

I. INTRODUCCIÓN	69
II. MATERIAL Y MÉTODOS	70
III. RESULTADOS OBTENIDOS ..	71
IV. CONCLUSIONES	78
V. RESUMEN Y SUMMARY	78
VI. BIBLIOGRAFÍA	79

LA ASOCIACION RHIZOBIUM-LEGUMINOSAS EN
ALFALFARES DE LA PROVINCIA DE CORDOBA
PRIMERA ETAPA. SELECCION DE CEPAS AUTOCTONAS
DE RHIZOBIUM MELILOTI: DETERMINACION DE
EFECTIVIDAD, INFECTIVIDAD Y ESPECIFICIDAD
CULTIVAR/CEPA

ROBERTO PEDRO PONTE y MARÍA R. COUTO DE FAEDÓ ¹

I. INTRODUCCION

Gran parte de los alfalfares de la zona de influencia de la E.E.A. Manfredi, presentan nodulación con cepas de Rhizobium autóctonas. Si bien se puede pensar que la nodulación existente puede ser mejorable por inoculación artificial, la presencia de nódulos casi generalizada indica una distribución de la bacteria en el suelo. Del comportamiento de estas cepas, nada se conoce.

Hasta ahora, la fuente primaria de todos los inoculantes, la constituyen poblaciones naturales. Para la selección deben considerarse además de la capacidad de fijación de Nitrógeno, capacidad de establecimiento en el suelo, supervivencia en número relativamente alto en los años subsiguientes a la inoculación y capacidad competitiva entre otros, habiéndose propuesto como carácter umbral el de sobrevivencia en suelo por ser éste su nicho

¹ Ings. Agrs., Prof. Adjunto y Ex-Profesora Adjunta, respectivamente, de la Cátedra de Microbiología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba.

ecológico de alternativa (4). O sea que la capacidad de fijación de Nitrógeno debe contravalorarse con la capacidad de adaptación al ambiente.

Se han citado varios casos respecto del comportamiento diferente de cepas microbianas, frente a factores distintos (1). Sin embargo, hay muy poca información experimental y parámetros útiles que provean una base para comprender la ocurrencia y dominancia de grupos microbianos específicos, en ecosistemas individuales. Se han propuesto muy pocos criterios ecológicos básicos para explicar la adaptación de microorganismos al ambiente físico, como así también, el aparente valor adaptativo de caracteres distintivos fisiológicos y genéticos.

Se admite que los microorganismos están potencialmente en cualquier parte, y es el carácter del hábitat el que selecciona y determina la distribución y dominación de géneros y especies; pero el ambiente crítico determinante y la naturaleza de la adaptación a las condiciones impuestas por el ecosistema (ajustes bioquímicos con o sin cambios genotípicos), no están todavía resueltos.

En el caso particular del área en estudio (zona central semi-árida de la Provincia de Córdoba), donde la mayor parte de los alfalfares presentan nodulación, como primera aproximación y para franquear los problemas ecológicos de inadaptación o competencia de cepas introducidas, los cuales son difíciles de evaluar y por otra parte de modificar, se estudian las cualidades de las cepas autóctonas, seleccionando entre las aisladas las de mayor capacidad de fijación de Nitrógeno en la simbiosis y su respuesta a distintos cultivares de alfalfa.

Sean o no, las cepas autóctonas las universalmente más aptas en la simbiosis, el conocimiento de sus características constituye el punto de partida en un programa de inoculación artificial.

II. MATERIAL Y METODOS

a) *Cepas*

Fueron obtenidas desde nódulos de plantas de alfalfares crecidos en la zona y aisladas por estría de jugo nodular en medio Extracto de levadura-Manitol-Rojo Congo. Se identificaron por la

capacidad de infección en condiciones bacteriológicamente controladas sobre *Medicago sativa* var. Selección Manfredi. Infectividad y eficiencia de las cepas aisladas se realizaron de acuerdo a Vincent (7), utilizando para plantas testigo con Nitrógeno el agregado al medio de NO_3K al 0,5‰.

b) Semillas

Se utilizó para la primera selección, la var. Selección Manfredi, tamizada para homogeneización de tamaño. Pregerminadas se pasaron a tubos con medio de Jensen agarizado, una semilla por tubo. Se bacterizaron con cultivos de *Rhizobium* estandarizados en fase exponencial de crecimiento. Las plántulas crecieron en cámara climatizada.

