

Efecto del N mineral y N₂ sobre la nutrición nitrogenada en la planta de soya

Lamberto Zúñiga-Estrada¹
Juan Luis Tirado Torres[†]
Reyna Roxana Guillén-Enríquez²
Efrain de la Cruz-Lazaro³
Juan Manuel Nava-Santos⁴
Pablo Preciado Rangel^{2§}

¹Campo Experimental Las Huastecas-INIFAP. Carretera Tampico-Mante km 55, Villa Cuauhtémoc, Tamaulipas, México. CP. 89610. (zuniga.lamberto@inifap.gob.mx). ²Tecnológico Nacional de México-Campus Instituto Tecnológico de Torreón. Antigua carretera Torreón-San Pedro km 7.5, Torreón, Coahuila, México. (reguillen@outlook.com). ³División Académica de Ciencias Agropecuarias-Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera Villahermosa-Teapa, Ra. km 25, La Huasteca, 2^{da}. Sección. Centro, Tabasco, Mexico. (efrain.delacruz@ujat.mx). ⁴Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Unidad Laguna. Periférico y Carretera a Santa Fe s/n, Torreón, Coahuila, Mexico. (juan.manuelnava@hotmail.com).

§Autor para correspondencia: ppreciador@yahoo.com.mx.

Resumen

La fijación biológica del nitrógeno, es una opción sustentable a la fertilización nitrogenada. Con el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del nitrógeno mineral y del N₂ proveniente de la fijación biológica del nitrógeno sobre la nutrición nitrogenada en plantas de soya, fueron evaluados seis tratamientos resultantes de combinar tres niveles de N mineral:(0.0, 3.5 y 7 meq L⁻¹ de NO₃⁻) e inoculación con la cepa CP-2 de *Bradhyrizobium japonicum* (con y sin inoculación), cada tratamiento se estableció por triplicado, en macetas de plástico de tres litros de capacidad y agrolita como sustrato transplantándose seis plántulas de soya por maceta. Se evaluó la materia seca (MS) en órganos de la planta, número y peso seco de nódulos, fijación de N₂, N soluble (N-aminoácido y N-ureido) y N total por órgano. Las plantas que recibieron N mineral transportaron entre 86 y 95% del N soluble total como N aminoácido, mientras que en plantas inoculadas el aporte de N mineral afectó negativamente la cantidad de nódulos (29%) y el peso de nódulos (64%), disminuyendo 55% la fijación de N₂, en estas plantas entre 50 y 70% del N soluble transportado fue como N ureido. A la etapa de R6, se estimó que 70% del N total acumulado en la MS provino del N₂ fijado, favoreciéndose la MS de hojas, tallos, peciolos y principalmente la MS en vainas. Por lo tanto, en este estudio demuestra que las plantas inoculadas y abastecidas con N mineral obtienen mejores efectos para la MS y el N total.

Palabras clave: inoculación, N-aminoácido, N-ureido.

Recibido: mayo de 2022
Aceptado: agosto de 2022

Introducción

En la agricultura, muchas plantas de interés son las leguminosas debido a su alto contenido de proteína (~40%), teniendo un gran valor nutrimental, sin embargo, requiere alto contenido de nitrógeno, conocido por ser un factor limitante, al mismo tiempo, una alternativa natural implementada por las plantas para suplir esta necesidad es, a través de la FBN (Meena *et al.*, 2017). No obstante, algunos autores favorecen el implementar fertilizantes inorgánicos, pero el uso excesivo de estos y una mala práctica lleva a la alteración de los ecosistemas (Soumare *et al.*, 2020). Por otro lado, los fertilizantes nitrogenados y la FBN que realizan algunos microorganismos, son las fuentes que permiten incorporar nitrógeno (N) al suelo; ambos procesos, utilizan el N contenido en la atmósfera.

La planta de soya, una de las leguminosas más importantes, establece simbiosis con bacterias del género *Bradyrhizobium japonicum* y satisface sus necesidades de N mediante dos vías de asimilación, una ruta es la FBN que se realiza en el bacteroides de los nódulos formados en la raíz en donde se fija entre 50 y 60% del N total requerido por la planta y la segunda vía es la absorción por la raíz del N-mineral (NH_4^+ y NO_3^-) presente en el suelo de manera natural o aplicado con fertilizantes químicos (Ortez *et al.*, 2017).

Mundialmente, un estimado de $\sim 2.5 \times 10^{11}$ kg NH_3 es fijado anualmente con la BNF (Meena *et al.*, 2017). Actualmente, el potencial de fijación de N simbiótica por leguminosas es subexplotado debido a que sólo implica 13% de la fertilización en tierras de cultivo (Anglade *et al.*, 2015). En vista de que la concentración de N en la materia orgánica del suelo es limitante y se reduce rápidamente con unos pocos ciclos de cultivo así como la eficiencia de los fertilizantes nitrogenada resulta ser inferior a 50%, desde una perspectiva económica como ambiental la FBN es actualmente la manera más sustentable para incorporar el N a la planta de soya (Saturno *et al.*, 2017).

