

Suelos y agroquímica

Promoción del crecimiento de *Canavalia ensiformis* L. mediante la coinoculación de cepas de *Rhizobium* y hongos formadores de micorrizas en suelo Pardo sin carbonatos¹

Carlos Alberto Bustamante-González,* Gloria Martha Martín-Alonso,** Ramón Rivera-Espinosa,** Ionel Hernández Forte** y Rolando Viñals-Núñez*

Resumen

Una de las alternativas para la reposición de los requerimientos del café en nitrógeno es la utilización de la *Canavalia ensiformis* L., por lo que es de importancia el incremento de su biomasa. En un diseño factorial en bloques al azar se estudió el efecto de cuatro cepas de *Rhizobium* y cinco cepas de hongos formadores de micorrizas sobre indicadores de crecimiento de la *Canavalia*. Las cepas de *Rhizobium* (Can 2003a, Can 2003b, Can 3 y Can 5) tuvieron un título de 10^8 - 10^9 UFC, y provinieron del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Se utilizaron como cepas de EcoMic: *G. cubense*, *F. moseae*, *R. intraradices* y *C. claroideum* cada una con 20 esporas \cdot gramo^{-1} de inóculo. Se evaluó la altura, el número de hojas, el número de nódulos y la masa fresca y seca de las plantas. Los datos se procesaron mediante un análisis de varianza factorial, y las medias se compararon mediante la d-ócima de Duncan. La cepa Can 2003b incrementó significativamente la masa seca y fue superior al resto de las cepas de *Rhizobium*. Entre las cepas de micorrizas la *G. cubense* fue superior y mostró un índice de eficiencia que osciló entre el 9 y 91,5 %. Los mayores incrementos de masa seca se alcanzaron con la coinoculación Can 5-*G. cubense*. Con la cepa de *Rhizobium* Can 2003b y las diferentes cepas de HMA se logró un segundo grupo de tratamientos como alternativa. La cepa nativa de HMA mostró resultados positivos con las cepas de *Rhizobium* Can 2003b y Can 2003. Se observó un efecto depresivo de la masa seca de la *Canavalia* al utilizar Can 2003a independientemente de la cepa de HMA inoculada.

Palabras clave: *Canavalia*, *Rhizobium*, *mycorrhiza*.

Abstract

One of the alternatives for the requirements reinstatement of coffee in nitrogenous is the use of *Canavalia ensiformis* L. as what is of importance the increment of their biomass. In a randomized blocks factorial design was studied the effect of 4 *Rhizobium* strains and 5 strain of mycorrhizal fungi on to the growth of *Canavalia* indicators. The *Rhizobium* strain used were Can 2003a, Can 2003b, Can 3 and Can 5 with a title of 10^8 - 10^9 UFC. As EcoMic strains were used: *G. cubense*, *F. moseae*, *R. intraradices* and *C. claroideum* each one with 20 spores' \cdot gram^{-1} of inoculum. The height, leaves number, nodules number and the fresh and dry mass of the plants were evaluated. Data were processed using a factorial variance analysis and halves were compared by the Duncan docima. Strain Can 2003b increased the dry mass significantly and it was superior to the rest of the strains of *Rhizobium*. Among the HMA strains, *G. cubense* like was superior and it showed a efficiency index that oscillated between 9 % and 91,5 %. The biggest increments of dry mass were achieved with the combination Can 5-*G. cubense*. With the *Rhizobium* Can 2003b and the different strains of HMA were obtained a second treatments group as alternative. Native strain of HMA showed positive results with *Rhizobium* Can 2003b and Can 2003 strains. A depressive effect of the dry mass was observed from the *Canavalia* when using Can 2003a independently of the strain of HMA inoculated.

Key words: *Canavalia*, *Rhizobium*, *mycorrhiza*.

