



Las rizobacterias halófilas mantienen la calidad forrajera de *Moringa oleifera* cultivada en sustrato salino



Verónica García Mendoza ^a

Alex Edray Hernández Vázquez ^a

José Luis Reyes Carrillo ^a

Uriel Figueroa Viramontes ^b

Jorge Sáenz Mata ^c

Héctor Mario Quiroga Garza ^a

Emilio Olivares Sáenz ^d

Pedro Cano Ríos ^a

José Eduardo García Martínez ^{a*}

^a Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Posgrado en Ciencias Agrarias, Blvd. Raúl López Sánchez Km. 2. 27054, Torreón, Coah., México.

^b INIFAP, Campo Experimental La Laguna, Matamoros, Coah., México.

^c Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Ciencias Biológicas. Gómez Palacio, Durango, México.

^d Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Agronomía. Gral. Escobedo, Nuevo León, México.

* Autor de correspondencia: edugarmartz@gmail.com

Resumen:

Para obtener un incremento en la producción forrajera de *Moringa oleifera* Lam. y de buena calidad se puede combinar el uso de compost a base de estiércol bovino y la inoculación de

biofertilizantes a base de rizobacterias promotores del crecimiento vegetal (PGPR). La evaluación de esta producción se realizó en invernadero en Torreón, Coahuila, México. Se utilizó compost de estiércol bovino como sustrato (compost 50%, arena 40% y perlita 10%). Se programaron tres inoculaciones al árbol (a los 40, 74 y 152 días después de la siembra) con cuatro cepas de PGPR, los siguientes fueron los tratamientos T1: *Bacillus paralicheniformis*, T2: *Acinetobacter guillouiae*, T3: *Aeromonas caviae*, T4: *Pseudomonas lini* y Testigo: Sin bacteria, las cepas provenientes de la Poza Salada, Valle de Sobaco, Coahuila, México. Se realizaron tres cosechas en el ciclo verano-otoño-invierno 2016-2017. Se evaluaron variables agronómicas y bromatológicas para determinar la producción y calidad del follaje del árbol. Las cepas *Pseudomonas lini* y *Bacillus paralicheniformis* proporcionaron una respuesta positiva en el desarrollo de *M. oleifera* forrajera en el período de verano-otoño, incrementando la altura en las primeras semanas de desarrollo y proporcionando diámetros más gruesos y firmes. El rendimiento y las variables bromatológicas no presentaron diferencia entre los tratamientos, sin embargo, se produjo un forraje de buena calidad. En promedio las hojas presentaron el 13.56 % de cenizas, 70.15 % de total de nutrientes digestibles, 93.16 % de digestibilidad *in vitro* de la materia seca, 19.72 % de fibra detergente neutra, 25.35 % de fibra detergente ácida y 24.15 % de proteína cruda.

Palabras clave: Biofertilizantes, Biomasa, Composta, Digestibilidad, Fertilizantes, Inoculación, Proteína, Rumiantes.

Recibido: 04/12/2018

Aceptado: 24/07/2019

Introducción

La alimentación a rumiantes, especialmente para la producción lechera, requiere el suministro de niveles altos de energía y proteína⁽¹⁾. Los suministros de concentrados convencionales generalmente son costosos⁽²⁾. El árbol de *Moringa oleifera* Lam., es una especie con alto valor nutricional y buena producción de biomasa llegando a tener una producción anual de $25 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ en condiciones de bosque tropical seco⁽³⁾. Además de que los costos de alimentación son relativamente bajos, diez veces más bajos al utilizar *M. oleifera* que alimentos balanceados⁽⁴⁾. Las raciones para el ganado lechero formuladas con forraje de *M. oleifera*, proporcionan un alto valor proteico entre 15-30 %, 16-53 % de FDN, con digestibilidades entre 52-85 %⁽⁵⁾. El suministro de una dieta de *M. oleifera* fresca puede

ocasionar un mal sabor y aroma en la leche, pero si la dieta es con ensilado de *M. oleifera*, la leche muestra buenas características organolépticas⁽⁶⁾ por lo que *M. oleifera* es una opción para complementar la alimentación del ganado lechero.

Por otro lado, la intensificación de la producción de la industria lechera aumenta la generación de estiércol, lo que representa un riesgo de contaminación⁽⁷⁾. Las excretas del ganado lechero tienen un menor impacto ambiental cuando se usan como abonos orgánicos⁽⁸⁾. Sin embargo se debe tener cuidado con la utilización de este puesto que las cinco sales solubles (Na, K, Ca, Mg y S) acumuladas pueden generar efectos adversos⁽⁹⁾. El aumento de la salinidad influye en la calidad del forraje, incluyendo materia orgánica (MO), proteína cruda (PC), fibra detergente neutra (FDN)⁽¹⁰⁾. Más de la mitad del territorio mexicano es árido y semiárido y la diversidad natural, incluyendo su suelo, está siendo amenazado⁽¹¹⁾. Los futuros escenarios predictivos de acuerdo con el cambio climático, muestran el creciente riesgo de salinización en diferentes latitudes que requerirán un esfuerzo especial para mantener la producción de cultivos bajo estrés salino⁽¹²⁾.

El uso de biofertilizantes a base de rizobacterias promotores del crecimiento vegetal (PGPR), son una opción para reducir la contaminación del suelo, también causada en parte por fertilizantes nitrogenados⁽¹³⁾. Las PGPR ejercen efectos benéficos en las plantas a través mecanismos directos e indirectos como la fijación de nitrógeno, síntesis de fitohormonas, solubilización de fósforo, secreción de sideróforos, el incremento en la permeabilidad de las raíces, inducción de resistencia sistémica, entre otros^(14,15). En efecto, la inoculación de diversas cepas de PGPR permite el desarrollo de plantas en lugares con problemas de sequías, en suelos contaminados con metales pesados e incluso suelos salinos⁽¹⁶⁾. La hipótesis supone que si se produce en suelos o sustratos con conductividades eléctricas elevadas, se puede utilizar la inoculación de PGPR halófilas para obtener una buena producción e incrementar la calidad, en este caso del forraje de *M. oleifera*. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad de la producción de *M. oleifera* para fines forrajeros inoculados con PGPR halófilas, utilizando compost en el sustrato y té de compost en el riego ambos de estiércol bovino.

