

Diagnóstico del estatus azufrado del cultivo de soja: Utilidad de la determinación de S y N:S en hoja, planta y grano

G.A. Divito^{1*}, H.E. Echeverría², F.H. Andrade^{1,2}, y V.O. Sadras³

Introducción

Hasta mediados de la década de los '90, la deficiencia de azufre (S) en los cultivos extensivos no constituía un problema en la región pampeana argentina y eran pocos los reportes de respuestas en rendimiento al agregado del nutriente. Desde entonces, la problemática ha cobrado mayor importancia, como consecuencia de la disminución en el contenido de materia orgánica (MO) de los suelos, la implementación de rotaciones de cultivos más intensivas y el incremento en la demanda del nutriente por mayor potencial de rendimiento de los mismos.

La determinación del contenido de azufre como sulfato ($S-SO_4^{-2}$) en el suelo es la metodología más empleada para evaluar la disponibilidad del nutriente para los cultivos, aunque no ha demostrado resultados satisfactorios. Esto obedece a la dinámica de dicho anión en el suelo, como su presencia en horizontes y en aguas sub-superficiales, y a características propias de la determinación en el laboratorio. Surge así la necesidad de evaluar metodologías alternativas, que permitan mejorar el diagnóstico del estatus azufrado de los cultivos en general y de la soja en particular.

Los indicadores basados en el análisis de material vegetal constituyen una alternativa de interés (Black Kalff et al., 2002). En este sentido, la determinación de la concentración de S (S_{conc}) en la biomasa aérea o en partes específicas de la planta ha demostrado un buen comportamiento para caracterizar el estatus azufrado (Black Kalff et al., 2002). Sin embargo, dicho índice presenta el inconveniente de variar con el estadio fenológico y con la parte de la planta analizada, lo que acota la validez de los umbrales. Contrariamente, cuando el aporte de nitrógeno (N) a los cultivos es adecuado, la relación N:S es preferible porque presenta menos variabilidad.

La parte de la planta analizada condiciona la precisión de la metodología, la practicidad del muestreo y la posibilidad de intervenir para corregir una eventual deficiencia. Trabajos recientes realizados en soja han reportado resultados auspiciosos para determinaciones de S_{conc} en la biomasa aérea total y en hojas del estrato superior del cultivo. Sin embargo, los mismos se realizaron en macetas (Hitsuda et al., 2004) o con un set de datos reducidos (Kaiser y Kim, 2013), lo que indica la necesidad de continuar con el estudio de la temática. Además, no existe información respecto del uso de la relación N:S como herramienta de diagnóstico.

La determinación de la S_{conc} y la relación N:S en granos es un indicador robusto del estatus azufrado en varios cultivos, entre ellos trigo (Randall et al., 1981; Reussi Calvo et al., 2011) y arroz (Randall et al., 2003). En soja, Hitsuda et al. (2004) determinaron una estrecha asociación entre la S_{conc} y el rendimiento de plantas que crecieron en macetas, aunque la misma no pudo ser verificada en trabajos posteriores realizados a campo (Salvagiotti et al., 2012). Esta discrepancia en los resultados indica la necesidad de continuar evaluando la performance de la metodología.

Por otra parte, los medidores de la transmitancia foliar permiten un diagnóstico instantáneo, no destructivo y cuantitativo del estatus azufrado, a partir de su relación con el contenido de clorofila de las hojas (Hoefgen y Nikiforova, 2008). Su performance ha sido evaluada con resultados auspiciosos en condiciones intensivas (Hitsuda et al., 2004) aunque no a campo.

Así, se han reportado resultados promisorios para algunas herramientas de diagnóstico a partir de determinaciones en material vegetal, mientras que otros deben aún ser evaluados con mayor detalle. Este artículo presenta un resumen adaptado del trabajo de Divito et al. (2015) cuyos objetivos fueron: i) analizar la dinámica de las concentraciones de S y de N (N_{conc}) y de la relación N:S en hoja, planta y grano de soja en respuesta a la disponibilidad de S en el suelo, ii) determinar umbrales críticos para la deficiencia del nutriente, y iii) evaluar la performance del índice de verdor (IV) como estimador de la S_{conc} y la relación N:S en hoja.

Materiales y métodos

Experimentos

Se realizaron 15 experimentos durante las campañas 2012/13 y 2013/14 localizados en el norte, centro y sur de la región pampeana argentina (**Tabla 1**). El experimento del norte se ubicó en Rafaela (31.3 °S, 61.5 °O), los experimentos de la región central se ubicaron a 40 km alrededor de Teodelina (34.2 °S, 61.5 °O) y los ensayos del sur se dispusieron a 30 km alrededor de Balcarce (37.5 °S, 58.2 °O). Los mismos contemplaron ensayos de soja de primera y de segunda. El diseño experimental fue en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones. La dimensión de cada unidad experimental fue 12 m x 5 m.

