



UNIVERSIDAD DE SANCTI SPÍRITUS
"JOSÉ MARTÍ PÉREZ"
FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS
DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA



CENTRO UNIVERSITARIO MUNICIPAL
PANCHITO GÓMEZ TORO
JATIBONICO

Trabajo de Diploma

Título:

GERMINACIÓN Y DESARROLLO INCIPIENTE DE *MORINGA OLEIFERA* EN FASE DE VIVERO, INOCULADA CON *GLOMUS CUBENSE* Y *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM*.

Autora: Leyanis López Rodríguez.



CENTRO UNIVERSITARIO MUNICIPAL
PNACHITO GÓMEZ TORO
JATIBONICO

Trabajo de Diploma

Título:

GERMINACIÓN Y DESARROLLO INCIPIENTE DE *MORINGA OLEIFERA* EN FASE DE VIVERO, INOCULADA CON *GLOMUS CUBENSE* Y *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM*.

Autora: Leyanis López Rodríguez.

Tutores: DrC: Carlos José Bécquer Granados.
MSc: Adelaida Benita Puentes Pérez.

**Sancti Spíritus
Año 2023**

Copyright©UNISS

Este documento es Propiedad Patrimonial de la Universidad de Sancti Spíritus “José Martí Pérez”, y se encuentra depositado en los fondos del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación “Raúl Ferrer Pérez” subordinada a la Dirección de General de Desarrollo 3 de la mencionada casa de altos estudios.

Se autoriza su publicación bajo la licencia siguiente:

Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial-SinDerivar 4.0

Internacional **Atribución- No Comercial- Compartir Igual**



Para cualquier información contacte con:

Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación “Raúl Ferrer Pérez”.

Comandante Manuel Fajardo s/n, Olivos 1. Sancti Spíritus. Cuba. CP.

60100 Teléfono: 41-334968

Pensamiento:

Solo la ciencia, la técnica y la productividad por hectárea podrán enfrentar el grandioso desafío que tiene por delante un planeta que se empobrece y cuya tierra agrícola y agua potable disminuyen año por año.

Fidel Castro Ruz



Dedicatoria

Dedico este trabajo a Dios por guiar mis pasos hacia el lugar correcto, a mi mamá y hermano por estar presente en todos mis logros, a todos los profesores que tuve el privilegio de conocer durante estos años, a mis compañeros de estudio. Este logro es nuestro.

Agradecimientos

A la Revolución que nos dio esta maravillosa oportunidad.

A mis tutores por su dedicación, apoyo y paciencia.

A mi familia, en especial a mi mamá y hermano que me ayudaron incondicionalmente.

A mi compañero por darme aliento y cariño en el momento preciso.

A mis compañeros de estudio, por compartir buenos momentos que siempre recordaré con mucho cariño.

A todos los profesores, que en el transcurso de estos años nos impartieron sus conocimientos con sabiduría y constancia.

A mis compañeros de trabajo, que de una forma u otra me apoyaron en todo momento.

Muchas Gracias.

RESUMEN:

Se efectuó un ensayo en condiciones de vivero para evaluar el efecto de dos biofertilizantes en la germinación y desarrollo inicial de *Moringa oleifera* Lam., así como seleccionar los mejores tratamientos para su evaluación en fase de campo. El experimento se realizó en bolsas con sustrato, donde las plántulas crecieron en condiciones de luz natural, con temperatura y humedad ambiente. Se sembraron 4 semillas en cada bolsa que contenían 1 kg de sustrato. En el testigo fertilizado, se aplicó superfosfato de calcio ($\text{Ca}[\text{H}_2\text{PO}_4]_2$), en dosis equivalente a 100 kgP/ha. Se utilizó EcoMic[®], formulado a base de la cepa de HMA, INCAM4 (*Glomus cubense*), así como un inoculante líquido a base de *Rhizobium leguminosarum*. Al final de la fase germinativa (20 DDS), se evaluaron las plántulas. El diseño experimental fue completamente aleatorizado, con 7 tratamientos y 24 repeticiones. Entre los resultados más sobresalientes, se destaca que se observó en la germinación parcial a los 20 DDS, efecto superior del tratamiento combinado de AZOFERT y EcoMic[®] en la siembra, con 17, 83%; los tratamientos con AZOFERT de forma simple, así como AZOFERT + EcoMic[®] en la siembra, tuvieron un efecto superior en la longitud de la raíz principal (7,57 y 7,59 cm, respectivamente). Se concluye que el efecto de los biofertilizantes en la germinación parcial y acumulada, así como en el índice de germinación total, no fue significativo. No hubo efecto superior de los biofertilizantes en el tiempo promedio de germinación de las semillas. Los biofertilizantes que se aplicaron tuvieron un efecto superior en la longitud de la raíz principal, donde se destacaron la aplicación simple de AZOFERT (siembra), AZOFERT + EcoMic[®] (simultáneamente en la siembra), así como AZOFERT (siembra) + EcoMic[®] (5 DDS). Solo la aplicación de EcoMic[®] (siembra) + AZOFERT (5 DDS), tuvo un efecto superior en la longitud del tallo prominente. El tratamiento de AZOFERT (siembra) y AZOFERT + EcoMic[®] (siembra) tuvo un efecto superior en el vigor de las plántulas, lo que coincide con los resultados de la raíz principal.

Palabras clave: AZOFERT, EcoMic[®], raíz principal, germinación, vigor

ABSTRACT:

A trial under nursery conditions to evaluate the effect of two biofertilizers on the germination and initial development of *Moringa oleifera* Lam., as well as to select the best treatments for evaluation in the field phase was carried out. The experiment was carried out in bags with substrate, where the seedlings grew in natural light conditions, with ambient temperature and humidity. 4 seeds were sown in each bag containing 1 kg of substrate. In the fertilized control, calcium superphosphate ($\text{Ca}[\text{H}_2\text{PO}_4]_2$) was applied, in a dose equivalent to 100 kgP/ha. EcoMic® was used, formulated from the AMF strain, INCAM4 (*Glomus cubense*), as well as a liquid inoculant based on *Rhizobium leguminosarum*. At the end of the germination phase (20 DDS), the seedlings were evaluated. The experimental design was completely randomized, with 7 treatments and 24 repetitions. Among the most outstanding results, it stands out that partial germination was observed at 20 DAS, a superior effect of the combined treatment of AZOFERT and EcoMic® in sowing, with 17.83%; treatments with AZOFERT simply, as well as AZOFERT + EcoMic® at planting, had a greater effect on the length of the main root (7.57 and 7.59 cm, respectively). It is concluded that the effect of biofertilizers on partial and accumulated germination, as well as on the total germination index, was not significant. There was no superior effect of biofertilizers on the average seed germination time. The biofertilizers that were applied had a greater effect on the length of the main root, where the simple application of AZOFERT (sowing), AZOFERT + EcoMic® (simultaneously in sowing), as well as AZOFERT (sowing) + EcoMic® (5 DDS). Only the application of EcoMic® (sowing) + AZOFERT (5 DDS) had a greater effect on the length of the prominent stem. The AZOFERT (sowing) and AZOFERT + EcoMic® (sowing) treatment had a superior effect on seedling vigor, which is consistent with the tap root results.

Keywords: AZOFERT, EcoMic®, main root, germination, vigor.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
Capítulo I: FUNDAMENTACIÓN DE LA TEORÍA.....	4
1.1 <i>Moringa oleifera</i>.....	4
1.2 Taxonomía.....	4
1.3 Descripción botânica.....	5
1.4 Utilidad de <i>Moringa oleifera</i> L.....	6
1.5 Germinación, emergencia de plántulas, peso de las semillas.....	7
1.5.1 Germinación.....	7
1.5.2 Emergencia.....	8
1.5.3 Peso de las semillas.....	8
1.6 Caracterización de los hongos micorrízico-arbusculares (HMA).....	9
1.6.1 Principales beneficios de las micorrizas.....	10
1.7 Las rizobacterias y los rizobios.....	11
Capítulo II: MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
2.1 Período experimental y localización.....	13
2.2 Características del substrato.....	13
2.3 Material vegetal.....	13
2.4 Procedimiento experimental.....	13
2.5 Fertilización química.....	13
2.6 Microorganismo, preparación del inóculo e inoculación.....	13
2.6.1 Inoculante micorrízico.....	13
2.6.2 Inoculante bacteriano.....	14
2.7 Diseño experimental y análisis estadístico.....	14
2.8 Variables que se evaluaron.....	14
2.9 Tratamientos.....	16
Capítulo III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
3.1 Por ciento de germinación parcial y acumulada por fases y total.....	17

3.1.1 Germinación a los 5 DDS.....	17
3.1.2 Germinación a los 10 DDS.....	18
3.1.3 Germinación a los 15 DDS.....	19
3.1.4 Germinación a los 20 DDS (final).....	21
3.2 Índice de germinación total.....	22
3.3 Tiempo promedio de germinación.....	23
3.4 Longitud de la raíz principal a los 20 DDS (LRP, cm).....	25
3.5 Índice de eficiencia de la inoculación (%) sobre la base de la longitud de la raíz principal.....	25
3.6 Longitud del tallo prominente a los 20 DDS (LTP, cm).....	27
3.7 Índice de eficiencia de la inoculación (%) sobre la base de la longitud del tallo prominente.....	28
3.8 Índice de vigor total.....	29
3.9 Índice de germinación de Zucconi.....	31
CONCLUSIONES.....	33
RECOMENDACIONES.....	34
BIBLIOGRAFÍA	

INTRODUCCIÓN:

Moringa oleifera Lam. (sinónimo de *Moringa pterygosperma* Gaertner), comúnmente llamado “Marango”, es un árbol miembro de la familia Moringaceae que crece en el trópico y es originaria del sur del Himalaya, noreste de India, Pakistán, Bangladesh y Afganistán (Makkar y Becker, 1997). En América Latina y Centroamérica el Marango se introdujo y naturalizó en 1920 como un árbol ornamental y fue utilizado como cerca viva y cortinas rompevientos. Es la especie más conocida de las 13 identificadas en el Género *Moringa* (Font Quer, 1975). Esta especie tiene grandes características como su rápido crecimiento durante el primer año, donde puede alcanzar de 3 a 5 metros de altura (Reyes, 2008) lo que constituye aproximadamente el 40 % de la altura que alcanza en todo su ciclo de unos 20 años. Puede crecer en todo tipo de suelos, desde suelos ácidos hasta alcalinos (pH 4.5-8), aunque la mejor respuesta en desarrollo y productividad se obtiene en suelos neutros o ligeramente alcalinos, bien drenados o arenosos y donde el nivel freático permanece bastante alto por todo el año, tolera suelos arcillosos, pero no encharcamientos prolongados (Duke, 1983).

Es una planta muy exigente a la nutrición mineral durante el primer año y sus deficiencias se observan rápidamente en la coloración del follaje. Aunque se recomienda el uso de abonos orgánicos en la siembra de estas plantas forrajeras (Oquendo, 2014), el uso de los biofertilizantes puede mejorar sustancialmente cualquier efecto positivo de los primeros.

Existen pocos reportes (Zayed, 2012; Kannan y Rajendran, 2015), sobre la ventaja de la aplicación de diferentes microorganismos en *Moringa*. En Cuba se cuenta con resultados positivos de experimentos efectuados con micorrizas (Pita y García, 2012; Lok y Suárez, 2014). Plana *et al.* (2016) afirman que el uso de los hongos micorrízico arbusculares (HMA) conlleva a una simbiosis del microorganismo con la planta, lo cual permite transportar los nutrientes necesarios para su metabolismo y a la vez mejora las propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo. Además, se conoce que los HMA no solo mejoran la extracción de nutrientes del suelo, sino

que también reducen las pérdidas de estos por lavado (Bender *et al.* 2015) y estimulan la germinación de las plantas (Noda y Castañeda, 2012). En el caso de los rizobios se conoce de la especificidad existente entre la especie bacteriana y la planta hospedera, aunque algunas especies de plantas se considera promiscuas por mostrar alta compatibilidad con una gran variedad de especies de estas bacterias. Pero también, el suelo puede ser determinante para el buen funcionamiento de esta simbiosis debido a que existen ciertos factores que la inhiben, como la salinidad, el pH, la deficiencia o toxicidad de ciertos elementos químicos (P, Ca, Mo y Al), la presencia de nitrógeno combinado (NO₃⁻) y el exceso o déficit de agua, etc. (De Souza *et al.*, 2003).

Según Pérez *et al.* (2010), la forma más utilizada para propagar moringa es la sexual, especialmente, cuando el objetivo es la producción de forraje, ya que, además de investigadores, industriales y agricultores, la planta ha atraído la atención de ganaderos, como alternativa sostenible y de gran importancia ecológica, para implementar bancos proteicos, porque, de acuerdo con Ramos *et al.* (2015), posee óptimas características nutricionales y de digestibilidad. Mubvuma *et al.* (2013) indicaron que las semillas de moringa tienen bajo porcentaje de germinación y Nouman *et al.* (2012), señalaron que puede fluctuar entre 60 y 90%, por lo que una necesidad prioritaria de investigación es la búsqueda de estrategias para aumentar la germinación y así mejorar el proceso de establecimiento del cultivo. De acuerdo con lo anterior, se han ensayado tratamientos para vigorizar las semillas entre los que se encuentran acondicionamiento osmótico, cebado hormonal, endurecimiento, imbibición en extracto de hojas de moringa e imbibición en agua (Nouman *et al.*, 2012).

Problema científico:

¿Cuál es la variante de aplicación de bioproductos más efectiva en *Moringa oleifera* Lam, en fase de vivero, para estimular su germinación y desarrollo inicial?.

Hipótesis de investigación:

La aplicación de bioproductos en *Moringa oleifera* Lam., en fase de condiciones controladas, con microorganismos promotores del crecimiento vegetal, constituye un factor determinante en la germinación y desarrollo inicial de las plántulas.

Objetivo general:

evaluar el efecto estimulador de la germinación y desarrollo inicial de *Moringa oleifera* de un biofertilizante micorrízico y un biofertilizante bacteriano, en condiciones de vivero.

Objetivos específicos:

1. Evaluar la germinación y variables relacionadas con el desarrollo incipiente de *Moringa oleifera* Lam., al inocular un microorganismo micorrízico, aplicado de forma simple o en combinación con una bacteria rizosférica.
2. Seleccionar la combinación de bioproductos más efectiva en *Moringa oleifera* Lam., en su germinación y desarrollo fenológico inicial.

