

Revista Científica y Tecnológica UPSE

Evaluación del crecimiento y nodulación de plantas de soya (*Glycine max*) inoculadas con *Rhizobium* y *Bradyrhizobium japonicum* en Manglaralto, Santa Elena (Ecuador)

Evaluation of the growth and nodulation of soybean plants (*Glycine max*) inoculated with *Rhizobium* and *Bradyrhizobium japonicum* in Manglaralto, Santa Elena, Ecuador



(1)Soto Valenzuela Javier* <https://orcid.org/0000-0001-9447-2743>, (1)Catuto Suárez Andrea <https://orcid.org/0000-0002-2641-6819>, (2)Álvarez Vera Manuel <https://orcid.org/0000-0002-2521-0042>.

(1) Centro de Investigaciones Agropecuarias, Universidad Estatal Península de Santa Elena.
(2) Universidad Católica de Cuenca, Ecuador

Resumen

Los bioinsumos rizobianos son considerados desde hace algunos años como la mejor alternativa para reducir la aplicación de los fertilizantes sintéticos y con repercusión en la economía rural campesina. El objetivo de este trabajo fue valorar los efectos de infección y efectividad en tres tipos de semillas de soya (*Glycine max*), inoculados con tres biofertilizantes rizobianos, en las condiciones de una zona productiva de la provincia de Santa Elena (Ecuador). Se inocularon los materiales genéticos de soya INIAP 307, INIAP 308 e INTEROC SSK con los biofertilizantes *Endure-Rhizobium* (USA), *Bradyrhizobium* Católica y un biofermento obtenido de la colección de cepas de *Rhizobium* del Centro de Investigaciones CIAP-UPSE. Los resultados evidencian el mutualismo que las leguminosas establecen con sus huéspedes rizobianos, obteniendo resultados significativos en la mayoría de las variables investigadas en todas las variables inoculadas, incluyendo la nodulación de *Bradyrhizobium* con *G. max.*, confirmando la especificidad que presenta la simbiosis planta-leguminosa. Seguramente, la inoculación en soya contribuirían a los planes de desarrollo en una futura producción a gran escala, en una zona de interés agropecuario.

Abstract

Rhizobian bio-inputs have been considered for some years as the best alternative to reduce the application of synthetic fertilizers and with repercussions on the rural peasant economy. The objective of this work was to assess the effects of infection and effectiveness in three types of soybean seeds (*Glycine max*), inoculated with three rhizobia biofertilizers, under the conditions of a productive zone in the province of Santa Elena (Ecuador). The soybean genetic materials INIAP 307, INIAP 308 and INTEROC SSK were inoculated with the biofertilizers *Endure-Rhizobium* (USA), *Bradyrhizobium* Católica and a bioferment obtained from the collection of *Rhizobium* strains of the CIAP-UPSE Research Center. The results show the mutualism that the legumes establish with their rhizobian hosts, obtaining significant results in most of the variables investigated in all the inoculated variables, including the nodulation of *Bradyrhizobium* with *G. max.*, Confirming the specificity that the plant-symbiosis presents. legume. Surely, soybean inoculation would contribute to development plans for future large-scale production in an area of agricultural interest.

Palabras clave:

Soya, *Bradyrhizobium*, biofertilizantes, especificidad, nodulación.

Keywords:

Soybean, *Bradyrhizobium*, biofertilizers, specificity, nodulation

Recibido: mayo 10/2021 **Aceptado:** septiembre 14/2021 **Publicado:** diciembre 28/2021

Forma de citar: Soto Valenzuela, J.; Catuto Suárez, A.; Álvarez-Vera, M. (2021). Evaluación del crecimiento y nodulación de plantas de soya (*Glycine max*) inoculadas con *Rhizobium* y *Bradyrhizobium japonicum* en Manglaralto, Santa Elena (Ecuador). Revista Científica y Tecnológica UPSE, 8 (2) pág. 27-32. DOI: 10.26423/rctu.v8i2.577.

