

# EVALUACIÓN EN LABORATORIO DEL GRADO DE TOLERANCIA A *PHYTOPHTHORA SPP* DE DIEZ VARIEDADES COMERCIALES DE SOYA, *GLYCINE MAX (L.) MERR*

## LABORATORY EVALUATION OF THE DEGREE OF TOLERANCE TO *PHYTOPHTHORA SPP* OF TEN COMMERCIAL SOYBEAN VARIETIES, *GLYCINE MAX (L.) MERR*

LINO LAGUNA, P., ÁVILA CÉSPEDES, M. I.

### RESUMEN

La soya es uno de los cultivos más importantes en el mundo, tanto a nivel económico, como a nivel de la industria alimentaria, con más de 100 millones de hectareas cultivadas a escala global, esto es un factor de suma importancia en Bolivia, debido a que nuestro país ocupa el décimo lugar en cuanto a producción a pesar de que los rendimientos rondan los 1,5 a 2,3 toneladas, el cambio climático y la baja tecnología e investigación a nivel agronómico en cuanto a enfermedades son causas que han impulsado la presente investigación. Evaluar cómo diferentes variedades comerciales muestran susceptibilidad o tolerancia, a *Phytophthora spp* a través de escalas y cuantificación de daños; es crucial para el desarrollo tecnológico en el área agrícola como para el manejo de semillas y variedades, llegando a evitar que el patógeno se convierta en una amenaza a futuro, como por ejemplo en Argentina, Colombia y Paraguay donde se han realizado reportes que concluyeron en daños entre 40% y 70% a la producción dependiendo del país. Se analizaron dos métodos de inoculación para determinar el óptimo a utilizar y obtener así datos más estables y de mayor confianza, estos métodos fueron el método de inserción de micelio al hipocótilo y el de discos de agar, siendo el primero el que dio resultados más cuantificables y estables. Al analizar el comportamiento de las variedades a través de los datos obtenidos gracias al método de la inoculación al hipocótilo para la presente investigación, la variedad Nidera y Negrita fueron las demostraron un mayor grado de tolerancia, Negrita con un promedio de daño de 2,9 cm y Nidera con un promedio de daño de 3,1 cm, entrando en la categoría de medianamente tolerantes en la escala elaborada, pues los daños se encuentran entre 2,5 y 5 cm.

### ABSTRACT

The correlation that exists between the Dynamic Cone Penetrometer, D.C.P and California Support Ratio test in situ, C.B.R., obtained by collecting D.C.P indices in the field and the results obtained by C.B.R. in situ, carried out for civil works projects in the city of Santa Cruz de la Sierra for silty soils. The granulometric tests are necessary for the classification of soil, since the work and the correlation obtained are carried out for the type of silty soil. The characterization tests are essential to recognize the type of soil with which the section will be worked and thus be able to apply the methodology of the equation obtained through this statistical analysis. The D.C.P. and C.B.R. in situ will allow us to obtain the shear stress of the soil through different methodologies and parameters considered in the field, the established correlation will allow us to establish a comparison and broaden the criteria for pavement design. With the analysis of the results, it would be possible to determine the characteristics of the soil with an equation that takes into account parameters and characteristics of the type of silty soil in the city of Santa Cruz de Sierra. The results obtained from the correlation are reliable data with a value that indicates a high correlation, demonstrating the correlation between both tests, complying with the parameters indicated by the ASTM standards in reference to obtaining the shear stress of the soil. For purposes of this work, it is considered feasible to apply the equation obtained through statistical analysis for silty soils, since the results obtained show us the value of a correlation between both methodologies.

### PALABRAS CLAVE

Fitopatología,  
*Phytophthora spp.*,  
*Soya Glycine Max (L.) Merr*,  
Tolerancia.

### KEYWORDS

phytopathology,  
*Phytophthora spp.*,  
*Soy Glycine Max (L.) Merr*,  
Tolerance.