¹ Recibido: 9/2015

Aprobado: 10/12/2015

* Estación Agro-Forestal Tercer Frente, INAF, Cruce de Los Baños, Tercer Frente, Santiago de Cuba, investigacion@tercerfrente.inaf.co.cu

** Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)

Introducción

El cultivo del cafeto realiza importantes exportaciones de nutrientes que de manera general no son repuestas por los agricultores debido a la ausencia de fuentes de abono orgánico, el costo de los fertilizantes minerales y la ausencia de mano de obra en las condiciones montañosas.

Una de las alternativas para la reposición de los requerimientos del cafeto en nutrientes es la utilización de la *Canavalia ensiformis* L., especie leguminosa que se adapta a crecer con niveles de luminosidad inferiores a los de otras especies, es resistente a la sequía, controla los nemátodos (Candanedo *et al.*, 1994) y las malezas de los cultivos, entre otras ventajas.

Existen resultados contradictorios sobre su utilización. En Colombia informan que la *Canavalia* como cultivo intercalado en cultivos de café tiene un rendimiento de 3,53 a 5,98 t/ha, y que su efecto sobre la zoca de café es leve y retardado. La primera cosecha de café se redujo en un 15 % (Torres y Echeverry, 1988). En Cuba logró producir 13 y 2,5 t/ha de masa verde y seca, respectivamente, en suelo Ferralítico bajo sol con el aporte de 105 kg de N/ha (García, 1997).

Existen potencialidades para el incremento de la producción de biomasa por esta especie. Resultados preliminares evidenciaron la respuesta de la *Canavalia* a la inoculación con diferentes cepas de *Rhizobium* (Bustamante y col., 2009), e incluso existen resultados que muestran el efecto beneficioso de la coinoculación con hongos formadores de micorrizas en otros cultivos (Terry y Ruiz, 2009). Por este motivo se realizó la investigación, con el objetivo de establecer el efecto en el crecimiento de la *Canavalia ensiformis* L. de la utilización de cuatro cepas de *Rhizobium* y cinco cepas de micorrizas en un suelo Pardo bajo un nivel de luminosidad semejante al que soporta el cafeto cultivado bajo sombra.

Materiales y métodos

El experimento se desarrolló en el vivero de la Estación Central de Investigaciones de Café y Cacao, actual Estación Experimental Agro-Forestal Tercer Frente, Santiago de Cuba, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Agro-Forestales, ubicada en Tercer Frente, provincia de Santiago de Cuba. En un diseño factorial en bloques al azar se estudió el efecto de cuatro cepas de *Rhizobium* y cinco cepas de hongos formadores de

micorrizas en los indicadores de crecimiento de la *Canavalia ensiformis* L.

Las cepas de *Rhizobium* utilizadas fueron Can 2003a, Can 2003b, Can 3 y Can 5, y provenían del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas perteneciente al Ministerio de Educación Superior. El inóculo poseía como promedio 10^8 - 10^9 UFC. El EcoMic utilizado provenía del cepario del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas del Ministerio de Educación Superior, y las cepas utilizadas fueron *G. cubense* Y. Rodr. y Dalpé, sp. nov., *Funneliformis mosseae* Nicol. y Gerd. emend. Gerdeman y Trappe, *Rhizophagus intraradices* Smith y Schenck, y *Claroideoglossum claroideum* Schenck y Smith. Todos estos inóculos consistieron en una mezcla de arcilla, esporas, micelio y fragmentos de raíces colonizadas, y poseían 20 esporas por gramo de inóculo. El tratamiento testigo poseía la presencia de la micorriza nativa del suelo Pardo utilizado.

Para el desarrollo del experimento se utilizaron bolsos de polietileno llenados con una mezcla de suelo abono orgánico en relación 3/1 colocados en un vivero bajo sombra de guano.

La *Canavalia* se inoculó inicialmente con el *Rhizobium*, para lo cual se humedeció el inóculo hasta consistencia pastosa; luego se sumergieron las semillas hasta quedar cubiertas de la mezcla, se secaron a la sombra en papel y se sembraron en los bolsos previamente humedecidos para crear las condiciones necesarias para el desarrollo de la bacteria.