En 12 experimentos se evaluaron 5 dosis de S (0, 10, 20, 30 y 40 kg S ha⁻¹) y en los 3 restantes se evaluaron tres dosis (0, 10 y 40 kg S ha⁻¹). El S se aplicó como yeso agrícola (CaSO₄•2H₂O, 16% S, 20% Ca), al voleo, en cobertura

¹ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

² Unidad Integrada Balcarce, Ruta 226 km 73.5, CC 276, CP7620, Balcarce, Argentina

³ South Australian Research & Development Institute, Waite Research Precinct, Australia

* Autor de contacto. Correo electrónico: guillermodivito@yahoo.com.ar

total, entre los estadios Vc y V1 (Fehr y Caviness, 1977). Se aplicó fósforo (P), a razón de 30 kg P ha⁻¹, en forma de superfosfato triple de calcio (0-46 P₂O₅-0) a todos los tratamientos. La semilla de soja se inoculó con bacterias de la especie *Bradyrhizobium japonicum*.

Muestreo de suelos y análisis

Al inicio de los ensayos se tomaron muestras de suelo (10 sub-muestras por bloque en cada ensayo) en los estratos 0-20, 20-40, y 40-60 cm. Posteriormente se secaron a 30 °C, se molieron y se tamizaron por una malla de 2 mm. El contenido de S-SO₄⁻² en las muestras se determinó mediante extracción con Ca(H₂PO₄)₂ (Islam y Bhuiyan, 1998) y posterior determinación por turbidimetría con cloruro de bario (BaCl₂) y Tween 80 como estabilizador (Johnson, 1987). El contenido de MO se cuantificó según la metodología propuesta por Walkley y Black (1934). El P extractable se determinó según la metodología de Bray y Kurtz, (1945) y el NO₃⁻ según el método propuesto por Bremner y Keeney (1966).

Muestreo de plantas y análisis

El muestreo de biomasa aérea total y de hojas se realizó entre los estadios R1 y R3 (Fehr y Caviness, 1977) (**Tabla 1**). Las muestras de biomasa aérea se colectaron cortando las plantas al nivel del suelo sobre una superficie de 0.8 m² (2 sub-muestras de 0.4 m²) en cada unidad experimental. Al mismo tiempo, se tomaron 20 hojas de los surcos centrales de cada parcela, seleccionando

la correspondiente al anteúltimo nudo completamente desarrollado según la escala de Fehr y Caviness (1977). En adelante, se denominará “planta” y “hoja” a la biomasa aérea total y a las hojas del estrato superior del canopeo, respectivamente.

Luego de madurez fisiológica, definida en R8, se colectó la biomasa aérea de una superficie de 3.4 m² por unidad experimental y luego se trilló con trilladora estacionaria. El rendimiento en grano se ajustó a un contenido de humedad de 0.13 kg H₂O kg grano⁻¹. Hojas, plantas y granos se secaron en estufa (65 °C) y luego se molieron y tamizaron por un tamiz de 1 mm de apertura de malla. El contenido de N y S en dicho material se determinó con el analizador TruSpec CNS (LECO, St. Joseph, MI, EE.UU.).

La determinación del IV se realizó en el mismo momento que el muestreo de material vegetal (entre R1 y R3) mediante el empleo del clorofilómetro Minolta SPAD-502 (Spectrum Technologies Inc., Plainfield, IL, EE.UU.). Las mediciones se realizaron en la porción media del foliolo central de las hojas correspondientes al anteúltimo nudo completamente desarrollado (Fehr y Caviness, 1977). El IV de cada unidad experimental se calculó como el promedio de 20 mediciones. El índice de suficiencia de S se calculó, para cada ensayo, mediante la **Ec. 1**:

$$ISS = IVS / IVc \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde, IVS es el índice de verdor cada tratamiento y IVc

Tabla 1. Descripción del sitio experimental. Análisis de suelo al inicio del ensayo (0-20 cm para MO y P-Bray y 0-60 cm para S-SO₄⁻²) y manejo del cultivo.

Experimento ^a	Sitio	Año	Suelo ^b	MO %	P-Bray mg kg ⁻¹	S-SO ₄ ⁻² kg ha ⁻¹	Variedad	Fecha de siembra	Estadio de muestreo ^c
E1	Sur	2012/13	AT	4.4	26.8	32.9	DM 4970	08/11	R2
E2	Sur	2012/13	AT	4.4	25.6	30.8	DM 2200	08/11	R1
E3	Sur	2012/13	AT	4.5	15.2	25.2	DM 3810	15/11	R1
E4	Sur	2013/14	AT	4.8	14.0	16.2	DM 3810	10/11	R2
E5	Sur	2013/14	AT	4.6	20.5	27.3	DM 3810	02/11	R2
E6	Centro	2013/14	AT	1.8	12.0	22.6	DM 4612	10/11	R3
E7	Centro	2013/14	AT	2.1	14.9	19.4	DM 3810	22/10	R3
E8	Centro	2013/14	AT	2.3	9.4	16.5	DM 4612	12/10	R3
E9	Centro	2013/14	AT	1.9	25.5	14.2	DM 4612	12/11	R3
E10	Norte	2013/14	AT	2.4	46.9	22.9	DM 5900	05/11	R3
E11	Sur	2012/13	AT	4.3	13.1	24.7	DM 3810	12/11	R1
E12	Sur	2012/13	AT	4.5	23.2	33.2	DM 2200	10/01	R3
E13	Sur	2013/14	PP	3.6	17.1	13.1	DM 3500	12/12	R3
E14	Sur	2013/14	AT	3.8	7.6	17.2	DM 3500	14/12	R3
E15	Sur	2012/13	AT	4.5	15.8	25.1	DM 3500	08/12	R1

^a Ver más información sobre características de los ensayos en el artículo original (Divito et al., 2015)

^b AT y PP indican Argiudol Típico y Paleudol Petrocálcico, respectivamente

^c Estadio del cultivo (Fehr y Caviness, 1977) al momento del muestreo de planta, hoja e índice de verdor

Tabla 2. Rendimiento del cultivo según la dosis de S aplicada. Para cada ensayo, letras diferentes indican diferencias significativas entre dosis de S ($p < 0.05$) según DMS.

