

Growth and development of *Moringa oleifera* seedlings, produced in substrates with sewer sludge and bovine manure

Crecimiento y desarrollo de posturas de *Moringa oleifera*, producidas en sustratos con lodo de alcantarilla y estiércol bovino

Jatnel Alonso Lazo¹, Iago Thomaz do Rosario Vieira², Mariana Ferreira Rabelo Fernandes², Leonardo Michel Rocha², Guilherme Augusto de Paiva Ferreira², Gerardo Ribeiro Zuba Junio², Leonardo David Tuffi Santos² and Regynaldo Arruda Sampaio²

¹Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

²Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, Caixa Postal 135, CEP 39404-006 Montes Claros, MG, Brasil

Email: jalonso@ica.co.cu

Jatnel Alonso Lazo: <https://orcid.org/0000-0001-8697-5981>

Iago Thomaz do Rosario Vieira: <https://orcid.org/0000-0002-1232-1835>

Guilherme Augusto de Paiva Ferreira: <https://orcid.org/0000-0001-6266-9963>

Leonardo David Tuffi Santos: <http://orcid.org/0000-0002-9362-778X>

Regynaldo Arruda Sampaio: <https://orcid.org/0000-0003-3214-6111>

The growth and development of *Moringa oleifera* seedlings, produced in substrates with sewer sludge and bovine manure, were studied. A randomized block design with four replications was applied. A total of 12 treatments were elaborated, plus the commercial substrate Bioplant as a control. During 22 days, the emergence speed index was determined, and before transplantation, physiological and morphological measurements were made and the Dickson quality index was calculated. The physiological measurements were made on a fully expanded leaf and a portable LI-6400 meter was used. The emergence speed index differed between treatments and showed high correlation with respect to the physical properties of the substrate. The physiological indicators were similar, with values between 5.86-9.73 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of liquid photosynthesis; 0.02-0.13 ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of stomatal conductance and 1.04-1.76 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$) of transpiratory rate. The morphological variables plant height and stem diameter were higher ($P < 0.0143$ and $P < 0.0077$) in the prepared substrates, although some of them did not differ from the control. The number of leaves/plant was lower ($P < 0.0001$) in the commercial substrate. In this treatment, the root volume (8.25 cm^3) and the Dickson index (0.56) reached the highest values. The use of sewer sludge and bovine manure in substrates for seedlings production did not affect the growth and development of *M. oleifera*.

Key words: *emergency speed index, seedlings production, substrates, Moringa oleifera*

Livestock activity is one of the main uses of the land, reaching 70 % of the agricultural area and 30 % of the earth's surface of the planet (Steinfeld *et al.* 2009). This activity, in the Latin American tropics, is characterized by low levels of productivity and profitability and by the creation of negative environmental effects.

Faced with this problem, the use of trees and shrubs, in any of the forms of silvopastoral systems, constitutes an indispensable and viable practice for animal production in the tropics (Schultze-Kraft *et al.* 2018),

Se estudió el crecimiento y desarrollo de posturas de *Moringa oleifera*, producidas en sustratos con lodo de alcantarilla y estiércol bovino. Se aplicó un diseño en bloques al azar con cuatro réplicas. Se elaboraron 12 tratamientos, más el sustrato comercial Bioplant como testigo. Durante 22 días se determinó el índice de velocidad de emergencia, y antes del trasplante se hicieron mediciones fisiológicas y morfológicas y se calculó el índice de calidad de Dickson. Las mediciones fisiológicas se realizaron en una hoja completamente expandida y se utilizó un medidor portátil LI-6400. El índice de velocidad de emergencia difirió entre tratamientos y mostró alta correlación con respecto a las propiedades físicas del sustrato. Los indicadores fisiológicos fueron similares, con valores entre 5.86-9.73 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de fotosíntesis líquida; 0.02-0.13 ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de conductancia estomática y 1.04-1.76 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$) de tasa transpiratoria. Las variables morfológicas altura de la planta y diámetro del tallo resultaron superiores ($P < 0.0143$ y $P < 0.0077$) en los sustratos elaborados, aunque algunos de ellos no difirieron del testigo. El número de hojas/planta fue inferior ($P < 0.0001$) en el sustrato comercial. En este tratamiento, el volumen radicular (8.25 cm^3) y el índice de Dickson (0.56) alcanzaron los mayores valores. La utilización del lodo de alcantarilla y el estiércol bovino en sustratos para la producción de posturas no afectó el crecimiento y desarrollo de *M. oleifera*.

Palabras clave: *índice de velocidad de emergencia, producción de posturas, sustratos, Moringa oleifera*

La actividad pecuaria es uno de los usos principales de la tierra, al alcanzar 70 % de la superficie agrícola y 30 % de la superficie terrestre del planeta (Steinfeld *et al.* 2009). Esta actividad, en el trópico latinoamericano, se caracteriza por bajos niveles de productividad y rentabilidad y por la generación de efectos ambientales negativos.

Ante esta problemática, la utilización de árboles y arbustos, en cualquiera de las modalidades de los sistemas silvopastoriles, constituye una práctica indispensable y viable para la producción animal en el trópico (Schultze-Kraft *et al.* 2018), ya que esta se desarrolla bajo principios

since it is developed under management principles, in which the interaction between its components favors natural processes.

Among the tree and shrub species with potential for animal feeding, *Moringa oleifera* is highlighted, due to its capacity for the production of high quality forage and its adaptation to tropical conditions (Padilla *et al.* 2014). However, the establishment of this species under commercial production conditions continues to be a limitation for its generalization.

An increasingly important practice for the propagation and establishment of tree species is the seedlings production. Queiroz (2014) points out that this alternative can be applied in the generalization of native species, and highlights that the substrate where they develop defines the seedlings growth. Mateo-Sánchez *et al.* (2011) refer that the substrate is one of the factors that most influences on the quality and production costs of the seedlings. Different studies show the effectiveness of the use of organic materials in substrates for the seedlings production of forest species (Salto *et al.* 2013) and ornamentals (Allen *et al.* 2017).

