INFLUENCIA DEL FOSFORO, NITROGENO Y HUMEDAD SOBRE LA SIMBIOSIS *R. meliloti* - *M. sativa* EN SUELOS DEL ALTO VALLE DE RIO NEGRO Y NEUQUEN (ARGENTINA)

P M GILI¹, G A MARANDO¹, M A SAGARDOY²

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Comahue, Ruta 151, Km 12,5, C.C. 85. 8303 Cinco Saltos, Río Negro, Argentina. ²Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, 8000 Bahía Blanca, Argentina.

INFLUENCE OF PHOSPHORUS, NITROGEN AND MOISTURE ON THE SYMBIOSIS *R. meliloti* - *M. sativa* IN SOILS OF THE HIGH VALLEY OF RIO NEGRO AND NEUQUEN (ARGENTINA)

Rhizobium meliloti is naturally present in soils from the provinces of Río Negro and Neuquén (Argentina). However, little is known about native populations of rhizobia in soils of this region. The objective of this experiment was to study the effects of both phosphorus-nitrogen fertilizers and soil water content on alfalfa shoot yield and nodule numbers by using small boot boxes (rhizotrons) as a model system production. Four sterile and non-sterile soils were investigated (Typic Torrifluvents, Typic Haplocambids, Typic Torripsaments and Typic Torrifluvents loam texture). Three inoculation treatments with *R. meliloti* were made: INTA 399, INTA 401 and a mixture of *R. meliloti* (strains 73, 75 and 81) considered to have potential for inoculant production were applied to the lucerne seeds Cuf 101 and seedlings were developed for 21 days in the growth chamber. Two soils moisture were applied to the 19 different treatments tested. Factorial data were subjected to analysis of variance and significance of treatment differences was established by F-test. Significant increases in lucerne yield due to fertilizer phosphorus-nitrogen addition at establishment were not observed in most of the treatments assayed. The highest lucerne yield were detected at soil field capacity. The nodulation response in lucerne was inhibited in two of the soils researched (Typic Torripsaments and Typic Torrifluvents loam texture). It is showed that both high nitrate contents (50 to 500 ppm) and electrical conductivities (3.0 to 5.3 mS cm⁻¹) of soils could be related to N-fixation in lucerne Cuf 101. These kind of results suggest that nodulation and lucerne yield can be influenced by the unfavorable abiotic conditions of some soils of the High Valley of Río Negro and Neuquén.

Key words. Lucerne-Fertilization-Inoculants-*R. meliloti* - Salinity-Symbiosis

INTRODUCCION

El cultivo de alfalfa en Argentina ocupa aproximadamente cinco millones de hectáreas. En el Alto Valle de Río Negro, antes de 1930, la alfalfa era sembrada con destino a la exportación y debido a estos antecedentes es común encontrarla entre las filas de los frutales. La producción de peras y manzanas ocupa un lugar preponderante en la economía regional, destinándose a estos cultivos un área aproximada de 40.000 hectáreas. El escaso tenor de nitrógeno de algunos de estos suelos hace necesaria la aplicación de fertilizantes nitrogenados. La urea es el compuesto más usado. Una vía para la optimización económica, en este sistema de producción, es el uso de la fertilización biológica, que se constituye en una alternativa para la práctica de una agricultura sostenible, que permite armonizar la producción agrícola, con la ecológica y la rentabilidad.

En suelos de Australia e Inglaterra donde se cultivó alfalfa fue demostrada la presencia de *R. meliloti* (Hely, Brockwell 1962; Nutman, Ross 1970), así como la importancia de las cepas naturalizadas de *Rhizobium sp.* en el éxito o fracaso de una inoculación de semillas de leguminosas (Roughley *et al.* 1976; Labandera, Vincent 1975).

En la práctica es reconocido que para lograr una combinación leguminosa-*Rhizobium* efectiva es posible intervenir, modificando la población de cepas nativas de un suelo, mediante la inoculación de semillas con cepas naturalizadas seleccionadas. Los inoculantes múltiples, dentro de un grupo de inoculación, han sido desarrollados empíricamente como un medio de defender la pérdida de capacidad invasora que sufre un determinado microsimbionte o frente a un comportamiento inferior de las cepas de un inoculante en ciertas situaciones (Vincent 1970). Los objetivos del presente trabajo

fueron: 1) estudiar el comportamiento, en distintos tipos de suelos, de un inoculante múltiple para alfalfa preparado con cepas aisladas y seleccionadas de la región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, respecto a cepas de *R. meliloti* que son aconsejadas regularmente para la producción de inoculantes comerciales y 2) determinar el efecto de la fertilización nitrogenada y fosforada, en suelos con diferente tenor de nitratos, sobre la nodulación de alfalfa.