Capítulo I: FUNDAMENTACIÓN DE LA TEORÍA

1.1 *Moringa oleifera*:

Moringa oleifera Lam (familia Moringaceae), es un árbol originario de la India al que se le atribuyen múltiples beneficios para el bienestar humano. Es de crecimiento rápido, poca exigencia hacia el suelo y se cultiva en toda la franja intertropical. *M. oleifera* es una especie de gran plasticidad ecológica, ya que es capaz de adaptarse favorablemente a disímiles ambientes (Pérez *et al.*, 2010), razón por la cual se encuentra localizada en diferentes condiciones de suelos, precipitación y temperatura. En este sentido, Reyes (2006) planteó que moringa se desarrolla favorablemente en suelos con pH entre 4,5 y 8, aunque prefiere los neutros o ligeramente ácidos. Requiere además suelos francoarcillosos, aunque prospera bien en suelos pobres franco arenosos. No tolera los arcillosos o vertisoles, ni los de mal drenaje, ya que es un cultivo que no soporta el encharcamiento.

Existen reportes de la presencia de *M. oleifera* en lugares donde las precipitaciones alcanzan niveles entre los 300 y 1500 mm anuales. Se cultiva en regiones áridas y semiáridas de la India, Paquistán, Afganistán, Arabia Saudita y África del Este (Ramachandran *et al.*, 1980; Reyes, 2006).

Entre sus principales usos destacan las hojas y la torta de prensado de semillas, que es usada en la formulación de raciones para la alimentación animal. Sin embargo, prácticamente todas las partes del árbol tienen diversas aplicaciones, sobre lo cual existen testimonios que se remontan a la antigüedad.

1.2 Taxonomía:

Reino: Plantae

Clase: Eudicotyledoneae

Sub clase: Residae

Orden: Brassicales

Familia: *Moringaceae*

Género: *Moringa*

Especie: *Moringa oleifera*

Sinónimos: *Moringa pterygosperma* Gaert., *Moringa moringa* L., Mill sp., *M. nuxben* Perr., *Hyperanthera moringa* Willd., y *Guilandina moringa* Lam., de acuerdo a Reyes (2006).

1.3 Descripción botánica: es un árbol siempre verde o deciduo de tamaño pequeño y crecimiento acelerado que usualmente alcanza de 10 a 12 m de altura. La copa es de tipo abierta y esparcida, las ramas se desarrollan de manera inclinada y son muy frágiles, adopta una forma de paragua con un follaje plumoso (Foidl, 2001). El fuste, mayormente se desarrolla de manera recta, su corteza es gruesa, de color blanquecina y se torna con un aspecto corchoso (Foidl, 2001). Las hojas son de tipo compuestas, están dispuestas y ordenadas en grupos de folíolos las que presentan 5 pares de folíolos acomodados sobre el pecíolo principal y un folíolo en la parte terminal. Las hojas compuestas tienen una longitud aproximada de 30 a 70 cm. Flores: bisexuales con pétalos blancos, estambres amarillos, perfumadas (Foidl, 2001).

Frutos: tienen la forma de cápsulas trilobuladas, dehiscentes de 20 a 40 cm de longitud, con 12 a 25 semillas en promedio (Foidl, 2001).

Semillas: son redondas, de color castaño oscuro, con tres alas blancas, cada árbol produce alrededor de 15 000 a 25 000 semillas/año (Reyes, 2006).

Fenología: la moringa desarrolla de manera favorable, presenta una rápida germinación de semilla entre los 4 a días, su crecimiento vegetativo es muy rápido, entre 60 a 80 días, la floración algunas regiones se presenta solo una sola vez al año, pero zonas como el Caribe puede ser hasta dos veces al año, el crecimiento de los frutos desde aparición de los botones hasta el desarrollo de las semillas, cuyo periodo es entre 2 a 3 meses dependiendo del medio donde se desarrolla (Paniagua, 2015).

Hábitat: área de distribución natural y de naturalización. Numerosos estudios coinciden que esta planta es originaria del sur de Asia, en donde crece al pie de los

Himalaya desde el noreste de Pakistán hasta el norte de Bengala del Oeste (La India), se encuentra diseminada en muchos países del mundo, sobre todo Pakistán, Afganistán, Bangladesh, Sri Lanka, el sudeste y el occidente de Asia, la península Arábiga, África del este y oeste, India Occidentales, y en América desde México, Nicaragua, Panamá, Ecuador, Perú, Paraguay y Brasil, siendo observable en caminos y carreteras en los llanos costeros y en los cerros bajos al pie de las montañas (Gómez-Martínez, 2020).

Clima: se ha encontrado que esta planta le favorece temperaturas que tienden a ser muy marcadas, con temperaturas a la sombra mínimas y máximas oscilando rangos de (-1 a 3) °C hasta 38 a 48 °C, especialmente en los meses de mayores horas de fríos y en los días más calientes. La precipitación anual oscila entre 750 y 2200 mm., se caracteriza por ser muy resistente a la carencia hídrica, adaptándose muy bien a zonas semiáridas y áridas en donde la precipitación puede ser de 300 mm (Pérez *et al.*, 2010).

Suelos y topografía: esta planta crece en altitudes de 0,00 a 1,400 m s.n.m, prefiriendo zonas rivereñas a lo largo de los ríos de manera de distribución natural.

1.4 Utilidad de *Moringa oleifera* L:

Según Foidl *et al.* (2001), la madera de Moringa constituye una excelente pulpa tan buena como la de álamo (*Populus* sp.), las hojas son apropiadas para la producción de biogás, sin embargo, García Roa (2003) considera que el árbol de moringa no tiene las cualidades físico-mecánicas para ser considerado como maderable, por lo que no es una especie apropiada para este fin, este autor señala que además de ser bueno para poste vivo, tiene una característica especial que consiste en que es rico en néctar y polen, y es una planta melífera por excelencia, también es un suplemento proteínico (la torta de semilla contiene 60% de proteína y la semilla entre 32 y 40% de grasa); es un elemento esencial para la alimentación en la época seca del ganado vacuno y ovino.

1.5 Germinación, emergencia de plántulas, peso de las semillas:

1.5.1 Germinación:

La germinación marca la transición de la semilla desde un estado donde es dependiente de la fuente de nutrimentos (planta madre) hacia un germen independiente, capaz de tomar las sustancias minerales y crecer por sí solo; es por ello que este proceso biológico también conforma el último eslabón del proceso de manipulación de la semilla. La germinación puede ser definida como aquellos eventos que comienzan con la captación de agua por la semilla y finalizan con la elongación de los ejes embrionarios y la penetración de la radícula por las estructuras que rodean el embrión (Bewley, 1997).

Según Bewley y Black (1994), el clásico curso trifásico de la imbibición de las semillas muestra la rápida absorción inicial del agua por estas cuando están secas (fase 1), seguido por un período de elongación asociado a la actividad enzimática y al incremento de las tasas de respiración y asimilación, lo cual se manifiesta en la utilización del alimento almacenado y su transportación a las zonas en crecimiento (fase 2), hasta ocurrir sucesivas divisiones celulares que traen como consecuencia la aparición de la radícula y la plúmula (fase 3). Puesto que el embrión debe crecer para que ocurra la emergencia, se requiere turgor y de una extensión de la pared celular para la realización exitosa de la germinación; además, los embriones de muchas semillas están rodeados por tejidos que deben ser penetrados por la radícula. Una vez que la semilla se ha embebido totalmente, la longitud de la fase 2 de la germinación se relaciona, probablemente, con la generación adicional de turgor del embrión y el paso del embrión a través de la pared celular, o con el debilitamiento de los tejidos que se encuentran adjuntos al embrión (Welbaum *et al.*, 1998).

Moringa oleifera, a diferencia de otras especies de la familia Moringaceae, presenta un tipo de germinación hipogea, lo que significa que durante el proceso los cotiledones permanecen enterrados en el suelo envueltos en la cubierta seminal o

testa y el tallo blanquecino que se observa por encima de la superficie del suelo es una yema apical (provocada por alargamiento del epicótilo) que contiene hojas verdaderas y no cotiledones lo que da una ventaja adaptativa de crecimiento a la planta por la capacidad de realizar fotosíntesis desde un inicio (Noguera-Talavera *et al.*, 2018).

1.5.2 Emergencia:

La emergencia de las plántulas es, probablemente, el evento fenológico más importante que influye en el éxito de una plantación; la emergencia representa el momento en el cual una plántula se hace independiente de las reservas seminales no renovables, originalmente producidas por sus progenitores, y cuando comienza el autotrofismo fotosintético. Una vez que ha ocurrido la emergencia de la radícula y se ha iniciado el crecimiento de la plántula, esta última utiliza las reservas de nutrientes almacenadas en la semilla durante la fase de desarrollo con vistas a apoyar su crecimiento.

La eficiencia con que ocurre este proceso probablemente esté relacionada con el vigor y la tasa de crecimiento de la plántula, que a su vez influye en la probabilidad de una exitosa emergencia en campo y en el establecimiento de la planta (Hilhorst y Bradford, 2000).

1.5.3 Peso de las semillas:

Diversos estudios han demostrado que el peso de las semillas es un componente fundamental del crecimiento de las plantas y sus efectos se manifiestan principalmente durante la germinación y se mantienen en las plantas durante los primeros meses de su ciclo de vida (Logan y Pollard, 1979).

Se ha observado que las semillas de mayor peso de diversas especies y cultivares de plantas herbáceas y leñosas presentan la tendencia a germinar en menor tiempo produciendo plantas grandes y vigorosas, mientras que las semillas de menor peso germinan lentamente y las plantas que producen son pequeñas y débiles (Niembro, 1996). Cuando las diferencias en el peso de las semillas no son consideradas al momento de la siembra, se corre el riesgo de que las plantas resultantes presenten

un crecimiento desordenado, carente de la uniformidad morfológica requerida, afectando la calidad del cultivo.

El tamaño de la semilla es otro factor importante que influye en la velocidad de germinación. En moringa se ha encontrado mayor número de emergencias con semillas grandes, que con semillas pequeñas (Noguera-Talavera *et al.*, 2018).

Las razones por las cuales las semillas de mayor peso y tamaño funcionan mejor que las semillas de menor peso y tamaño, se deben en cierta medida a que las semillas más grandes y pesadas contienen mayor cantidad de sustancias de reserva, aunque en algunos reportes asocian dicho potencial con una mayor actividad metabólica (McDaniel, 1969). Según Noguera-Talavera *et al.* (2018), las semillas de Moringa en general, presentan altos porcentajes de germinación (superior al 90%), poder germinativo de 99.5% y vigorosidad de 99% cuando la semilla es fresca, con 4 a 6 meses de haber sido cosechada y mantenida en buenas condiciones de almacenamiento, sin embargo, otros autores reportan valores inferiores a 85% en lotes de semillas cuya edad es superior a los 6 meses, rebelando así un problema de pérdida de viabilidad que es relacionada con su contenido de aceite (30 a 40%).

1.6 Caracterización de los hongos micorrízico-arbusculares (HMA):

Es criterio de Barea (2013), que los principales grupos de microorganismos beneficiosos claves para la sustentabilidad de los agroecosistemas son los hongos formadores de micorrizas. Esto obedece a la compleja relación simbiótica entre las hifas de estos hongos y las raíces de una planta huésped que se denomina micorriza (Azcón *et al.*, 2015). Por otra parte, dentro de los diversos grupos de micorrizas, las del tipo arbusculares se encuentran presentes en la mayoría de las plantas silvestres y cultivadas. Dentro de los HMA, el género *Glomus* se incluye en la familia *Glomaceae* que pertenece al suborden *Glominae* y al orden *Glomales*, perteneciente al Phylum *Glomeromycota* (Peña *et al.*, 2006).

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares son componentes integrales de la rizosfera, cuyas plantas permanecen estrechamente asociadas mediante una red de hifas interconectadas que incrementan el volumen de suelo que exploran las

raíces, mejoran su estructura y facilitan la absorción de los nutrientes y el agua, entre otras funciones (Motta *et al.*, 2017; Busso y Fernández, 2018). Probablemente sean los hongos del suelo más abundantes en los sistemas agrícolas, donde pueden representar más del 30 % de su masa microbiana. Debido a esa ubicuidad, la simbiosis micorrizica ha sido considerada la más importante de todas las que involucran a las plantas (Gutjahr y Parniske, 2017).

1.6.1 Principales beneficios de las micorrizas:

Las micorrizas benefician la nutrición, el crecimiento y la supervivencia de las plantas, de muchas formas. El beneficio más conocido es el incremento en la absorción del agua y los nutrientes minerales, especialmente el fósforo y nitrógeno. El P es uno de los nutrientes cuya absorción se favorece por la acción de las micorrizas, pues además de su baja movilidad, sobre todo en las regiones tropicales, entre un 95 y un 99 % de las cantidades de este elemento se encuentran en formas no disponibles para las plantas (Zhang *et al.*, 2018). Estos beneficios se deben en parte a la exploración de las hifas en el suelo en la búsqueda de nutrientes y agua, lo cual amplía con mucho las capacidades de las raíces por sí solas. Algunas investigaciones estiman que las hifas de los hongos micorrízicos pueden explorar volúmenes de suelo cientos o miles de veces mayores que las raíces. Los hongos ectomicorrízicos también producen reguladores de crecimiento al estimular la ramificación y elongación de las raíces alimenticias, por lo cual, se incrementa el número total de raíces absorbentes producidas. Este tipo de ramificaciones de las raíces también beneficia la absorción de nutrientes mediante el incremento de la superficie radical. (Ruiz-Lozano, 2016). La planta cede al hongo compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis, mientras que éste transfiere a la planta nutrientes minerales, especialmente aquellos menos asequibles para la misma, en virtud de la mayor accesibilidad del micelio externo del hongo a recursos del suelo más distantes de la capacidad de acceso de la raíz (Ezawa y Saito, 2018).

1.7 Las rizobacterias y los rizobios:

Los fertilizantes biológicos no solamente se aplican con la materia orgánica proveniente del estiércol animal y residuos de plantas, sino también con la inoculación con microorganismos activos. Los organismos benéficos del suelo tienen un rol significativo en los procesos biológicos como la estabilización de nitrógeno, fósforo y otros nutrientes, así como productos metabólicos. La fertilización del suelo con el uso de fertilizantes biológicos puede ser muy importante para lograr este objetivo. Los fertilizantes biológicos usan las capacidades de los organismos benéficos del suelo y su producción es muy preciada en adición a su eficiencia económica relacionada con el ambiente (Antouan and Klopper, 2001).