* Autor para correspondencia: jsotov@upse.edu.ec

1. Introducción

La soya (*Glycine max* L.), es una leguminosa de origen chino considerada estratégica, por su alto contenido de proteínas (38 a 42%) y de aceite (18 a 22%). El grano y sus subproductos se utilizan en la alimentación humana y del ganado (Chipana y Calle, 2017).

Las leguminosas participan junto a las rizobacterias, en la fijación biológica del nitrógeno (FBN) de la atmósfera. Esto beneficia no solo a ellas, sino también a los cultivos intercalados o posteriores, reduciendo la necesidad de aplicar fertilizantes nitrogenados (Liu et al., 2011).

Las bacterias del género *Bradyrhizobium* pueden establecer simbiosis con la soya y suministrar las demandas de nitrógeno de la planta a través de la FBN (De Medeiros et al., 2020).

La FBN convierte el nitrógeno atmosférico en formas utilizables por las plantas, como el amoníaco (Bishnoi, 2015), influir en el crecimiento y morfología de las raíces y promover otras simbiosis beneficiosas entre plantas y microbios (Vessey, 2003), por supuesto en condiciones edafoclimáticas que favorecen la interacción suelo-planta-microorganismos (Nápoles et al., 2009).

Un enfoque común muy usado para mejorar la FBN y la productividad de las leguminosas, ha sido experimentar con cepas exógenas de *Bradyrhizobia* como inoculantes (Emmanuel et al., 2008), debido a que muchos suelos son deficientes en número y calidad de rizobios autóctonos para mejorar la productividad de las plantas (Abdullahi et al., 2013).

En el Ecuador, la producción de soya representa un rubro importante en el sector agrícola, pero con casi nula competitividad en los últimos años (Sánchez, Vayas y Mayorga, 2020), con rendimientos promedios para el ciclo de verano de 2,04 t ha⁻¹, en la costa y sierra (Choez Quiroz et al., 2017).

Una de las problemáticas del manejo del cultivo de soya en Ecuador es el uso de biocidas que ocasionan impactos negativos en el ambiente y en la salud de los seres vivos. Por otra parte, el empleo indiscriminado de productos con alta toxicidad disminuye los rendimientos, afectando el desarrollo de los cultivos (Choez Quiroz et al., 2017).

En la provincia de Santa Elena, Ecuador, el estudio de los bioinsumos a partir de los rizobios ha desarrollado gran interés como una alternativa en la reducción de los fertilizantes sintéticos (Soto et al., 2016), por lo que, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de tres biofertilizantes rizobianos sobre el crecimiento y nodulación de tres variedades de soya recomendadas para las condiciones semicontroladas en Manglaralto provincia de Santa Elena (Ecuador).

2. Materiales y métodos

2.1 Localización del ensayo

La investigación se desarrolló en el Centro de Producción y Prácticas Manglaralto de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, ubicado en la parroquia Manglaralto, a 55 km al norte del cantón Santa Elena, Ecuador.

2.2 Material vegetal

Las variedades de soya empleadas fueron INIAP 307 e INIAP 308 generadas en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias y la variedad SSK distribuida por la empresa INTEROC. Las características del material vegetal se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Características de las variedades de soya INIAP-307, INIAP-308, SSK.

Características	INIAP - 307	INIAP - 308	SSK
Adaptación	-	-	300 - 1.200 m.s.n.m.
Floración (días)	43 - 48	40 - 48	40 - 43
Período vegetativo	105 a 120 días	104 - 116 días	115 - 120 días
Hábito de crecimiento	Determinado	Determinado	Indeterminado
Altura de planta a madurez(cm)	60 - 78	55 - 99	113 - 140
Altura de inserción primeras vainas(cm)	14 - 18	15 - 20	15 - 17
Peso (g) 100 semillas	16 - 20	18 - 25	20
Vainas x planta	40 - 60	35 - 70	-
Semilla x vaina	1 - 3	1 - 3	2 - 4
Proteína	36,50%	36%	37.1 %
Aceite	22,74%	18%	23,40%
Rendimiento (kg/ha)	-	2709 - 3832	2400 - 2700

Fuente: Guía Técnica de Cultivos INIAP 307, INIAP 308 e Interoc (2011).

