RESPUESTA DEL FRIJOL DE SOYA A LA INOCULACION CON Rhizobium japonicum Y A LA FERTILIZACION CON NITROGENO Y FOSFORO EN COSTA RICA¹ *

Tito Jiménez y Enrique Villalobos**

ABSTRACT

Performance of soybeans in Costa Rica, as affected by Rhizobium japonicum and N – P fertilization. A field study was carried out to determine the joint effect of Rhizobium japonicum and the fertilization with nitrogen and phosphorus on seed yield and protein content of soybeans (Glycine max L. Merr. var. Jupiter). Soil was clasified as Typic Ustropept, with a moderately low fertility. The variables studied were: inoculum, 0 and 4.4 g/kg of seed; nitrogen 0–60–120 kg/ha and phosphorus 0–150–300 kg/ha.

Inoculation resulted in highly significant effects on nodule formation, as recorded 24 and 98 days after planting, as well as on seed yield and protein content. Nitrogen fertilization caused a highly significant decrease on nodulation 24 days after planting and N x inoculum interaction had a significant effect on nodulation at 24 days too. Nodule formation at 98 days was not affected by nitrogen. Yield was not influenced by N when seed was not inoculated, but N caused a significant decrease (P < 0.05) on yield when seed was inoculated.

Phosphorus fertilization did not affect nodulation at 24 days, but it increased nodule formation significantly (P < 0.01) at 98 days. The increase in yield as a response to the P fertilizer was also highly significant. No significant effect of the N \times P interaction on seed yield and protein content could be detected. Protein content was not influenced by N and P.

- 1 Recibido para su publicación el 19 de octubre de 1979.
- Parte de la tesis de grado presentada por el primer autor a la Escuela de Fitotecnia de la Universidad de Costa Rica. El trabajo fue parcialmente financiado por CARE.
- ** Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Universidad de Costa Rica. Dirección actual del primer autor: Instituto Tecnológico de Costa Rica, San Carlos.

INTRODUCCION

A pesar de la gran importancia nutricional y económica que la soya (Glycine max L. Merr.) representa para Costa Rica, existe muy poca investigación autóctona sobre su cultivo, esa falta de información es particularmente cierta en relación con la fertilización y la inoculación con bacterias fijadoras de nitrógeno.

Vest et al. (2) presentan los resultados de varias investigaciones en donde se estima que la cantidad promedio de nitrógeno fijado por la bacteria Rhizobium japonicum oscila entre 80 y 100 kg/ha, aunque en algunos casos en que se han empleado cepas seleccionadas de la bacteria este valor ha llegado a sobrepasar los 160 kg/ha. Estos mismos autores señalan que la contribución del nitrógeno fijado con el desarrollo y el rendimiento de la soya varía mucho. En suelos pobres en nitrógeno, la sova nodulada obtiene este elemento esencialmente de la fijación simbiótica. Sin embargo, el uso de cantidades altas de fertilizante nitrogenado, la competencia de cepas silvestres poco eficientes en la fijación simbiótica y factores ambientales como la humedad, la temperatura v factores nutricionales del suelo pueden disminuir notoriamente la fijación de nitrógeno atmosférico. Experimentos realizados en el Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) (14) en Nigeria, en que se emplearon diferentes tipos de inoculantes, se encontraron aumentos en el rendimiento desde 50 hasta 440 kg/ha sobre el tratamiento testigo que recibió 150 kg/ha de nitrógeno. Resultados similares y que ponen en evidencia el efecto positivo de la inoculación de la semilla sobre el rendimiento de la sova en condiciones tropicales son presentados por Chesney (5).

Gómez (6) y Silva (18) también informan de aumentos significativos en el contenido de proteína de la semilla de soya como resultado de la fijación de nitrógeno atmosférico.

Harper (9) ha demostrado que una producción máxima de semilla en soya requiere tanto del nitrógeno que la planta absorbe del suelo (principalmente nitratos) como del nitrógeno atmosférico. Este autor encontró que la utilización del nitrógeno absorbido alcanza su pico máximo en el estado de floración completa, mientras que el mayor aprovechamiento del nitrógeno fijado ocurre tres semanas después, o sea, durante el llenado de vainas. Este mismo autor encontró que tanto plantas inoculadas y que crecieron en un medio hidropónico carente de nitratos, así como las que crecieron en un medio con cantidades de nitrato inhibitorias de la fijación simbiótica, alcanzaron un rendimiento sustancialmente menor que aquellas plantas que disponían de ambas fuentes de nitrógeno. Más aún, la fijación simbiótica fue mayor en presencia de cantidades bajas de nitrato que en ausencia del mismo.