Tradicionalmente la planta de soya ha sido utilizada en estudios controlados de laboratorio y campo, para comprender los procesos de absorción y metabolismo del N-mineral y del N_2 proveniente de la FBN, así como su distribución en los órganos de la planta (Ohyama *et al.*, 2017; Senthilkumar *et al.*, 2021). Estudios con ^{15}N como NO_3^- , NH_4^+ o N_2 , demostraron que las dos fuentes de N son reducidas a amonio (NH_4^+) en la raíz (Yoneyama *et al.*, 2020) y utilizados en la síntesis de aminoácidos y proteínas (Ertani *et al.*, 2013); sin embargo, la fuente de N absorbida por la planta controla su distribución en los órganos de la planta (Balta-Crisólogo *et al.*, 2015).

En la planta de soya abastecida con N mineral, el N se transporta como N-aminoácido y como N-ureido (alantoina y ácido alantoico) el N que proviene de la FBN (Hartmann *et al.*, 2012). Ambas formas de N abastecen los órganos del follaje y estructuras reproductivas (Kipp *et al.*, 2020). El N-aminoácido abastece el aparato vegetativo y más específicamente los tallos (Yan *et al.*, 2016), mientras que el N-ureido es utilizado en órganos en desarrollo y durante el período reproductivo son las vainas, estructuras en las que se determinó 52% de N proveniente de la FBN (Gregg *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2018). Sin embargo, el uso de N mineral podría incrementar el rendimiento en la planta de soja en condiciones muy específicas, pero esta práctica raramente es económicamente viable (Saturno *et al.*, 2017).

Los estudios sobre la FBN en soya, se han enfocado también a entender las complejas interacciones moleculares que controlan: a) la selectividad existente entre la planta y el *Bradyrhizobium japonicum*; b) la formación de los nódulos (Bala y Giller, 2006); c) los factores que afectan la eficiencia de la fijación (Freixas *et al.*, 2011); d) los factores que influyen en la senescencia de los nódulos (Fernández-Luqueño y Espinosa-Victoria, 2008); y e) los métodos para cuantificar el N que proviene de la FBN (Ortez *et al.*, 2017).

En países productores de soya, los programas de mejoramiento genético han aprovechado los avances en la FBN, indentificado líneas altamente eficientes en la FBN (Cerezini *et al.*, 2020), incrementando el rendimiento y disminuyendo el uso de fertilizantes nitrogenados (Fontanetto *et al.*, 2011). Estudios realizados en genotipos liberados comercialmente en distintas décadas (1980-2010) de EE. UU y Argentina confirmaron mayor potencial de rendimiento al recibir fertilización nitrogenada, los genotipos liberados en 2010 registraron un rendimiento mayor entre 15 y 34% al registrado en materiales liberados antes de 2010 en EE. UU y Argentina, respectivamente.

No obstante los avances antes mencionados, la interacción entre los genotipos de la soya y la respuesta del fertilizante nitrogenado es un tema que requiere de mayor estudio, por lo que el objetivo del presente estudio fue contribuir al conocimiento de la nutrición nitrogenada y en la producción de la materia seca de la planta de soya.

Materiales y métodos

La investigación se realizó en el Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo (19° 28' 4.26" latitud norte, 98° 53' 42.18" longitud oeste y una altitud de 2 250 m) en Texcoco, Estado de México, bajo condiciones de invernadero tipo cenital de estructura metálica cubierto con plástico blanco lechoso (calibre 720).

Semilla de soya *cv* Santa Rosa, fueron sembradas en charolas de polipropileno de 200 cavidades, hasta que las plántulas presentaron el primer par de hojas verdaderas. Posteriormente seis plántulas fueron transplantadas en una maceta de plástico de 5 L de capacidad previamente desinfectada (unidad experimental), como sustrato en las macetas se utilizó agrolita. Los tratamientos consistieron en desarrollar la planta de soya en seis condiciones, provenientes de combinar: a) tres niveles de nitrógeno mineral 0, 3.5 y 7 meq L⁻¹ de N, utilizándose el NH₄ NO₃ grado reactivo como fuente de nitrógeno; y b) dos niveles de inoculación (con y sin inocular); cada tratamiento se aplicó por triplicado.

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar. Al tercer día después del trasplante, se inocularon las plantas de los tratamientos correspondientes, aplicándose en la base del tallo de cada planta 1 ml de cultivo que contenía 10⁹ células de bacterias de *Bradyrhizobium japonicum* provenientes de la cepa CP-2 de la colección de microbiología del CP. Los riegos, desde la germinación hasta la inoculación, se proporcionaron diariamente con agua destilada y después de la inoculación con solución nutritiva sin nitrógeno (Tirado y Alcántar, 1989).

Con la solución nutritiva se prepararon los tres tratamientos de nitrógeno aplicados a las plantas de soya, iniciándose su aplicación a los 15 días después de la inoculación, dicha solución nutritiva fue renovada cada semana (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición de la solución nutritiva sin nitrógeno, utilizada durante el desarrollo del estudio.