Para probar los efectos de infección y efectividad, requeridas por las raíces de la soya, se emplearon los siguientes biofertilizantes:

1. Cepa de *Bradyrhizobium japonicum*, identificada y caracterizada por el Instituto de Investigación y Transferencia de Tecnología de la Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo de la Universidad Católica Santiago de Guayaquil.
2. Biofertilizante *Rhizobium Inoculum N-Dure*, de Carolina Science.
3. Tres cepas de la colección CIAP-UPSE *Rhizobium* sp. (VAI RV, FPMG2 y FPMG4), identificados y caracterizados por el Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Península de Santa Elena (Soto et al., 2016).

Se establecieron 9 tratamientos con inoculantes y 3 testigos (Tabla 2) sin inocular dispuestos bajo el diseño completamente aleatorio y cuatro réplicas. Los datos fueron tabulados en el programa estadístico INFOSTAT versión profesional para Windows. Cuando hubo diferencias de medias se utilizó la prueba de Duncan ($\leq 0,05$).

Cada unidad experimental estuvo compuesta por una maceta conteniendo el sustrato (arena esterilizada), en la cual se colocaron 4 semillas de soya (*Glycine max*) desinfectadas e inoculadas con los biofertilizantes, a una distancia de 20 cm entre maceta y 50 cm entre unidades experimentales.

Tabla 2. Descripción de los tratamientos.

Tratamiento	Varietades	Bioinoculantes	Dosis de inoculantes
T 1	INIAP 307	Brad Católica	0,024 gr
T 2	INIAP 307	N-DURE	0,0122 gr
T 3	INIAP 307	CIAP-UPSE	1ml/planta
T 4	INIAP 308	Brad Católica	0,027 gr
T 5	INIAP 308	N-DURE	0,0195 gr
T 6	INIAP 308	CIAP-UPSE	1ml/planta
T 7	Inter SSK	Brad Católica	0,026 gr
T 8	Inter SSK	N-DURE	0,0187 gr
T 9	Inter SSK	CIAP-UPSE	1ml/planta
T 10	INIAP 307	sin inoculante	-
T 11	INIAP 308	sin inoculante	-
T 12	Inter SSK	sin inoculante	-

Se diseñó un área con cubierta de sarán, para para proteger las plantas de las lluvias y exceso de luminosidad. Se llenaron las macetas con un kg de arena de río previamente esterilizada a 120° C durante 15 min y una atmósfera de presión.

El proceso de inoculación y siembra se desarrollaron de la siguiente manera: (1) Las semillas fueron pesadas, lavadas tres veces con agua destilada y luego desinfectadas con hipoclorito de sodio (NaClO) al 10% por 5 minutos y luego alcohol al 95% por tres minutos. (2) Después, fueron embebidas en solución de glucosa al 25% para impregnar los rizobios a la superficie de las semillas. (3) Finalmente se inocularon con los biofertilizantes *Bradyrhizobium* Católica y *Rhizobium* N-DURE, pesados y diluidos en 250 ml de agua destilada, de acuerdo a las especificaciones técnicas del fabricante. El biofertilizante líquido CIAP-UPSE fue llevado hasta concentración de 10⁶ (Zúñiga, 2012).

Los biofertilizantes en polvo *Bradyrhizobium* Católica y N-dure fueron diluidos en agua destilada; el sobrante sellado y mantenido a 4° C. El biofermento CIAP-UPSE líquido se preparó 3 días antes de su aplicación y el sobrante herméticamente sellado y almacenado a igual temperatura que los demás biofertilizantes (Zúñiga, 2012).

En el caso del biofertilizante CIAP-UPSE, las cepas escogidas fueron reactivadas del banco de cepas (-4° C) en tubos de 1 ml con caldo YEM (Extracto levadura manitol) 24 horas antes de cada inoculación en las semillas. Se regó todos los días con agua estéril y no se aplicó ningún fertilizante sintético.

