

# FORESTACIÓN DE UN TERRENO DECAPITADO CON *Robinia pseudoacacia* INOCULADA CON *Rhizobium* spp. y *Glomus deserticola*

ALEJANDRO E FERRARI<sup>1</sup>; CARLOS A ESPARRACH<sup>2</sup>; MARIO A GALETTI<sup>2</sup> & LUIS G WALL<sup>1\*</sup>

1: Universidad Nacional de Quilmes, R. Sáenz Peña 352 (B1876BXD) Bernal, Buenos Aires; 2: EEA INTA Balcarce, C.C. 276 (7620) Balcarce, Buenos Aires

\* Correo electrónico: lgwall@unq.edu.ar

Recibido: 17-11-09

Aceptado: 30-03-10

## RESUMEN

Los terrenos decapitados constituyen un caso extremo de degradación de suelos aptos para agricultura, con graves consecuencias ambientales. El propósito de este trabajo fue ensayar los efectos de la inoculación de acacia blanca (*Robinia pseudoacacia* L.) con una cepa efectiva de *Rhizobium* y un hongo de micorrizas arbusculares (*Glomus deserticola*) en la supervivencia y crecimiento temprano de plantas trasplantadas a un terreno decapitado de Balcarce, comparando con fresno como árbol no fijador de nitrógeno. La supervivencia inicial fue muy buena (mayor del 77%), especialmente para los fresnos y las acacias inoculadas, las cuales mostraron significativamente mayor supervivencia al estrés por sequía que las acacias control. Todas las plantas se mostraron igualmente tolerantes al ataque de liebres y al estrés por heladas tardías. Durante el primer año las acacias inoculadas crecieron más rápido que las no inoculadas. En el segundo año las alturas se equipararon en parte, probablemente por la colonización de las acacias control con rizobios o micorrizas naturales del suelo. De todos modos, las acacias inoculadas siempre mostraron valores mayores de los distintos parámetros de desarrollo (altura total, diámetro de la copa y cantidad de ramificaciones) que las plantas control, tanto en los sectores poco decapitados como en los más severamente degradados. En conclusión, la doble inoculación previa de acacia blanca mejoró la supervivencia inicial, aumentó tolerancia a la sequía y el crecimiento en 2 años y medio desde la plantación. Esta práctica de manejo sería entonces muy recomendable para reducir el período de vivero en la producción de árboles, así como lograr ejemplares más resistentes y mejor adaptados para proyectos de recuperación de suelos degradados.

**Palabras clave.** Acacia blanca, simbiosis, micorrizas, rizobios, suelos decapitados, árboles fijadores de nitrógeno.

## AFFORESTATION OF A DESURFACED FIELD WITH *Robinia pseudoacacia* INOCULATED WITH *Rhizobium* spp. AND *Glomus deserticola*

### ABSTRACT

Many agricultural lands in Buenos Aires Province (Argentina) have traditionally been desurfaced for the manufacture of bricks and other building materials. The desurfaced soils represent an extreme situation of degradation, having severe consequences for the environment. The purpose of this work was to assay the effects of inoculation of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) with *Rhizobium* and with a mycorrhizal strain on the survival and early growth of plants in a desurfaced field at the location of Balcarce (37° 45' S, 58° 18' O), in Buenos Aires Province (Argentina). The development of inoculated black locust was compared with non-inoculated (control) black locust and with the non-fixing green ash (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.). Survival after two months was very good (>77%), especially for *Fraxinus* and for inoculated plants. Furthermore, inoculated plants also showed a significantly higher survival rate under drought stress than the control plants. The three kinds of plants showed high tolerance to hare attack and to late frost stress. During the first year, inoculated plants grew more rapidly than non-inoculated controls. During the second year the height of the two treatments was quite similar, probably because of the nodulation of control plants with soil-borne rhizobial or mycorrhizal strains. However, inoculated plants always showed higher development than the control plants according to three growth parameters (total height, canopy diameter and amount of side branches), both in the intact parts of the field and in the most severely extracted sectors. In conclusion, prior inoculation of black locust with effective strains of *Rhizobium* and mycorrhizal fungi was able to improve initial survival, tolerance to drought and early growth. This management practice is highly recommended to reduce the greenhouse period in the production of trees, and to produce plants more resistant and better adapted to use in reclamation projects of degraded areas.

**Key words.** Black locust, symbiosis, mycorrhiza, rhizobia, nitrogen fixing trees.

## INTRODUCCIÓN

La extracción intencional de horizontes superficiales de suelo para la fabricación de materiales de construcción causa un gran daño a las tierras fértiles en donde esta actividad se practica. Estos suelos decapitados se suelen abandonar luego de su explotación ya que su baja fertilidad no permite un uso agrícola productivo, habiéndose observado principalmente limitaciones químicas para el crecimiento vegetal tanto en cultivos (Tanaka & Aase, 1989; Tanaka, 1990) como en árboles (Giménez *et al.*, 2002). Aunque la fertilización nitrogenada podría mejorar la productividad de los suelos decapitados, se ha reportado que el rendimiento muy raramente alcanza el de un suelo intacto para cualquier nivel de N agregado (Ross *et al.*, 1982; Sur *et al.*, 1998; Hart *et al.*, 1999). Teniendo en cuenta estas observaciones, se ha propuesto que las simbiosis fijadoras de nitrógeno y micorrízicas podrían favorecer el crecimiento de las plantas sobre suelos decapitados, contribuyendo a mejorar la asimilación de nitrógeno y fósforo. Los árboles fijadores de N podrían constituir una buena opción para rehabilitar este tipo de suelos, habiéndose reportado experiencias con *Sesbania grandiflora*, *Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium* y *Calliandra calothyrsus* (Habte & El-Swaify, 1986a; Desmond, 1995). Sin embargo, la pérdida de materia orgánica que acompaña la erosión podría afectar la simbiosis ya sea disminuyendo la población de rizobios nativos o dificultando el establecimiento de rizobios inoculados debido a cambios químicos que ocurren en el suelo (Habte & El-Swaify, 1986b).