MATERIALES Y METODOS

El área estudiada corresponde al sector centro-oeste del Alto Valle de Río Negro y Neuquén (Argentina), ubicado a lo largo del paralelo 39°, entre los meridianos 67°40'S y 68°10'O. El estudio se realizó con cuatro tipos de suelos: Torrifluente Típico y Haplocambide Típico, Torripsamente Típico y Torrifluente Típico franco. Algunas de las características de los suelos se presentan en la Tabla 1. La composición de las sales en los suelos fue la siguiente: Torrifluente Típico: 90% de bases decalcio y magnesio y 10% de bicarbonatos. Torripsamente Típico: 50% de cloruros; 80% sales de sodio; imperfectamente o pobremente drenado. Haplocambico Típico: 80% de bicarbonatos, el calcio representa el 70% de la composición catiónica; Torrifluente Típico franco: 50% de la salinidad dada por ión cloruro, el 80% por sales de sodio; moderadamente bien drenado. Los estudios químicos de los suelos se realizaron según las técnicas descriptas por Jackson (1982).

La fijación de nitrógeno de los distintos inoculantes se evaluó usando la técnica propuesta por Pijnenborg y Lie (1990), utilizando para ello 1.216 rhizotrones como sistema de trabajo. Los rhizotrones se prepararon con cajas de petri de plástico (9 cm de diámetro), a la cual se cortó con una sierra 2 cm de la parte superior. Se llenó el rhizotrón con 50 g de suelo húmedo y se colocaron 7 semillas de alfalfa (*Medicago sativa* cv. Cuf 101) a 5 mm de profundidad y a 10 mm de distancia entre una y otra. Las semillas se esterilizaron superficialmente durante un minuto con alcohol etílico al 70%, 20 minutos con H₂O₂ al 6% y finalmente fueron lavadas con agua destilada estéril. La germinación se realizó en una solución de agar-agua al 1% durante 24 h a 30°C. Se utilizaron semillas pregerminadas con raíces de 3 a 5 mm. Los inoculantes utilizados se fabricaron con las siguientes cepas de *Rhizobium meliloti*: inoculante 1 (Cepa INTA 401); inoculante 2 (Cepa INTA 399); inoculante 3 (cepas de *R. meliloti* N° 81, 75 y 73). Con cada una de las cepas se prepararon inoculantes

líquidos cuyos títulos fueron 10⁸ UFC ml⁻¹. El suelo sembrado se cubrió con una capa de grava estéril para prevenir la contaminación. El contenido de humedad del suelo se controló diariamente, pesando los rhizotrones y ajustando con agua desmineralizada estéril si era necesario. Los rhizotrones fueron colocados durante 21 días en cámara controlada manteniendo un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.

La evaluación de los fertilizantes biológicos se realizó determinando la distribución y el número de nódulos en cada tratamiento y por la producción de materia seca de la parte aérea de las plantas de alfalfa colocadas en estufa a 80°C durante 24 h (Dowling, Broughton 1986). Todos estos estudios se realizaron utilizando dos tenores de humedad: capacidad de campo y 60% de capacidad de campo.

La esterilización de los suelos se realizó en autoclave a 121°C y a una atmósfera de presión; se esterilizaron a razón de 0,8 kg de suelo durante 4 h por dos días consecutivos. Entre una esterilización y otra existió un intervalo de 24 h. Con cada tipo de suelo se estudiaron los siguientes factores: 1) suelo estéril humedecido a capacidad de campo y a 60% de capacidad de campo. 2) suelo sin esterilizar humedecido a capacidad de campo y a 60% de capacidad de campo.