No obstante que un máximo rendimiento en soya requiere de los procesos de fijación simbiótica y absorción de nitrógeno del suelo (9), existe un marcado antagonismo entre la dosis de nitrógeno que se aplica al suelo y la fijación bacterial del elemento (9, 12, 15). Harper (9) encontró que dosis de 200 kg/ha de nitrógeno inhiben completamente la fijación de nitrógeno.

Contrario a lo que ocurre con dosis altas de nitrógeno, se ha encontrado que el fósforo estimula la formación de nódulos y la actividad de las bacterias fijadoras de nitrógeno (8, 12). Hanson (8) presenta aumentos en la nodulación como respuesta a dosis de P_2O_5 hasta de 800 kg/ha. Asimismo, se han encontrado incrementos significativos en el rendimiento debidos a la fertilización fosfórica en condiciones tropicales (4, 12).

El presente estudio informa del efecto de la inoculación, del nitrógeno y el fósforo, en el comportamiento de la soya, empleando como parámetros el número de nódulos por planta, el rendimiento y el contenido de proteína de la semilla.

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio tuvo lugar en la Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno de la Universidad de Costa Rica, la cual se localiza a 10°01' latitud norte, 84°16' longitud oeste y a una altitud de 840 metros sobre el nivel del mar.

La etapa de experimentación de campo se inició en la primera semana de mayo y se terminó en la tercera semana de setiembre. Durante este período la precipitación pluvial fue relativamente alta al principio y al final del período del cultivo aunque estuvo interrumpida por una corta sequía que se presentó en el mes de julio, en la etapa del llenado de vainas, y que no llegó a afectar visiblemente al cultivo. Las temperaturas mínimas y máximas oscilaron entre 15 y 18 C y entre 20 y 25 C respectivamente.

El suelo de la parcela experimental corresponde a un Ustropept típico de fertilidad moderadamente baja. Debe mencionarse que esta parcela no había sido fertilizada por varios años y además nunca había sido cultivada con frijol de soya, lo cual motivó su escogencia.

Como material experimental se seleccionó la variedad Júpiter que pertenece al grupo de madurez IX según el sistema de clasificación varietal de los Estados Unidos y que fue desarrollada especialmente para regiones tropicales (10). Esta variedad ha sido recomendada para su cultivo en Costa Rica por diferentes centros de investigación.

Las dosis de inóculo y ferfilizante que se emplearon fueron 0-60 y 120 kg N/ha, 0-150 y 300 kg P₂O₅/ha y 0 y 4,4 g inóculo/kg semilla. Como fuente de nitrógeno se usó NH₄NO₃ que contiene 33,5% de este elemento. La mitad del fertilizante nitrogenado se aplicó al fondo del surco y al momento de la siembra; la otra mitad se aplicó 15 días después, a un lado de las plántulas.

Como fuente de fósforo se usó el superfosfato triple que contiene 46% de P_2O_5 . Este elemento se aplicó al momento de la siembra localizado en el fondo del surco.

Se usó inoculante de la marca comercial North American Plant Breeders (NAPB), que emplea turba pulverizada como acarreador de la bacteria *Rhizobium japonicum*. La inoculación se hizo al momento de la siembra, mezclando el inoculante con la semilla humedecida. Se adicionó adherente NPW—44 de la misma casa comercial a razón de 0,50 g/kg de semilla, con el fin de facilitar la adherencia del inóculo a la cubierta seminal.

Simultáneamente con los tratamientos se hizo una aplicación de K₂O, B, Cu, Mn, Mo y Zn en cantidades de 50, 4, 10, 15, 2 y 12 kg/ha respectivamente.

La semilla se sembró aproximadamente a 4 cm de profundidad y al lado del fertilizante, evitando el contacto entre ambos.

Las dosis de inóculo, nitrógeno y fósforo se combinaron en todas las formas posibles, lo cual originó 18 tratamientos que se distribuyeron en el campo en un arreglo factorial de bloques al azar 3 x 3 x 2, con cuatro repeticiones.

