



Microorganismos inoculados en leucaena leucocephala y cratylia argentea para el establecimiento de bancos de proteína

Microorganisms inoculated in leucaena leucocephala and cratylia argentea for the establishment of protein banks

Gerardo Meza-Flores¹, Luis-Manuel RiveraBetancourt², Adara-Patricia Molar-Guerrero², Luis-Roberto González-Grovas¹, Karla Lissette Silva-Martínez²

¹ Tecnológico Nacional de México – ITS Xalapa, Veracruz, México.

² Tecnológico Nacional de México – ITS Tantoyuca, Veracruz, México.

Recibido: 28-10-2022

Aceptado: 06-12-2022

Autor correspondal: karla.silva@itsta.edu.mx

Resumen

La presente investigación evaluó el efecto bioestimulante de Micorrizas y *Trichoderma* sobre la germinación de dos especies forrajeras en vivero, *Leucaena leucocephala* y *Cratilya argentea* para banco de proteína como fuente de alimentación alterna para ganado bovino en épocas de estiaje. El experimento se desarrollo en condiciones de vivero, se empleo un diseño experimental en bloques completos al azar con arreglo en parcelas divididas, el factor ubicado en parcela grande fue variedad de especies forrajeras con dos niveles: *L. leucocephala* y *C. argentea* y el factor ubicado en parcela chica fue microorganismos como agente inoculante con tres niveles: Micorrizas, *Trichoderma* y control. Se evaluaron las variables morfométricas diámetro y altura del tallo. Los tratamientos no ejercieron una diferencia estadística significativa en relación a los microorganismos sobre alguna de las especies forrajeras con respecto al testigo.

Palabras clave: *Leucaena leucocephala*, *Cratilya argentea*, Micorrizas, *Trichoderma*.

Abstract

This research evaluated the biostimulating effect of Mycorrhizae and *Trichoderma* on the germination of two forage species in the nursery, *Leucaena leucocephala* and *Cratilya argentea* for protein bank as an alternate feed source for cattle in dry season. The experiment was developed under nursery conditions, an experimental design was used in complete random blocks with an arrangement in divided plots, the factor located in a large plot was a variety of forage species with two levels: *L. leucocephala* and *C. argentea* and the factor located in small plot was microorganisms as inoculating agent with three levels: Mycorrhizae, *Trichoderma* and control. The morphometric variables diameter and height of the stem were evaluated. The treatments did not exert a significant statistical difference in relation to the microorganisms on any of the forage species with respect to the control.

Keyboards: *Leucaena leucocephala*, *Cratilya argentea*, Mycorrhiza, *Trichoderma*.

Introducción

La baja productividad de los pastos en los trópicos húmedos de América Central, conlleva a buscar fuentes alternativas de alimentos para la alimentación de los rumiantes (Ibrahim et al., 2000). Las leguminosas forrajeras nutricionalmente, aportan a la producción ganadera una opción viable para mejorar los rendimientos. *Leucaena leucocephala* y *Cratilya argentea*es, tienen diversos usos, especialmente como alimento para animales y como cultivos de abono verde, teniendo una relación simbiótica con bacterias fijadoras de nitrógeno (Mattar et al., 2018), recomendadas para sistemas silvopastoriles (Mattar et al., 2022; Valles-de la Mora et al., 2014).

Diversas investigaciones han demostrado que el uso de bioestimulantes son instrumentos agronómicos innovadores, se definen como cualquier sustancia natural, microorganismos o cualquier combinación que al aplicarse estimulan los procesos naturales de las plantas beneficiando los procesos fisiológicos de estas, la eficiencia en el uso de nutrientes y/o la tolerancia al estrés abiótico (Du, 2015).

Comúnmente las especies del género *Trichoderma* se usan como agentes de control biológico contra hongos fitopatógenos, algunas cepas pueden producir metabolitos que mejoran el crecimiento de las plantas (Hoyos-Carvajal et al., 2009).

Materiales y métodos

Establecimiento del vivero

El vivero se construyó con materiales propios de la región, como lo es el posteo a base de otates (*Otatea glauca*) de 2.50 de largo, con una malla sombra negra de 35% de sombra 4.20 de ancho x 100 de largo tejido rashell, adaptada al total de la superficie del vivero que será de 18 de largo por 20 de ancho. El vivero fue cercado con alambre de púas a tres hilos, esto con la finalidad de evitar la entrada del ganado.