En cada uno de los factores se realizaron los siguientes tratamientos: 1) testigo (suelo sin fertilización mineral y/o biológica); 2) F1 (fertilización nitrogenada equivalente a 100 kg nitrógeno ha⁻¹); 3) F2 (fertilización con fósforo equivalente a 80 kg de fósforo ha⁻¹); 4) F3 (fertilización con N, 100 kg ha⁻¹ y P, 80 kg ha⁻¹); 5) INOC 1 (inoculante con *R. meliloti* 401); 6) INOC 2 (*R. meliloti* 399); 7) INOC 3 (*R. meliloti* 81, *R. meliloti* 75 y *R. meliloti* 73); 8) F1 + INOC 1; 9) F1 + INOC 2; 10) F1 + INOC 3; 11) F2 + INOC 1; 12) F2 + INOC 2; 13) F2 + INOC 3; 14) F3 + INOC 1; 15) F3 + INOC 2; 16) F3 + INOC 3; 17) MOV (Movilidad) INOC 1; 18) MOV INOC 2 y 19) MOV INOC 3.

En los rhizotrones cada semilla de alfalfa se inoculó con 12 ml de una suspensión de 10⁸ bact ml⁻¹ de *R. meliloti* (1,2x10⁶ bacterias semilla⁻¹). En los estudios de movilidad se inoculó una sola semilla por rhizotrón y se observó la formación de nódulos en las raíces de las plantas más alejadas de la zona de inoculación.

La experiencia se condujo según un arreglo factorial, con los factores: esterilización en dos niveles (estéril, sin esterilizar), saturación en dos niveles (capacidad de campo, 60% capacidad de campo), tratamientos en 19 niveles y donde para cada combinación de los niveles de los factores se hicieron cuatro repeticiones. Cada uno de los experimentos se realizó para cada tipo de suelo. El diseño correspondiente fue completamente aleatorizado (Montgomery 1991). El análisis estadístico comprendió análisis de la varianza y prueba de comparación de medias según Tukey.

Tabla 1. Algunas características de los horizontes A de cuatro suelos estudiados en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén.

Características (0 - 15 cm)	Torrifluente Típico	Torripsamente Típico	Haplocambide Típico	Torrifluente Típico franco
Carbono (%)	1,3	2,3	2,9	2,5
Nitrógeno (%)	0,2	0,4	0,3	0,4
pH	7,4	7,3	7,7	7,1
C.E. (mS cm ⁻¹)	0,8	3,0	0,6	5,3
Textura	franco	franco arenoso	franco arcilloso	franco arenoso
Nitratos (ppm)	10	500	28	50
<i>R. meliloti</i> g ⁻¹	2,8 x 10 ⁵	9,7 x 10 ³	2,9 x 10 ⁵	0,9 x 10 ³

RESULTADOS Y DISCUSION

En este estudio, la producción de materia seca de la alfalfa Cuf 101, fue mayor en los tratamientos sin esterilizar y humedecidos a capacidad de campo. En el Torrifluente Típico (Tabla 2), se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$), en la producción de materia seca y en el número de nódulos por planta entre los tratamientos, cuando el suelo se humedeció al 60% de capacidad de campo. La baja relación entre la materia seca y el número de nódulos por planta ($r^2 = 0,10$), indicaría que el uso de inoculantes no favoreció la productividad de alfalfa en las condiciones de humedad impuesta; existen otros factores, no estudiados por nosotros, que influirían en los resultados obtenidos. El inoculante fabricado con las cepas naturalizadas pre-

sentó valores superiores de materia seca respecto a los controles. Cuando el suelo se humedeció a capacidad de campo, no existieron diferencias estadísticamente significativas en la producción de materia seca entre los fertilizantes usados. El promedio de nódulos por planta fue sensiblemente menor en las fertilizaciones donde participó el Inoculante 2 (cepa 399). Los tratamientos testigo presentaron plantas con nódulos, en los dos tenores de humedad. La presencia de *R. meliloti* naturalizado en estos suelos se demostró en un trabajo anterior (Gili *et al.* 1988). La humedad del suelo no ejerció un efecto significativo en la producción de materia seca, cuando la alfalfa se fertilizó biológicamente. Este factor afectó principalmente la producción de forraje en las plantas con el agregado de fertilizantes químicos.

En el Haplocambide Típico (Tabla 3), humedecido al 60% de capacidad de campo, todos los tratamientos

Tabla 2. Valores medios de la producción de materia seca en alfalfa Cuf 101 en un suelo Torrifluente típico, desarrollada a dos humedades, bajo distintos tratamientos de fertilización.