Despite these advances, in terms of forage tree species, there are few researchers that relate the quality of seedlings produced with the type of substrate, since this strategy has been little considered for their establishment.

Based on these conditions, the objective of this research was to study the growth and development of *Moringa oleifera* seedlings, produced on different substrates containing sewer sludge and bovine manure.

Materials and Methods

The research was conducted at the Institute of Agrarian Sciences from the Federal University of Minas Gerais (ICA/UFMG), in Montes Claros, MG. This facility is located at 16.2° south latitude and 43.87° west longitude, at 647.2 m o.s.l.

The substrates were made from two types of soils, sewer sludge and bovine manure, associated with the application of mineral fertilizer (table 1). A randomized block design was used, with four replications. The *M. oleifera* seeds were obtained from the Harmful Plants Group of ICA/UFMG.

The dehydrated sewer sludge was collected at the Estación de Tratamiento de Esgoto (ETE) of Montes Claros, after preliminary treatment in an anaerobic reactor UASB and drying in a dehydrator to 5 % humidity. The collection of bovine manure was carried out directly in the pen form ICA/UFMG experimental farm.

The sowing was carried out in rigid plastic tubes of 170 cm³, placed under shade cloth, with the capacity to retain 30 % of light. A total of three to four seeds were placed in each tube, and thinning was carried out 15 d after sowing. All plants were placed in full sun, 20 d after

de manejo, en los que la interacción entre sus componentes favorece los procesos naturales.

Entre las especies arbóreas y arbustivas con potencial para la alimentación animal se destaca *Moringa oleifera*, por su capacidad para la producción de forraje de alta calidad y su adaptación a las condiciones tropicales (Padilla *et al.* 2014). No obstante, el establecimiento de esta especie en condiciones comerciales de producción continúa siendo una limitante para su generalización.

Una práctica cada vez más importante para la propagación y establecimiento de especies arbóreas es la producción de posturas. Queiroz (2014) señala que esta alternativa se puede aplicar en la generalización de especies nativas, y destaca que el sustrato donde se desarrollan define el crecimiento de las posturas. Mateo-Sánchez *et al.*, (2011) refieren que el sustrato es uno de los factores que más influye en la calidad y los costos de producción de las posturas. Diferentes estudios demuestran la efectividad del uso de materiales orgánicos en sustratos para la producción de plántulas de especies forestales (Salto *et al.* 2013) y ornamentales (Allen *et al.* 2017).

A pesar de estos avances, en cuanto a las especies arbóreas forrajeras, son escasas las investigaciones que relacionan la calidad de las posturas producidas con el tipo de sustrato, ya que esta estrategia ha sido poco considerada para su establecimiento.

A partir de estas condicionantes, el objetivo de esta investigación fue estudiar el crecimiento y desarrollo de posturas de *Moringa oleifera*, producidas en sustratos diferentes que contienen lodo de alcantarilla y estiércol bovino.

Materiales y Métodos

La investigación se condujo en el Instituto de Ciencias Agrarias de la Universidad Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG), en Montes Claros, MG. Esta instalación se ubica en los 16.72° de latitud sur y los 43.87° de longitud oeste, a 647.2 m s.n.m.

Los sustratos se elaboraron a partir de dos tipos de suelos, lodo de alcantarilla y estiércol bovino, asociados a la aplicación de fertilizante mineral (tabla 1). Se utilizó un diseño en bloques al azar, con cuatro réplicas. Las semillas de *M. oleifera* se adquirieron del grupo de plantas dañinas del ICA/UFMG.

El lodo de alcantarilla deshidratado se colectó en La Estación de Tratamiento de Esgoto (ETE) de Montes Claros, después del tratamiento preliminar en reactor anaeróbico UASB y secado en deshidratadora hasta 5 % de humedad. La colecta del estiércol bovino se realizó directamente en el corral de la hacienda experimental del ICA/UFMG.

La siembra se realizó en tubos plásticos rígidos de 170 cm³, dispuestos bajo tela de sombra, con capacidad para retener 30 % de la luz. En cada tubo se colocaron de tres a cuatro semillas, y el raleo se realizó 15 d después de la siembra. Todas las plantas se colocaron a pleno sol,

Table 1. Materials used in the preparation of substrates and their proportion in relation to the volume and quantity of chemical fertilizers

Treatments	Soil	Sand	Bovine manure	Sewer sludge	Simple superphosphate	KCl
T ₁ (3:1:1:0+SS)	Loamy	x	x	-	1 kg/m ³	-
T ₂ (3:0:1:0+SS)	Sandy	-	x	-	1 kg/m ³	-
T ₃ (3:1:0:1+SS)	Loamy	x	-	x	1 kg/m ³	-
T ₄ (3:0:0:1+SS)	Sandy	-	-	x	1 kg/m ³	-
T ₅ (3:1:1:0+KCL)	Loamy	x	x	-	-	1 kg/m ³
T ₆ (3:0:1:0+KCL)	Sandy	-	x	-	-	1 kg/m ³
T ₇ (3:1:0:1+KCL)	Loamy	x	-	x	-	1 kg/m ³
T ₈ (3:0:0:1+KCL)	Sandy	-	-	x	-	1 kg/m ³
T ₉ (3:1:1:0+SS+KCL)	Loamy	x	x	-	1 kg/m ³	1 kg/m ³
T ₁₀ (3:0:1:0+SS+KCL)	Sandy	-	x	-	1 kg/m ³	1 kg/m ³
T ₁₁ (3:1:0:1+SS+KCL)	Loamy	x	-	x	1 kg/m ³	1 kg/m ³
T ₁₂ (3:0:0:1+SS+KCL)	Sandy	-	-	x	1 kg/m ³	1 kg/m ³
T ₁₃ (Control)	All volumen with comercial substrate (Bioplant)					

thinning. Only one plant per tube was left and irrigation was carried out three times a day up to field capacity throughout the experiment.

