

## Inoculation of substrate with lactic acid bacteria for the development of *Moringa oleifera* Lam plantlets

## Inoculación de sustrato con bacterias ácido lácticas para el desarrollo de plántulas de *Moringa oleifera* Lam

J. Ma. Anguiano Soto<sup>1</sup>, J. Anguiano Cárdenas<sup>2</sup> and J.M. Palma García<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (FCBA), Universidad de Colima, Autopista Colima-Manzanillo km 40, Crucero de Tecomán. Tecomán, Col. México

<sup>2</sup>Consultor Privado

<sup>3</sup>Centro Universitario de Investigación y Desarrollo Agropecuario-Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (CUIDA-FMVZ), Av. Gonzalo de Sandoval # 444, Colonia Las Víboras, Colima, México. CP 28045

Email: palma@ucol.mx

The objective of this study was to evaluate the inoculation of substrate with lactic acid bacteria in the development of *Moringa oleifera* Lam plantlets. For the production of lactic acid bacteria (LAB) three treatments with ferments of ripe tropical fruits were established: *Musa spp.* (banana LABB), *Cucurbita pepo* L. (pumpkin LABP) and *Carica papaya* L. (papaya LABP) and a control treatment. The application of these treatments was carried out in three moments of the *Moringa oleifera* development: to the sowing, with the first true leaves and ten days after this stage. The obtained results showed emergence percentages of 67, 61 and 61 % vs 34 % for LABP, LABP, LABB vs control, also at plant height ( $P < 0.001$ ) and fresh weight ( $P < 0.001$ ) and dry weight ( $P < 0.001$ ). The higher values were obtained for the treatments with ALBP with respect to the control. However, the root length was higher in LABP and LABB with respect to the rest of treatments ( $P < 0.001$ ). In the number of leaves, a positive effect was obtained initially, favoring the use of LAB with respect to the control ( $P < 0.001$ ), with no statistical effect on insertion of the first branch ( $P > 0.05$ ). It is concluded that the use of inoculum of lactic bacteria from the fermentation with pumpkin, banana and papaya resulted in an ecotechnology that promotes the emergence and development of *Moringa oleifera* plantlets.

Key words: *forage, growth, nursery, LAB, trees*

The use of beneficial microorganisms in agriculture is considered an element that favors the relation soil-root-microbiota, with effect in the stimulation of growth and development of plants, by its free or symbiotic association against pathogenic microorganisms (Ferrera-Cerrato *et al.* 2006), among them bacteria (El-Mabrok *et al.* 2012) and fungi (Zebboudj *et al.* 2014).

It has recently been suggested that the use of lactic acid bacteria (*Lactobacillus*), organisms that allow the return of contaminated and degraded edaphic media to better natural conditions, favors the humification process of organic matter and helps to control soil pathogenic fungi (Rodríguez 2009).

In the case of tree species, developed under nursery conditions, no studies are known that integrate the inoculation of lactic acid bacteria (LAB) on the substrate in which they are developed and allow the obtaining of an ecotechnology of organic type, sustainable and environmentally friendly. Therefore, the objective of this

El objetivo de este estudio fue evaluar la inoculación de sustrato con bacterias ácido lácticas en el desarrollo de plántulas de *Moringa oleifera* Lam. Para la producción de las bacterias ácido lácticas (BAL) se establecieron tres tratamientos con fermentos de frutas maduras tropicales: *Musa spp.* (banano BALB), *Cucurbita pepo* L. (calabaza BALC) y *Carica papaya* L. (papaya BALP) y un tratamiento control. La aplicación de estos tratamientos se realizó en tres momentos del desarrollo de *Moringa oleifera*: a la siembra, con las primeras hojas verdaderas y diez días posteriores a esta etapa. Los resultados obtenidos mostraron porcentajes de emergencia de 67, 61 y 61 % vs 34 % para BALP, BALC, BALB vs control, también en la altura de planta ( $P < 0.001$ ) y el peso fresco ( $P < 0.001$ ) y seco ( $P < 0.001$ ). Los mayores valores se obtuvieron para los tratamientos con BALC con respecto al testigo. Sin embargo, el largo de raíz fue mayor en BALP y BALB con respecto al resto de los tratamientos ( $P < 0.001$ ). En el número de hojas se obtuvo efecto positivo en forma inicial, favorable al uso de BAL con respecto al testigo ( $P < 0.001$ ), sin efecto estadístico en inserción de la primera rama ( $P > 0.05$ ). Se concluye que el uso de inóculo de bacterias lácticas a partir de la fermentación con calabaza, banano y papaya resultó en una ecotecnia que promueve la emergencia y el desarrollo de plántulas de *Moringa oleifera*.