Tratamiento	Humedad del suelo			
	60% capacidad de campo		Capacidad de campo	
	Materia Seca (mg planta ⁻¹)	Nº de nódulos pl ⁻¹	Materia Seca (mg planta ⁻¹)	Nº de nódulos pl ⁻¹
MOV INOC 3	7,7 a A	2,2 ab	6,3 a A	2,4 a
F2 + INOC 3	6,3 ab A	2,5 a	6,8 a A	2,8 a
F3 + INOC 2	6,1 ab A	1,9 ab	9,2 a A	0,1 a
INOC 3	6,0 ab A	2,0 ab	5,5 a A	3,5 a
F3 + INOC 3	6,0 ab A	1,6 ab	4,8 a A	1,3 a
INOC 1	5,8 abc A	2,0 ab	6,3 a A	3,1 a
F1 + INOC 1	5,5 abc	2,5 a	ND	ND
MOV INOC 1	5,0 abc B	1,5 ab	7,4 a A	3,2 a
F1 + INOC 3	4,6 abc	2,1 ab	ND	ND
F2 + INOC 1	4,5 abc A	1,7 ab	5,8 a A	1,0 a
MOV INOC 2	4,5 bc A	0,9 b	9,2 a A	0,4 a
F3 + INOC 1	4,4 bc B	1,9 ab	6,8 a A	3,5 a
INOC 2	4,2 bc A	1,4 ab	7,6 a A	0,8 a
F2	4,2 bc B	1,6 ab	7,4 a A	1,8 a
Testigo	4,2 bc A	1,2 ab	7,1 a A	1,2 a
F1	4,2 bc B	1,6 ab	8,2 a A	1,7 a
F1 + INOC 2	4,0 bc	1,2 ab	ND	ND
F3	3,3 bc B	1,0 ab	7,6 a A	1,6 a
F2 + INOC 2	2,7 c B	0,8 b	9,3 a A	0,3 a

Valores en una columna con letra o letras minúsculas iguales no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Valores entre columnas con letra o letras mayúsculas iguales no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Testigo (suelo sin fertilización mineral y/o biológica); F1 (fertilización nitrogenada equivalente a 100 kg nitrógeno ha⁻¹); F2 (fertilización con fósforo equivalente a 80 kg de fósforo ha⁻¹); F3 (fertilización con N, 100 kg ha⁻¹ y P, 80 Kg ha⁻¹); INOC 1 (inoculante con *R. meliloti* 401); INOC 2 (*R. meliloti* 399); INOC 3 (*R. meliloti* 81, *R. meliloti* 75 y *R. meliloti* 73; MOV (Movilidad). ND= No determinado.

Tabla 3. Valores medios de la producción de materia seca en alfalfa Cuf 101, en un suelo Haplocambide típico, desarrollada a dos humedades, bajo distintos tratamientos de fertilización.

Tratamiento	Humedad del suelo			
	60% capacidad de campo		Capacidad de campo	
	Materia Seca (mg planta ⁻¹)	Nº de nódulos pl ⁻¹	Materia Seca (mg planta ⁻¹)	Nº de nódulos pl ⁻¹
Testigo	7,1 a A	3,6 a	11,4 abcd A	1,3 ab
MOV INOC 3	7,1 a B	1,1 a	12,1 abcd A	1,1 ab
F1	6,9 a B	2,8 a	10,7 abcd A	0,3 b
F2	6,8 a B	2,8 a	11,1 abcd A	1,0 ab
F3	6,7 a B	3,2 a	10,2 abcd A	0,6 ab
F2 + INOC 1	6,7 a B	1,0 a	12,2 abcd A	1,2 ab
F3 + INOC 3	6,7 a B	1,2 a	11,8 abcd A	1,1 ab
MOV INOC 2	6,6 a B	2,2 a	9,7 bcd A	0,9 ab
F2 + INOC 3	6,3 a B	1,2 a	13,4 ab A	2,3 ab
F3 + INOC 2	6,3 a A	1,8 a	8,9 d A	0,4 ab
INOC 2	6,1 a B	2,0 a	9,2 cd A	2,5 ab
F2 + INOC 2	6,1 a B	2,7 a	10,1 abcd A	0,5 ab
F1 + INOC 2	6,0 a B	2,6 a	8,4 d A	0,5 ab
INOC 3	5,3 a B	1,3 a	11,9 abcd A	0,7 ab
F1 + INOC 3	5,3 a B	1,6 a	13,8 a A	2,9 a
F3 + INOC 1	5,5 a B	0,6 a	13,4 ab A	2,5 ab
MOV INOC 1	4,0 a B	2,2 a	13,8 a A	1,1 ab
F1 + INOC 1	4,0 a B	1,1 a	12,8 abc A	1,2 ab
INOC 1	3,8 a B	1,1 a	13,7 a A	1,8 ab

