

El aporte de la fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de soja en Argentina

F. Salvagiotti^{1*}, D.J. Collino², A. Perticari³, C. Piccinetti³, G. Ovando⁴, S. Urquiaga⁵, y R.W. Racca¹

El nitrógeno (N) es central para la producción de los cultivos dado que está directamente implicado en el proceso de fotosíntesis (Kumar et al., 2004). El N atmosférico no-reactivo (N₂) es el pool más grande de N en la biósfera (ca. 79% del aire), sin embargo la producción de los cultivos se realiza con el N reactivo (NO₃, NH₄). Esta fracción presenta una gran variabilidad en cada sistema de producción dependiendo del balance entre las entradas de N al sistema (fertilizante, mineralización de la materia orgánica, la introducción de leguminosas en el sistema que realizan aporte a través de la fijación biológica de N (FBN), la fijación a través de microorganismos libres, la fijación por tormentas eléctricas) y las salidas (grano cosechado, erosión del suelo, perdidas gaseosas (denitrificación o volatilización de amonio) pérdidas por lavado) (Robertson y Vitousek, 2009). La evaluación de los balances de N es útil para estimar la magnitud de ganancias/perdidas cuando se utilizan leguminosas en un sistema de producción, analizar la eficiencia en el uso de los fertilizantes o evaluar la sustentabilidad en el manejo del N en distintos agro-ecosistemas. La elaboración de balances requiere una correcta estimación de los ingresos al mismo, especialmente de la FBN (Boyer et al., 2004). A nivel global, Smil (1999) estimó que la FBN representa ca. 17% del total de las entradas de N al sistema. En la misma escala de análisis, Galloway et al. (2004) estimaron que ca. 65% del N reactivo proviene de la FBN, y las plantas cultivadas representan ca. 20% del total de las entradas antrópicas de N. El aporte de N derivado de FBN dependerá de la presencia relativa de cultivos de grano, cultivos de cobertura y/o pasturas leguminosas en los distintos sistemas de producción.

El cultivo de soja requiere en promedio 80 kg en biomasa aérea para producir 1 tonelada de grano (Salvagiotti et al., 2008). Si se le suma la contribución de las raíces, los nódulos y las rizodeposiciones, este requerimiento podría alcanzar ca. 107 kg N (Rochester et al., 1998; Salvagiotti et al., 1998). Este requerimiento es satisfecho a través del N proveniente del suelo y la contribución del N de la FBN. En la campaña 2012-13, el cultivo de soja ocupó ca. 20 millones de has (SIIA-MAGyP, 2014), en un área comprendida entre 22-39° Lat. S y 56-66° Long O (**Figura 1**), con temperaturas anuales entre 23-14°C desde el norte al sur, y con una precipitación promedio entre 600 - 1100 mm desde O a E (Álvarez y Lavado, 1998; Hall et al., 1992). Estas variaciones climáticas determinaran distintos rendimientos, necesidades de N, y por lo tanto de FBN.

El cultivo de soja se cultiva principalmente sobre suelos molisoles con contenidos de materia orgánica entre 0.9 y 6.5% y valores de pH en el suelo entre 5.5 y 7.5 en los 20 cm superficiales (Sainz Rozas et al., 2011).

Dada la importancia de conocer el aporte de la FBN en los sistemas de producción de Argentina para poder elaborar balances y determinar la variabilidad de este aporte, entre las campañas 2004/2005 y 2010/2011 se realizó un relevamiento en 86 lotes de producción y/o parcelas experimentales ubicadas entre 22-39° Lat. S y 56-66° Long O (**Figura 1**) en lotes con larga historia de cultivo con soja, representando el rango de suelos y condiciones climáticas de la región sojera argentina. Este artículo es un resumen y adaptación del trabajo de Collino et al. (2015), en la cual se pueden consultar mayores detalles de metodología y resultados. Los objetivos de este