La acacia blanca (*Robinia pseudoacacia* L.) es una leguminosa leñosa originaria de América del Norte pero que se encuentra muy bien adaptada en la Argentina, donde se cultiva desde hace más de 100 años en zonas templado-cálidas y semiáridas de las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Entre Ríos, La Pampa, San Juan, San Luis y Mendoza (Bogino *et al.*, 2005). Sus múltiples aplicaciones comerciales y ambientales están bien documentadas (Brewbaker *et al.*, 1983; Keresztesi, 1988; Hanover & Mebrahtu, 1996; Galetti & Esparrach, 2003). En relación a la simbiosis con rizobios es una especie muy promiscua, que puede ser colonizada por rizobios pertenecientes a diferentes grupos de inoculación cruzada (Batzli *et al.*, 1992), así como por hongos micorrízicos naturales del suelo. Sin embargo, estas infecciones de la raíz pueden no ser efectivas, por lo que se suele recomendar la inoculación previa con microsimbiontes de eficiencia comprobada. En experimentos en invernadero se ha observado que *Robinia pseudoacacia* tuvo buen crecimiento y activa fijación biológica de N<sub>2</sub> sobre un sustrato de suelo decapitado cuando las plantas fueron previamente inoculadas con un aislamiento local de *Rhizobium* RpII (Ferrari & Wall, 2007), observándose también efectos sinérgicos

en la inoculación doble con rizobios y con el hongo micorrízico arbuscular *Glomus deserticola* (Ferrari & Wall, 2008).

El objetivo principal del presente trabajo fue ensayar a campo, en un terreno decapitado, el funcionamiento del sistema simbiótico *Robinia-Rhizobium-Glomus* que demostró ser eficiente en los ensayos realizados en invernadero (Ferrari & Wall, 2008). Se ensayaron las siguientes hipótesis: 1) la inoculación previa en invernadero de plantas con *Rhizobium* y micorrizas mejora la supervivencia y el establecimiento de las mismas en el campo; 2) las plantas de *Robinia* pre-inoculadas fijan más N y crecen mejor que las acacias no inoculadas y eventualmente noduladas y micorrizadas por microorganismos nativos no seleccionados; 3) la inoculación previa de plantas resulta más efectiva en aquellos sectores del campo más severamente degradados.

## MATERIALES Y METODOS

### Descripción del sitio e historia de uso

El ensayo se desarrolló en un campo privado ubicado al sudeste de la ciudad de Balcarce (37° 45' S, 58° 18' O), recostado sobre la falda noreste del cerro La Barrosa. El terreno había sido sometido hace más de 50 años a la extracción de la capa arable para la fabricación de ladrillos. La pendiente del terreno es muy suave (menor del 1%) en dirección noreste. La historia de uso del terreno, posterior a la fabricación de ladrillos, incluyó la plantación de maíz, verdes de verano y pasturas (principalmente, *Festuca arundinacea* y *Lotus corniculatus*). Al momento de instalar el ensayo había más de 10 años que no se realizaba ninguna actividad productiva en el terreno. A pesar de que la producción de ladrillos habría afectado todo el terreno, el examen visual del mismo sugirió una decapitación despareja. Por comparación del nivel del terreno con el campo vecino, aparentemente no decapitado, se observó un gradiente de extracción desde el borde sudoeste (poco o no decapitado) hasta el borde noreste donde se observó visualmente la mayor intensidad de decapitación (Fig. 1). En dirección lateral (desde noroeste hacia sudeste) no se observó diferencia en el nivel del terreno, por lo que se supone que no hubo gradiente de extracción en esa dirección. Otra indicación visual del gradiente de decapitación estuvo dada por la presencia del falso cardo negro (*Carduus acanthoides* L.) a los costados de los sectores presuntamente no decapitados, mientras que casi no apareció en las partes con decapitación más intensa. Esta especie es intolerante al suelo degradado (Pedro Laterra común. pers); por lo que su presencia constituye un indicador de calidad del suelo relacionado con la intensidad de la decapitación. El suelo del sector más decapitado pertenecería originalmente a un Argiudol típico de la serie Mar del Plata; mientras que el suelo del sector no decapitado estaría intacto y se clasificó como Paleudol petrocalcico de la serie Balcarce (Soil Survey Staff, 1999).

### Preparación e inoculación de plantas en invernadero

Plantas de *Robinia pseudoacacia* crecidas durante 15 días en cultivo hidropónico se inocularon con una suspensión del aisla-

miento local de *Rhizobium* Rp11, de acuerdo a como fue descrito anteriormente (Ferrari & Wall, 2007). Entre los 30 y los 40 días desde la inoculación, las plantas inoculadas se transfirieron a macetas llenas con un sustrato de vivero. Las plantas no inoculadas se ubicaron en macetas con el mismo sustrato previamente autoclavado 30 minutos a 121°C, para minimizar las posibilidades de nodulación con rizobios nativos del sustrato. Al momento del traspaso de las plantas inoculadas a macetas con sustrato, se agregó a estas 1 gramo del inóculo de *Glomus deserticola* en cada maceta. A partir de ese momento todas las plantas se regaron solamente con agua destilada. A los 3 meses desde la germinación, las plantas fueron enviadas a vivero en la EEA Balcarce del INTA donde permanecieron en aclimatación durante un mes, luego de lo cual fueron trasplantadas al sitio del ensayo en el campo en diciembre de 2004.

Por otra parte, semillas de fresno (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.) se estratificaron 30 días sobre arena húmeda, se esterilizaron superficialmente y se germinaron en perlita autoclavada. Diez días después de la germinación las plantas se trasplantaron directamente a macetas con el mismo sustrato de suelo y a partir de entonces se manejaron igual que las plantas de *Robinia*.