El inóculo de HMA se depositó en el suelo de los bolsos antes de colocar las semillas de *Canavalia*. Se utilizaron 10 g de EcoMic por sitio de siembra. Luego de la siembra no se aplicó riego hasta el tercer día.

Las parcelas estuvieron compuestas por 18 bolsos que se dispusieron a 20 cm x 20 cm de distancia. De cada parcela se evaluaron cuatro plantas.

Al florecer la *Canavalia*, se evaluó en cada parcela la altura, el número de hojas, el número de nódulos y la masa fresca y seca de las plantas. Se calculó el índice de eficiencia por la fórmula propuesta por Siqueira y Franco (1988):

$$\text{I.E.} = ((\text{valor del tratamiento X} - \text{valor del testigo}) / \text{valor del testigo}) \times 100$$

Los datos se procesaron mediante un análisis de varianza factorial y las medias se compararon mediante la dócima de Duncan.

Resultados y discusión

La inoculación de ambos microorganismos incrementó significativamente los indicadores de crecimiento de la *Canavalia* evaluados. Existió efecto de los dos factores en estudio. Con la utilización de la cepa Can 2003b se lograron los superiores valores de la altura, el número de hojas y la masa fresca, mientras la inoculación con la cepa Can 2003 deprimió estos

índices, pero aumentó el número de nódulos efectivos (Tabla 1).

El efecto de las cepas de micorrizas no se reflejaron en la altura de la *Canavalia*, mientras que los mayores indicadores de masa fresca y el número de hojas se pudieron alcanzar con la utilización de *Glomus cubense* y el número de nódulos con *F. mosseae* (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de las cepas de *Rhizobium* y HMA en los indicadores de crecimiento y desarrollo de la *Canavalia*. Media de los factores

	Altura (cm)	No. de hojas	No. de nódulos	Masa fresca (g)
Can 2003 a	87,28 c	6,6 d	69,71a	40,43 d
Can 2003 b	127,2 a	12,6 a	12,84 d	85,42 a
Can 3	113,16 b	10,68 b	30,45 c	62,1b
Can5	112,12 b	7,65 c	50,96 b	53,97c
ES x A	3,15 ***	0,36 ***	0,44***	0,76***
Testigo	117,65	10,57 a	32,82 c	66,59 b
<i>F. mosseae</i>	106,75	8,1 b	57,01 a	45,09 e
<i>G. cubense</i>	112,65	10,4 a	29,23 d	76,22 a
<i>R. intraradices</i>	105,35	8,89 b	33,23 c	63,23 c
<i>C. claroideum</i>	107,3	8,95 b	52,66 b	50,28 d
ES x B	3,53 ns	0,41 ***	0,49***	0,85***
CV%	14.37	19.65	5.43	1,71

*** Medias con letras diferentes difieren para $p < 0,001$.

La interacción de ambos inoculantes se reflejó en el crecimiento de la *Canavalia* (Tabla 2), y mostró variadas combinaciones *Rhizobium*-HMA en dependencia del indicador evaluado.

Para la altura el mayor valor se alcanzó con la combinación Can 5-*Glomus cubense*, mientras que el menor valor fue con Can 2003a-*Glomus cubense*.

Para la masa fresca el mayor incremento se alcanzó con la combinación Can 2003b-*R. intraradices*, mientras que este indicador se deprimió significativamente con Can 5-*F. mosseae*. Es interesante observar que las cepas nativas del suelo Pardo en algunos indicadores tuvieron un efecto superior o similar a las cepas comerciales de HMA.

En frijol, Gómez y col. (2009) demostraron que la coinoculación *Rhizobium-Glomus fasciculatum* ejerció un efecto estimulante sobre la producción de nódulos en las plantas y aumentó también el número de nódulos.

Al utilizar el indicador masa seca para la definición de los tratamientos, se observó que la cepa de *Rhizobium* Can 2003b incrementó significativamente este indicador y fue superior al resto de las cepas (Fig. 1). En anteriores investigaciones, Bustamante y col. (2009) encontraron en este suelo que la cepa Can 3 propició incrementos de 18 % en la altura, 166 % en la masa seca y 1106 % en el conteo de nódulos de la *Canavalia* con respecto al testigo.

