



## **Crecimiento y respuesta antioxidante de soja sobre suelos sódicos en condiciones de maceta y campo**

**Aimetta, María Bethania<sup>1</sup>; Bustos, Dolores Angela<sup>2</sup>; Davidenco, Vanina<sup>3</sup>; Gudelj, Olga Esther<sup>1</sup>; Salvagiotti, Fernando<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> EEA INTA Marcos Juárez; <sup>2</sup> Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales (IFRGV) CIAP; <sup>3</sup> Universidad Nacional de Córdoba, <sup>4</sup> EEA INTA Oliveros  
E-mail: aimetta.bethania@inta.gov.ar

### **Resumen**

Con el objetivo evaluar el efecto del sodio sobre variables morfológicas y estrés oxidativo en genotipos de soja de origen comercial NA 5009 como tolerante y SYG 5X1 como sensible y el no comercial SIXTH MOON tolerante, materiales previamente caracterizados, se realizó un experimento de maceta (PSI: 38.74%) y otro a campo (PSI 24.97%). En estadio fenológico V2 se evaluó altura, biomasa, FRAP y MDA en hoja y en R5 biomasa y partición. La sodicidad en etapa temprana disminuyó el crecimiento independientemente del genotipo y la escala, mientras que en R5 redujo la producción en los comerciales. El FRAP disminuyó en maceta y a campo (con valores superiores) solo se redujo en el genotipo sensible. El MDA no se vio afectado en ninguna condición. SIXTH MOON no mostro beneficios sobre las variables morfofisiológicas evaluadas. Los resultados mostraron diferencias en función del sistema experimental y solo las variables morfológicas permitieron diferenciar genotipos.

**Palabras clave:** diferencia genotípica, FRAP, MDA

### **Introducción**

La soja (*Glycine max* L.) fue introducida en Argentina y seleccionada sobre la base de un grupo reducido de cultivares de gran plasticidad (Kopp et al., 1983) y alta variabilidad genética (Xu & Gai, 2003), estrechando la base genética y haciéndola vulnerable a los efectos adversos como la salinidad-sodicidad (Salines, 1997). Aunque la soja es moderadamente sensible a la salinidad (Katerji et al., 2003), existe variabilidad genética dentro de la especie (Velagaleti & Schweitzer, 1993). En estas condiciones se reduce el crecimiento (Amirjani, 2010; Essa, 2002) y disminuye la producción (Bustingorri & Lavado, 2013, 2011). Además, se altera la homeostasis y se acumulan especies reactivas del oxígeno (ERO: O<sub>2</sub><sup>-</sup>, OH<sup>-</sup> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Miller et al., 2010) que no alcanzan a ser degradadas por la defensa antioxidante y comienzan a oxidar diversos componentes celulares (Fridovich, 1986) como los lípidos. El sistema antioxidante es vital para evitar el estrés oxidativo aumentando la tolerancia (Chakraborty et al., 2018), y se puede evaluar mediante el contenido de FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) (Benzie & Strain, 1996), así como el daño de lípidos de membrana través de la concentración de malondialdehído (MDA) en los tejidos (Gill & Tuteja, 2010).

Una estrategia para el mejoramiento de soja en condiciones de sodicidad, podría ser encontrar variabilidad en la tolerancia utilizando genotipos silvestres (Xu et al., 2002) (no comerciales) identificados como tolerantes a salinidad (Chen et al., 2013) y que manifiesten



una mayor defensa antioxidante y limitado daño de lípidos (Chen et al., 2013) e incluirlos en programas de mejoramiento.