Sal	(meq L ⁻¹)
KH ₂ PO ₄	2.4
MgSO ₄	1.2
CaCl ₂	1
K ₂ SO ₄	1
	(ppm)
H ₃ BO ₃	2
MnSO ₄ 4H ₂ O	1.8
ZnSO ₄	0.2
CuSO ₄	0.8
NaMoO ₄ 2H ₂ O	0.04
Fe-EDTA	16

Durante el desarrollo de la planta se realizaron cuatro muestreos destructivos; etapa vegetativa (V7), floración (R2), formación de vaina (R4) y máximo llenado de grano (R6), etapas registradas a 28, 54, 79 y 103 días después de siembra (DDS). En cada evaluación se tomaron seis plantas por maceta registrándose el peso húmedo (PH) y seco (MS) de hojas, tallos, vainas (cuando estuvieron presentes) y raíces. En este último órgano, en las primeras tres etapas fenológicas, se evaluó la fijación biológica del nitrógeno (FBN) mediante la actividad de la nitrogenasa (N^{asa}) mediante la reducción de acetileno (ARA), el número y peso seco de nódulos por planta.

En cada etapa de muestreo se tomaron 0.22 g de materia fresca de peciolo, 0.5 g para tallos y hojas y 1 g en raíces, cada muestra fue envuelta en papel de aluminio y conservadas en nitrógeno líquido (-70 °C) hasta su utilización en la determinación de N-soluble; las muestras utilizadas para la determinación de nitrógeno total se secaron en una estufa de aire forzado durante 72 h a 70 °C. Las muestras del material vegetal fresco se molieron con un mortero en 10 ml de la solución amortiguadora de fosfato de potasio 0.1 M, pH 7.4, filtrándose en una gasa para separar los residuos gruesos. A partir de este extracto vegetal fue determinado el N-aminoácido y el N-ureido (Tirado y Alcántar, 1989). En material vegetal seco se determinó el N total por el método de Microkjeldahl. Los datos obtenidos de las variables respuesta fueron analizados mediante análisis de varianza y prueba de separación de medias utilizando la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Resultados y discusión

Número y actividad de los nódulos

El número, peso seco de nódulos y los valores de ARA, en la planta de soya, desde la etapa de V7 hasta la etapa de R4, fueron afectados negativamente por el N mineral aportado en la solución nutritiva (Cuadro 2). El aporte de 3.5 y 7 meq L⁻¹ de N en la solución nutritiva originó una disminución de 9 y 25 nódulos en la raíz de la planta de soya, respectivamente. De igual manera el peso seco de nódulos por planta, fue mayormente afectado cuando la planta recibió 7 meq de N L⁻¹ (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valores medios de el número, peso seco y actividad de los nodulos en la fijación de N₂ (ARA) registrados en tres etapas de evaluación por efecto del N mineral aportado en la solución nutritiva.

Tratamiento	Nódulos planta ⁻¹		ARA (nmol de C ₂ H ₄ h ⁻¹ p ⁻¹)
	Número	Peso seco (mg)	
0 meq L ⁻¹ de N + Inoc	85 (100)*	117.5 (100)	1.02 (100)
3.5 meq L ⁻¹ de N + Inoc	76 (89)	80.5 (69)	0.89 (87)
7 meq L ⁻¹ de N + Inoc	60 (71)	42.1 (36)	0.46 (45)

*= valor entre paréntesis es % relativo al tratamiento sin nitrógeno.

La actividad de la N'asa mostró variación con el desarrollo de la planta y también fue afectada negativamente por la aplicación de N mineral. Por efecto del aporte de N en la solución nutritiva, el valor medio de la actividad de la N'asa estimado en tres etapas del desarrollo de la planta (V7, R2 y R4) se redujo 13 y 55% cuando recibieron 3.5 y 7 meq L⁻¹ de N en la solución nutritiva respectivamente.

Las causas que originan la disminución de la actividad de la N'asa podría deberse según Stal *et al.* (2017) al efecto de la regulación de compuestos como el oxígeno o temperaturas, mientras que Xia *et al.* (2017) menciono que la aplicación de NO₃⁻ redujo el envío de carbohidratos a los nódulos y lo atribuyen a la formación de NO₂⁻ que es tóxico para la nitrogenasa e interfiere en la regulación del oxígeno y por lo tanto en la fijación de N₂.

Nitrógeno soluble (N aminoácido y N ureido)

Al avanzar el ciclo, el crecimiento de órganos vegetativos y reproductivos originó en la planta de soya un incremento la demanda de N del follaje, registrándose incrementos significativos ($p \leq 0.05$) en la concentración de N soluble transportado desde la etapa de V7 hasta la etapa de R4. La excepción de esta tendencia se registró en plantas inoculadas que no recibieron N mineral y en las plantas no inoculadas desarrolladas con 7.5 meq L⁻¹ de N mineral, ambas plantas presentaron a R2 el valor máximo en la concentración de N soluble transportado y disminuyó a la etapa de R4 (Cuadro 3).

