

Efecto de la inoculación de *Azospirillum* spp. sobre el contenido nutrimental de moringa (*Moringa oleifera* Lam.)

Inoculation effect of *Azospirillum* spp. over nutrimental content of moringa (*Moringa oleifera* Lam.)

Mario Alejandro Hernández-Chontal¹ , Dinora Vázquez-Luna² , Ariadna Linares-Gabriel¹ , Gloria Esperanza De Dios-León^{3‡} , Armando Guerrero-Peña⁴  y Nereida Rodríguez-Orozco⁵ 

¹ Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz. Carretera federal Xalapa-Veracruz km. 88.5, Tepetates. 91690 Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, México.

² Facultad de Ingeniería en Sistemas de Producción Agropecuaria-Acayucan, Universidad Veracruzana. Carretera Costera del Golfo km 220, Col. Agrícola Micahapan. 96100 Acayucan, Veracruz, México.

³ Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Veracruzana. Carretera Peñuelas Amatlán km 177. 94500 Córdoba, Veracruz, México.

‡ Autora para correspondencia (gdedios@uv.mx)

⁴ Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. Periférico Carlos A. Molina s/n. 86500 Heroica Cárdenas, Tabasco, México.

⁵ Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana. Lomas del Estadio s/n. 91000 Xalapa, Veracruz, México.

RESUMEN

La moringa es utilizada para consumo humano y animal debido a su alto contenido de proteínas, vitaminas y minerales. El presente estudio analizó y evaluó la efectividad de *Azospirillum* spp., sobre el contenido nutrimental de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) en condiciones de vivero. El diseño experimental consistió en cuatro tratamientos con seis repeticiones en bloques completos al azar, los cuales consistieron en la inoculación a 0.5, 1 y 1.5 mL de suspensión con 9.8×10^5 UFC mL⁻¹ de *Azospirillum* spp. Las variables de estudio: biomasa, proteína, macro (P, K, Ca y Mg) y micronutrientos (Na, Fe, Cu y Mn) en hojas y tallos se determinaron a los 70 días después de la siembra. El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas significativas entre tratamientos únicamente para las variables: contenido de potasio en hojas y contenido de calcio, fierro y sodio en tallo. De acuerdo a la comparación de medias ($P \leq 0.05$) los mejores tratamientos fueron los que recibieron 0.5 y 1 mL de suspensión. La inoculación de *Azospirillum*, no logró aumentar el peso seco y los contenidos de proteína; sin embargo, los valores más altos (30.2% proteína cruda) se asociaron a su aplicación. La ausencia de efectos significativos en las demás variables evaluadas se asocia con la concentración del inoculo, sin embargo, se muestran valores superiores en los contenidos de

nutrientes en relación con resultados reportados en otras investigaciones.

Palabras clave: biomasa, biofertilizantes, prácticas agroecológicas.

SUMMARY

Moringa is used for human and animal consumption due to its high content of proteins, vitamins and minerals. The present study analyzed and evaluated the effectiveness of *Azospirillum* spp. over the nutritional content of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) under nursery conditions. The experimental design consisted of four treatments with six repetitions in complete blocks at random, which consisted of the inoculation at 0.5, 1 and 1.5 mL of suspension with 9.8×10^5 CFU mL⁻¹ of *Azospirillum* spp. The study variables: biomass, protein, macro (P, K, Ca and Mg) and micronutrients (Na, Fe, Cu and Mn) in leaves and stems were determined 70 days after sowing. The analysis of variance showed significant statistical differences between treatments only for the variables: potassium content in leaves and calcium content, iron and sodium in stem. According to the comparison of means ($P \leq 0.05$) the best treatments were those that received 0.5 and 1 mL of suspension. The inoculation of *Azospirillum*, failed to increase the dry weight and protein contents; however, the highest

Cita recomendada:

Hernández-Chontal, M. A., D. Vázquez-Luna, A. Linares-Gabriel, G. Esperanza De Dios-León, A. Guerrero-Peña y N. Rodríguez-Orozco. 2019. Efecto de la inoculación de *Azospirillum* spp. sobre el contenido nutrimental de moringa (*Moringa oleifera* Lam.). *Terra Latinoamericana* 38: 29-38.

DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.542>

Recibido: 26 de abril de 2019.

Aceptado: 12 de agosto de 2019.

Publicado en *Terra Latinoamericana* 38: 29-38.

values (30.2% crude protein) were associated with its application. The absence of significant effects in the other variables evaluated is associated with inoculum concentration, however, higher values are shown in the nutrient contents in relation to results reported in other research.