The physical and chemical analyzes of the prepared substrates and the control (table 2) was carried out in the solid waste laboratory of ICA/UFMG, according to the Embrapa (1997) methodology. The pH, electrical conductivity (EC), moisture retention capacity (MRC), particle density (PD) and apparent density (AD) were evaluated; in addition, the total porosity (TP) was estimated.

20 d después del raleo. Se dejó solo una planta por tubo y el riego se realizó tres veces al día hasta capacidad de campo durante todo el experimento.

Los análisis físicos y químicos de los sustratos elaborados y el testigo (tabla 2) se realizaron en el laboratorio de residuos sólidos del ICA/UFMG, según la metodología de Embrapa (1997). Se evaluó el pH, la conductividad eléctrica (CE), la capacidad de retención de humedad (CRH), la densidad de partículas (DP) y la densidad aparente (DA); además se estimó la porosidad total (PT).

Table 2. Physical and chemical attributes of substrates made from different types of soils and organic sources

Treatments	Attributes of substrates				
	Chemicals			Physicals	
	pH	EC (µs/cm)	MRC (ml/g)	AD (g/cm ³)	TP (%)
3:1:1:0+SS	6.1	335.03	0.57	1.35	44.16
3:0:1:0+SS	6.8	313.23	0.50	1.41	39.61
3:1:0:1+SS	5.3	465.07	0.53	1.31	44.61
3:0:0:1+SS	5.2	457.80	0.45	1.39	44.12
3:1:1:0+KCL	6.1	501.53	0.53	1.27	48.74
3:0:1:0+KCL	7.0	513.47	0.50	1.39	42.05
3:1:0:1+KCL	5.7	456.30	0.50	1.36	44.36
3:0:0:1+KCL	5.6	431.13	0.48	1.44	38.46
3:1:1:0+SS+KCL	6.9	545.93	0.55	1.29	47.15
3:0:1:0+SS+KCL	7.1	519.10	0.50	1.43	42.07
3:1:0:1+SS+KCL	5.8	571.43	0.50	1.32	46.37
3:0:0:1+SS+KCL	5.5	558.40	0.45	1.42	42.77
Control	5.7	500.00	0.77	0.36	69.37

In the plants, after sowing and during 22 d, the emergence speed index (ESI) was determined in each experimental unit, according to the methodology proposed by Maguire (1962). At the time of transplantation to the

En las plantas, después de la siembra y durante 22 d, se determinó en cada unidad experimental el índice de velocidad de emergencia (IVE), de acuerdo con la metodología propuesta por Maguire (1962). En el momento

field, 60 d after sowing, physiological observations were made with the use of a portable meter LI-6400 (Li-Cor Inc., Nebraska, USA). The third full leaf from the apex to the base was used and the liquid photosynthesis rate per unit of leaf area (A), the stomatal conductance to water vapor (gs), the transpiratory rate of the leaf (E) and the temperature were determined.

The plant height (H) was determined with a millimeter ruler, measuring the stem from its base at the substrate level to the plant apex. The stem diameter (D) was calculated at the substrate level with the help of a vernier, with 0.05 mm precision. The number of branches and leaves per plant, total dry matter production (TDMP), dry matter production of the aerial part (DMPAP), root dry matter weight (RDMW), root volume and Dickson's quality index (Dickson *et al.* 1960) were also determined.

The leaves, stems and roots were weighed on a precision balance to obtain the fresh mass. Before weighing, the roots were washed in a low pressure water basin. sieves of 5 mm were used to avoid losses and later they were dried with a paper towel. The dry mass of leaves, stems, and roots was determined after drying in an oven at 65 °C until reaching constant weight.

For the statistical processing of the information, the InfoStat program, version 1 (Di Rienzo *et al.* 2001) was used. The data were tested for normality (Shapiro and Wilk 1965) and homogeneity (Levene 1960). The counting indicators were transformed according to $X0.5$ and the percentage indicators according to arcsine of $(X/100)0.5$. Analysis of variance was performed and, when necessary, the Scott-Knott test was applied at 5 % probability for means comparison. A Pearson correlation analysis was also performed between the substrates attributes and the ESI.

Results and Discussion

The ESI was higher (5.86) in the treatment with Bioplant commercial substrate, and it differed $P < 0.001$ from the rest (table 3). The combination of organic sources with the type of soil defined the ESI, with the highest values for the proportions 3:1:1:0+SS,

del trasplante al campo, 60 d después de la siembra, se realizaron las observaciones fisiológicas con la utilización de un medidor portátil LI-6400 (Li-Cor Inc., Nebraska, USA). Se utilizó la tercera hoja completa del ápice a la base y se determinó la tasa de fotosíntesis líquida por unidad de área foliar (A), la conductancia estomática al vapor de agua (gs), la tasa transpiratoria de la hoja (E) y la temperatura.

La altura de la planta (Al) se determinó con una regla milimetrada, midiendo el tallo desde su base a nivel del sustrato hasta el ápice de la planta. El diámetro del tallo (D) se calculó a nivel del sustrato con la ayuda de un pie de rey, con precisión de 0.05 mm. Se determinó además, número de ramas y hojas por planta, producción de materia seca total (PMST), producción de materia seca de la parte aérea (PMSPA), peso de la materia seca de las raíces (PMSR), volumen de la raíz e índice de calidad de Dickson (Dickson *et al.* 1960).

Las hojas, tallos y raíces se pesaron en una balanza de precisión para obtener la masa fresca. Antes del pesaje, las raíces se lavaron en una pila de agua con baja presión. Se utilizaron coladores de 5 mm para evitar pérdidas y posteriormente se secaron con papel toalla. La masa seca de las hojas, tallos, y raíces se determinó después del secado en estufa a 65 °C hasta alcanzar peso constante.