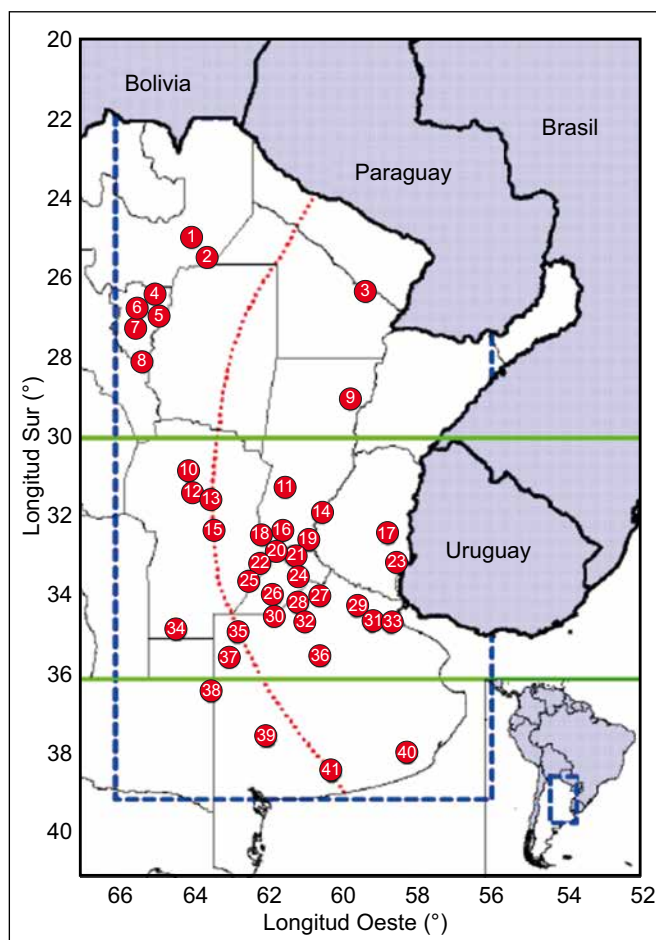


Figura 1. Distribución de los lotes en donde se determinó la FBN en soja en Argentina. Las líneas horizontales verdes corresponden a los paralelos 30° y 36° S. La línea punteada es la isoyeta de 800 mm.

¹ EEA Oliveros INTA

² Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales, INTA

³ Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, INTA Castelar

⁴ Climatología Agrícola, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba

⁵ Embrapa Agrobiologia, Brasil

* Autor de contacto. Correo electrónico: salvagiotti.fernando@inta.gov.ar

trabajo fueron: i) Evaluar la contribución de la FBN en el área de producción de soja en Argentina, ii) Construir un modelo para predecir la FBN a través de variables de cultivo, suelo y meteorológicas y iii) Estimar el aporte de la FBN de soja a nivel nacional usando los valores de este trabajo.

Sitios experimentales

Los suelos incluyeron Vertisoles, Entisoles y Mollisoles. La textura en los 20 cm superficiales variaron desde francos arenosos (hasta 85% de arena) en la zona más al Oeste hasta arcillosos (hasta 51% de arcilla) en las zonas más hacia el Este. En esta profundidad, el contenido de carbono osciló entre 0.64 y 4.54 %, el pH entre 4.7 y 7 y el contenido de P Bray entre 6 y 198 mg kg⁻¹. Cada lote fue manejado de acuerdo al manejo recomendado en términos de elección de cultivar, fecha de siembra y manejo de malezas, enfermedades e insectos.

Determinación de la FBN

La FBN fue determinada a través de la metodología de abundancia natural de ¹⁵N (Shearer y Kohl, 1986). Esta metodología se basa en la abundancia relativa de las dos formas isotópicas estables de N: ¹⁴N y ¹⁵N. Esta última fracción se encuentra a baja concentración en la atmósfera (0.3663%), mientras que en el suelo, está en una proporción superior a la de la atmósfera. En consecuencia, plantas que tomen N de la atmósfera, como es el caso de las legumbres que fijan N atmosférico, tendrán una concentración de ¹⁵N menor a la de una planta que no tome N del aire. Este principio se utiliza para determinar la proporción de N que deriva de la fijación biológica de N (**Figura 2**).

En cada lote en donde se evaluó la FBN, se utilizó sorgo o maíz resistente a glifosato como planta de referencia. Este cultivo de referencia se implantó en el lote en el área en donde posteriormente se realizaron los muestreos. Entre R6 y R7 del cultivo de soja, se cosechó 1 m² de la planta de referencia y del cultivo de soja, se secaron en estufa y molieron. Se determinó el contenido de N en