Palabras clave: *forraje, crecimiento, vivero, BAL, árboles*

La utilización de microorganismos benéficos en la agricultura se considera un elemento que favorece la relación suelo-raíz-microbiota, con efecto en la estimulación del crecimiento y desarrollo de las plantas, por su asociación libre o simbiótica contra microorganismos patógenos (Ferrera-Cerrato *et al.* 2006), entre ellos bacterias (El-Mabrok *et al.* 2012) y hongos (Zebboudj *et al.* 2014).

Recientemente se ha planteado que el uso de bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus*), organismos que posibilitan el retorno de un medio edáfico contaminado y degradado hacia mejores condiciones naturales, favorece el proceso de humificación de la materia orgánica y ayuda al control de hongos patógenos del suelo (Rodríguez 2009).

En el caso de especies arbóreas, desarrolladas en condiciones de vivero, no se conocen estudios que integren la inoculación de bacterias ácido láctico (BAL) sobre el sustrato en el que se desarrollan y que permitan la obtención de una ecotecnia de tipo orgánico, sustentable

study was to evaluate the effect of inoculation of lactic acid bacteria on the substrate for *Moringa oleifera* Lam plantlets development.

### Materials and Methods

The research was carried out at Colima city, Mexico, under nursery conditions, at the geographical coordinates 19 ° 24'55.05 " NL and 103 ° 74'09.09 " WL, at an altitude of 433 m o.s.l, an average annual temperature of 25.5 ° C and average precipitation of 885 mm (INEGI 2014).

Copper block plastic trays of 50 cavities (170 cm<sup>3</sup> each) were used on a surface of 40 m<sup>2</sup>, covered with monofilament shade mesh that provides 50% of shade on plastic tray stands, of 0.5 m high and 2 m wide. Irrigation was manual and daily until reaching saturation point.

The study consisted in the development of ferments of lactic acid bacteria (LAB) in three substrates of tropical ripe fruits: banana (*Musa spp.*), Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) and papaya (*Carica papaya* L.) as recommended by Jensen *et al.* (2006) by high osmotic pressure. It was considered a time of seven days. The substrate was enriched with milk whey and natural yogurt. The mixture was preserved for three days prior to application to the substrate.

Later the sowing of *Moringa oleifera* in the trays began. For this, a substrate which consisted of a mixture of peat and fertile soil was used. The sowing consisted of one seed per cavity, deposited at 2 cm depth, without any pregerminative treatment. Before the experiment the germination percentage was determined, which was 95% for this tree species. The variety is of unknown origin, although this material has a history of rapid growth and germination higher than 90 % (Pérez 2010).

The studied treatments were four: T1 - control, T2 - LAB banana (LABB), T3 - LAB pumpkin (LABP) and T4 - LAB papaya (LABP).

Three inoculations of the different treatments with LAB were performed. In the first, the seeds were inoculated with each of the lactoferments, at a rate of 1 mL/100g of seed (Wenzl 2006). The second application of LAB occurred when plantlets obtained their two true leaves, with doses of 20 mL/L water (Jensen *et al.* 2006) and the third, 10 d after the second.

The variables to be measured were: emergence (%), height of insertion of the first leaf (cm), plant height (cm), leaves (number), total fresh weight (g), total dry weight (g), root dry weight (g), stem dry weight (g), dry weight of edible material (g). The evaluation was performed every four days for 30 d after the emission of the true leaves (Toral 2005). The emergence percentage was determined according to Ede *et al.* (2015):

$$\text{Emergence} = \frac{\text{Number of emerged seeds}}{\text{Total of sowed seeds}} * 100$$

y amigable con el ambiente. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de inoculación de bacterias ácido láctico en el sustrato para el desarrollo de plántulas de *Moringa oleifera* Lam.

### Materiales y Métodos

La investigación se realizó en la ciudad de Colima, México, en condiciones de vivero, en las coordenadas geográficas 19°24'55.05" LN y 103°74'09.09" LO, a altitud de 433 msnm, temperatura media anual de 25.5°C y precipitación media de 885 mm (INEGI 2014).

Se utilizaron bandejas de plástico tipo Copperblock de 50 cavidades (170 cm<sup>3</sup> c/u) en una superficie de 40 m<sup>2</sup>, cubierta con malla-sombra de monofilamentos que aporta 50 % de sombra sobre mesas porta-bandejas de plástico, de 0.5 m de altura y 2 m de ancho. El riego fue manual y diario hasta alcanzar punto de saturación.