Para el procesamiento estadístico de la información se utilizó el programa InfoStat, versión 1 (Di Rienzo *et al.* 2001). Los datos se sometieron a la prueba de normalidad (Shapiro y Wilk 1965) y homogeneidad (Levene 1960). Los indicadores de conteo se transformaron según $X0.5$ y los de porcentaje según arcoseno de $(X/100)0.5$. Se realizó análisis de varianza y, en los casos necesarios, se aplicó el test Scott-Knott a 5 % de probabilidad para la comparación de medias. También se hizo un análisis de correlación de Pearson entre los atributos de los sustratos y el IVE.

Resultados y Discusión

El IVE fue superior (5.86) en el tratamiento con sustrato comercial Bioplant, y difirió $P < 0.001$ del resto (tabla 3). La combinación de las fuentes orgánicas con el tipo de suelo definió el IVE, con los valores más altos para las proporciones 3:1:1:0+SS, 3:1:0:1+SS y

Table 3. Emergence speed index of *M. oleifera*, produced in substrates made from different types of soils and organic sources

Treatments	ESI	Treatments	ESI
3:1:1:0+SS	2.78 ^b	3:0:0:1+KCL	1.02 ^c
3:0:1:0+SS	1.20 ^c	3:1:1:0+SS+KCL	2.18 ^c
3:1:0:1+SS	2.80 ^b	3:0:1:0+SS+KCL	-
3:0:0:1+SS	0.97 ^c	3:1:0:1+SS+KCL	1.69 ^c
3:1:1:0+KCL	3.27 ^b	3:0:0:1+SS+KCL	1.52 ^c
3:0:1:0+KCL	-	Control	5.86 ^a
3:1:0:1+KCL	0.13 ^c	Significance	$P < 0.0001$

^{abc}Means with different superscripts in the same row differ from the Scott-Knott test at 5 %

- Indicates that no emergency occurred.

3:1:0:1+SS and 3:1:1:0+ KCL. The use of sewer sludge and the application of KCL in loamy soils had a negative impact (0.13) on the ESI of *M. oleifera*.

When studying the initial growth of different trees in the nursery stage, Noguera-Talavera *et al.* (2014) showed that *M. oleifera* began its emergence on the sixth day after sowing, without differing from the rest of the species, and reached the best performance of this indicator between the seventh and the ninth day, which coincides with what was observed in this research.

The physical-chemical characteristics of the used substrates can explain the performance of this indicator, since they showed a high and significant correlation with the ESI (table 4). The negative correlation and apparent density show that this indicator can limit the emergence of this forage tree.

Table 4. Pearson's correlation between the ESI of *M. oleifera* and the physical and chemical attributes of the substrates

	pH	MRC	EC	AD	TP
ESI Moringa	-0.39	0.81	0.02	-0.81	0.83

The physico-chemical characteristics of the substrates show higher moisture retention capacity (MRC) in the commercial substrate (table 2), which could favor the imbibition of water in the seed and its germination. The use of sand, when loamy soil was used in the preparation of the substrates, had a direct impact on its moisture retention capacity, by showing a performance similar to the commercial substrate.

The reduction of the osmotic potential of the substrates, when different sources of organic matter and chemical fertilization strategies are used, could be another cause of the ESI obtained. In this regard, Da Silva *et al.* (2019) report that the osmotic potential of the substrate affects the availability of water absorbed by the seeds, which interferes with their germination.

Among the characteristics of substrates, porosity is of vital importance. The retention of water (micropores) and aeration (macropores) depend on it, and it has a direct influence on the development of the root system and the plant as a whole (Castillo *et al.* 2013). Substrates made from coconut powder, sisal wastes and loamy red and dystrophic yellow soils, showed total porosity similar to that observed in this study, with values between 40 and 60 %, which favors the development of the plant (Lacerda *et al.* 2006).

The type of soil used in the preparation of substrates defined their apparent density. This indicator in the elaborated substrates was high, and always higher than what Pire and Pereira (2003) refer to when evaluating organic substrates, composed of rice husk and sugarcane bagasse. In the substrates that contained sandy soil it varied between 1.39 and 1.44 g/cm³, with values higher than those made with loamy soils. The lowest apparent density (0.36 g/cm³) was recorded in the commercial

3:1:1:0+KCL. La utilización de lodo de alcantarilla y la aplicación de KCL en suelos arcillosos incidió negativamente (0.13) en el IVE de *M. oleifera*.

Al estudiar el crecimiento inicial de diferentes arbóreas en la etapa de vivero, Noguera-Talavera *et al.* (2014) señalaron que *M. oleifera* inició su emergencia al sexto día después de la siembra, sin diferir del resto de las especies, y alcanzó el mejor desempeño de este indicador entre el séptimo y el noveno día, lo que coincide con lo observado en esta investigación.

Las características físico-químicas de los sustratos utilizados pueden explicar el comportamiento de este indicador, ya que mostraron alta y significativa correlación con el IVE (tabla 4). La correlación negativa y la densidad aparente demuestran que este indicador puede limitar la emergencia de esta arbórea forrajera.

Las características físico-químicas de los sustratos evidencian mayor capacidad de retención de humedad (CRH) en el sustrato comercial (tabla 2), lo que pudo favorecer la imbibición de agua en la semilla y su germinación. El empleo de arena, cuando se utilizó suelo arcilloso en la elaboración de los sustratos, incidió directamente en su capacidad de retención de humedad, al mostrar un comportamiento similar al sustrato comercial.

La reducción del potencial osmótico de los sustratos, cuando se emplean diferentes fuentes de materia orgánica y estrategias de fertilización química, puede ser otra de las causas de los IVE obtenidos. Al respecto, Da Silva *et al.* (2019) refieren que el potencial osmótico del sustrato afecta la disponibilidad de agua absorbida por las semillas, lo que interfiere en su germinación.

Entre las características de los sustratos, la porosidad es de vital importancia. De ella depende la retención del agua (microporos) y la aireación (macroporos), y tiene una influencia directa en el desarrollo del sistema radical y de la planta en su conjunto (Castillo *et al.* 2013). Sustratos elaborados a partir de polvo de coco, residuos de sisal y suelos rojo arcilloso y amarillo distrófico, mostraron porosidad total similar a la observada en el presente trabajo, con valores entre 40 y 60 %, lo que favorece el desarrollo de la planta (Lacerda *et al.* 2006).