Valores en una columna con letra o letras minúsculas iguales no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Valores entre columnas con letra o letras mayúsculas iguales no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Testigo (suelo sin fertilización mineral y/o biológica); F1 (fertilización nitrogenada equivalente a 100 kg nitrógeno ha⁻¹); F2 (fertilización con fósforo equivalente a 80 kg de fósforo ha⁻¹); F3 (fertilización con N, 100 kg ha⁻¹ y P, 80 kg ha⁻¹); INOC 1 (inoculante con *R. meliloti* 401); INOC 2 (*R. meliloti* 399); INOC 3 (*R. meliloti* 81, *R. meliloti* 75 y *R. meliloti* 73; MOV (Movilidad). ND= No determinado.

presentaron plantas con nódulos. Existió una baja relación ($r^2 = 0,29$) entre la producción de materia seca y el promedio de nódulos por planta, no se observaron diferencias significativas en la producción de forraje, entre los distintos tratamientos de fertilización. Igual comportamiento presentaron los tratamientos testigo, bajo los dos tenores de humedad ensayados. Cuando ese suelo se humedeció a capacidad de campo, las diferencias en la producción de materia seca fueron altamente significativas ($P < 0,01$), entre los distintos tratamientos de fertilización. La relación entre el número de nódulos y la producción de materia seca fue baja ($r^2 = 0,19$).

En los Torripsamente Típico y Torrifluente Típico franco, ninguno de los tratamientos presentó plantas con nódulos. Los testigos no inoculados con *R. meliloti* y que presentaban cepas naturalizadas no nodularon. La ausencia de nódulos demostró que los suelos tenían capa-

cidad para permitir el desarrollo de alfalfa Cuf 101 en presencia de fertilizantes, pero que existió un factor físico-químico que inhibió la nodulación de las plantas inoculadas con cepas que son usadas comercialmente y cepas naturalizadas de *R. meliloti*. Los altos valores de nitratos (50 - 500 ppm) y la elevada conductividad eléctrica (3,0 - 5,3 mS cm⁻¹), actuaron como una barrera en la nodulación de alfalfa pese a la inoculación de las semillas con cepas infectivas y efectivas y al alto número de *R. meliloti* que tenían los suelos. Estos resultados coinciden con la propuesta de Singleton *et al.* (1984), donde se probó que cepas de *Bradyrhizobium japonicum* eran capaces de vivir en presencia de altas concentraciones salinas. Este estudio demostró que la presencia de *R. meliloti* en un suelo salino unido a la inoculación de las semillas de alfalfa, no es una condición suficiente para nodular alfalfa Cuf 101 en suelos del Alto Valle de Río

Tabla 4. Infectividad y eficiencia de alfalfa Cuf 101, en el suelo Torrifluente típico esterilizado, bajo dos condiciones de humedad.