Particularmente a la etapa de R2, las plantas que recibieron N mineral en la solución nutritiva (3.5 y 7 meq L⁻¹ de N) presentaron la mayor concentración de N soluble transportado, cuyos valores disminuyeron 20 y 7% al recibir inoculación; disminución que pudo ser originada por la competencia entre el desarrollo de los nódulos en la raíz y el crecimiento de los órganos del follaje (Cuadro 3). A la etapa de R4, una vez establecidos y desarrollados los nódulos en estas mismas plantas, la actividad de los nodulos y el N mineral absorbido por la raíz de la solución nutritiva, originó un incrementó 7 y 43% en los valores en la concentración de N soluble transportado con relación a la concentración de N soluble transportado en plantas no inoculadas abastecidas con 3.5 y 7 meq L⁻¹ de N mineral en la solución nutritiva, respectivamente (Cuadro 3).

Cuadro 3. Concentración de N soluble ($\mu\text{g de N gm}^{-1}$) transportado en el tallo en diferentes etapas de desarrollo de la planta de soya.

Tratamiento	Vegetativa (V7)	Floración (R2)	Reproductiva (R4)
	($\mu\text{g de N gm}^{-1}$)		
0 meq of N	77.5 c	104.5 f	128.8 e
3.5 meq of N	168.1 a	295.6 d	318.4 c
7 meq of N	111.3 b	384.7 a	284.3 d
0 meq L ⁻¹ of N + Inoc	83.7 c	329.3 c	296.5 d
3.5 meq L ⁻¹ of N + Inoc	110.6 b	235.2 e	341.5 b
7 meq L ⁻¹ of N + Inoc	120.2 b	359 b	406.9 a
DSH	17.2	9.6	15.8

Valores con diferente letra en la misma columna son diferentes (Tukey $p \leq 0.05$).

El N soluble total transportado estuvo formado por N-aminoácido y N-ureido, su proporción en cada evaluación dependió de la etapa de desarrollo y de la fuente de N asimilada (N mineral o N₂). En las etapas inicial de desarrollo de la planta (V7), predominó el N-aminoácido como la forma de N soluble independientemente de la forma de N que recibió la planta, Figura 2A. Cuando las plantas recibieron exclusivamente con N mineral, en las etapas de R2 y R4 presentaron entre 86 y 95% del N soluble en forma de N-aminoácido, respectivamente (Figura 2B y 2C), valores similares a los reportados por Santachiara *et al.* (2017); Junior *et al.* (2020) quienes mencionaron que en soya abastecidas con N mineral entre 77% y 90% del N soluble es transportado como N aminoácido.

Las mismas Figuras 2B y 2C muestran que cuando la planta de soya además del N mineral recibió también inoculación, presentó una disminución en el valor de N aminoácido transportado con respecto a las plantas abastecidas solo con N mineral: A la etapa de R2 los valores de N aminoácido fluctuaron entre 66 y 82%, Figura 2 B; mientras a la etapa de R4, el valor medio del N aminoácido transportado disminuyó hasta 35%, el decremento del N aminoácido fue originado por la actividad de la fijación de N₂ de los nódulos que estimuló la producción del N ureido como lo mencionaron Lopes (2015); McCoy *et al.* (2018), resultados que concuerdan con los consignados por Tamagno *et al.* (2018), quienes mencionaron que en plantas desarrolladas en estas condiciones 60% a 81% del N soluble, se transporta para las vías de rizodeposición; es decir, descomposición y deterioro de nódulos y células de la raíz (Fustec *et al.*, 2010; Collier *et al.*, 2012).

En las plantas inoculadas el N-ureido transportado registró máximos valores en la etapa R4 situación inversa se registro en los valores de ARA durante esta etapa, lo anterior puede ser atribuido a que ambos métodos deben de ser calibrados como lo realizó Grageda *et al.* (2003), empleando técnicas no destructivas reportaron que después de R5 la planta de soya fijó 78% de N.

Importante es señalar que entre las etapas de R2 y R4, las plantas abastecidas con 3.5 meq de N presentaron 79% del N soluble transportado como N ureido, observándose que dicha forma de N se redujo a 50% cuando la planta recibió 7 meq de N en la solución nutritiva. Las disminuciones en la cantidad de N-ureido por efecto de la aplicación externa de N habían sido reportadas por Ono *et al.* (2021), dichos investigadores mencionaron que en plantas noduladas el N-ureido resulta relativamente bajo, debido a que se convierte a urea, ocurriendo activamente en las partes subterráneas, especialmente en las raíces, en su estudio, el nitrato represento alrededor de 50% de N aplicando 5 mM de NaNO₃.