Las selectas se compararon con otras de distinto origen entre *Medicago sativa* cult. Selección Manfredi.
cult. Polihíbrido Manfredi
cult. Scantamburlo

c) Evaluación

La evaluación de la cantidad de Nitrógeno fijado se realizó por el peso seco de la parte aérea, el cual ha demostrado una alta correlación con el contenido de Nitrógeno total en algunas cepas probadas (3-5-6).

Se aislaron 100 cepas que pasaron a ensayo de efectividad de las cuales se seleccionaron 25. Esta preselección abarca cepas de distinta capacidad de fijación de Nitrógeno en la simbiosis, como conjunto representativo de todas las aisladas.

III. RESULTADOS OBTENIDOS

A) Selección de las cepas autóctonas entre *Medicago sativa* cultivar Selección Manfredi.

El análisis de la varianza para 26 tratamientos y 6 repeticiones es:

Causas de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F _c	F _{t_{0,5}}	F _{t_{c,1}}
Tratamientos	0,1159	25	0,0046	106,9767	1,59	1,90
Error Experimental	0,0057	130	0,000043			
<i>Total</i>	0,1216	155				

Las diferencias entre medias de los tratamientos son altamente significativas, las cuales fueron analizadas por la prueba de Duncan (2). Cuadros I y II, para los niveles de 5 % y 1 % respectivamente. La fig. 1 muestra la respuesta a la fijación de Nitrógeno por las cepas probadas sobre alfalfa cult. Selección Manfredi.

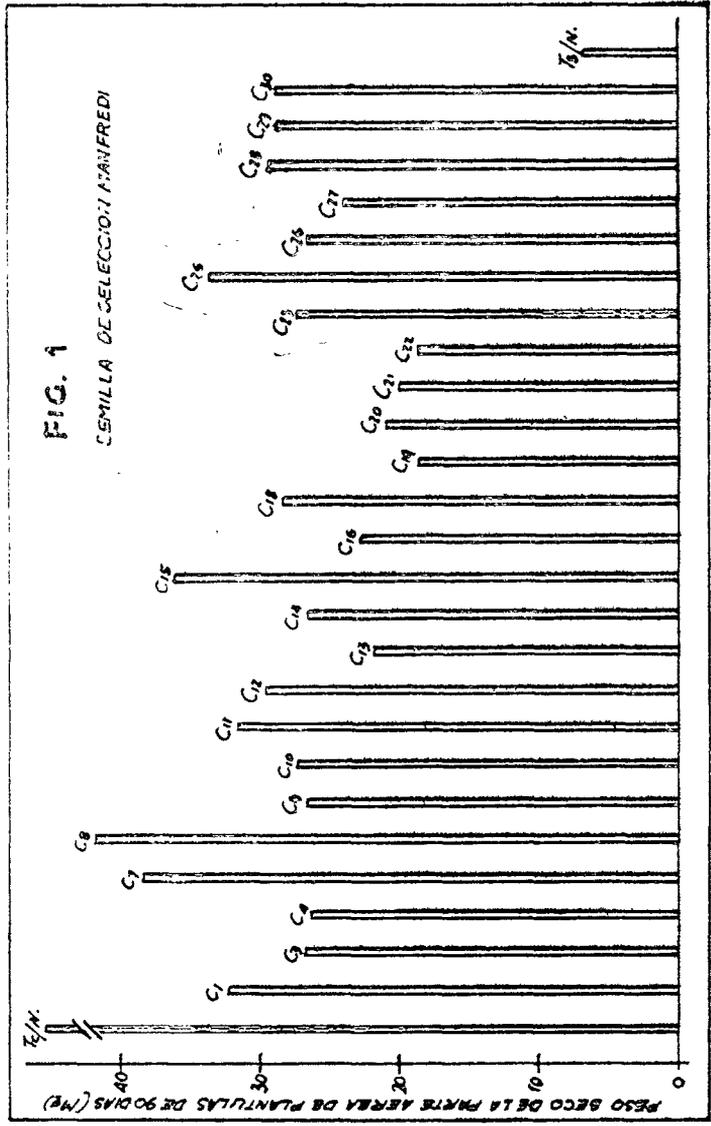
B) Comportamiento de las cepas selectas y comparación con otras de distinto origen sobre cultivares de alfalfa: Selección Manfredi, Polihíbrido Manfredi y Scantamburlo.