Tratamiento	Humedad del suelo			
	60% capacidad de campo		Capacidad de campo	
	Materia Seca (mg planta ⁻¹)	Nº de nódulos pl ⁻¹	Materia Seca (mg planta ⁻¹)	Nº de nódulos pl ⁻¹
INOC 2	6,3 a	0,0 a	7,3 a	0,0 d
F2 + INOC 1	6,2 a	0,1 a	5,6 a	0,4 bcd
F1 + INOC 3	5,6 a	0,0 a	ND	ND
MOV INOC 3	5,4 a	0,2 a	5,6 a	0,9 ab
INOC 1	5,1 a	0,2 a	4,1 a	1,0 ab
F2 + INOC 3	5,0 a	0,0 a	5,0 a	0,1 cd
F3 + INOC 2	4,9 a	0,0 a	8,7 a	0,0 d
F3 + INOC 1	4,9 a	0,0 a	5,5 a	0,5 bc
INOC 3	4,8 a	0,3 a	5,8 a	0,4 bcd
F1	4,6 a	0,0 a	5,6 a	0,0 d
Testigo	4,5 a	0,0 a	6,3 a	0,0 d
F2 + INOC 2	4,5 a	0,0 a	7,8 a	0,2 d
F1 + INOC 2	4,5 a	0,0 a	ND	ND
MOV INOC 1	4,3 a	0,0 a	4,3 a	0,5 bc
F1 + INOC 1	4,2 a	0,1 a	ND	ND
MOV INOC 2	4,1 a	0,0 a	7,8 a	0,0 d
F3	4,0 a	0,0 a	4,9 a	0,0 d
F2	3,6 a	0,0 a	4,8 a	0,0 d
F3 + INOC 3	3,3 a	0,0 a	6,5 a	1,3 a

Valores en una columna con letra o letras iguales no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Testigo (suelo sin fertilización mineral y/o biológica); F1 (fertilización nitrogenada equivalente a 100 kg nitrógeno ha⁻¹); F2 (fertilización con fósforo equivalente a 80 kg de fósforo ha⁻¹); F3 (fertilización con N, 100 kg ha⁻¹ y P, 80 kg ha⁻¹); INOC 1 (inoculante con *R. meliloti* 401); INOC 2 (*R. meliloti* 399); INOC 3 (*R. meliloti* 81, *R. meliloti* 75 y *R. meliloti* 73; MOV (Movilidad). ND= No determinado.

Negro y Neuquén. Además, bajo las condiciones estudiadas, no sería necesario practicar fertilizaciones con nitrógeno y fósforo. Finalmente, es posible que la humedad del suelo mejore la producción de forraje, cuando los suelos presentan una fertilidad potencial como la que tenían los suelos investigados.

En estudios de laboratorio, con cepas de *Rhizobium sp.*, que son utilizadas como inoculantes de semillas de leguminosas, es común investigar el comportamiento de los microsimbiontes en suelos estériles y no estériles (Chowdhury *et al.*, 1968; Alexander 1977). Cuando el Torrifluente Típico fue esterilizado (Tabla 4), el número de nódulos en los tratamientos con inoculantes disminuyó respecto al suelo sin esterilizar; los nitratos que son liberados durante la esterilización podrían afectar la formación de nódulos. Este estudio demostró que la alfalfa Cuf 101 no es nodulada por todas las cepas de *R. meliloti* utilizadas. El factor ambiental influyó en los resultados, por ejemplo la cepa INTA 399 (INOC 2), no

presentó infectividad en estos suelos bajo las condiciones de trabajo utilizadas. Las causas posibles de estos resultados son desconocidas, pero demuestran que el ambiente abiótico estéril fue inapropiado para nodular a alfalfa inoculada con *R. meliloti* de distinto origen.

Los datos obtenidos prueban que los estudios de efectividad potencial, realizados en el laboratorio, en medios artificiales, son útiles para probar la actividad de cepas seleccionadas de *R. meliloti*. Sin embargo, no debe ser el único método de preselección de cepas simbiotes ya que es más relevante la evaluación de las cepas en el suelo propiamente dicho (Kremer, Peterson 1983; Zapata *et al.*, 1987).

La humedad del suelo influyó sobre la producción de materia seca, y el tenor de nitratos sobre la nodulación de alfalfa Cuf 101. Una conductividad de 0,6 mS cm⁻¹ con un tenor de nitratos de 28 ppm, a capacidad de campo, en suelo no fertilizado y no inoculado, permitió los mejores resultados en la producción de materia seca en

Tabla 5. Producción de materia seca en alfalfa Cuf 101 cultivada en suelos del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, con distintas concentraciones de nitratos y a dos valores de humedad.

Suelos	Producción de materia seca (mg/planta)		
	60% capacidad de campo		Nitratos
	60% capacidad de campo	Capacidad de campo	(ppm)
Haplocambide Típico	7,1 a	11,4 a	28
Torrifluente Típico franco	6,1 ab	7,4 ab	50
Torrifluente Típico	4,2 ab	7,1 b	10
Torripsamente Típico	3,3 b	7,3 b	500

Valores en una columna con letra o letras iguales no son significativamente diferentes (P 0,05).

alfalfa Cuf 101 (Tabla 5). Este comportamiento coincide con lo reportado por Bottomley (1991), quien sugirió que la influencia de factores abióticos, tales como materia orgánica, contenido de arcilla, humedad del suelo y salinidad definen la eficiencia de un microsimbionte.