## INTRODUCCIÓN

La soya es la oleaginosa más importante del mundo, con más de 120 millones de hectáreas y una producción de 362,08 millones de toneladas métricas en la campaña 2018/2019. La soya es un commodity, es decir, es una materia prima, en este caso agroindustrial, que se convierte en otros productos, como aceites, combustibles, etc., que cotizan en el mercado de valores. (Llanos, 2019)

En el 2019 Bolivia se encontraba en el décimo segundo lugar en cuanto a rendimientos, con 1,93 t/ha, mientras que en el 2021 fue de 2,3 t/ha, habiendo aumentando un 19% en relación con el 2019, según datos del INE. Aun así, Bolivia no llega a superar las 3 toneladas como EE.UU., Brasil o Argentina, siendo esto atribuido a diversos factores, abióticos como bióticos, como el desgaste de los suelos sobre explotados por los monocultivos, el incremento en la severidad de las enfermedades, la resistencia de las malezas o factores climáticos. Por lo anterior, la producción de nuevas variedades se encuentra en constante desarrollo, así como el buscar que se apruebe el uso de biotecnología vegetal.

El uso de variedades transgénicas es común dentro de la región cruceña, aunque sólo es permitido el evento de resistencia al glifosato, mientras que cada año se liberan propuestas de nuevas variedades al mercado, donde se prioriza la resistencia a enfermedades y tolerancia a problemas climáticos, como la sequía.

Teniendo en cuenta que la superficie cultivada se encuentra concentrada en la zona este y en la zona integrada con dos campañas anuales, invierno y verano, con una producción en conjunto de más de 3 millones de toneladas, los reportes de daño por pudrición en el tallo y *damping-off* en las zonas productoras ha generado una gran preocupación acerca de qué variedades son recomendables para mejorar la producción. Puesto que aún no se encuentra evaluado el daño, se tiene el temor que la especie del género *Phytophthora spp.* se conviertan en una amenaza más en el departamento cruceño. (ANAPO, 2021)

Las enfermedades en el cultivo de la soya se pueden presentar en cualquier estadio, desde su germinación hasta su madurez fisiológica, cuyas repercusiones van a afectar tanto el desarrollo como la reproducción y la producción de granos, ya sea para consumo alimenticio, como su industrialización, por lo que el uso de variedades adecuadas y con tolerancia a factores que puedan disminuir la producción son vitales para asegurar una buena rentabilidad. Por lo tanto, las enfermedades causadas por diversos agentes se presentan como uno de los factores limitantes dentro de los rendimientos del cultivo y la calidad del grano, influyendo en factores diversos dentro de la sociedad, como ser económicos, pues al tener un bajo rendimiento (10 a 15 % menos) existe una menor venta y, a la vez, una menor calidad influye en los consumidores, pues los derivados del cultivo de soya son artículos de primera necesidad. (López Cardona & López Casallas, 2022)

Determinar el nivel del daño producido por especies del género *Phytophthora spp.* a las distintas variedades, y así realizar un análisis comparativo que permita identificar sus niveles de incidencia y la susceptibilidad de cada variedad, ayudando a contribuir al desarrollo científico en Bolivia, brindando información sólida y actualizada.

## DESARROLLO

La ubicación geográfica del estudio: Sur del departamento de Santa Cruz, Bolivia, con las siguientes coordenadas: Latitud: 17°50'33.3"S y Longitud: 63°09'45.8"W.

Las condiciones de temperatura en la etapa de siembra hasta el momento de la inoculación oscilaron entre 25 a 30°C, y en la etapa de cámara húmeda entre 20-25 °C, siendo estas condiciones las óptimas.

En cuanto a humedad, la primera etapa fue entre 50 a 70 % de humedad, mientras que en la segunda etapa la humedad fue mayor al 60 %.

Materiales para la obtención del micelio: 2 kg de sustrato infectado, 100 semillas de variedades susceptibles (Munasqa y Semwest- 4795), bandeja con tapa, agua.