Las bacterias que estimulan el crecimiento vegetal constituyen una parte pequeña (2-5%) de las bacterias rizosféricas que afectan los parámetros de crecimiento (Antouan and Klopper, 2001). No obstante, estas bacterias son útiles para liberar los elementos necesarios para las plantas y como resultado reducir enfermedades, mejorar la estructura del suelo, estimular el crecimiento vegetal e incrementar la cantidad y calidad de los cultivos. Por lo tanto, estas bacterias son llamadas rizobacterias estimuladoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés). Ya que estos fertilizantes tienen un origen natural, su uso está relacionado con la naturaleza. Aún más, ellas pueden reducir los daños ambientales causados por fertilizantes químicos y regeneran y protegen el ambiente (Hemati *et al.*, 2023).

Los rizobios son microorganismos fijadores de nitrógeno capaces de formar una estructura especializada denominada nódulo con plantas leguminosas. La fijación de nitrógeno, no obstante, solamente puede ocurrir con el establecimiento de la simbiosis, cuando las células bacterianas se diferencian en bacteroides (Compant *et al.*, 2010). Entre todos los géneros de PGPR, los rizobios ocupan una posición prominente, debido a su indiscutible potencial como biofertilizantes, pues no solamente son capaces de formar una estructura especializada que provee a las plantas (leguminosas) una fuente ilimitada de nitrógeno, sino que también pueden ser usados en otros cultivos debido a sus cualidades de promoción del crecimiento, incluyendo la solubilización de fosfatos y la producción de ácido indolacético, entre

otras (Pardo *et al.*, 2022). Las especies de *Rhizobium* producen fitohormonas, como el ácido indolacético (IAA), citoquininas, giberelinas y ácido abscísico, que regulan los niveles endógenos de las fitohormonas, por lo que promueven el crecimiento vegetal (Mehboob *et al.*, 2008; Mehboob *et al.*, 2009).

Estudios recientes confirman que los rizobios no solo establecen una interacción beneficiosa con las leguminosas, sino también con gramíneas como arroz (*Oryza sativa* L.) (Wu *et al.*, 2018), maíz (*Zea mays* L.) (Tchakounté *et al.*, 2018), trigo (*Triticum* spp.) (Bantu, 2016) y triticale (Bécquer *et al.*, 2016), entre otros. La inoculación de rizobios también promueve la germinación de semillas de moringa (*Moringa oleifera* Lam) (Bécquer *et al.*, 2018), zanahoria (*Daucus carota* L.), pimiento (*Capsicum annum* L.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.); (Blanco *et al.*, 2018; Marquina *et al.*, 2018).

Capítulo II: MATERIALES Y MÉTODOS:

2.1 Período experimental y localización:

El experimento se realizó el 1 de julio del 2022 hasta el 20 de julio del 2022, en el vivero de plantas forrajeras proteicas de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes de Sancti Spíritus, situada a 21° 53' 00'' de latitud Norte y los 79° 21' 25'' de longitud Oeste, y a una altura de 40 msnm.

2.2 Características del sustrato: Se utilizó un sustrato, conformado con un 40% de materia orgánica, 40% de suelo pardo, sin diferenciación de carbonatos, y 20% de arena de río sus características químicas se observan en la tabla I.

Tabla I: Características químicas del sustrato que se utilizó en el experimento:

Muestra	Na	K	Ca	Mg	P (mg/kg)	M.O (%)	pH, H ₂ O
	Cmol/kg						
Sustrato	0.13	0.49	12	2.7	241	5.17	6.9

2.3 Material vegetal: Se evaluó *Moringa oleifera*, procedente del banco de germoplasma de la Estación Experimental Sancti Spíritus.

2.4 Procedimiento experimental: El experimento se realizó en bolsas de polietileno de 1 kg de capacidad, en condiciones de vivero. Se sembraron 4 semillas en cada bolsa.

2.5 Fertilización química: En el testigo fertilizado, se aplicó superfosfato de calcio ($\text{Ca}[\text{H}_2\text{PO}_4]_2$), en dosis de 0,11 g/bolsa, equivalente a 100 kgP/ha.

2.6 Microorganismo, preparación del inóculo e inoculación:

2.6.1 Inoculante micorrízico: Se utilizó el producto EcoMic[®], formulado a base de la cepa de HMA₁ INCAM4 (*Glomus cubense*). Para su aplicación, se utilizó un inoculante sólido certificado que contenía 25 esporas μg^{-1} de sustrato, comercializado por la empresa LABIOFAM SA, y por recomendaciones del fabricante, se aplicó a razón de 10g/semilla, en el momento de la siembra, o a los 5 DDS, después de lo cual se regó (10 mLH₂O/plántula).

2.6.2 Inoculante bacteriano: Se utilizó inoculante líquido a base de *Rhizobium leguminosarum*, con un título de 10^9 UFC/mL, elaborado y provisto por el Instituto de Investigaciones Agrícolas (INCA). Este inoculante se aplicó a razón de 10 mL/bolsa, en el momento de la siembra, o a los 5 DDS, después de lo cual se regó (50 mLH₂O/bolsa).

Los inoculantes se aplicaron en el fondo del nido, antes de la siembra, o a los 5 DDS, según el tratamiento. Este procedimiento se realizó en horas tempranas de la mañana, para evitar el efecto negativo de los rayos solares en los bioproductos que se utilizaron.

Al final de la fase germinativa (20 DDS), a las plántulas se les quitó cuidadosamente el sustrato y se lavaron, se les midió longitud del tallo prominente (con regla graduada desde el nivel del sustrato hasta el ápice de la rama apical) y longitud de la raíz principal (con regla graduada desde la base del tallo hasta el extremo de la raíz).

2.7 Diseño experimental y análisis estadístico: El diseño experimental fue completamente aleatorizado, con 7 tratamientos y 24 repeticiones, para un total de 24 bolsas por tratamiento y 168 bolsas en cada unidad experimental (dos unidades experimentales en total, con 336 bolsas). Los datos porcentuales se transformaron por $2\arccos\sqrt{P}$ para garantizar el cumplimiento de los supuestos. Una vez comprobados los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza para la aplicación de pruebas paramétricas, se realizó un análisis de ANOVA y las diferencias entre medias se determinaron por LSD de Fisher (Fernández *et al.*, 2010). Se utilizó el programa estadístico StatGraphics Centurion XV (Anon, 2007).

2.8 Variables que se evaluaron:

1. **Porcentaje de germinación acumulada y total (PGA, %)**, a los 5 DDS, 10 DDS, 15 DDS y 20 DDS), según la fórmula (Ede *et al.*, 2015): $PG: NSG/NSS \times 100$

Donde:

NSG: Número de semillas germinadas

NSS: Número de semillas sembradas

2. **Porcentaje de germinación parcial (PGP, %)**, a los 5 DDS, 10 DDS, 15 DDS y 20 DDS), según la fórmula (Ede *et al.*, 2015): $PGP: NSG_{ti}/NSS \times 100$

Donde:

NSG_{ti}: Número de semillas germinadas en *ti*

ti: Tiempo en que nacieron las semillas

NSS: Número de semillas sembradas

3. **Índice de germinación total (IG, sin dimensiones)**, según la fórmula (Scott *et al.*, 1984):

$$IG = \sum(ni \cdot ti) / N$$

Donde:

ti: Días transcurridos desde la siembra (sumatoria de períodos de tiempo)

ni: Número de semillas germinadas en *ti* (sumatoria de semillas germinadas en cada período de tiempo)

N: Total de semillas

4. **Tiempo promedio de germinación (TPG, días)**, según la fórmula (Come, 1968): $TPG: \sum (ni \cdot ti) / \sum ni$

Donde:

ti: Tiempo transcurrido desde la siembra.

ni: Número de semillas germinadas en *ti*.

5. **Índice de eficiencia de la inoculación (IEI, %)**, según la fórmula (Santillana *et al.*, 2012):

$$IEI: [(TI - CA) / CA] \times 100$$

Donde:

TI: tratamiento inoculado

CA: control absoluto

6. **Índice de vigor total (IVT)** (adaptado de Gholami *et al.*, 2009):

$$IV: (LRP + LTP) \times \% GT$$

Donde:

LRP: longitud de la raíz principal

LTP: longitud del tallo prominente

GT: germinación total

7. **Índice de germinación de Zucconi (IVZ)** (Zucconi *et al.*, 1981):

$$IVZ: (\% GT \times \% LRP) / 100$$

Donde:

% GT: % de la germinación total con respecto al control absoluto.

% LRP: % de la longitud de la raíz principal con respecto al control absoluto.

8. **Longitud tallo prominente (LTP, cm), a los 20 DDS.**

Se realizó con una regla graduada, desde la base del tallo, hasta su extremo apical.

9. **Longitud raíz principal (LRP, cm), a los 20 DDS.**

Se realizó con una regla graduada, desde la inserción del tallo, hasta el ápice radical.

2.9 Tratamientos:

Tabla II: Tratamientos que se utilizaron en el experimento

No.	Tratamientos
1	Control absoluto (C. A.)
2	Testigo fertilizado químicamente (T. F.)
3	AZOFERT
4	EcoMic®
5	AZOFERT + EcoMic® (momento de la siembra)
6	AZOFERT (momento de la siembra) + EcoMic® (5
7	EcoMic® (momento de la siembra) + AZOFERT (5

Capítulo III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

3.1 Porcentaje de germinación parcial y acumulada por fases y total:

3.1.1 Germinación a los 5 DDS:

En la fase de los 5 DDS (fig. 1) se observó, que no hubo diferencias entre tratamientos.

Germinación (% , datos transformados)

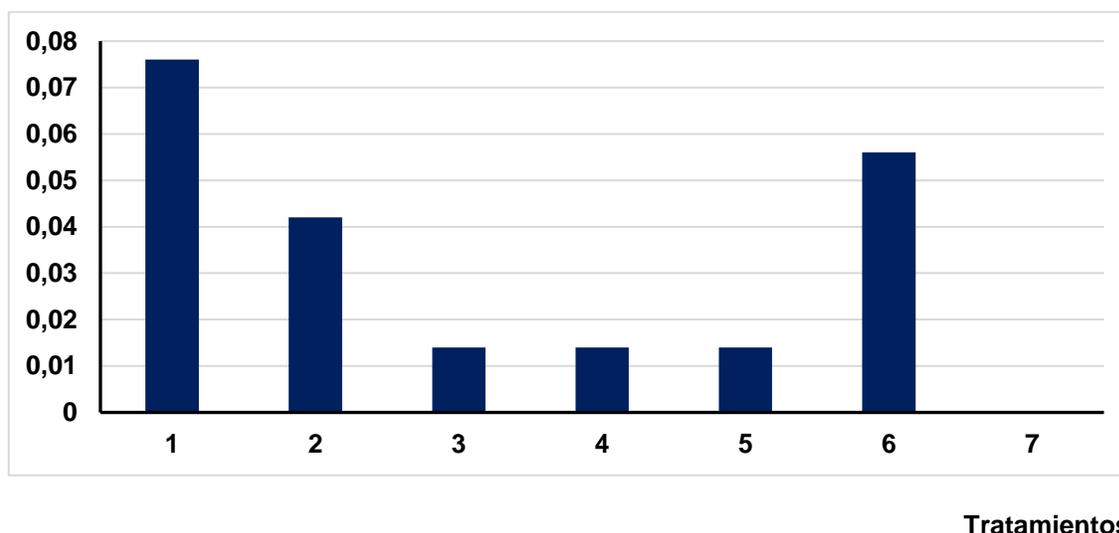


Fig. 1: Germinación parcial (% , datos transformados por $\sqrt{[0,5+x]}$) de *Moringa oleifera*, inoculada con EcoMic® y AZOFERT de forma simple, o combinada, en diferentes momentos. 5 DDS. NS.

La germinación de la semilla se define como la serie de procesos metabólicos y morfogénéticos, que transforman el embrión en una plántula que se puede convertir en una planta adulta (Rosental *et al.*, 2014).

En la fase de 5 DDS, la mayoría de los tratamientos inoculados presentaron germinación, excepto aquel donde se aplicó EcoMic® en la siembra y AZOFERT a los 5 días. Entre los tratamientos germinados no existió diferencias significativas entre sí, ni con el testigo fertilizado, ni con el control negativo. Es interesante notar, que el control absoluto, así como el testigo fertilizado y cuatro de los tratamientos inoculados presentaron germinación en esta fase, mientras que el tratamiento

donde se aplicó EcoMic® en la siembra y AZOFERT a los 5 DDS, no germinó. Esto pudiera asociarse a una inhibición inicial de la germinación por efecto del ácido absísico (ABA) (Posada *et al.*, 2021), en este caso, provocado por la presencia de HMA en el momento de la siembra. No obstante, esta posibilidad no es definida aún, ya que los cambios en los niveles hormonales en las plantas, al inocularlas, parecen depender del tipo de HMA y la especie vegetal (Bernardo *et al.*, 2020). Noguera-Talavera *et al.* (2018) afirman, que la germinación de *Moringa* se inicia a partir del tercer día, con mayor número de germinaciones entre los días 9 y 11.

3.1.2 Germinación a los 10 DDS:

A los 10 DDS (Fig. 2), la germinación acumulada mostró que el tratamiento 3 (0,52) fue superior ($p < 0.01$) al tratamiento 4 (0,35) y al tratamiento 7 (0,29), pero tuvo letras iguales con respecto a 1 (0,45), 2 (0,48), 5 (0,39) y 6 (0,44). En cuanto a la germinación parcial, se observa que el tratamiento 3 (0,51), fue superior ($p < 0.05$) al tratamiento 4 (0,34) y al tratamiento 7 (0,29), pero compartió letras iguales con los tratamientos 1 (0,41), 2 (0,46), 5 (0,39) y 6 (0,44).