A los 30 días después de la germinación (DDG) se evaluó altura y peso de las plantas, peso fresco de la raíz, número de hojas y nódulos por planta; de igual manera, a los 60 DDG (Fig. 1), altura y peso de la planta, peso fresco y seco de la raíz, número de hojas, número de vainas y el número de nódulos.



Figura 1. Crecimiento de plantas de soya a los 60 días.

3. Discusión y resultados

3.1. Altura de la planta a los 30 días

Se encontraron diferencias significativas en la variable altura de plantas a los 30 y 60 DDG. El tratamiento 9 (SSK CIAP-UPSE) con una media de 47,78 cm los 30 DDG, alcanzó la media más alta; mientras que la más baja fue el tratamiento 11 (INIAP 308 sin inoculante) con 30,55 cm (Tabla 3).

Tabla 3. Cuadro de medias de altura de plantas de soya a los 30 DDG bajo el efecto de diferentes inoculantes.

Tratamientos	Medias	
T11 Soya 308 sin inoculante	30,55	a
T12 Soya SSK sin inoculante	32,85	a b
T 7 Soya SSK Brad Católica	38,25	a b c
T 1 Soya 307 Brad Católica	39,65	a b c
T 4 Soya 308 Brad Católica	40,11	a b c
T 8 Soya SSK N-DURE	40,86	b c
T 3 Soya 307 CIAP-UPSE	41,69	b c
T 10 Soya 307 Sin inoculante	41,91	b c
T 2 Soya 307 N-DURE	42,15	b c
T 6 Soya 308 CIAP-UPSE	42,88	b c
T 5 Soya 308 N-DURE	43,78	c
T 9 Soya SSK CIAP-UPSE	47,78	c

Las medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente entre sí, por el Test de Duncan ($p < 0,05$).

3.2. Altura de la planta a los 60 días

A los 60 DDG el mejor tratamiento fue el T4 con una media de 95,19 cm; seguido por el T7 y T1 con medias de 90,56 y 90,16 cm respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4. Cuadro de medias de altura de plantas de soya a los 60 DDG bajo el efecto de diferentes inoculantes.

Tratamientos	Medias	
T11 Soya 308 Sin inoculante	63,00	a
T12 Soya SSK sin inoculante	67,19	a b
T5 Soya 308 N-DURE	69,75	a b
T6 Soya 308 CIAP-UPSE	71,53	a bc
T3 Soya 307 CIAP-UPSE	74,94	a bc
T9 Soya SSK CIAP-UPSE	75,44	a bc
T8 Soya SSK N-DURE	76,25	a bc
T2 Soya 307 N-DURE	80,24	· bcd
T10 Soya 307 Sin inoculante	85,33	· cde
T1 Soya 307 Brad Católica	90,16	· de
T7 Soya SSK Brad Católica	90,56	· de
T4 Soya 308 Brad Católica	95,19	· e

Las medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente entre sí, por el Test de Duncan ($p < 0,05$).

Las demás variables no presentaron diferencias significativas, pero con mejores resultados que los controles sin inoculación.

En la variable de nodulación a los 30 y 60 DDG, los tratamientos destacados que lograron formar nódulos fueron el T7 (SSK + *Bradyrhizobium* Católica) y el T1 (INIAP 307 + *Bradyrhizobium* Católica), respectivamente. La Figura 2 muestra todos los tratamientos que lograron nodular la soya a los 60 DDG.



Figura 2. Número de nódulos encontrados en plantas de soya a los 60 DDG.

4. Discusión

En este trabajo se estudió el efecto y respuesta a la inoculación de tres biofertilizantes, dos formulados y uno de cepas nativas de la colección de *Rhizobium* CIAP-UPSE; estos últimos obtenidos de la rizosfera de leguminosas cultivadas en la península de Santa Elena e inoculados en tres materiales genéticos de *Glycine max*, recomendados para obtener mejor rendimiento en suelos cercanos a la línea de mar.