Material y métodos

La investigación se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna (UAAAN-UL), ubicada en Torreón, Coahuila, México, el cual presenta una altitud de 1,120 msnm. En el ciclo verano-otoño-invierno 2016-2017, en condiciones de invernadero. Las temperaturas máximas y mínimas fueron registradas durante el experimento.

El diseño experimental utilizado fue en bloques al azar, cinco tratamientos correspondientes a cuatro diferentes cepas de PGPR (Cuadro 1); y cinco repeticiones por tratamiento. Las PGPR fueron proporcionadas por la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango, las cuales fueron aisladas de la rizósfera del pasto halófilo *Distichlis spicata*, tomado de la Poza Salada en el Valle de Sobaco, ubicado en el Municipio de Cuatrociénegas, Coahuila, México⁽¹⁷⁾.

Cuadro 1: Características de las rizobacterias promotores del crecimiento vegetal (PGPR) utilizadas en cada tratamiento (T)

	ID de cepa	Género/Especie de bacteria	Producción de AIA (μg)	PS	GSF (mm)	TS (%)
T1	LBEndo1	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	23.444 \pm 2.531	+	4.589 \pm 0.221	15
T2	NFbEndo2M2	<i>Acinetobacter guillouiae</i>	+	+	+	<5
T3	KBEndo3	<i>Aeromonas caviae</i>	+	+	+	<5
T4	KBecto4	<i>Pseudomonas lini</i>	36.730 \pm 0.011	+	4.112 \pm 0.042	15
Te	Sin bacteria					

AIA= ácido indol-3 acético; PS= producción de sideróforos; GSF= grado de solubilización de fosfatos; TS= tolerancia a la salinidad; Te= testigo.

Fuente: Palacio-Rodríguez *et al*⁽¹⁷⁾.

Se realizó una siembra directa de semilla de *M. oleifera* L. el 10 de julio de 2016, en bolsas negras de polietileno horadadas de 18 L de capacidad. El sustrato utilizado fue una mezcla de compost (50 %), arena (40 %) y perlita (10 %). El compost fue adquirido del rancho Ampuero, al cual se le aplicó el método de solarización antes de su utilización⁽¹⁸⁾. Se colocó una semilla por bolsa a una profundidad de 5 cm. Previo a la siembra se aplicó un lavado al sustrato, por cada kilo de sustrato un litro de agua, para la disminución de sales. El acomodo de las macetas fue en cuatro hileras, con arreglo topológico en tresbolillo, con una separación entre tallos de 0.25 x 0.25 m y alcanzando una densidad de 16 árboles m⁻².

La inoculación de las bacterias PGPR fue a los 40 días después de la siembra, colocando 3 ml a una concentración de 1x10⁸ ufc ml⁻¹ de PGPR, en la base del tallo y se realizaron inoculaciones a los ocho días después del primer y segundo corte.

Las variables evaluadas fueron: rendimiento, variables bromatológicas y relación hoja/tallo. El muestreo se realizó cuando el árbol alcanzó una altura promedio de 1.50 m, y antes de que iniciara la floración, dejando un forraje remanente a los 0.25 m de altura.

Los riegos que se aplicaron fueron con té de compost, 1 L cada tercer día. Este té se obtuvo sumergiendo 5 kg de compost de estiércol bovino en una red dentro de un recipiente de 200 L. El agua se colocaba un día antes para lograr la evaporación del cloro que pudiera tener. En cada elaboración se adicionaron 90 g de piloncillo y se colocaron oxigenadores dentro del recipiente de 200 L durante 12 h. Transcurrido este tiempo se retiraba la red que contenía el compost y el té estaba listo para utilizarse. El Cuadro 2 muestra la composición química del compost y el té de compost obtenido.

Cuadro 2: Composición química de macro y micronutrientes del compost y té de compost utilizados para el sustrato y el riego de *M. oleifera*

-----Macronutrientes-----										
Componente	pH	CE	N	P	K	Ca	Mg	Carbono orgánico	MO	
		mS/cm	-----%							
Compost	8.35	12.77	0.11	0.45	2.95	18.8	0.94	17.75	30.60	
Té	7.52	3.27	0.25	0.15	0.28	1.33	0.12	-----	0.52	
-----Micronutrientes-----										
Componente	pH	CE	Na	Fe	Cu	Zn	Mn	Bo		
		mS/cm	%	-----ppm-----						
Compost	8.35	12.77	0.43	5100.0	62.00	200.00	390.00	1.00		
				0						
Té	7.52	3.27	0.18	3.21	0.86	2.96	3.44	-----		

La única plaga presentada durante el experimento fue *Tetranychus urticae* la cual se controló con aplicaciones de eBioluzión Plus vO® (Febea bio), insecticida orgánico de amplio espectro.

Las variables agronómicas evaluadas fueron tomadas una vez por semana: altura del árbol, diámetro de tallo, número de tallos, número de hojas, tamaño de hojas, peso de la raíz, peso fresco y seco del forraje, rendimiento la relación hoja/tallo.