Ensayo	Dosis de S, kg ha ⁻¹				
	0	10	20	30	40
E1	3602 a	3947 a	-	-	3647 a
E2	2705 b	3375 a	-	-	3408 a
E3	3175 c	3374 b	3451 ab	3496 ab	3548 a
E4	2867 b	3219 a	2981 ab	3068 ab	2993 ab
E5	3294 a	3158 a	3216 a	3160 a	3159 a
E6	3271 a	3264 a	3415 a	3233 a	3395 a
E7	5106 cd	5083 d	5637 a	5359 ab	5222 bc
E8	4068 a	4235 a	4084 a	4201 a	4006 a
E9	4268 b	4382 b	4419 b	4515 ab	4779 a
E10	3341 a	3352 a	3628 a	3522 a	3549 a
E11	2715 b	3167 ab	2993 ab	3359 a	3148 ab
E12	1601 a	1449 a	-	-	1677 a
E13	1853 c	2234 b	2289 ab	2309 ab	2595 a
E14	2104 c	2195 bc	2324 ab	2207 a	2417 a
E15	2091 b	2208 a	2207 a	2250 a	2367 a

Valor P: Dosis S < 0.01; Experimento < 0.01; Dosis S x Experimento 0.02

es el índice de verdor del tratamiento que maximizó el rendimiento con el aporte de la menor dosis de S.

El rendimiento relativo se calculó para cada sitio como el cociente entre el rendimiento de cada tratamiento y el rendimiento del tratamiento que recibió 40 kg S ha⁻¹.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de la varianza, usando el procedimiento PROC MIXED del programa SAS, a fin de evaluar los efectos del sitio y dosis de S. Las diferencias entre tratamientos se determinaron según el test DMS ($p < 0.05$).

Para describir la relación entre algunas de las variables se utilizaron técnicas de regresión, específicamente modelos lineal-plateau, según las **Ec. 2 a 5**:

$$Y = a + bX \text{ si } X \leq c \quad (\text{Ec. 2})$$

$$Y = a + bC \text{ si } X > c \quad (\text{Ec. 3})$$

$$Y = a + bX \text{ si } X \geq c \quad (\text{Ec. 4})$$

$$Y = a + bC \text{ si } X < c \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde a es la ordenada al origen, b la tasa de cambio en Y en la fase lineal del modelo, y c es el valor límite de X . Las **Ec. 2 y 3** se emplearon para la relación entre el rendimiento relativo y S_{conc} en hoja, planta y grano y para la relación entre el ISS y S_{conc} en hoja. Las **Ec. 4 y 5** se

usaron para la relación entre el rendimiento relativo y N:S en hoja, planta y grano y para la relación entre el ISS y N:S en hoja. Los modelos lineal plateau se calcularon usando el procedimiento NLIN del programa SAS.

Resultados y discusión

Rendimiento

En promedio para cada sitio, el rendimiento en grano varió de 5338 a 1575 kg ha⁻¹ (**Tabla 2**). Los rendimientos máximos se obtuvieron en la región pampeana central y los mínimos en cultivos de segunda de la zona sur. Esto coincide con información previa, que indica que el rendimiento a campo de la soja de primera es mayor en la región central debido a menores deficiencias hídricas y mayor temperatura ambiental (Calviño y Sadras, 1999; Calviño y Monzón, 2009). Por su parte, el rendimiento de los ensayos de soja de segunda en el sur se asemeja a la media regional, y es consecuencia de una corta estación de crecimiento, déficit hídrico durante la mayor parte del ciclo del cultivo y bajas temperaturas, fundamentalmente durante el periodo de llenado de granos (Calviño et al., 2003).

La aplicación de S produjo aumentos en el rendimiento en grano en 9 de los 15 ensayos ($p < 0.05$) (**Tabla 2**). La respuesta se determinó en ensayos del centro y sur de la región pampeana, en coincidencia con trabajos previos que demuestran que la deficiencia de S es una problemática instalada en la zona de estudio (Gutiérrez Boem et al., 2007; Reussi Calvo et al., 2011; Pagani y Echeverría, 2012). Se destaca que todos los cultivos de soja de segunda respondieron a la fertilización azufrada, lo cual también concuerda con experiencias previas y se atribuye a la remoción del nutriente por el cultivo anterior. En los experimentos donde se registraron respuestas a la fertilización, el rendimiento se maximizó con la aplicación de 10 (4 experimentos), 20 (4 experimentos) y 30 (1 experimento) kg S ha⁻¹.

Dinámica del S y N en hoja, planta y grano

La S_{conc} aumentó con la dosis de S en 11, 14 y 11 experimentos en hoja, planta y grano, respectivamente ($p < 0.05$) (datos no mostrados). En algunos ensayos dicho incremento se relacionó con un aumento en el rendimiento, mientras que en otros se evidenció consumo de lujo. Los tratamientos testigo, sin fertilización con S, de los ensayos de soja de segunda manifestaron los menores valores de S_{conc} independientemente del órgano muestreado, lo que indica que sufrieron mayor deficiencia del nutriente.