Además de las diferencias significativas encontradas en las variables altura de planta, también se observó diferencias en el peso de planta a los 30 y 60 DDG. Destacando los tratamientos CIAP-UPSE en semillas SSK y *Bradyrhizobium* Católica en INIAP 308, respectivamente. Mientras que, las variables peso fresco y seco de la raíz de planta, los tratamientos de INIAP 308 inoculados con N-DURE y con *Bradyrhizobium* Católica, demostraron que existe un incremento en la

masa vegetativa de la soya, comparados con los testigos sin inocular. Esto confirma que existe una alta interacción planta-microorganismos (Nápoles et al., 2009; Chipana y Calle (2017).

En el número de hojas, los mejores tratamientos se dieron con *Bradyrhizobium* Católica, empleado sobre los materiales INIAP 308 y 307 a los 30 DDG y *Rhizobium* inoculum de N-DURE en los tres materiales vegetales a los 60 DDG.

En el número de vainas, los tres mejores tratamientos fueron el T5 (INIAP 308+N-DURE, T9 (INIAP 307) y T8 (SSK) inoculados con el biofertilizante CIAP-UPSE. Lo cual demuestra la alta incidencia de los biofertilizantes sobre los procesos fisiológicos y vegetativos, cuyos resultados positivos podrían deberse a la fijación de nitrógeno o simplemente a la producción de agentes estimulantes del crecimiento y la exclusión de agentes patógenos, mencionados por Coyne (2000); Vessey (2003) y Abdullahi et al. (2013).

En cuanto a la nodulación, en este trabajo no se registra un gran número de nódulos, quizá debido a las condiciones que exige la simbiosis (Zúñiga, 2012). Sin embargo, considerando la especificidad de las bacterias con su hospedero, en este caso particular *Glycine max* se asocia con *Bradyrhizobium japonicum* (Emmanuel et al., 2008, Zúñiga, 2012 y Chipana y Calle, 2017).

Los datos discutidos en este trabajo se aproximan a los registrados por Wang et al. (2001) y Carrera y Sánchez-Yáñez (2004), en ensayos con *Rhizobium* en varias leguminosas incluyendo la soya; en el que reportan un rendimiento mejorando en los tratamientos inoculados. La inoculación de rizobios promueve y beneficia el crecimiento de las plantas mediante la incorporación de fitohormonas (Rouphael y Colla, 2020 y Liu et al., 2011).

Finalmente, es necesario mencionar que las plantas de soya no presentaron incidencia de plagas o enfermedades durante los 60 DDG.

5. Conclusiones

La inoculación de semillas de soya (*Glycine max* L.) con Rhizobia, evidencia un mayor crecimiento y nutrición en todos los tratamientos con biofertilizantes de cepas foráneas y nativas. Sin embargo, el T5 (INIAP 308+N-DURE) y el T4 (INIAP 308+*Bradyrhizobium* Católica) fueron los mejores en ocho de las once variables evaluadas, sin la adición de fertilizantes de origen sintético o mineral.

El efecto de la nodulación confirma la existencia de una especificidad relativa con *Bradyrhizobium japonicum*, en la soya. Concluyendo que existe una muy alta probabilidad de la presencia de este género en las cepas componentes del biofertilizante CIAP-UPSE, lo cual

será base de futuras investigaciones para la producción de este cultivo en la provincia de Santa Elena.

6. Agradecimientos

Al proyecto de investigación “Estudio del género *Rhizobium* para la producción de inoculante de uso agrícola en la provincia de Santa Elena” del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP-UPSE).