La altura del árbol se tomó con un estadal colocándolo en la parte basal del suelo y tomando la altura hasta el ápice de la rama apical. El diámetro del tallo se midió con un vernier, 3 cm arriba de la parte basal. Se contó el número de tallos después del segundo y tercer corte. Se contó el número de hojas compuestas de cada tallo. Se midió el tamaño de hoja con una cinta métrica, la lectura se tomó desde el raquis primario hasta el foliolo apical. Se utilizó una balanza digital para tomar el peso de la raíz; para esto se cortó el tallo desde la parte basal y se retiró todo el sustrato tratando de mantener la mayor cantidad de raíz. El forraje se pesó en fresco en una balanza digital al momento de hacer el corte con tijeras para poda, hojas y tallos en conjunto y por separado (hojas sin el raquis y tallos incluyendo el raquis de las hojas). Para obtener el peso seco se llevaron las muestras de forraje al laboratorio, se colocó cada muestra en bolsas de papel con su respectiva etiqueta para secarse en estufa de aire forzado a 60 °C durante 24 h hasta obtener un peso constante en las muestras. Utilizando una balanza analítica se registró el peso seco con el cual después se calculó el rendimiento de materia seca, sumando el peso seco de hojas más el peso seco de tallos. La relación hoja/tallo se calculó al dividir el peso seco de las hojas (PSH) entre el peso seco de los tallos (PST), con la ecuación $H/T = PSH/PST$.

Las variables bromatológicas se realizaron solo en el último corte e incluyeron: materia fresca (MF), materia seca (MS), cenizas, grasa, fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), fibra cruda (FC), proteína cruda (PC), extracto libre de nitrógeno (ELN), carbohidratos no fibrosos (CNF), digestibilidad *in vitro* de materia seca (DIVMS), energía neta de lactancia (EN_L) y total de nutrientes digestibles (TND).

Las muestras se secaron a 60 °C durante 24 h hasta obtener un peso constante, después se trituraron a través de un tamiz de 1 mm antes del análisis. Las cenizas se analizaron utilizando el procedimiento de AOAC⁽¹⁹⁾ La grasa se extrajo utilizando el método Goldfish. La FDN y FDA se obtuvieron por medio del método de Van Soest⁽²⁰⁾. La FC se determinó por el método de Weende. La PC fue determinada con el método Kjeldahl. La DIVMS se obtuvo utilizando la incubadora Daisy (Ankom Technology). Para el cálculo de ELN, CNF, EN_L y TND se utilizaron las siguientes fórmulas: $ELN (\%) = 100 - (MS + PC + FC + Grasa + Cenizas)$, $CNF (\%) = 100 - (PC + FDN + Grasa + Cenizas)$, $EN_L = 1.044 - (0.0124 * FDA)$ y $TND = 31.4 + (53.1 * EN_L)$.

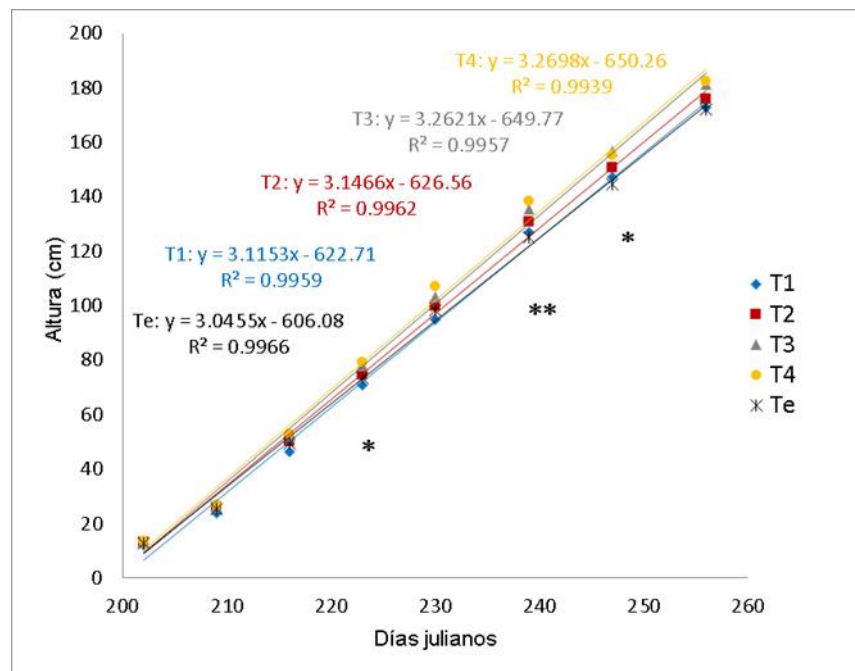
Las variables se sometieron a un análisis de varianza utilizando el programa estadístico SAS para Windows versión 9.0. En los casos donde se encontraron diferencias entre medias se aplicó la prueba de diferencia mínima significativa (DMS), con una significancia de $\alpha = 0.05$. Se utilizó el programa Excel de Office 2010 para determinar la ecuación de regresión en la variable altura.

Resultados

Crecimiento

El crecimiento del árbol de *M. oleifera* de la siembra a la primera cosecha mostró una diferencia significativa entre los tratamientos de los 216 a los 247 días julianos. La última semana antes de la primera cosecha no fue afectada por los tratamientos aplicados, no mostró diferencia significativa, esto puede deberse al inicio de la floración (Figura 1). Este crecimiento fue en el período de verano, el cual muestra una tendencia lineal. El incremento promedio que presentó el árbol es de 3.16 cm por día, llegando a obtener una altura promedio de 1.76 m a los 66 días. En este período, el árbol presentó el mayor crecimiento en el experimento. Las temperaturas presentadas en este período favorecieron al crecimiento, las cuales fueron de 20-22 °C como mínima y de 38-42 °C como máxima.

Figura 1: Crecimiento de *Moringa oleifera* de la siembra a la primera cosecha (66 días) 2016



T1= *Bacillus paralicheniformis*, T2= *Acinetobacter guillouiae*, T3= *Aeromonas caviae*, T4= *Pseudomonas lini*, Te= sin bacteria. (*, **= Indica diferencia significativa y altamente significativa, respectivamente, entre tratamientos para la fecha respectiva).

En la segunda cosecha del árbol se obtuvo una diferencia significativa en el crecimiento a partir de los 277 a 299 días julianos, excepto en las siguientes cinco semanas antes de la cosecha. Esta segunda cosecha correspondió al período de otoño, el crecimiento muestra

también una tendencia lineal. Sin embargo, presenta una disminución de 52 %, con respecto al crecimiento de verano; el incremento promedio es de 1.51 cm por día. Este decremento se atribuye al cambio de estación y con ello la disminución de la temperatura, la cual osciló entre 15-16 °C como mínima y entre 36 y 40 °C como máxima. La altura promedio de 1.50 m para su corte se alcanzó a los 77 días después de la primera cosecha. El árbol requirió de 11 días más que la primera cosecha para alcanzar la altura promedio antes de realizar la cosecha.