Germinación (% , datos transformados)

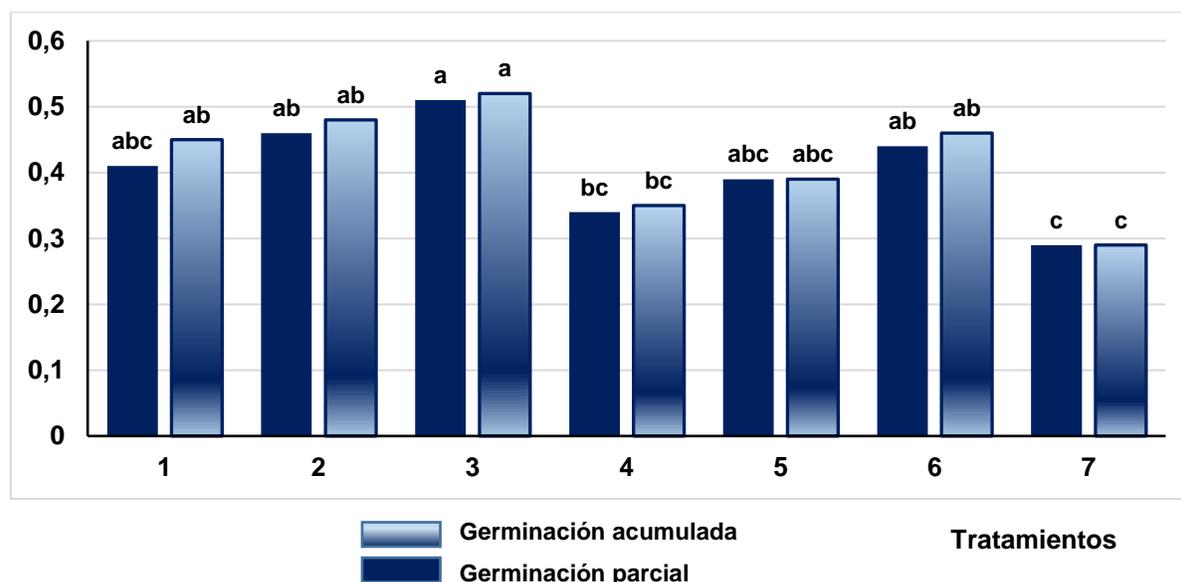


Fig. 2: Germinación parcial y acumulada (% , datos transformados por $\sqrt{[0,5+x]}$) de *Moringa oleifera*, inoculada con EcoMic® y AZOFERT de forma simple, o combinada, en diferentes momentos. 10 DDS. PGP: $p < 0.05$. D.E.: 0.239396. PGA: $p < 0.01$. D.E.: 0.242857

Como se observa, en esta fase se define mejor el efecto de los tratamientos inoculados en la germinación. Nótese que, tanto en la germinación parcial, como en la germinación acumulada, los tratamientos que se destacaron se igualaron estadísticamente con el testigo fertilizado, aunque este resultado no indica un efecto significativo de los bioproductos en la germinación en esta fase, ya que también se igualaron a los valores del control absoluto. No obstante, el común denominador para los tratamientos que resultaron superiores, es la aplicación de AZOFERT, el cual contiene *Rhizobium leguminosarum* y factores de nodulación. Ullah *et al.* (2017) demostraron que diferentes especies de *Rhizobium* pueden ser utilizadas como promotoras del crecimiento vegetal en plantas no pertenecientes a la familia de las leguminosas. En esta fase, no obstante, se demuestra que el efecto de los biofertilizantes, en comparación con los tratamientos no inoculados, no es considerable.

3.1.3 Germinación a los 15 DDS:

En la fase de los 15 DDS (Fig. 3), la germinación acumulada no mostro diferencias entre los tratamientos. En la germinación parcial, el 19 tratamiento 7 (0,54) fue superior ($p < 0.05$) a los tratamientos 1 (0,40), 2 (0,38) y 6 (0,40), sin embargo, no presentó diferencias con los tratamientos 3 (0,43), 4 (0,51) y 5 (0,48).

Germinación (% , datos transformados)

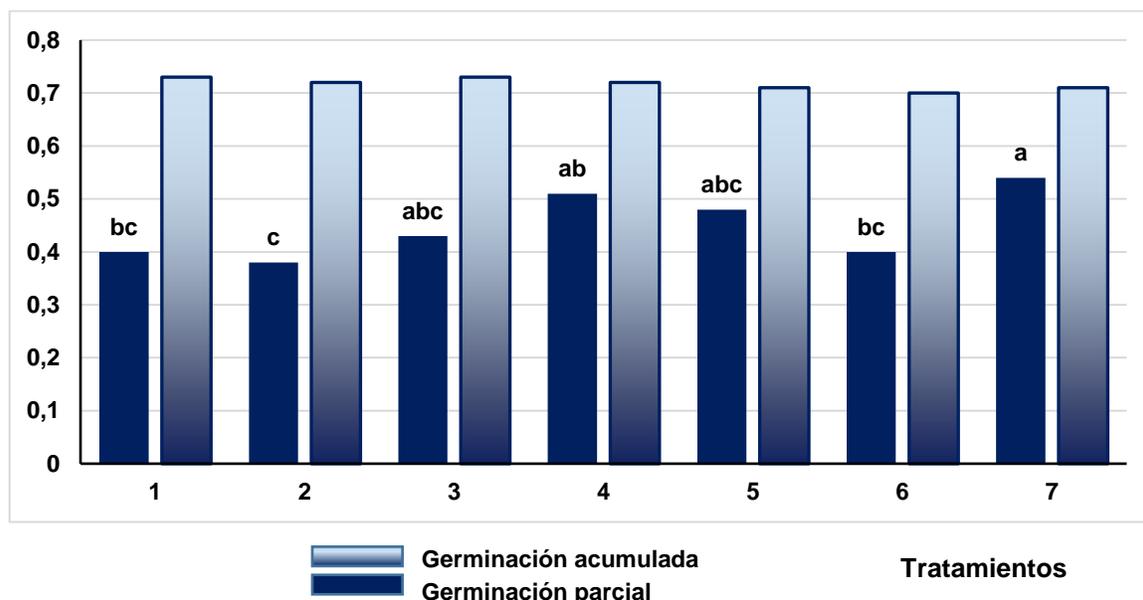


Fig. 3: Germinación parcial y acumulada (% , datos transformados por $\sqrt{[0,5+x]}$) de *Moringa oleifera*, inoculada con EcoMic® y AZOFERT de forma simple, o combinada, en diferentes momentos. 15 DDS. PGP: $p < 0.05$. D.E.: 0.235167. PGA: NS.

La fase de los 15 DDS mostró una germinación uniforme, sin diferencias significativas, de todos los tratamientos en la germinación acumulada. En cuanto a la germinación parcial, aunque los valores de los tratamientos inoculados se igualan en su mayoría al testigo fertilizado, también lo hacen con el control absoluto, con excepción del tratamiento 7. Este resultado contradice lo obtenido por Bécquer *et al.* (2018), al inocular semillas de *M. oleifera* con cepas de la rizobacteria *Bradyrhizobium* sp., la cual realizó un efecto bioestimulador de la germinación en dicho experimento con mayores valores en la fase de los 15 DDS. También Noda y Castañeda (2012), obtuvieron el mayor porcentaje de germinación a los 15 y 16 DDS en semillas de *Jatropha curcas* al inocularla con EcoMic®. Sin embargo, se demostró por Serbelló *et al.* (2014), el efecto inhibitorio de *Glomus fasciculatum* en semillas de *Carica papaya* L., en los primeros días después de la siembra, aunque ese efecto inhibitorio disminuye hasta lograr a los 28 días un porcentaje de germinación similar al resto de los tratamientos.

3.1.4 Germinación a los 20 DDS (final):

A los 20 DDS (fig. 4), en la germinación acumulada no se observó diferencias entre tratamientos. Por otra parte, en la germinación parcial, se observó que el tratamiento 5 (0,14) fue superior ($p < 0.01$) al resto de los tratamientos.

Germinación (% , datos transformados)

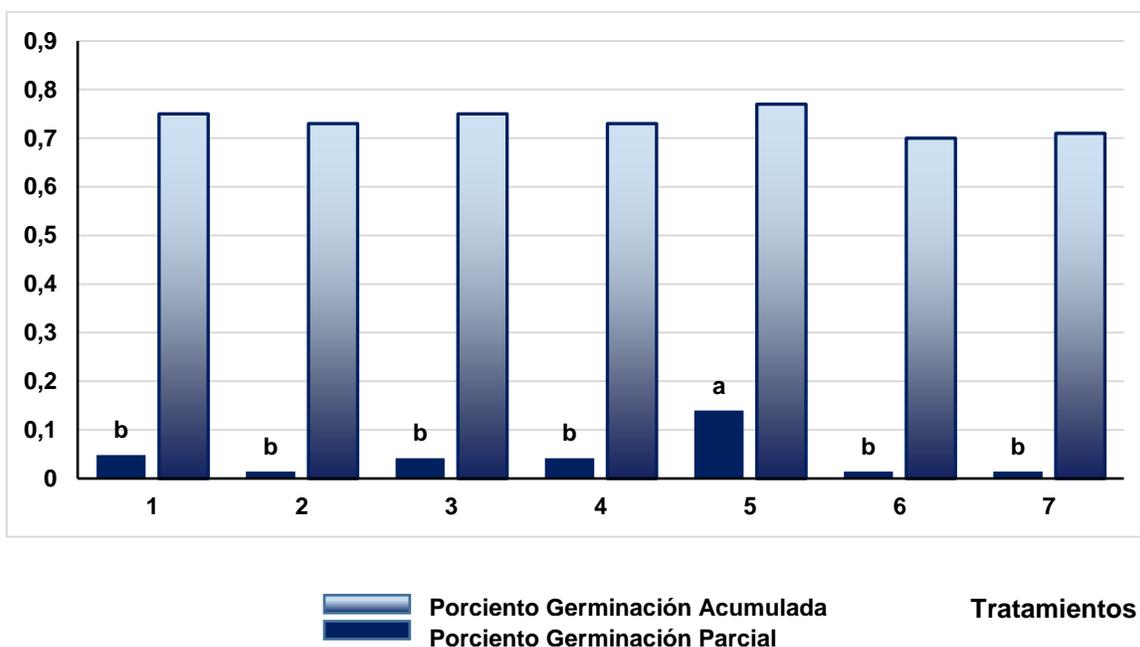


Fig. 4: Germinación parcial y acumulada (% , datos transformados por $\sqrt{[0,5+x]}$) de *Moringa oleifera*, inoculada con EcoMic® y AZOFERT de forma simple, o combinada, en diferentes momentos. 20 DDS. PGP: $p < 0.01$. D.E.: 0.124703. PGA: NS.

Evidentemente, la aplicación de AZOFERT en la germinación parcial, en el tratamiento 5, influyó significativamente en los resultados. Es posible que la cepa de *Rhizobium leguminosarum* que se empleó, presentó alta actividad de ácido giberélico, el cual puede romper la latencia de las semillas y que frecuentemente reemplaza la necesidad de estímulos ambientales, tales como luz y temperatura (Hernández, 2004). Santillana *et al.* (2005), observaron que el 47 % de las cepas de rizobios que evaluaron, presentaron efecto estimulante en las semillas de tomate, lo que resultó en una mejor germinación, posiblemente debido a la habilidad de los rizobios para producir hormonas como el ácido indolacético, ácido giberélico y citoquininas, sustancias reguladoras del crecimiento de las plantas. También, el

efecto de EcoMic® en esta variable coincide con otros trabajos en los que la aplicación de HMA ha incrementado el porcentaje de germinación, el crecimiento, el desarrollo y la salud de las plántulas de diversos cultivos (Wasy *et al.*, 2010; Reyes-Pérez *et al.*, 2021).

No obstante, esta fase no presentó resultados que indiquen una alta incidencia de los biofertilizantes en la germinación de la semilla, sobre todo en la germinación acumulada. Es posible que el efecto de los bioproductos en algunas semillas, se retardó debido a la impermeabilidad de la corteza seminal, lo cual provoca dormancia temporal y afecta de cierto modo la germinación (Kassa *et al.*, 2010). Vital *et al.* (2018) señalan que, al aplicar HMA en semillas de girasol, la germinación de estas semillas dependió de su genotipo y del tiempo de almacenamiento.

3.2 Índice de germinación total (Scott *et al.*, 1984):

En la figura 5 se observa que el tratamiento 5 (12,03) supera ($p < 0.05$) al tratamiento 2 (10,67), 3 (11,44) y 6 (10,14) y comparte letras iguales con los tratamientos 1 (11,48), 4 (11,59) y 7 (11,83).

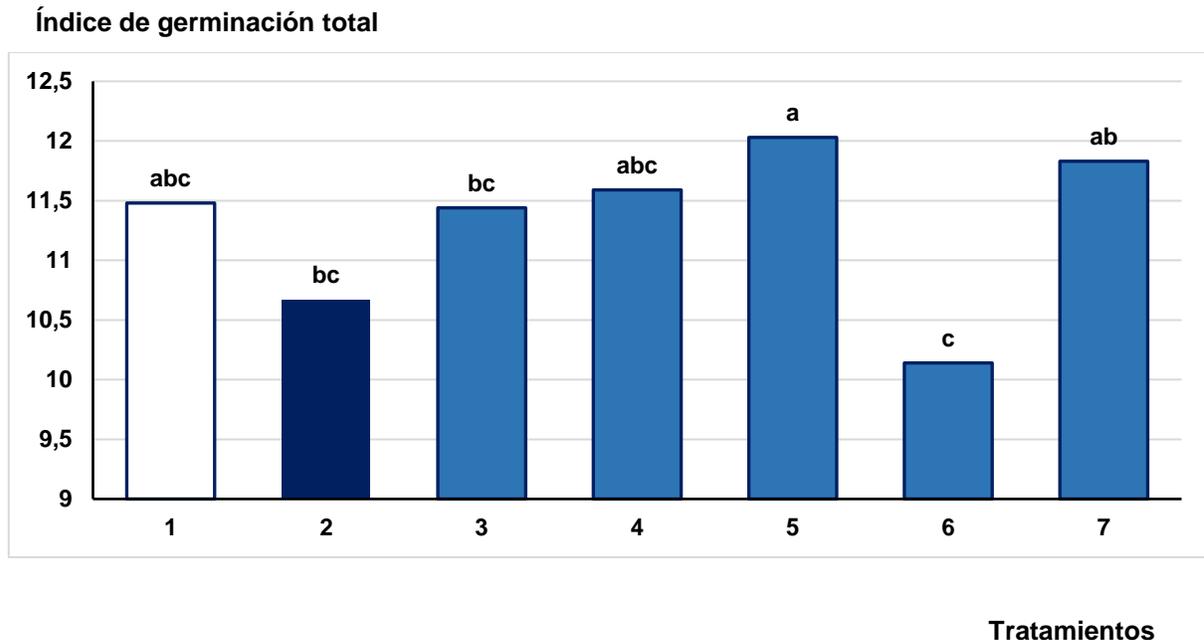


Fig. 6: Índice de germinación de semilla de *Moringa oleifera*, inoculada con EcoMic® y AZOFERT de forma simple, o combinada, en diferentes momentos. $p < 0.05$. D.E.: 2,95519.

