

Manejo de *Canavalia ensiformis* coinoculada con HMA y *Rhizobium* intercalada en plantaciones de morera (*Morus alba* L.)

Management of *Canavalia ensiformis* co-inoculated with AMF and *Rhizobium* intercropped in mulberry (*Morus alba* L.) plantations

G. Pentón Fernández¹, R. Rivera Espinosa², G.J. Martín Martín¹,
K. Oropeza Casanova³ y F. Alonso Alonso¹

¹Estación Experimental “Indio Hatuey” (EEPFH)

²Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)

³Instituto de Investigaciones de Pastos Forrajes (IIPF)

Resumen

Se estudiaron alternativas de manejo de *Canavalia ensiformis* coinoculada con HMA y *Rhizobium*, intercalada en plantaciones de morera (*Morus alba* L.) en la Estación Experimental “Indio Hatuey”. Para ello se evaluó la cepa de *Rhizobium* Embrapa, los aislados CAN3 y CAN5, la cepa de HMA *Glomus cubense*, las distancias entre plantas 20 y 40 cm, y las edades de cosecha 60 y 90 días. La canavalia se sembró intercalada entre surcos de morera con un marco de 1 x 0,5 m. Se empleó un diseño en bloques al azar, con cuatro repeticiones. El procesamiento matemático se basó en el análisis de varianza. El paquete estadístico empleado fue InfoStat versión libre. Se observó una significativa superioridad de la coinoculación respecto a la inoculación con *Rhizobium* y el testigo. En el mejor tratamiento la colonización fúngica fue de 44,86% y la densidad visual de 2,04%. Hubo un aumento significativo de la masa seca de la raíz y el rendimiento de biomasa cuando se coinoculó con la cepa CAN5 y se sembró a 20 cm entre plantas. En tal condición se duplicó el porcentaje de colonización fúngica y la densidad visual de la colonización respecto a la distancia de 40 cm. La edad de cosecha 90 días fue mejor que 60 días. Se concluye que las mejores alternativas de manejo de *C. ensiformis* coinoculada con *Rhizobium* y HMA e intercalada en plantaciones de morera (*Morus alba* L.) están asociadas a la aplicación del aislado CAN5, la siembra a una distancia entre plantas de 20 cm y la cosecha a los 90 días.

Palabras clave: *Rhizobium*, micorrizas, coinoculación, distancia entre plantas, edad de cosecha.

Recibido el 28-1-2013 ● Aceptado el 19-9-2014

Autor de correspondencia e-mail: gertrudis@ihatuey.cu

Abstract

Management alternatives of *Canavalia ensiformis* co-inoculated with AMF and *Rhizobium*, intercropped in mulberry (*Morus alba* L.) plantations in the Research Station “Indio Hatuey”, were evaluated. For such purpose, the *Rhizobium* strain Embrapa, the isolates CAN3 and CAN 5, the AMF strain *Glomus cubense*, the distances 20 and 40 cm between plants, and the harvest ages 60 and 90 days, were evaluated. *C. ensiformis* was planted intercropped between mulberry rows with a 1 x 0.5-m frame. A split plot design with four replications was used. The mathematical processing was based on the variance analysis. The statistical pack used was InfoStat, free version. A significant superiority of the co-inoculation was observed with regards to the inoculation with *Rhizobium* and the control. In the best treatment the fungal colonization was 44.86% and the visual density 2.04%. There was a significant increase of the root dry matter and biomass yield when there was co-inoculation with the strain CAN5 and the distance between plants was 20 cm. Under such condition, the percentage of fungal colonization and the visual density of the colonization were doubled as compared with the 40 cm distance. The harvest age 90 days was better than 60 days. It is concluded that the best management alternatives of *C. ensiformis* co-inoculated with *Rhizobium* and AMF and intercropped in mulberry (*Morus alba* L.) plantations are associated to the application of the isolate CAN5, sowing at a distance of 20 cm between plants and harvest at 90 days.

Key words: *Rhizobium*, mycorrhizae, co-inoculation, distance between plants, harvest age

Introducción

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 mantengan o 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 ensiformis* 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 con-

Introduction

The adoption of strategies capable of stimulating and optimizing the biological processes of the soil has been a recurrent topic in the last years, prioritizing the use of multi-functional techniques that keep or improve the fertility, counteract the erosion processes and favor the presence of organisms' population beneficial in the soil.

Therefore, the use of *Canavalia ensiformis* as an intercropping in forage shrub plantations is presented as a valuable option.

Canavalia develops easily in a wide rank of agroecological conditions, it establishes fast and easy. It is a specie that nodules with native strains

diciones agrometeorológicas, presenta un rápido y fácil establecimiento. Es una especie que nodula con cepas nativas de *Rhizobium* (CIDICCO, 2004; Embrapa, Agrobiología, 2007). Se ha demostrado que posee un alto potencial de colonización por hongos micorrízico arbusculares (HMA) nativo del suelo, y es capaz de propiciar la colonización de cultivos asociados ó en sucesión (Martín, 2009).