Después de la segunda cosecha coincide con la entrada del invierno, el árbol no presentó crecimiento durante el primer mes, esto debido a las bajas temperaturas que oscilaron entre 9.5-10.5 °C como mínima y de 32.5-35.5 °C como máxima. Por lo tanto, la tercera cosecha no presentó diferencia significativa entre los tratamientos. El crecimiento muestra que los datos asemejan una regresión polinomial de segundo grado debido al crecimiento lento. La altura promedio para realizar el corte se alcanzó hasta los 117 días. El árbol requirió 40 días más para alcanzar la altura promedio para el corte en comparación con la segunda cosecha y 51 días más en comparación con la primera cosecha. En esta última cosecha se presentaron las primeras floraciones (2%). La plaga que se presentó en el desarrollo del experimento fue presencia de *Tetranychus urticae*.

Variables agronómicas

De las variables agronómicas evaluadas, el diámetro de tallo presenta diferencia significativa entre los tratamientos en la segunda y tercera cosecha (Cuadro 3). Los tratamientos que mayor diámetro de tallo obtuvieron fueron T1: *Bacillus paralicheniformis* y T4: *Pseudomonas lini*, estadísticamente son iguales. Después de la primera cosecha inicia el crecimiento nuevamente, el tallo principal de 0.25 cm de alto presenta rebrotes o tallos secundarios. El número de tallos secundarios varían, en el experimento se presentaron hasta 8 rebrotes, pero solo de 1 a 4 se desarrollan satisfactoriamente. Lo mismo sucedió después de la tercera cosecha.

Cuadro 3: Medias para las variable diámetro de tallo (DT), número de tallos (NoT), número de hojas (NoH), tamaño de hojas (TH) y peso de raíz (PR), en la evaluación de *M. oleifera*

Tratamiento	Primera cosecha									
	DT (cm)		NoT		NoH		TH (cm)		PR (g)	
T1	1.413	a	1.00	a	14.56	a	41.75	a		
T2	1.363	a	1.00	a	14.88	a	41.72	a		
T3	1.381	a	1.00	a	14.31	a	41.66	a		
T4	1.450	a	1.00	a	14.13	a	43.69	a		
Te	1.394	a	1.00	a	14.19	a	42.59	a		
Segunda cosecha										
T1	2.110	a	1.85	a	11.90	a	40.95	a		
T2	1.915	b	1.65	a	11.70	a	42.45	a		
T3	1.915	b	1.65	a	11.35	a	37.25	b		
T4	2.015	ab	1.60	a	11.65	a	42.75	a		
Te	1.930	b	1.60	a	11.50	a	43.00	a		
Tercera cosecha										
T1	2.440	a	2.85	a	14.60	a	34.05	a	220.35	b
T2	2.230	bc	3.35	a	14.65	a	33.20	a	178.90	bc
T3	2.195	c	2.80	a	16.40	a	33.85	a	159.10	c
T4	2.355	ab	2.75	a	15.00	a	36.50	a	341.50	a
Te	2.190	c	2.70	a	11.65	b	36.35	a	156.10	c

T1= *Bacillus paralicheniformis*, T2= *Acinetobacter guillouiae*, T3= *Aeromonas caviae*, T4= *Pseudomonas lini*, Te= sin bacteria.

^{ab} Diferente letra indica diferencia significativa entre tratamientos ($P < 0.05$).

La raíz de la *M. oleifera* es tipo bulbo. El peso de la raíz recabado en la tercera cosecha presenta diferencia significativa entre los tratamientos, siendo el T4: *Pseudomonas lini* el que presenta el mayor peso con 341.54 g.

En la tercera cosecha el número de hojas entre los tratamientos son estadísticamente iguales pero superior al control. El tratamiento T3: *Aeromonas caviae* y T4: *Pseudomonas lini* presentan el mayor número de hojas 16.4 y 15 hojas respectivamente.

El tamaño de las hojas en los árboles no se ve afectado por los tratamientos aplicados para ninguna de las tres cosechas. El tamaño de hoja presenta un decremento conforme pasan los cortes. Las longitudes del tratamiento T4: *Pseudomonas lini* son 43.69, 42.75 y 36.50 para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente.

El rendimiento promedio de materia fresca en hoja fue de 9.44 t ha⁻¹ y en materia seca de 4.86 t. El rendimiento promedio de materia fresca en tallo fue de 25.08 t y en materia seca de 7.08 t. El rendimiento no fue afectado por los tratamientos aplicados (Cuadro 4).

Cuadro 4: Medias para la variable rendimiento (t ha⁻¹) la evaluación de *M. oleifera* inoculada con cuatro PGPR para la primera, segunda y tercera cosecha

	Primea cosecha		Segunda cosecha		Tercera cosecha		Total	
	RH	RT	RH	RT	RH	RT	RH	RT
Materia fresca								
T1	2.68	9.06	3.47	9.08	3.64	8.20	9.79	26.34
T2	2.58	9.10	3.30	7.95	3.66	7.14	9.54	24.19
T3	2.59	9.07	2.80	6.26	3.51	6.37	8.90	21.70
T4	2.52	10.04	3.19	8.73	3.83	8.53	9.54	27.30
Te	2.61	9.10	3.50	8.85	3.31	7.92	9.42	25.87
Materia seca								
T1	1.40	2.49	2.04	2.79	1.43	2.01	4.87	7.29
T2	1.36	2.46	2.04	2.60	1.41	1.82	4.81	6.88
T3	1.39	2.50	1.95	2.40	1.41	1.72	4.75	6.62
T4	1.41	2.64	2.06	2.75	1.49	2.03	4.96	7.42
Te	1.47	2.54	2.07	2.74	1.39	1.90	4.93	7.18

T1= *Bacillus paralicheniformis*, T2= *Acinetobacter guillouiae*, T3= *Aeromonas caviae*, T4= *Pseudomonas lini*, Te= sin bacteria; RH= rendimiento en hoja; RT= rendimiento en tallo.