### Diseño y monitoreo de la plantación

Se planteó un diseño de 9 parcelas y 4 tratamientos por parcela, es decir con 36 unidades experimentales (subparcelas) en total. El terreno de una hectárea se dividió en 9 parcelas cuadradas de 26 x 26 metros, numeradas correlativamente (Fig. 1), y cada parcela se dividió en 4 subparcelas de 10 x 10 metros correspondientes a los 4 tratamientos propuestos: sector plantado con *R. pseudoacacia* inoculada previamente con *Rhizobium* y con micorrizas arbusculares, sector plantado con *Robinia* no inoculada, sector plantado con fresno y sector testigo no plantado que se dejó con la vegetación herbácea presente al comienzo del ensayo.

Las subparcelas testigo con vegetación herbácea, donde no se plantaron árboles, se ubicaron siempre en dirección sur de modo de privilegiar al componente forestal en cuanto al aprovechamiento de la luz solar. La posición relativa de las restantes subparcelas se eligió al azar. Al comienzo del ensayo, en las subparcelas testigo, se extrajeron muestras de suelo para la caracterización del terreno y para detectar posibles gradientes de decapitación. Se realizaron determinaciones químicas de carbono orgánico (Walkley-Black), fósforo extraíble (Bray-1), nitrógeno total

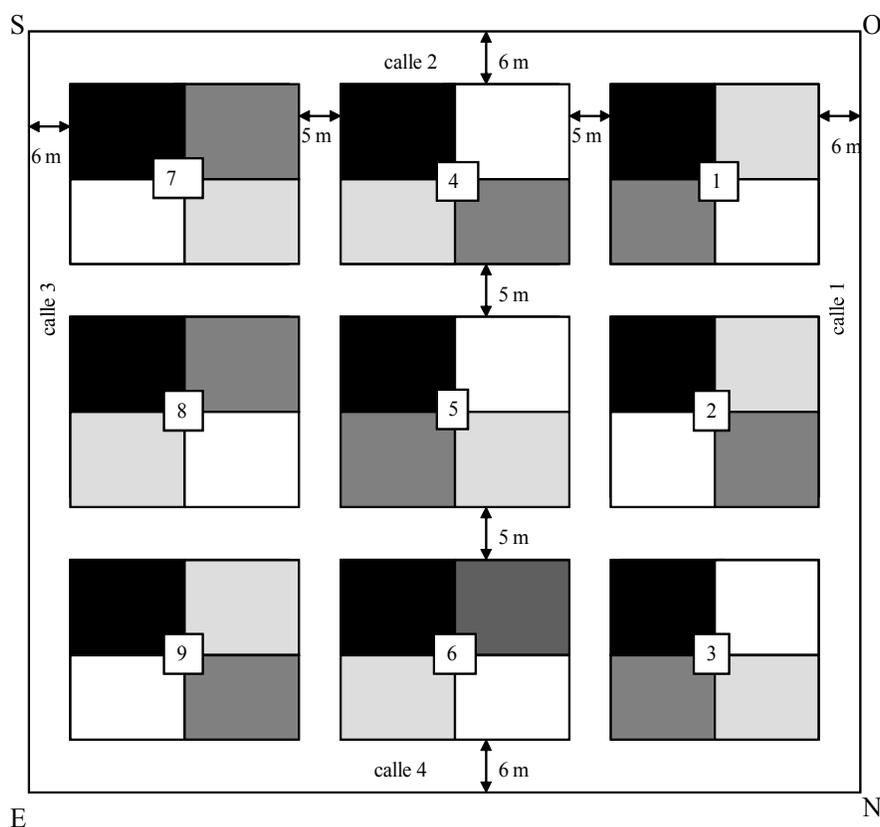


Figura 1. Diseño experimental del ensayo forestal, consistente en 9 parcelas cuadradas, cada una dividida en 4 subparcelas cuadradas (Negro: vegetación herbácea nativa; Gris oscuro: fresnos; Gris claro: *Robinia* pre-inoculada; Blanco: *Robinia* no inoculada).

Figure 1. Experimental design of the forest assay, consisting of 9 square plots, each one divided in four square subplots (black: native vegetation; dark grey: *Fraxinus*; light grey: inoculated *Robinia*; white: control *Robinia*).

(Kjeldahl) y pH en agua (Marban & Ratto, 2005), así como densidad aparente por el método del cilindro (Forster, 1995) y peso seco de la vegetación herbácea muestreada con marcos de 50 x 50 cm. Todos estos parámetros fueron analizados mediante el Análisis de Componentes Principales (ACP) para caracterizar las diferentes parcelas.

Antes de la plantación se realizó control de hormigas con clorpirifos 48% y con cebo tóxico granulado (Mirex S) y control de malezas con glifosato 48% en toda el área del ensayo excepto en las subparcelas con vegetación nativa. En diciembre de 2004, los plantines de 2-3 meses de edad se plantaron directamente en pozos de 20 cm de profundidad y 15 cm de diámetro, sin arado previo, colocando 25 plantas por subparcela con espaciamento constante de 2,5 metros entre plantas. Debido al pequeño tamaño de las plantas, a su falta de rusticación y al hecho de que la plantación se comenzó en época estival avanzada, se decidió agregar en cada planta 3 gramos de un copolímero de acrilamida como gel hidratante (Qemisoyl) al momento de la plantación, con la intención de mejorar la retención de agua en la rizósfera, tal como fue utilizado para pinos y eucaliptos (Galetti & Esparrach, 2005). Luego de la plantación se realizó un único riego de asiento planta por planta. Desde la plantación y durante dos años y medio se midió la supervivencia y el desarrollo aéreo de las plantas evaluado a través de 3 parámetros de crecimiento: altura total, diámetro máximo de la copa y cantidad de ramas laterales gruesas por planta (de diámetro mayor a 1 cm) sin considerar el eje principal. Los distintos tratamientos se compararon mediante análisis de varianza (ANOVA) de un factor, y en caso de diferencia significativa se compararon las medias muestrales por los ensayos de Tukey y Duncan. Cuando se compararon solo dos tratamientos entre sí, se realizó la prueba t de Student utilizando el programa Sigma Plot.