El trabajo consistió en el desarrollo de fermentos de bacterias ácido lácticas (BAL) en tres sustratos de frutas maduras tropicales: banano (*Musa spp.*), calabaza (*Cucurbita pepo* L.) y papaya (*Carica papaya* L.) según lo recomendado por Jensen *et al.* (2006) mediante alta presión osmótica. Se consideró un tiempo de siete días. El sustrato se enriqueció con suero de leche y yogurt natural. La mezcla se conservó durante tres días antes de la aplicación al sustrato.

Posteriormente se inició la siembra de *Moringa oleifera* en las bandejas. Para ello se utilizó un sustrato que consistió en una mezcla de turba y suelo fértil. La siembra consistió en una semilla por cavidad, depositada a 2 cm de profundidad, sin ningún tratamiento pregerminativo. Antes del experimento se determinó el porcentaje de germinación, que fue 95 % para esta especie arbórea. La variedad es de procedencia desconocida, aunque este material tiene antecedentes de rápido crecimiento y germinación superiores al 90 % (Pérez 2010).

Los tratamientos estudiados fueron cuatro: T1 - control, T2 - BAL banano (BALB), T3 - BAL calabaza (BALC) y T4 - BAL papaya (BALP).

Se realizaron tres inoculaciones de los diferentes tratamientos con BAL. En la primera se inocularon las semillas con cada uno de los lactofermentos, a razón de 1 mL/100 g de semilla (Wenzl 2006). La segunda aplicación de las BAL tuvo lugar cuando las plántulas obtuvieron sus dos hojas verdaderas, con dosis de 20 mL/L agua (Jensen *et al.* 2006) y la tercera, 10 d posteriores a la segunda.

Las variables a medir fueron: emergencia (%), altura de inserción de primer hoja (cm), altura de planta (cm), hojas (número), peso fresco total (g), peso seco total (g), peso seco de raíz (g), peso seco de tallo (g), peso seco de material comestible (g). La evaluación se realizó cada cuatro días durante 30 d posteriores a la emisión de las hojas verdaderas (Toral 2005). El porcentaje de emergencia se determinó de acuerdo con Ede *et al.* (2015):

$$\text{Emergencia} = \frac{\text{Número de semillas emergidas}}{\text{Total de semillas sembradas}} * 100$$

The statistical analysis consisted of an analysis of variance for a completely randomized design with four replications per treatment. Ten plants from the central part were measured to avoid the border effect by repetition at five ages (15, 19, 23, 27 and 31 d). The control of fresh weight, plant dry weight and root length were performed at the end of the test at 31 d with destructive method. The Tukey test ( $P < .05$ ) was used to establish multiple differences between means (Tukey 1958). Data analysis was performed using the statistical package Statistix (Analytical Software 2003).

### Results and Discussion

Figure 1 shows the emergence percentage of *M. oleifera* plantlets with the application of LAB in different fermentation substrates. The best values were observed for papaya ferment, followed by pumpkin and banana, which practically doubled their values with respect to the control.

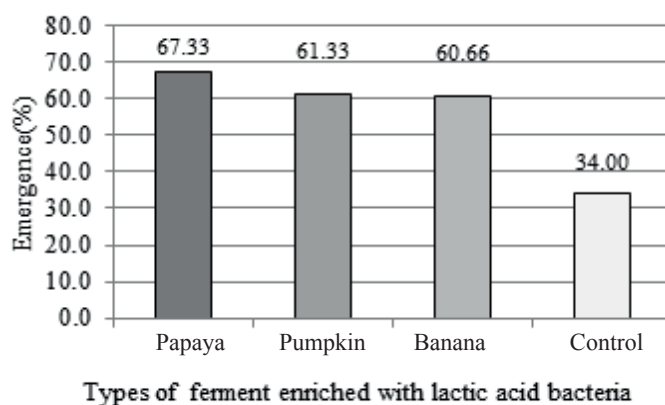


Figure 1. Percentage of emergence of *Moringa oleifera* plantlets with the application of lactic acid bacteria from different fermented substrates

The emergence percentage in the treatments with LAB resembles to that indicated by Sardiñas *et al.* (2016) in field tests performed with seed of the same origin.

It was also similar to that reported by Toral *et al.* (2013) in Cuba, who showed values between 60 and 84 %, a variation attributed to the diverse origin of the seeds. In Burkina Faso, at 12d of emerged exceeded 90 %, in nine of 12 origins, and in only one of them had 70 % of emergence. This variation is explained by the size of the seeds (Dao *et al.* 2017).