El índice de germinación total provee una medida del tiempo de germinación en relación con la capacidad de germinación. Este índice se ve afectado por la capacidad de germinación y no proporciona información acerca de la distribución de los eventos de la germinación en el tiempo (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996). No obstante, nos sirve para corroborar, de forma global, cómo se comporta la capacidad germinativa de las semillas en función del tiempo total de germinación. Este índice también constituye un indicador de la interacción de los factores que promueven o inhiben la germinación así como de los respectivos factores que favorecen o impiden el crecimiento de la radícula (Rodríguez *et al.*, 2014).

En esta variable se observa que el tratamiento 5 supera la mayoría de los tratamientos, aunque muestra similitud estadística con los tratamientos 4 y 7, así como con el control absoluto. Al presentar el control absoluto similitud estadística con el tratamiento inoculado de mayor valor, así como con el resto de los tratamientos inoculados, se infiere que los biofertilizantes que se aplicaron, no influyeron significativamente en la capacidad germinativa de las semillas de *Moringa oleifera* en función del tiempo. Este resultado contradice lo que Murali *et al.* (2023) observaron, que la aplicación de HMA en *M. oleifera*, durante tres años consecutivos, tuvo un efecto superior en la germinación, en comparación con la inoculación de bacterias rizosféricas, en el mismo período de tiempo.

3.3 Tiempo promedio de germinación (TPG, d.):

El tiempo promedio de germinación (Fig. 7) mostró que el tratamiento 5 (13,62 d.), superó ($p < 0.05$) al tratamiento 1 (12,32 d.), 2 (11,88 d.), 3 (12,32 d.) y 6 (12,15 d.), mientras que compartió letras iguales con los tratamientos 4 (13,7 d.) y 7 (13 d.).

Tiempo promedio de germinación

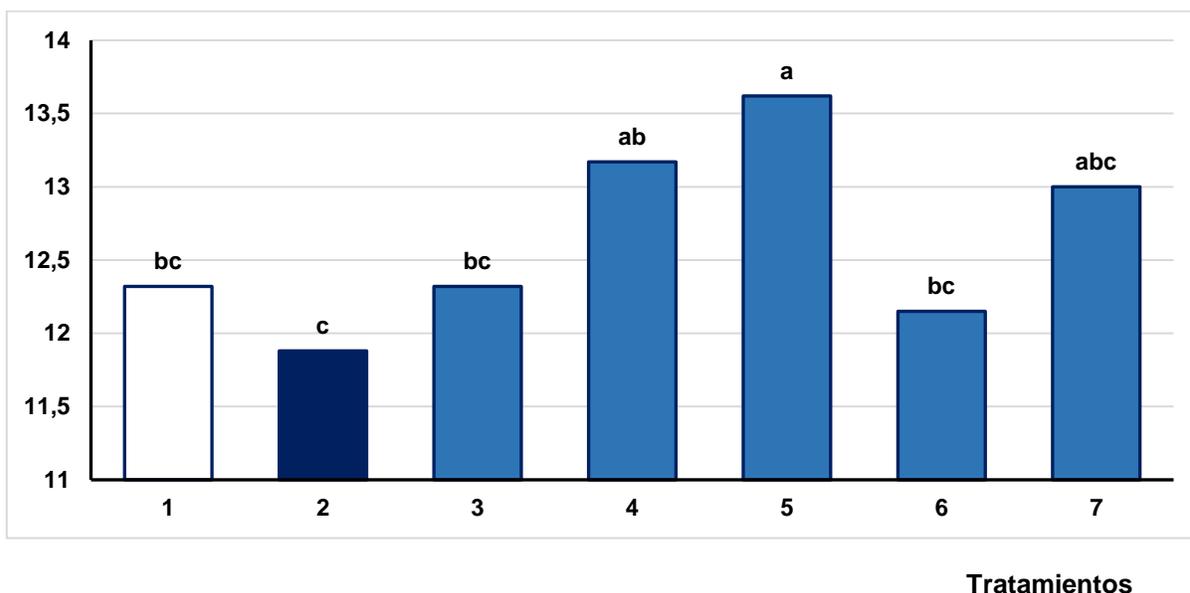


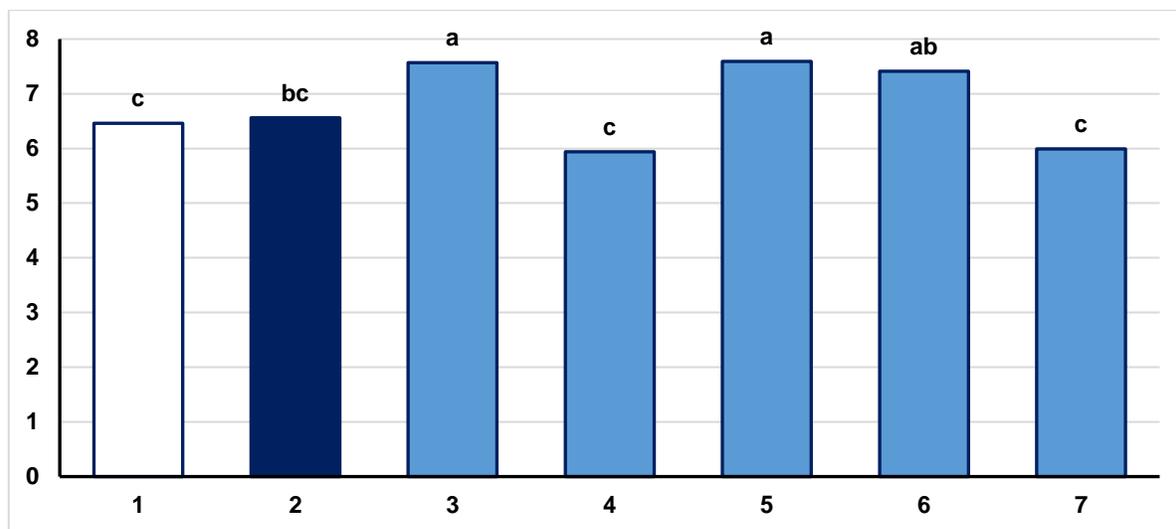
Fig. 7: Tiempo promedio de germinación (TPG) de semilla de *Moringa oleifera*, inoculada con EcoMic® y AZOFERT de forma simple, o combinada, en diferentes momentos. $p < 0.05$. D.E.: 2.12193.

El tiempo promedio de germinación es una medida del tiempo promedio que necesitan las semillas para germinar completamente (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996). En el gráfico se observa que el menor tiempo que necesitaron las semillas para germinar, lo presentó el tratamiento fertilizado, seguido del tratamiento inoculado con EcoMic® en la siembra y AZOFERT a los 5 DDS, así como del tratamiento inoculado solo con AZOFERT y el control absoluto. Estos resultados inducen a la conclusión de que ninguno de los productos que se aplicaron influyó en el tiempo que necesitaron las semillas para completar su germinación. El rango en que oscilaron los valores en los tratamientos fue similar a lo indicado por Padilla *et al.* (2012), quienes observaron que el mayor porcentaje de germinación de *Moringa*, ocurrió entre los 11 y 15 DDS, al embeber las semillas en agua por 24 h. Constantino *et al.* (2010), no encontraron influencia significativa de la aplicación de HMA en semillas de *Carica papaya*, donde los tiempos promedios de germinación oscilaron entre 11 y 12 días.

3.4 Longitud de la raíz principal a los 20 DDS (LRP, cm):

En la longitud de la raíz principal (fig. 8), a los 20 DDS, se demostró que los tratamientos 3 (7,57 cm) y 5 (7,59 cm), fueron superiores ($p < 0.0001$) al resto de los tratamientos, excepto al tratamiento 6 (7,41 cm), con el cual no se observaron diferencias.

Longitud del Raíz Principal (cm)



Tratamientos

Fig. 8: Longitud de la raíz principal a los 20 DDS, de semilla de *Moringa oleifera*, inoculada con EcoMic® y AZOFERT de forma simple, o combinada, en diferentes momentos. $p < 0.0001$. D.E.: 2.1548.

3.5 Índice de eficiencia de la inoculación (%) sobre la base de la longitud de la raíz principal:

El IEI sobre la base de la LRP (fig. 9) mostró que los tratamientos 6 (14,71 %), 5 (17,49 %) y 3 (17,18 %), presentaron valores positivos, aunque los tratamientos 5 y 3 superaron en sus valores porcentuales al tratamiento 6.

Índice de eficiencia de la inoculación (%) sobre la base de la longitud de la raíz principal

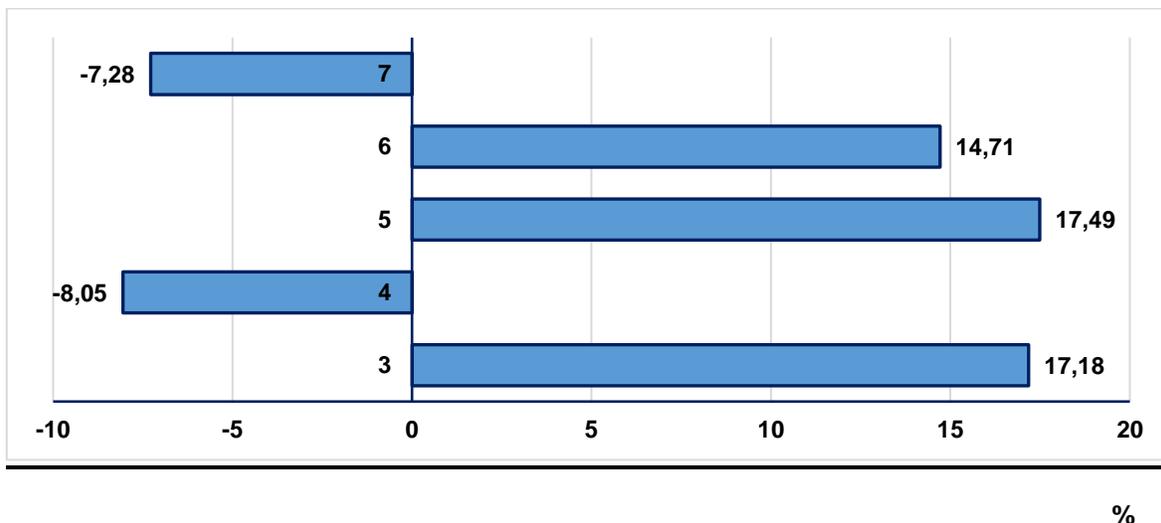


Fig. 9: Índice de eficiencia de la inoculación sobre la base de la de la longitud de la raíz principal.

En la variable longitud de la raíz principal, se observó el efecto superior de la aplicación simple de AZOFERT en el momento de la siembra, así como la combinación simultánea de AZOFERT con EcoMic® en la siembra, aunque en términos de eficiencia de la inoculación, expresado en porcentaje, el tratamiento donde se aplicó AZOFERT en la siembra y EcoMic® a los 5 DDS, también presentó una alta eficiencia en esta variable. *Rhizobium* sp. promueve el crecimiento al alterar la arquitectura de la raíz, produciendo sideróforos y bajando los niveles de etileno de las plantas no pertenecientes a la familia de las leguminosas (Mehboob *et al.*, 2008; Qureshi *et al.*, 2013).

Por otra parte, existen estudios sobre el uso de consorcios de diferentes bacterias y hongos benéficos, que demuestran las sinergias que promueven la toma de nutrientes, la productividad y el rendimiento de una variedad de cultivos de forma más eficiente que los inoculantes que contienen un solo microorganismo (Dal Cortivo *et al.*, 2018; Singh *et al.*, 2018). Se demostró por Villarreal *et al.* (2016), que las estructuras fúngicas pueden ser utilizadas por la bacteria como puentes para

alcanzar la epidermis del tejido radical, y que su producción de fitohormonas estimula el crecimiento de las raíces y, de hecho, la colonización micorrízica.

Se conoce que el ácido indolacético (AIA), se reporta como un inductor del crecimiento vegetal que facilita la iniciación de raíces, la división celular y la elongación (Kang *et al.*, 2019). Esta hormona pertenece al grupo de las auxinas, las cuales ayudan a la proliferación, elongación y establecimiento de raíces cuando tienen contacto con la planta. La producción de compuestos indólicos a partir de triptófano ha sido reportada en PGPR como *Azotobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium* sp. y *Sinorhizobium meliloti*, entre otros (Moreno-Galván *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2019). Por lo que se infiere que la inoculación con *R. leguminosarum*, que contiene AZOFERT, fue un factor clave para la elongación de la raíz en Moringa.

3.6 Longitud del tallo prominente a los 20 DDS (LTP, cm):

En la longitud del tallo prominente (fig. 10), a los 20 DDS, se demostró que el tratamiento 7 (18,82 cm) fue superior ($p < 0.001$) al resto de los tratamientos, excepto al tratamiento 5 (18,23 cm), con el cual no se observaron diferencias.