En plantaciones de morera, la mayor importancia de su uso radica en la posibilidad que brinda de inocular cepas eficientes de HMA para su posterior reproducción "in situ", conformando un sustrato con muy alta concentración de propágulos eficientes que garantiza una efectiva y económica micorrización del cultivo acompañante (Rivera y Fernández, 2003).

Aunque existen estudios sobre el manejo de canavalia como cultivo precedente o asociado a especies anuales, no se ha profundizado suficientemente en torno a su asociación con plantas forrajeras como es el caso de la morera.

De ahí que el objetivo del presente trabajo fue estudiar diferentes alternativas de manejo de *C. ensiformis* coinoculada con HMA y *Rhizobium*, intercalada en plantaciones de morera (*Morus alba* L.).

Materiales y métodos

Ubicación Geográfica: Los experimentos se realizaron en áreas de campo de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"; colindando con plantaciones de morera, leucaena y otras arbustivas, situadas todas en la entrada de la institución.

of *rhizobium* (CIDICCO, 2004; Embrapa, Agrobiología, 2007). It has been proved that Canavalia presents a high colonization potential by the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) which is native of the soil and is capable of propitiating the colonization of associated or successive crops (Martín, 2009).

In mulberry plantations, the highest importance of its use relies on its possibility of inoculating efficient strains for AMF for its posterior in situ reproduction, forming a substrate with very high concentration of efficient propagules that guarantee an effective and economic mycorrhization of the companion crop (Rivera and Fernández 2003).

Even though there are researchers about the handle of canavalia as a precedent or associated crop to annual species, none have studied enough about its association to forage plants, such as with mulberry.

Thus, the aim of this research was to study different handling alternatives of *C. ensiformis* coinoculated with AMF and rhizobium, interposed in mulberry plantations (*Morus alba* L.).

Materials and methods

Geographic location: The experiments were carried out at the Experimental Field Station of Grasses and Forages "Indio Hatuey", bordering with mulberry, leucaena and other shrub plantations located at the entrance of the institution.

Soil-weather characteristics: the soil is red ferrallitic (Hernández *et al.*, 2003), with good superficial and

Características Edafoclimáticas: El suelo del lugar es de tipo Ferralítico Rojo (Hernández *et al.*, 2003), con buen drenaje superficial e interno. La composición química es de 0,04; 0,09; 9,42; 5,2 cmol.kg⁻¹=meq.100g⁻¹ de Na, K, Ca, y Mg respectivamente, y un pH de 6,91. La fertilidad está evaluada entre media y baja; fundamentalmente por la concentración baja de potasio. El contenido de materia orgánica medio (3,3%) es característico de este tipo de suelo.

Las precipitaciones mensuales en la etapa evaluada estuvieron entre 166,1 y 283,1mm, con una temperatura promedio de 26,7°C; que define el período como típicamente cálido y húmedo (cuadro 1).

Características del material genético: Las semillas de canavalia se obtuvieron de un banco de semilla básica, con seis meses de cosechadas y 95% de pureza. La plantación de morera (*Morus alba* L. var. Tigreada) contaba al momento de iniciar los experimentos con cinco años de plantada.

El producto comercial empleado para inocular HMA fue EcoMic^R. La cepa utilizada fue *Glomus cubense*, con 20 esporas.g⁻¹ de inoculante (Fernández *et al.*, 2001).

La cepa efectiva de *Rhizobium* fue introducida al país desde Brasil, y los aislados CAN3 y CAN5 se obtuvieron en Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal del INCA y la Estación Experimental de Cascajal, Las Villas, Cuba.

Procedimiento experimental general: Durante dos años, al inicio de la época lluviosa, se intercaló un surco de canavalia entre dos de morera. Las parcelas tuvieron una dimen-

internal drainage. The chemical composition is 0.04, 0.09, 9.42, 5.2 cmol.kg⁻¹=meq.100g⁻¹ of Na, K, Ca, and Mg respectively, and a pH of 6.91. The fertility is evaluated from medium to low, mainly by the low potassium concentration. The medium content of organic matter (3.3%) is characteristics of this type of soil.

The monthly precipitations in the evaluated phase were from 166.1 to 283.1mm, with an average temperature of 26.7°C; that defines the period as typically warm and humid (table 1).

Characteristics of the genetic material: canavalia seeds were obtained from a basic seed bank, with six months of crop and 95% of pureness. The mulberry plantation (*Morus alba* L. var. Tigreada) was five-year-old of being cropped at the moment of initiating the experiments.

The commercial product used to inoculate AMF was EcoMic^R. The strain used was *Glomus cubense*, with 20 spores.g⁻¹ of the inoculums (Fernández *et al.*, 2001).

The effective strain of rhizobium was introduced to the country from Brazil and the isolates CAN3 and CAN5 were obtained from the Department of Physiology and Vegetal Biochemistry of INCA and the Experimental Station of Cascajal, Las Villas, Cuba.

