

Influencia de la inoculación de *Rhizobium* en la producción de biomasa de *Canavalia ensiformis* (L.) en un suelo Pardo sin carbonatos de Baracoa¹

Fernando Fulgencio Selva-Hernández*, Carlos Alberto Bustamante-González** y Yusdel Ferrás-Negrín***

Resumen

La investigación se realizó desde diciembre 2017 a marzo 2018 en la Estación Experimental Agro-Forestal de Baracoa a 28 msnm sobre un suelo Pardo sin carbonato, con el objetivo de evaluar la influencia de la inoculación *Rhizobium* en la producción de biomasa por *Canavalia ensiformis* (L.) D. C. Para la inoculación se utilizaron 11 cepas pertenecientes al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA): Cb1, Cb2, Cb3, Cb7, Cb8, Cb5a, Cb6a, Cb17, Cb19, 2001 y 2003a. La concentración bacteriana osciló entre 2×10^8 y $8,8 \times 10^9$ UFC mL⁻¹. Como testigo se sembró la *Canavalia* en suelo sin inocular. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 10 plantas por tratamiento para evaluar cinco de ellas. Se evaluó la masa seca de las plantas por órganos. Se calculó el peso de los nódulos por tratamientos y se determinó su eficiencia. Se registraron los valores medios de precipitación y temperatura mientras se desarrolló la investigación. El procesamiento estadístico de los datos se realizó a través de un análisis de varianza. En Baracoa, en un suelo Pardo sin carbonatos, las cepas 2003a, Cb17, 2001, Cb8 y Cb6a aportaron mayor biomasa total. El fruto (31,83 %) fue el órgano de la planta que mayor aportó. La cepa que más deprimió la producción de masa seca total sin diferencia significativa con el testigo fue la Cb2 con 4,65 t/ha⁻¹. El mayor peso promedio de los nódulos en las raíces se presentó en la inoculación con la cepa Cb1 con 14,8 g. El mayor porcentaje de eficiencia se presentó en la cepa Cb7 con el 100 %.

Palabras clave: abono verde, cepas, biofertilizante, nódulos.

Abstract

The investigation was carried out from December 2017 to March 2018, in the Estación Experimental Agro-Forestal of Baracoa, Guantánamo province at 28 m.s.n.m on a Brown soil without Carbonate; with the objective of evaluating the influence of the *Rhizobium* inoculation in the biomass production of *Canavalia ensiformis* (L.) D. C. For the inoculation 11 stumps belonging to the National Institute of Agricultural Sciences (INCA) were used: Cb1, Cb2, Cb3, Cb7, Cb8, Cb5a, Cb6a, Cb17, Cb19, 2001 and 2003a. The bacterial concentration oscillated between 2×10^8 and $8,8 \times 10^9$ UFC mL⁻¹. As witness the *Canavalia* was sowed in soil without inoculating. A design totally randomized was used with 10 plants per treatment to evaluate 5 of them. The dry mass of the plants was evaluated per organs. The weight of the nodules was calculated by treatments and its efficiency was determined. The values precipitation means and temperature were registered while the investigation was developed. The statistical prosecution of the data was carried out through a variance analysis. In Baracoa in a Brown soil without carbonates, the stumps 2003a, Cb17, 2001, Cb8 and Cb6a contributed bigger total biomass. The fruit (31,83 %) the organ of the plant that adult contributed was. The stump that more it depressed the production of total dry mass without significant difference with the witness it was the Cb2 with 4,65 t/ha⁻¹. The biggest weight average in the nodules in the roots, was presented in the inoculation with the Stump Cb1 with 14,8 g. The biggest percentage of efficiency was presented in the stump Cb7 with 100 %.

Key words: green manure, stumps, biofertilizer, nodules.

¹ Recibido: 04/10/2018

Aprobado: 17/01/2019

* Estación Experimental Agro-Forestal Baracoa, Guantánamo. fernando@inafbcoa.gtm.minag.cu

** Estación Experimental Agro-Forestal Tercer Frente, Santiago de Cuba. nutricion1@tercerfrente.inaf.co.cu

*** Estación Experimental Agro-Forestal Jibacoa, Manicaragua, Villa Clara, Cuba. yusdel@jibacoa.inaf.co.cu

Introducción

El empleo de especies fijadoras de nitrógeno en los sistemas agrícolas reduce la necesidad de fertilizantes nitrogenados y mejora las condiciones del suelo. Las leguminosas empleadas como abono verde reúnen varias ventajas, pues además del aporte considerable de nitrógeno que realizan, son capaces de reciclar otros nutrientes y mejorar algunas propiedades físicas y biológicas de los suelos. En las condiciones de Cuba, una de las especies de abono verde que mejores resultados ha tenido es la *Canavalia ensiformis* (L.) D.C. (Martín y col., 2015).

