

**RESPUESTA DE LA SOYA (*Glycine max* Merr.)  
A LA INOCULACION CON DIVERSAS CEPAS  
DE *Rhizobium japonicum* EN LIBERIA, GUANACASTE<sup>1/\*</sup>**

Oscar Acuña\*\*  
Carlos Ramírez\*\*  
Rafael Montero\*\*\*  
Eduardo Mata\*\*\*\*

**ABSTRACT**

Response of soybean (*Glycine max* Merr.) in Liberia, Guanacaste to the inoculation with several strains of *Rhizobium japonicum*. The effects on nodulation, nitrogen nutrition and yield of soybeans (*G. max* Merr c.v. Júpiter) of the strains of *R. japonicum* alone and in different combinations from the strain collection taken from the Soil Microbiology Laboratory of the Center for Agronomical Research, University of Costa Rica, namely CR 502, CR 506 (TAL 337), CR 508 (Semia 587) and CR 514 (Semia 5019), were evaluated. The inoculants were prepared in peat as a carrier; the field experiment was planted in an Andic Ustic Humitropept near the city of Liberia. For comparison a multiple-strain inoculant sold by Nitragin Co., United States of America, was also included in the experiment. At 50 % flowering, nodule dry weight, plant dry matter and total nitrogen were determined; plant height, number of pods per plant and yield per plot were also determined at harvest.

Single strain inoculants prepared with strains CR 506 and CR 514, and the mixture of these strains with CR 502 yielded the highest values regarding nodules dry weight, plant dry matter and nitrogen content of the plants. At harvest there was no significant difference between strains in plant height and number of pods per plant. When seed yield was evaluated, the highest values (statistically significant) were obtained with single-strain inoculants prepared with CR 506 and CR 514. None of the inoculant formulations that included these strains gave similar results, which shows that interstrain competition in multiple strain inoculants cannot be of practical value because of its adverse effects on yield.

1/ Recibido para su publicación el 5 de octubre de 1986.

\* Trabajo financiado por el proyecto de Ciencia y Tecnología CONICIT-AID.

\*\* Laboratorio de Microbiología de Suelos, Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica.

\*\*\* Centro Universitario Regional de Guanacaste, Universidad de Costa Rica, Liberia, Costa Rica.

\*\*\*\* Fundación Costarricense Productora de Alimentos, Tirrases de Curridabat, Costa Rica.

**INTRODUCCION**

Entre las prácticas agronómicas importantes para obtener rendimientos altos en el cultivo de la soya en Costa Rica, está la inoculación de las semillas con cepas eficientes de *Rhizobium japonicum*, pues la misma asegura una buena nodulación y fijación de nitrógeno. Esto es relevante en suelos vírgenes para el cultivo de la soya, donde ocurre una nodulación muy pobre cuando no se inocula, aunque en ocasiones se observan nódulos activos en raíces secundarias después de la floración.

En suelos cultivados de soya las cepas de *Rhizobium* presentes tienen generalmente un rango de efectividad que va de altamente eficiente a ineficiente, lo cual afecta el crecimiento del hospedero (Diatloff y Brockwell, 1976; Singleton y Stockinger, 1983; Sloger, 1969; Weaver y Frederick, 1974). La competencia por sitios de nodulación entre las cepas inoculadas y las nativas tiene una profunda influencia sobre el éxito de la nodulación (Abel y Endman, 1964), e incluso, la competencia se puede establecer entre cepas de un inoculante multicepa (Diatloff y Brockwell, 1976; Singleton y Stockinger, 1983; Skrdleta, 1973; Weaver y Frederick, 1974).

La habilidad competitiva depende en gran parte del número de bacterias en el inoculante, de la selectividad del hospedero y de los factores climáticos y de suelo (Skrdleta, 1973; Weaver y Frederick, 1974). Dado que la interacción cepa y cultivar es determinante en el funcionamiento de la simbiosis, al grado de afectar el rendimiento (Abel y Endman, 1964), el presente trabajo tuvo por objetivo estudiar, bajo condiciones de campo, el comportamiento de diversas cepas incluidas en inoculantes en diferentes combinaciones, con el fin de recabar información sobre la mejor opción de inoculación para la soya.