Cada parcela consistió de cuatro surcos de 4 m de longitud, separados entre sí a 50 cm, con una distancia entre plantas de aproximadamente 5 cm. La distancia entre parcelas y entre bloques fue de 50 cm y 1 m respectivamente. Como parcela útil se consideró únicamente los dos surcos centrales, eliminando 50 cm de ambos extremos de cada surco (3 m²). La contaminación por escorrentía se logró evitar mediante la construcción de surcos entre las hileras comunicados a un desagüe común, paralelo a cada uno de los bloques. La contaminación mecánica de las parcelas se evitó al máximo, siguiendo las sugerencias de Vincent (21), para este tipo de experimentos.

El muestreo de nódulos se hizo también con base en recomendaciones de Vincent (21). Esta operación consiste en extraer al azar diez plantas con competencia completa de los extremos de los bordes de los cuatro surcos, pero empleando extremos opuestos en cada uno de los muestreos. La extracción de los nódulos se hizo con humedecimiento previo del suelo. Finalmente los datos se computaron como número de nódulos por diez plantas, siguiendo el mismo sistema empleado en otras investigaciones similares (5, 13).

El criterio para realizar el muestreo de nódulos a los 24 y a los 98 días después de la siembra se hizo tomando como base los criterios de Vincent (21) y las recomendaciones de INTSOY (11) para este tipo de experimentos.

Para medir el rendimiento, se secó la semilla y se determinó su contenido de humedad; posteriormente se hizo la corrección del peso a 12% de humedad. El análisis de proteína cruda se hizo mediante el método micro-Kjeldahl (1).

RESULTADOS Y DISCUSION

El presente es el primer trabajo que se realiza en Costa Rica a nivel de campo sobre la inoculación y la fertilización nitrogenada y fosfórica del frijol de soya. La inexistencia de información previa en este tipo de investigaciones ofrece como principal dificultad la selección de las dosis de los elementos que se someten a estudio. No obstante, las dosis ampliamente espaciadas de nitrógeno y fósforo que se seleccionaron, así como los resultados altamente significativos que se obtuvieron de los efectos principales, permitieron derivar una información básica para futuras investigaciones.

Efecto de la inoculación y del fertilizante nitrogenado sobre la nodulación y el rendimiento

El análisis de varianza mostró que el efecto del inóculo sobre la nodulación a los 24 días de la siembra resultó ser altamente significativo (P < 0,01). Los mejores tratamientos produjeron un promedio de 5 a 6 nódulos por planta (Cuadro 1), localizados en la raíz principal, lo cual puede considerarse como indicador de una buena nodulación, según el criterio de Burton (3). Resultados similares han sido obtenidos en otras investigaciones (5, 13, 22), en suelos que nunca habían sido inoculados. Igualmente significativo resultó el efecto del inóculo sobre la nodulación a los 98 días de la siembra.

Asimismo, se obtuvo un aumento significativo (P < 0,05) en el rendimiento también como consecuencia de la inoculación. Este resultado cuenta también con el apoyo de varios trabajos realizados bajo condiciones tropicales (5,13). Se pone en evidencia de esta manera que la inoculación de la soya es un aspecto de importancia relevante y como tal debe recibir especial atención en la producción comercial de esta leguminosa en Costa Rica.

El fertilizante nitrogenado por el contrario, mostró un efecto negativo altamente significativo (P < 0,01) sobre el número de nódulos a los 24 días después de la siembra. Igualmente significativa resultó la interacción nitrógeno por inó-

Cuadro 1. Efecto de la inoculación con *Rhizobium* y de algunas dosis crecientes de nitrógeno y fósforo sobre la nodulación, el rendimiento y el contenido de proteína del frijol de soya.

	Tratamientos kg/ha		Nódulos / 10 plantas		Rendimiento	Contenido de proteína
	N	P ₂ O ₅	a 24 días	a 98 días	g/3m²	%
	00	000	06	17	685,5	37,63
	00	150	07	95	821,8	38,06
<u>o</u>	00	300	16	156	1078,8	37,59
Sin Inóculo	60	000	05	74	869,8	37,99
<u>l</u> nó	60	150	03	79	901,0	36,80
<u>,</u> <u>=</u>	60	300	07	87	963,5	36,07
S	120	000	05	99	737,8	38,79
	120	150	02	09	899,8	38,05
	120	300	04	99	983,5	38,31
<u>o</u>		222	50	007		
	00	000	56	237	848,3 1062,8 1112,8	39,06
	00	150	43	346		38,47
	00	300	47	480		38,97
χςπ	60	000	33	259	836,0	39,25
<u>2</u>	60	150	33	386	945,5	39,62
Con Inóculo	60	300	34	442	994,5	38,64
	120	000	05	279	827,5	40,24
	120	150	14	324	886,5	38,31
	120	300	10	357	861,8	38,67
	D.M.S.	(0,05)	20	223	153,4	2,25