Por su parte, la aplicación de S generó cambios en la N_{conc} en 5, 7 y 4 ensayos para hoja, planta y grano, respectivamente (datos no mostrados). En los cultivos de soja de segunda, se determinaron aumentos en la N_{conc} ante aportes de S. Sin embargo, en otros ensayos

la N_{conc} disminuyó conforme aumentó la disponibilidad de S, lo que impidió establecer patrones generales para esta variable. La relación N:S, por su parte, disminuyó en respuesta a la fertilización con S en hoja, planta y grano y mostró similar sensibilidad a la disponibilidad de S en el suelo respecto de la S_{conc} .

El análisis de la información conjunta de los experimentos muestra que la N_{conc} aumentó con la S_{conc} en hoja ($p < 0.01$) y planta ($p < 0.01$) y que no existió asociación entre ambas variables en grano ($p = 0.14$) (Figura 1). Como se indicó, dicha relación no se evidenció cuando se analizaron los ensayos de manera individual. Esto indica que, para hoja y planta, existieron otras causas diferentes a la disponibilidad de S que generaron que ambos

nutrientes hayan variado concomitantemente. Entre ellas, las diferencias en el estadio fenológico al momento del muestreo (Tabla 1) podrían ser una de las principales. Cálculos realizados a partir de información publicada en trabajos recientes (Bender et al., 2015) indican que la concentración de ambos nutrientes en planta disminuye desde estadios vegetativos hasta reproductivos avanzados. El patrón que sigue dicha dilución depende de la relación que se establece entre los componentes hoja:tallo:vaina de la planta (Divito, inédito). Para la S_{conc} en hojas del estrato superior del canopeo, Fontanive et al. (1996) también reportaron disminuciones conforme las plantas se desarrollaron.