Siembra

Se selecciono la semilla de mayor tamaño, esto para asegurar la germinación de manera uniforme. La semilla de *Leucaena leucocephala* fue escarificada, lo anterior siguiendo la metodología tomada de Guevara y Eguiarte, 1982; Hutton, 1976; Ferguson, 1978; Cushwa. et al., 1972. Para este procedimiento se hirvió la semilla a una temperatura de 80 grados constante por tres minutos, debiéndose agitar esto para evitar que se peguen las semillas a la pared del vaso, para ello se utilizó una parrilla eléctrica, un termómetro y agua potable.

Para la siembra se utilizaron bolsas negras de plástico con una mezcla de hojarasca con tierra negra como sustrato a una relación 50/50.

Para el caso de la semilla de *Cratylia argentea* no fue necesario hacer este procedimiento.

Preparación del inoculo

Se depositó una semilla por bolsa y se inoculo a 10 gramos de *Trichoderma* spp y 10 gramos de micorrizas (Nombre comercial: Micorhizo de Agrodav, marca MC Micorrizas, fabricante: SEMVID).

Diseño y análisis estadístico

Se llevó a cabo un diseño experimental en bloques completos al azar con arreglo en parcelas divididas, el factor ubicado en parcela grande fue variedad de especies forrajeras con dos niveles: *Leucaena leucocephala* y *Cratylia argentea* y el factor ubicado en parcela chica fue microorganismos como agente inoculante con tres niveles: Micorrizas, *Trichoderma* y control. Se emplearon cuatro repeticiones por tratamiento, utilizando diez plantas experimentales en cada uno de ellos. La variable respuesta fue el diámetro y la altura de la planta a 56 días de siembra.

Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA para determinar diferencias estadísticamente significativas en los promedios de los diámetros y alturas de las plantaciones, así como la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($P < 0.05$) para identificar el tratamiento con mejores resultados. El análisis de los datos se llevó a cabo en el software R versión 4.1.2.

Resultados

Se llevó a cabo un diseño experimental en bloques completos al azar con arreglo en parcelas divididas, el factor ubicado en parcela grande fue variedad de especies forrajeras con dos niveles: *L. leucocephala* y *C. argentea* y el factor ubicado en parcela chica fue microorganismos como agente inoculante con tres niveles: micorrizas, *Trichoderma* y control. Se emplearon cuatro repeticiones por tratamiento, utilizando diez plantas experimentales en cada uno de ellos. La variable respuesta fue el diámetro y la altura de la planta a 56 días de siembra.

Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA para determinar diferencias estadísticamente significativas en los promedios de los diámetros y alturas de las plantaciones, así como la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($P < 0.05$) para identificar el tratamiento con mejores resultados. El análisis de los datos se llevó a cabo en el software R versión 4.1.2.

Acorde a los resultados del análisis de varianza (ANOVA), el diámetro de los tallos presenta diferencias estadísticamente significativas por efecto de la variedad de las especies forrajeras ($P < 0.01$), sin embargo, no se observaron diferencias significativas con respecto a los microorganismos y al tratamiento de control ($P = 0.211$), ni a la interacción de los mismos con la variedad de las especies ($P = 0.15$).

Ante la existencia de diferencias significativas en la variedad de las especies forrajeras se realizó un análisis de comparaciones múltiples a través del test HSD de Tukey, en este sentido los resultados arrojan que la variedad *L. leucocephala* ($M = 2.145$, $SD = 0.069$) obtuvo un diámetro más grueso que la especie *C. argentea* ($M = 1.909$, $SD = 0.208$).

La figura 1 muestra los resultados obtenidos con relación al diámetro de los tallos de las plantas a 56 días de siembra clasificado por especie forrajera y por microorganismo inoculante.