## RESULTADOS

### Caracterización del grado de decapitación del terreno

La Tabla 1 muestra los resultados de los análisis de las muestras de suelo tomadas al comienzo del ensayo en las subparcelas testigo con vegetación natural. Estos análisis confirman la observación visual de la existencia de un gradiente de extracción desde la parcela 1 (aparentemente intacta) hasta la parcela 3 (la más decapitada), donde se observa una paulatina disminución del contenido de carbono y de la biomasa de la vegetación natural. También se observó un aumento de la densidad aparente que sugiere una mayor intensidad de decapitación, con la consiguiente exposición del horizonte B (con mayor contenido de arcilla). El peso seco de la vegetación herbácea mostró además una variación lateral, especialmente una disminución desde la parcela 1 hacia la 7 y desde la 3 hacia la 9, lo que sugiere la existencia de otro gradiente de decapitación, en este caso lateral y dirigido desde el costado noroeste al costado sudeste. La parcela 9 se caracterizó por un muy escaso desarrollo de la vegetación herbácea, con un peso seco del material recolectado significativamente menor ( $P < 0,10$ ) que en las parcelas restantes así como mayor densidad aparente y menores contenidos de C, N y P. Con respecto al fósforo no se observó una tendencia definida. Con respecto al pH, las parcelas 3, 6 y 9 tuvieron los mayores valores.

En la Figura 2 se muestra el ordenamiento de las parcelas según el análisis de componentes principales, a

Tabla 1. Análisis de carbono orgánico (CO), nitrógeno total (NT), fósforo extraíble (PE), pH, densidad aparente (DA) y peso seco de la vegetación natural (PS) en muestras de suelo de las subparcelas testigo con vegetación natural, antes de la plantación forestal.

Table 1. Analysis of organic carbon (CO), total nitrogen (NT), extractable phosphorus (PE), apparent density (DA) and dry matter (PS) of the natural vegetation in soil samples taken from plots with natural vegetation, before the plantation.

Parcelas	CO (g kg <sup>-1</sup> )	NT (g kg <sup>-1</sup> )	PE (mg kg <sup>-1</sup> )	pH	DA (Mg m <sup>-3</sup> )	PS (Mg ha <sup>-1</sup> )
1	38,8	3,2	30	6,37	1,29	6,65
2	31,3	2,8	4	6,20	1,33	4,63
3	23,8	2,2	10	6,45	1,52	3,66
4	39,7	3,0	37	6,30	1,30	5,94
5	42,9	3,9	26	6,25	1,31	4,92
6	37,4	3,1	32	6,20	1,20	3,51
7	32,0	2,9	5	6,09	1,30	4,46
8	33,8	3,1	4	6,33	1,24	4,55
9	24,2	2,3	7	6,41	1,60	1,77

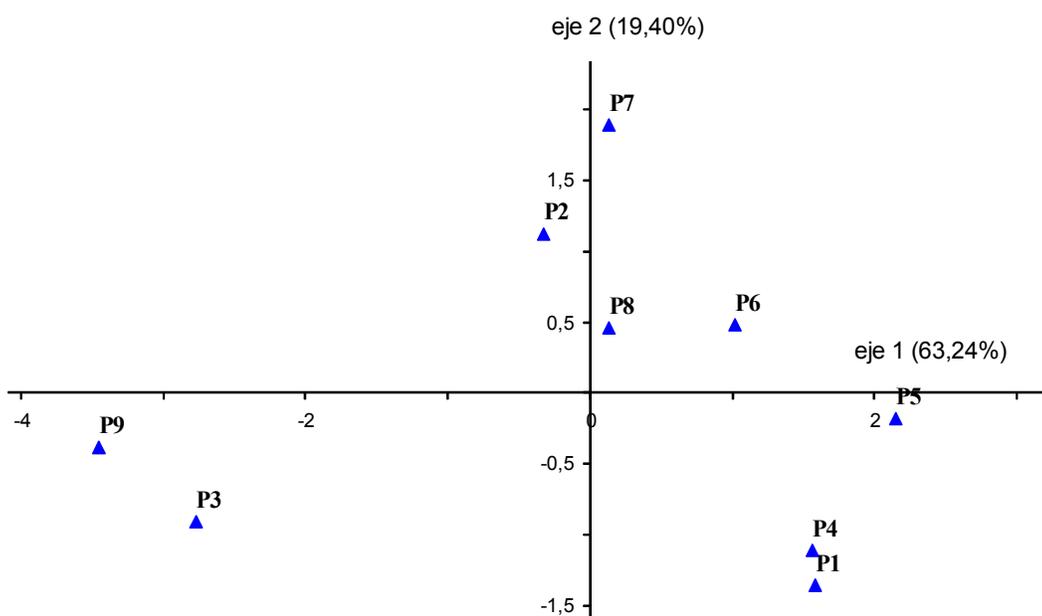


Figura 2. Análisis de componentes principales para las parcelas del ensayo según los resultados del análisis de suelo realizado en las parcelas con vegetación natural (numeradas de 1 a 9) antes de la plantación.