En el presente trabajo, las N_{conc} y S_{conc} en hoja y planta

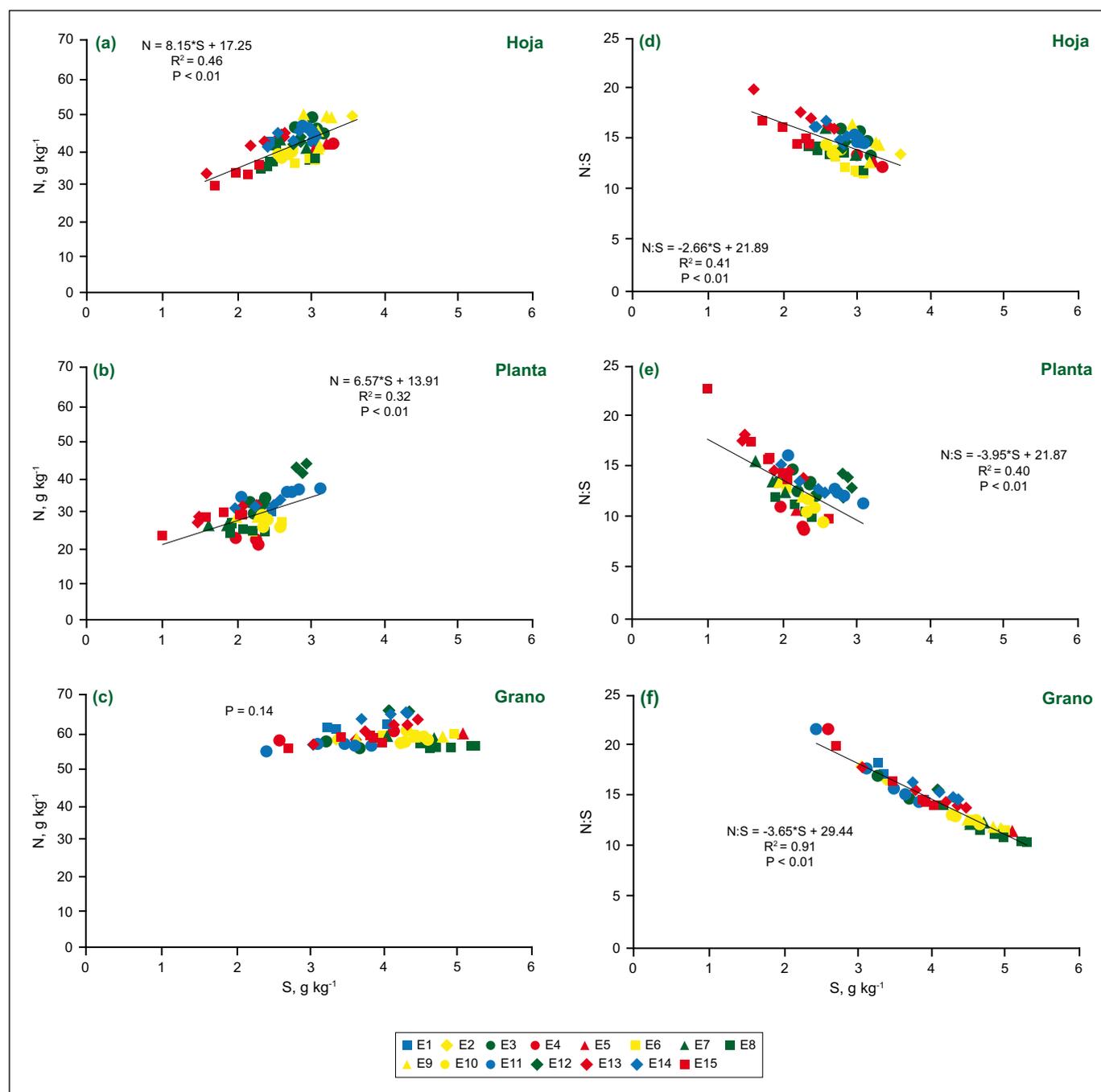


Figura 1. Relación entre la concentración de N ($g\ kg^{-1}$) (izquierda) y la concentración de S ($g\ kg^{-1}$) y entre la relación N:S y la concentración de S ($g\ kg^{-1}$) en hoja (arriba), planta (centro) y grano (abajo). P indica la significancia de la regresión. Información de 15 experimentos (E1 a E15) con 3 a 5 dosis de S cada uno.

no se asociaron con el estadio de desarrollo al momento del muestreo. Esto pudo obedecer a efectos confundidos entre el estadio, la variedad de soja, factores ambientales, etc. Sin embargo, la **Figura 1**, da evidencia de que, cuando otra fuente de variación además de la provisión de S afecta la S_{conc} en hoja o planta, la N_{conc} cambia en el mismo sentido. Esta asociación es muy favorable, puesto que permite, a partir del uso de la relación N:S, reducir la variabilidad de S_{conc} atribuida a causas distintas de la disponibilidad de S. Contrariamente, la relativa estabilidad en la N_{conc} en grano ante cambios en la S_{conc} indica que no existirían beneficios en el empleo de N:S respecto de S_{conc} .

Relación entre el rendimiento en grano, S_{conc} y N:S

Los valores críticos para S_{conc} en hoja, planta y grano fueron 2.65, 2.06 y 3.93 g S kg⁻¹, respectivamente (**Figuras 2a-c**). Para hoja, el valor se encuentra entre los reportados por Agrawal y Mishra (1994) (ca. 2.0 g S kg⁻¹) y por Kaiser y Kim (2013) (3.1 g S kg⁻¹). Por su parte, el valor determinado para planta es sensiblemente menor que 2.7 g S kg⁻¹, el umbral propuesto por Kaiser y Kim (2013). El umbral obtenido para S_{conc} en grano es superior al reportado por Kaiser y Kim (2013) (3.3 g S kg⁻¹) y Salvagiotti et al. (2012) (2.7 g S kg⁻¹). Sin embargo, Salvagiotti et al. (2012) indicaron que este índice no mostró un buen comportamiento para el diagnóstico del estatus azufrado, puesto que muchos de los tratamientos con rendimientos relativos menores a 0.9 tuvieron una S_{conc}