Materiales para el aislamiento: agujas, mecheros, placas Petri, PDA, agua destilada, alcohol.

Materiales para la siembra: macetas, tierra estéril, 30 semillas de cada variedad, agua

Materiales para la inoculación: Palillos mondadientes, Plántulas de soya, micelio puro, cobertor de plástico, agua.

Equipos: Cámara de aislamiento, autoclave, microscopio bifocal, estereoscopio, balanza.

La técnica de aislamiento que se utilizó es el aislamiento del suelo con cebo y a través del signo para su posterior purificación a través del repique.

La técnica de inoculación que se utilizó es la de inoculación directa al hipocótilo con discos de agar, desarrolladas en 1996. (Yorinori, 1996).

Se realizó un bioensayo a través de pruebas de patogenicidad utilizando como diseño experimental el completamente aleatorizado debido a la homogeneidad de los factores.

Los parámetros evaluados son los siguientes:

Escala cualitativa. Es la escala de susceptibilidad es reacción de las diferentes variedades a *Phytophthora spp.* siendo 1 tolerante y 5 susceptible.



Figura 1. Escala de susceptibilidad para *Phytophthora sojae* en soya.

Porcentaje de plántulas muertas. Es el porcentaje o proporción de individuos muertos en relación al total.

Longitud del daño. Es la longitud del daño se midió la expansión del hongo en los haces vasculares a partir del punto inoculado.

Para la evaluación de las variedades sin ningún tipo de contaminación y en condiciones óptimas, se procedió a utilizar un sustrato estéril y de buena estructura.

Para obtenerlo se realizaron los siguientes procedimientos:

Se evaporó la humedad y se secó el suelo, se distribuyó en bolsas de aproximadamente 2,5 kg para esterilizar en autoclave, se secó el sustrato ya estéril después de 15 minutos de esterilización.

Para la siembra de las diez variedades se procedió a la obtención de 5 plántulas de soja por repetición en 3 repeticiones idénticas por variedad de manera radial, intentando obtener una distancia idéntica entre plantas para evitar en lo posible el contagio por contacto fuera de la inoculación.

Se utilizó una porción de suelo infectado, proveniente de la zona integrada, de aproximadamente 2 kg, el cual no se expuso al sol para usarlo como hospedero. En una bandeja con tapa se sembraron 100 semillas, en el sustrato dos variedades susceptibles, la Munasqa y la SW-4795 en partes iguales, para después suministrarle 400-500 ml de agua, esperando de 15 a 30 minutos para que el agua se distribuya por todo el sustrato antes de taparlo. Finalmente, se incubó en una bandeja cerrada con plástico por 4 días, obteniendo el micelio blanquecino para el cebo.

Se procedió a la preparación de 250 ml de medio de cultivo PDA para ser vertido en 12 cajas Petri, previamente esterilizadas. Se procedió al aislamiento a través del signo (identificación morfológica y visual del micelio blanquecino filamentososo), para realizar el aislamiento en el cebo dentro de una cámara especializada.

En cada caja Petri se realizó la siembra en una disposición triangular para asegurar un buen crecimiento para la purificación que se realizaron una vez obtenidos los crecimientos.

Pasados entre 2 a 3 días, se procedió al repique y multiplicación del micelio, lo que se denomina "purificación", asegurando la presencia del patógeno, para la obtención de al menos una caja Petri con el micelio correspondiente por variedad.

Luego de alrededor de 24 horas, se obtuvo un crecimiento radial de un diámetro de alrededor de 4 cm. En el segundo día se desarrolló el micelio de forma vertical.

La inoculación se realizó luego de 12 días, respetando el parámetro, dado por varios autores, de entre 10 a 15 días, para obtener un tallo principal medianamente duro en estadio V3, de aproximadamente 1,5 cm de desarrollo de los cotiledones, donde se insertó un palillo mondadientes por plántula, además de colocar micelio directamente a la yemas axilares y apicales para observar que tipo de inoculación se desarrollaba de manera efectiva. Ver figura 2.

