entre la cantidad de nódulos ocupados por ese bradyrhizobio en RP y RS. Este índice se asocia a la capacidad de colonización en distintos tipos de raíces, asociado a la competencia por sitios de infección. Los índices RP/RS medios para BI fueron: S<sub>j</sub> (0,9), CC/S<sub>j</sub> (1,0), CCN/S<sub>j</sub> (1,0) y CCN/S<sub>j</sub><sub>rot</sub> (0,8), sin diferencias estadísticas, indicando ocupación similar en RP y RS (Figura 3.a). Para BN, los valores fueron: S<sub>j</sub> (0,34), CC/S<sub>j</sub> (0,98), CCN/S<sub>j</sub> (0,75) y CCN/S<sub>j</sub><sub>rot</sub> (0,68) (Figura 3.b). Aunque tampoco hubo diferencias significativas, probablemente por alta variabilidad de datos, la tendencia indica que en ambientes con escaso N inorgánico (CC/S<sub>j</sub>), los BN ocupan nódulos en RP y RS de manera similar (índice ~1), mientras que en otros tratamientos la ocupación se concentra más en RS (índice <1).



**Figura 3.** Índice raíz principal/raíz secundaria (RP/RS). (a) bradyrhizobios del inoculante, (b) bradyrhizobios naturalizados en el suelo. Letras diferentes indican diferencias significativas en el índice RP/RS según LSD Fisher ( $\alpha < 0,05$ ). S<sub>j</sub>: monocultivo de soja fertilizado; CC/S<sub>j</sub>: cultivo de cobertura de invierno/soja fertilizada; CCN/S<sub>j</sub>: cultivo de cobertura de invierno fertilizado con N/soja fertilizada; CCN/S<sub>j</sub><sub>rot</sub>: cultivo de cobertura de invierno fertilizado con N/soja fertilizada en una rotación.

## Consideraciones finales

La evaluación del impacto de diferentes prácticas agrícolas en las poblaciones microbianas, particularmente los bradyrhizobios naturalizados (BN), es fundamental para comprender cómo estas prácticas afectan la fijación biológica de nitrógeno (FBN) en el cultivo de soja. La frecuencia del cultivo de soja en conjunto tiene una influencia significativa en la sobrevivencia de los BN. Sin embargo, ante una misma frecuencia de soja, los mayores contenidos de C orgánico en el suelo no afectan la sobrevivencia de los BN. A pesar de las diferencias en la sobrevivencia de los BN entre tratamientos, la

competitividad durante la infección temprana y, consecuentemente, la ocupación de nódulos por los BN, no están determinadas por la carga de BN, sino posiblemente debido a una mejor capacidad competitiva derivada de adaptaciones al ambiente edáfico. Estos hallazgos destacan la complejidad de los mecanismos que regulan la dinámica de los bradyrhizobios en los sistemas agrícolas y resaltan la importancia de considerar los factores ambientales en la interpretación de estos procesos.

En lo que respecta a la difusión, los resultados alcanzados en esta investigación fueron publicados en distintas producciones, que se adjuntan en el Anexo:

## 5. Indicadores de producción

### Publicaciones en revistas científicas especializadas

2024. FONTANA, MARIANELA B.; NOVELLI, LEONARDO E.; STERREN, MARÍA A.; UHRICH, WALTER G.; RONDÁN, GUILLERMO A.; BARBAGELATA, PEDRO A.; BENINTENDE, SILVIA M. 2024. "Cover crop benefit bacteria and increase aggregate-associate soil C and N storage". *Geoderma Regional*, 36: e00743. <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2023.e00743>

### Ponencias/Presentaciones en Jornadas:

2022. FONTANA, M.B., CAZAUX, M.A.; STERREN, M.A.; UHRICH, W.G.; NOVELLI, L.E. y S.M. BENINTENDE. *Secuencias de cultivos basadas en soja: efecto sobre poblaciones naturalizadas de bradyrhizobios nodulantes de soja*. XXVIII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. CABA. Noviembre 2022.