The temperature is the main factor that influences on the germination percentage and plants emergence. Recently, Navarro *et al.* (2015) showed the effect of temperature on seeds germination, with values between 67 and 71%. Similar results obtained Arellano-Rodríguez *et al.* (2016), who achieved 73 % emergence with the homeopathic application of carbonic Baryta.

The application of LAB had a favorable effect on the emergence, since practically doubled this indicator with respect to the control. Similar result was obtained in other crops, such as in chili, infected with fungi (El-Mabrok

El análisis estadístico consistió en un análisis de varianza para un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. Se midieron 10 plantas de la parte central para evitar el efecto de borde por repetición a cinco edades (15, 19, 23, 27 y 31 d). El control del peso fresco, peso seco de planta y largo de raíz se realizó al final del ensayo a los a los 31 d con método destructivo. Se utilizó la prueba de Tukey ( $P < .05$ ) para establecer diferencias múltiples entre medias (Tukey 1958). El análisis de los datos se realizó mediante el paquete estadístico Statistix (Analytical Software 2003).

### Resultados y Discusión

En la figura 1 se muestra el porcentaje de emergencia de plántulas de *M. oleifera* con la aplicación de las BAL en diferentes sustratos de fermentación. Los mejores valores se observaron para el fermento de papaya, seguidos de calabaza y banano, que prácticamente duplicaron sus valores con respecto al testigo.

El porcentaje de emergencia en los tratamientos con BAL se asemeja a lo indicado por Sardiñas *et al.* (2016) en pruebas de campo realizadas con semilla de la misma procedencia. También fue similar a lo informado por Toral *et al.* (2013) en Cuba, quienes indicaron valores entre 60 y 84 %, variación que se atribuye a la diversa procedencia de las semillas. En Burkina Faso, a los 12 d de emergidas superaron el 90 %, en nueve de doce procedencias, y solo en una de ellas tuvo 70 % de emergencia. Esta variación se explica por el tamaño de las semillas (Dao *et al.* 2017).

La temperatura es el factor principal que influye en el porcentaje de germinación y emergencia de las plantas. Recientemente, Navarro *et al.* (2015) señalaron el efecto de la temperatura en la germinación de semillas, con valores de entre 67 y 71 %. Resultados parecidos obtuvieron Arellano-Rodríguez *et al.* (2016), quienes lograron 73 % de emergencia con la aplicación homeopática de Baryta carbónica.

La aplicación de las BAL tuvo efecto favorable en la emergencia, pues prácticamente duplicó este indicador con respecto al testigo. similar resultado se logró en otros cultivos, como en el caso de chile, infectado con

*et al.* 2012) and in cucumber cultivation (Lutz *et al.* 2012).

It is possible that the low emergence value obtained in the control treatment is due to daily irrigation and that it will affect the *Moringa* emergence (Pérez 2010).

Table 1 shows the agronomic variables first leaf insertion height, plant height and number of leaves at different ages of measurement. In the insertion of the first leaf there were no statistical differences ( $P > 0.05$ ) in any of the evaluated ages. Regarding plant height, the best values in relation to the control were obtained when the LAB ( $P < 0.001$ ) were applied. The treatments with the different LAB substrates showed statistical similarities. Regarding the number of leaves, the best results were obtained with the LAB in the different substrates, with respect to the control until 23 d. After this time, there was no statistical difference.

According to the obtained results, the inoculation of lactic acid bacteria on the substrate has a positive effect on the development of the studied species. In the

hongos (El-Mabrok *et al.* 2012) y en el cultivo de pepino (Lutz *et al.* 2012).

Es posible que el bajo valor de emergencia obtenido en el tratamiento control se deba al riego diario y que afectará la emergencia de *Moringa* (Pérez 2010).

En la tabla 1 se muestran las variables agronómicas altura de inserción de primera hoja, altura de planta y número de hojas a diferentes edades de medición. En la inserción de la primera hoja no se encontraron diferencias estadísticas ( $P > 0.05$ ) en ninguna de las edades evaluadas. En lo que respecta a la altura de planta, los mejores valores en relación con el testigo se obtuvieron cuando se aplicaron las BAL ( $P < 0.001$ ). Los tratamientos con los diferentes sustratos de BAL mostraron similitudes estadísticas. En cuanto al número de hojas, los mejores resultados se lograron con las BAL en los diferentes sustratos, con respecto al testigo hasta los 23 d. Después de este tiempo, no hubo diferencia estadística.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la inoculación de bacterias ácido lácticas sobre el sustrato tiene efecto