## MATERIALES Y METODOS

El experimento se estableció en el Centro Regional de Guanacaste, de la Universidad de Costa Rica, ubicada en el cantón de Liberia, provincia de Guanacaste, cuyas coordenadas geográficas son 10° 33' 15" latitud norte y 85° 21' 50" longitud oeste. La clasificación y caracterización química del suelo en que se sembró el experimento aparece en el Cuadro 1.

La siembra del experimento se realizó en el mes de agosto de 1985, empleando semilla de soya cv. Júpiter. Se utilizó un diseño de bloques al azar con 4 repeticiones en hileras espaciadas a 60 cm; la parcela experimental fue de 6 hileras con 4 m de largo. Para evaluar producción se dejaron las dos hileras centrales, con una área de 4m<sup>2</sup>. Los tratamientos aplicados consistieron en 10 inoculantes de los cuales 9 fueron locales y uno importado, además de un tratamiento sin inocular con una dosis de 150 kg N/ha y otro testigo (sin inocular y sin nitrógeno).

**Cuadro 1. Caracterización química del suelo, Liberia, Guanacaste.**

Materia Orgánica (%)	0,4
pH (H <sub>2</sub> O)	5,9
P (mg/kg)	39,0
Ca (cmol (+)/kg)	4,9
Mg (cmol (+)/kg)	1,8
K (cmol (+)/kg)	0,5
Al (cmol (+)/kg)	0,2
Fe (mg/kg)	Tr
Cu (mg/kg)	Tr
Zn (mg/kg)	1,0
Mn (mg/kg)	24,0
Clasificación	Andic Ustic Humitropept

## Preparación de inoculantes

Se realizó en el Laboratorio de Microbiología de Suelos del Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica. Todos los inoculantes utilizados fueron fabricados con 4 cepas de *Rhizobium japonicum* en diferentes combinaciones a saber CR 502 (aislamiento local), CR 506 (TAL 377), CR 508 (Semia 587) y CR 514 (Semia 5019) solas y en mezcla.

Todas las cepas crecieron en medio líquido levadura manitol (Vincent, 1980) por 8 días, con agitación constante. El caldo se inoculó a la turba de origen nacional, finamente molida y neutralizada con carbonato de calcio en una relación de 10% en peso. La relación caldo-turba fue de 1:2. Los inoculantes se prepararon en bolsas de polietileno en cantidades de 100 g y se les dio un período de maduración a temperatura ambiente por dos semanas, antes de almacenarlos en refrigeración hasta su uso.

Todos los tratamientos evaluados recibieron una fertilización base de 200 kg/ha de la fórmula 10-30-10.

## Inoculación de las semillas

Al momento de la siembra se inoculó la semilla de soya con el tratamiento adecuado, utili-

Cuadro 2. Efecto de cepas de *Rhizobium japonicum* sobre plantas de soya Júpiter cultivadas en un Andic Ustic Humitropept de Liberia, Guanacaste.