($P > 0.05$).

La relación hoja/tallo muestra un aumento conforme aumentan las cosechas. El promedio de la relación hoja/tallo de la primera cosecha fue de 0.556, en la segunda y tercera cosecha fue de 0.768 y 0.754, respectivamente. El porcentaje de hoja promedio fue de 35.72, 43.40 y 42.96 % para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente. El Cuadro 5 muestra la relación hoja/tallo y el porcentaje de hoja que presentó el árbol, estas variables no fueron afectadas por los tratamientos.

Cuadro 5: Relación hoja/tallo y porcentaje de hoja en la evaluación de *M. oleifera* inoculada con cuatro PGPR en cada una de las tres cosechas

	Relación hoja/tallo	Porcentaje de hoja
Primer corte		
T1	0.561	35.9
T2	0.552	35.5
T3	0.555	35.7
T4	0.534	34.8
Te	0.580	36.7
Segundo corte		
T1	0.731	42.2
T2	0.787	44.0
T3	0.813	44.8
T4	0.751	42.9
Te	0.757	43.1
Tercer corte		
T1	0.709	41.5
T2	0.775	43.7
T3	0.822	45.1
T4	0.734	42.3
Te	0.731	42.2

T1= *Bacillus paralicheniformis*, T2= *Acinetobacter guillouiae*, T3= *Aeromonas caviae*, T4= *Pseudomonas lini*, Te= sin bacteria.
($P>0.05$).

Variables bromatológicas

Aunque la composición química del árbol se realizó únicamente en la última cosecha los valores obtenidos son muy buenos. En promedio se obtuvo en hojas el 13.57 % de cenizas, 70.15 % de TND, 93.16 % de DIVMS, 19.72 % de FDN, 25.35 % de FDA y un 24.15 % de PC. En tallo los promedios obtenidos fueron 11.21 % de cenizas, 45.32 % de TND, 61.83 % de DVMS, 59.07 % de FDN, 58.01 % de FDA y 7.23 % de PC. El Cuadro 6 presenta el conjunto de variables bromatológicas analizadas para cada uno de los tratamientos.

Cuadro 6: Medias por tratamiento de los análisis bromatológicos expresados en porcentaje

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	Te
Hoja					
MF	74.01	74.87	73.22	73.62	73.23
MS	25.99	25.13	26.78	26.38	26.77
Cenizas	13.55	14.55	13.78	12.89	13.07
Grasa	4.49	4.70	4.77	4.92	4.29
FDN	19.26	20.24	20.09	19.33	19.70
FDA	24.77	24.06	25.53	26.39	26.01
FC	9.70	9.33	9.61	9.12	9.05
PC	23.79	24.45	23.46	23.57	25.49
ELN	22.48	21.84	21.61	23.11	21.33
CNF	38.91	36.06	37.91	39.28	37.45
DIVMS	94.89	91.70	93.49	93.98	91.76
EN _L	0.737	0.746	0.727	0.717	0.722
TND	70.53	70.99	70.02	69.46	69.71
Tallo					
MF	81.78	82.76	81.71	82.82	82.72
MS	18.22	17.24	18.29	17.18	17.28
Cenizas	11.21	11.47	11.07	10.68	11.63
Grasa	2.02	1.99	1.95	1.74	1.61
FDN	58.62	56.77	58.27	60.94	60.75
FDA	60.71	57.99	67.94	64.66	63.95
FC	37.62	38.67	38.06	39.18	41.36
PC	7.49	7.00	7.28	6.84	7.55
ELN	23.44	23.64	23.37	24.38	20.57
CNF	20.66	22.79	21.44	19.82	18.46
DIVMS	60.38	65.38	61.90	60.86	60.65
EN _L	0.291	0.325	0.202	0.242	0.251
TND	46.87	48.66	42.10	44.26	44.73

T1= *Bacillus paralicheniformis*, T2= *Acinetobacter guillouiae*, T3= *Aeromonas caviae*, T4= *Pseudomonas lini*, Te= sin bacteria.

Materia fresca (MF), Materia seca (MS), Fibra detergente neutra (FDN), Fibra detergente ácida (FDA), Fibra cruda (FC), Proteína cruda (PC), Extracto libre de nitrógeno (ELN), Carbohidratos no fibrosos (CNF), Digestibilidad *in vitro* de materia seca (DIVMS), Energía neta de lactancia (EN_L), Total de nutrientes digestibles (TND).

($P>0.05$)

Discusión

Crecimiento

En la etapa de germinación de *M. olerifera* se obtuvo un 100 % utilizando la siembra directa en las bolsas, teniendo en el sustrato una conductividad eléctrica (CE) de 12.77 mS/cm. Esto concuerda con lo obtenido por Noreem *et al*⁽²¹⁾ que encontraron que las semillas de *M. olerifera* germinan solamente a 5 y 10 dS/m de niveles de salinidad, a CE más altas de 15 y 20 dS/m no se presenta la germinación. El crecimiento promedio de los árboles de *M. olerifera* obtenidos entre los 4 tratamientos y el control del experimento para la primera, segunda y tercera cosecha son los siguientes, 176.75 cm, 140.39 cm y 120.50 cm respectivamente. Los tiempos transcurridos para cada cosecha fueron a los 66, 77 y 117 dds respectivamente. En un estudio comparativo, en condiciones similares a este experimento, de *Moringa oleifera* y *Leucaena leucocephala* durante la germinación y la etapa inicial de crecimiento, obtuvieron un 95% de germinación, a las 13 semanas una altura de 53.2 cm a los 91 días, utilizando en el sustrato 60 % de suelo franco-limoso alcalino, 10 % de arena y 20 % de estiércol bovino compostado⁽²²⁾. Las PGPR halófilas inoculadas en los árboles de *M. olerifera*, permitieron que el crecimiento se diera satisfactoriamente. El T4 presentó una altura significativa entre los tratamientos de 138.31 cm a los 47 dds, lo que representa un incremento del 61.68 % a lo obtenido por los autores anteriores y en la mitad del tiempo.