El objetivo fue evaluar el efecto del suelo sódico sobre variables morfológicas y estrés oxidativo en genotipos de soja de origen comercial y no comercial en condiciones de maceta y campo

## Materiales y métodos

### Condiciones generales y diseño experimental

El experimento en macetas se realizó en 2017, en el Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales (IFRGV) del INTA. En invernadero naturalmente iluminado, con control de la temperatura del aire ( $27.7 \pm 0.2$  °C) y la radiación fotosintéticamente activa ( $342 \pm 0.9$   $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) con equipamiento Cavadevices SA<sup>TM</sup> (Buenos Aires, Argentina). Con iluminación suplementaria con lámpara Powerstar HQI-T 400W/D (OSRAM), fotoperiodo 16:8 luz:oscuridad. El suelo se extrajo de los 20 cm superficiales en un complejo Co10 (sódico) con CU VIws y de un suelo no sódico (control) de la serie Marcos Juárez con CU I (**Cuadro 1**). Con diseño completamente aleatorizado y dos factores: suelo con dos niveles (sódico y no sódico) y genotipo con 3 niveles. Cada tratamiento fue replicado 3 veces y en cada maceta de 8 kg se trasplantaron 3 individuos de cada genotipo con semillas pre-germinadas en cámara húmeda a 28 °C durante 3 días. La humedad del sustrato se mantuvo a capacidad de campo.

**Cuadro 1: Características químicas del suelo en la profundidad 0-20 cm utilizado en el experimento de maceta y a campo.**

Parámetro	Suelo Maceta		Suelo Campo	
	No sódico	Sódico	No sódico	Sódico
pH (1:2.5)	5.92	8.64	6.59	8.35
Ce ( $\text{dS.m}^{-1}$ )	0.195	0.482	0.18	0.41
Cationes de intercambio (meq cada 100 g)				
Calcio	9.33	8.26	8.87	5.81
Magnesio	4.8	4.26	3.27	3.47
Sodio	0.48	8	1.66	6.87
Potasio	0.83	1	2.09	1.75
CIC	24.54	20.65	26.36	27.71
PSI (%)	1.96	38.74	6.05	24.97

El experimento de campo se realizó en la localidad de San Marcos Sud, departamento Unión, en la provincia de Córdoba ( $32.616346^\circ$  S,  $62.441489^\circ$  W con 115 msnm). Posee temperatura media anual de 17,05 °C y régimen de precipitaciones de 793 mm anuales. El suelo es un complejo (Co 10) con 50% de suelos alcalino-sódicos (INTA, 1979) (**Cuadro 1**). El diseño experimental fue en bloques completos aleatorizados con dos factores, suelo y genotipo, replicado 4 veces. Se realizó una selección previa de los bloques “manchones” con sodio y no sódico (control) según el crecimiento aéreo de avena. La capa freática sulfatada-sódica se encontraba al metro de profundidad durante todo ciclo. La siembra en 2019 fue en parcelas de 4 surcos de 6 metros y distancia entre surcos de 0.52 m, con 35 semillas. $\text{m}^{-1}$  lineal.

Los genotipos de soja utilizados fueron dos comerciales de buen comportamiento productivo en la RECSO del sudeste de Córdoba (2015-2016), de los cuales uno fue tolerante a sodicidad (NA 5009) y otro sensible (SYG 5X1) según ensayos previos, y un genotipo no comercial tolerante a salinidad (SIXTH MOON) proveniente del banco de germoplasma del USDA almacenado en INTA Marcos Juárez.

## Mediciones realizadas

En condiciones de campo y en maceta se determinó:

- Altura de plantas (cm) a los 23 días, desde el nudo cotiledonar hasta el ápice.
- Peso seco de la biomasa aérea a los 23 días, se cosechó una planta en V2-V3, cortando en el nudo cotiledonar y se llevaron a 60 °C en estufa hasta peso constante.
- Variables asociadas al estrés oxidativo: a la cosecha en V2-V3 se extrajo el foliolo central de la segunda hoja trifoliada de cada planta, se colocó en N líquido y se conservaron a -80° C. A partir de 1 g de peso fresco de hoja se realizó una extracción alcohólica, para la cuantificación de la capacidad antioxidante total por FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) (Benzie & Strain, 1996) y la concentración de malondialdehído (MDA) (Hodges *et al.*, 1999; modificado por Taulavuori *et al.*, 2001).