General experimental procedure: for two years, at the beginning of the rainy season, a furrow of canavalia was inserted between two of mulberry. The plots had a 24 m² dimension. The furrows were oriented towards east-west. The inoculation was firstly done with *rhizobium*, and after the drying process of the product on the seed, it

Cuadro 1. Características de algunas variables meteorológicas.

Table 1. Characteristics of some weather variables.

Meses	2009		2010		Promedio	
	Precipitación (mm)	Temperatura del aire (°C)	Precipitación (mm)	Temperatura del aire (°C)	Precipitación (mm)	Temperatura del aire (C)
Junio	170,9	25,8	161,3	27,5	166,1	26,7
Julio	120,3	27,4	259,7	26,7	190,0	27,1
Agosto	117,9	27	226,0	26,8	172,0	26,9
Septiembre	251	26,1	315,2	26,2	283,1	26,2
Total	660,1	26,575	962,23	26,8	811,2	26,7

sión 24 m². Los surcos se encontraban orientados en sentido este-oeste. La inoculación se realizó primero con *Rhizobium*, y después de secado el producto sobre la semilla, se recubrió con EcoMic^R al 9% conforme a lo recomendado por Fernández *et al.* (2001). La siembra se hizo en el horario de la mañana. No se aplicó fertilizante ni riego. Las evaluaciones se realizaron a partir del momento de la cosecha.

Diseño experimental: Se empleó un diseño en bloques al azar, con cuatro repeticiones.

Características de los experimentos:

Efecto de la coinoculación de *Rhizobium* con HMA en algunos indicadores de la simbiosis micorrízica.

La siembra se realizó a una distancia entre planta de 40 cm y 100 cm entre surcos de canavalia. La cosecha y arroje de la biomasa fue con 60 días. La densidad de plantación de la morera fue 20 000 plantas.ha⁻¹.

Los tratamientos consistieron en:
Testigo (sin *Rhizobium*, sin HMA)

Con *Rhizobium* sin HMA

Con *Rhizobium* con HMA

Las variables evaluadas fueron:
Longitud de raicillas (cm)
Colonización fúngica (%)
Densidad visual de la colonización (%)

Evaluación productiva de cepas efectivas de *Rhizobium*.

La totalidad de las semillas fueron inoculadas con HMA. La siembra se realizó a una distancia entre planta de 40 cm. La cosecha y arroje de la biomasa fue con 60 días. La densidad de plantación de la morera fue 20 000 plantas.ha⁻¹.

covered with EcoMic^R at 9% as recommended by Fernández *et al.* (2001). The planting was done in the morning. None fertilizer or irrigation was applied. The evaluations were done at the moment of the harvest.

Experimental design: a completely randomized design with four replications was employed.

Characteristics of the experiments:

Co-inoculation effect of *Rhizobium* with AMF in some indicators of the mycorrhizal symbiosis.

The sowing was carried out at a plant distance from 40 cm to 100 cm between furrows of canavalia. The crop and biomass wrapping was of 60 days. The plantation density of mulberry was of 20 000 plants.ha⁻¹.

The treatments consisted on:

Witness (without *rhizobium*, without AMF)

With *rhizobium* and without AMF

With *rhizobium* and with AMF

The evaluated variables were:

Root longitude (cm)

Fungal colonization (%)

Visual density of the colonization (%)

Productive evaluation of effective strains of *Rhizobium*

The total of seeds was inoculated with AMF. The sowing was done at a plant distance of 40 cm. The crop and wrapping of the biomass was of 60 days. The plantation density of mulberry was of 20 000 plants.ha⁻¹.

The treatments consisted on:

Witness

Strain introduced from Brazil (Embrapa)

Los tratamientos consistieron en:

Testigo

Cepa introducida desde Brasil (Embrapa)

Aislado de rizobios CAN3

Aislado de rizobios CAN5

Las variables evaluadas fueron:

Altura de la planta (cm)

Longitud máxima de la raíz (cm)

Masa seca radical (g)

Efecto de la distancia de siembra entre plantas

La totalidad de las semillas fueron inoculadas con HMA. La cosecha y arroteo de la biomasa fue a los 60 días. La densidad de plantación de la morera fue 20 000 plantas.ha⁻¹.

Los tratamientos establecidos respondieron al análisis de dos factores: cepas de *Rhizobium* y distancia de siembra entre plantas. Los mismos consistieron en:

Cepas: Testigo (sin *Rhizobium*), CAN3 y CAN5.

Distancia de siembra: 20 cm y 40 cm.

Las variables evaluadas fueron:

Masa seca radical (g)

Rendimiento de biomasa (t.ha⁻¹)

y (g por planta)

Altura (cm)

Longitud máxima de raíz (cm)

Colonización fúngica (%)

Densidad visual de la colonización (%)

Efecto de la edad de cosecha

Las semillas fueron coinoculadas con *Rhizobium* y HMA. La siembra se realizó a una distancia entre planta de 40 cm. La densidad de plantación de la morera fue 26 666 plantas.ha⁻¹.