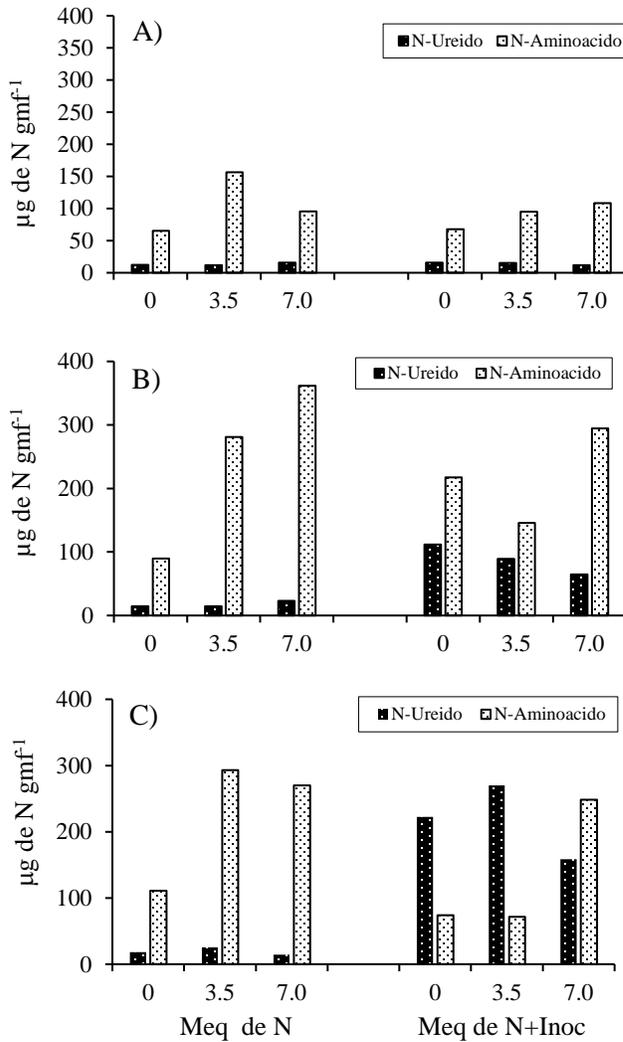


Figura 1. Concentración de N-aminoácido y N-ureido ($\mu\text{g de N gm}^{-1}$) transportado en tallos de plantas de soja en tres etapas de desarrollo. A) vegetativa; B) floración; y C) formación de vaina.

Acumulación y distribución del N

El N mineral absorbido por la raíz ó el N_2 fijado en los nódulos, una vez asimilado y transportado como N soluble se acumuló como N total en en la MS de los órganos de mayor demanda en cada etapa de desarrollo de la planta. A la etapa de R2, las plantas que recibieron 7 meq de N en la solución nutritiva presentaron en su MS la mayor acumulación de N total, esta forma de N favoreció el N total acumulado en la MS de los tallos y peciolo cuyas diferencias por la forma de N recibido en un mismo órgano fueron significativas ($p \leq 0.05$).

El menor valor de N total, se registró en la MS de plantas que no recibieron N mineral y tampoco inoculación, y representó 10% con respecto a las plantas que acumularon la mayor cantidad de N total. A esta etapa R2, independiente de la fuente de N que recibió la planta, el N total en promedio representó 72, 18 y 10% del N total de la MS de hojas, tallos y peciolo, respectivamente.

Entre la etapa de R2 y R6, se registró el mayor incremento de N total en la MS de todas las plantas. cuando estas fueron inoculadas y recibieron N mineral acumularon la mayor cantidad de N total y en promedio fue 2.3 veces mas que el valor de N total registrado en la MS de plantas que sólo recibieron el N mineral, dichas diferencias fueron significativas ($p \leq 0.05$). Particularmente en la planta de soya que recibió 3.5 meq de N L⁻¹ presentó una acumulación de 158 mg de N planta⁻¹ en la MS, cantidad de N total que considerando una densidad de 437 planta ha⁻¹ permite estimar una extracción total de 72.2 kg de N ha⁻¹; ésta extracción de N total por efecto del N mineral, representó 30% del N total determinado en la MS de plantas abastecidas con la misma dosis de N mineral y que también fueron también inoculadas (Cuadro 4). Es decir, en esta planta 160.5 kg de N ha⁻¹ determinado en la MS se obtuvo por efecto de la actividad de los nódulos, deduciéndose 70% del N acumulado en la MS a la etapa de R6 provino de la fijación de N₂; lo anterior muestra que ambas vías de asimilación de N actúan en la planta de manera complementaria como previamente lo mencionó Lu *et al.* (2021).

Cuadro 4. Cantidad de N acumulado (mg planta⁻¹) en la materia seca de los órganos de la planta de soya durante la etapa reproductiva (R6).

Tratamiento	Total	Hoja	Tallo	Pecíolo	Vaina
		(mg de N planta ⁻¹)			
0.0 meq de N	41.9 e	7.1 e	2.9 d	1 d	31 f
3.5 meq de N	158 c	36.7 c	4.6 c	2.2 d	114.5 d
7.0 meq de N	274.1 b	93.6 b	12.9 b	6.2 c	161.4 c
0.0 meq de N + Inoc	98.4 d	23.4 d	3.6 cd	2.2 d	69.2 e
3.5 meq de N + Inoc	509.2 a	94.6 b	21 a	13.9 a	379.7 a
7.0 meq de N + Inoc	487.1 a	128.9 a	22.2 a	10.3 b	325.7 b
DSH	26	4	1.7	0.9	7.1

Valores con diferente letra en la misma columna son diferentes (Tukey $p \leq 0.05$).