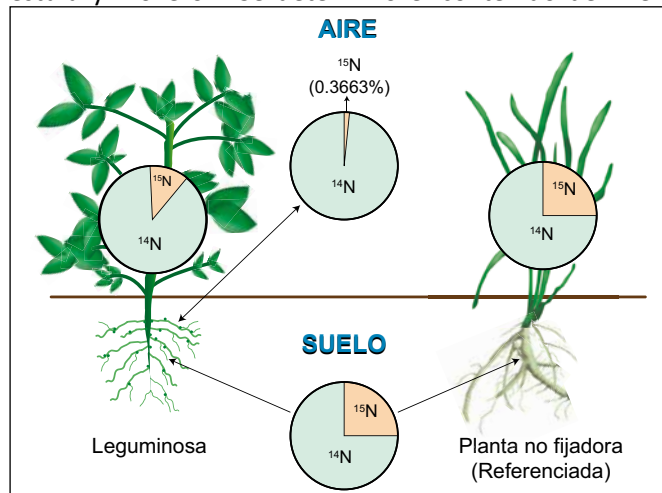


Figura 2. Esquema representativo de los principios de la metodología de abundancia de ¹⁵N (Adaptado de Peoples et al., 1989).

tejido a través de un análisis semi-micro Kjeldahl (Nelson y Sommers, 1973) y se determinó la abundancia de ¹⁵N a través de un espectrómetro de masa. La proporción de N derivado de la FBN (%Ndfa) se calculó según la Ec. 1:

$$\%Ndfa = 100 \frac{\delta^{15} N_{ref} - \delta^{15} N_{soja}}{\delta^{15} N_{ref} - B} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde $\delta^{15} N_{ref}$ y $\delta^{15} N_{soja}$ son la abundancia natural de ¹⁵N en el cultivo de referencia y la soja, respectivamente, y 'B' es la abundancia natural de ¹⁵N de una planta de soja que solamente utiliza el N del aire. Este valor B fue estimado en experimentos en condiciones controladas utilizando la cepa E-109 (utilizada en la mayor parte de los inoculantes de Argentina). A estas plantas se les analizó el $\delta^{15} N$. El valor B obtenido fue de -1.032 ‰.

La cantidad de N fijado en kg ha⁻¹ fue calculada utilizando la biomasa aérea del cultivo de soja, la concentración de N en los tejidos y el %Ndfa. Es importante destacar que los valores obtenidos no tienen en cuenta el aporte de raíces, nódulos y rizodeposiciones.

Fenología y variables meteorológicas estimadas

Se utilizó la información de radiación solar diaria y temperaturas de estaciones climáticas distantes a 50 km y las lluvias de cada lote. Utilizando los datos de localidad, cultivar y fecha de siembra, se simuló la ocurrencia de R2, R5 y R7 utilizando el programa SIFESJOJA V 2010 (Peltzer y Peltzer, 2010). Con esta información se calculó: i) La radiación acumulada (Rad), ii) Temperatura media (TM), iii) La evaporatranspiración de referencia acumulada a través del método de Priestley-Taylor modificado por Ritchie (1972) (ETP, mm), iv) La lluvia efectiva acumulada (mm) según Dardanelli et al (1992) (PE) y v) Las lluvias acumuladas en el periodo de barbecho (desde el 1 de Abril) (PEB), y para tres subperiodos dentro del ciclo del cultivo: a) Vegetativo: siembra-R2, b) Reproductivo: R2-R5 y c) Llenado de granos: R5-R7.

La precipitación efectiva acumulada durante el periodo de barbecho y durante el periodo de crecimiento promedió 347 y 440 mm, respectivamente. En promedio, el 39, 27 y 34% de la precipitación efectiva total ocurrió durante Siembra-R2, R2-R5 y R5-R7, respectivamente (**Tabla 1**). La radiación acumulada fue en promedio de 2495 MJ m⁻² durante el ciclo del cultivo, repartiéndose un 46, 24 y 30% en los subperiodos Siembra-R2, R2-R5 y R5-R7, respectivamente (**Tabla 1**). La temperatura media tuvo menor variación, mostrando valores de 23, 23.4 y 21.3 °C para los mismos tres periodos, respectivamente (**Tabla 1**).

Análisis de la información

Se realizó un análisis global de los datos y también teniendo en cuenta las regiones definidas por la Red de Evaluación de Cultivares de Soja (RECSO) (Baigorri, 1997): i) Norte: al norte del paralelo 30° Lat. S, ii) Central: entre los paralelos 30 y 36° Lat. S y iii) Sur: al sur del paralelo 36° Lat. S (**Figura 1**).

Tabla 1. Promedios y rangos de las variables meteorológicas en los distintos subperiodos durante el ciclo de crecimiento del cultivo de soja.