Longitud del Tallo Prominente (cm)

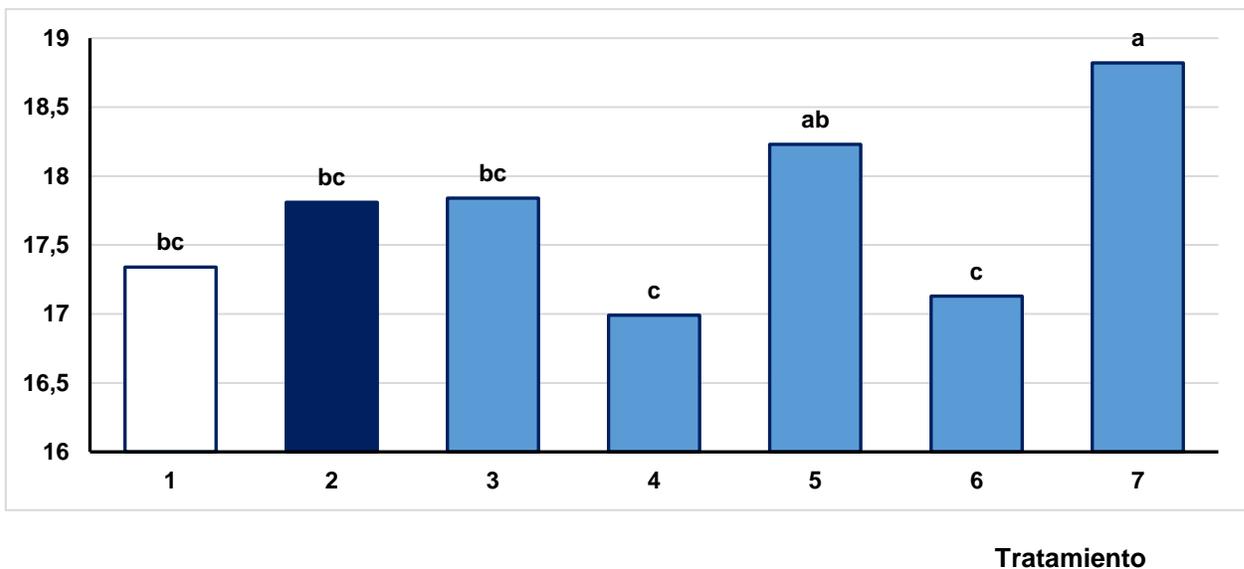


Fig. 10: Longitud del tallo prominente a los 20 DDS de semilla de *Moringa oleifera*, inoculada con EcoMic® y AZOFERT de forma simple, o combinada, en diferentes momentos. $p < 0.001$. D.E.: 2.48417.

3.7 Índice de eficiencia de la inoculación (%) sobre la base de la longitud del tallo prominente:

El IEI sobre la base de la LTP (fig. 11) mostró que los tratamientos 7 (8,54 %), 5 (5,13 %) y 3 (2,88 %), presentaron valores positivos, aunque los tratamientos 7 superó en sus valores porcentuales al resto de los tratamientos.

Índice de eficiencia de la inoculación (%) sobre la base de la longitud del tallo prominente

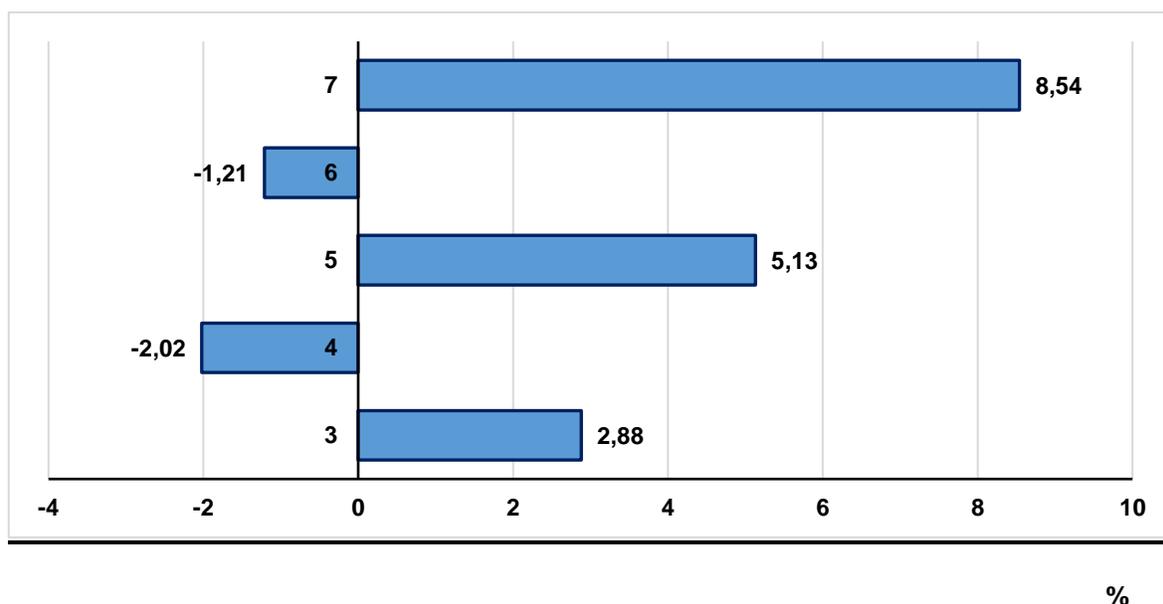


Fig. 11: Índice de eficiencia de la inoculación sobre la base de la longitud del tallo prominente.

En la variable longitud del tallo prominente, la aplicación de EcoMic® en la siembra y AZOFERT, a los 5 DDS, fue el tratamiento de mayor efectividad, seguido de la aplicación simultánea de AZOFERT y EcoMic® en la siembra. Se conoce que los HMA mejoran la extracción de nutrientes desde el suelo y su eficiencia (Bitterlich y Franken 2016), lo que trae consigo mayores exportaciones de macro y microelementos, y así incidir positivamente en la longitud del tallo y otras variables.

La síntesis de auxinas por los rizobios, especialmente el ácido indolacético, promueve el desarrollo radical y mejora la absorción de agua y nutrientes del suelo y, por tanto, el desarrollo de la planta (Caballero-Mellado 2006). Las giberelinas son otra hormona de crecimiento producida por las PGPR como *Rhizobium meliloti* y

otras rizobacterias benéficas, y tienen como función el desarrollo vegetativo de la planta (Ullah *et al.*, 2019; Vejan *et al.*, 2016). La importancia biológica de este grupo de hormonas radica en la estimulación de la elongación del tallo (Vejan *et al.*, 2016), así como en el estímulo del crecimiento de la fruta, la determinación de cambios en el fotoperiodo, la participación en el cese de la dormancia de brotes y semillas, y la participación en la florescencia. Por lo que podría atribuirse a esta hormona el efecto del inoculante bacteriano en la elongación del tallo de Moringa.

Los resultados que se obtuvieron en estas dos últimas variables, aunque existan diferencias en los valores de algunos tratamientos, podrían indicar un desarrollo radical por la influencia de los biofertilizantes que se aplicaron, con efecto directo en la longitud del tallo. El hecho de que la inoculación de EcoMic en la siembra y AZOFERT a los 5 DDS, haya tenido más eficiencia en la longitud del tallo, pero no en la longitud de la raíz, pudiera indicar que la absorción de nutrientes se efectuó más eficientemente gracias a la presencia de micorrizas en la raíz, que por un mayor crecimiento de ésta, lo que influyó favorablemente en el desarrollo del tallo.

3.8 Índice de vigor total (IVT):

En el índice de vigor total (fig. 12), a los 20 DDS, se demostró que el tratamiento 5 (19,70) fue superior ($p < 0.0001$) al resto de los tratamientos, excepto al tratamiento 3 (18,87), con el cual no se observaron diferencias.

Índice de Vigor Total

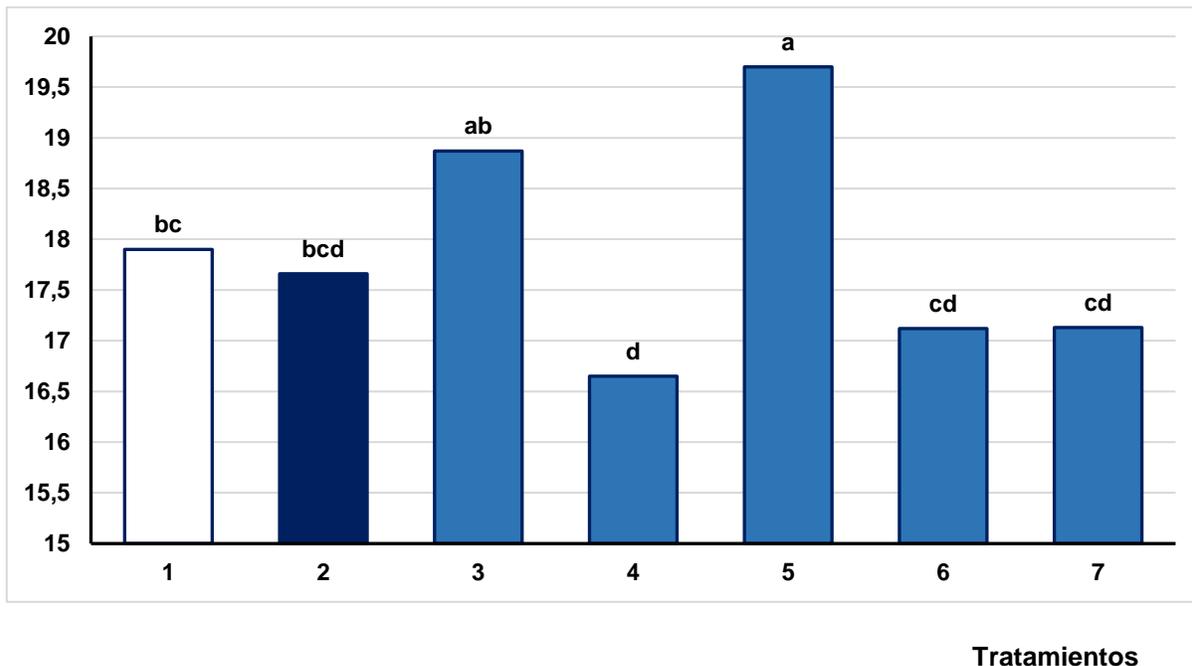


Fig. 12: Índice de vigor total de semilla de *Moringa oleifera*, inoculada con EcoMic® y AZOFERT de forma simple, o combinada, en diferentes momentos. ($p < 0.0001$) D.E.: 3.33321.

El concepto calidad de la semilla, además de estar relacionado con la respuesta germinativa, también implica aspectos genéticos, fisiológicos y morfológicos (Carvalho y Nakagawa, 2012), por lo que la prueba de germinación no es suficiente para expresar el grado de calidad de las semillas. Marcos Filho (2005) planteó que este último examen es incapaz de encontrar las diferencias en calidad entre los lotes de semillas con altos porcentajes de germinación; mientras que los análisis del vigor muestran mayor sensibilidad para encontrar estas diferencias. Desde el punto de vista bioquímico, el vigor involucra la capacidad que tiene un organismo para la biosíntesis de energía y compuestos metabólicos tales como proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos y lípidos, todo ello asociado con la actividad celular, la integridad de las membranas celulares y el transporte o utilización de sustancias de reserva. Por lo tanto, el vigor comprende aquellas propiedades de las semillas que determinan la rápida y uniforme emergencia para el desarrollo de plántulas normales en un amplio rango de condiciones de campo o de vivero (AOSA, 1983).

El índice de vigor total de semillas de *Moringa oleifera*, el cual se calculó sobre la base de la germinación final, así como la longitud del tallo y de la raíz principal, mostró que la inoculación combinada de AZOFERT y EcoMic® en el momento de la siembra, así como la aplicación simple de AZOFERT, fueron los tratamientos que mayor incidencia tuvieron en este índice. Este resultado coincide parcialmente con los resultados de la variable longitud de la raíz principal, por lo que no se descarta, que esta variable haya sido la que más influyó en este resultado.

Nótese que los valores del tratamiento fertilizado fueron estadísticamente similares a los del control absoluto y a tres de los tratamientos inoculados, por lo que se demuestra que la fertilización química, no influyó en el vigor de las plántulas.

3.9 Índice de germinación de Zucconi (IVZ):

En el índice de germinación de Zucconi (fig. 13), a los 20 DDS, se demostró que los tratamientos 3 y 5 (0,0072, respectivamente) fueron superiores ($p < 0.001$) a los tratamientos 4 (0,0056) y 7 (0,0061). Sin embargo, compartió letras iguales con los tratamientos 2 (0,0065) y 6 (0,0069).

Índice de germinación de Zucconi

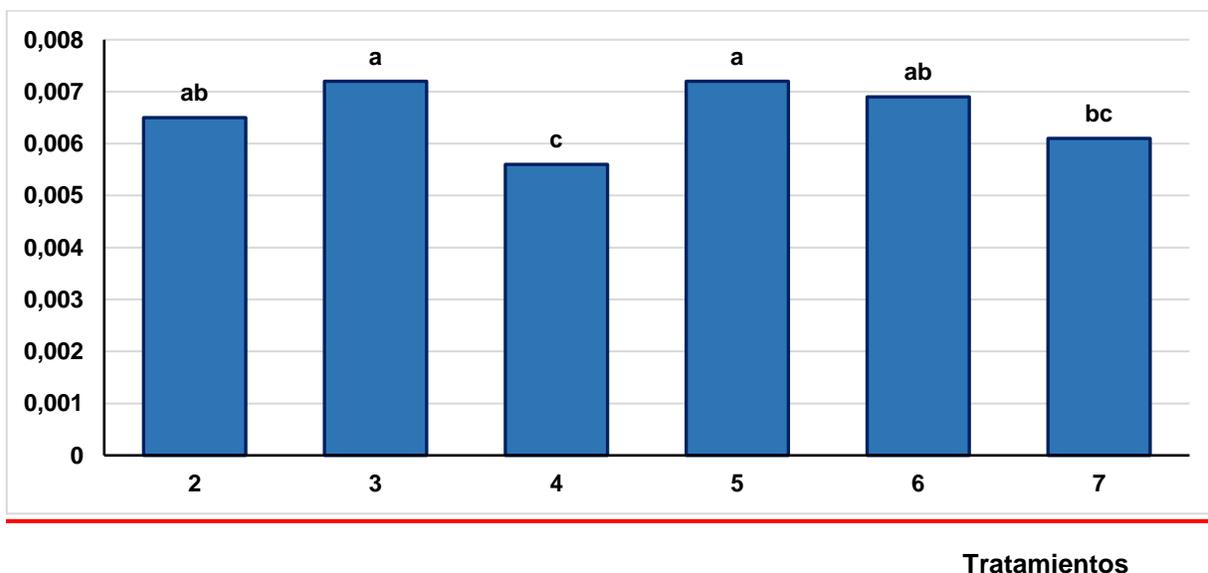


Fig. 13: Índice de germinación de Zucconi de semilla de *Moringa oleifera*, inoculada con EcoMic® y AZOFERT de forma simple, o combinada, en diferentes momentos. $p < 0.001$. D.E.: 0.00212814.