Número del tratamiento	Inoculantes (Cepas de <i>R. japonicum</i> )	50 % floración			Cosecha		
		Peso seco nódulos (g/5 plantas)	Peso seco foliar (g/5 plantas)	% N foliar	Altura de planta (cm)	Vainas por planta	Rendimiento kg/4m <sup>2</sup>
1	CR 502, CR 506, CR 508, CR 514	1,85 <sup>bcd*</sup>	65,46 <sup>bc*</sup>	3,64 <sup>a*</sup>	72,4 <sup>a*</sup>	34 <sup>a</sup>	1,21 <sup>b</sup>
2	CR 506, CR 508, CR 514	1,61 <sup>cd</sup>	49,85 <sup>d</sup>	3,47 <sup>a</sup>	75,6 <sup>a</sup>	30 <sup>a</sup>	1,07 <sup>b</sup>
3	CR 502, CR 508, CR 514	1,99 <sup>bcd</sup>	66,35 <sup>bc</sup>	2,78 <sup>b</sup>	75,1 <sup>a</sup>	36 <sup>a</sup>	1,16 <sup>b</sup>
4	CR 502, CR 506, CR 514	2,45 <sup>ab</sup>	63,14 <sup>bc</sup>	3,37 <sup>a</sup>	80,2 <sup>a</sup>	30 <sup>a</sup>	1,12 <sup>b</sup>
5	CR 502, CR 506, CR 508	1,22 <sup>de</sup>	60,86 <sup>bc</sup>	3,44 <sup>a</sup>	72,0 <sup>a</sup>	35 <sup>a</sup>	1,20 <sup>b</sup>
6	CR 502	0,26 <sup>f</sup>	55,95 <sup>cd</sup>	2,57 <sup>b</sup>	71,1 <sup>a</sup>	34 <sup>a</sup>	1,14 <sup>b</sup>
7	CR 506	2,75 <sup>ab</sup>	71,76 <sup>ab</sup>	3,49 <sup>a</sup>	73,5 <sup>a</sup>	30 <sup>a</sup>	1,40 <sup>a</sup>
8	CR 508	1,04 <sup>de</sup>	59,19 <sup>bc</sup>	3,46 <sup>a</sup>	70,7 <sup>a</sup>	29 <sup>a</sup>	1,09 <sup>b</sup>
9	CR 514	2,87 <sup>a</sup>	75,71 <sup>ab</sup>	3,14 <sup>ab</sup>	77,9 <sup>a</sup>	32 <sup>a</sup>	1,39 <sup>a</sup>
10	Nitragin	0,76 <sup>ef</sup>	51,95 <sup>d</sup>	3,39 <sup>a</sup>	74,4 <sup>a</sup>	29 <sup>a</sup>	1,08 <sup>b</sup>
11	150 kg N/ha	0,0 <sup>f</sup>	76,12 <sup>a</sup>	3,53 <sup>a</sup>	76,1 <sup>a</sup>	31 <sup>a</sup>	1,23 <sup>ab</sup>
12	Testigo absoluto	0,15 <sup>f</sup>	53,08 <sup>d</sup>	2,12 <sup>b</sup>	70,0 <sup>a</sup>	30 <sup>a</sup>	1,07 <sup>b</sup>

\* Valores seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de Duncan al 0,05.

zando goma arábiga como adherente. La dosis de inoculación fue de 10 g de inoculante por kg de semilla.

Cada vez que se sembró un tratamiento se lavó el material empleado para así evitar contaminaciones. La siembra se realizó a mano a 10 cm entre plantas.

#### Variables

Las variables evaluadas fueron: peso seco foliar, peso seco de nódulos y porcentaje de nitrógeno (por el método de Kjeldhal), todos al 50 % de floración. A la cosecha se evaluó la altura de la planta, el número de vainas y la producción total por parcela.

### RESULTADOS Y DISCUSION

El efecto de los inoculantes sobre las variables determinadas en el cultivo al 50% de la floración mostró diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ) entre tratamientos.

Los inoculantes que favorecieron la nodulación fueron el 9 (cepa CR 514), el 7 (CR 506) y el 4 (CR 502, CR 506 y CR 514) cuyos pesos secos de nódulos por parcela fueron 2,87 g, 2,75 g y 2,45 g, respectivamente. Los menores pesos secos se obtuvieron con el tratamiento con 150kg N/ha (0,0 g) el testigo (0,15 g), la cepa CR 502 (0,26 g) y el Nitragin (0,76 g). Todos los demás inoculantes presentaron valores de peso seco de nódulos superiores a éstos (Cuadro 2). Esto confirma, no solamente que hay respuesta diferencial del cultivar Júpiter a las diversas cepas empleadas, sino también a las diferentes combinaciones de cepas en los inoculantes. Este mismo comportamiento se presentó con la variable peso seco, no así para el % N foliar. Es notable además la mejor respuesta de inoculantes unicepa como el 9 y 7 sobre el inoculante comercial Nitragin que es multicepa.