La asociación *Rhizobium*-leguminosa contribuye entre un 1/3 y un 1/2 del nitrógeno fijado de la atmósfera, y se basa en el intercambio de carbono por nitrógeno entre ambos simbioses, ya que para las plantas el nutriente más limitante es el nitrógeno (Martínez, 2001, citado por Bustamante y col., 2009).

Una forma sostenible de incorporar nitrógeno a los sistemas agrícolas es la inserción dentro de las rotaciones de cultivos de plantas que establezcan simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno presentes en el suelo, capaces de realizar la fijación biológica de nitrógeno. Entre estos tipos de plantas se encuentran las leguminosas, que se emplean como abonos verdes y cultivos de cobertura, capaces de mantener o mejorar las características físicas, químicas y biológicas del suelo, lo cual es importante desde el punto de vista de ahorro de fertilizantes nitrogenados y de la reducción de los costos de producciones (Fernández y col., 2013.)

En los últimos tiempos ha sido un tema recurrente la adopción de estrategias capaces de estimular y optimizar los procesos biológicos del suelo, priorizando el uso de técnicas multifuncionales que mejoren la fertilidad, contrarresten los procesos de erosión y favorezcan la presencia de poblaciones de organismos benéficos en el suelo. En tal contexto, el empleo de *Canavalia ensi-*

formis (L.) D.C. como cultivo intercalado en plantaciones arbustivas forrajeras se presenta como una opción de innegable valor.

La *Canavalia* prospera y se desarrolla bien en un amplio rango de condiciones agrometeorológicas y presenta un rápido y fácil establecimiento. Es una especie que nodula con cepas nativas de *Rhizobium* (CIDICCO, 2004, citado por Pentón y col., 2014).

En Baracoa no se han realizado investigaciones para determinar el comportamiento de la biomasa con los inóculos Cb1, Cb2, Cb3, Cb7, Cb8, Cb5a, Cb6a, Cb17, Cb19, 2001 y 2003a en el cultivo de la *Canavalia ensiformis* (L.) D.C.

El objetivo de este trabajo consistió en conocer la influencia de la inoculación de *Rhizobium* en la producción de biomasa de *Canavalia ensiformis* L. D.C. en suelo Pardo sin carbonatos de Baracoa.

Materiales y métodos

El experimento se desarrolló en la Estación Experimental Agro-Forestal Baracoa, provincia de Guantánamo a 28 msnm en un suelo Pardo sin carbonatos, desde diciembre de 2017 hasta marzo de 2018.

Para la inoculación se utilizaron 11 aislados de *Rhizobium* perteneciente al cepario del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA): Cb1, Cb2, Cb3, Cb7, Cb8, Cb5a, Cb6a, Cb17, Cb19, 2001 y 2003^a, y su concentración bacteriana osciló entre 2×10^8 y $8,8 \times 10^9$ UFC mL⁻¹. Cada inóculo se consideró un tratamiento. Se tuvo un tratamiento testigo donde no se inocularon los biofertilizantes bacterianos.

El suelo utilizado para la investigación fue Pardo sin carbonatos (Hernández y col., 2015), el cual se caracterizó por ser ligeramente ácido, poseer un contenido de fósforo bajo, la concentración de potasio y de materia orgánica un contenido medio (Tabla 1).

Tabla 1. Características del suelo

pH KCl	P_2O_5 (mg/100 g de suelo)	K_2O (mg/100 g de suelo)	M.O. %
5,83	15,76	17,9	4,28

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 10 plantas por tratamiento para evaluar cinco de ellas. Se utilizaron bolsos de polietileno de 25 cm de ancho x 45 cm de alto, donde se sembraron dos semillas de *Canavalia* en

cada bolso después de sumergirlas en cada inóculo por espacio de 20 minutos a la sombra y temprano en la mañana. Para evitar el efecto de borde se sembró una hilera de bolsos sembrados con *Canavalia* alrededor del área

experimental. Los bolsos se colocaron con una separación de 40 cm uno de otro. Antes de evaluar, se realizó un riego abundante para evitar daños al extraer las raíces. Para realizar las evaluaciones, a los tres meses se seleccionó de cada tratamiento la planta más desarrollada en cada bolso y se separó en tallo, hojas, frutos y raíces.