2022. FONTANA, M.; BENINTENDE, S.; NOVELLI, L.; STERREN, M. y W. UHRICH. *Biota edáfica y poblaciones naturalizadas de Bradyrhizobios nodulantes de soja en distintas secuencias de cultivo*. VII Jornadas de Actividades de Investigación, Extensión y Académicas (In-Ex-As) INEXA. UNER. 2 y 3 Noviembre 2022. Paraná, Entre Ríos.

2023. FONTANA, MARIANELA; UHRICH, WALTER; STERREN, MARÍA; RONDAN, GUILLERMO, BARBAGELATA, PEDRO, NOVELLI, LEONARDO Y BENINTENDE, SILVIA. "Diferencias entre dos cepas de *Bradyrhizobium japonicum*: la antesala para analizar la ocupación de nódulos en soja". REUNIÓN DE INVESTIGACIÓN, EXTENSIÓN Y DOCENCIA. FCA-UNER. 27 Septiembre 2023. Oro Verde, Entre Ríos.

2025. FONTANA, MARIANELA; UHRICH, WALTER; STERREN, MARÍA; RONDAN, GUILLERMO, BARBAGELATA, PEDRO, NOVELLI, LEONARDO Y BENINTENDE, SILVIA. "Bradyrhizobios nodulantes de soja: ¿cómo impactan distintas secuencias agrícolas sobre la sobrevivencia en el suelo y la ocupación de nódulos?". REUNIÓN DE INVESTIGACIÓN, EXTENSIÓN Y DOCENCIA. FCA-UNER. Septiembre 2025. Oro Verde, Entre Ríos. (Resumen aprobado).

2025. LIMA, MAIRA; FONTANA, MARIANELA. "Distribución nodular de bradyrhizobios del inoculante y naturalizados en soja bajo diferentes secuencias de cultivos". REUNIÓN DE INVESTIGACIÓN, EXTENSIÓN Y DOCENCIA. FCA-UNER. Septiembre 2025. Oro Verde, Entre Ríos. (Resumen aprobado).

Como parte de la continuidad del trabajo, se elaboró un artículo científico denominado "*Bradyrhizobios nodulantes de soja: ¿cómo inciden las secuencias de cultivo en la sobrevivencia en el suelo y la ocupación de nódulos?*", para ser enviado próximamente

a una revista con referato, consolidando así la producción derivada de este proyecto y fortaleciendo su impacto en la comunidad académica y científica.