Además, en los experimentos a campo se determinó:

- Biomasa y partición ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) en R5 (85 días): se cosecharon 1.04  $\text{m}^2$  de plantas separando biomasa vegetativa de la biomasa reproductiva, se contó el n° de vainas. $\text{m}^2$  y se secaron a 60 °C con estufa hasta peso constante.

## Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron a través de un ANAVA utilizando el software Infostat (Di-Rienzo *et al.*, 2017). Se analizó con como modelos mixtos (MLM), considerando suelo, genotipo y la interacción *suelo x genotipo* como factores fijos, mientras que repetición/bloque se consideró como aleatorio.

## Resultados y discusión

### Variables de crecimiento

La altura y biomasa aérea medida en el estado de V2-V3 en maceta disminuyeron un 34 y 68% respectivamente en suelo sódico respecto al control no sódico (Cuadro 2). Además, se encontraron diferencias entre genotipos solo en altura, donde el de mayor valor fue el no comercial SIXTH MOON que superó en 2.9 cm la altura promedio. Estudios previos mostraron, luego de 4 semanas, reducciones en la altura y la biomasa aérea en 38 genotipos de soja sometidos a 80 Mm ( $\approx 7.8 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ ) de NaCl (Hasan *et al.*, 2016). Si bien los antecedentes en sodicidad/alcalinidad son escasos, Coale *et al.* (1984) con diferentes suelos sódicos y salino-sódicos en macetas detectaron que las plantas no prosperaron con  $6.8 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$  de Ce y 75% de PSI. Además, encontraron disminuciones de hasta un 44% en el peso de la biomasa con un suelo de 55% de PSI y  $3.20 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ .

En el experimento en condiciones de campo, se observó interacción *suelo x genotipo* significativa para la altura de las plantas ( $p < 0.05$ ) en V2-V3 (Cuadro 2). El genotipo no comercial mostro la mayor altura en el suelo control, mientras que en suelo sódico la altura fue similar en todos los genotipos. Al igual que en el experimento en macetas, la biomasa en suelo sódico disminuyó un 60%, sin diferencias entre los genotipos. En condiciones similares de cultivo a campo Gill (2010), reportó que la acumulación de biomasa aérea fue afectada conforme al incremento en la sodicidad en una relación casi lineal.

En el experimento en condiciones de campo los materiales alcanzaron la etapa reproductiva, permitiendo evaluar los efectos del sodio en estado avanzado. Según Board & Tan (1995), el periodo de R1 a R5.5 es el más sensible ante un estrés ambiental en la determinación del número de vainas, y se correlaciona con el rendimiento final del cultivo. En R5 la biomasa aérea en el suelo sódico cayó un 87% respecto al control (Cuadro 2). El número y peso de las vainas manifestó una interacción significativa *suelo x genotipo*, dada por los valores mínimos obtenidos para SIXTH MOON en ambos suelos (). Los comerciales disminuyeron el número y peso de las vainas en suelo sódico un 87 y 92% respectivamente en NA 5009 y un 83 y 87% respectivamente en SYG 5X1. Además, ambos comerciales se

comportaron igual a pesar de la sensibilidad de SYG 5X1 en maceta. Antecedentes previos han mostrado caídas en el número de plantas, altura, biomasa y de hasta el 50% en la producción de granos (Aimetta et al., 2017; Gill, 2010; Milán & Bonadeo, 2017).

### Variables fisiológicas

**En ambos genotipos tolerantes NA 5009 y SIXTH MOON los valores de FRAP se redujeron en el suelo sódico un 45% respecto al suelo no sódico (**

Gráfico 2).