El tipo de suelo utilizado en la elaboración de los sustratos definió su densidad aparente. Este indicador en los sustratos elaborados fue alto, y siempre superior a lo que refieren Pire y Pereira (2003) al evaluar sustratos orgánicos, compuestos por cascarilla de arroz y bagazo de caña. En los sustratos que contenían suelo arenoso varió entre 1.39 y 1.44 g/cm³, con valores superiores a los elaborados con suelos arcillosos. La menor densidad aparente (0.36 g/cm³)

substrate Bioplant.

The structural characteristics of the materials used in the preparation of the substrates may respond to the differences found in this study. Alvarado and Solano (2002) report that the size of the particles is related to the MRC and the AD, since the presence of very small particles reduces the total porosity and increases the amount of retained water, due to the increase in micropores; it also makes it possible to reduce the porosity occupied by air, when reducing the volume of the voids between particles or macropores, which are the largest.

The use of organic sources (sewer sludge and bovine manure) marked the acidity of substrates (table 2). The lowest values (5.21 and 5.80) were found in those made with sewer sludge. When using bovine manure as a source of organic matter, the pH was raised to values between 6.10 and 7.13. According to Silva *et al.* (2013), the increase in pH can be derived from processes that occur in the substrates, such as the reduction of the resulting H⁺ activity, the mineralization of the organic forms of nitrogen, as well as the denitrification and decarboxylation of fatty acids, among others.

The mineral fertilization characterized the electrical conductivity of the substrates, with values higher than the control in the treatments that combined the application of simple superphosphate and potassium chloride. High values of electrical conductivity can show the existence of unfavorable conditions in the environment for the nutrition of the plant, since the excess of salts in the root zone can harm the germination, emergence, development and productivity of the plants.

The physiological indicators of *M. oleifera* seedlings, 60 d after sowing, were similar in all treatments and showed values between 5.86-9.73 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of liquid photosynthetic rate (A); 0.02-0.13 ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of stomatal conductance (gs) and 1.04-1.76 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol H}_2\text{O}^{-1}$) of efficiency in the use of water (E). Leaf temperature ranged between 27.5 and 31.6 (°C).

The morphological characterization of *M. oleifera* species showed that in the elaborated substrates, higher plant height, higher stem diameter and more leaves were reached, although some of them did not significantly differ with respect to the commercial substrate Bioplant (table 5). However, root growth, expressed by root volume, and Dickson's quality index, reached the highest values in the control treatment.

These results show that the quality of the produced seedlings directly depends on the development reached by the seedlings, in which the dry matter of different organs (leaves-stems-roots) necessarily intervenes. The simple use of morphological indicators, such as the plant height and the stem diameter, without taking into account their relation (H index or slenderness index) can lead to defining erroneous times of seedlings use for this species. Salleses *et al.* (2015) state that the slenderness in the

se registró en el sustrato comercial Bioplant.

Las características estructurales de los materiales utilizados en la elaboración de los sustratos pueden dar respuesta a las diferencias encontradas en el presente estudio. Alvarado y Solano (2002) refieren que el tamaño de las partículas se relaciona con la CRH y la DA, ya que la presencia de partículas muy pequeñas hace que disminuya la porosidad total y aumente la cantidad de agua retenida, debido al aumento de microporos; además posibilita que se reduzca la porosidad ocupada por aire, al disminuir el volumen de los huecos entre partículas o macroporos, que son los de mayor tamaño.

El uso de las fuentes orgánicas (lodo de alcantarilla y estiércol bovino) marcó la acidez de los sustratos (tabla 2). Los valores más bajos (5.21 y 5.80) se encontraron en los elaborados con lodo de alcantarilla. Al utilizar estiércol bovino como fuente de materia orgánica, se elevó el pH a valores entre 6.10 y 7.13. Según Silva *et al.* (2013), el aumento del pH se puede derivar de procesos que ocurren en los sustratos, como la reducción de la actividad del H⁺ resultante, la mineralización de las formas orgánicas del nitrógeno, así como la desnitrificación y descarboxilación de los ácidos grasos, entre otros.

La fertilización mineral caracterizó la conductividad eléctrica de los sustratos, con valores superiores al testigo en los tratamientos que combinaron la aplicación de superfosfato simple y cloruro de potasio. Altos valores de conductividad eléctrica pueden señalar la existencia de condiciones desfavorables en el medio para la nutrición de la planta, ya que el exceso de sales en la zona radicular puede perjudicar la germinación, emergencia, desarrollo y productividad de las plantas.

Los indicadores fisiológicos de las posturas de *M. oleifera*, 60 d después de la siembra, fueron similares en todos los tratamientos y mostraron valores entre 5.86-9.73 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de tasa fotosintética líquida (A); 0.02-0.13 ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de conductancia estomática (gs) y 1.04-1.76 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol H}_2\text{O}^{-1}$) de eficiencia en el uso de agua (E). La temperatura de la hoja varió entre 27.5 y 31.6 (°C).

La caracterización morfológica de la especie *M. oleifera* mostró que en los sustratos elaborados se alcanzó mayor altura de la planta, mayor diámetro del tallo y más cantidad de hojas, aunque algunos de ellos no difirieron significativamente con respecto al sustrato comercial Bioplant (tabla 5). No obstante, el crecimiento radicular, expresado mediante el volumen de la raíces, y el índice de calidad de Dickson, alcanzaron los valores más altos en el tratamiento control.