Los tratamientos consistieron en: 60 días y 90 días

Isolate of rhizobia CAN3

Isolate of rhizobia CAN5

The evaluated variables were:

Height of the plant (cm)

Maximum longitude of the root

(cm)

Radical dry matter (g)

Effect of the sowing distance between plants

All the seeds were inoculated with AMF. The crop and wrapping of the biomass was in 60 days. The plantation density of mulberry was 20 000 plants.ha⁻¹.

The established treatments responded to the analyses of two factors: rhizobium strains and sowing distance among plants. These consisted on:

Strains: witness (without rhizobium), CAN3 and CAN5

Sowing distance: 20 cm and 40 cm

The evaluated variables were:

Radical dry matter (g)

Biomass yield (t.ha⁻¹) and (g per plant)

Height

Maximum longitude of the root (cm)

Fungal colonization (%)

Visual density of colonization (%)

Effect of the harvest age

The seeds were co-inoculated with rhizobium and AMF. The sowing was done at a plant distance of 40 cm. The plantation density of mulberry was of 26 666 plants.ha⁻¹.

The treatments consisted on: 60 days and 90 days

The evaluated variables were:

Biomass yield of canavalia RMS (t.ha⁻¹)

Yield of mulberry leaves RMSH (t.ha⁻¹)

Yield of woody biomass of mulberry RMSBL (t.ha⁻¹)

Las variables evaluadas fueron:
Rendimiento de biomasa de canavalia RMS (t.ha⁻¹)
Rendimiento de hojas de morera RMSH (t.ha⁻¹)
Rendimiento de biomasa leñosa de morera RMSBL (t.ha⁻¹)

Procesamiento estadístico de los resultados:

Se realizaron análisis de varianza a través de un modelo general lineal que incluyó los efectos estudiados y sus interacciones. Las medias se compararon a través de la prueba de comparación múltiple de Duncan (1955), para un nivel de significación de 0,05.

Se comprobaron los supuestos de normalidad de los errores, así como la homogeneidad de la varianza para verificar la normalidad de los datos y para la uniformidad de la varianza. Se transformaron las variables colonización fúngica y densidad visual de la colonización, según \sqrt{x} .

El paquete estadístico empleado fue InfoStat versión libre (InfoStat, 2004).

Resultados y discusión

Los resultados de la capacidad simbiótica de la canavalia coinoculada con bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos micorrízico arbusculares (experimento 1), mostraron un significativo incremento en la longitud de las raicillas y en los indicadores de la simbiosis micorrízica (cuadro 2); lo cual corrobora las múltiples valoraciones realizadas sobre el HMA y el *Rhizobium*, como ejemplos de microorganismos simbióticos mutualistas (Martín, 2009), y la efectividad

Statistical processing of the results:

Variance analyses were done with a general linear model which included the effects studied and their interactions. The means were compared using Duncan multiple comparison test (1955), for a significance level of 0.05.

The normality suppose of errors were tested, as well as the variance homogeneity to verify the normality of the data and the variance uniformity. The fungal colonization variables and the visual density of colonization were transformed using \sqrt{x} .

The statistical software employed was InfoStat, free version (InfoStat, 2004).

Results and discussion

The results of the symbiotic capacity of co-inoculated canavalia with bacteria fixing of nitrogen and arbuscular mycorrhizal fungi (experiment 1), showed a significant increment in the root longitude and in the indicators of mycorrhizal symbiosis (table 2), which proves the multiple assessment performed in AMF and rhizobium, as examples or mutual symbiotic microorganisms (Martín, 2009), and the effectiveness of AMF through the commercial product EcoMic^R.

Ferrera and Alarcón (2001) considered that the agricultural systems must be handled after the knowledge of each of the elements that are part of them, with a holistic approach that strengths the sustainability of the agroecosystems and establishes regulations to the

Cuadro 2. Efecto de la coinoculación de *Rhizobium* con HMA en algunos indicadores de la simbiosis micorrízica.**Table 2. Effect of the co-inoculation of *Rhizobium* with AMF in some indicators of mycorrhizal symbiosis.**

Tratamientos	Longitud raicillas (cm)	Colonización fúngica (%)	Densidad Visual (%)
Testigo	13,73 ^c (±1,66)	35,75(5,97) ^b (±2,17)	1,32(1,15) ^{bc} (±0,16)
<i>Rhizobium</i> sin HMA	21,00 ^b (±1,91)	39,22(6,26) ^{ab} (±2,17)	1,16(1,08) ^c (±0,16)
<i>Rhizobium</i> con HMA	21,80 ^a (±1,66)	44,86 (6,70) ^a (±2,51)	2,04 (1,42) ^a (±0,18)
Significación	P≤0,05	P≤0,001	P≤0,001

Letras distintas indican diferencias significativas (P≤0.05); los valores entre paréntesis corresponden al valor transformado (\sqrt{x}) y al error estándar, primero y segundo paréntesis respectivamente.

de las HMA a través del producto comercial EcoMic^R.