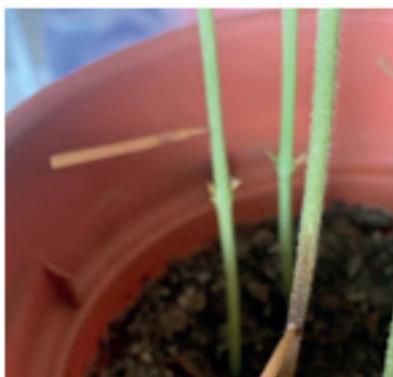


Figura 2. Palillos insertados en el tallo

Se realizaron tres repeticiones por cada variedad inoculando 4 plantas y dejando una planta testigo por repetición.

Por último, se procedió a colocarlas en una cámara húmeda que brindó el ambiente óptimo para el desarrollo y así asegurar la calidad de la inoculación, con humedad y temperatura entre 20 y 25 °C.

Se observó a través del crecimiento del inóculo, y la presencia de síntomas, que el desarrollo de la coloración oscura se produjo en mayor proporción a través del inóculo insertado en los palillos mondadientes en comparación con el micelio de contacto.



Figura 3. Apariencia de la planta testigo derecha y la planta 3 días post inoculación izquierda

Se seleccionó el método de inoculación con el micelio en el palillo a través de una prueba piloto, procediéndose con el protocolo elegido.

Se obtuvieron 5 plantas en cada repetición, tomando 4 repeticiones para evitar la contaminación del testigo, siendo un total de 20 plantas por variedad. Las plantas fueron obtenidas en condiciones de invernadero con sustrato esterilizado hasta el día 17, tiempo en que se realizó la inoculación, justo cuando el tallo alcanzó el grosor suficiente para poder facilitar la correcta inserción del inóculo.

Se dispuso de 4 repeticiones por variedad, siendo las 3 primeras para inocularse y la cuarta como testigo, con 5 plantas cada una. Luego de 17 días se procedió a la inoculación con palillos mondadientes estériles con micelio adherido, 1cm arriba del punto de desarrollo de cotiledones, en estadio vegetativo (V3).

Para finalizar el proceso de inoculación y asegurar su efectividad, se procedió a colocar las plantas en un ambiente húmedo cerrado, con temperaturas de alrededor de 20 a 27° C, adecuado para el crecimiento del hongo. Dicha temperatura fue controlada diariamente por alrededor de 8 días al igual que la humedad.

Pasados los 8 días de inoculación se realizó una medición de los daños en centímetros, tomando como datos de análisis la longitud de daño, es decir: cuánto desarrollo tuvo el hongo desde el punto inoculado, el porcentaje de plantas muertas y se elaboró una escala como clasificación del resumen de datos de cada variedad analizada.

El corte y la medición se realizó individualmente en cada plántula de las cuatro repeticiones.

Luego de 8 días de condiciones controladas en invernadero, temperatura y humedad, se realizó la extracción de cada planta para su evaluación por medio de la medición del daño observado al realizar un corte longitudinal al tallo.



Figura 4. Sintomatología de la planta y tallo de plantas altamente susceptible y tolerante. Las testigos están a la derecha

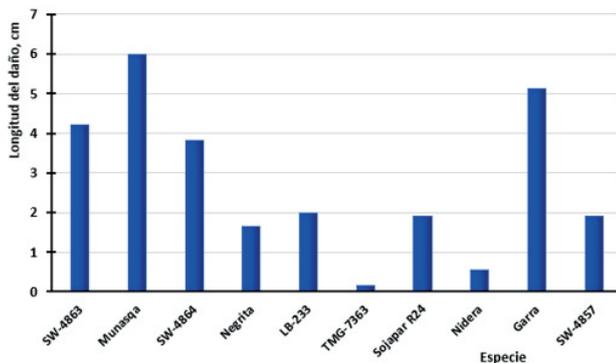


Figura 5. Promedio de la longitud de daño en variedades sin incluir a las plantas muertas.