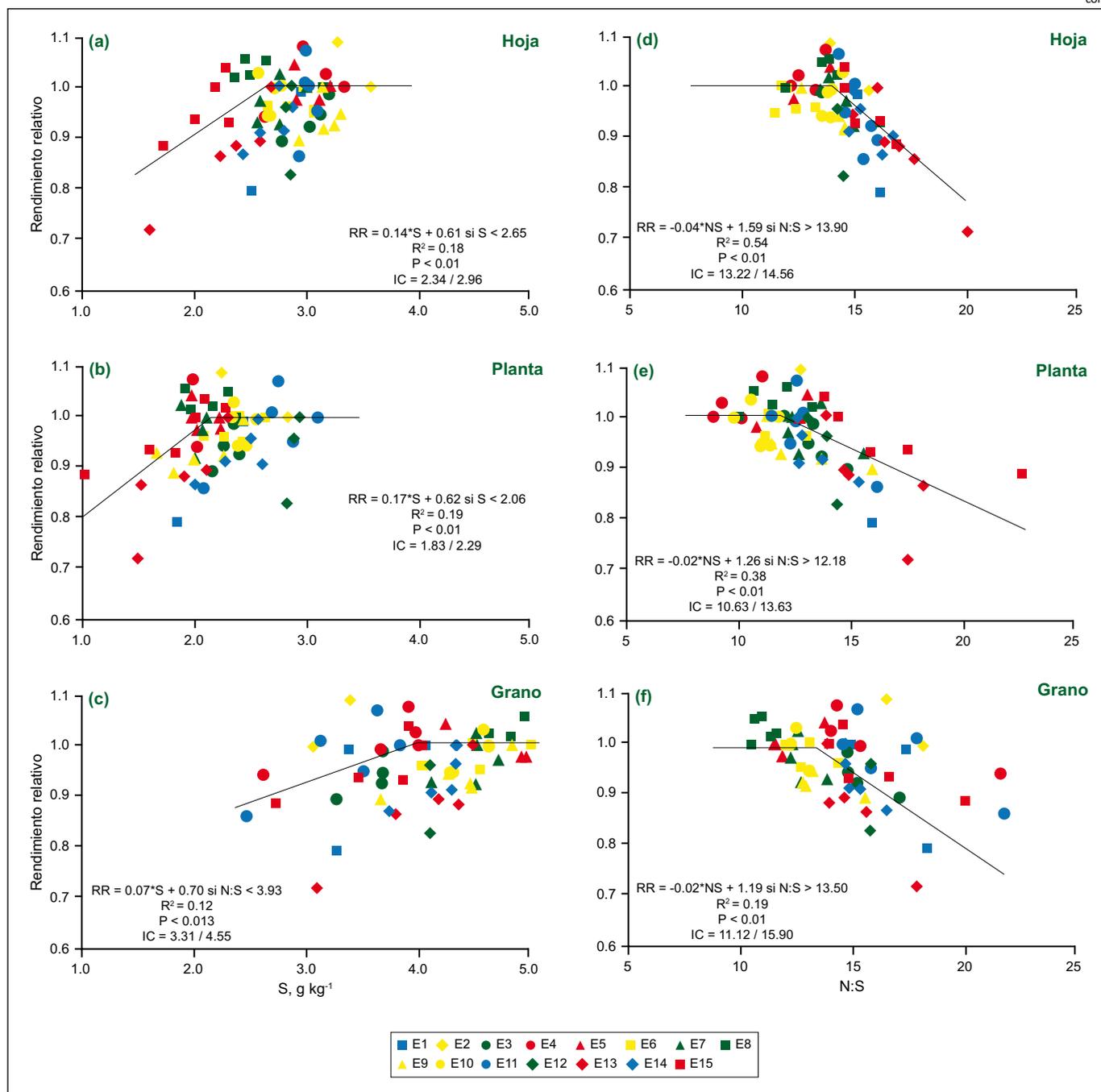


Figura 2. Relación entre el rendimiento relativo y la concentración de S en hoja (a), planta (b) y grano (c) y entre el rendimiento relativo y la relación N:S en hoja (d), planta (e) y grano (f). RR es el rendimiento relativo. IC es el intervalo de confianza para el umbral crítico (0.95). P indica la significancia de la regresión. Información de 15 experimentos (E1 a E15) con 3 a 5 dosis de S cada uno.

mayor al umbral. Estas observaciones de dichos autores sustentan la posibilidad de definir umbrales mayores, como los que se determinaron en el presente trabajo.

Los umbrales críticos para N:S en hoja, planta y grano fueron 13.90, 12.18 y 13.5, respectivamente (**Figuras 2d-f**). Así, para hoja, dicho valor es menor al reportado por Agrawal y Mishra (1994), quienes propusieron un umbral crítico de 16.0. Para grano, por su parte, el umbral crítico que se determinó en el presente trabajo es menor al propuesto por Salvagiotti et al. (2012) (22.0), a partir de ensayos de campo realizados en la Región Pampeana. Esta discrepancia obedece principalmente al menor valor de S_{conc} , puesto que la N_{conc} fue similar en ambos trabajos. De manera similar a lo descrito para S_{conc} , Salvagiotti et al. (2012) indicaron que la relación N:S no resultó una buena herramienta de diagnóstico, puesto que $\approx 64\%$ de los tratamientos deficientes de S tuvieron una relación menor a 22.0. Nuevamente, estos resultados indican que la definición de un umbral menor, como el que se propone en el presente trabajo, mejoraría la utilidad del método.

Para cereales se han propuesto valores críticos de la relación N:S en grano similares a los determinados en soja (Randall et al., 1981, 2003; Reussi Calvo et al., 2011). En este sentido, se destaca que las legumbres rara vez son fertilizadas con N por lo que, en condiciones no restrictivas para la fijación biológica del nutriente, no se esperan grandes variaciones en la N_{conc} (Leffel et al., 1992). Contrariamente, la N_{conc} en cereales depende en mayor medida del aporte de N desde fuentes externas (i.e. fertilizantes, enmiendas, etc.) que pueden causar acumulaciones desproporcionadas del N en planta. Esto hace que el empleo de N:S sea más preciso en leguminosas que en cereales.

Al comparar la aptitud de los métodos, surge que el rendimiento relativo se relacionó débilmente con S_{conc} en hoja ($R^2 = 0.18$), planta ($R^2 = 0.19$) y grano ($R^2 = 0.12$) (**Figuras 2a-c**). Esta asociación mejoró notablemente con el uso de N:S en hoja ($R^2 = 0.54$) y planta ($R^2 = 0.38$) aunque no en grano ($R^2 = 0.19$) (**Figura 2**). Se destaca que la relación N:S en hoja mostró el mejor comportamiento entre los indicadores propuestos, lo que se refleja también en el estrecho rango del intervalo de confianza del umbral crítico (**Figura 2d**).

Así, se confirma lo descrito anteriormente, donde la inclusión de la N_{conc} reduce la variabilidad de la S_{conc} en hoja y planta atribuida al estadio fenológico al momento del muestreo, la arquitectura de la planta y otros factores del cultivo y ambiente. Por el contrario, la estabilidad de la N_{conc} en grano ante cambios en S_{conc} fue responsable de que la relación N:S no mostrara mejor asociación con el rendimiento respecto de lo observado para la S_{conc} . Se destaca que los granos no presentan diferencias en la concentración de los nutrientes debido al momento del muestreo, lo que elimina una fuente importante de variación.

La S_{conc} crítica resultó diferente entre hoja, planta y grano, lo que se deduce de la falta de superposición entre los

intervalos de confianza definidos para cada parte de la planta (**Figuras 2a-c**). Por el contrario, los valores críticos definidos para N:S fueron similares (**Figuras 2d-f**), lo que indica que la inclusión de N_{conc} también remueve la variación en S_{conc} atribuida a las partes de la planta.