	----- Subperiodos -----			
	Barbecho	Siembra-R2	R2-R5	R2-R5
Radiación solar acumulada (MJ m ⁻²)	-	1161 (608-1647)	585 (339-938)	749 (486-1069)
Temperatura media del aire (°C)	-	23 (19.5-28)	23.4 (20.5-27.3)	21.3 (15.8-24.9)
Evapotranspiración de referencia acumulada (mm)*	-	281 (181-407)	143 (78-241)	174 (99-267)
Precipitaciones acumuladas (mm)	347 (166-643)	173 (35-426)	120 (21-324)	147 (42-330)

* Método de Priestley–Taylor modificado por Ritchie (1972)

Tabla 2. Estadísticos de resumen sobre rendimiento, absorción de N (en R6/R7) y N derivado de la FBN en biomasa aérea en cultivos de soja en el área sojera de Argentina.

	n	Máximo	Percentil 75	Mediana	Percentil 25	Mínimo	Promedio
Set de datos completo							
Rendimiento (kg ha ⁻¹)	81	5.9	4.3	3.6	2.9	1.5	3.6
N absorbido en R6/R7 (kg ha ⁻¹)	80	447	305	254	195	82	256
FBN, %	86	90	71	59	46	12	58
FBN, kg ha ⁻¹	80	337	197	148	98	15	153
Región Norte							
Rendimiento (kg ha ⁻¹)	13	5.1	3.7	2.8	2.2	1.6	2.9
N absorbido en R6/R7 (kg ha ⁻¹)	12	447	268	210	170	129	229
FBN, %	13	84	58	53	45	32	52
FBN, kg ha ⁻¹	12	255	159	95	85	48	122
Región Pampeana Central							
Rendimiento (kg ha ⁻¹)	64	5.9	4.4	3.7	3.3	1.5	3.8
N absorbido en R6/R7 (kg ha ⁻¹)	64	446	310	266	207	82	266
FBN, %	69	90	71	61	48	12	60
FBN, kg ha ⁻¹	64	337	208	154	127	15	165
Región Sur							
Rendimiento (kg ha ⁻¹)	4	2.9	2.7	2.3	1.8	1.5	2.2
N absorbido en R6/R7 (kg ha ⁻¹)	4	241	221	182	128	94	175
FBN, %	4	73	61	38	26	25	43
FBN, kg ha ⁻¹	4	79	74	67	58	50	65

Se utilizó estadística descriptiva para resumir la información de FBN, absorción de N y rendimiento: promedio, mediana y el intervalo inter-cuartil (percentiles 25-75% percentiles, IQR) que representa el 50% de las observaciones centrados alrededor de la media.

Para encontrar variables de respuesta asociadas a FBN se realizaron análisis de árboles de regresión y clasificación (CART) para separar grupos que presenten homogeneidad (De'ath y Fabricius, 2000). Se realizó, además, un análisis de regresión múltiple stepwise para modelar la FBN en función de las variables meteorológicas, de cultivo y suelo calculados dentro de cada grupo definido por los CART.

Rendimiento, absorción de N y FBN

Los rendimientos de los lotes oscilaron entre 1493 y 5888 kg ha⁻¹, con un rango de intercuartiles 25-75% (IQR) de 2913-4323 kg ha⁻¹ (**Tabla 2**). Los rendimientos más altos se observaron en la región pampeana central (3735 kg ha⁻¹; IQR=3255-4418 kg ha⁻¹). En la región norte, el rendimiento promedio fue de 2942 kg ha⁻¹ (IQR= 2215-3670 kg ha⁻¹), mientras que en la región pampeana Sur, el rendimiento promedió 2215 kg ha⁻¹, con un IQR entre 1778 y 2653 kg ha⁻¹. La absorción de N en R6/R7 promedió 256 kg N ha⁻¹, con un IQR de 195-305 kg N ha⁻¹ (**Tabla 2**). La relación entre rendimiento y absorción de N

en estructuras aéreas tuvo una pendiente de 13.6 kg de grano por kg de N absorbido.