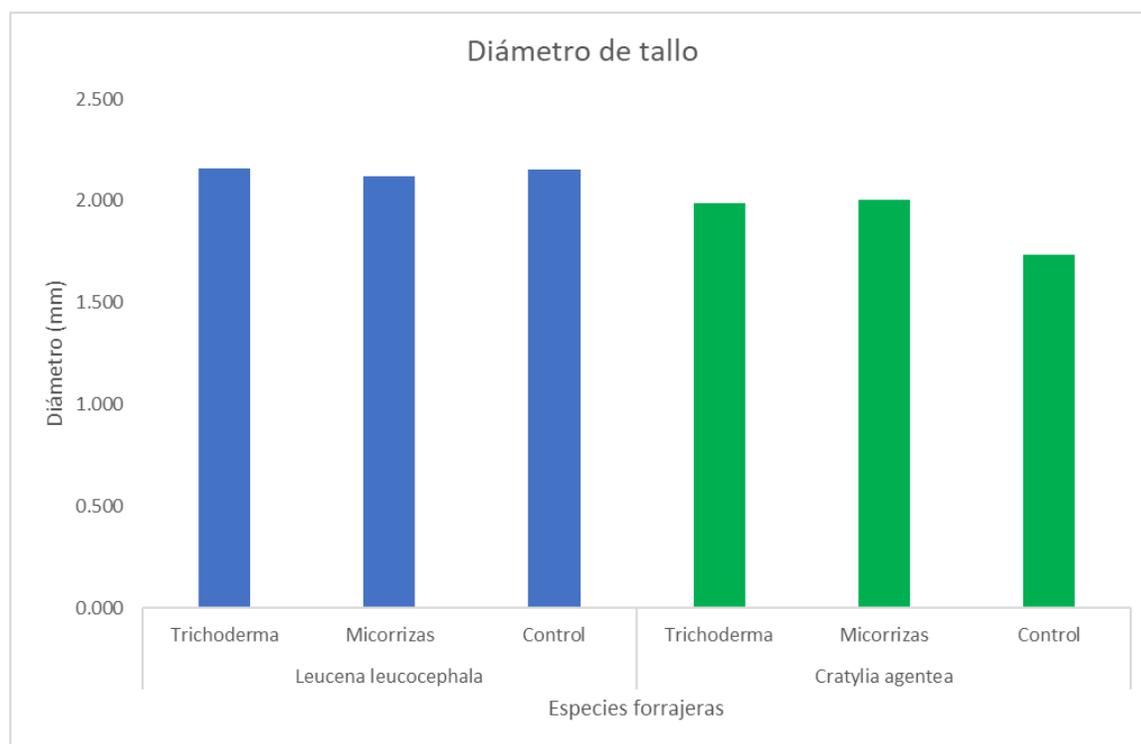


Figura 1

Diámetro del tallo de especies forrajeras a 56 días de siembra

Como se observa en la figura 1 la especie *Leucaena leucocephala* presenta tallos de mayor grosor con relación a la especie *Cratylia argentea*. Sin embargo, no hay diferencias estadísticas aunque sí numéricas en el grosor de tallos tanto al emplear *Trichoderma* como *Micorrizas* y en la ausencia de microorganismos (control) para la inoculación de las plantas en ambas especies.

Con relación a la variable altura de tallo, el análisis de varianza muestra que existen diferencias estadísticamente significativas por efecto de la variedad de las especies forrajeras ($P < 0.01$). En cuanto a los tipos de microorganismos y el tratamiento de control empleados no se observaron diferencias significativas ($P = 0.308$), ni a la interacción de los mismos con la variedad de las especies ($P = 2.37$). Se realizó test HSD de Tukey a la variedad de las especies debido a las diferencias significativas que presentaron. El test arroja que la variedad *L. leucocephala* ($M = 12.81$, $SD = 0.796$) obtuvo mayor altura de tallo que la especie *Cratylia argentea* ($M = 7.56$, $SD = 1.39$).

La figura 2 muestra los resultados obtenidos con relación a la altura de los tallos de las plantas a 56 días de siembra clasificado por especie forrajera y por microorganismo inoculante.