Figure 2. Principal component analysis for the plots of the assay according to the results of the soil analysis of samples from the plots with natural vegetation (numbered from 1 to 9) taken before the plantation.

partir de los datos correspondientes a los análisis de suelo (Tabla 1). Los dos primeros ejes principales explicaron el 82,6% de la variabilidad original. El primer eje permite separar según los parámetros relacionados con la materia orgánica (carbono y nitrógeno), el peso seco de la vegetación nativa y la densidad aparente, lo que plantea una separación entre las parcelas 3 y 9 (de alta densidad y bajas materia orgánica y biomasa herbácea) y las parcelas 1, 4 y 5 (con alto contenido de materia orgánica y biomasa y baja densidad). Estos resultados sugieren que la decapitación habría sido más intensa en las parcelas 3 y 9, mientras que las parcelas 1, 4 y 5 serían las que habrían sufrido menor intensidad de extracción. El segundo eje explica solo el 19,4% de la variabilidad y separa principalmente por el pH y por el fósforo.

#### Supervivencia de las plantas

La supervivencia inicial de todas las plantas fue muy buena. A los 2 meses de comenzada la plantación, en pleno verano, la supervivencia fue del 100% para los fresnos, del 98% para las acacias prenoduladas y del 77% para las acacias no inoculadas. En los 3 primeros meses se observó ataque de las plantas por liebres, que suelen quebrar

los tallos jóvenes. Las acacias fueron más afectadas que los fresnos. En el verano siguiente se observó que el 58% de las acacias control y el 54% de las inoculadas habían rebrotado y crecían bien, mostrando buena recuperación a pesar del pequeño tamaño inicial de las plantas. A principios de noviembre de 2005 se registró una intensa helada tardía que produjo daños visibles en las hojas de la mayoría de las plantas, pero 2 meses después el 99% de las plantas afectadas estaban verdes y creciendo bien. Otra causa de estrés sufrida por la plantación fue una prolongada sequía ocurrida en el verano 2006-2007, que produjo defoliación prematura en muchas plantas. Enero de 2007 fue un mes especialmente seco, con solo 36 mm de lluvia. El balance hídrico fue más negativo que en los años anteriores: -74 en enero de 2005, -11 en enero de 2006 y -118 en enero de 2007. En mayo de 2007 se evaluaron los efectos de la sequía en las plantas, observándose que las acacias inoculadas fueron menos afectadas que las acacias control, con 96 y 72% de supervivencia, respectivamente. Los fresnos fueron las plantas más resistentes a la sequía, con un 100% de supervivencia.

La evaluación final de supervivencia de las plantas, realizada en mayo 2007, mostró una supervivencia final

del 70% para las acacias control, 93% para las acacias inoculadas y 99% para los fresnos, con respecto a los árboles originales plantados en diciembre de 2004.

### Desarrollo y crecimiento de las plantas

Las alturas iniciales de la mayoría de las plantas fueron entre los 10 y los 25 cm, sin diferencias significativas entre tratamientos (Fig. 3). Durante el primer año las acacias inoculadas crecieron más que los fresnos y que las acacias control, y estas últimas se recuperaron durante el período siguiente, alcanzando en algunas parcelas a las inoculadas y superando en altura a los fresnos (Fig. 3). A los 2 años, las plantas inoculadas eran más altas que los controles, aunque la diferencia fue significativa solo en las parcelas 2 y 9.

Como consecuencia de la sequía ya comentada del verano de 2007, la velocidad de crecimiento de las acacias para el período diciembre 2006-mayo 2007 fue muy baja (7,8% para las inoculadas y 6,3% para las control) y similar entre controles e inoculadas ( $P=0,46$ ), comparando con el período diciembre 2005-abril 2006. En cuanto

a los fresnos, aunque su supervivencia a la sequía fue del 100%, su tasa de crecimiento fue nula en ese período.

Durante el monitoreo de mayo de 2007 se observó nuevamente un mayor desarrollo de las plantas inoculadas para los 3 parámetros medidos (Tabla 2). Considerando todas las parcelas en forma conjunta, las acacias inoculadas tuvieron significativamente mayores altura total ( $P=0,0009$ ), diámetro de copa ( $P=0,019$ ) y ramificación lateral ( $P=0,057$ ) que las acacias control. El análisis de varianzas aplicado a la altura de las plantas mostró un efecto significativo tanto para las parcelas ( $P=0,0015$ ), como para los tipos de plantas ( $P<0,0001$ ) y como para la interacción entre ambos factores ( $P=0,0001$ ).

El análisis de suelo había mostrado un contraste especialmente marcado entre las parcelas 5 y 9, con esta última teniendo valores menores de materia orgánica (C, N y P) y de biomasa vegetal y mayor valor de densidad aparente. Sin embargo, en ambas parcelas se observó mayor desarrollo de las acacias inoculadas que las acacias control, que tuvieron significativamente mayores altura, diámetro de copa y cantidad de ramificaciones tanto en