Los resultados de este trabajo indican que es necesario obtener cepas infectivas de *R. meliloti* resistentes a la salinidad y a altas concentraciones de nitratos, que permitan la fijación biológica de nitrógeno en los cultivos de alfalfa que crecen en suelos salinizados del Alto Valle. Además, la fertilidad potencial de cada suelo unido a la humedad de los mismos, influye significativamente sobre la nodulación de alfalfa y sobre la fertilización que se realiza con nitrógeno y fósforo, indicando que el efecto de los fertilizantes, en alfalfa inoculada con *R. meliloti*, varía con el tipo de suelo que estamos estudiando y que en consecuencia las fertilizaciones de tipo químico y biológico deberían ser estudiadas más intensamente en los suelos del Alto Valle de Río Negro y Neuquén.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado parcialmente por la Secretaría de Investigación de la Universidad Nacional del Comahue (Argentina).

REFERENCIAS

- Alexander M. 1977. Ecology of nitrogen-fixing organisms. En: Biological Nitrogen Fixation in farming systems of the tropics, Ayanaba A, Dart PJ (Eds.). John Wiley and Sons, New York, pp. 99-114
- Bottomley P. 1991. Ecology of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. En: Biological Nitrogen Fixation, G Stacey, RH Burris, HJ Evans (Eds.). Chapman & Hall, New York, pp.292-347
- Chowdhury MS, Marshall KC, Parker CA. 1968. Growth rates of *Rhizobium trifolii* and *Rhizobium lupini* in sterilized soils. Aust. J. Agric. Res. 19: 919
- Dowling DN, Broughton WJ. 1986. Competition for nodulation of legumes. Ann. Rev. Microbiol., 40: 131-157
- Gili P, Marando G, Sagardoy M. 1988. Presencia de *Rhizobium meliloti* en suelos cultivados bajo riego del Alto Valle de Río Negro y Neuquén. XIV Reunión Latinoamericana de Rhizobiología: 103
- Hely FW, Brockwell J. 1962. An exploratory survey of the ecology of *Rhizobium meliloti* in inland New South Wales and Queensland. Aust. J. Agric. Res. 13: 864-879
- Jackson ML. 1982. Análisis químicos de suelos. Ediciones Omega S.A. Barcelona. pp. 190-232
- Kremer RJ, Peterson HL. 1983. Field evaluation of selected *Rhizobium* in an improved legume inoculant. Agron. J. 75: 139-143
- Labandera CA, Vincent JM. 1975. Competition between an introduced strain and native Uruguayan strains of *Rhizobium trifolii*. Plant and Soil, 42: 327-347
- Montgomery D. 1991. Diseño y análisis de experimentos. Ed. Iberoamérica. México, 589 p
- Nutman PS, Ross GJS. 1970. *Rhizobium* in the soils of Rothamsted and Woburn farm. Rothamsted Report for 1969, part 2, pp. 148-152
- Pijnenborg JWM, Lie TA. 1990. Nitrogen fixation of lucerne (*Medicago sativa*) in an acid soil: The use of rhizotrons as a model system to simulate field conditions. En: Plant Nutrition, Physiology and Applications. Van Beusichem ML (Ed.) Kluwer Academic Publishers. pp. 449-453
- Roughley RJ, Blowes WM, Herridge DF. 1976. Nodulation of *Trifolium subterraneum* by introduced rhizobia in competition with naturalized strains. Soil Biol. Biochem. 8: 403-407
- Singleton PW, El Swaify SA, Bohloul BB. 1984. Effect of salinity on *Rhizobium* growth and survival. Appl. Environ. Microbiol., 44: 884-890
- Vincent JM. 1970. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. IBP Handbook N° 15, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 164 pp
- Zapata F, Danso SKA, Hardarson G, Fried M. 1987. Time course of nitrogen fixation in field-grown soybean using nitrogen-15 methodology. Agron. J. 79: 172-176