culo sobre la nodulación también a los 24 días (Fig. 1). Este efecto antagónico del nitrógeno sobre la nodulación y la fijación simbiótica ha sido demostrada por muchos investigadores (9, 12, 15, 17). Las bases moleculares que explican los efectos negativos del nitrógeno en el proceso de fijación del elemento también han sido estudiadas con profundidad (3).

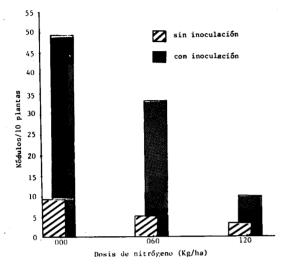


Fig. 1. Efecto de la interacción del fertilizante nitrogenado y la inoculación con *R. japonicum* sobre la nodulación de la soya a los 24 días de la siembra.

Un aspecto sobresaliente de la presente investigación resulta el hecho de que no se obtuvo efecto significativo alguno del nitrógeno sobre el rendimiento, aún con dosis de 120 kg/ha. Al contrario, el nitrógeno causó una reducción significativa del rendimiento (P < 0.05) cuando se inoculó la semilla, según se ilustra en la Fig. 2. Estos resultados muestran que la inoculación junto con el nitrógeno disponible en el suelo fue suficiente para dar el mayor rendimiento. Resta por conocer si dosis menores de 60 kg/ha de N dan mejores. resultados que los obtenidos, pues es sabido que tanto el nitrógeno que la soya absorbe del suelo como el nitrógeno atmosférico son complementarios para un máximo rendimiento en esta leguminosa (9). Chesney (4) en apoyo de los resultados obtenidos ha llegado a encontrar reducciones en el rendimiento atribuibles al fertilizante nitrogenado, hasta de 373 kg/ha con respecto al tratamiento testigo (con inóculo).

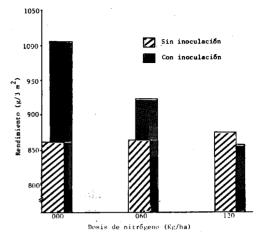


Fig. 2. Efecto de la interacción del fertilizante nitrogenado y la inoculación con R. japonicum sobre el rendimiento de la soya.

No se detectó ningún efecto del nitrógeno en la formación de nódulos a los 98 días. Después de tres o cuatro semanas de la siembra prolifera la formación de nódulos en las raíces secundarias, lo cual no es necesariamente indicador de una nodulación eficiente (3), esto lógicamente hace más difícil medir diferencias en la nodulación debidas a los tratamientos.

Efecto del inóculo y de la fertilización nitrogenada y fosfórica sobre el contenido de proteína

La inoculación de la semilla aumentó en forma altamente sifnificativa (P< 0,01) el contenido de proteína de la semilla. (Fig. 3). Estos resultados cuentan con suficiente apoyo experimental (6, 18). El nitrógeno y el fósforo por el contrario no mostraron ningún efecto positivo en el contenido de proteína de la semilla, en concordancia con los resultados obtenidos por Chesney (4).

Efecto del fósforo sobre la radulación y el rendi-

El fósforo juega un papel importante en la nodulación, ya que por una parte favorece el desarrollo radical y a su vez incrementa la actividad de los nódulos (15). En el presente estudio, el fósforo no mostró ningún efecto sobre el número de nódulos a los 24 días de la siembra, aunque sí pro-

dujo un aumento altamente significativo (P<0,01) en el número de nódulos según recuento a los 98 días, tal y como se ilustra en la Fig. 4. Este comportamiento se atribuye a la solubilidad lenta del fósforo. Es bien sabido que la fijación del fósforo en suelos arcillosos (cual es el caso del suelo de la parcela experimental en este estudio) es muy alta, de tal manera que solamente en el segundo muestreo de nódulos se pudo medir el buen aprovechamiento de este elemento en la nodulación. Los efectos positivos del fósforo sobre la nodulación han sido mostrados en diferentes investigaciones (8, 12).