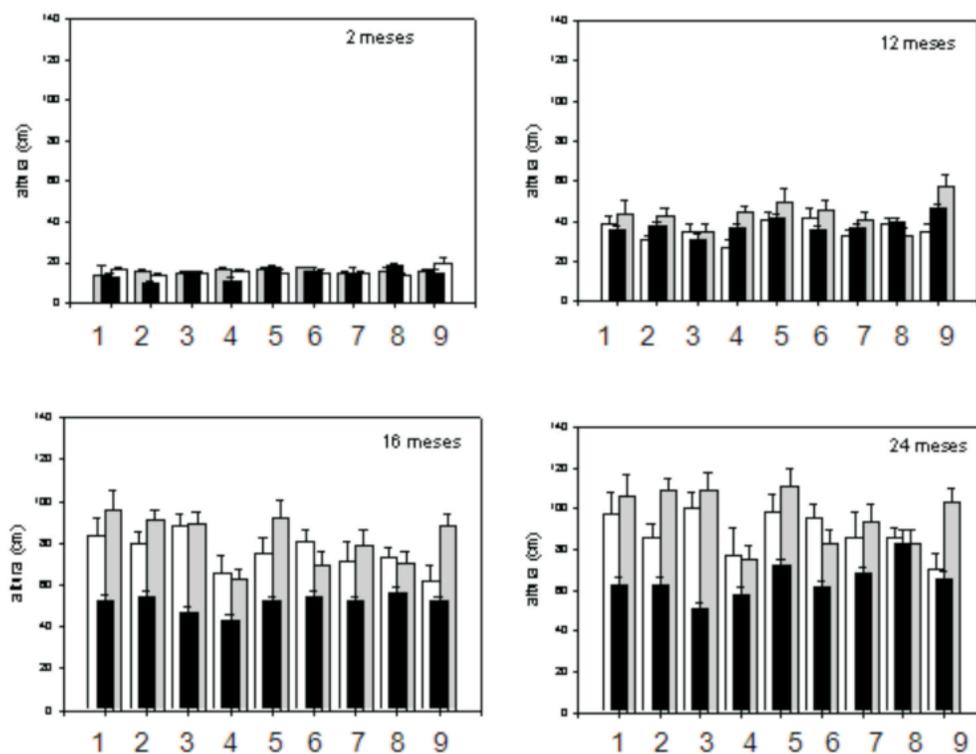


Figura 3. Altura promedio de plantas en cada subparcela, registradas a los 2, a los 12, a los 16 y a los 24 meses desde el comienzo de la plantación (blanco: *Robinia* sin inocular; gris: *Robinia* inoculada; negro: fresno).

Figure 3. Mean plant height in each plot after 2, 12, 16 and 24 months from the plantation (White: control *Robinia*; grey: inoculated *Robinia*; black: *Fraxinus*).

Tabla 2. Promedios de altura aérea, diámetro de la copa y número de ramificaciones por planta de plantas de *R. pseudoacacia* inoculadas y controles a los 2 años y medio de comenzada la plantación (el símbolo \* indica diferencia significativa para  $P < 0,05$  entre plantas control e inoculadas para cada uno de los parámetros medidos).

Table 2. Mean shoot height, canopy diameter and number of side branches per plant in control and inoculated *R. pseudoacacia* seedlings after 2.5 years since the plantation (symbol \* indicates significant difference for  $P < 0.05$  between control and inoculated plants for each measured parameter).

Parcela	Altura aérea (cm)		Diámetro de copa (cm)		Nº ramificaciones	
	control	inoculada	control	inoculada	control	inoculada
1	90,79	113,33	39,37	59,21	0,84	2,21
2	82,66	108,88 *	28,57	50,52 *	0,14	0,89 *
3	104,09	114,13 *	42,64	48,87 *	0,59	0,83
4	69,17	89,97 *	25,17	33,54	0	0,17
5	104,64	122,02	35,64	55,18 *	0	1,11 *
6	98,28	86,28	38,20	33,24	0,80	0,44
7	85,00	104,13	29,83	40,74 *	0	0,39
8	88,54	86,80	32,69	27,17	0	0
9	72,47	108,65 *	24,24	50,17 *	0,059	0,83 *

la parcela 5 ( $p < 0,066$ ) como en la parcela 9 ( $P < 0,007$ ), siendo esta última parcela donde se observaron las mayores diferencias a favor de las plantas inoculadas para los 3 parámetros medidos. Tanto los fresnos como las acacias control crecieron mejor en la parcela 5 (relativamente fértil) que en la intensamente decapitada parcela 9.

Otra forma de evaluar estas observaciones fue analizar el crecimiento de los 3 tipos de plantas tomando el promedio general de altura en todas las parcelas. La Figura 4 muestra un crecimiento similar de los 3 tipos de plantas durante el primer año y un más rápido crecimiento de las acacias (tanto las inoculadas como los contro-

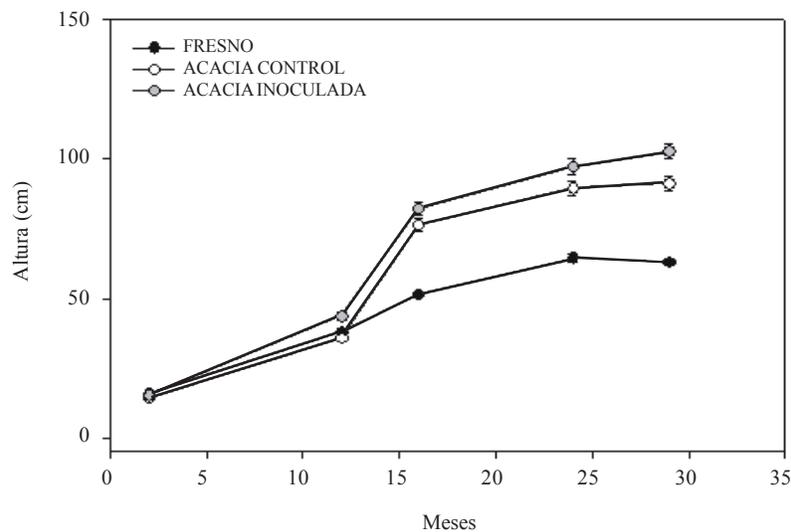


Figura 4. Variación temporal en la altura de las plantas de los 3 tratamientos, tomadas como el promedio de todas las plantas en todas las parcelas.

Figure 4. Time variation in plant height of plants belonging to the three treatments, as the mean of all plants of the same treatment in all plots.

les) que de los fresnos en la estación de crecimiento siguiente, siendo las acacias inoculadas significativamente más altas que las acacias control a partir de entonces. Esta tendencia se mantuvo durante la estación de crecimiento siguiente donde, a pesar del lento crecimiento debido a la sequía, las acacias inoculadas siguieron creciendo más que las acacias control.