**La evaluación a campo con los tres genotipos manifestó una interacción suelo x genotipo significativa ( $p < 0.05$ ) donde el FRAP en SYG 5X1 fue un 35% menor en suelo sódico respecto al no sódico (**

Gráfico 2), mientras que los genotipos NA 5009 y SIXTH MOON no mostraron diferencias entre suelos. Resultados similares fueron reportados por Ergo *et al.* (2018) en condiciones de campo durante el llenado de granos, con disminuciones en FRAP del 27 y 23% en respuesta a estrés térmico e hídrico respectivamente.

**En el experimento en maceta, el daño de lípidos de membrana no presentó cambios debido al suelo o genotipo (**

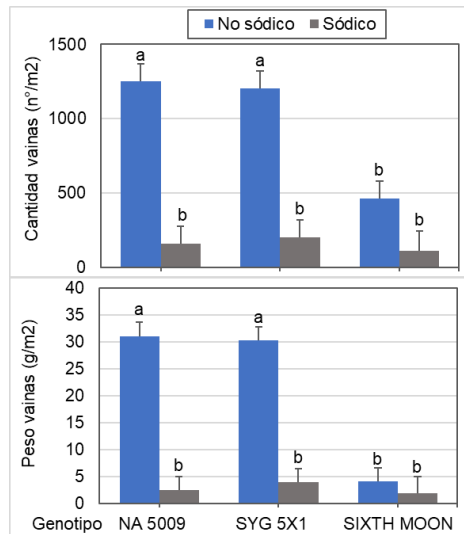
Gráfico 2), aun cuando otros autores informaron que el MDA aumentó en el genotipo sensible ante estrés hídrico (Guzzo *et al.*, 2020) y también en condiciones de salinidad (Malekzadeh, 2015), en contraste a lo observado por Chen *et al.* (2013) que detectaron menor MDA en un genotipo silvestre respecto al cultivado en concentraciones altas de NaCl.

**Cuadro 2: Valores medios de las variables morfológicas en estado de V2-V3 y R5 de los genotipos por suelo en condiciones de maceta y campo.**

Factor	Maceta (V2-V3)		Campo (V2-V3)		Campo R5	
	Altura	Biomasa	Altura	Biomasa	Biomasa	
	(cm)	(g.planta <sup>-1</sup> )	(cm)	(g.pta <sup>-1</sup> )	(g.m <sup>-2</sup> )	
Suelo	No sódico	13.73 a	0.85 a	8.1	0.57 a	155 a
	Sódico	9.03 b	0.27 b	7.1	0.23 b	19.8 b
Genotipo	NA 5009	10.84 b	0.59 a	7.6 ab	0.34 a	90.2 a
	SYG 5X1	9.04 b	0.49 a	6.2 b	0.41 a	95.6 a
	SIXTH MOON	14.25 a	0.59 a	9 a	0.45 a	76.5 a
Tipo de suelo	0.0001	<0.0001	0.0817	0.0008	0.0001	
Genotipo	0.0009	0.1431	0.0041	0.5229	0.8313	
Tipo de suelo x Genotipo	0.5433	0.3292	0.0454	0.2786	0.569	

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) según MLM y test LSD Fisher.

**Gráfico 1: Valores medios del número y peso de vainas en R5 de los genotipos en condiciones de campo.**

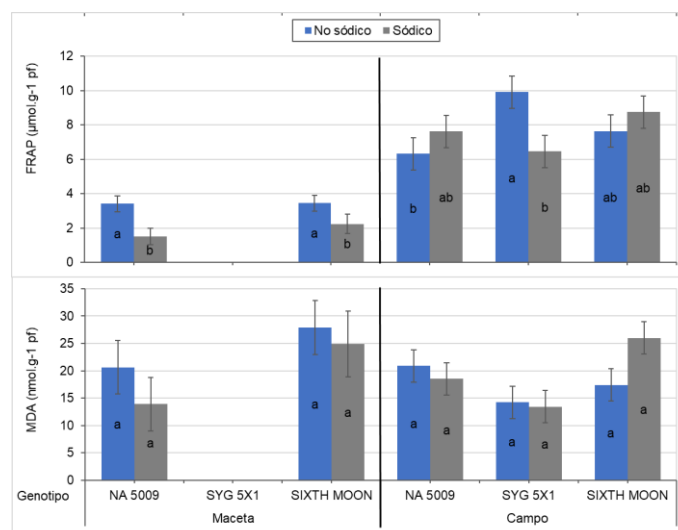


Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) según MLM y test LCD de Fisher. Las barras indican el error estándar.