Estos resultados evidencian que la calidad de las posturas producidas depende directamente del desarrollo que alcancen las plántulas, en el que intervienen, necesariamente, la masa seca de distintos órganos (hojas-tallos-raíces). El uso simple de indicadores morfológicos, como la altura de la planta y el diámetro del tallo, sin tener en cuenta su relación (índice H o índice de esbeltez) puede llevar a definir momentos erróneos de utilización de las posturas para esta especie. Salleses

Table 5. Morphological characteristics and quality index of *Moringa oleifera* seedlings, produced on different substrates with sewer sludge and bovine manure

Treatments	Plant height, cm	Stem diameter, mm	Number of leaves/plant	Volume of root/plant, cm ³	DQI
3:1:1:0+SS	12.69 ^a	3.20 ^b	4.45 ^b (19.83)	4.45 ^b	0.22 ^b
3:0:1:0+SS	12.93 ^a	3.19 ^b	4.93 ^a (24.28)	4.80 ^b	0.32 ^b
3:1:0:1+SS	13.92 ^a	3.71 ^a	4.80 ^a (23.30)	4.31 ^b	0.29 ^b
3:0:0:1+SS	12.35 ^a	3.44 ^b	4.53 ^b (20.90)	3.30 ^b	0.26 ^b
3:1:1:0+KCL	11.86 ^b	3.32 ^b	4.25 ^b (18.05)	3.90 ^b	0.27 ^b
3:0:1:0+KCL	-	-	-	-	-
3:1:0:1+KCL	13.95 ^a	3.73 ^a	4.63 ^a (21.14)	5.70 ^b	0.36 ^b
3:0:0:1+KCL	13.52 ^a	5.59 ^a	4.28 ^b (18.38)	4.78 ^b	0.26 ^b
3:1:1:0+SS+KCL	11.12 ^b	3.33 ^b	4.43 ^b (16.65)	3.90 ^b	0.25 ^b
3:0:1:0+SS+KCL	-	-	-	-	-
3:1:0:1+SS+KCL	12.96 ^a	3.74 ^a	5.08 ^a (25.93)	3.60 ^b	0.26 ^b
3:0:0:1+SS+KCL	12.26 ^a	3.59 ^a	4.25 ^b (18.13)	3.80 ^b	0.19 ^b
Control (Bioplant)	10.05 ^b	3.28 ^b	3.85 ^c (14.95)	8.25 ^a	0.56 ^a
SE ±	0.71 [*]	0.12 ^{**}	0.14 ^{***}	0.61 ^{***}	0.03 ^{***}
Significance	P<0.0143	P<0.0077	P<0.0001	P<0.0002	P<0.0001

^{abc}Means with different superscripts in the same row differ from the Scott-Knott test at 5 %

* P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001

- Indicates that no emergency occurred

seedlings production from *Eucalyptus* species should be less than two so that the plant is balanced. According to Luna (2019), the recommended values of this indicator should be high and depend on the species.

Paiva and Gomes (2012) pointed out multiple morphological characteristics to evaluate the seedlings quality of forest species, and highlighted among them the plant height and its diameter due to its easy measurement. However, as could be observed in this research, these indicators are not always going to be directly related to the best quality of seedlings, since it is necessary to take into account the interdependence that exists between root development and the development of the aerial part of the plant, as reported by Close *et al.* (2010).

The Dickson quality index (DQI) is the most accepted indicator to evaluate the quality of the seedlings produced in nurseries, since it expresses the balance of the mass distribution and the robustness of the seedlings (Cobas *et al.* 2015). However, the number of plants used for its calculation is lower than that used in other indices, when considering the total dry weight of the plant, the dry weight of the aerial part and the root dry weight. Aguirre *et al.* (2018) obtained DQI in *M. oleifera* higher than those of this research, when they studied the effect of the substrate on the seedlings quality of five forest species. This result could be influenced by the type of soil used in both researchers. However, in this study, the DQI values for the elaborated substrates show that they are of medium quality (Rueda *et al.* 2014).

In this analysis, another element to consider is

et al. (2015) afirman que la esbeltez en la producción de postura de especies de *Eucalyptus* debe ser inferior a dos para que la planta esté equilibrada. Según Luna (2019), los valores recomendados de este indicador deben ser altos y dependen de la especie.

Paiva y Gomes (2012) señalaron múltiples características morfológicas para evaluar la calidad de las posturas de especies forestales, y destacaron entre ellas la altura de la planta y su diámetro por su fácil medición. No obstante, como se pudo observar en esta investigación, estos indicadores no siempre se van a relacionar directamente con la mejor calidad de las posturas, ya que se debe tener en cuenta la interdependencia que existe entre el desarrollo radicular y el desarrollo de la parte aérea de la planta, como refieren Close *et al.* (2010).

El índice de calidad de Dickson (ICD) es el indicador más aceptado para evaluar la calidad de las posturas producidas en viveros, ya que expresa el equilibrio de la distribución de la masa y la robustez de las posturas (Cobas *et al.* 2015). Sin embargo, el número de plantas utilizadas para su cálculo es inferior al que se usa en otros índices, al considerar el peso seco total de la planta, el peso seco de la parte aérea y el peso seco de la raíz. Aguirre *et al.* (2018) obtuvieron ICD en *M. oleifera* superiores a los de esta investigación, cuando estudiaron el efecto del sustrato en la calidad de plántulas de cinco especies forestales. En este resultado pudo influir el tipo de suelo que se utilizó en ambas investigaciones. No obstante, en este trabajo, los valores de ICD para los sustratos elaborados indican que son de calidad media (Rueda *et al.* 2014).

En este análisis, otro elemento a considerar se relaciona con el efecto que puede provocar el volumen

related to the effect that root volume can cause on the morphological attributes of nursed plants. Table 5 shows that the commercial substrate Bioplant did not always show the highest values for the morphological indicators studied, but it did show the highest root volume and the highest quality index of seedlings. This result can be directly related to the response mechanisms developed by plants to a variation in the availability of resources. In this case, of substrate nutrients, because they tend to modify the biomass distribution patterns (Camargo and Rodríguez 2006).

According to Lagoute *et al.* (2009), the supply of photoassimilates and different growth regulators are interrelated with the root volume, since the aerial biomass depends on the root biomass for the mechanical anchoring of the plant to the soil (substrate), the absorption of water and nutrients and the production of hormones.