## Bibliografía

- ALTHABEGOITI, M.J.; LÓPEZ-GARCÍA, S.L.; PICCINETTI, C.; MONGIARDINI, E.J.; PÉREZ-GIMÉNEZ, J.; QUELAS, J. I.; et al. (2008). *Strain selection for improvement of Bradyrhizobium japonicum competitiveness for nodulation of soybean*, en: FEMS Microbiology Letters, 282(1):115-123. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01114.x>
- BALATTI, P. (2007). *La diversidad de los rizobios que nodulan la soja (Glycine max L. Merr)*. (pp.53-64). En: THUAR, A., y otros (eds). *De la biología del suelo a la agricultura*. Río Cuarto, Argentina: UniRío Editora.
- BRUTTI, L.; RIVERO, E.; CANCIO PACHECO BASURCO, J.; NICOLA, M.; IRIARTE, L.; ABBIATI, N.; et al. (1998). *Persistence of Bradyrhizobium japonicum in arable soils of Argentina*, en: Applied Soil Ecology 10:87-94. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(98\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(98)00038-9)
- CALDWELL, B.E.; VEST, G. (1970). *Effects of Rhizobium japonicum strains on soybean yields*, en: Cro Sciences, 10:19-21. <https://doi.org/10.2135/cropsci1970.0011183X001000010008x>
- CÁMARA DE SANIDAD AGROPECUARIA Y FERTILIZANTES. (2005). *Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina*, 12th ed. Argentina: Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes.
- CAVIGLIA, O.P.; ANDRADE, F.H. (2010). *Sustainable intensification of agriculture in the Argentinean pampas: Capture and use efficiency of environmental resources*, en: The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology, 3: 1-8.
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. 1988. *Simbiosis Rizobio-Leguminosa. Manual de métodos de evaluación, selección y manejo agronómico*. Cali, Colombia: Ed. Rev.
- COOPER, J.E.; SCHERER, H.W. (2012). *Chapter 16: Nitrogen fixation*. (pp. 389-408). En: Marschner, P. (Ed.). *Mineral Nutrition of Higher Plants* (3rd ed.). Australia. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00016-9>
- DANHORN, T.; FUQUA, C. (2007). *Biofilm formation by plant-associated bacteria*, en: Annual Review of Microbiology, 61:401-422. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.61.080706.093316>
- DI RIENZO, J.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C. (2018). *InfoStat v2018 (Versión 2018)*. Grupo InfoStat. FCA. Universidad Nacional Córdoba, Argentina.
- DIVITO G.A.; CORRENDO, A.A.; GARCÍA, F.O. (2017). *Capítulo VI: La nutrición del cultivo de trigo*. (pp.66-84). En: DIVITO G.A. Y GARCÍA, F.O. (eds). *Manual del Cultivo de Trigo*. Argentina: International Plant Nutrition Institute (INPI).
- DORR DE QUADROS, P.; ZHALNINA, K.; DAVIS-RICHARDSON, A.; FAGEN, J. R.; DREW, J.; BAYER, C.; et al. (2012). *The effect of tillage system and crop rotation on soil microbial diversity and composition in a subtropical acrisol*, en: Diversity, 4(4):375-395. <https://doi.org/10.3390/d4040375>
- FLOCCO, J.M. (1999). *Tesis de Grado: Evaluación a campo de cepas de Bradyrhizobium japonicum de probada capacidad de fijación potencial en suelos Argiudoles vérticos de la provincia de Entre Ríos*. Oro Verde, Argentina: FCA-UNER.

- FONTANA, M.B.; NOVELLI, L.E.; STERREN, M.A.; UHRICH, W.G.; RONDÁN, G.A.; BARBAGELATA, P.A.; BENINTENDE, S.M. (2024). *Cover crop benefit bacteria and increase aggregate-associate soil C and N storage*, en: *Geoderma Regional*, 36: e00743. <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2023.e00743>
- FORNASERO, L.V.; TONIUTTI, M.A. (2015). *Evaluación de la nodulación y rendimiento del cultivo de soja con la aplicación de distintas formulaciones de inoculantes*, en: *Revista FAVE - Ciencias Agrarias*, 14(1):79-90. <https://doi.org/10.14409/fa.v14i1/2.5708>
- GRAHAM, P.H. (2008). *Ecology of the root-nodule bacteria of legumes*. (pp.23-58). En: Dilworth, M.J. y otros (Eds.). *Leguminous Nitrogen-Fixing Symbioses*. The Netherlands: Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3548-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3548-7_2)
- HARRIGAN, W.F.; McCANCE, M.E. (1968). *Métodos de laboratorio en microbiología*. León, España: Editorial Academia.
- KUYKENDALL, L.D.; WEBER, D.F. (1978). *Genetically marked Rhizobium identifiable as inoculum strain in nodules of soybean plants grown in fields populated with Rhizobium japonicum*, en: *Applied and Environmental Microbiology*, 36:915-919. <https://doi.org/10.1128/aem.36.6.915-919.1978>
- LODEIRO, A.R. (2015). *Interrogantes en la tecnología de la inoculación de semillas de soja con Bradyrhizobium spp*, en: *Revista Argentina de Microbiología*, 47(3):261-273. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.06.006>
- LODWIG, E.; POOLE, P. (2003). *Metabolism of Rhizobium Bacteroids*, en: *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22(1):37-78. <https://doi.org/10.1080/713610850>
- LÓPEZ, S.; PASTORINO, G.N.; MARTÍNEZ ALCÁNTARA, V.; SALVUCCI, D.; BALATTI, P.A. (2013). *Los rizobios que nodulan la soja en sitios con ambientes nativos y cultivados de la Argentina*. (pp.237-252). En: ALBANESI, A.S. (Ed.). *Microbiología agrícola. Un aporte de la Investigación en Argentina* (2° ed.). Tucumán, Argentina: Magna Publicaciones.
- LÓPEZ-GARCÍA, S.L.; VÁZQUEZ, T.E.E.; FAVELUKES, G.; LODEIRO, A. (2001) *Improved soybean root association of N-starved Bradyrhizobium japonicum*. *Journal of Bacteriology*, 183:7241-7252. <https://doi.org/10.1128/JB.183.24.7241-7252.2001>
- LÓPEZ-GARCÍA, S.L.; VÁZQUEZ, T.E.; FAVELUKES, G.; LODEIRO, A.R. (2002). *Rhizobial position as a main determinant in the problem of competition for nodulation in soybean*, en: *Environmental Microbiology*, 4(4):216-224. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2002.00287.x>
- LÓPEZ-GARCÍA, S. L.; PERTICARI, A.; PICCINETTI, C.; VENTIMIGLIA, L.; ARIAS, N.; DE BATTISTA, J.J. et al. (2009). *In-furrow inoculation and selection for higher motility enhances the efficacy of Bradyrhizobium japonicum nodulation*, en: *Agronomy Journal*, 101(2):357-363. <https://doi.org/10.2134/agronj2008.0155x>
- MCDERMOTT, T.R.; GRAHAM, P.H. (1989). *Bradyrhizobium japonicum inoculant mobility, nodule occupancy, and acetylene reduction in the soybean root system*, en: *Applied and Environmental Microbiology*, 55:2493-2498. <https://doi.org/10.1128/aem.55.10.2493-2498.1989>
- NAKEI, M.D.; VENKATARAMANA, P.B.; NDAKIDEMI, P.A. (2022). *Soybean-Nodulating Rhizobia: Ecology, Characterization, Diversity, and Growth Promoting Functions*, en: *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6: 824444. <https://doi.org/10.3389/fsu-2022.824444>
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. (2020). *Crops and livestock products. FAOSTAT statistical database*. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/> [Mayo de 2023]