El tratamiento de 150kg N/ha pesó 76,12 g/5 plantas, seguido del inoculante 9 (CR 514) con 75,71 g y el inoculante 7 (CR 506) con 71,76 g. Los valores más bajos se obtuvieron con el inocu-

lante 2 (CR 506, CR 508, CR 514) con 49,85 g, el inoculante Nitragin (51,95 g) y el testigo (53,08 g). Todos los demás inoculantes presentaron valores medios (Cuadro 2).

Cuando se evaluó el porcentaje de nitrógeno foliar, todos los inoculantes a excepción del testigo (2,12% de N), el inoculante 3 (CR 502, CR 508 y CR 514) con 2,78% y el 6 (CR 502) con 2,57% de N presentaron porcentajes superiores a 3 y no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ellos (Cuadro 2).

Todos los resultados demuestran que los inoculantes producidos con una sola cepa, especialmente con la CR 514 y la CR 506 presentaron una mayor efectividad en la nodulación de la soya, lo mismo que un mayor desarrollo del cultivo. Este efecto también se observó cuando ambas cepas estaban en mezcla con otra, lo que demuestra su alta capacidad competitiva manteniendo su potencial de efectividad en la fijación de nitrógeno. Cuando se evaluó el inoculante multicepa, lo mismo que el de la Compañía Nitragin (que es multicepa) la efectividad de la fijación fue reducida debido, posiblemente, a la competencia por sitios de nodulación entre las cepas mezcladas, lo que impidió la nodulación y por ende la expresión de capacidad fijadora de las mejores cepas en la mezcla.

Esta observación, basada en parámetros usuales de evaluación de la respuesta a la inoculación (Meiner y Gross, 1980) es de gran importancia práctica pues sugiere la inconveniencia del uso, en el caso del cultivar de soya Júpiter y posiblemente de otros también, de inoculantes multicepa, por la competencia que se puede establecer entre las mismas. Esta competencia afectó el rendimiento del cultivo. El otro inconveniente que se puede presentar es la colonización o naturalización del suelo por cepas mediocres en la mezcla, que puede dar problemas de competencia cuando posteriormente se trate de introducir en el mismo suelo cepas élite de *R. japonicum* en inoculantes unicepa.

En todas las variables evaluadas el testigo (sin inoculante), mostró los valores más bajos, lo que demuestra la importancia de la inoculación en la soya para favorecer el desarrollo general de la planta.

Cuando se evaluó el efecto de los tratamientos sobre la cosecha de la soya, no se obtuvo respuesta significativa en la altura de la planta ni entre el número de vainas por planta. La altura

presentó valores entre 70 cm (en el testigo) hasta 77,9 cm (cepa CR 514) y 80,2 cm con el inoculante 4, y el número de vainas fue de 30 en el testigo, y de 36 en el inoculante 3 (Cuadro 2). Estos resultados demuestran que ambas variables no determinan el grado de efectividad y competitividad de los inoculantes en el cultivo de la soya.

En peso de grano los valores más altos se obtuvieron con los inoculantes 7 (cepa CR 506) y 9 (cepa CR 514), seguidos del tratamiento con 150 kg N/ha, cuyas producciones fueron de 1,40; 1,39 y 1,23 kg de grano/parcela de 4m<sup>2</sup>, respectivamente. Con el testigo y el inoculante 2 (1,07 kg/parcela) se obtuvo las producciones más bajas. Todos los demás inoculantes presentaron valores semejantes al testigo (Cuadro 2).