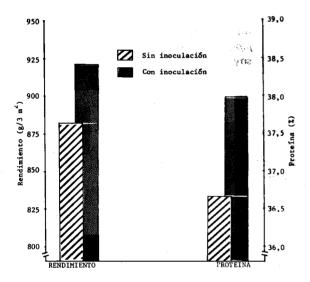


Fig. 3. Efecto de la inoculación con R. japonicum sobre el rendimiento y contenido de proteína del frijol de soya.

El efecto positivo de la fertilización fosfórica sobre el rendimiento resultó también altamente significativa (P < 0.01). (Fig. 5). Esta respuesta de la soya a la fertilización fosfórica era de esperar dado el bajo contenido del elemento en la parcela experimental ($7 \mu g/ml$ de suelo). Estos resultados confirman las conclusiones de otros investigadores sobre el papel relevante del fósforo en el rendimiento de la soya (4, 7, 8, 12, 15). Contrario a los resultados obtenidos en otras investigaciones (4). no hubo interacción nitrógeno por fósforo en relación con la nodulación, el rendimiento o el contenido de proteína.

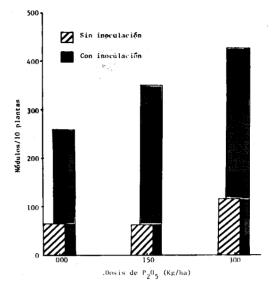


Fig. 4. Efecto de dosis crecientes de fósforo y la inoculación con *R. japonicum* sobre la nodulación de la soya a los 98 días de la siembra.

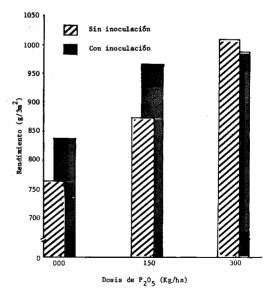


Fig. 5. Efecto de dosis crecientes de fósforo (P₂O₅) y la inoculación con *R. japo*nicum sobre el rendimiento del frijol de soya.

RESUMEN

Se estudió el efecto de la inoculación con Rhizobium japonicum y de la fertilización nitrogenada v fosfórica sobre el rendimiento v el contenido de proteína del frijol de sova (Glycine max L. Merr. var. Jupiter). El estudio tuvo lugar en la Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno en Alaiuela. El suelo se clasificó como un Ustropept típico con fertilidad moderadamente baja. Las dosis de inóculo, nitrógeno y fósforo que se estudiaron fueron las siguientes: inóculo, 0 y 4,4 g/kg de semilla; N2, 0, 60 y 120 kg/ha y P2O5, 0, 150 y 300 kg/ha. Se usó inoculante tipo "turba pulverizada" suplido por la casa comercial North American Plant Breeders (NAPB), y adherente NPW-44 de la misma casa a razón de 0,5 g/kg de semilla. Como fuentes de nitrógeno y fósforo se usó NH₄NO₃ y superfosfato triple respectivamente. El nitrógeno se aplicó en forma fraccionada, una mitad al momento de la siembra y la otra 25 días después. Se aplicó además una base de potasio (60 kg/ha) y elementos menores. Los tratamientos se distribuyeron en un arreglo factorial 3 x 3 x 2 con cuatro repeticiones.

Se encontró un efecto altamente significativo (P < 0,01) del inóculo sobre la formación de nódulos a los 24 y a los 98 días de la siembra,

así como en el rendimiento y el contenido de proteína de la semilla. El nitrógeno por el contrario mostró un efecto negativo (P < 0.01) sobre el número de nódulos a los 24 días; igualmente significativa resultó la interacción N x inóculo sobre la nodulación también a los 24 días. Sin embargo, no hubo efecto del nitrógeno sobre la formación de nódulos a los 98 días de la siembra. El nitrógeno no mostró efecto significativo en el rendimiento cuando no se inoculó la semilla. El efecto del nitrógeno al contrario resultó negativo y significativo (P < 0.05) en el rendimiento cuando se usó inoculante.

El fósforo no afectó significativamente la nodulación a los 24 días de la siembra, aunque sí incrementó en forma altamente significativa el número de nódulos a los 98 días. Igualmente significativo (P < 0,01) resultó el aumento en el rendimiento como respuesta a la fertilización fosfórica. No hubo efecto de la interacción P x N sobre el rendimiento y el contenido de proteína de la semilla. Tampoco se encontraron efectos individuales del N y el P sobre el contenido de proteína.