En la figura 5, se puede observar que las variedades con mayor longitud de daño sin incluir a las plantas muertas, son la variedad Munasqa, Garra y SW-4863 con 6,0, 5,1 y 4,2 cm, respectivamente.

La cantidad de plantas muertas varió en las diferentes variedades inoculadas con el patógeno. La variedad que presentó la mayor cantidad de plantas muertas fue la TMG-7363 con un total de 9 plantas en las 3 repeticiones, es decir, un 60% de la variedad.

A las plantas clasificadas como “muertas”, se les asignó un valor de 20 cm, ya que con esa longitud de deterioro la plántula tiene dañado varios nudos y se la considera muerta, en estadio V3, por lo que este valor afecta el porcentaje de daños, como se observa en la figura 6.

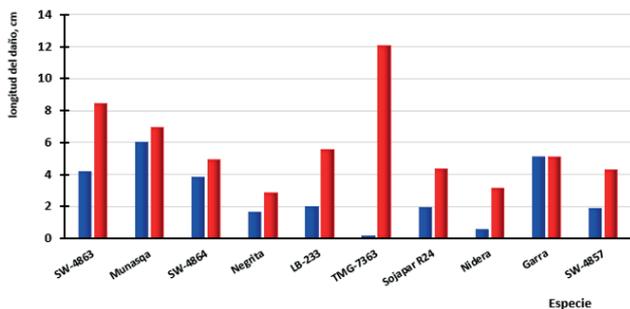


Figura 6. Diferencia de promedios en centímetros con plantas muertas

A pesar de lo mencionado, las variedades Munasqa, Garra, y SW-4864 presentan un mayor promedio en cuanto a la longitud de daño respectivamente, es decir, existe un daño considerable que no se ve reflejado en las plantas muertas, como se puede observar en la Figura 7.

En cuanto a las variedades que presentaron la menor cantidad de plantas muertas, en relación a la inoculación del patógeno, son la variedad Garra y SW-4857 con ninguna planta muerta y las variedades Munasqa, SW-4864 y Negrita con una planta muerta, representando el 7 % en cada variedad.

A continuación, en la figura 7, se puede observar que no existe una relación directa entre el número de plantas muertas (PM) y la longitud de daño presentado en cada variedad, por lo que una variedad puede ser más agresiva que otras desarrollando más rápido el daño hasta el punto de lastimar gravemente a

la plántula en comparación con otras variedades que pueden llegar a dañar a las plántulas sin necesidad de matarlas, como ser el caso de la variedad Garra.

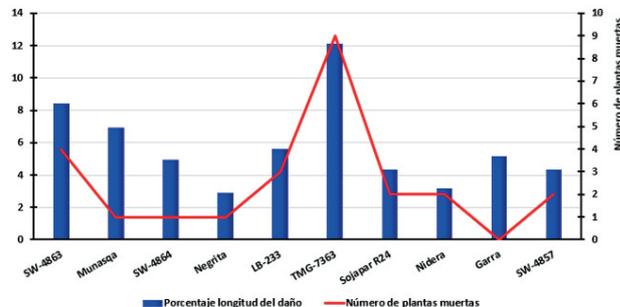


Figura 7. Relación de plantas muertas con el daño medido por variedad

Se elaboró una escala de tolerancia, la cual consta de 5 niveles, desde tolerante hasta altamente susceptible, con un rango de 2,5 cm de expansión del daño, desde el punto inoculado entre cada nivel a excepción del nivel 4, pues mayor a los 7,5 cm la planta queda considerablemente dañada por lo que se la considera susceptible y, cuando la planta se encuentra con un daño extendido que ha producido la pudrición irreparable del tallo, se la considera muerta.