El índice de germinación de Zucconi se aplicó originalmente para evaluar las propiedades fitotóxicas de residuos orgánicos o composts inmaduros en la germinación de las semillas y crecimiento posterior de sus plántulas (Zucconi *et al.*, 1981). Este índice se calculó en el presente trabajo, para comprobar el efecto de la longitud de la raíz en el vigor de las plantas que se evaluaron.

En los resultados que se obtuvieron, se demostró que los tratamientos donde se aplicó AZOFERT en la siembra, así como AZOFERT + EcoMic[®], simultáneamente en la siembra, fueron los que tuvieron un efecto superior en esta variable, lo que coincide con los resultados de la longitud de raíz principal, y en cierta medida, con los del índice de vigor.

CONCLUSIONES:

1. El efecto de los biofertilizantes en la germinación parcial y acumulada, así como en el índice de germinación total, no fue significativo.
2. No hubo efecto superior de los biofertilizantes en el tiempo promedio de germinación de las semillas.
3. Los biofertilizantes que se aplicaron tuvieron un efecto superior en la longitud de la raíz principal, donde se destacaron la aplicación simple de AZOFERT (siembra), AZOFERT + EcoMic[®] (simultáneamente en la siembra), así como AZOFERT (siembra) + EcoMic[®] (5 DDS).
4. Solo la inoculación de EcoMic[®] (siembra) + AZOFERT (5 DDS), tuvo un efecto superior en la longitud del tallo prominente.
5. La inoculación de AZOFERT (siembra) y AZOFERT + EcoMic[®] (siembra) tuvo un efecto superior en el vigor de las plántulas, lo que coincide con los resultados de la raíz principal.

RECOMENDACIONES:

1. Realizar experimentos de campo, con la aplicación de los tratamientos que mostraron resultados superiores en el presente trabajo.
2. Realizar otros experimentos en fase de vivero, donde se utilicen los tratamientos de mejor resultado en el presente trabajo y se combinen con abonos orgánicos.

BIBLIOGRAFÍA:

- ANON. 2007. STATGRAPHICS CENTURION XV. DYNA. 82(1): 7.
- ANTOUAN, H., KLOPPER, W. J., 2001. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*. Academic Press, pp. 1470-1488.
- AOSA. 1983. *Seed Vigor Testing Handbook*. Contribution 32. Association of Official Seed Analysts. 93 pp.
- AZCÓN-AGUILAR, C., BAREA, J. M. 2015. *Nutrient cycling in the mycorrhizosphere*. In: Gianfreda, L. (Guest Editor) Biogeochemical processes in the rhizosphere and their influence on plant nutrition. Special issue of the Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 15: 372-396.
- BANTU, N. N. K.; NAGARAJU, B.; RAO, Y. R. K. V. T. 2016. *Isolation and purification of Rhizobium from French bean (Phaseolus vulgaris L.) root nodules*. Journal of Biology and Today's World. 5: 30-34.
- BAREA, J.M., POZO, M. J., LÓPEZ-RÁEZ, J. M., AROCA, R., RUÍZ-LOZANO, J.M., FERROL, N., AZCÓN, R., AZCÓN-AGUILAR, C. 2013. *Arbuscular Mycorrhizas and their significance in promoting soilplant systems sustainability against environmental stresses*. In: *Beneficial Plant-Microbial Interactions: Ecology and Applications* (Rodelas, B. and Gonzalez-Lopez, J., Eds.). CRC Press, USA. Chapter 15, pp. 353-387.
- BÉCQUER, C. J.; CANCIO, T.; NÁPOLES, J. A.; MUIR, IVÓN; ÁVILA, U.; ÁLVAREZ, ORQUIDIA Y MADRIGAL, YAHIMA. 2018. Selección de cepas de rizobios por su efecto en la germinación y desarrollo incipiente de *Moringa oleifera* Lam. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 52(4): 473-484.
- BÉCQUER, C. J.; PUENTES, ADELAIDA B.; ÁVILA, U.; QUINTANA, MARIBEL; GALDO, YALDREISY; MEDINILLA, F. Y MIRABALES, ANALEYDI. 2016. *Efecto de la inoculación con Bradyrhizobium sp. y Trichoderma harzianum en triticale (X. Triticosecale Wittmack), en condiciones de estrés por sequía*. Pastos y Forrajes. 39 (1): 19-26.E

- BENDER, S. F.; CONEN, F. & HEIJDEN, M. G. A. VAN DER. 2015. *Mycorrhizal effects on nutrient cycling, nutrient leaching and N₂O production in experimental grassland*. Soil Biol. Biochem. 80:283-292.
- BERNARDO, VALERIA; GARITA, S.; RIPODAS, J. I.; GONZÁLEZ, M.; ARANGO, CECILIA Y RUSCITTI, MARCELA. 2020. *Micorrizas arbusculares, aplicaciones en el sector agro-forestal*. Pp. 64-88. En: *Micorrizas arbusculares. Biología y aplicaciones en el sector agro-forestal*. Mario Carlos Nazareno Saparrat, Marcela Fabiana Ruscitti y Maria Cecilia Arango (coordinadores). EDULP. Libro digital. 135 p. ISBN 978-987-8348-41-4.
- BEWLEY, J.D. & BLACK, M. 1994. *Seeds. Physiology of development and germination*. Second edition. Plenum Press, New York–London. 445 p.
- BEWLEY, J.D. 1997. *Seed germination and dormancy*. Plant Cell.9: 1055.
- BITTERLICH, M. & FRANKEN, P. 2016. *Connecting polyphosphate translocation and hyphal water transport points to a key of mycorrhizal functioning*. New Phytol. 211:1147–1149.
- BLANCO, E. L.; CASTRO, Y.; OLIVO, A.; SKWIERINSKI, R.; MORONTA, B. F. 2018. *Germinación y crecimiento de plántulas de pimentón y lechuga inoculadas con rizobios e identificación molecular de las cepas*. Bioagro. 30: 207-218.
- BUSSO, C. A.; FERNÁNDEZ, O. A. 2018. *Arid and Semiarid Rangelands of Argentina*, in: Gaur, M.K., Squires, V.R. (Eds.), *Climate Variability Impacts on Land Use and Livelihoods in Drylands*. Springer, New York, U.S.A, pp. 261-291.
- CABALLERO-MELLADO, J. 2006. *Microbiología agrícola e interacciones microbianas con plantas*. Rev. Lat. Microbiol. 48: 154–161.
- CARVALHO, N.M. & NAKAGAWA, J. 2012. *Sementes: ciencia, tecnologia e produco*. Jaboticabal: FUNEP. 5ta Ed. 590 pp.
- COME, D. 1968. *Problemes of terminologie posés par la germination et ses obstacles*. Bulletin Societé Francaise Physiologie Végétale 14:3-9.

- COMPANT, S., CLÉMENT, C., & SESSITSCH, A. 2010. *Plant growth promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization*. Soil Biology and Biochemistry, 42(5),669-678. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.024>
- CONSTANTINO, M.; GOMEZ-ALVAREZ, R.; ALVAREZ-SOLIS; J. D.; PAT-FERNÁNDEZ, J.; ESPÍN, G. 2010. *Efecto de la biofertilización y los biorreguladores en la germinación y el crecimiento de Carica papaya L.* Rev. Col. Biotecnol. 12: 103-115.
- DAL CORTIVO, C., BARION, G., FERRARI, M., VISIOLI, G., DRAMIS, L., PANOZZO, A., AND VAMERALI, T. 2018. *Effects of field inoculation with VAM and bacteria consortia on root growth and nutrients uptake in common wheat*. Sustainability, 10(9): 3286.
- DUKE J. A. 1983. Handbook of energy crops (*Moringa oleifera*). Purdue University, Center for New Crops and Plants Products.
- EDE, A. E., NDUBUAKU, U. M. & BAIYERI, K. P. 2015. *Media Effects on Emergence and Growth of Moringa (Moringa oleifera Lam) Seedlings in the Nursery*. American Journal of Experimental Agriculture, 7(3): 182–189, ISSN: 2231-0606.
- EZAWA, T.; SAITO, K. 2018. *How do arbuscular mycorrhizal fungi handle phosphate? New insight into fine-tuning of phosphate metabolism*. New Phytol. 220, 1116–1121.
- FERNÁNDEZ, R.; TRAPERO, A. Y DOMÍNGUEZ, J. 2010. *Experimentación en agricultura*. Sevilla: Consejería de Agricultura y Pesca. Servicio de Publicaciones y Divulgación. ISBN: 978-84-8474-281-4.
- FOIDL, N., MAKKAR, P. S., & BECKER, K. 2001. *The potential of Moringa oleifera for agricultural and industrial uses*. In: *Proceedings of the International Workshop "What Development Potential for Moringa Products" Dar-es-Salaam, Tanzania*: 47–67.
- FONT QUER, P. 1975. *Diccionario Botánico*. Edit. Labor S.A. Barcelona. 1244 p. ISBN: 84-335-5804-8.

- GARCÍA ROA, M. 2003. *Producción de semillas forestales de especies forrajeras enfatizados en sistemas silvopastoriles*. INAFOR. 37 p.
- GHOLAMI, A.; SHAHSAVANI, S. Y NEZARAT, S. (2009). *The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Germination, Seedling Growth and Yield of maize*. World Academy Science, Engineering and Technology, 49: 19-24.
- GÓMEZ-MARTÍNEZ, M., RODRÍGUEZ-HERRERA, R., GONZÁLEZ, J. R., SANTOS-FERNÁNDEZ, M. & GÓMEZ-MARTÍNEZ, S. 2020. *Calidad de semilla de moringa y su adaptabilidad en campo en asociación con zacate buffel*. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 7(2): 2408. DOI: 10.19136/era.a7n2.2408
- GONZÁLEZ-ZERTUCHE, LOURDES Y OROZCO-SEGOVIA, ALMA. 1996. *Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: Manfreda brachystachya*. Bol. Soc. Bol. México. 58: 15-30. DOI: 10.17129/botsci.1484.
- GUTJAHR, C.; PARNISKE, M. 2017. *Control of partner lifetime in a plant fungus relationship*. Curr. Biol.27, R420–R423.
- HEMATI, ARASH; SHAFEA, LEILA; LAJAYER, BEHNAM ASGARI; GHORBANPOUR, MANSOUR AND ASTATKIE, TESS. 2023. *An overview of bacterial bio-fertilizers function on soil fertility under abiotic stresses*. In: *Plant Stress Mitigators Types, Techniques and Functions*. Mansour Ghorbanpour and Muhammad Adnan Shahid (Eds). 2023. Elsevier Inc. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89871-3.00006-9>
- HERNÁNDEZ, A., PÉREZ, J. M., BOSCH, D. & CASTRO, N. 2015. *Clasificación de los Suelos de Cuba 2015*. Ediciones INCA. Mayabeque, Cuba, 64 p. ISBN: 978-959-7023-77-7.
- HERNÁNDEZ, S. V. 2004. *Efecto de la luz, temperatura y ácido giberélico sobre la germinación de semillas de poblaciones de chiles silvestres*. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. Primer Convenio Mundial del Chile, p. 441.

- HILHORST, H.W.M. & BRADFORD, K.J. 2000. *Seed physiology. International Course on seed production and seed technology*. IAC. Wageningen, The Netherlands. 74 p.
- KANG, S.-M., SHAHZAD, R., BILAL, S., KHAN, A. L., PARK, Y.-G., LEE, K.-E., ASAF, S., KHAN, M. A., & LEE, I.-J. 2019. *Indole-3-acetic-acid and ACC deaminase producing Leclercia adecarboxylata MO1 improves Solanum lycopersicum L. growth and salinity stress tolerance by endogenous secondary metabolites regulation*. BMC Microbiology, 19(1), artículo 80. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1450-6>
- KANNAN, M. & RAJENDRAN, K. 2015. *A sustainable agro-biotechnology for quality seedling production of Jatropha curcas L. in tropical nursery conditions*. Int. Curr. Res. Aca. Rev. 3(2): 92-103.
- KASSA A., ALIA R., TADESSE W., PANDO V. & BRAVO F. 2010. *Seed germination and viability in two African Acacia species growing under different water stress levels*. African J. Pl. Sci. 4(9): 353-359.
- LOGAN, K. T. Y POLLARD, D. F. W. 1979. *Components of growth and their relationship to early testing*. En: Tree Improvement Symposium. Ontario Ministry on Natural Resources and Great Lakes Forest Research Centre. COJFRC Symposium Proceedings O-P-7. Canadian Forestry Service. Department of the Environment. p.p. 181-188.
- LOK, SANDRA Y SUÁREZ, Y. 2014. *Efecto de la aplicación de fertilizantes en la producción de biomasa de Moringa oleifera y en algunos indicadores del suelo durante el establecimiento*. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 48: 4, pp. 399-403.
- MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. 1997. *Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the Moringa oleifera tree*. Journal of agricultural Science, Cambridge. 128: 311-332.
- MARCOS FILHO, J. 2005. *Fisiologia de sementes das plantas cultivadas*. Piracicaba: FEALQ. Brasil. 495 p.

- MARQUINA, M. E.; RAMÍREZ, Y.; CASTRO, Y. 2018. *Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación y crecimiento del pimentón Capsicum annuum L. var. Cacique gigante*. Bioagro. 30: 3-16.
- MCDANIEL, R. G. 1969. *Relationship of seed weight, seedling vigor and mitochondrial metabolism in barley*. Crop Science 9: 823-827.
- MEHBOOB, I., NAVEED, M., ZAHIR, Z.A., 2009. *Rhizobial association with non-legumes: Mechanisms and applications*. Critical Reviews in Plant Sciences 28(6): 432-456.
- MEHBOOB, I., ZAHIR, Z.A., MAHBOOB, A., SHAHZAD, S.M., JAWAD A., ARSHAD. M., 2008. *Preliminary screening of Rhizobium isolates for improving growth of maize seedlings under axenic conditions*. Soil and Environment 27: 64-71.
- MORENO-GALVÁN, A., ROMERO-PERDOMO, F. A., ESTRADA-BONILLA, G., MENESES, C. H. S. G., & BONILLA, R. R. 2020. *Dry-Caribbean Bacillus spp. strains ameliorate drought stress in maize by a strainspecific antioxidant response modulation*. Microorganisms, 8(6), artículo 823. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060823>
- MOTTA, P. E.; SIQUEIRA, J. O.; RIBEIRO, B. T.; SILVA, S. H.; POGGERE, G. C.; CURI, N. 2017. *Urochloa decumbens growth and P uptake as affected by long-term phosphate fertilization, mycorrhizal inoculation and historical land use in contrasting Oxisols of the Brazilian Cerrado*. Ciência e Agrotecnologia. 41(2):209-219.
- MUBVUMA, M.; MAPANDA, S.; MASHONJOWA, E. 2013. *Effect of storage temperature and duration on germination of moringa seeds (Moringa oleifera)*. Greener J. Agr. Sci. 3(5):427-432.
- MURALI, M.; RAJ., A. J.; WANI, A. M. 2023. *Effect of Seed Treatment with Bio Fertilizers on Germination Plant Height and Total Biomass of Annual Moringa (Moringa oleifera L.)*. Current Journal of Applied Science and Technology. 42 (34): 15-22. DOI: 10.9734/CJAST/2023/v42i344229.