Se evaluó la masa fresca (g/planta) y la masa seca (g/planta) de cada uno de estos órganos, pesándola por separado en una balanza Sartorius. Se tomó una fracción de 100 g de masa fresca y se secó en la estufa a 70 °C hasta alcanzar valores de masa constante.

Se estimó la masa seca total de la *Canavalia* en t/ha⁻¹, considerando la cantidad de 75,6 miles de plantas de *Canavalia* por hectárea. Para el cálculo se tuvo en cuenta la cantidad de 1111 plantas de cacao por hectárea a una distancia de plantación de 3 m x 3 m. Se despreció 50 cm a cada lado de la hectárea, considerando que en esa área no se sembraría la *Canavalia*, pues estaría ocupada por las ramas de la joven planta de cacao.

Se calculó el peso de los nódulos por tratamientos y su eficiencia (%). Para determinar la eficiencia se realizó un corte al azar del 30 % de la cantidad de nódulos, y de presentarse cambio de coloración de amarillo a rojizo

en su constitución después de un minuto de espera, se consideraron efectivos.

Se registraron los valores medios de precipitaciones (mm) y temperatura (°C), mientras se desarrolló la investigación, tomados de la Estación Agrometeorológica del Jamal adjunta al Instituto de Meteorología.

El procesamiento estadístico de los datos se realizó a través de un análisis de varianza con la utilización del programa InfoStat versión 1.0 (InfoStat, 2004). La comparación de las medias se realizó mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan con un nivel de confianza del 95 %.

Resultados y discusión

La inoculación de las semillas de *Canavalia* con los aislados ensayados (Tabla 2), respecto a la producción de la biomasa total mostró que las mejores cepas fueron 2003a, Cb17, 2001, Cb8 y Cb 6a sin diferencia significativamente entre ellas. No obstante, la cepa 2003a resultó la de mayor tendencia, con un incremento respecto al testigo de 112 %. La cepa que más deprimió la producción de biomasa total resultó la Cb2, y no difiere estadísticamente con el testigo.

Tabla 2. Aporte de masa seca total (t/ha⁻¹), y por órganos de la planta (g/planta) de la *Canavalia ensiformis* (L.)

Cepas	Masa seca total	Incremento	Masa seca frutos	Masa seca raíz	Masa seca tallo	Masa seca hojas
T	4,64 e		1,20 f	9,70 bc	37,10	30,78
Cb1	6,25 cde	1,35	20,76 de	10,90 ab	24,80	26,24
Cb2	4,65 e	1,00	17,66 e	5,88 e	16,20	21,74
Cb3	7,12 bcde	1,53	30,22 cd	8,28 cd	24,20	31,54
Cb5a	5,14 de	1,11	24,72 cde	6,34 de	16,72	20,18
Cb 6a	7,34 abcd	1,58	31,52 bcd	8,06 cde	24,38	33,16
Cb 7	6,71 cde	1,45	27,34 cde	7,24 de	69,76	30,34
Cb8	8,60 abc	1,85	42,98 ab	7,98 cde	28,02	34,76
Cb 19	5,95 de	1,28	28,88 cde	6,32 de	13,74	29,74
2001	7,31 abcde	1,57	36,52 abc	7,98 cde	28,88	23,32
2003 a	9,84 a	2,12	36,28 abc	12,90 a	38,08	42,88
Cb17	9,59 ab	2,07	45,82 a	10,94 ab	33,44	36,62
E.E., x	0,81*		3,74*	0,71*	14,00 ns	5,25 ns

*Medias con letras diferentes difieren entre sí ($p \leq 0,05$). ns: no es significativo ($p \leq 0,05$).

Las cepas Cb1, Cb3, Cb5a, Cb7 y Cb 19 mostraron los menores valores absolutos sin diferencia significativa entre ellas, lo que indica que deprimen la producción de biomasa total; sin embargo, todas superan 5 t/ha⁻¹; esto coincide con lo planteado por Martín y col. (2016), al afirmar que la *Canavalia* debe presentar valores de masa seca superiores a 5 t/ha⁻¹, que es el valor mínimo que debe aportar un abono verde para ser considerado promisorio en las condiciones tropicales.

Matías (1995) señala que entre los factores que afectan el rendimiento de *Canavalia* están el no inocular la semilla con cepas específicas de *Rhizobium*.