Tabla 2. Efecto de la coinoculación de cepas de *Rhizobium* y HMA en los indicadores de crecimiento y desarrollo de la *Canavalia*

		Altura (cm)	No. de hojas	No. de nódulos	Masa fresca (g)
Can 2003a	Testigo	85,4 ef	7,4 ef	62,32 de	44,36 kl
	<i>F. mosseae</i>	80,6 f	5,6 ef	95,25 b	30,68 n
	<i>G. cubense</i>	81,6 f	5,4 f	81,8 c	41,41 m
	<i>R. intraradices</i>	86 ef	6,4 ef	62 de	39,2 n
	<i>C. claroideum</i>	102,8 def	8,2 de	47,2 f	46,54 jk
Can 2003b	Testigo	126,4 bc	14,6 a	7,17 n	82,12 d
	<i>F. mosseae</i>	121 bcd	10,2 cd	9,00 n	60,1 fg
	<i>G. cubense</i>	111,5 cde	11,2 bc	6,32 n	87,32 cd
	<i>R. intraradices</i>	143,8 ab	14,6 a	21,54 jk	125,42 a
	<i>C. claroideum</i>	133,2 b	12,4 abc	20,2 kl	72,16e
Can 3	Testigo	130,8 b	13,2 ab	29,4 h	83,38 cd
	<i>F. mosseae</i>	131,6 b	11,2 bc	63,6 d	64,1f
	<i>G. cubense</i>	97,8 ef	11,8 bc	15,4 m	59,04 fgh
	<i>R. intraradices</i>	97,2 ef	8 def	25,4 f	54,02 hi
	<i>G. claroideum</i>	108,4 def	9,2 cd	18,46 l	49,98 ij
Can 5	Testigo	128 bc	7,08 ef	32,4 g	56,52 gh
	<i>F. mosseae</i>	83,8 f	5,4 f	60,2 e	29,48 n
	<i>G. cubense</i>	159,6 a	13,2 ab	13,4 m	117,14 b
	<i>R. intraradices</i>	94,4 ef	6,6 ef	24 ij	34,3 n
	<i>C. claroideum</i>	84,8 f	6 ef	124,8 a	32,44 n
	ES AXB	7,06 ***	0,82 ***	0,99***	1,71***

*** Medias con letras diferentes difieren para $p < 0,001$.

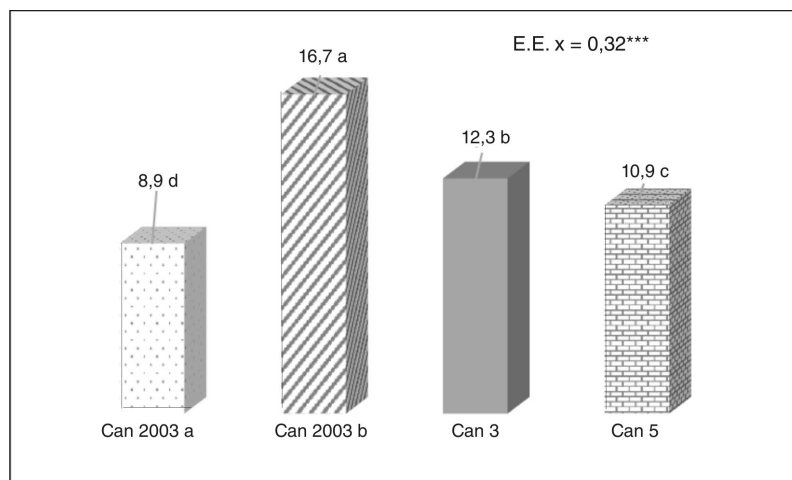


Fig. 1. Efecto de las cepas de *Rhizobium* en la masa seca de *Canavalia*, g • planta⁻¹

Entre las cepas de HMA, *Glomus cubense* fue superior estadísticamente al resto y mostró un índice de eficiencia que osciló entre el 9 % con respecto al testigo, y el 91,5 % con respecto a *F. mosseae* (Fig. 2). Rivera y col. (2015) asocian la efectividad de las cepas estudiadas de HMA al tipo de suelo, y para el cafeto en suelo Pardo recomiendan la cepa *Glomus cubense*. Se destaca el hecho de la superioridad de las

cepas nativas del suelo Pardo con respecto a las otras tres cepas comerciales.