From the analysis performed, it is concluded that the use of sewer sludge and bovine manure in substrates for the production of *M. oleifera* seedlings constitutes an appropriate alternative with results similar to those obtained with the commercial substrate Bioplant. It is recommended to carry out economic feasibility studies to assess its inclusion in the commercial production of substrates.

Acknowledgments

Thanks to the Fundación de Amparo a Investigaciones in Minas Gerais state (FAPEMIG) for the financial support for the execution of this research and for the conception of a post-doctorate scholarship for the first author. Likewise, gratitude is expressed to the Laboratory of Harmful Plants from the Institute of Agrarian Sciences of the Federal University of Minas Gerais for facilitating the execution of this project.

Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interests among them

Author's contribution

Jatnel Alonso Lazo: Original idea, design and conducting the experiment, statistical analyses, manuscript writing

Iago Thomaz do Rosario Vieira: Conducting the experiment, data analyses, lab analyses

Gerardo Ribeiro Zuba Junio: Conducting the experiment, data analyses, lab analyses

Mariana Ferreira Rabelo Fernandes: Conducting the experiment, lab analyses

Leonardo Michel Rocha: Conducting the experiment, analyses of physiological parameters

Leonardo Michel Rocha: Conducting the experiment, analyses of physiological parameters

Leonardo David Tuffi Santos: Original idea manuscript writing

Regynaldo Arruda Sampaio: Original idea manuscript writing Idea original, redacción del manuscrito.

radicular en los atributos morfológicos de las plantas viverizadas. En la tabla 5 se muestra que el sustrato comercial Bioplant no siempre mostró los mayores valores para los indicadores morfológicos estudiados, pero sí dejó ver el mayor volumen radicular y el más alto índice de calidad de las posturas. Este resultado se puede relacionar directamente con los mecanismos de respuesta desarrollados por las plantas ante una variación en la disponibilidad de recursos. En este caso, de nutrientes del sustrato, porque tienden a modificar los patrones de distribución de biomasa (Camargo y Rodríguez 2006).

De acuerdo con Lagoute *et al.* (2009), el suministro de fotoasimilados y diferentes reguladores del crecimiento se interrelacionan con el volumen radicular, ya que la biomasa aérea depende de la biomasa radicular para el anclaje mecánico de la planta al suelo (sustrato), la absorción de agua y nutrientes, y la producción de hormonas.

A partir del análisis realizado se concluye que la utilización del lodo de alcantarilla y el estiércol bovino en sustratos para la producción de posturas de *M. oleifera* constituye una alternativa oportuna con resultados similares a los que se obtienen con el sustrato comercial Bioplant. Se recomienda realizar estudios de factibilidad económica para valorar su inclusión en la producción comercial de sustratos.

Agradecimientos

Se agradece a la Fundación de Amparo a Investigaciones en el estado de Minas Gerais (FAPEMIG) por el apoyo financiero para la ejecución de esta investigación y por la concepción de la beca de posdoctorado para el primer autor. De igual manera, se expresa gratitud al Laboratorio de Plantas Dañinas del Instituto de Ciencias Agrarias de la Universidad Federal de Minas Gerais por facilitar la ejecución de dicho proyecto.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflict de intereses

Contribucion de los autores

Jatnel Alonso Lazo: Idea original, diseñó, montó y condujo el experimento, realizó los análisis estadísticos, redacción del manuscrito.

Iago Thomaz do Rosario Vieira: Conducción del experimento, obtención y análisis de datos, análisis de laboratorio.

Gerardo Ribeiro Zuba Junio: Conducción del experimento, obtención y análisis de datos, análisis de laboratorio.

Mariana Ferreira Rabelo Fernandes: Conducción del experimento, análisis de laboratorio.

Leonardo Michel Rocha: Conducción del experimento, medición y análisis de variables fisiológicas.

Guilherme Augusto de Paiva Ferreira: Conducción del experimento, obtención y análisis de datos.

Leonardo David Tuffi Santos: Idea original, redacción del manuscrito.

Regynaldo Arruda Sampaio: Idea original, redacción del manuscrito.