- NIEMBRO, R. A. 1996. *Germinación y crecimiento inicial del ramón Brosimum alicastrum Sw. en relación al peso fresco de sus semillas*. En: Memoria de la Novena Reunión Científica, Tecnológica, Forestal y Agropecuaria. INIFAP. Villahermosa, Tabasco. México. p.p. 35-41.
- NODA, YOLAI Y CASTAÑEDA, LISSET. 2012. *Efecto de EcoMic en la emergencia de plántulas de Jatropha curcas* (Nota Técnica). Rev. Pastos y Forrajes. 35(4): 401-406.
- NOGUERA-TALAVERA, A.; REYES-SÁNCHEZ, N.; MENDIETA-ARAICA, B. 2018. *Guía de establecimiento vivero moringa (Moringa oleifera). Manejo de viveros de Marango*. Guía Técnica N°21. Una alternativa sostenible de alimentación animal ante el cambio climático. Universidad Nacional Agraria Promarango. 27 p.
- NOUMAN, W.; SIDDIQUI, M.; BASRA, S.; AFZAL, I.; REHMAN, H. 2012. *Enhancement of emergence potential and stand establishment of Moringa oleifera Lam. by seed priming*. Turk. J. Agric. For. 36:227-235.
- OQUENDO, G. 2014. *Descripción, establecimiento y uso de las principales arbóreas: Moringa oleifera*. En: Uso de arbóreas como recurso sostenible para la crianza animal. Ed.: José M. Argenter, Holguín. Cuba. 112 p.
- PADILLA, C.; FRAGA, NIDIA; SUÁREZ, M. 2012. *Efecto del tiempo de remojo de las semillas de moringa (Moringa oleifera) en el comportamiento de la germinación y en indicadores del crecimiento de la planta*. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 46(4): 419-421.
- PANIAGUA, A., CHORA, J. & CASTAÑEDA, M. 2015. *Establecimiento de Huerto Semillero para obtener germoplasma de Moringa oleifera*. Instituto Tecnológico del Valle de Morelia, Michoacán, *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*.2(3):435448https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_Naturales_y_Agropecuarias/vol2num3/Ciencias%20Naturales%20y%20Agropecuarias%20Vol%202%20Num%203%20Final_13.pdf

- PARDO, S.; MAZO, DIANA CAROLINA Y FERNANDO, D. 2023. *Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: filogenia, microbioma, y perspectivas*. Pp 47-76. En: *Bacterias promotoras del crecimiento vegetal en sistemas de agricultura sostenible*. Ruth Bonilla Buitrago, Luz Estela González de Bashan, Raúl Osvaldo Pedraza (Eds.). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Mosquera, Colombia: AGROSAVIA. 372 pp. ISBN 978-958-740-500-2. <http://editorial.agrosavia.co/index.php/publicaciones/catalog/book/230>
- PEÑA, C. P.; CARDONA G. I.; MAZORRA A.; ARGUELLEZ J. H.; ARCOS A. L. 2006. *Micorrizas arbusculares de la amazonia colombiana*. Catalogo Ilustrado. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI. 90 p.
- PENTÓN, GERTRUDIS; REYNALDO, INÉS; MARTÍN, G. J.; RIVERA, R. Y OROPESA, KATERINE. 2011. *Uso del EcoMic® y el producto bioactivo Pectimorf® en el establecimiento de dos especies forrajeras*. *Pastos y Forrajes*. 34 (3): 281-294.
- PÉREZ, A.; SÁNCHEZ, TANIA, ARMENGOL, NAYDA Y REYES, F. 2010. *Características y potencialidades de Moringa oleifera Lamark. Una alternativa para la alimentación animal*. *Pastos y Forrajes*. 33 (4): 349-362.
- PITA-HERNÁNDEZ, A., GARCÍA-QUIÑONES, E. 2012. *Efectos del Glomus fasciculatum en la nutrición de Moringa oleifera Lam*. *Rev. Avances*. 14(3): 241-250.
- PLANA, R. R.; GONZÁLEZ, P. J. AND SOTO, F. 2016. *Combined use of EcoMic®, Fitomas-E® and mineral fertilizers in the forage production of animal food based in triticale (x. Triticosecale Wittmack), cv. INCA TT-7*. *Cultivos Tropicales*. 37(4): 76-83.
- POSADA, LUISA FERNANDA; MORENO, A. E.; SANTOS, MARILYN TATIANA; ESTRADA, G. A. 2021. *Mecanismos de promoción de crecimiento de las PGPB*. Pp. 80-104. En: *Bacterias promotoras de crecimiento vegetal en Sistemas de Agricultura Sostenible*. Ruth Bonilla Buitrago, Luz Estela González de Bashan, Raúl Osvaldo Pedraza (Eds.). Corporación colombiana de investigación

agropecuaria – Mosquera (Colombia): AGROSAVIA. 372 p. ISBN E-book: 978-958-740-501-9. ISBN: 978-958-740-500-2.

PRIETO, MARLENE. 2015. *Evaluación de tres variedades de Morus alba en la crianza y producción del polihíbrido chul thai-6 de Bombyx mori*. Tesis en opción al título académico de Máster en Pastos y Forrajes. Matanzas, Cuba: EEPF Indio Hatuey, Universidad de Matanzas.

QURESHI, M. A., SHAHZAD, H., IMRAN, Z., MUSHTAQ, M., AKHTAR, N., ALI M.A., MUJEEB, F., 2013. *Potential of Rhizobium species to enhance growth and fodder yield of maize in the presence and absence of L-tryptophan*. The Journal of animal & Plant Sciences 23(5): 1448-145.

RAMACHANDRAN, C.; PETER, K. V. AND GOPALAKRISHNAN, P. K. 1980. *Drumstick (Moringa oleifera): a multipurpose Indian vegetable*. Economic Botany 34(3): 276
<http://npvital.com/npvital/artikel/moriveda/studien/drumstick.pdf>

RAMOS, O.; CASTILLO, J.; SANDOVAL, J. 2015. *Efecto de intervalos y alturas de corte en la productividad forrajera de Moringa oleifera*. Rev. Bio Cienc. (México). 3(3):187-194.

REYES, N. 2004. *Marango: Cultivo y utilización en la alimentación animal*. Guía técnica No. 5. Universidad Nacional Agraria, Nicaragua. 24 p.

REYES, N. 2006. *Moringa oleifera y Cratylia argentea: posibles especies forrajeras para rumiantes en Nicaragua*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Nutrición y Manejo Animal Uppsala (Tesis Doctoral), Universidad Sueca de Ciencias Agrícolas de Uppsala. Suecia
http://disepsilon.slu.se/archive/00001027/01/NRS_General_Discussion_Final_

REYES, N. 2008. *Moringa oleifera and Cratylia argentea: potential fodder species for ruminants in Nicaragua*. Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science Department of Animal Nutrition and Management Uppsala. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.

- REYES-PÉREZ, J. J.; RIVERO-HERRADA, MARISOL; ANDAGOYA-FAJARDO, C. J.; BELTRÁN-MORALES, F. A.; HERNÁNDEZ-MONTIEL, L. G.; GARCÍA LISCANO, A. E. Y RUIZ-ESPINOZA, F. H. 2021. *Emergencia y características agronómicas del Cucumis sativus a la aplicación de quitosano, Glomus cubense y ácidos húmicos*. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. 23(3): 38-44.
- RODRÍGUEZ, A. J.; ROBLES, C. A.; RUÍZ, R. A.; LÓPEZ, EUGENIA; SEDEÑO, J. E. Y RODRÍGUEZ, ANGÉLICA. 2014. *Índices de germinación y elongación radical de Lactuca sativa en el biomonitoreo de la calidad del agua del río Chalma Dorantes*. Rev. Int. Contam. Ambie. 30 (3): 307-316.
- ROJAS-TAPIAS, D., MORENO-GALVÁN, A., PARDO-DÍAZ, S., OBANDO, M., RIVERA, D., & BONILLA, R. 2012. *Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (Zea mays)*. Applied Soil Ecology, 61: 264-272. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.01.006>
- ROSENTAL, L., H. NONOGAKI, AND A. FAIT. 2014. *Activation and regulation of primary metabolism during seed germination*. Seed Science Research 24(1):1-15.
- RUIZ-LOZANO, J. M.; AROCA, R., ZAMARREÑO, A. M., MOLINA, S., ANDREO-JIMEÉNES, B., PORCEL, R. GÁRCIA-MINA, J. M. RYTER-SPIRA, C., LÓPEZ-RÁEZ, J. A. 2016. *Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato*. Plant, Cells & Environment 39: 441-452.
- SANTILLANA, N., ARELLANO, C. & ZÚÑIGA, D. 2005. *Capacidad del Rhizobium de promover el crecimiento en plantas de tomate (Lycopersicon esculentum Miller)*. Ecología aplicada. 4(1,2): 47-51.
- SANTILLANA, N.; ZÚÑIGA, D. Y ARELLANO, C. 2012. *Capacidad promotora del crecimiento en cebada (Hordeum vulgare) y potencial antagónico de Rhizobium leguminosarum y Rhizobium etli*. Agrocienia Uruguay. 16:11-17.

- SARABIA, MARCELA; MADRIGAL, ROCÍO; MARTÍNEZ, M. Y CARREÓN, YAZMÍN. 2010. *Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones*. *Biológicas*, 12(1): 65 – 71.
- SCOTT, S.J.; JONES; R. A. AND WILLIAMS, W. A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science*. 24: 1129-1199.
- SERBELLÓ, F. G.; MESA, J. R. Y SOTO, RAFAELA. 2014. *Efecto de diferentes alternativas biológicas, sobre el porcentaje y velocidad de germinación de las semillas de fruta bomba (Carica papaya L.)* 2(1): 247-253.
- SINGH, A., THAKUR, A., SHARMA, S., GILL, P.P.S., AND KALIA, A. (2018). *Bio-inoculants enhance growth, nutrient uptake, and buddability of citrus plants under protected nursery conditions*. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 49(20), 2571-2586.
- TCHAKOUNTÉ, G. V. T.; BERGER, B.; PATZ, S.; FANKEM, H.; RUPPEL, S. 2018. *Community structure and plant growth-promoting potential of cultivable bacteria isolated from Cameroon soil*. *Microbiological Research*. 214: 47-59. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2018.05.008>
- ULLAH, A., NISAR, M., ALI, H., HAZRAT, A., HAYAT, K., KEERIO, A. A., IHSAN, M., LAIQ, M., ULLAH, S., FAHAD, S., KHAN, A., KHAN, A. H., AKBAR, A., & YANG, X. 2019. *Drought tolerance improvement in plants: An endophytic bacterial approach*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(18): 7.385-7.397. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10045-4>
- ULLAH, SANA; QURESHIB, M. AMJAD; ALI, M. ASIF; MUJEEB, FAKHAR; YASIN, SANAULLAH. 2017. *Comparative potential of Rhizobium species for the growth promotion of sunflower (Helianthus annuus L.)*. *Eurasian J Soil Sci*. 6 (3): 189 – 196.
- VEJAN, P., ABDULLAH, R., KHADIRAN, T., ISMAIL, S., & BOYCE, A. N. 2016. *Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—A review*. *Molecules*,21(5),artículo573.<https://doi.org/10.3390/molecules21050573>

- VILLARREAL, T.C., MEDINA, M.E., ULLOA, S.M., DARWIN, R.O., BANGEPAGARI, M., SELVARAJ, T. & SIKANDAR, I.M. 2016. *Effect of Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and Azospirillum on growth and nutrition of banana plantlets during acclimatization phase*. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 6(06): 131-138, ISSN: 2231-3354, DOI: <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60623> .
- VITAL, V. I.; QUIÑONES, A. E.; HERNÁNDEZ, M. L. Y RINCÓN, E. G. 2018. *Viabilidad de esporas de hongos micorrízicos arbusculares y semillas de girasol para el establecimiento de la simbiosis micorrízica*. Biotecnología y Sustentabilidad. 3(2): 15-25.
- WASY, A. A. SHYANMALAMMA, S. & NACHE, G. V. 2010. *Influence of bio-inoculants on nursery establishment of papaya cv Solo*. Acta Hort. 851: 389.
- WELBAUM, G.E.; BRADFORD, K.J.; YIM, KYUOCK; BOOTH, D.T. & OLUOCH, M.O. 1998. Biophysical, physiological and biochemical processes regulating seed germination. Seed Science Research. 8:161.
- WU, Q.; PENG, X.; MINGFENG, Y.; ZHANG, W.; DAZZO, B.; UPHOFF, N.; JING, Y.; SHEN, S. 2018. *Rhizobia promote the growth of rice shoots by targeting cell signaling, division and expansion*. Plant Molecular Biology, 97: 507-523. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11103-018-0756-3>
- ZHANG, P., JIN, T., SAHU, S. K., XU, J., SHI, Q., LIU, H., & WANG, Y. 2019. *The distribution of tryptophan-dependent indole-3-acetic acid synthesis pathways in bacteria unraveled by large-scale genomic analysis*. Molecules, 24(7): 1-14. <https://doi.org/10.3390/molecules24071411>
- ZAYED, M. S. 2012. *Improvement of growth and nutritional quality of Moringa oleifera using different biofertilizers*. Annals of Agricultural Sciences. 57(1): 53–62.
- ZUCCONI, F., PERA, A., FORTE, M., DE BERTOLDI, M. 1981. *Evaluating toxicity in immature compost*. Biocycle 22: 54–57.