7. Referencias bibliográficas

- Abdullahi, A., Howieson, J., O’Hara, G., Tepolilli, J., Tiwari, R., Vivas-Marfisi, A.I., and Yusuf, A.A. 2013. History of rhizobia inoculants use for grain legumes improvement in Nigeria- the journey so far. PhD studies by N₂ Africa project and Murdoch University, Western Australia, pp. 1-27.
- Bishnoi, U. 2015. PGPR Interaction: An Ecofriendly Approach Promoting the Sustainable Agriculture System. *Advances in Botanical Research*, 75:0065-2296.
- Carrera, O. y Sánchez, Yáñez J. 2004. Nodulación natural en leguminosas silvestres del estado de nuevo león. *Editorial. Camillus* pp.34-41.
- Coyne, M. 2000. *Microbiología del Suelo: Un Enfoque exploratorio*. Trad. MT. Gómez- Mascaraque Pérez. Madrid- España, Editorial Paraninfo. 416 p.
- Chipana, G. y Calle, M. 2017. Comportamiento agronómico de ocho variedades de soya (*Glycine max*) en relación a tres densidades de siembra, en Alto Beni-La Paz. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales* 4(2), 37-47.
- Choez-Quiroz, V., Cruz-La Paz, O. y Valdes-Carmenate, R. 2017. Diagnóstico sociocultural del cultivo de soya en San Juan de Pueblo Viejo, Ecuador. *Cultivos Tropicales* (38)3. [En línea] <https://www.redalyc.org/jatsRepo/1932/193253129012/movil/index.html>
- De Medeiros C., Aguiar Pereira, G., Silva de Freitas, J., De Oliveira Filho, O., Silveira do Valle, J., Linde, G., Paccola-Meirelles, L., Barros N., Gomes, F. 2020. Gene characterization of *Bradyrhizobium* spp. strains contrasting in biological nitrogen fixation efficiency in soybean. *Semina: Ciências Agrarias* 41(6): 3067-3080.

- Emmanuel, O., Osei Yaw, A., Bjorn, S. y Mette M.S. 2008. Host range, symbiotic effectiveness and nodulation competitiveness of some indigenous cowpea Bradyrhizobia isolates from the transitional savanna zone of Ghana. *African Journal of Biotechnology*, 7(8): 988-996.
- Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) “Guía Técnica de Cultivos”, Editores: Aida Villavicencio y Wilson Vásquez, Quito, Ecuador 2008. 444p.
- Instituto Nacional de Meteorología (INAHMI). 2015. Anuario Meteorológico N° 52-2012.
- Liu, Y., Wu, L., Baddeley, J.A. et al. 2011. Models of biological nitrogen fixation of legumes. A review. *Agronomy Sust. Developm.* 31, 155–172.
- Nápoles, M., González-Anta, G., Cabrera, J., Varela, M., Guevara, E., Meira, S., Nogueras, F. y Cricco, J. 2009. Influencia de inoculantes y factores edáficos en el rendimiento de la soya. *Cultivos Tropicales* 30(3): 18-22.
- Rouphael, Y. & Colla, G. 2020. Biostimulants in agriculture. *Frontiers Plant Sciences*, 11. Publisher Full Text CrossRef
- Sánchez, A., Vayas, T. y Mayorga, F. 2020. Soya en Ecuador. Observatorio Económico y social de Tungurahua. Universidad Técnica de Ambato. [En línea] <https://blogs.cedia.org.ec/obest/wp-content/uploads/sites/7/2020/10/La-Soya-en-Ecuador.pdf>
- Soto J., Crespo, L., Julio, A., Borbor, G. y Borbor, V. 2016. Identificación y caracterización de *Rhizobium* nativo para la producción de biofertilizante en la provincia de Santa Elena 3(2): 50-60.
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255, 571–586.
- Wang, T., Romero, J., Martínez, I. y López L. 2001. *Rhizobium* y su destacada simbiosis, cap. 8. In E. Martínez-Romero & J. Martínez-Romero (eds.). *Microbios. Centro de investigaciones sobre Fijación de Nitrógeno.* Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Zúñiga, D. 2012. Manual de Microbiología Agrícola, *Rhizobium*, PGPRs, Indicadores de Fertilidad e Inocuidad. UNALM, Lima-Perú. 112p.