Los altos aportes de biomasa pueden estar relacionados con las precipitaciones. Al aumentar las precipitaciones se propicia que se intensifique el crecimiento de las plantas empleadas como abono verde (Mateus y col., 2011, citado por Martín y col., 2017).

La producción de masa seca en los diferentes órganos de las plantas muestran que en los frutos los mayores valores los tienen las cepas Cb17, 2003a, 2001, Cb8 y Cb6a sin diferencias significativas entre ellas, aunque la tendencia favorece a la cepa Cb17; en la raíz el comportamiento favorece a las cepas 2003a y Cb17 que no difieren con la cepa Cb1. En el tallo y las hojas la producción de biomasa no tuvo significación en los diferentes tratamientos.

Se ha informado que la adecuada inoculación de una leguminosa con cepas efectivas provoca un aumento de

la masa aérea de las plantas (Partelli y col., 2011), aunque numerosos reportes indican que *Canavalia* es un género promiscuo que puede establecer simbiosis efectiva con varias cepas de *Rhizobium*.

En Baracoa el período considerado más lluvioso comprende de octubre a diciembre, aunque últimamente en enero y febrero se ha incrementado, estando la media en los tres primeros meses en 201 mm. La temperatura media estuvo en 23,7 °C, según registro de la Estación Meteorológica Jamal, adjunta el Sistema Meteorológico Nacional. Estos valores son considerados como típicamente cálidos y húmedos, y están en el rango óptimo para el desarrollo de la especie, según Binder (1997).

Según Hernández y col. (2016), la producción de masa seca se incrementa favorablemente con el inicio de las lluvias. Bajo las condiciones agroclimáticas de Cuba esta especie crece y se desarrolla muy rápido durante la época de primavera, coincidiendo con los meses más lluviosos. Al aumentar las precipitaciones, se intensifica el crecimiento de las plantas empleadas como abono verde y la mayor producción de fitomasa.

El órgano de *Canavalia ensiformis* (L.) que más biomasa aportó fue el fruto con el 31,83 % del total (Fig. 1), seguido de las hojas y tallos que prácticamente aportan igual cantidad, y finalmente la raíz que solo aporta el 9 %.

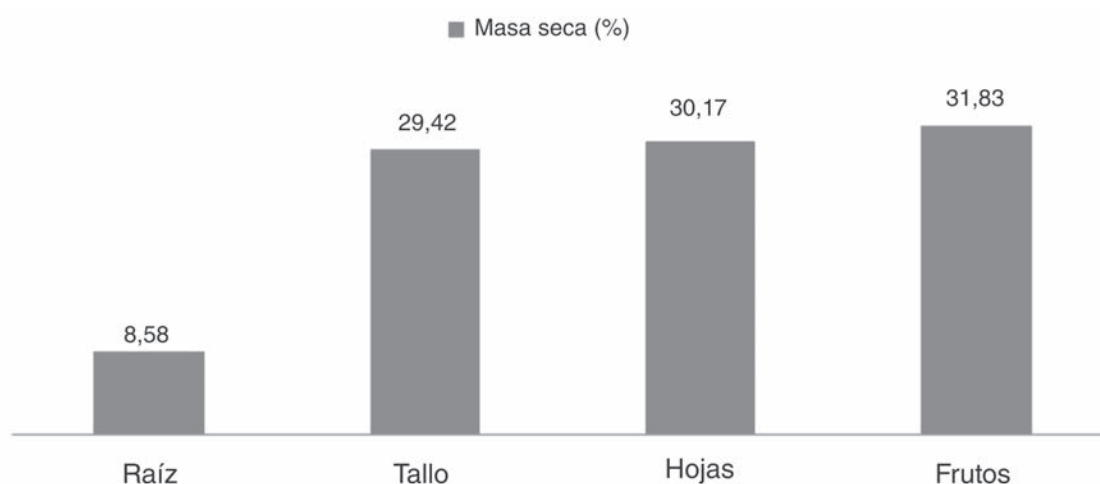


Fig. 1. Porcentaje de masa seca de cada órgano de la *Canavalia ensiformis* (L.).

El mayor peso promedio de los nódulos en las raíces de los inóculos (Tabla 3) se vio en la cepa Cb1 con 14,8 g,

con diferencias significativas del resto de los tratamientos, y el porcentaje mayor de eficiencia en la cepa Cb7 con el 100 %.