Durante esta etapa reproductiva, la alta demanda de N de las vainas originó que en las plantas abastecidas con N mineral exclusivamente y en las inoculadas que no recibieron N mineral, parte del N total determinado a floración en los órganos del follaje se movilizara hacia las vainas, en las plantas inoculadas que no recibieron N mineral 41.6% del N determinado en las vainas provenía del N almacenado en el follaje a R2, mientras que en las plantas abastecidas exclusivamente con la mayor dosis de N este porcentaje fue de 9.9% y 4.4% en las que recibieron la dosis intermedia.

Acumulación y distribución de la materia seca (MS) por planta

La menor cantidad de MS se registró en la planta que no recibió N mineral y tampoco inoculación, a la etapa de R2, en esta planta la MS acumulada representó 46% de la MS producida en la planta que recibió sólo inoculación. En esta etapa, la planta que recibió la mayor dosis de N e inoculación fue superada 0.5 g de MS planta⁻¹ por la MS registrada que recibió la mayor dosis de N (Cuadro 5), situación que puede ser asociada a la competencia que generó la formación de nódulos en la raíz.

Cuadro 5. Producción de materia seca en la planta de soya en dos etapas fenológicas.

Tratamiento	Floración (R2)	Máximo llenado de grano (R6)	Incremento (R2 a R6)
	(g planta ⁻¹)		
0 meq L ⁻¹ de N	0.6 d	1.4 f	0.8
3.5 meq L ⁻¹ de N	2 b	6.2 d	4.2
7 meq L ⁻¹ de N	2.8 a	8.1 c	5.3
0 meq L ⁻¹ de N + Inoc	1.5 c	3.3 e	1.8
3.5 meq L ⁻¹ de N + Inoc	2 b	11.8 b	9.8
7 meq L ⁻¹ de N + Inoc	2.3 b	13.3 a	11
DSH	0.4	0.8	

Valores con diferente letra en la misma columna son diferentes (Tukey $p \leq 0.05$).

La mayor producción de MS en la planta se produjo entre la etapa de R2 y R6, independiente de la dosis y forma de N que recibió la planta. Las plantas abastecidas con N-mineral e inoculadas consistentemente produjeron mayor cantidad de MS, el valor medio de la MS registrada a R6 en estas plantas, superó 1.7 veces a la MS de plantas que solo recibieron N-mineral (3 y 7 meq L⁻¹) y 9.3 veces la MS de plantas desarrolladas sin N mineral y sin inoculación (Cuadro 5).

Independientemente de la nutrición nitrogenada que recibió la planta durante su desarrollo, del valor total de la MS producida a la etapa de R6, en promedio el 59% se registró en vainas, 26% en hojas y 15% en tallos+peciolos (Figura 2). Las plantas inoculadas que recibieron N mineral produjeron en sus órganos mayor cantidad de MS, en vainas el valor fue 2.2 veces superior significativamente ($p \leq 0.05$) al valor de MS registrado en las vainas de plantas que solo recibieron N mineral; en tallos mas peciolos y hojas este valor fue de 1.4 y 1.3, respectivamente. Estos resultados concuerdan con los consignados por Tirado *et al.* (1990), demostrando que las dos vías de asimilación de N en la planta de soya son necesarias para obtener altos rendimientos de MS.

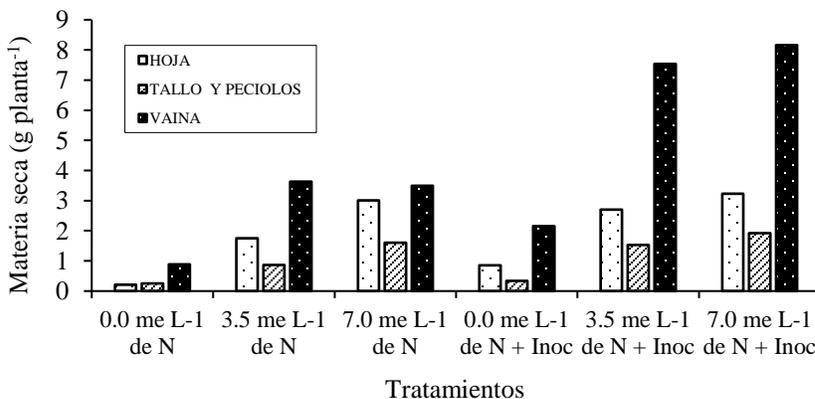


Figura 2. Materia seca (g planta⁻¹) acumulada en los órganos de la planta de soya variedad Santa Rosa, durante la etapa de llenado de grano (R6).

Estos resultados indican que en las plantas de soya noduladas la acumulación de MS en las vainas es favorecida por la actividad de los nódulos y que el follaje es una fuente importante de N, pudiendo concluir que el N fijado (N-ureido) es destinado prioritariamente al abastecimiento de granos como lo mencionaron (Anglade *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2016; Ono *et al.*, 2021).