Causas de Variación	S.C	G.L.	C.M.	F _c	F _{t_{0,5}}	F _{t_{c,1}}
Tratamientos	0,0079	17	0,000464	35,6923	1,785	2,257
Error Experimental	0,0010	72	0,000013			
<i>Total</i>	0,0089	89				

Las diferencias altamente significativas entre medias fueron analizadas según la prueba de Duncan. Cuadros III y IV. La fig. 2 denota las diferencias de las cepas analizadas frente a los distintos cultivares de alfalfa utilizados.

FIG. 1

SEMILLA DE SELECCION MANFREDI



CUADRO N° III. TEST DE DUNCAN PARA UN NIVEL DE 5% (15%)

6	5	4	12	7	14	10	9	8	11	15	13	16	3	1	18	2	11
56,2	33,0	29,5	24,6	21,2	19,8	19,5	19,4	18,7	16,9	16,5	14,6	0,76	06,6	06,3	04,2	05,9	03,2

REFERENCIAS

- 1 = $\frac{1}{2}$ /N P.M.
- 2 = $\frac{1}{4}$ /N S.
- 3 = $\frac{1}{4}$ /N S.M.
- 4 = $\frac{1}{2}$ /N P.M.
- 5 = $\frac{1}{2}$ /N S.
- 6 = $\frac{1}{2}$ /N S.M.
- 7 = C₈ P.M.
- 8 = C₈ S.
- 9 = C₈ S.M.
- 10 = C₁₆ P.M.
- 11 = C₁₆ S.
- 12 = C₁₆ S.M.
- 13 = U₁₆ P.M.
- 14 = U₁₆ S.
- 15 = U₁₆ S.M.
- 16 = U₃₂ P.M.
- 17 = U₃₂ S.
- 18 = U₃₂ S.M.

s/N = SIN NITROGENO
 c/N = CON NITROGENO
 P.M. = SEMILLA POLIHIBRIDO MANFREDI
 S.M. = SEMILLA SELECCION MANFREDI
 S. = SEMILLA SCATAMBURLO

CUADRO IV. TEST DE DUNCAN PARA NIVEL DE 1% (194)

6	5	4	12	7	14	10	9	8	11	15	13	16	3	1	18	2	17
36.2	35	29.5	24.6	21.2	19.8	19.5	18.4	18.7	16.9	16.5	14.3	7.6	6.6	6.3	6.2	5.9	5.2

REFERENCIAS

- 1. $\frac{7}{8}$ /N P.M. 16. U₉ P.M.
- 2. $\frac{5}{8}$ /N S. 17. U₉ S.
- 3. $\frac{7}{8}$ /N S.M. 18. U₉ S.M.
- 4. $\frac{7}{8}$ /N P.M.
- 5. $\frac{7}{8}$ /N S.
- 6. $\frac{7}{8}$ /N S.M.
- 7. C₉ P.M.
- 8. C₉ S.
- 9. C₉ S.M.
- 10. C₉ P.M.
- 11. C₉ S.
- 12. C₉ S.M.
- 13. U₉ P.M.
- 14. U₉ S.
- 15. U₉ S.M.