La *M. olerifera* tiene una tasa de crecimiento inicial lenta en condiciones de bajas temperaturas en la temporada de otoño-invierno⁽²³⁾. Los climas tropicales parecen ser los mejores para el cultivo de *M. olerifera*; aún así se puede lograr un crecimiento reducido pero satisfactorio en climas inferiores a los óptimos, ya que los árboles parecen tolerar una temperatura de crecimiento más baja mediante adaptaciones fisiológicas⁽²⁴⁾. Lo dicho por los autores concuerda con lo obtenido en este experimento. Es evidente que el crecimiento del árbol de *M. olerifera* es afectado al disminuir las temperaturas y al ataque de *T. urticae*. Sin embargo, el crecimiento siguió.

Variables agronómicas

La calidad nutritiva de la *M. olerifera* está determinada en parte por las condiciones en las que se desarrolle. Las temperaturas bajas retardan su crecimiento⁽²²⁾. La densidad de siembra afecta el desarrollo de las raíces, el diámetro de tallo y la biomasa. A mayores densidades de siembra los diámetros de tallo del árbol son más delgados y frágiles⁽²⁵⁾. En este experimento

la siembra fue en bolsas negras de polietileno con una densidad de 16 árboles m^{-2} , donde no se esperaría ninguna de las alteraciones indicadas por los autores anteriores. Al utilizar menores densidades de siembra, resulta favorable cosechar a mayores alturas, con tallos de mayor diámetro y mayor número de rebrotes⁽²⁶⁾.

Sin embargo, en la Figura 2 se muestra el acame que presentó el tratamiento testigo antes de la tercera cosecha. Esto debido a los diámetros delgados de los tallos y a la saturación de salinidad por el constante riego con el té de compost que presentó una CE de 3.27 mS/cm. Se puede decir que la inoculación con las PGPR halófilas dan mayor firmeza y grosor a los tallos proporcionándoles resistencia. En un estudio comparativo de la germinación y la etapa inicial de crecimiento obtuvieron resultados de 0.92 cm de diámetro a las 7 semanas resultados que estan por debajo de los obtenidos en este experimento. El número de hojas obtenidos por rama fue de 16, similar a los obtenidos en este experimento⁽²¹⁾. Lo que ocasiona los tallos delgados son las altas concentraciones de Na^+ en la solución que inhibe la absorción de nutrientes, causando una disminución en las concentraciones de K^+ y Ca^{2+} en los tejidos de los tallos y la raíz⁽²⁷⁾. La raíz es parte fundamental para el desarrollo de las plantas. Una raíz bien desarrollada puede obtener mayores nutrimentos, así como el Ca^{2+} es lo que da firmeza y estructura a la pared celular. Las PGPR halófilas permiten la absorción de nutrientes en medios salinos, sin causar desordenes nutrimentales al paso de las cosechas. El tamaño de hoja en el experimento presenta un decremento con el paso de los cosechas y con ello el cambio de estación y las temperaturas. Estos cambios ocasionan la pérdida de las hojas basales, lo que repercute en el rendimiento. El Cuadro 4 muestra los rendimientos del árbol de *M. oleifera* considerando 16 árboles m^{-2} . Las investigaciones realizadas por la mayoría de los autores son a cielo abierto, algunas otras en invernadero o vivero pero solamente a nivel germinación y plántula. En una investigación realizada a cielo abierto en el noreste de México, se obtuvieron 14.4 y 14.5 $t ha^{-1}$ de materia seca total en tres cosechas pero con una densidad de 11 y 33 árboles m^{-2} respectivamente⁽²⁸⁾. En Nicaragua se evaluó la producción de biomasa a cielo abierto con diferentes densidades de siembra de la cual obtuvieron una producción de MS de 11.6 $t ha^{-1}$ al año, con una densidad de 100,000 árboles por hectárea y ocho cosechas por año⁽³⁾. Un estudio sobre el establecimiento de *M. oleifera* con varias densidades de plantas a cielo abierto, consiguieron 100.98 g de MS con una densidad de 98,764 árboles por hectárea⁽²⁴⁾.

Figura 2: Acame de los tallos de *Moringa oleifera* debido a diámetros delgados en el tratamiento **Te**: Sin bacteria, en el período de la segunda a la tercera cosecha (117 días) 2016-2017



Las hojas del árbol de *M. oleifera* son las que contienen la mayor cantidad de nutrimentos aprovechables. Los tallos proporcionan nutrimentos en menor cantidad. La relación hoja/tallo presentada en el Cuadro 5 nos muestra la proporción de gramos de hoja en MS por cada gramo de tallo. Se puede observar que en la segunda cosecha aumentó la proporción en promedio 0.22 g de hoja. Esto atribuible al número de tallos. En la segunda y tercera cosecha la proporción se mantiene con valores similares. En el estudio realizado en el noreste de México, se observa que la relación tallo/hoja baja en la segunda cosecha y se incrementa en la tercera cosecha⁽²⁷⁾. El objetivo de producir un buen forraje en este tipo de arboles es obtener la mayor cantidad de hojas y la menor cantidad de tallos.

Variables bromatológicas

Los forrajes son sensibles a la salinidad en diferente grado. A medida que la salinidad aumenta se reduce su biomasa⁽¹⁰⁾. El análisis bromatológico realizado a los árboles de *M. oleifera* (Cuadro 6), muestra que el contenido nutrimental es bueno, es decir, a pesar de desarrollarse en un sustrato salino la calidad del forraje no decayó. Aun y cuando no se muestra una diferencia entre los tratamientos se especula que en el cuarto corte el tratamiento

testigo reduciría su calidad y biomasa debido a la saturación de salinidad. En un estudio sobre la composición química de las hojas de *M. oleifera* sembrada a una altitud de 1100 msnm, obtuvieron un contenido de ceniza de 13.3 %, 29 % de PC, 8.5 % de fibra cruda (FC), 42.7 % de extracto libre de nitrógeno (ELN), 16.8 % de FDN, 12.1 % de FDA y 34.5 % de carbohidratos no fibrosos (CNF)⁽²⁹⁾. Los datos obtenidos por estos autores son muy similares a los obtenidos en esta investigación y a una altitud similar.