Conclusiones

La aplicación de N mineral afectó el número de nódulos por planta, el peso seco de nódulos y la actividad de la nitrogenasa. La mayor acumulación de materia seca y nitrógeno total fue en las plantas inoculadas y abastecidas con N mineral. En las plantas noduladas entre 39 y 79% del N soluble transportado en el tallo después de floración se registró en forma de N-ureido. Del N total determinado en las vainas, entre 50 y 70% fue asimilado vía fijación de N₂.

Literatura citada

- Anglade, J.; Billen, G. and Garnier, J. 2015. Relationships for estimating N₂ fixation in legumes: Incidence for N balance of legume-based cropping systems in Europe. *Ecosphere*. 6(3):1-24. <https://doi.org/10.1890/ES14-00353.1>.
- Bala, A. and Giller, K. E.. 2006. Relationships between rhizobial diversity and host legume nodulation and nitrogen fixation in tropical ecosystems. *Nutr. Cycling Agroecosyst.* 76(2):319-330.
- Balta, C. R. A.; Rodríguez, D. Á. M.; Guerrero, A. R.; Cachique, D.; Edín, A. P.; Arévalo, L. L. y Oscar, L. O. L. I. 2015. Absorción y concentración de nitrógeno, fósforo y potasio en *sacha inchi* (*Plukenetia volubilis* L.) en suelos ácidos, San Martín, Perú. *Folia Amazónica*. 24(2):23-30
- Cerezini, P.; Kuwano, B. H.; Grunvald, A. K.; Hungria, M. and Nogueira, M. A. 2020. Soybean tolerance to drought depends on the associated Bradyrhizobium strain. *Brazilian Journal of Microbiology*. 51(4):1977-1986.
- Chen, C.; Wang, J.; Liu, D.; Yang, C.; Liu, Y.; Ruoff, R. S. and Lei, W. 2018. Functionalized boron nitride membranes with ultrafast solvent transport performance for molecular separation. *Nature communications*. 9(1):1-8.
- Collier, R. and Tegeder, M. 2012. Soybean ureide transporters play a critical role in nodule development, function and nitrogen export. *The Plant Journal*. 72(3):355-367.
- Ertani, A.; Pizzeghello, D.; Altissimo, A. and Nardi, S. 2013. Use of meat hydrolyzate derived from tanning residues as plant biostimulant for hydroponically grown maize. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 176(2):287-295.
- Fernández, L. L. y Espinosa, V. D. 2008. Bioquímica, Fisiología, Morfología y senescencia nodular; Una revisión crítica. *Terra Lationamericana*. 134(26):133-144
- Fontanetto, H.; Keller, O.; Sillón, M.; Albrecht, J.; Giailevra, D.; Negro, C. y Belotti, L. 2011. Manejo de la fertilización de la soja en regiones templadas. *Informacion Tecnica Cultivos De Verano. Campaña 2011*. INTA-Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Publicación Miscelánea núm. 121.
- Freixas, C. J. A.; Torres de la N. W.; Escobar, M. I. M. R. y Napoles, G. M. 2011. Niveles de Ureidos en plantas de soja con diferentes inoculantes y sometidas a Dedicit Hidrico. *Cultivos tropicales*. 3(2):35-43.
- Fustec, J.; Lesuffleur, F.; Mahieu, S. and Cliquet, J. B. 2010. Nitrogen rhizodeposition of legumes. A review. *Agronomy for sustainable development*. 30(1):57-66.
- Grageda, C. O. A.; Mora, M.; Castellanos, R. J. Z.; Follet, R. F. and Peña, C. J. J. 2003. Fertilizer nitrogen recovery under different tillage treatments and cropping sequences in a vertisol in central México. *IAEA-TECDOC. Viena*. 1354(1):39-55.
- Gregg, G. L.; Orlowski, J. M. and Lee, C. D. 2015. Input-based stress management fails to increase soybean yield in Kentucky. *Crop, Forage & Turfgrass Management*. 1(1):1-7.