Table 1. Agronomic variables studied with the inoculation of LAB at different ages in *Moringa oleifera*

	Age (d)	LAB				SE	P
		Pumpkin	Papaya	Banana	Control		
First branch height, cm		6.6	6.4	6.3	6.1	0.493	0.785
Plant height, cm	15	12.7 <sup>a</sup>	13.1 <sup>a</sup>	12.4 <sup>a</sup>	9.1 <sup>b</sup>	0.352	0.000
Leaves, number		5.1 <sup>a</sup>	5.0 <sup>a</sup>	5.0 <sup>a</sup>	3.6 <sup>b</sup>	0.227	0.000
First branch height, cm	19	7.7	6.9	6.8	6.3	0.686	0.251
Plant height, cm		17.5 <sup>a</sup>	17.6 <sup>a</sup>	18.1 <sup>a</sup>	12.3 <sup>b</sup>	0.332	0.000
Leaves, number		6.2 <sup>a</sup>	5.5 <sup>ab</sup>	6.1 <sup>ab</sup>	5.3 <sup>b</sup>	0.308	0.013
First branch height, cm	23	7.3	7.6	6.8	6.9	0.695	0.641
Plant height, cm		18.8 <sup>a</sup>	18.3 <sup>a</sup>	19.3 <sup>a</sup>	13.3 <sup>b</sup>	0.537	0.000
Leaves, number		5.8 <sup>ab</sup>	6.1 <sup>a</sup>	6.2 <sup>a</sup>	5.3 <sup>b</sup>	0.260	0.070
First branch height, cm	27	8.1	7.1	6.9	6.6	0.679	0.159
Plant height, cm		19.6 <sup>a</sup>	18.2 <sup>b</sup>	19.7 <sup>a</sup>	14.0 <sup>c</sup>	0.422	0.000
Leaves, number		6.2 <sup>a</sup>	6.1 <sup>a</sup>	5.7 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a</sup>	0.307	0.158
First branch height, cm	31	7.2	7.7	6.4	6.7	0.667	0.240
Plant height, cm		21.0 <sup>b</sup>	19.5 <sup>c</sup>	22.4 <sup>a</sup>	15.2 <sup>d</sup>	0.519	0.000
Leaves, number		7.4	6.5	7.1	6.6	0.368	0.062

Different letters in row show statistical difference between treatments ( $P < 0.05$ ) (Tukey 1958)

plant height variable, the inoculation of the LAB was higher with respect to the control. This agrees with that informed by Abad (2014) and Abdel-Aziz *et al.* (2014). However, it is different from that reported by Lutz *et al.* (2012), who observed this effect in cucumber, only when the plants were damaged by *Pythium*.

The results with LAB, in the case of plant height and number of leaves, were similar to those reported by Medina *et al.* (2007), and higher than those obtained by Ede *et al.* (2015), although the latter were similar to those obtained with the control. They also contrast with the low growth obtained by da Costa *et*

positivo en el desarrollo de la especie estudiada. En la variable altura de planta, la inoculación de las BAL fue mayor con respecto al testigo, Esto concuerda con lo informado por Abad (2014) y Abdel-Aziz *et al.* (2014). Sin embargo, es diferente a lo informado por Lutz *et al.* (2012), quienes observaron este efecto en pepino, solo cuando las plantas estaban dañadas por *Pythium*.

Los resultados con BAL, en el caso de altura de planta y número de hojas, fueron similares a los referidos por Medina *et al.* (2007), y mayores a los obtenidos por Ede *et al.* (2015), aunque estos últimos fueron similares a los obtenidos con el testigo. Además contrastan con el



*al.* (2015), who at 30 d post emergency mentioned 7.3 cm in height. This poor growth can be explained by the low temperatures, which can even compromise their survival.

The variables fresh and dry weight of the plant, as well as root length showed statistically highly significant differences, in favor of the treatments with LAB ( $P < .001$ ). In the fresh and dry weight of the plant, the best values were for the pumpkin inoculum, followed by the rest of the treatments. As for root length, the highest values were for papaya and banana inocula, which exceeded that of pumpkin and the control (table 2).

The best response of the treatments with the LAB regarding the control is in agreement with Díaz and Montero (2011) reports, who indicated that seedlings increased vigor and stem and root growth, from germination to emergence of plantlets as a growth promoter strategy. Similar result reported Abdel-Aziz *et al.* (2014), in tomato.