La caracterización bromatológica del follaje de *M. oleifera* realizada en diferentes estadios de desarrollo, sin riego ni fertilización; determinó que a medida que se incrementa la edad de rebrote disminuye su calidad nutrimental. La cantidad de FDN y lignina detergente ácida aumentan; la PC, DIVMS y TND disminuyen⁽³⁰⁾. Situación que no se presentó en esta investigación. En las distintas investigaciones sobre *M. oleifera*, se han encontrado diversos resultados en cuanto a los análisis bromatológicos pero las variaciones son debido a las distintas condiciones bajo las que se produce el árbol.

Además se ha tratado de determinar el tiempo óptimo de corte de *M. oleifera* en el cual se obtenga la mayor calidad del forraje. Se evaluó la producción de *M. oleifera* a campo abierto y de temporal con diferentes densidades y fechas de corte, así como su composición química y recomiendan cosechar la *M. oleifera* a intervalos de 75 días para obtener mayor calidad del forraje y un mayor rendimiento de MS, dado que el valor nutritivo del forraje de *M. oleifera* en términos de PC y DIVMS permanece constante a diferentes intervalos de la cosecha. En el primer año con 8 cosechas obtuvieron 18.54 % de MS, 8.58 % de cenizas, 32.12 % de FDN, 22.76 % de FDA, 22.63 % de PC, 70.09 % de DIVMS⁽³¹⁾.

Se ha utilizado la *M. oleifera* como un suplemento proteico alternativo. Se han alimentado diversas especies animales bovinas y caprinas, con diferentes porcentajes de *M. oleifera* en combinación con diversos forrajes y concentrados^(2,32-34). El suministro de este suplemento proteico puede ser en fresco o ensilado. La composición química no tiene mucha variación. Suministrando *M. oleifera* en fresco se encontró 19.3 % de MS, 24.10 % de PC, 45.3 % de FDN, 29.9 % de FDA y 10.3 % de ceniza, mientras que en *M. oleifera* ensilada se obtuvo 26.70 % de MS, 22.6 % de PC, 43.50 % de FDN, 29.10 % de FDA y 11.6 % de cenizas. La diferencia considerable entre estas dos formas de suplemento es el sabor fuerte que proporciona la *M. oleifera* en fresco a la leche, al proporcionarla ensilada no cambian las características organolépticas de la leche⁽⁶⁾. Los resultados obtenidos en esta investigación cumplen con los parámetros requeridos en un forraje para ser incluido en la formulación de una dieta balanceada (Cuadro 6). La PC y la DIVMS son valores indicativos de un buen forraje, (24.15 y 93.16 % respectivamente) obtenidos en esta investigación. Como ya se mencionó a mayor porcentaje de DIVMS menor contenido de lignina. El alto porcentaje de DIVMS nos indica que el consumo de MS en los animales se incrementará. Las investigaciones anteriores nos muestran que el forraje contiene en promedio los elementos requeridos para beneficiar a los animales que la ingieren. Aun y produciendo dicho forraje

en condiciones salinas inoculado con PGPR halófilas necesarias para que se desarrolle, se puede obtener un forraje de calidad como el obtenido en este experimento.

Conclusiones e implicaciones

Los resultados de este estudio muestran que *M. oleifera* producida bajo condiciones salinas pero inoculada con PGPR halófilas no incrementa la calidad del forraje y mantiene las características de calidad para ser incluido como suplemento proteico en la alimentación de diversas especies animales. El tratamiento testigo mostró una resistencia sistémica a la salinidad, sin embargo, antes del tercer corte presentó el acame de tallos. Se debe continuar la investigación con las PGPR halófilas en diferentes suelos con problemas de salinidad e inoculadas a distintos forrajes y se podría sembrar en lugares que se creen incultivables.

Literatura citada:

1. Hoffmann EM, Muetzel S, Becker K. Effects of *Moringa oleifera* seed extract on rumen fermentation *in vitro*. Arch Anim Nutr 2003;57(1):65-81.
2. Mendieta-Araica B, Spörndly R, Reyes-Sánchez N, Spörndly E. Moringa (*Moringa oleifera*) leaf meal as a source of protein in locally produced concentrates for dairy cows fed low protein diets in tropical areas. Livest Sci 2011;137(1):10-17.
3. Mendieta-Araica B, Spörndly E, Reyes-Sánchez N, Salmerón-Miranda F, Halling M. Biomass production and chemical composition of *Moringa oleifera* under different planting densities and levels of nitrogen fertilization. Agrofor Syst 2013;87(1):81-92.
4. Pérez ÁR. *Moringa oleifera*: una alternativa forrajera para ovinos. Culiacán, Sin, Méx: Universidad Autónoma de Sinaloa; 2011.
5. García QII, Mora-Delgado J, Estrada AJ, Piñeros VR. ¿Cuál es el efecto de la *Moringa oleifera* sobre la Dinámica Ruminal? Revisión sistemática. Rev Inv Vet Perú 2017;28(1):43-55.
6. Mendieta-Araica B, Spörndly E, Reyes-Sanchez N, Spörndly R. Feeding *Moringa oleifera* fresh or ensiled to dairy cows - effects on milk yield and milk flavor. Trop Anim Health Prod 2011;43(5):1039-1047.
7. Sun J, Zeng B, Chen Z, Yan S, Huang W, Sun B *et al*. Characterization of faecal microbial communities of dairy cows fed diets containing ensiled *Moringa oleifera* fodder. Sci Rep 2017;7:1-9.