Index words: *biomass, biofertilizers, agroecological practices.*

INTRODUCCIÓN

El árbol de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) crece en áreas tropicales, posee hojas perennes y es de crecimiento rápido (1 a 2 m por año), alcanzando hasta 12 m de altura en los primeros 3 a 4 años (Pina *et al.*, 2018). Su propagación es por semillas o plantando fragmentos de la planta (tallos, raíces o ramas), suele ser resistente a diversos climas, sin embargo, es vulnerable en tiempos de viento y sequía (Meza-Leones *et al.*, 2018). Contiene macro y micronutrientes de gran importancia para la nutrición humana, aunque la composición química de las diferentes partes del árbol de moringa puede variar según el cultivar y la fuente ej. la hoja, semilla y flor (Oyeyinka y Oyeyinka, 2018). Así como de las condiciones de estrés hídrico en que se cultive (Archila *et al.*, 2018). Además por la plasticidad de la planta sus potencialidades forrajeras y nutritivas en función de la edad de la planta, pueden ser utilizadas en la alimentación animal (Leda-Rodríguez *et al.*, 2018a, b). La planta es totalmente comestible desde las hojas hasta las raíces y pueden contener importantes fuentes de minerales como calcio, fósforo, hierro y vitaminas, principalmente A, B y C (Bolarinwa *et al.*, 2019).

Por otra parte, el contenido de proteína es una de las características más importantes de la planta, se ha encontrado en el rango de 21.1 a 24.7% en hojas sin manejo de fertilización (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2015) y los rangos de la biomasa oscilan entre 5.5 a 6.6 Mg de MS ha⁻¹ (Lok y Suárez, 2014). Bajo condiciones de fertilización química u orgánica, los valores nutrimentales de esta planta pueden incrementar significativamente (del Toro *et al.*, 2012; Guzmán-Albores *et al.*, 2019).

Como una estrategia para reducir el impacto agresivo de agroquímicos, disminuir los costos de producción y aumentar el rendimiento de los cultivos

(Ferreira *et al.*, 2019), se planteó para este estudio el uso de *Azospirillum* spp. El cual es un microorganismo beneficioso para las plantas con habilidad para eliminar patógenos del suelo, producir reguladores del crecimiento (Bashan y De-Bashan, 2010), ayudar a aumentar el crecimiento de plantas mediante la mejora de la absorción de nutrientes (también incorporar N del aire en el suelo), alivio de tensiones como la sequía, salinidad, contaminación de metales pesados, las altas temperaturas para el establecimiento de plántulas, control de enfermedades y a su vez mejorar la estructura de los agregados del suelo y la reducción de la erosión (Mridha y Al-Barakah, 2017), esto mejora las condiciones del suelo y la capacidad de la planta para lograr el máximo rendimiento (Khademian *et al.*, 2019), la absorción de agua y de esta forma aumentar el desarrollo y rendimiento de las plantas (Dalla Santa *et al.*, 2004; Mehran *et al.*, 2011). De acuerdo a Zayed (2012) las inoculación con *Azospirillum* en plantas de moringa tiene efectos sobre el contenido de nutrientes en las hojas, lo cual impacta en una mejor calidad nutrimental. Con base en lo anterior, el objetivo del presente estudio fue analizar y evaluar el efecto de *Azospirillum* spp., sobre el contenido nutrimental de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) bajo condiciones de vivero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio

El experimento se estableció bajo condiciones de vivero en la comunidad de Almagres, municipio de Sayula de Alemán, Veracruz, México. Sitio con coordenadas de 17° 48" N y 94° 56" O (Figura 1) y altitud de 40 m. La zona tiene un clima cálido subhúmedo (Aw2) (García, 1998) y la precipitación y la temperatura media anual es de 1750 mm y 25 °C, respectivamente.

El suelo recolectado para la germinación de las semillas y para el trasplante donde se establecieron las plantas se muestran en el Cuadro 1, los análisis físico químicos se realizaron de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000 (Norma Oficial Mexicana, 2002) en el Laboratorio Agroindustrial, Suelo, Planta y Agua (LASPA) del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco.

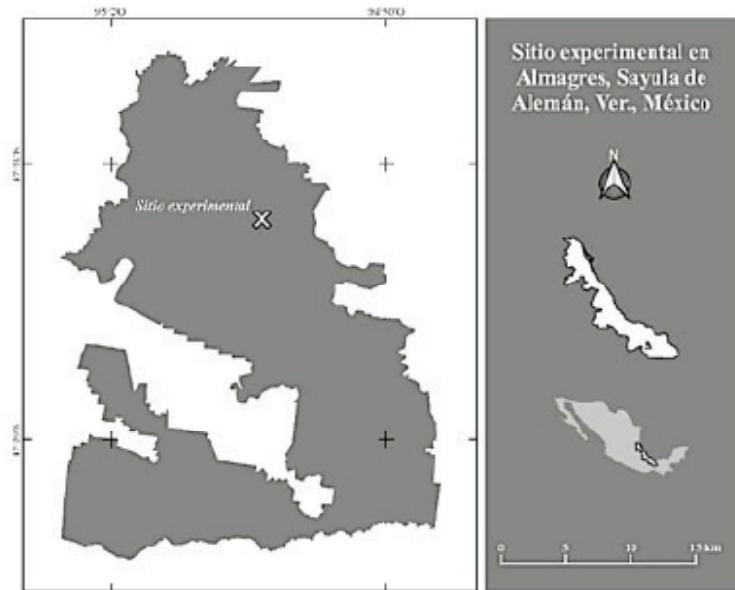


Figura 1. Sitio experimental bajo condiciones de vivero en Almagres, Veracruz, México. (Fuente: elaboración propia).