En promedio, la proporción de N derivado de la FBN en biomasa aérea fue del 58% del N absorbido (IQR entre 46 y 71%) dentro de un rango entre 12 y 90% (Tabla 2). La región pampeana Central mostró los valores más altos (ca. 60%) mientras que la región pampeana Sur mostro los valores más bajos (43%) y el Norte valores intermedios (52%). El análisis conjunto mostro que en términos absolutos, en biomasa aérea, la FBN estuvo entre 15 y 337 kg N ha⁻¹, con un promedio de 153 kg N ha⁻¹ (un IQR 98-197 kg N ha⁻¹) (Tabla 2). En este sentido, la FBN se relacionó positivamente con el rendimiento ($r^2 = 0.55$), con una pendiente de 52 kg de N fijado por tonelada de rendimiento.

A nivel global, el aporte de la FBN en biomasa aérea, había sido estimado en ca. 52-58% (Salvagiotti et al., 2008; 2009) con una gran variación de acuerdo a las

condiciones ambientales y la disponibilidad de N en el suelo. En este trabajo se ha determinado un aporte promedio en Argentina de ca. 60%. En Brasil, Hungría et al. (2006) mostró valores de %Ndfa superiores al 75%, pero en suelos menos fértiles. En América del Norte, algunas estimaciones daban cuenta de una contribución del orden del 50-60% de la FBN (Pueppke, 2005).

Relaciones entre la FBN y las variables meteorológicas, de suelo y de cultivo

El análisis a través de CART mostró que el rendimiento del cultivo fue la variable que mejor separó la población de datos en dos grupos, con un umbral de 3700 kg ha⁻¹. Por encima de 3700 kg ha⁻¹, se observó una contribución significativa del P-Bray y $R_{(P-R2)}$ y una asociación negativa con el pH, explicando el 70% de la variación en la proporción de N derivado de FBN (Tabla 3). Por debajo de 3700 kg ha⁻¹, la $TM_{(R5-R7)}$ y la precipitación efectiva durante el periodo de barbecho explicaron el 44% de la variación en el aporte de FBN.

La FBN en soja en Argentina a nivel país y los balances parciales de N

Se realizó un balance parcial de N en Argentina (N ingresado a través de la FBN menos el N exportado con los granos), utilizando los valores de %Ndfa obtenidos en este estudio, los datos estadísticos de producción de la campaña 2012-13, y asumiendo que 40% del N esta en estructuras sub superficiales (i.e. raíces, nódulos, rizodeposiciones).

Utilizando el valor de la mediana de %Ndfa observada en nuestro set de datos (i.e. 59%), a nivel país, la cantidad de N fijado asciende a 3.27 Tg. Tomando en cuenta los valores de los percentiles 25 y 75 de la distribución, el aporte de la FBN a nivel país estaría entre 2.55 y 3.94 Tg (Tabla 4).

Estos cambios modificarían los balances parciales de N que indican cuanto N es exportado del sistema a través del grano en relación al aporte de la FBN.

Tabla 3. Variables explicativas del aporte de la FBN (% del total absorbido en biomasa aérea) determinadas por el modelo de regresión lineal múltiple.

Variable explicativa	Coficiente de regresión	Error estándar	Valor P	Cp Mallows
Rendimiento < 3700 kg ha ⁻¹				
Intercepto	88.3	28.0	< 0.01	
R (P-R2)	0.24	0.04	< 0.01	31.4
PBray I	0.64	0.14	< 0.01	22.7
pH	-16	5.08	< 0.01	12.5
Rendimiento > 3700 kg ha ⁻¹				
Intercepto	-166.3	64.9	0.02	
TM (R5-R7)	9.96	2.9	< 0.01	13.4
PEB	0.05	0.02	0.02	8.4

R (P-R2): Precipitación acumulada entre siembra y R2
TM (R5-R7): Temperatura media entre R5 y R7
PEB: Precipitación efectiva durante el barbecho

Tabla 4. Estimación del aporte de N fijado por la soja usando datos estadísticos de la campaña 2012-13 y los datos de FBN del presente trabajo.