Ferrera y Alarcón (2001) consideraron que los sistemas agrícolas deben ser manejados a partir del conocimiento de cada uno de los elementos que lo integran, con un enfoque holístico, que fortalezca la sostenibilidad de los agroecosistemas y establezca regulaciones a los organismos potencialmente dañinos para los cultivos mediante la presencia de antagonistas o de diversas alternativas bióticas y abióticas de escape o resistencia.

En cuanto a la evaluación de cepas efectivas de *Rhizobium* (cuadro 3) se puede observar la significativa superioridad en masa seca radical de las plantas inoculadas con la cepa EMBRAPA, seguida de los aislados CAN3 y CAN5. Además, se obtuvieron mayores valores de altura de las plantas y longitud máxima de la raíz con la cepa EMBRAPA.

Las diferencias en masa seca radical entre el testigo y la inoculación

potential harmful organisms for the crop, with the presence of antagonist or different biotic and abiotic alternatives or escape or resistance; thus, the importance of this result.

Regarding the evaluation of effective strains of *Rhizobium* (table 3), the significant superiority in dry radical mass can be observed in plants inoculated with EMBRAPA strain, followed by the isolates CAN3 and CAN5. Additionally, the highest values of the plants' height and maximum longitude of the root with the EMBRAPA strain were obtained. The differences in radical dry mass among the witness and the inoculation with rhizobium are justified by the fact that even though this specie belongs to the group of legumes with a wide nodulation rank (Tang *et al.*, 1982), the rhizobia are not always in the soil, there are in relatively low populations, and if are present, many times present low effectiveness (Urzúa, 2008). Thus, Matías (1995) mentioned that among the factors that affect the yield of

Cuadro 3. Influencia de las cepas efectivas de *Rhizobium*.**Table 3. Influence of effective strains of *Rhizobium*.**

Tratamientos	Altura (cm)	Longitud máxima de raíz (cm)	Masa radical (g)
Testigo	88,3 ^{ab} (±8,78)	40,94 ^{ab} (±8,75)	1,91 ^b (±0,46)
Embrapa	102,2 ^a (±7,15)	53,75 ^a (±8,72)	3,62 ^a (±0,46)
CAN3	79,89 ^b (±3,04)	44,53 ^{ab} (±3,39)	2,92 ^{ab} (±0,32)
CAN5	81,92 ^{ab} (±6,80)	40,50 ^b (±3,48)	2,29 ^{ab} (±0,32)
Significación	P<0,01	P<0,05	P<0,01

Letras distintas indican diferencias significativas (P<0.05); los valores entre paréntesis corresponden al error estándar.

con *Rhizobium* se justifican por el hecho de que si bien, esta especie pertenece al grupo de las leguminosas que poseen un amplio rango de nodulación (Tang *et al.*, 1982), los rizobios no siempre se encuentran en el suelo, están en poblaciones relativamente bajas o, si se encuentran presentes, muchas veces son de baja efectividad (Urzúa, 2008). De ahí que Matías (1995) señalara que entre los factores que afectan el rendimiento de canavalia están el no inocular la semilla con cepas específicas de *Rhizobium*. Pérez *et al.* (2008) identificaron los aislados de rizobios CAN3 y CAN5, obtenidos en la región de cascajal, provincia Las Villas, Cuba, como microorganismos promisorios para la inoculación de canavalia. Según los autores, estas bacterias son de crecimiento rápido, forman colonias grandes, mucosas en medio LMA, y excretan sustancias ácidas. De las ocho cepas de crecimiento rápido, seis se lograron a partir de los nódulos de canavalia; y no se encontraron aislados de crecimiento lento en esta especie. Según Urzúa (2008),

canavalia is the non-inoculation of the seed with specific strains of *Rhizobium*.

Pérez *et al.* (2008) identified the isolates of rhizobia CAN3 and CAN5, obtained at cascajal, Las Villas County, Cuba, as a promissory microorganism for the inoculation of canavalia. According to the authors, these bacteria grow fast, form big colonies, mucous in the LMA mean, and excrete acid substances. Out of the eight strains with fast growing, six were obtained after the nodules of canavalia, and none isolate of slow growing was found in this specie. According to Urzúa (2008), to inoculate the seeds of legumes with rhizobium has a low cost for the producer, with an estimate average value in 5% on the cost of the seed.

In the research about the distance between plants, the strain and its combination (table 4), a significant interaction was observed among the factors (P<0.05) in the indicators of dry radical mass, yield of the biomass expressed in t.ha⁻¹ and height of the plants. In all the evaluations it was

inocular las semillas de leguminosas con *Rhizobium* tiene un bajo costo para el productor, con un valor promedio estimado en 5% sobre el costo de la semilla.