Se hace ver la importancia económica de la inoculación de la soya con R. japonicum y la necesidad de estudiar la respuesta de esta leguminosa a dosis bajas de nitrógeno en Costa Rica.

LITERATURA CITADA

- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMIST. Approved Methods. Crude Protein: Micro Kjeldahl Method V2: 46-13. 1976.
- BRILL, U.J. Biological nitrogen fixation. Scientific American 237: 68-81. 1977.
- BURTON, J.C. Problems in obtaining adecuate inoculation of soybeans. In: World Soybeans Research L.D. Hill (Ed.). The Interstate & Publishers Inc. Illinois. 1976. pp. 170-179.
- CHESNEY, H.A. Performance of soybeans in the Wet Tropics as affected by N-P and K. Agronomy Journal. 65: 887-889. 1973.

- CHESNEY, H.A. Performance of soybeans in Guyana as affected by inoculum (Rhizobium japonicum) and nitrogen. Turrialba 23: 91-96. 1973.
- GOMEZ, R.P. A soja. Editora Livraria Nobel S.A. Sao Paulo, Brasil. 1976. 151 p.
- GONZALEZ, V.R. Investigación sobre el frijol de soya en Cañas, Guanacaste. MAG (C.R.). Boletín Técnico N° 55. 1969. 20 p.
- HANSON, R.G. Soybeans need for phosphorus for adequate nodulation. Better crops with plant food. Potash & Phosphate Institute. 62: 26-27, Winter 1978-1979.
- HARPER, J.E. Soils and symbiotic nitrogen requirements for optimun soybeans productions. Crop Science 14: 255-260. 1974.

- HINSON, K. Jupiter: a new soybean variety for tropical latitudes. Florida Agricultural Experiment Station. University of Florida. Circular S-217 1972. 12 p.
- 11. INTERNATIONAL SOYBEAN PROGRAM.
 Instructions of the International soybeans variety evaluation experiment. Department of Agronomy. University of Illinois, U.S.A. 1975. 18 p.
- INTERNATIONAL INSTITUTE OF TROPICAL AGRICULTURE. Seed coating and fertilizer studies in soybeans. In: Annual Report 1974. Ibadan, Nigeria, 1974. pp. 112-114.
- 13. INTERNATIONAL INSTITUTE OF TROPICAL AGRICULTURE. Nitrogen uptake and fixation in cowpea and soybean. *In:* Research highlights 1977. Ibadan, Nigeria, 1978, pp. 43-46.
- 14. INTERNATIONAL INSTITUTE OF TROPICAL AGRICULTURE. Soybeans-Rhizobial symbiosis. *In:* Research highlights. 1978. Ibadan, Nigeria, 1979, pp. 5-12.
- NELSON, W.L. Fertilization of soybeans. Oleagineux 26: 101-106. 1971.
- PESEK, J., STANFORD, G. y CASE N.L. Nitrogen production and uses. In: Fertilizers Technology and uses. Olson, Army, Hanway v Kilmer (Eds.) Soil Science Society of America Inc. 1971, pp. 217-270.

- SALINAS, J.D. Efecto de la inoculación y la fertilización nitrogenada sobre la producción en soya. Tesis de Magister Scientiae. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 1973. 76 p.
- 18. SILVA, R.M., SEDIYAMA, C.S. y SEDIYAMA. T. Adubação nitrogenada, inoculação e aplicação de "Fritas" de micronutrientes na cultura da soja. Universidad Federal Viçosa, Brasil. Revista Ceres 24: 163-169. 177.
- SILVA, R.M., VIEIRA, C., SEDIYAMA, C.S., ANDRADE, A.M.S., ALMEIDA FILHO, J. DE y BRAGA. J.M. Comportamento de duas variedades de soya em diferentes espaçamentos de plantio e niveles de adubação no triangulo Mineiro. Universidad Federal Viçosa, Brasil. Revista Ceres, 24: 306-337. 1977.
- VEST, G., WEDER, D.F. y SLOGER, C. Nodulation and nitrogen fixation in soybeans. In:
 Soybeans: Improvement, production and uses. D.E. Caldwell (Ed.) American Society of Agronomy. Wisconsin. 1973. pp. 353-390.
- VINCENT, J.M. Manual práctico de rizobiología. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. 1973. 200 p.
- WEAVER, D.F. y FREDERICK, L.R. Effect of inoculum rate on competitive nodulation of Glycine max: Field studies. Agronomy Journal 66: 233-235, 1974.