Valor de % FBN	Área (Mha)	Producción (Tg)	Biomasa aérea (Tg) ^a	N en biomasa aérea (Tg) ^b	N absorbido por el cultivo total (Tg) ^c	FBN (%)	N fijado por el cultivo total (Tg) ^d	N en semilla (Tg) ^e	Balance parcial de N (Tg) ^f
Percentil 75						71	3.94		0.81
Mediana	19.4	49.3	123.3	3.7	5.55	59	3.27	3.13	0.15
Percentil 25						46	2.55		-0.57

a Usando un índice de cosecha del 40% (Herridge et al., 2008)

b Usando 3% N in biomasa aérea

c Multiplicando N en biomasa aérea por 1.5. Se asume que en madurez fisiológica el 40% del total del N absorbido está localizado en raíces y rizodeposiciones (Herridge et al., 2008; Rochester et al., 1998)

d (%FBN/100) N absorbido por cultivo total*

e Usando un contenido de N en semilla de 6.34% (Salvagiotti et al., 2008)

f Balance parcial de N = N fijado - N removido exportado con los granos

Usando el valor de la mediana, este balance es de 0.15 Tg, sin embargo si los valores de %Ndfa son similares a los valores del percentil 25 de la distribución, el balance parcial de N sería negativo, aun incluyendo el aporte de las estructuras subterráneas (**Tabla 4**). Asimismo, debe tenerse en cuenta que la concentración y cantidad total de N, así como el %Ndfa, en las estructuras subterráneas puede ser muy variable según distintos autores (Rochester et al., 1998; Schweiger et al., 2014), constituyendo una fuente de variación significativa para la estimación de balances.

La información generada en la presente investigación es relevante para poder contar con información nacional que es de importancia para entender la dinámica del N a nivel local y su impacto a escala global. La ausencia de esta información provoca que muchas veces las inferencias que se hagan sean inexactas o tengan mayor incertidumbre.

Colaboraron en la generación de esta información, seleccionando los sitios e instalando las parcelas de evaluación: Norma Arias (INTA Concepción del Uruguay); Gustavo Artaux (INTA Junín) Mirian Barraco (INTA Gral. Villegas); Cristian Brambilla (CREA); Juan José Calvo (INTA Junín) Julia Capurro (INTA Cañada de Gomez); Natalia Carrasco (INTA Barrow); Adolfo Carrizo (INTA Salta); César Di Ciocco (Univ. Lujan); Juan Martín Enrico (INTA Oliveros); Hugo Fontanetto (INTA Rafaela); Francisco Fuentes (INTA Marcos Juárez); Pablo Glagovsky (INTA Gualaguaychú); Norma González (INTA Balcarce); Carlos López (INTA Río I); Hernán Giacomelli (Estancia Runciman); Fernando Martínez (INTA Casilda); Fernando Mousegne (INTA San Antonio de Areco); León Murúa (INTA Jesús María); Eduardo Ocampo (INTA EL Colorado); Damian Pafundi (Rizobacter SA); Ricardo Pozzi (CREA); Guillermo Resch (INTA Huinca Renancó); Hector Sánchez (INTA Famailla); Eduardo Sa Pereira (INTA Cnel. Suárez); Diego Santos (INTA Paraná); Luis Ventimiglia (INTA 9 de Julio); José Luis Zorzín (AAPRESID) y Sebastián Zuil (INTA Reconquista).

Este estudio fue subsidiado por INTA (Proyectos AEEV 1512 y PNCER 22472).