9/N, SIN NITROGENO
 9/N, CON NITROGENO
 P.M., SEMILLA POLIHIBRIDO MANFREDI
 S.M., SEMILLA SELECCION MANFREDI
 S., SEMILLA SCATAMBURO

IV. CONCLUSIONES

- 1) Todas las plantas revisadas en alfalfares de la zona, presentan nodulación. Ninguna de las plantas estudiadas había sido inoculada artificialmente.
- 2) Todas las cepas estudiadas tienen una cierta capacidad de fijación de Nitrógeno en la simbiosis. Ninguna es parásita. Considerando el peso seco como parámetro, la cepa de menor efectividad es 2,8 veces mayor que el testigo sin inocular y sin Nitrógeno.
- 3) Los ensayos de laboratorio permitieron seleccionar por lo menos dos cepas como las de mayor efectividad en la simbiosis. El comportamiento definitivo debe probarse a campo. Según la relación peso seco/p'ántula las selectas fueron siete veces mayores que el testigo sin Nitrógeno.
- 4) Ninguna de las cepas alcanza el rendimiento del testigo Nitrógenado. Las selectas son 0,6 veces menores que dicho testigo.
- 5) Se ha notado una alta especificidad Cultivar/Cepa. El comportamiento de las cepas autóctonas y también las de otro origen estudiadas (U45 y U28; M.G.A. Uruguay) es diferente frente a los distintos cultivares de alfalfa probados (Selección Manfredi, Polihíbrido Manfredi y Scantamburlo).

V. RESUMEN

En el caso particular del área en estudio (zona central semiárida de la provincia de Córdoba), donde la mayor parte de los alfalfares presentan nodulación, como primera aproximación y para franquear los problemas ecológicos de inadaptación o competencia de cepas introducidas, los cuales son difíciles de evaluar y por otra parte de modificar, se estudian las cualidades de las cepas autóctonas, seleccionando entre las aisladas las de mayor capacidad de fijación de Nitrógeno en la simbiosis y su respuesta a distintas variedades de alfalfa.

SUMMARY

In the particular case of the area in study (Central semiarid region of the Province of Córdoba) plants in most alfalfa fields present nodules. As a first approximation, and to avoid ecological problems of poor adaptation or compe-

tition of introduced strains, which are difficult to evaluate or modify the characteristics of native strains, selected among the isolated those of higher symbiotic Nitrogen fixation capacity and their response to different alfalfa cultivars were studied.

VI. BIBLIOGRAFIA

- ¹ ALEXANDER, M. 1964. Biochemical Ecology of soil Microorganisms. *Ann. Rev. Microbiology* 18:217-252.
- ² BEYER, W. H. 1968. *Handbook of tables for probability and statistics*. 2. ed. 368-378. Chemical Rubber. Cleveland.
- ³ ERDMAN, L. V. and U. M. MEANS. 1952. Use of total yield for predicting nitrogen content of inoculated legumes grown in sand culture. *Soil Science* 73:231-235.
- ⁴ FUENTES GODO, P., A. CASTANY y E. H. SILVESTRINI. 1974. Nota acerca de la caracterización ecológica de cepas de *Rhizobium*. *Actas de la VII Reunión Latinoamericana sobre Rhizobium*. Resistencia, setiembre 1974.
- ⁵ IZA, J. C., R. A. MENÉNDEZ y E. S. SCHROEDER, 1972. Selección de cepas de *Rhizobium trifolii* para *Trifolium subterraneum* L. Cv. *Bacchus* empleando diferentes determinaciones. *Apartado de la Revista Uruguaya Par. Clínica y Microbiología* 10(1-2):63-80.
- ⁶ NORRIS, D. O., 1963. Legum Bacteriology. In some concepts and methods in sub-tropical pasture research. *Bull. Commonwealth Bureau of Pastures and Field Crops* Nr. 47.
- ⁷ VINCENT, J. M. 1970. *A manual for the practical study of the Root Nodule Bacteria*. Blackwell Sc. Publ., Oxford.