Estos resultados muestran que cuando el ciclo de desarrollo de la planta y la acumulación de N (evaluados al 50% de floración) se ven favorecidos, se obtendrán mejores rendimientos del cultivo. Así, los inoculantes de *Rhizobium japonicum* CR 506 y CR 514 producidos con una sola cepa, favorecieron las condiciones de crecimiento y producción del cultivo de la soya. La efectividad de estas cepas, sin embargo, se vio reducida cuando se mezclan con otras cepas menos efectivas, las cuales impidieron la expresión de su capacidad fijadora máxima. Así, aparentemente es más beneficioso producir inoculantes con una sola cepa altamente eficiente y compatible con un cultivar dado y no con mezclas de cepas en donde la eficiencia de la fijación de una cepa se ve reducida por la competitividad con otras. Se recomienda usar la misma estrategia con otros cultivares y zonas de crecimiento para optimizar la respuesta a la inoculación del cultivo de soya en Costa Rica.

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de cuatro cepas de *Rhizobium japonicum* de la colección del Laboratorio de Microbiología de Suelos del Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, CR 502, CR 506 (TAL 377), CR 508 (Semia 587) y CR 514 (Semia 5019), solas y en diversas combinaciones sobre la nodulación, fijación de nitrógeno y producción del cultivo de soya (*G. max* Merr.). Los inoculantes se prepararon en suelo de turba como acarreador y el experimento se llevó a cabo en un suelo Andic Ustic Humitropept situado cerca de la ciudad de Liberia, Provincia de Guanacaste, Costa Rica. Con fines comparati-

vos se incluyó un inoculante multicepa producido por la Compañía Nitragin de los Estados Unidos de América. Se determinó el peso seco de nódulos, peso seco foliar y porcentaje de nitrógeno, cuando el cultivo estaba en un 50% de floración, y la altura de plantas, número de vainas por planta, y producción por parcela a la cosecha.

Los inoculantes producidos con una sola cepa, utilizando la CR 506 en un caso y la CR 514 en otro, favorecieron grandemente el peso seco de nódulos y el peso foliar, así como el porcentaje de nitrógeno. Este mismo efecto se observó cuando se emplearon inoculantes producidos con estas dos cepas y la CR 502. No hubo diferencia significativa entre cepas para las variables altura y número de vainas, pero cuando se evaluó la producción de grano se obtuvo los valores más altos con las cepas CR 506 y CR 514. Ninguno de los inoculantes mixtos que incluyeron estas cepas dieron resultados aceptables, lo cual demuestra que la competencia entre cepas en un inoculante multicepa puede tener resultados adversos.

#### LITERATURA CITADA

- ABEL, G.; ENDMAN, L. 1964. Response of soybeans to different strains of *Rhizobium japonicum*. *Agronomy Journal* 56: 423-424.
- DIATLOFF, A.; BROCKWELL, J. 1976. Ecological studies of root-nodule bacteria introduced into field environments. 4. Symbiotic properties of *Rhizobium japonicum* and competitive success in nodulation of two *Glycine max* cultivars by effective and ineffective strains. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 16: 514-521.
- MEINER, C. A.; GROSS, H. D. 1980. Some guidelines for the evaluation of the need for and response to inoculation of tropical legumes. North Carolina Agricultural Research Service, Technical Bulletin no. 265. 59 p.
- SINGLETON, P.; STOCKINGER, K. 1983. Compensation against ineffective nodulation in soybean. *Crop Science* 23: 69-72.
- SKRDLETA, V. 1973. Competition between inoculum strains of *Rhizobium japonicum* in the process of soybean nodulation during three planting periods. *Folia Microbiol.* 18: 341-347.
- SLOGER, C. 1969. Symbiotic effectiveness and N<sub>2</sub> fixation in nodulated soybean. *Plant Physiology* 44: 1666-1668.
- VINCENT, J. M. 1970. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. IBP handbook no. 15. Oxford, England, Blackwell Scientific Publications, 164 p.
- WEAVER, R.; FREDERICK, L. 1974. Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max* L. 1. Greenhouse studies. *Agronomy Journal* 66: 229-232.