With regard to root length, the results obtained with LABP and LABP were higher than those indicated at 40 d by Padilla *et al.* (2012), who used the soaking of *M. oleifera* seeds to accelerate germination and, therefore, their aerial growth as root.

Table 3 shows the growth rate of *M. oleifera* plantlets with the application of LAB from different fermentation substrates. Statistical difference was observed in all treatments with the application of LAB regarding the

bajo crecimiento que obtuvieron da Costa *et al.* (2015), quienes a los 30 d post emergencia mencionaron 7.3 cm de altura. Este pobre crecimiento se puede explicar por las bajas temperaturas, que pueden incluso comprometer su supervivencia.

Las variables peso fresco y seco de la planta, así como largo de la raíz presentaron diferencias estadísticas altamente significativas, a favor de los tratamientos con BAL ( $P < .001$ ). En el peso fresco y seco de la planta, los mejores valores fueron para el inóculo de calabaza, seguido del resto de los tratamientos. En cuanto al largo de la raíz, los valores más altos fueron para los inóculos de papaya y banano, que superaron al de calabaza y al testigo (tabla 2).

La mejor respuesta de los tratamientos con las BAL respecto al testigo coincide con los informes de Díaz y Montero (2011), quienes indicaron que en los semilleros aumentó el vigor y el crecimiento del tallo y raíces, desde la germinación hasta la emergencia de las plántulas como estrategia promotora del crecimiento vegetal. Semejante resultado informaron Abdel-Aziz *et al.* (2014), en tomate.

Con respecto al largo de la raíz, los resultados obtenidos con BALP y BALC fueron superiores a los indicados a los 40 d por Padilla *et al.* (2012), quienes utilizaron el remojo de semillas de *M. oleifera* para acelerar la germinación y con ello, su crecimiento aéreo como radicular.

En la tabla 3 se muestra la velocidad de crecimiento de plántulas de *M. oleifera* con la aplicación de las BAL provenientes de diferentes sustratos de fermentación. Se observa diferencia estadística en todos los tratamientos

Table 2. Fresh weight, dry weight and root length in the inoculation of LAB with the use of different substrates of tropical fruits in *Moringa oleifera* at 31 d of emergence

	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Root length (cm)
Pumpkin	8.40 <sup>a</sup>	1.26 <sup>a</sup>	9.00 <sup>b</sup>
Papaya	6.10 <sup>b</sup>	1.03 <sup>b</sup>	11.30 <sup>a</sup>
Banana	6.40 <sup>b</sup>	1.10 <sup>b</sup>	11.10 <sup>a</sup>
Control	4.90 <sup>b</sup>	0.94 <sup>b</sup>	7.20 <sup>b</sup>
MSE	0.64	0.18	0.73
P	0.001	0.001	0.001

Different letters in column show statistical difference between treatments ( $P < 0.05$ ) (Tukey 1958)

Table 3. Average growth rate of *Moringa oleifera* plantlets with the application of lactic bacteria (LB), from different fermented substrates

LAB	Days					Mean
	15	19	23	27	31	
Pumpkin	0.85 <sup>a</sup>	0.92 <sup>a</sup>	0.82 <sup>a</sup>	0.72 <sup>a</sup>	0.68 <sup>a</sup>	0.80 <sup>a</sup>
Papaya	0.87 <sup>a</sup>	0.93 <sup>a</sup>	0.80 <sup>a</sup>	0.67 <sup>b</sup>	0.63 <sup>b</sup>	0.78 <sup>a</sup>
Banana	0.83 <sup>a</sup>	0.95 <sup>a</sup>	0.84 <sup>a</sup>	0.73 <sup>a</sup>	0.72 <sup>a</sup>	0.81 <sup>a</sup>
Control	0.61 <sup>b</sup>	0.64 <sup>b</sup>	0.58 <sup>b</sup>	0.52 <sup>c</sup>	0.49 <sup>c</sup>	0.57 <sup>b</sup>
MSE	0.024	0.018	0.023	0.016	0.017	0.017
P	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

Different letters in column show statistical difference between treatments ( $P < 0.05$ ) (Tukey 1958)

control, in partial as in the average. Although there was a favorable effect, these values are below to that showed by Noguera-Talavera *et al.* (2014), who mentioned values of 0.94 cm d<sup>-1</sup>.

It is concluded that the use of inoculum of lactic bacteria from the fermentation with pumpkin, banana and papaya resulted in an ecotechnology that promotes the emergence and development of *Moringa oleifera* plantlets.