8. Galindo PFV, Hernández MF, Rangel PP, Valencia RT, Castruita MÁS, Vidal JAO. Caracterización físico-química de sustratos orgánicos para producción de pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo sistema protegido. Rev Mex Cienc Agríc 2014;5(7):1219-1232.
9. Larney FJ, Olson AF, Miller JJ, Tovell BC. Soluble salts, copper, zinc, and solids constituents in surface runoff from cattle manure compost windrows. Can J Soil Sci 2014;94(4):515-527.
10. Robinson PH, Grattan SR, Getachew G, Grieve CM, Poss JA, Suarez DL *et al.* Biomass accumulation and potential nutritive value of some forages irrigated with saline-sodic drainage water. Anim Feed Sci Technol 2004;111(1):175-189.
11. Aguirre-Garrido JF, Montiel-Lugo D, Hernández-Rodríguez C, Torres-Cortes G, Millán V, Toro N *et al.* Bacterial community structure in the rhizosphere of three cactus species from semi-arid highlands in central Mexico. Antonie van Leeuwenhoek 2012;101(4):891-904.
12. Turrall H, Burke J, Faurès JM. Climate change, water and food security. 36th ed. Roma, Italia: FAO; 2011.
13. Bhardwaj D, Ansari MW, Sahoo RK, Tuteja N. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. Microb Cell Fact 2014;13(66):1-10.
14. Ahemad M, Kibret M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. J King Saud Univ Sci 2013;26(1):1-20.
15. Glick BR. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Scientifica 2012;2012:1-15
16. Parray JA, Jan S, Kamili AN, Qadri RA, Egamberdieva D, Ahmad P. Current perspectives on plant growth-promoting rhizobacteria. J Plant Growth Regul 2016;35(3):877-902.
17. Palacio-Rodríguez R, Coria-Arellano JL, López-Bucio J, Sánchez-Salas J, Muro-Pérez G, Castañeda-Gaytán G *et al.* Halophilic rhizobacteria from *Distichlis spicata* promote growth and improve salt tolerance in heterologous plant hosts. Symbiosis 2017;73(3):179-189.
18. Vázquez VC, Salazar SE, Fortis HM, Reyes OMI, Zúñiga TR, Antonio GJ. Uso de cubiertas plásticas para solarización de estiércol bovino. Rev Mex Cienc Agríc 2010;1(4):619-625.

19. AOAC. Official methods of analysis. 15th ed. Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists. 1990.
20. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 1991;74(10):3583-3597.
21. Noreen F, Muhammad A, Muhammad S, Ghulam A, Mubshar H, Muhammad N *et al.* Germination, growth and ions uptake of moringa (*Moringa oleifera* L.) grown under saline condition. *J Plant Nutr* 2018;41(12):1-11.
22. Medina MG, García DE, Clavero T, Iglesias JM. Estudio comparativo de *Moringa oleifera* y *Leucaena leucocephala* durante la germinación y la etapa inicial de crecimiento. *Zootecnia Trop* 2007;25(2):83-93.
23. da Costa PF, Rabello dOPS, Borsoi A, Soares dVE, Taffarel LE, Tiago PJ *et al.* Initial growth of *Moringa oleifera* Lam. under different planting densities in autumn/winter in south Brazil. *Afr J Agric Res* 2015;10(5):394-398.
24. Muhl QE, Du Toit ES, Robbertse PJ. *Moringa oleifera* (Horseradish Tree) leaf adaptation to temperature regimes. *Int J Agric Biol* 2011;13(6):1021-1024.
25. Goss M. A study of the initial establishment of multi - purpose moringa (*Moringa oleifera* Lam) at various plant densities, their effect on biomass accumulation and leaf yield when grown as vegetable. *Afr J Plant Sci* 2012;6(3):125-129.
26. Padilla C, Fraga N, Scull I, Tuero R, Sarduy L. Efecto de la altura de corte en indicadores de la producción de forraje de *Moringa oleifera* vc. Plain. *Rev Cubana de Cienc Agríc* 2014;48(4):405-409.
27. Hu Y, Schmidhalter U. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *J Plant Nutr Soil Sci* 2005;168:541-549.
28. Meza-Carranco Z, Bernal-Barragán H, Olivares-Sáenz E, Aranda-Ruiz J. Crecimiento y producción de biomasa de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) bajo las condiciones climáticas del Noreste de México. *TECNOCIENCIA Chih* 2016;10(3):143-153.
29. Melesse A, Steingass H, Boguhn J, Rodehutschord M. In vitro fermentation characteristics and effective utilisable crude protein in leaves and green pods of *Moringa stenopetala* and *Moringa oleifera* cultivated at low and mid-altitudes. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2013;97(3):537-546.
30. Méndez Y, Suárez FO, Verdecia DM, Herrera RS, Labrada JA, Murillo B *et al.* Caracterización bromatológica del follaje de *Moringa oleifera* en diferentes estadios de desarrollo. *Cuban J Agric Sci* 2018;53(3):1-10.

31. Reyes SN, Ledin S, Ledin I. Biomass production and chemical composition of *Moringa oleifera* under different management regimes in Nicaragua. *Agrofor Syst* 2006;66(3):231-242.
32. Moyo B, Masika PJ, Muchenje V. Effect of supplementing crossbred Xhosa lop-eared goat castrates with *Moringa oleifera* leaves on growth performance, carcass and non-carcass characteristics. *Trop Anim Health Prod* 2012;44(4):801-809.
33. Reyes SN, Spörndly E, Ledin I. Effect of feeding different levels of foliage of *Moringa oleifera* to creole dairy cows on intake, digestibility, milk production and composition. *Livest Sci* 2006;101(1):24-31.
34. Sultana N, Alimon AR, Huque KS, Sazili AQ, Yaakub H, Hossain J *et al.* The feeding value of moringa (*Moringa oleifera*) foliage as replacement to conventional concentrate diet in Bengal goats. *Adv Anim Vet Sci* 2015;3(3):164-173.