Martín, Rivera y Arias (2009) comprobaron que la *Canavalia* inoculada con la cepa *Glomus hoi like* respondió a la aplicación de esta cepa eficiente, aun en presencia de alto número de propágulos nativos de HMA en un suelo Ferralítico Rojo, lo que deja claro la alta competitividad y eficiencia de la cepa.

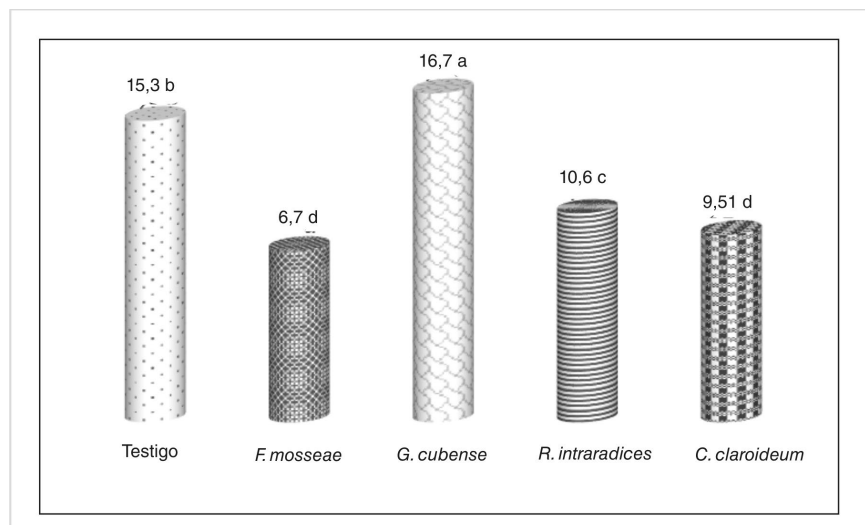


Fig. 2. Efecto de las cepas de HMA en la masa seca de Canavalia, g • planta⁻¹

La interacción de ambos factores mostró que los mayores incrementos de masa seca se alcanzó con la combinación Can 5-*Glomus cubense*, mostrando al mismo tiempo la cepa Can 5 los resultados más bajos con el

resto de las cepas de HMA (Tabla 3). Con la cepa de *Rhizobium* Can 2003 b y las diferentes cepas de HMA se logró un segundo grupo de tratamientos con posibilidades de utilizar como alternativa.

Tabla 3. Efecto de la interacción de las cepas de *Rhizobium* y las de HMA en la masa seca de *Canavalia*, g • planta⁻¹

	Can 2003 a	Can 2003 b	Can 3	Can 5
Testigo	10,62 de	19,28 b	17,98 b	13,42 c
<i>F. mosseae</i>	7,98 fgh	11,92 cd	10,14 def	4,86 j
<i>G. cubense</i>	9,51 ef	19,69 b	13,2 c	24,42 a
<i>R. intraradices</i>	7,22 ghi	19,75 b	10,04 def	5,58 ij
<i>C. claroideum</i>	8,96 efg	12,71 c	10,28 def	6,1 hij
E.E., x	0,73**			

** Medias con letras desiguales difieren para $p \leq 0,01$ según dócima de Duncan.

Se debe destacar que la cepa nativa de HMA mostró resultados positivos con la cepa de *Rhizobium* Can 2003 b y Can 2003.

La cepa Can 2003a deprimió significativamente la masa seca de la *Canavalia* en este suelo, independientemente de la cepa de HMA utilizada.