Of the three inoculums used, the LAB with pumpkin is the best treatment in plant height, number of leaves, fresh and dry weight of plant, although in some cases it shares similarity with banana and papaya. The latter showed a marked favorable effect on the root length.

Cuban Journal of Agricultural Science, Volume 51, Number 2, 2017.

con la aplicación de BAL respecto al testigo, en forma parcial como en el promedio. Aunque existió efecto favorable, estos valores resultan por debajo de lo señalado por Noguera-Talavera *et al.* (2014), quienes mencionaron valores de 0.94 cm d<sup>-1</sup>.

Se concluye que el uso de inóculo de bacterias lácticas a partir de la fermentación con calabaza, banano y papaya resultó en una ecotecnia que promueve la emergencia y el desarrollo de plántulas de *Moringa oleifera*.

De los tres inóculos utilizados, el de BAL con calabaza es el mejor tratamiento en altura de planta, número de hojas, peso fresco y seco de planta, aunque en algunos casos comparte similitud con el de banano y papaya. Estos últimos mostraron un marcado efecto favorable en el largo de la raíz.

## References

- Abad, V. M. 2014. Evaluación del crecimiento y valor nutricional de la soya para forraje (*Glycine max*) utilizando biol como abono obtenido con microorganismos nativos. Graduated Thesis, Universidad de las Fuerzas Armadas, Sangolquí, Ecuador, 115 p.
- Abdel-Aziz, S. M., Moustafa, Y. A. & Hamed, H. A. 2014. "Lactic acid bacteria in the green biocontrol against some phytopathogenic fungi: treatment of tomato seeds". *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 4(12): 1–9, ISSN: 2090-4304, 2090-424x.
- Analytical Software 2003. Statistix 8. version 8, Tallahassee, Florida, USA, ISBN: 978-1-881789-06-2, Available: <<https://www.statistix.com/>>.
- Arellano-Rodríguez, L. J., Carrizales-Mejía, N., Pimienta-Barrios, E. & Rodríguez-Guzmán, E. 2016. "Aplicación de productos químicos y homeopáticos durante el humedecimiento y secado de semilla de moringa sobre la germinación y emergencia". *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*, 3(7): 1–4, ISSN: 2007-882X.
- da Costa, P. F., de Oliveira, P. S. R., Borsoi, A., de Vasconcelos, E. S., Taffarel, L. E., Piano, J. T. & Sarto, M. V. M. 2015. "Initial growth of *Moringa oleifera* Lam. under different planting densities in autumn/winter in south Brazil". *African Journal of Agricultural Research*, 10(5): 394–398, ISSN: 1991-637X, DOI: 10.5897/AJAR2013.7549.
- Dao, M. C. E., Taita, P. & Walsh, D. 2017. "Germination and seed traits variations among West African provenances of *Moringa oleifera* Lam. (Burkina Faso)". *African Journal of Agricultural Research*, 12(9): 730–739, ISSN: 1991-637X, DOI: 10.5897/AJAR2016.11882.
- Díaz, O. A. & Montero, D. M. 2011. Determinación de la acción de EM (Microorganismos Eficientes) bajo condiciones de invernadero, sobre la actividad de intercambio catiónico, en la recuperación de un suelo de Mondoñedo. Graduated Thesis, Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia, 157 p.
- Ede, A. E., Ndubuaku, U. M. & Baiyeri, K. P. 2015. "Media Effects on Emergence and Growth of *Moringa oleifera* Lam) Seedlings in the Nursery". *American Journal of Experimental Agriculture*, 7(3): 182–189, ISSN: 2231-0606.
- El-Mabrok, A. S. W., Hassan, Z., Mokhtar, A. M., Hussain, K. M. & Kahar, F. 2012. "Screening of lactic acid bacteria as biocontrol against (*Colletotrichum capsici*) on chilli Bangi". *Research Journal of Applied Sciences*, 7(9–12): 466–473, ISSN: 1815-932X.
- Ferrera-Cerrato, R., Rojas-Avelizapa, N. G., Poggi-Valardo, H. M., Alarcón, A. & Cañizares-Villanueva, R. O. 2006. "Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos". *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48(2): 179–187, ISSN: 0034-9771.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2014. Clima. Colima. Available: <<http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/col/territorio/clima.aspx?tema=me>>, [Consulted: July 13, 2017].
- Jensen, H., Guilaran, L., Jaranilla, R. & Garingalao, G. 2006. *Nature Farming Manual: A handbook of preparations, techniques and organic amendments inspired by Nature Farming and adapted to locally available materials and needs in the Western Visayas region of the Philippines*. Los Baños Laguna, The Philippines: PABINHI-Pilipinas, 37 p., Available: <[http://www.reap-canada.com/online\\_library/IntDev/id\\_bokashi/Bokashi%20Nature%20Farming%20Manual%20\(2006\).pdf](http://www.reap-canada.com/online_library/IntDev/id_bokashi/Bokashi%20Nature%20Farming%20Manual%20(2006).pdf)>, [Consulted: February 3, 2017].
- Lutz, M. P., Michel, V., Martínez, C. & Camps, C. 2012. Lactic acid bacteria as biocontrol agents of soil-borne pathogens. vol. 78, IOBC/WPRS Bull, 285–288 p., ISBN: 978-92-9067-256-2, Available: <[http://www.iobc-wprs.org/members/getfile.cfm?item=iobc-wprs\\_bulletin\\_2012\\_78.pdf](http://www.iobc-wprs.org/members/getfile.cfm?item=iobc-wprs_bulletin_2012_78.pdf)>, [Consulted: August 18, 2017].
- Medina, M. G., García, D. E., Clavero, T. & Iglesias, J. M. 2007. "Estudio comparativo de *Moringa oleifera* y *Leucaena leucocephala* durante la germinación y la etapa inicial de crecimiento". *Zootecnia Tropical*, 25(2): 83–93, ISSN: 0798-7269.
- Navarro, M., Cicero, S. M. & Gomes-Junior, F. G. 2015. "Determination of the germination temperature of *Moringa oleifera* seeds with support of vigor tests". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 49(4): 509–514, ISSN: 2079-3480.
- Noguera-Talavera, Á., Reyes-Sánchez, N., Membreno, J. J., Duarte-Aguilar, C. & Mendieta-Araica, B. 2014. "Calidad de plántulas de tres especies forrajeras (*Moringa oleifera* Lam., *Leucaena leucocephala* y *Cajanus cajan*) en condiciones de