## DISCUSIÓN

El terreno utilizado para el ensayo mostró un gradiente de decapitación que aumenta en términos globales en la dirección SO-NE y NO-SE de acuerdo a los parámetros fisicoquímicos analizados para las muestras de suelo. Sin embargo el comportamiento de las parcelas, tanto en sus datos fisicoquímicos como del desempeño de las plantas, no mostró una variación continua de acuerdo a este gradiente general, sino más bien heterogénea o de parches, lo cual sugiere que existirían otros elementos de la topografía del terreno que no han sido considerados en este trabajo, como por ejemplo la profundidad de los horizontes, que estarían afectando puntualmente a algunas parcelas en particular.

Teniendo en cuenta la edad y la altura inicial de las plantas llevadas a campo, y la época avanzada de plantación, la supervivencia inicial de todas las plantas fue muy buena, especialmente la de fresnos y acacias inoculadas. Comparando plantas control con inoculadas, se observó claramente una mejor supervivencia inicial de las últimas, que podría atribuirse a la inoculación con *Rhizobium* y micorrizas, tal como fue reportado para *Leucaena leucocephala* (Naqvi & Mukerji, 1998) y *Centrolobium tormentosum* (Marques *et al.*, 2001). Es bien conocido el efecto benéfico de las micorrizas arbusculares en aliviar el estrés hídrico en plantas (Hayman, 1986; Werner, 1992); y aunque el agregado de gel hidratante pudo contribuir a aliviar el estrés hídrico, la mayor supervivencia de las acacias inoculadas respecto de las acacias control ante la sequía del verano 2007 podría atribuirse al efecto de las micorrizas. Este resultado es aún más relevante considerando que la mayor densidad aparente de los sitios más decapitados, con el consiguiente menor espacio poroso total, usualmente afecta negativamente la dinámica del agua produciendo mayor estrés hídrico en aquellos cultivos con mayor desarrollo inicial, situación que no se observó en este trabajo.

En general, los plantines de árboles caducifolios suelen permanecer en etapa de vivero entre 6 meses y uno o dos años antes de ser llevados a campo. La apropiada inoculación con rizobios y micorrizas, podría disminuir

considerablemente el tiempo de permanencia de las plantas en vivero, mejorando su supervivencia y vigor al ser luego trasplantados al campo. Esto se ha comprobado para *Acacia auriculiformis*, *Acacia nilotica*, *Albizia lebbek* y *Hardwickia binata*, donde el período de vivero pudo reducirse en un 33% con respecto a los plantines sin inocular, observándose una significativa mejora en la supervivencia (Swaminathan & Surendran, 2001).

En plantaciones de *R. pseudoacacia* en suelos de Estados Unidos, la fertilización con N y P al momento de la plantación mejoró la supervivencia de las plantas en un 20% (Ashby *et al.*, 1985). Tomando en cuenta estos experimentos, en el presente ensayo la fijación biológica de nitrógeno en los nódulos y la simbiosis micorrícica podría haber provisto a las plantas de suficiente N y P (respectivamente) como para mejorar la supervivencia.

En general, las plantas inoculadas mostraron mejor crecimiento que las plantas no inoculadas, tanto en los sectores de mayor intensidad de decapitación como en los aparentemente intactos.

Las plantas no inoculadas crecieron mejor en los sectores menos decapitados, lo que sugiere que el crecimiento de las acacias control fue más dependiente de la fertilidad relativa del suelo que el de las plantas inoculadas. Fue notable el hecho de que las acacias inoculadas tuvieron la mayor altura (a los 24 meses) en la parcela 9, paradójicamente el sector más decapitado. Esto estaría sugiriendo que la simbiosis con *Rhizobium* y micorrizas habría compensado ampliamente las deficiencias nutricionales en la parcela 9 y el mayor crecimiento podría interpretarse como consecuencia de una menor competencia con la vegetación herbácea, que resultó muy pobre en dicha parcela por efectos de la intensa decapitación.

La recuperación de las acacias control durante el segundo verano podría deberse a la nodulación de estas por rizobios efectivos presentes en el suelo. El examen de raíces realizado en diciembre de 2006 reveló la presencia de numerosos nódulos en las plantas inoculadas, como así también de algunos en las plantas control. La existencia de rizobios compatibles con *Robinia* en el suelo se apoya en que se habían cultivado leguminosas herbáceas años atrás, especialmente de *Lotus corniculatus*, que compartirían el mismo grupo de inoculación cruzada. Justamente algunos aislamientos de rizobios de nódulos de *R. pseudoacacia* provenientes de Alemania mostraron genotipos idénticos a *Mesorhizobium loti* (Ulrich & Zaspel, 2000), que es una especie noduladora de *Lotus*. En cambio, en experimentos de invernadero con substrato proveniente de otro terreno decapitado se observó que los rizobios nativos del suelo ensayado no habrían sido eficientes para fijar nitrógeno (Ferrari & Wall, 2007, 2008). Se

ha reportado que la decapitación puede afectar negativamente la simbiosis al disminuir la población de rizobios nativos y al dificultar el establecimiento de rizobios inoculados (Habte & El-Swaify, 1986b). De este modo, si bien la nodulación natural puede ser efectiva para fijar nitrógeno, la inoculación previa permitiría asegurar la efectividad de la simbiosis y así contribuir a mejorar el crecimiento en suelos pobres.

## CONCLUSIONES

Los resultados preliminares de este ensayo muestran varias ventajas de la inoculación previa de *Robinia pseudoacacia* con un aislamiento local de *Rhizobium* y con *Glomus deserticola*, para crecer en un suelo decapitado; como ser mayor supervivencia inicial, mayor tolerancia a la sequía y mayor crecimiento luego de 2 años y medio de plantación. Estas observaciones, especialmente la primera, resultan relevantes teniendo en cuenta que las plantas se llevaron a campo sin pasar por etapa de vivero, que es el procedimiento habitual de preparación de plantas en la industria forestal. Se concluye que la inoculación previa de plantas de *R. pseudoacacia* resulta beneficiosa para el establecimiento y crecimiento temprano de las plantas en un terreno decapitado. De esta manera se han podido confirmar, mediante un ensayo a campo, los beneficios de la inoculación ya citados en experimentos en invernadero (Ferrari & Wall, 2007, 2008).