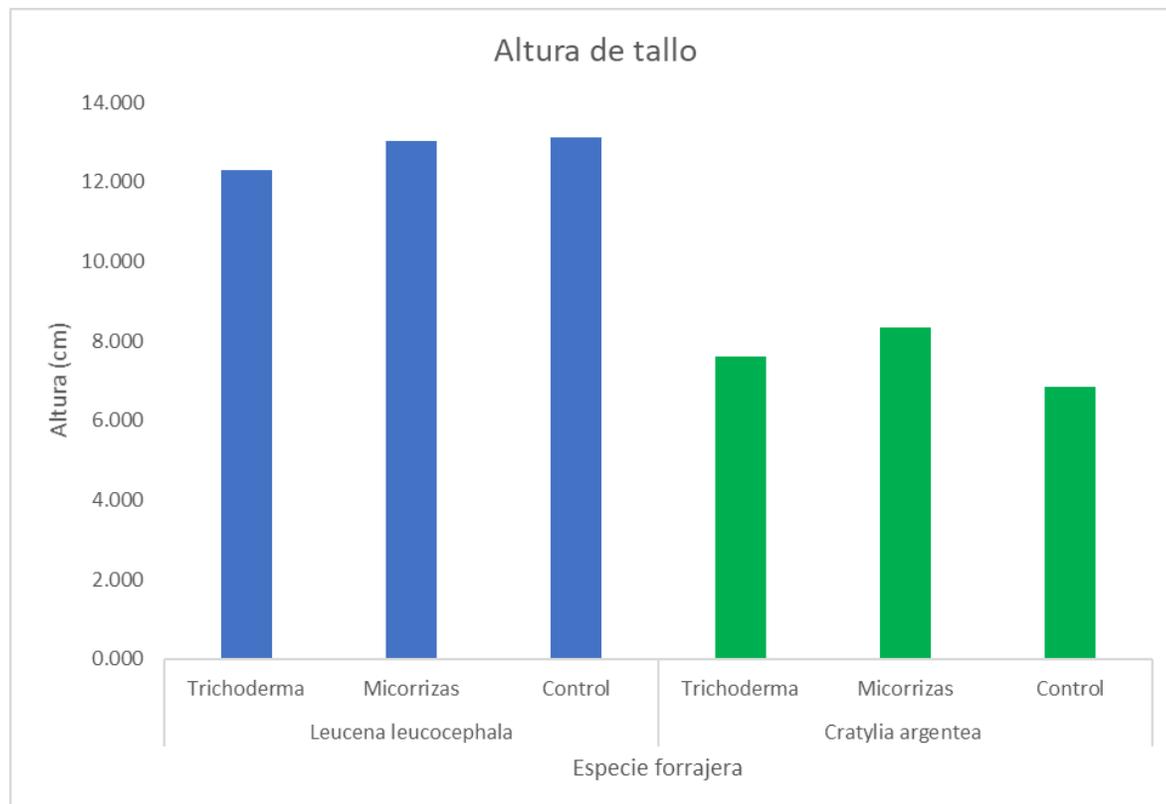


Figura 2

Altura del tallo de especies forrajeras a 56 días de siembra

De acuerdo a la figura 2 la especie *Leucaena leucocephala* presenta mayor altura de tallos con relación a la especie *Cratylia argentea*. No obstante, se observa que el emplear microorganismos como *Trichoderma*, Micorrizas y la ausencia de los mismo (control) como inoculante de las plantas en ambas especies, no representa diferencias para las alturas de tallos.

Discusión

Resultados anteriores demuestran importantes incrementos en el crecimiento de plantas inoculadas con *T. Harzianum*, como es el caso de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.) (Hernández et al., 2017; Vazquez-Martínez et al., 2019), así como en

diferentes hortalizas (Meyer et al., 2019), sin embargo *T. harzianum* no tuvo efecto en leucaena (Santana y Castellanos, 2018) esto pudiera atribuirse a que leucaena se caracteriza por su éxito en sistemas silvopastoriles intensivos en las regiones tropicales y subtropicales esto debido a su calidad nutricional, fijación de nitrógeno, crecimiento y tolerancia a la sequía (Clavero, 1998). Medina et al. (2007) en un estudio comparativo que realizaron con las plantas *Moringa oleifera* y *L. leucocephala* durante la germinación y la etapa inicia de crecimiento, reportaron que *M. oleifera* exhibió mejor comportamiento que *L. leucocephala*, esta ultima no tuvo un efecto en las variables, altura, diámetro basal a los 90 días ni número de hojas. Las variables porcentaje de germinación, sobrevivencia, altura de la planta, número de hojas, longitud de la raíz (Sudantha, 2022), evaluadas en experimentos que incorporan *Trichoderma* como bioestimulante presentan resultados positivos en diversidad de condiciones y de cultivos, como ya se menciona antes, sin embargo en las especies *Cratylia argentea* y *L. leucocephala* son mucho menores en comparación. Por su parte, Flores-Bello et al. (2008) inocularon *Glomus intraradices* y *G. etunicatum* en *L. leucocephala* en condiciones de vivero, alcanzando una altura optima de trasplante a los 83 días. Brewbaker (1987) menciona que *L. leucocephala* a los 90 a 120 días es el tiempo que requieren estas plantas para que se realice el trasplante, pues es el momento en que alcanzan la altura optima (30 cm).