- vivero”. La Calera, 14(22): 21–27, ISSN: 1998-7846.
- Padilla, C., Fraga, N. & Suárez, M. 2012. “Effect of the soaking time of moringa (*Moringa oleifera*) seeds on the germination and growth indicators of the plant”. Cuban Journal of Agricultural Science, 46(4): 419–421, ISSN: 2079-3480.
- Pérez, R. 2010. *Moringa oleifera*, una alternativa forrajera para Sinaloa. México: Fundación PRODUCE Sinaloa, 16 p., Available: <<http://www.cofupro.org.mx/cofupro/publicaciones.php?publicaciones=627>>, [Consulted: March 1, 2017].
- Rodríguez, B. J. M. 2009. “Mitigación y biorremediación de suelos contaminados por el derrame de combustible diésel 2 en la Quebrada del Toro, Camaná, 2009”. Ciencia y Desarrollo, 10(3): 37–51, ISSN: 2409-2045, DOI: 10.21503/cyd.v10i0.1174.
- Sardiñas, Y., del Viento, A. & Palma, J. M. 2016. “Simultaneous association of different tree species with Cuba CT-115 (*Pennisetum purpureum*)”. Cuban Journal of Agricultural Science, 50(3): 503–510, ISSN: 2079-3480.
- Toral, O. 2005. “La utilización del germoplasma arbóreo forrajero”. In: Simón, L. (ed.), El Silvopastoreo: un nuevo concepto de pastizal, Matanzas, Cuba: Estación Experimental Pastos y Forrajes ‘Indio Hatuey’, pp. 33–51, ISBN: 959-16-0209-X.
- Toral, O., Reino, J., Santana, H. & Cerezo, Y. 2013. “Caracterización morfológica de ocho procedencias de *Moringa oleifera* (Lam.) en condiciones de vivero”. Pastos y Forrajes, 36(4): 409–416, ISSN: 0864-0394.
- Tukey, J. W. 1958. “Bias and confidence in not quite large samples”. The Annals of Mathematical Statistics, 29(2): 614–623, ISSN: 0003-4851, DOI: 10.1214/aoms/1177706647.
- Wenzl, I. 2006. “La revolución de los microbios efectivos”. Integral: Vive mejor en un mundo mejor, (319): 38–43, ISSN: 0210-0134.
- Zebboudj, N., Yezli, W., Hamini-Kadar, N., Kihal, M. & Henni, J. E. 2014. “Antifungal activity of lactic acid bacteria against *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* isolated from diseased date palm in South Algeria”. International Journal of Biosciences, 5(9): 99–106, ISSN: 2220-6655.

**Received: February 19, 2017**