Empleo del clorímetro para evaluar el estatus azufrado del cultivo

El ISS se relacionó con la S_{conc} (**Figura 3a**) y, en mayor medida, con la relación N:S en hoja (**Figura 3b**) ($p < 0.01$). Además, el rendimiento relativo se relacionó con el ISS ($p < 0.01$) (**Figura 3c**).

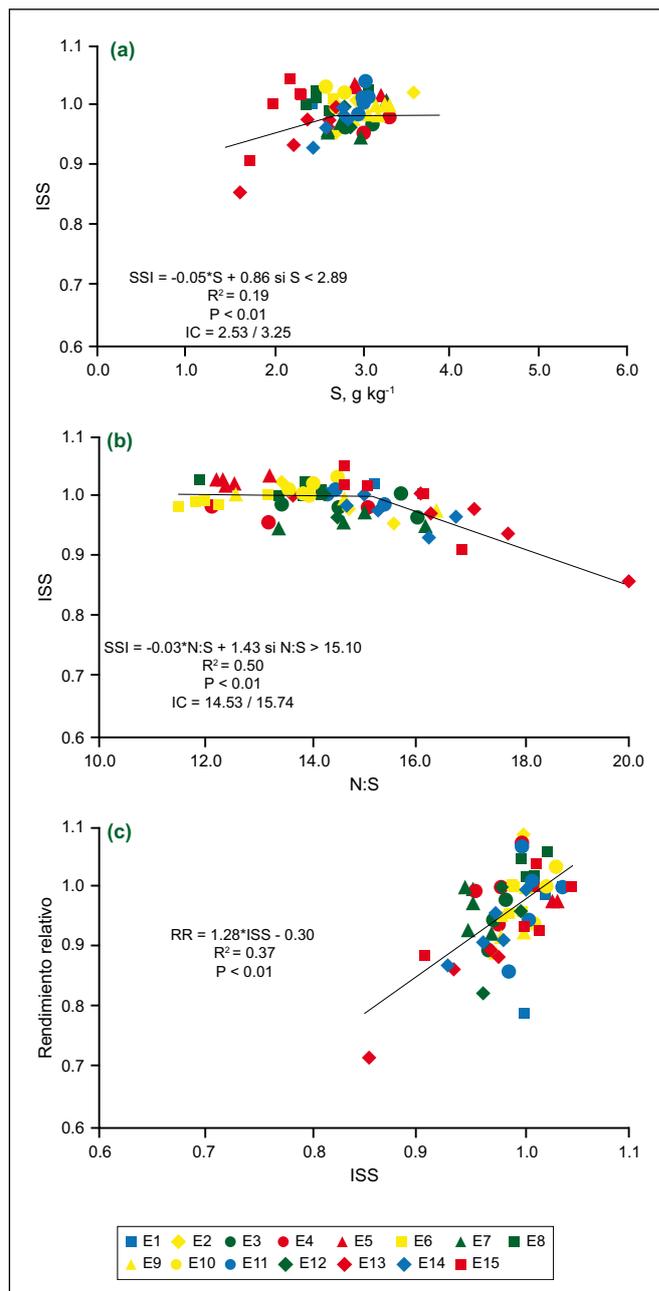


Figura 3. Relación entre el índice de suficiencia de azufre (ISS) y la concentración de S en hoja (a), entre el índice de suficiencia de azufre (ISS) y la relación N:S en hoja (b) y entre el rendimiento relativo y el índice de suficiencia de azufre (ISS) (c). IC es el intervalo de confianza para el umbral crítico (0.95). P indica la significancia de la regresión. Información de 15 experimentos (E1 a E15) con 3 a 5 dosis de S cada uno.

Esta asociación podría deberse a que la deficiencia de S reduce la concentración de compuestos involucrados en la síntesis de clorofila, lo que provoca clorosis en las plantas (Hoefgen y Nikiforova, 2008). Se destaca que los umbrales propuestos para las funciones que relacionan el ISS con la S_{conc} y con N:S en hoja (2.89 g S kg⁻¹ y 15.1, respectivamente) (**Figuras 3a-b**) fueron similares a los valores propuestos para la relación con el rendimiento relativo (2.65 g S kg⁻¹ y 13.90, para S_{conc} y N:S, respectivamente). Esto se sustenta en la superposición de los intervalos de confianza (**Figuras 2a y 3a** para S_{conc} y **Figuras 2d y 3d** para N:S). Aunque requiere ser confirmado, esta similitud adquiere relevancia puesto que indica que el índice de verdor es sensible a cambios en el estatus azufrado en el rango de los umbrales críticos propuestos para el análisis de hoja.

Conclusiones

El presente trabajo permitió determinar umbrales críticos para el diagnóstico del estatus azufrado del cultivo de soja. Los mismos fueron 2.65, 2.06 y 3.93 g S kg⁻¹, para hoja, planta y grano, respectivamente. Para las mismas partes de la planta, los valores críticos para la relación N:S fueron 13.90, 12.18 y 13.50, respectivamente.

El comportamiento de la S_{conc} en hoja, planta y grano fue regular. En hoja y planta, la inclusión de la relación N:S mejoró de manera significativa el diagnóstico. Esto se debió a que, en hoja y planta, la relación N:S redujo la variabilidad asociada al momento de muestreo, cultivar o ambiente. Por el contrario, la estabilidad en la N_{conc} en grano ante variaciones de S_{conc} sustentó que no existieran beneficios en el uso de N:S respecto de S_{conc} . El ISS fue sensible a los cambios en el estatus azufrado del cultivo, aunque no mostró una buena asociación con el rendimiento.