Tabla 1. Escala de tolerancia en relación a la longitud del daño

Rangos de daño, cm	Nivel de tolerancia
0 – 2,5	Tolerante, T
2,5 – 5,0	Medianamente tolerante, MT
5,0 – 7,5	Medianamente susceptible, MS
7,5 – 13,0	Susceptible, S
Planta Muerta	Altamente susceptible, AS

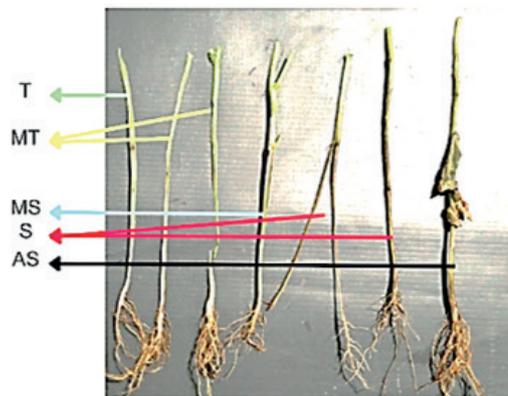


Figura 8. Escala de evaluación

En cuanto a la cantidad de plantas que corresponden a cada nivel, desde el menos dañado hasta el más susceptible, se presenta un resumen en la Tabla 2:

Tabla 2. Escala de plantas dañadas por variedad

Escala	Tolerante	Medianamente tolerante	Medianamente susceptible	Susceptible	Altamente susceptible
SW-4863	4	5	1	1	4
Munasqa	1	6	1	6	1
SW-4864	3	8	2	1	1
Negrita	12	2	0	0	1
LB-233	10	2	0	0	3
TMG-7363	6	0	0	0	9
Sojapar R24	9	4	0	0	2
Nidera	13	0	0	0	2
Garra	4	6	1	4	0
SW-4857	10	1	2	0	2

## CONCLUSIONES

No existe relación proporcional entre la cantidad de plantas muertas y la longitud de daño en centímetros, como se observa en figura 5, donde se muestra la relación de los promedios en cuanto al daño longitudinal en centímetros, sin contar las plantas muertas, y la cantidad de plantas muertas por variedad. La variedad "Garra", tiene un promedio de daño de 5,1 cm y ninguna planta muerta, mientras que la TMG-7363 presentó 9 plantas muertas y un promedio de daño de 0,2 cm.

Las variedades Negrita y Nidera, mostraron un grado mayor de tolerancia en relación a la longitud de daño a *Phytophthora spp.*, con un promedio de 2,9 cm y 3,1 cm en los haces vasculares, a partir del punto inoculado respectivamente, correspondiendo en el rango de 2,5 cm a 5,0 cm o grado 2 según la Escala de Tolerancia en relación a la longitud del daño, propuesta, lo que significa que son Medianamente Tolerantes. Por otro lado, se clasificó como una variedad Susceptible a TMG-7363 con una media de longitud de daño de 12,1 cm.

## REFERENCIAS

- ANAPO. (2021). MEMORIA ANUAL 2021.  
 LLANOS R., J. L. (2019). CADENA PRODUCTIVA DE SOYA.  
 LÓPEZ CARDONA, N., & LÓPEZ CASALLAS, M. (2022). EVALUACIÓN DE RESISTENCIA DE CULTIVARES DE SOYA (GLYCINE MAX L.) A AISLAMIENTOS DE PHYTOPHTHORA SOJAE KAUFM. & GERD. DE LA ALTILLANURA COLOMBIANA. REVISTA DE LA ACADEMIA COLOMBIANA DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, 42(164), 262-268. [HTTPS://DOI.ORG/10.18257/RACCEFYN.695](https://doi.org/10.18257/RACCEFYN.695)  
 YORINORI, T. (1996). TROPICAL MELHORAMENTO E GENÉTICA -TMG.

CITA