Conclusiones

- Se encontró interacción entre las cepas de *Rhizobium* y de los hongos formadores de micorrizas en el crecimiento de la *Canavalia*.
- La cepa de *Rhizobium* Can 2003b incrementó significativamente la masa seca de la *Canavalia* y fue superior al resto de las cepas estudiadas.
- La cepa Can 2003a tuvo un efecto depresivo.
- La inoculación de la *Canavalia* con la cepa *Glomus hoi like* mostró los mayores valores de los indicadores evaluados.
- La coinoculación Can 5-*Glomus hoi like* permitió los mayores valores de crecimiento de la *Canavalia*.

Bibliografía

- Bustamante, C.; Pérez-Díaz, A.; Viñals, R.; Rivera, R.; Pérez, Guianeya y M. Rodríguez: Efecto de la inoculación con cepas de *Rhizobium* sobre Indicadores de crecimiento y producción de biomasa por *Canavalia ensiformis* L. intercalada con café en suelo Pardo de Cuba. En: *Resúmenes XXIV Reunión Latinoamericana de Rhizobiología y I Conferencia Iberoamericana de Interacciones Microorganismo- Planta- Ambiente*. La Habana. ISBN 978-959-16-1030-0, 2009.
- Candanedo Lay, E; Aranda, G. y S. A. de Millán: Efecto de los exudados radiculares de *Canavalia* sp. en la patogénesis de *Meloidogyne incognita*, raza 2, en tomate. En: *Quinta jornada agropecuaria región oriental. 5. Jornada Agropecuaria Región Oriental*. Panamá (Panamá). 25 agosto 1994.
- García, Margarita: "Contribución al estudio y utilización de los abonos verdes en cultivos económicos desarrollados sobre un suelo Ferralítico rojo de la

Habana" [inédito], tesis de candidatura, Instituto de Ciencias Agrícolas (INCA), La Habana, 1997.

Gómez, E. J.; Padilla, R.; López, R.; Zamora, A. y R. Santiesteban: Efecto de la coinoculación *Rhizobium* – micorriza en frijol Caupí (*Vigna unguiculata* L.) Var. It 86 d-715, en un suelo fluvisol de la provincia Granma. En: *Resúmenes XXIV Reunión Latinoamericana de Rhizobiología y I Conferencia Iberoamericana de Interacciones Microorganismo- Planta- Ambiente*. La Habana. ISBN 978-959-16-1030-0, 2009.

Martín, G.; Rivera, R. y L. Arias: Respuesta de la *Canavalia ensiformis* a la inoculación con *Glomus hoi like* en suelos con diferente contenido de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA). En: *Resúmenes XXIV Reunión Latinoamericana de Rhizobiología y I Conferencia Iberoamericana de Interacciones Microorganismo- Planta- Ambiente*. La Habana. ISBN 978-959-16-1030-0, 2009.

Rivera, R.; González, P.J.; Hernández-Jimenez, A. y col.: La importancia del ambiente edáfico y del pH sobre la efectividad y la recomendación de cepas eficientes de HMA para la inoculación de los cultivos. En: *VIII Congreso de la Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo*, del 2 al 5 de Junio. La Habana, Cuba, ISBN: 978-959-296-039-8, 2015.

Siqueira, J. O. y A. A. Franco: *Biotecnología do solo. Fundamentos e Perspectiva*. MEC-ESAL-FAEPE-ABEAS. Brasilia, D.F. 235 Pp., 1988.

Terry, E. y J. Ruiz: Uso y manejo de *Azotobacter* sp. y hongos micorrizógenos inoculados a diferentes cultivos hortícolas. En: *Resúmenes XXIV Reunión Latinoamericana de Rhizobiología y I Conferencia Iberoamericana de Interacciones Microorganismo- Planta- Ambiente*. La Habana. ISBN 978-959-16-1030-0, 2009.

Torres Navarro, J. C. y M. J. Echeverry López: Efecto del intercalamiento de *Canavalia ensiformis* sobre el desarrollo vegetativo y primera cosecha de cafetos de seis meses de edad, zocas y nuevas siembras. *Cenicafé*, 39(3): 63-81, 1988.