Debido al buen comportamiento y a la practicidad del muestreo, proponemos el uso de la relación N:S en hoja para el diagnóstico del estatus azufrado durante el ciclo del cultivo.

Agradecimientos

El presente trabajo forma parte de los proyectos INTA PNSuelo 1134021, INTA PNSuelo 1134024, FONCyT PICT 2011-1796 y UNMP-AGR447/14. Agradecemos a Sebastián Gambaudo (INTA Rafaela) y Nicolás Sosa (INTA Manfredi) por la colaboración con los ensayos, y a Mercedes Eyherabide por la asistencia para las determinaciones de N y S en material vegetal.

Referencias

Agrawal, H.P., y A.K. Mishra. 1994. Sulphur nutrition of soybean. *Commun. Soil Sci. Plant Analysis*. 25:1303-1312.

Bender, R.R., J.W. Haegerle, y F.E. Below. 2015. Nutrient uptake, partitioning, and remobilization in modern soybean varieties. *Agron. J.* 107:563-573

Black Kalf, M., F.J. Zhao, y P. McGrath. 2002. Sulphur deficiency diagnosis using plant tissue analysis. En: *Proceedings N° 503, International Fertiliser Society, York*.

Bray, R.H., y L.T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59:39-45.

Bremner, J., y D. Keeney. 1966. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soil: exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by extraction-distillation methods. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 30:577-582.

Calviño, P.A., y J.P. Monzón. 2009. Farming systems of Argentina: Yield constraints and risk management. En: Sadras, V.O., Calderini, D. F., *Crop physiology: Applications for genetic improvement and agronomy*. Elsevier Academic Press, San Diego, California. pp. 55-70.

Calviño, P.A., V.O., Sadras, F.H., Andrade. 2003. Development, growth and yield of late-sown soybean in the Southern Pampas. *Europ. J. Agron.* 19:265-275.

Divito G., H. Echeverría, F. Andrade y V. Sadras. 2015. Diagnosis of S deficiency in soybean crops: Performance of S and N:S determinations in leaf, shoot and seed. *Field Crops Research*, 180:167-175.

Fehr, W.R., y C.E. Caviness. 1977. *Stages of Soybean Development*. Iowa State University, Ames, Iowa - USA.

Fontanive, A.V., A.M. Horra, de la, y M. Moretti. 1996. Foliar analysis of sulphur in different soybean cultivar stages and its relation to yield. *Commun. Soil Sci. Plant Analysis*. 7:179-186.

Gutierrez Boem, F.H., P. Prystupa, y G. Ferraris. 2007. Seed number and yield determination in sulfur deficient soybean crops. *J. Plant Nutr.* 30:93-104.

Hitsuda, K., G.J. Sfredo, D. y Klepker. 2004. Diagnosis of sulfur deficiency in soybean using seeds. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68:1445-1451.

Hoefgen R, y V.J. Nikiforova. 2008. Metabolomics integrated with transcriptomics: assessing systems response to sulfur-deficiency stress. *Physiol. Plantarum* 132:190-198.

Islam, M., y N. Bhuiyan. 1998. Evaluation of various extractants for available sulfur in wetland rice (*Oryza sativa*) soils of Bangladesh. *Indian J. Agr. Sci.* 58:603-606.

Johnson, G.V. 1987. Sulfate: Sampling testing, and calibration. En: *Soil testing: Sampling correlation, calibration, and interpretation*, ed. J. R. Brown, 89-96. Madison: Wisc.: SSSA.

Kaiser, D.E., y K. Kim. 2013. Soybean response to sulfur fertilizer applied as a broadcast or starter using replicated strip trials. *Agron. J.* 105:1189-1198.

Leffel, R.C., P.B. Cregan, A.P. Bolgiano, y D.J. Thibeau. 1992. Nitrogen metabolism of normal and high-seed-protein soybean. *Crop. Sci.* 32:747-750.

Pagani, A., y H. E. Echeverría. 2012. Influence of sulfur deficiency on chlorophyll-meter readings of corn leaves. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 175:604-613

Randall, P.J., J.R. Freney, y K. Spencer. 2003. Diagnosing sulfur deficiency in rice by grain analysis. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 65:211-219.

Randall, P.J., K. Spencer, y J.R. Freney. 1981. Sulfur and nitrogen fertilizer effects on wheat. I. Concentrations of sulfur and nitrogen and the nitrogen to sulfur ratio in grain, in relation to the yield response. *Aust. J. Agr. Res.* 32:203-212.

Reussi Calvo, N., H. Echeverría, y H.R. Sainz Rozas. 2011. Diagnosing sulfur deficiency in spring red wheat: plant analysis. *J. Plant Nutr.* 34:573-589.

Salvagiotti, F., G. Ferraris, A. Quiroga, M. Barraco, H. Vivas, P. Prystupa, H. Echeverría, y F.H. Gutiérrez Boem. 2012. Identifying sulfur deficient fields by using sulfur content; N:S ratio and nutrient stoichiometric relationships in soybean seeds. *Field Crops Res.* 135:107-115.

Walkley, A., y I.A. Black. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37:29-37.