Incorporar en el sustrato mas de un microorganismos pudiera favorecer los rendimientos de *L. leucocephala*, como lo describen las siguientes investigaciones en donde Crespo et al. (2022) muestran resultandos en donde a los sustratos con pH cercanos a la neutralidad en combinación con aislados de rizobios y hongos micorrízicos arbusculares en favorecen el desarrollo de las estructuras micorrízicas, la nodulación, el crecimiento y producción de biomasa de *L. leucocephala*. De igual manera investigadores reportan que la inoculación dual de plantas con *Glomus* sp. y *T. Longibrachiatum* sugieren el aumento en el rendimiento de la planta a través de la alteración de los perdibles metabólicos bajo estrés salino (Yang et al., 2022), estos resultados advierten que estos microorganismos combinados mejoran el crecimiento de las plantas. Ojeda et al. (2015) inocularon con MicoFert, producto a base de hongos micorrízicos arbusculares, en *L. leucocephala* cv. Perú y encontraron que el contenido de P en hojas fue significativamente mayor en las plantas inoculadas con respecto al control. En 2014, Lok y Suárez reportaron que la aplicación de EcoMic biofertilizante comercial, a base de hongos micorrízicos arbusculares en combinación con estiércol de bovino, incrementó los contenidos de nutrientes de p (135.56 ppm), Mg (0.385), Ca (1.89%) en el suelo.

Conclusiones

El uso de especies de hongos con propiedades estimulantes en las plantas, como es el caso de las especies del género *Trichoderma* y los hongos micorrízicos pueden ser alterativas ecológicas y eficientes en especies leguminosas como es el caso de *Cratylia argentea* y *Leucaena leucocephala*, sin embargo se deben realizar mediciones despues de los 56 días de la seimbra.

Referencias bibliográficas

- Brewbaker, J. L. (1987). Leucaena: a multipurpose tree genus for tropical agroforestry. *Agroforestry: a decade of development*, 289-323.
- Crespo-Flores, G.; Ramírez-Tobias, H. M.; Vallejo-Pérez, M. R.; Méndez-Cortés, H.; & González-Cañizares, P. J. (2022). Inoculación con rizobios y hongos micorrízicos arbusculares en plantas de *Leucaena leucocephala* en etapa de vivero y en sustrato con pH neutro. *Management Committee*, 98.

- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia horticulturae*, 196, 3-14.
- Flores-Bello, M. D. R.; Aguilar-Espinosa, S.; García Calvario, R.; Zamora Cruz, A.; Farias-Larios, J.; & López-Aguirre, J. G. (2008). Inoculación con hongos micorrícicos arbusculares y el crecimiento de plántulas de leucaena. *Terra latinoamericana*, 26(2), 127-131.
- Hernández, M. S. R.; Novo S.; M. A. Mesa P.; A. Ibarra M. y D. Hernández R. (2017). Capacidad de *Trichoderma* spp. como estimulante de la germinación en maíz (*Zea mays* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista de Gestión del Conocimiento y el Desarrollo Local* 4(1):19-23
- Hoyos-Carvajal, L.; Orduz, S. & Bissett, J. (2009). Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological control*, 51(3), 409-416
- Ibrahim, M. A.; Holmann, F.; Hernández, M. & Camero, A. (2000). Contribution of *Erythrina* protein banks and rejected bananas for improving cattle production in the humid tropics. *Agroforestry systems*, 49(3), 245-254.
- Martínez, J. V.; Cárdenas, J. C. G.; Contreras, R. G. C.; Conde, W. S. & Castillo, G. A. (2019). Evaluación del potencial biofertilizante de cinco especies de *Trichoderma* en la producción de maíz elotero nativo e híbrido bajo condiciones de campo. ITEA, información técnica económica agraria: revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA), 115(3), 213-218.
- Mattar, E. P. L.; Pinheiro, D. T.; Pereira, W. D.; Brasileiro, B. P.; Matrangolo, W. J. R.; Hilst, P. C.; ... & dos Santos Dias, D. C. F. (2022). Physiological, morphological, and biochemical characterization of *Cratylia argentea* (Desv.) Kuntze seeds. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 10(3), 172-183.
- Meyer, M. C.; Mazaró, S. M. & da Silva, J. C. (2019). *Trichoderma*: uso na agricultura. Embrapa Soja-Livro científico (Alice).
- Santana Díaz, T. & Castellanos González, L. (2018). Biostimulating effect of *Trichoderma harzianum* Rifai on seedling of *Leucaena*, Cedar and Saman. *Colombia Forestal*, 21(1), 81-90.
- Sudantha, M. (2022). Growth Response and Yield of Shallots to *Trichoderma* Biostimulants and Growth Regulators Substance Benzyl Amino Purine (GRS BAP). In 6th International Conference of Food, Agriculture, and Natural Resource (IC-FANRES 2021) pp. 289-297.
- Yang, R.; Qin, Z.; Wang, J.; Zhang, X.; Xu, S.; Zhao, W. & Huang, Z. (2022). The Interactions between Arbuscular Mycorrhizal Fungi and *Trichoderma longibrachiatum* Enhance Maize Growth and Modulate Root Metabolome under Increasing Soil Salinity. *Microorganisms*, 10(5), 1042.