Bibliografía

- Álvarez, R., y R.S. Lavado. 1998. Climate, organic matter and clay content relationships in the Pampa and Chaco soils, Argentina. *Geoderma* 83:127-141.
- Baigorri, H.E. 1997. Elección de cultivares. In: H.E. Baigorri, and L. Giorda (eds.), *El cultivo de soja en la Argentina*. INTA - Centro Regional Córdoba, Córdoba, Argentina, pp. 106-122.
- Boyer, E.W., R.W. Howarth, J.N. Galloway, F.J. Dentener, C. Cleveland, G.P. Asner, P. Green, y C. Voorsmart. 2004. Current nitrogen inputs to world regions. In: AR Mosier, KJ Syers and JR Freney (Eds), *Agriculture and the nitrogen cycle: assessing the impacts of fertilizer use on food production and the environment*. Island Press, Washington – USA, pp. 221-230.
- Collino, D., F. Salvaggiotti, A. Peticari, C. Piccinetti, G. Ovando, S. Urquiaga, y R.W. Racca. 2015. Biological nitrogen fixation in soybean in Argentina: relationship with crop, soil, and meteorological factors. *Plant Soil*, April 2015. DOI: 10.1007/s11104-015-2459-8
- Dardanelli, J.L., A. de la Casa, M.R. Ateca, R. Zanvetto, F. Nuñez Vazquez, e Y.H.P Salas. 1992. Validación del balance hidrológico versátil para la rotación sorgo soja bajo dos sistemas de labranza. *Revista Agropecuaria de INTA Manfredi e INTA Marcos Juárez*: 20-29.
- De'ath, G., y K.E. Fabricius. 2000. Classification and regression trees: a powerful yet simple technique for ecological data analysis. *Ecology* 81:3178-3192.
- Galloway, J.N., F.J. Dentener, D.G. Capone, E.W. Boyer, R.W. Howarth, S.P. Seitzinger, G.P. Asner, C.C. Cleveland, P.A. Green, E.A. Holland, D.M. Karl, A.F. Michaels, J.H. Porter, A.R. Townsend, y C.J. Voorsmart. 2004. Nitrogen Cycles: Past, Present, and Future. *Biogeochemistry* 70:153-226.
- Hall, A.J., C.M. Rebella, C.M. Ghersa, y J.P. Culot. 1992. Field-crop systems of the Pampas. In: Pearson CJ (Ed), *Ecosystems of the world*. Elsevier, Amsterdam.
- Herridge, D.F., M.B. Peoples, y R.M. Boddey. 2008. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. *Plant and Soil*, 311(1-2), 1–18. <http://doi.org/10.1007/s11104-008-9668-3>
- Hungría, M., J.C. Franchini, R.J. Campo, C.C. Crispino, J.Z. Moraes, R.N.R. Sibalidelli, I.C. Mendes, y J. Arihara. 2006. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. *Canadian Journal of Plant Science* 86:927-939.
- Kumar, P., M. Parry, R. Mitchell, A. Ahmad, e Y. Abrol. 2004. Photosynthesis and Nitrogen-Use Efficiency. In: Foyer CH and Noctor G (eds). *Photosynthetic Nitrogen Assimilation and Associated Carbon and Respiratory Metabolism*, pp. 23-34.
- Nelson, D.W., y L.E. Sommers. 1973. Determination of total nitrogen in plant material. *Agron J* 65:109-112.
- Peltzer, H., y N. Peltzer. 2010. Modelo de simulación de fenología en soja. *SI.FE.SOJA 2010*. Ediciones INTA.
- Peoples, M.B., A.W. Faizah, B. Rerkasem, y D.F. Herridge. 1989. Methods for Evaluating Nitrogen Fixation by Nodulated Legumes in the Field. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra. 76 p.
- Pueppke, S. 2005. Nitrogen Fixation by Soybean in North América. In: Werner D and Newton W (Eds) *Nitrogen Fixation in Agriculture, Forestry, Ecology, and the Environment*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 15-23.
- Ritchie, J.T. 1972. Model for predicting evaporation from a row crop with incomplete cover. *Water Resour. Res.* 8:1204-1213.
- Robertson, G.P., y P.M. Vitousek. 2009. Nitrogen in Agriculture: Balancing the cost of an essential resource. *Annu. Rev. Environ. Resourc.* 34:97-125.
- Rochester, I.J., M.B. Peoples, G.A. Constable, y R. Gault. 1998. Faba beans and other legumes add nitrogen to irrigated cotton cropping systems. *Aust. J. Exp. Agric.* 38:253-260.
- Sainz Rozas, H., H.E. Echeverría, y H.P. Angelini. 2011. Niveles de carbono orgánico y pH en suelos agrícolas de las regiones pampeana y extrapampeana argentina. *Ciencia del Suelo* 29:29-37.
- Salvaggiotti, F., K.G. Cassman, J.E. Specht, D.T. Walters, A. Weiss, y A. Dobermann. 2008. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. *Field Crops Research* 108:1-13.
- Salvaggiotti, F., J.E. Specht, K.G. Cassman, D.T. Walters, A. Weiss, y A. Dobermann. 2009. Growth and Nitrogen Fixation in High-Yielding Soybean: Impact of Nitrogen Fertilization. *Agron J* 101:958-970.
- Schweiger, P., M. Hofer, J. Vollmann, y W. Wanek. 2014. The relationship between N isotopic fractionation within soybean and N₂ fixation during soybean development. *Physiol. Plant.* 152:546-557.
- Shearer, G. y D.H. Kohl. 1986. N₂ fixation in field settings: estimations based on natural ¹⁵N abundance. *Australian Journal of Plant Physiology* 13: 699-756.
- SIIA-MAGyP. 2014. Sistema Integrado de Información Agropecuaria. Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca de la Nación www.minagri.gob.ar
- Smil V. 1999. Nitrogen in crop production: An account of global flows. *Global Biogeochem. Cycles* 13:647-662.