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Pedro Laterra, de la Unidad Integrada Balcarce, que nos permitió hacer el ensayo forestal en un terreno de su propiedad.

## REFERENCIAS

- Ashby, WC; WG Vogel & NF Rogers. 1985. Black locust in the reclamation equation. USDA Forest Service, GTR NE-105.
- Batzli, JM; WR Graves & P van Berkum. 1992. Diversity among rhizobia effective with *Robinia pseudoacacia* L. *Appl. Environ. Microbiol* 58: 2137-2143.
- Bogino, S; M Gómez; Z Burlan; S Escudero & A Corral. 2005. Crecimiento de acacia blanca (*Robinia pseudoacacia* L.) en la provincia de San Luis. *SAGPyA Forestal* 34: 14-17.
- Brewbaker, JL; J Halliday & J Lyman. 1983. Economically important nitrogen fixing tree species. *Nit. Fix. Tree Res. Rep.* 1: 35-40.
- Desmond, D. 1995. *Calliandra calothyrsus* and *Gliricidia sepium* seedling growth response to phosphorus and soil acidity. *Nit. Fix. Tree Res. Rep.* 13: 10-15.
- Ferrari, AE & LG Wall. 2007. Nodulation, nitrogen fixation and growth of Black Locust (*Robinia pseudoacacia*) on a desurfaced soil substrate inoculated with a local *Rhizobium* isolate. *Biol. Fertil. Soils* 43: 471-477.
- Ferrari, AE & LG Wall. 2008. Co-inoculation of black locust with *Rhizobium* and *Glomus* on a desurfaced soil. *Soil Science* 173: 195-202.
- Forster, JC. 1995. Soil physical analysis. In: Methods in applied soil microbiology and biochemistry (ed. K Alef & P Nannipieri), Academic Press, London.
- Galetti, MA & CA Esparrach. 2003. La acacia blanca en forestaciones de uso múltiple. *Visión Rural* 50: 34-38.
- Galetti, MA & CA Esparrach. 2005. Prevención del estrés hídrico en forestaciones de pino y eucalipto. *Visión Rural* 59: 46-48.
- Giménez, JE; MI Salerno & MA Hurtado. 2002. Rehabilitation of desurfaced soils by afforestation in La Plata County, Argentina. *Land Degrad. Dev.* 13: 69-77.
- Hanover, JW & T Mebrahtu. 1996. *Robinia pseudoacacia*: Temperate legume tree with worldwide potential. In: Nitrogen fixing trees for acid soils-a field manual (ed. Powell MH). Appendix A: Nitrogen fixing tree highlights-species tolerant of acid soils. Winrock International, Morrilton, Ark, pp 90-91.
- Habte, M & SA El-Swaify. 1986a. Simulated erosion's effects on N<sub>2</sub> fixation and growth of Sesbania. *Nit. Fix. Tree Res. Rep.* 4: 64-65.
- Habte, M & SA El-Swaify. 1986b. The influence of simulated erosion on a strain of Rhizobium nodulating *Sesbania grandiflora*. *Nit. Fix. Tree Res. Rep.* 4: 66-67.
- Hart, PBS; AW West; JA Kings; HM Watts & JC Howe. 1999. Land restoration management after topsoil mining and implications for restoration policy guidelines in New Zealand. *Land Degrad. Dev.* 10: 435-453.
- Hayman, DS. 1986. Mycorrhizae of nitrogen-fixing legumes. *Mircea J.* 2: 121-145.
- Keresztesi, B. 1988. Natural range of black locust and its distribution in other countries. In: The Black Locust (ed. Keresztesi B.), Akademiai Kiadó, Budapest.
- Marban, L & SE Ratto. 2005. Tecnologías en análisis de suelos. Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo, Buenos Aires.
- Marques, MS; M Pagano & MR Scotti. 2001. Dual inoculation of a woody legume (*Centrolobium tormentosum*) with rhizobia and mycorrhizal fungi in south-eastern Brazil. *Agrofor. Syst.* 52: 107-117.
- Naqvi, NS & KG Mukerji. 1998. Mycorrhization of micro-propagated *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. *Symbiosis* 24: 103-114.
- Ross, DJ; TW Speir; KR Tate; A Cairns; KF Meyrick & EA Pansier. 1982. Restoration of pasture after topsoil removal: Effects on soil carbon and nitrogen mineralization, microbial biomass and enzyme activities. *Soil Biol. Biochem.* 14: 575-581.
- Soil Survey Staff. 1999. Soil Taxonomy. U.S. Department of Agriculture, Natural Conservation Service. U.S. Government Printing Office, 2nd Edition, Washington, DC.
- Sur, S; R Singh & SS Malhi. 1998. Influence of simulated erosion on soil properties and maize yield in northwestern India. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 29: 2647-2658.

- Swaminathan, C & C Surendran. 2001. Reducing nursery period in four tropical hardwoods by Rhizobium inoculation. *J. Trop. For. Sci.* 13: 109-115.
- Tanaka, DL & JK Aase. 1989. Influence of topsoil removal and fertilizer application on spring wheat yield. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53: 228-232.
- Tanaka, DL. 1990. Topsoil removal influences on spring wheat water-use efficiency and nutrient concentration and content. *Trans. ASAE* 33: 1518-1524.
- Ulrich, A. & I Zaspel. 2000. Phylogenetic diversity of rhizobial strains nodulating *Robinia pseudoacacia* L. *Microbio.l* 146: 2997-3005
- Werner, D. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhiza. *In: Symbiosis of plants and microbes* (ed. Chapman y Hall), Cambridge, UK, p 299-338.