- PENNA, C.; BENINTENDE, S.; CHIAVELINI, J.; ALBANESI, A.; CASSAN, F.; GONZALES FIQUENI, M.; et al. (2013). *Recuento de rizobios viables sobre semilla*. (pp.89). En: ALBANESI, A.S. y otros (Eds). *Manual de procedimientos microbiológicos para la evaluación de inoculantes*. REDCAI. Buenos Aires, Argentina: Asociación Argentina de Microbiología.
- PÉREZ-GIMÉNEZ, J.; QUELAS, J.I.; LODEIRO, A.R. (2011). *Competition for Nodulation*. (pp.1399-166). En: EL-SHEMY, H. (Ed.). *Soybean Physiology and Biochemistry*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/18034>
- PERTICARI, A.; ARIAS, N.; BAIGORRI, H.; DE BATTISTA, J.J.; MONTECCHIA, M.; PACHECO BASURCO, et al. (2003). *Inoculación y fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de soja*. (pp.69-76). En: SATORRE, E.H. y otros (Eds). *El libro de la soja*. Buenos Aires, Argentina: Editorial SEMA.
- PICCINETTI, C.; ARIAS, N.; VENTIMIGLIA, L.; DÍAZ-ZORITA, M.; MURUA, L.; SÁNCHEZ, H.; et al. (2013). *Efectos positivos de la inoculación de soja sobre la nodulación, la FBN y en los parámetros de producción del cultivo*. (pp.283-297). En: Albanesi, A.S. (Ed.). *Microbiología agrícola. Un aporte de la Investigación en Argentina (2° ed.)*. Tucumán, Argentina: Magna Publicaciones.
- PLAN MAPA DE SUELOS. (1998). *Carta de Suelos de la República Argentina. Departamento Paraná, Provincia de Entre Ríos. Serie Relevamiento de Recursos Naturales N° 17*. Entre Ríos, Argentina: Acuerdo Complementario del Convenio INTA – Gobierno de Entre Ríos.
- RACCA, R. (1986). *Efectos de diferentes períodos de penuria hídrica sobre: crecimiento, desarrollo y productividad en soja*, en: *Revista de la Asociación Argentina de Soja*. VII: 6-11.
- REVELLÍN, C.; PINOCHET, X.; BEAUCLAIR, P.; CATROUX, G. (1996). *Influence of soil properties and soya bean cropping history on the Bradyrhizobium japonicum population in some French soils*, en: *European Journal of Soil Science*, 47:505-510. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1996.tb01850.x>
- RIVERA, M.C.; WRIGHT, E.R. (2013). *Interacciones entre fitopatógenos y microorganismos benéficos en la rizósfera*. (pp.33-46). En: GARCÍA DE SALAMONE, I. y otros (Eds.). *Rizósfera, biodiversidad y agricultura sustentable*. Buenos Aires, Argentina: Asociación Argentina de Microbiología.
- RUTHERFORD, P.M.; JUMA, N.G. (1992). *Influence of texture on habitable pore space and bacterial protozoan populations in soil*, en: *Biology and Fertility of Soils*, 12:221-227. <https://doi.org/10.1007/BF00336036>
- SADOWSKI, M.J.; GRAHAM, P. (1998). *Soil biology of the Rhizobiaceae*. (pp.155-172). En: SPAINK, H.P. y otros (Eds.). *The Rhizobiaceae. Molecular biology of model plant-associated bacteria*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- SISTEMA DE INFORMACIÓN DE LA BOLSA DE CEREALES DE ENTRE RÍOS. (2023). *Estadísticas*. Disponible en: <https://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/estadisticas.php> [Diciembre de 2023].
- SOIL SURVEY STAFF. (2010). *Keys to Soil Taxonomy (11° ed.)*. USA: United States Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service.
- TRINGALI, L.; GONZALEZ, N.; ANDREOLI, Y. (1997). *Naturalización y supervivencia saprofítica de dos cepas de Bradyrhizobium japonicum en suelos Argiudoles de Balcarce*, en: *Ciencia del Suelo*, 15(1):28-32.