Tabla 3. Peso medio y eficiencia de los nódulos en las raíces de la *Canavalia ensiformis* (L.) por tratamiento

Tratamientos	Peso medio de nódulos (g)	Eficientes (%)
2001	3,08 a	40
2003a	3,64 ab	40
Cb17	3,78 abc	60
Cb19	4,20 abc	0
T	5,22 bcd	0
Cb 6a	5,56 cde	80
Cb2	7,04 def	20
Cb5a	7,18 ef	80
Cb8	7,52 f	80
Cb7	7,92 f	100
Cb3	10,04 g	60
Cb1	14,8 h	80
E.E. x	0,7545	
CV (%)	13,03	

Medias con letras diferentes difieren entre sí ($p \leq 0,05$).

Conclusiones

- En Baracoa, en un suelo Pardo sin carbonatos, las cepas 2003a, Cb17, 2001, Cb 8 y Cb6a aportaron mayor biomasa total.
- El órgano de la planta que más aportó fue el fruto con 31,83 %.
- La cepa que más deprimió la producción de masa seca total sin diferencia significativa con el testigo fue la Cb2 con 4,65 t/ha⁻¹.
- El mayor peso promedio de los nódulos en las raíces se presentó en la inoculación con la cepa Cb1 con 14,8 g, y el porcentaje mayor de eficiencia se presentó en la cepa Cb7 con el 100 %.

Bibliografía

Binder, U.: *Manual de Leguminosas de Nicaragua*. PASOLAC, E.A.G.E., Estelí, Nicaragua. 528 pp., 1997.

Bustamante y col.: 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 Beneficiosas microorganismos- planta-ambiente*, 2009.

Fernández, R.; Matías, S. M.; Uhaldegaray, A. Q. y N. Elke: Estudio de la contribución de nitrógeno por parte de los cultivos de cobertura al cultivo de maíz. *Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica*, (9):12-16, 2013.

Hernández, A.; Jiménez, J.; Pérez, M. y N. Jiménez: *Clasificación de los suelos de Cuba*. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Ministerio de Educación Superior e Instituto de suelos, Ministerio de la Agricultura, Ediciones INCA. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. ISBN 978-959-7023-77-7, p 71, 2015.

Hernández, I.; Gloria Martín; Belkis Morales; Bustamante, C. y Y. Ferrás: Aislamiento y caracterización de cepas nativas de *Rhizobium* para la inoculación efectiva de *Canavalia ensiformis*. En: *Informe de tarea*. INCA, San José de las Lajas, Mayabeque, 4 pp., 2016.

InfoStat: InfoStat versión 2004. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 2004.

Matías, C.: "Producción de semillas de leguminosas en condiciones de secano" [inédito], tesis de candidatura. EEPF "Indio Hatuey" Pastos y Forrajes. Matanzas, Cuba, 1995.

Martín, G. M.; Reyes, R. y J. F. Ramírez: Coinoculación de *Canavalia ensiformis* (L.) D.C. con *Rhizobium* y Hongos micorrízicos arbusculares en dos tipos de suelos de Cuba. *Cultivos Tropicales*, 36 (2): 22-29, 2015.

Martín, Gloria; Fernández, I.; Belkis Morales; Bustamante, C. y Y. Ferrás: Aislamiento y caracterización de cepas nativas de *Rhizobium* para la inoculación efectiva de *Canavalia ensiformis*. En: *Informe de tarea*. INCA, San José de las Lajas, Mayabeque, 14 pp., 2016.

Martín, Gloria; Tamayo, Y.; Hernández, I.; Varela, M. y E. da Silva: Cuantificación de la fijación biológica de nitrógeno en *Canavalia ensiformis* crecida en un suelo Pardo mullido carbonatado mediante los métodos de abundancia natural de 15N y diferencia de N total. *Cultivos Tropicales*, 38 (1): 122-130, 2017.

Partelli, F. L.; Duarte, V. H.; Petrônio de Brito, F. E.; Pio, V. A.; Azevedo, E. J. A.; Urquiaga, S. y R. M. Bodde: Biologic the nitrogen fixation and nutrient cycling in cover crops and their effect on organic Conilon coffee. *Semina: Ciências Agrárias*, 32 (3): 995-1005, 2011.

Pentón, G.; Rivera, R.; Martín, G.; Oropeza, J. K. y F. Alonso: Manejo de *Canavalia ensiformis* coinoculada con HMA y *Rhizobium* intercalada en plantaciones de morera (*Morus alba* L.). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 31: 377-392, 2014.