En el estudio sobre el efecto de la distancia entre plantas, la cepa y su combinación (cuadro 4), se observó una interacción significativa entre dichos factores ($P \leq 0,05$) en los indicadores masa seca radical, rendimiento de biomasa expresado en $t \cdot ha^{-1}$ y altura de las plantas. En todas las evaluaciones se destacó la alternativa de inoculación con la cepa CAN5 y la distancia de siembra de 20 cm.

En el cuadro 5 se puede observar el efecto independiente de los factores cepa de *Rhizobium* y distancia de siembra sobre el rendimiento por planta y la longitud máxima de las raíces. En esta última, no hubo diferencias significativas entre las alternativas de manejo. Sin embargo, el rendimiento

highlighted the inoculation alternatives with the strain CAN5 and the sowing distance of 20 cm.

In table 5 can be observed the independent effect of the factors: rhizobium strain and sowing distance on the yield of the plant and the maximum longitude of the roots. In this last factor, there was none significant difference among the handling alternatives. However, the yield per plant was significantly higher ($P \leq 0.01$) when the strains CAN3 and CAN5 inoculated; and on the reverse of the yield per area, more biomass per plant was produced at the distance of 40 cm, with significant differences ($P \leq 0.01$).

The results corroborate the observations of Mora and Parra (1982) and Mora *et al.* (1983), who when studying the effect of the sowing densities of canavalia sow in the monocrop (31 250 and 62 500 plants. ha^{-1}) found the

Cuadro 4. Efecto de la cepa, la distancia entre plantas y su combinación en algunos indicadores morfoagronómicos de canavalia.

Table 4. Effect of the strain, distance between plants and their combination in some morph-agronomy indicators of canavalia.

Distancia	Cepa	MSR (g por planta)	RMS ($t \cdot ha^{-1}$)	Altura (cm)
40 cm	Testigo	1,84 ^{bc} ($\pm 0,44$)	0,89 ^d ($\pm 0,06$)	88.30 ^a ($\pm 7,32$)
	CAN3	2,92 ^{ab} ($\pm 0,36$)	1,17 ^c ($\pm 0,03$)	79.89 ^a ($\pm 2,93$)
	CAN5	2,29 ^{abc} ($\pm 0,36$)	1,18 ^c ($\pm 0,06$)	81,92 ^a ($\pm 6,54$)
20 cm	Testigo	1,55 ^c ($\pm 0,44$)	1,50 ^b ($\pm 0,07$)	55,38 ^b ($\pm 7,32$)
	CAN3	2,00 ^{bc} ($\pm 0,44$)	2,19 ^a ($\pm 0,05$)	80,20 ^a ($\pm 4,88$)
	CAN5	3,49 ^a ($\pm 0,44$)	2,10 ^a ($\pm 0,04$)	83,67 ^a ($\pm 4,22$)
Significación (i)		$P \leq 0,05$	$P \leq 0,01$	$P \leq 0,05$

Letras distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Los valores entre paréntesis indican error estándar. MSR significa masa radical; RMS significa rendimiento de masa seca.

Cuadro 5. Efecto de los factores independientes cepa y distancia entre plantas sobre algunos indicadores morfoagronómicos de canavalia.

Table 5. Effect of the independent factors strain and plant distance on some morph-agronomy indicators of canavalia.

Variable	Cepa			Distancia		
	Testigo	CAN3	CAN5	20 cm	40 cm	Sig.
RMS (kg por planta)	0,03 ^b (±0,001)	0,05 ^a (±0,00)	0,04 ^a (±0,00)	0,04 ^b (±0,004)	0,05 ^a (±0,003)	P≥0,01 P≥0,01
Longitud máxima de raíz (cm)	33,93 (±6,16)	45,71 (±2,79)	40,07 (±2,72)	37,77 (±2,80)	42,03 (±2,49)	P≥0,05 P≥0,05

por planta fue significativamente ($P \leq 0,01$) mayor cuando se inocularon las cepas CAN3 y CAN5; y al inverso del rendimiento por área, se produjo más biomasa por planta en la distancia de 40 cm, con diferencias significativas ($P \leq 0,01$).

Los resultados corroboran las observaciones de Mora y Parra (1982) y Mora *et al.* (1983), quienes al estudiar el efecto de las densidades de siembra de canavalia en monocultivo (31 250 y 62 500 plantas.ha⁻¹) encontraron el mayor rendimiento de materia seca (20,76 t.ha⁻¹) con la más alta densidad. Igualmente en monocultivo, Mora *et al.* (1984) al variar la densidad y la distancia entre hileras pero no la distancia entre plantas, obtuvieron el más alto rendimiento de materia seca (12 898 kg.ha⁻¹) con el marco de siembra de 100 x 20 cm, equivalente a 50 000 plantas.ha⁻¹.

Desde el punto de vista del empleo del cultivo como medio de reproducción de estructuras de HMA en el suelo, el acortamiento de la distancia entre plantas a 20 cm (figura 1) duplicó el por ciento de colonización; a la vez que aumentó significativamente la densidad visual.