References

- Aguirre, S.E., Piraneque, N.V.G. & Barrios, N. 2018. "Análisis del efecto del sustrato sobre la calidad de plántulas en cinco especies forestales adaptadas a Santa Marta-Colombia". *Revista Espacio*, 39(47): 1-7, ISSN: 0798 1015.
- Allen, K.S., Harper, R.W., Bayer, A. & Brazee, N.J. 2017. "A review of nursery production systems and their influence on urban tree survival". *Urban Forestry & Urban Greening*, 21: 183-191, ISSN: 1618-8667, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2016.12.002>.
- Alvarado, V.M. & Solano, S.J. 2002. Producción de sustratos para vivero. Proyecto regional de fortalecimiento de la vigilancia fitosanitaria en cultivos de exportación no tradicional-VIFINEX. Costa Rica, p. 47 p.
- Da Silva, E.C.A., Costa, J.R.S., Da Costa, P.C.F., Cunha de Alcantara, A.M.A., Dos Santos, C.A. & Nogueira, R.J.M. 2019. "Salinidade na emergência e no crescimento inicial de mulungu". *Ciência Agrícola*, 17(1): 63-69, ISSN: 2447-3383.
- Camargo, I. & Rodríguez, N. 2006. "Nuevas perspectivas para el estudio de la asignación de biomasa y su relación con el funcionamiento de plantas en ecosistemas neotropicales". *Acta Biológica Colombiana*, 11(supl.1): 75-87, ISSN: 0120-548X.
- Castillo, I.C., Valdés, M.A., Pérez, J.M. & Mederos, A. 2013. "Influence of three organic substrates in some morphological parameters of the plant *Moringa* (White acacia) obtained in liveros container". *Revista Cubana de Ciencias Forestales*, 1: 23-32, ISSN: 2310-3469.
- Close, D.C., Paterson, S., Corkrey, R. & McArthur, C. 2010. "Influences of seedling size, container type and mammal browsing on the establishment of *Eucalyptus* globules in plantation forestry". *New Forests*, 39(1): 105-115, ISSN: 1573-5095, DOI: <https://doi.org/10.1007/s11056-009-9158-3>.
- Cobas, M.L., Bonilla, M.V. & Ramos, Y.C. 2015. "Efecto del sustrato en la calidad de la planta de *Albizia procera* cultivada en tubetes". *Revista Cubana de Ciencias Forestales*, 3(2): 4-11, ISSN: 2310-3469.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M. & Robledo, C.W. 2012. InfoStat, Version 2012 (Windows). Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Available: <http://www.infostat.com.ar>.
- Dickson, A., Leaf, A.L. & Hosner, J.F. 1960. "Quality appraisal of white spruce and white pine seed lingstock in nurseries". *The Forest Chronicle*, 36(1): 10-13, ISSN: 1499-9315, DOI: <https://doi.org/10.5558/tfc36010-1>.
- EMBRAPA. 1997. Manual de Métodos de Análise de Solo. 2nd Ed. Ed. EMBRAPA-CNPS. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Rio de Janeiro, Brasil, p. 212, ISBN: 85-85864-03-6.
- Lacerda, M.R., Passos, M.A., Rodrigues, J.J. & Barreto, L.P. 2006. "Características físicas e químicas de substratos à base de pó de coco e resíduo de sisal para produção de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* benth) ". *Revista Árvore*, 30(2): 163-170, ISSN: 1806-9088, DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622006000200002>.
- Lagoutte, S., Divo, M. de Sesar & Vilella, F. 2009. "Efecto del tamaño de celdas y citoquininas en el crecimiento de plantas de petunia". *Phyton International Journal of Experimental Botany*, 78(1): 31-36, ISSN: 1851-5657.
- Levene, H. 1960. Robust tests for the equality of variance. *Contributions to Probability and Statistics*. 1st Ed. Ed. Stanford University Press, Palo Alto, California, USA, pp. 278-292.
- Luna, C.V. 2019. "Evaluación de sustratos y concentraciones de fertilizantes sobre el crecimiento de pino tadea (*Pinus taeda* L.) en vivero". *Revista Agronómica del Noroeste Argentino*, 39(1): 19-29, ISSN: 2314-369X.
- Maguire, J.D. 1962. "Speed of germination—aid in selection and evaluation for seedling emergence and igour". *Crop Science*, 2(2): 176-177, ISSN: 1435-0653, DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>.
- Mateo-Sánchez, J.J., Bonifacio, R., Pérez, S.R., Mohedano, L. & Capulín, J. 2011. "Producción de (*Cedrela odorata* L.), en sustrato a base de aserrín crudo en sistema tecnificado en Tecpan de Galeana, Guerrero, México". *Ra Ximhai*, 7(1): 123-132, ISSN: 1665-0441.
- Noguera-Talavera, A., Sánchez, N., Membreño, J.J., Duarte, C. & Mendieta, 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: 1998-8850.
- Paiva, H.N. & Gomes, J.M. 2012. Propagação vegetativa de espécies florestais. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, p. 40 (Boletim 322).
- Padilla, C., Fraga, N., Scull, I., Tuero, R. & Sarduy, L. 2014. "Effect of cut height on indicators of forage production of *Moringa oleifera* cv. Plain". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 48(4): 405-409, ISSN: 2079-3480.
- Pire, R. & Pereira, A. 2003. "Propiedades físicas de componentes de sustratos de uso común en la horticultura del estado Lara, Venezuela. Propuesta metodológica". *Bioagro*, 15(1): 55-63, ISSN: 1316-3361.
- Queiroz, I.R. 2014. Produção de mudas de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em sustrato contendo lodo de esgoto. Dissertação de Mestrado em Produção Vegetal. Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brasil, p. 74.
- Rueda, A., Benavides, J., Saenz, J., Flores, M., Jesús, H., Prieto, J. & Orozco, G. 2014. "Calidad de planta producida en los viveros forestales de Nayarit". *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 5(22): 58-73, ISSN: 2007-1132.
- Salto, C.S., García, M.A. & Harrand, L. 2013. "The influence of different substrata and containers on morphological attributes of two species of *Prosopis* seedlings". *Quebracho-Revista de Ciencias Forestales*, 21(1-2): 90-102, ISSN: 0328-0543.
- Salleses, L., Rizzo, P., Riera, N., Della Torre, V., Crespo, D. & Pathauer, P. 2015. "Efecto de compost de guano avícola en la producción de clones híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus camaldulensis*". *Ciencia del Suelo. Revista de la Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo*, 33(2): 221-228, ISSN: 0326-3169.
- Schultze-Kraft, R., Rao, I.M., Peters, M., Clements, R.J., Bai, C. & Liu, G. 2018. "Tropical forage legumes for environmental benefits: An overview". *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 6(1): 1-14, ISSN: 2346-3775, DOI: [http://dx.doi.org/10.17138/TGFT\(6\)1-14](http://dx.doi.org/10.17138/TGFT(6)1-14).

- Shapiro, S. & Wilk, B. 1965. "An analysis of variance test for normality (complete samples) ". *Biometrika*, 52(2): 591-611, ISSN: 1464-3510, DOI: <http://dx.doi.org/10.2307/2333709>
- Silva, V.M., Ribeiro, P.H., Teixeira, A.F. & Souza, J.L. 2013. "Quality of organic compounds prepared with different proportions of gliricidia (*Gliricidia sepium*) branches". *Revista Brasileira de Agroecologia*, 8(1): 187-198, ISSN: 1980-9735.
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M. & de Haan, C. 2009. *La larga sombra del ganado: problemas ambientales y opciones*. Ed. FAO. Roma, Italia, p. 493, ISBN: 978-92-5-305571-5.

Received: September 20, 2010

Accepted: April 4, 2021