- Hartmann, T. 2012. VI. Metabolism of Organic N-Compounds. Progress in Botany/Fortschritteder Botanik: Morphology physiology Genetics Taxonomy Geobotany /Morphologie Physiologie Genetik Systematik Geobotanik. 44:154-164.
- Junior, C. P.; Favarin, J. L.; Lago, B. C.; Almeida, R. E. M.; Oliveira, S. M.; Trivelin, P. C. O. and Gilabel, A. P. 2020. Nitrogen Fertilizer Recovery and Partitioning Related to Soybean Yield. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 20(4):2566-2578.
- Kipp, M. A.; Stüeken, E. E.; Gehringer, M. M.; Sterelny, K.; Scott, J. K.; Forster, P. I. and Buick, R. 2020. Exploring cycad foliage as an archive of the isotopic composition of atmospheric nitrogen. Geobiology. 18(2):152-166.
- Lopes, J. D. S. 2015. Crescimento e compostos nitrogenados de plantas jovens noduladas de *Inga macrophylla* benth. fertilizadas com diferentes formas de nitrogênio. In IV Congresso de Iniciação Científica do INPA-CONIC. Amazonia. Brasil. 410-415 pp.
- Lu, M. Z.; Carter, A. M. and Tegeder, M. 2021. Altering ureide transport in nodulated soybean results in whole-plant adjustments of metabolism, assimilate partitioning, and sink strength. Journal of Plant Physiology. 269(1):153613. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153613>.
- McCoy, J. M.; Kaur, G.; Golden, B. R.; Orłowski, J. M.; Cook, D. R.; Bond, J. A. and Cox, M. S. 2018. Nitrogen fertilization of soybean affects root growth and nodulation on two soil types in Mississippi. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 49(2):181-187.
- Meena, V. S.; Mishra, P. K.; Bisht, J. K. and Pattanayak, A. 2017. Agriculturally important microbes for sustainable agriculture. Applications in crop production and protection. Springer. 2:81-128. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5343-6Ohyama>.
- Ono, Y.; Fukasawa, M.; Sueyoshi, K.; Ohtake, N.; Sato, T.; Tanabata, S. and Ohyama, T. 2021. Application of Nitrate, Ammonium, or Urea Changes the Concentrations of Ureides, Urea, Amino Acids and Other Metabolites in Xylem Sap and in the Organs of Soybean Plants (*Glycine max* (L.) Merr.). International journal of molecular sciences. 22(9):4573.
- Ortez, O.; Salvagiotti, F.; Adee, E.; Enrico, J. and Ciampitti, I. A. 2017. "Soybean: Genetic Gain × Fertilizer Nitrogen Interaction", Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports. 3(6):6-21. <https://doi.org/10.4148/2378-5977.7438>.
- Saturno, D. F.; Cerezini, P.; Moreira, S. P.; Oliveira, A. B.; Oliveira, M. C. N.; Hungria, M. and Nogueira, M. A. 2017. Mineral nitrogen impairs the biological nitrogen fixation in soybean of determinate and indeterminate growth types. Journal of Plant Nutrition. 40(12):1690-1701. <https://doi.org/10.1080/01904167.2017.1310890>.
- Santachiara, G.; Borrás, L.; Salvagiotti, F.; Gerde, J. A. and Rotundo, J. L. 2017. Relative importance of biological nitrogen fixation and mineral uptake in high yielding soybean cultivars. Plant and Soil, 418(1):191-203.
- Senthilkumar, M.; Amaresan, N. and Sankaranarayanan, A. 2021. Colorimetric analysis of ureide-N, amino-N, and nitrate-nitrogen. Plant-Microbe Interactions. Humana, New York. 49-52 pp.
- Soumare, A.; Diedhiou, A. G.; Thuita, M. and Hafidi, M. 2020. Exploiting Biological Nitrogen Fixation. A Route Towards a Sustainable Agriculture. Plants. 9(8):1-22. doi: 10.3390/plants9081011.
- Stal, L. J. 2017. The effect of oxygen concentration and temperature on nitrogenase activity in the heterocystous cyanobacterium *Fischerella* sp. Scientific Reports. 7(1):1-10.
- Tamagno, S. X.; Sadras, V. O.; Haeghele, J. W.; Armstrong, P. R. and Ciampitti, I. A. 2018. Interplay between nitrogen fertilizer and biological nitrogen fixation in soybean: implications on seed yield and biomass allocation. Scientific Reports. 8(1):1-11.
- Tirado, T. J. L. y Alcántar, G. G. 1989. Dinámica del nitrógeno en plantas de soya. TERRA. 7(2):133-142.

- Tirado, T. J. L.; Conejero, G. G. y Alcántar, G. G. 1990. Efecto del nitrógeno mineral y el déficit hídrico sobre las dos vías de asimilación del nitrógeno en plantas de soya. *TERRA*. 8(2):182-191.
- Xia, X. Ma, C.; Dong, S.; Xu, Y. and Gong, Z. 2017. Effects of nitrogen concentrations on nodulation and nitrogenase activity in dual root systems of soybean plants. *Soil Science and Plant Nutrition*. 63(5):470-482.
- Yan, Z.; Li, P.; Chen, Y.; Han, W. and Fang, J. 2016. Nutrient allocation strategies of woody plants: an approach from the scaling of nitrogen and phosphorus between twig stems and leaves. *Scientific reports*. 6(1):1-9.
- Yoneyama, T.; Fujiwara, H. and Wilson, J. M. 2020. Variations in fractionation of carbon and nitrogen isotopes in higher plants: N metabolism and partitioning in phloem and xylem. *Stable isotopes. Environmental Plant Biology*. New York. 99-109 pp.
- Zhou, W. J.; Ji, H. L.; Zhu, J. X.; Zhang, Y. P.; Sha, L. Q.; Liu, Y. T.; Zhang, X.; Zhao, W.; Dong, Y. X.; Bai, X. L.; Lin, Y. X.; Zhang, J. H. and Zheng, X. H. 2016. The effects of nitrogen fertilization on N₂O emissions from a rubber plantation. *Scientific Reports*. 6(1):1-12. <https://doi.org/10.1038/srep28230>.