- WEAVER, R.W.; GRAHAM, P.H. (1994). Chapter 12. Legume Nodule Symbionts. (pp.199-222). En: WEAVER, R.W. y otros (Eds.). *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties*. USA: Ed. Soil Science Society of America. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.2.c12>
- WOOMER, P.L. (1994). *Chapter 5: Most probable number counts*. (pp.59-79). En: WEAVER, R.W. y otros (Eds.). *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties*. USA: Ed: Soil Science Society of America. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.2.c5>
- ZENGENI, R.; MPEPEREKI, S.; GILLER, K. (2006). *Manure and soil properties affect survival and persistence of soybean nodulating rhizobia in smallholder soils of Zimbabwe*, en: *Applied Soil Ecology*, 32:232–242. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.06.001>

**PID2250**

**Denominación del Proyecto**

Ocupación de nódulos por rizobios provenientes del inoculante en distintas secuencias agrícolas con soja

**Unidad de Ejecución**

Universidad Nacional de Entre Ríos

**Dependencia**

Facultad de Ciencias Agropecuarias

**Cátedra/s, área o disciplina científica**

CIENCIAS AGROPECUARIAS - Disciplina científica: Biotecnología agropecuaria

**Contacto**

[marianela.fontana@uner.edu.ar](mailto:marianela.fontana@uner.edu.ar)

**Integrantes del proyecto**

**Director/a**

Fontana, Marianela Belén

**Codirector/a**

Sterren, María Alejandra

**Integrantes internos/docentes UNER**

Uhrich, Walter Gustavo (FCA-UNER); Benintende, Silvia Mercedes (FCA-UNER); Rondán, Guillermo Antonio (FCA-UNER); Barbagelata, Pedro Anibal (FCA-UNER).  
Estudiante becaria de formación vinculada al PID: Lima, Maira Florencia.

**Fechas de iniciación y de finalización efectivas**

01/06/2023 y 31/05/2025

Aprobación de Informe Final mediante resolución C.S. N° 356 (07-11-2025)