**A pesar de las variaciones encontradas en FRAP, no fue posible detectar diferencias significativas en el MDA a campo (**

**Gráfico 2).** Si bien la prueba de MDA es muy sensible, en estrés severo la reacción puede carecer de precisión y especificidad (Davey et al., 2005). Es un metabolito intermedio que puede reaccionar con otros compuestos produciendo interferencias espectrofotométricas (Kosugi & Kikugawa, 1989). Antecedentes en condiciones de estrés hídrico no han detectado cambios en MDA (Ergo et al., 2018), mientras que otros reportan incrementos en el sensible y mantenimiento en el tolerante NA 5009 (Guzzo et al., 2020).

**Gráfico 2: Valores de FRAP y MDA de los genotipos en suelo no salino y salino de maceta y campo.**



Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) según MLM y test LCD de Fisher. Las barras indican el error estándar.

## Conclusiones

La sodicidad afectó a los genotipos según el estado de desarrollo, en etapa temprana disminuyó el crecimiento independientemente del genotipo y la escala. En el ensayo a campo se observó una reducción en la producción de los genotipos comerciales. El FRAP disminuyó en suelo sódico en maceta, pero a campo (con valores superiores) solo se redujo en el genotipo sensible, mientras no afectó el MDA en cualquier condición. Los resultados mostraron diferencias en función del sistema experimental y las variables morfológicas permitieron diferenciar genotipos.

## Bibliografía

- Aimetta, M. B., Villarruel, D., Murgio, M., Carrio, A., Muñoz, S., Cazorla, C., Baigorria, T. (2017). Efecto de la variabilidad de suelos manchoneados sobre el crecimiento y producción del cultivo de soja. *Actualización Técnica de soja N° 9*, 73–80.
- Amirjani, M. (2010). Effect of salinity stress on growth, mineral composition, proline content, antioxidant enzymes of soybean. *American Journal of Plant Physiology*, 5(6), 350–360.
- Benzie, I., & Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76.
- Board, J. E., & Tan, Q. (1995). Assimilatory capacity effects on soybean yield components and pod number. *Crop Science*, 35, 846–851.
- Bustingorri, C., & Lavado, R. (2013). Soybean response and ion accumulation under sprinkler irrigation with sodium-rich saline water. *Journal of Plant Nutrition*, 36(11), 1743–1753.
- Bustingorri, C., & Lavado, R. S. (2011). Soybean growth under stable versus peak salinity. *Sci.Agric.*, 68(January February), 102–108.
- Chakraborty, K., Basak, N., Bhaduri, D., Ray, S., Vijayan, J., Chattopadhyay, K., & Sarkar, R. K. (2018). Ionic basis of salt tolerance in plants: nutrient homeostasis and oxidative stress tolerance. In M. Hasanuzzaman, M. Fujita, H. Oku, K. Nahar, & B. Hawrylak-Nowak (Eds.), *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance* (pp. 325–362). Springer.
- Chen, P., Yan, K., Shao, H., & Zhao, S. (2013). Physiological mechanisms for high salt tolerance in wild soybean (*Glycine soja*) from Yellow river delta, China: photosynthesis, osmotic regulation, ion flux and antioxidant capacity. *PLoS ONE*, 8(12), e83227.
- Coale, F. J., Evangelou, V. P., & Grove, J. H. (1984). Effects of saline-sodic soil chemistry on soybean mineral composition and stomatal resistance. *Journal of Environment Quality*, 13(4), 635.
- Davey, M. W., Stals, E., Panis, B., Keulemans, J., & Swennen, R. L. (2005). High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. *Anal. Bioch.*, 347, 201–207.
- Di-Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. (2017). Infostat - Software estadístico. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Ergo, V. V., Lascano, R., Vega, C. R. C., Parola, R., & Carrera, C. S. (2018). Heat and water stressed field-grown soybean: A multivariate study on the relationship between physiological-biochemical traits and yield. *Environmental and Experimental Botany*, 148(December 2017), 1–11.
- Essa, T. A. (2002). Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 188, 86–93.
- Fridovich, I. (1986). Biological effects of the superoxide radical. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 247(1), 1–11.
- Gill, H. (2010). Effects of soil sodicity on the germination, growth and productivity of Soybean (*Glycine max*). 19th World Congress of Soil Science.

- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909–930.
- Guzzo, M. C., Costamagna, C., Salloum, M. S., Rotundo, J. L., Monteoliva, M. I., & Luna, C. M. (2020). Morpho-physiological traits associated with drought responses in soybean (*Glycine max* L.). *Crop Science*.
- Hasan, M. K., Nasiruddin, K. M., & Hossain, A. K. M. S. (2016). In vitro screening of soybean genotypes under salinity stress. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 4(2), 207–212.
- Hodges, D. M., Delong, J. M., Forney, C. F., & Prange, R. K. (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds, 207, 604–611.
- INTA. (1979). Carta de suelos de la República Argentina Hoja 3363-11 Leones. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Centro de Investigación de Recursos Naturales.
- Katerji, N., Van Hoorn, J. W., Hamdy, A., & Mastrorilli, M. (2003). Salinity effect on crop development and yield, analysis of salt tolerance according to several classification methods. *Agricultural Water Management*, 62(1), 37–66.
- Kopp, V. J., Sierra, E., & Murphy, G. M. (1983). Orígenes de los cultivares de soja más difundidos en la Argentina. VIII Reunión Técnica Nacional de Soja, 27–46.
- Kosugi, H., & Kikugawa, K. (1989). Thiobarbituric acid-reactive substances from peroxidized lipids. *Free Radical Biology and Medicine*, 7, 205–207.
- Malekzadeh, P. (2015). Influence of exogenous application of glycinebetaine on antioxidative system and growth of salt-stressed soybean seedlings (*Glycine max* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 21, 225–232.
- Milán, C., & Bonadeo, E. (2017). Efecto de la aplicación de yeso sobre la capacidad productiva de un suelo sódico de alta variabilidad espacial. *Ciencia Del Suelo*, 35(2), 315–323.
- Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., & Mittler, R. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell and Environment*, 33(4), 453–467.
- Salines, L. (1997). Mejoramiento. In E. J. Baigorri & L. Giorda (Eds.), *El cultivo de la soja en Argentina* (pp. 54–86). Córdoba, Argentina: INTA.
- Taulavuori, E., Hellstro, E., Taulavuori, K., & Laine, K. (2001). Comparison of two methods used to analyse lipid peroxidation from *Vaccinium myrtillus* (L.) during snow removal, reacclimation and cold acclimation. *Journal of Experimental Botany*, 52(365), 2375–2380.
- Velagaleti, R., & Schweitzer, S. (1993). General effects of salt stress on growth and symbiotic nitrogen fixation in soybean. *Plant and Crop Stress*, 461–471.
- Xu, D. H., Abe, J., Gai, J. Y., & Shimamoto, Y. (2002). Diversity of chloroplast DNA SSRs in wild and cultivated soybeans: Evidence for multiple origins of cultivated soybean. *Theor. Appl. Genet.*, 105(5), 645–653.
- Xu, D. H., & Gai, J. Y. (2003). Genetic diversity of wild and cultivated soybeans growing in China revealed by RAPD analysis. *Plant Breed.*, 122(6), 503–506.