Con respecto al experimento 4 sobre el efecto de la edad de cosecha de canavalia, en la cuadro 6 se puede observar que a los 90 días el rendimiento de biomasa superó en más de 30% lo obtenido a 60 días. Ello no condicionó disminuciones notables del rendimiento de morera (cuadro 6). Por el contrario potencia los beneficios por la presencia más prolongada de canavalia dentro de la plantación.

Olivares (2004) informó que Canavalia tiene una capacidad de cre-

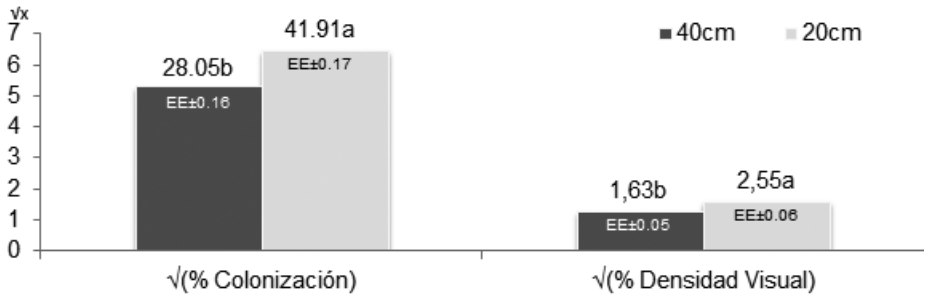
highest yield of dry matter (20.76 t.ha⁻¹) with the highest density. Likewise, in monocrop, Mora *et al.* (1984) when varying the density and the distance among rows but not the distance between plants, obtained the highest yield of dry matter (12 898 kg.h⁻¹) in a sowing of 100 x 20 cm, equal to 50 000 plants.ha⁻¹

From the point of view of the use of the crop as a reproduction mean of AMF structures in the soil, the shortening of the distance between plants at 20 cm (figure 1) duplicated one hundred percent of the colonization, at the time that increased significantly the visual density.

Regarding the experiment 4 in the case of the effect of the harvest age of canavalia, in table 6 can be observed in 90 days the biomass yield exceeded more than 30% of the obtained in 60 days. This did not condition noticeable reductions of mulberry yield (table 6). On the contrary, it potentiates the benefits by the more extended presence of canavalia in the plantation.

Olivares (2004) informed that Canavalia has a growing capacity that allows covering the soil completely in 90 days. A wide and narrow contact of the roots to the companion crop is inferred, which guarantees the introduction of effective strains of AMF. Escobar (1987) found that the association of canavalia with cassava (*Manihot sculenta*) at a low density of canavalia propitiated a total production per area, higher to the pure crops. Oropesa *et al.* (2011) showed the wide crop perspective of mulberry associated to canavalia.

However, Reyes *et al.* (2000) and Martín *et al.* (1998) when interspersing



Letras distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

Figura 1. Efecto de la distancia de siembra de canavalia coinoculada con HMA y Rhizobium CAN5.

Figure 1. Effect of the sowing distance of canavalia co-inoculated with AMF and rhizobium CAN5.

cimiento que le permite cubrir totalmente el suelo en 90 días. De ello se infiere un amplio y estrecho contacto de sus raíces con las del cultivo acompañante, que garantiza la introducción de cepas efectivas de HMA. Escobar (1987) encontró que la asociación de canavalia con yuca (*Manihot sculenta*) a baja densidad de la canavalia propició una producción total por área, superior a los cultivos puros. Oropesa *et*

canavalia in mulberry plantations in the establishment phase, obtained a yield reduction of the mulberry biomass; which might have been due to the exorbitant vegetative development of canavalia, which covered with its branches the growing mulberry plants and interfered the light exposition. Thus, the authors recommended for the establishment phase and to go further in the research in the agro-

Cuadro 6. Efecto de la edad de cosecha sobre la producción de biomasa de canavalia.

Table 6. Effect of the harvest age on the biomass production of canavalia.

Edad de cosecha	Rendimiento de biomasa seca de canavalia ($t \cdot ha^{-1}$)	
	Año 1	Año 2
60 días	0,28	0,35
90 días	0,56	0,57
EE±	0,007**	0,007**

Letras distintas indican diferencias significativas ($p=0,05$).

al. (2011) demostraron las amplias perspectivas del cultivo de la morera asociada con canavalia. Sin embargo, Reyes *et al.* (2000) y Martín *et al.* (1998) al intercalar canavalia dentro de plantaciones de morera en etapa de establecimiento, obtuvieron una reducción del rendimiento de biomasa de morera; lo que pudo deberse al exuberante desarrollo vegetativo de canavalia, que cubrió con sus ramas las plantas de morera en crecimiento e interfirió el paso de la luz. De ahí que recomendaron para la etapa de establecimiento, profundizar en el manejo agrotécnico de la canavalia intercalada.

Conclusiones

Las mejores alternativas de manejo de *C. ensiformis* coinoculada con *Rhizobium* y HMA e intercalada en plantaciones de morera (*Morus alba* L.), están asociadas a la aplicación del aislado CAN5, la siembra a una distancia entre plantas de 20 cm y la cosecha a los 90 días.

Literatura citada

- CIDICCO. 2004. Canavalia (Canavalia ensiformis). http://www.cidicco.hn/especies_av_cc.htm
- Duncan, A.A. 1955. multiple range test. *Biometrics*. (11): 1- 41.
- Embrapa, Agrobiología. 2007. Base de datos. Leguminosas. http://intranet2.cnpab.embrapa.br/leguminosas/detalhes_busc_a.asp?cod_id=12&tema=resumo.
- Escobar, A. 1987. Efecto del camellón y del envarado sobre la producción de granos de Canavalia sp. (cultivar voluble) durante la época de lluvias.

technical handle of the interspersed canavalia.

Conclusions

The best handling alternatives of *C. ensiformis* co-inoculated with rhizobia and AMF and interspersed in mulberry plantations (*Morus alba* L.) are related to the application of the isolate CAN5, the sowing at a plant distance of 20cm and the crop within 90 days.

End of english version

IPA. Informe anual'85/86. La Habana, Cuba. p. 27.

- Fernández, F., R. Gómez, M.A. Martínez y B.M. de la Noval. 2001. Producto inoculante micorrizógeno. Patente No. 22 641. Cuba.
- Ferrera Cerrato, R. y A. Alarcón. 2001. La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. *Ciencia Ergo*. 8(2): 175-183. ISSN 1405-0269.
- Hernández, A., M. Ascanio, A. Cabrera, M. Morales, N. Medina y L. Rivero. 2003. Nuevos aportes a la Clasificación genética de suelos en el ámbito nacional e internacional. Instituto de Suelos. Ministerio de la Agricultura. AGRINFOR. La Habana, Cuba. 145 p.

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

- Martin, G., I. Yepes, I. Hernandez y J.E. Benavides, 1998. Evaluación del comportamiento de cuatro variedades de Morera (*Morus alba*) durante la fase de establecimiento. Memorias. III Taller Internacional Silvopastoril "Los Árboles y arbustos en la ganadería". EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. p. 92.

- Martín, G.M. 2009. Manejo de la inoculación micorrízica arbuscular, a *Canavalia ensiformis* y la fertilización nitrogenada en plantas de maíz (*Zea mays*) cultivadas sobre suelos Ferralíticos Rojos de La Habana. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. UNAH. La Habana, Cuba, 131p
- Matías, C. 1995. Producción de semillas de leguminosas en condiciones de secano. Tesis presentada en opción al título de Master en Pastos y Forrajes. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. 97 p.
- Mora, M. y R. Parra. 1982. Información preliminar sobre el crecimiento de la leguminosa *Canavalia ensiformis*. IPA. Informe anual'80. La Habana, Cuba. p. 31.
- Mora, M., R. Parra y M. Fuchs. 1984. Efecto de la densidad de siembra sobre el rendimiento y composición química de *Canavalia ensiformis*. IPA. Informe anual'83. La Habana, Cuba. p. 32.
- Mora, M., R. Parra, A. Escobar y O. De. Parra. 1983. Crecimiento y valor nutritivo de *Canavalia ensiformis* a primera cosecha. IPA. Informe anual'81. La Habana, Cuba. p. 21.
- Olivares, J. 2004. Fijación biológica de nitrógeno. Estación Experimental del Zaidín- CSIC, Granada. Disponible en: <http://www.eez.csic.es/~olivares/ciencia/fijacion/> Consulta: [12 de noviembre del 2007]
- Oropesa, K., G. Pentón y G.J. Martín. 2011. Efecto de la fertilización biológica y/o mineral en la producción de forraje de morera (*Morus alba* L.) (Nota técnica). *Pastos y Forrajes* 34(3):295-302.
- Pérez, G., G. Gómez, M.C. Nápoles y B. Morales. 2008. Aislamiento y caracterización de cepas de rizobios aisladas de diferentes leguminosas en la región de Cascajal, Villa Clara. *Pastos y Forrajes*. 31(2):1-1. ISSN 0864-0394
- Reyes, F., M. Milera y C. Matías. 2000. Efecto del intercalamiento de leguminosas temporales en el establecimiento de morera (*Morus alba*). *Pastos y Forrajes*. 23(3):219-223.
- Rivera, R. y K. Fernández (Eds). 2003. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: el Caribe. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba. 166 p.
- Tang, M., E.V. Tamayo y B. Márquez. 1982. Estudio de la acción de siete cepas de *Rhizobium* sobre cuatro leguminosas. *Pastos y Forrajes*. 5(2):159-170.
- Urzúa, H. 2008. Beneficios de la Fijación Simbiótica de Nitrógeno en Chile. Artículos técnicos. Disponible en: <http://www.engormix.com>.