Figure 1. Experimental site under nursery conditions in Almagres, Veracruz, Mexico. (Source: Author design).

Obtención de *Azospirillum* spp.

Las bacterias del género *Azospirillum* spp., se obtuvieron por extracción de suelo rizosférico de cacahuate forrajero (*Arachis pintoi*), localizados en la Facultad de Ingeniería en Sistemas de Producción Agropecuaria de la Universidad Veracruzana (Acayucan, Veracruz, México) a través del método de conteo viable de células vivas por siembra en superficie (Madigan *et al.*, 2009). Se utilizaron diluciones seriadas con base en 10, diluyéndose 10 g de suelo en 90 mL de agua estéril, hasta 10^{-2} . Una vez que se obtuvo la cepa, se purificó y se siguió el procedimiento reportado por Córdova-Bautista *et al.* (2009) utilizando el medio de cultivo Rojo Congo Döbereiner para *Azospirillum* spp.

El conteo de células viables se efectuó contabilizando las unidades formadoras de colonias (UFC) que crecieron en la superficie del medio de cultivo de la caja Petri, luego se transformó a UFC mL^{-1} , dando como resultado 9.8×10^5 UFC de *Azospirillum* spp.

Proceso de Evaluación

De abril a julio de 2016 se evaluaron las etapas de germinación, trasplante y cosecha de la planta moringa. Para la etapa de germinación, las semillas se sumergieron en agua durante 24 horas antes de la siembra de acuerdo a Padilla *et al.* (2012), utilizando bandejas con 60 cavidades de 61.2 cm^2 cada una, utilizando una semilla por cavidad. Posteriormente,

Cuadro 1. Análisis químico y físico del suelo del sitio experimental, Almagres, municipio de Sayula de Alemán, Veracruz, México.
Table 1. Chemical and physical analysis of the soil of the experimental site, Almagres, municipality of Sayula de Alemán, Veracruz, Mexico.

pH	CE	MO	Nt	P Olsen	K	CIC	Clase textural
1:02	dS m ⁻¹	- - - - % - - - -	- - - -	mg kg ⁻¹	- - - - mol kg ⁻¹ - - -	- - -	- - -
6.7	0.43	2.3	0.55	69.8	2.3	37.7	Arcilloso

CE = conductividad eléctrica; MO = materia orgánica; Nt = nitrógeno total; P = fosforo disponible; K = potasio; CIC = capacidad de intercambio catiónico.
 CE = electrical conductivity; MO = organic matter; Nt = total nitrogen; P = available phosphorus; K = potassium; CIC = cation exchange capacity.

a los 25 días después de la siembra (DDS), se realizó el trasplante a bolsas de polietileno de un tamaño de 15×25 cm.

Inoculación de *Azospirillum* spp.

Se realizaron dos inoculaciones aplicadas al suelo en forma de disolución acuosa. La primera inoculación se realizó a los 10 días después del trasplante (DDT) y la segunda inoculación a los 15 días DDT. Las cantidades de inoculo aplicado fueron: 0.5, 1 y 1.5 mL de suspensión con 9.8×10^5 UFC mL⁻¹ de *Azospirillum* spp.

Diseño Experimental y Tratamientos

Se utilizó un diseño de bloques al azar con cuatro tratamientos y seis repeticiones, los cuales fueron: T₁AZ: Tratamiento 1 (0.5 mL de suspensión), T₂AZ: tratamiento 2 (1 mL de suspensión), T₃AZ: tratamiento 3 (1.5 mL de suspensión) y TSI: tratamiento sin inoculación (control). La unidad experimental consistió en una planta de *Moringa oleifera* Lam., con un arreglo espacial entre plantas de 30×30 cm.

Cosecha de las Plantas

Las plantas fueron cosechadas a 70 días después de la siembra (DDS). Para todos los tratamientos, los componentes de la planta (hojas compuestas y tallos) fueron colectados y lavados por separado usando agua corriente, posteriormente se realizó el lavado con agua destilada. Finalmente, una vez lavadas y secadas, se colocaron en bolsas de papel para meterlas en estufa de aire forzado a 60 °C, hasta obtener peso constante; después fueron molidas con criba de 2 mm.

Variables Evaluadas

Las variables del material vegetal fueron estimadas de la siguiente manera: Peso seco en hoja y tallo (g) con la fórmula = (biomasa húmeda * % MS)/100. Proteína cruda (%) = método micro Kjeldahl (% N * 6.25) descrito por la AOAC (2000).

Los siguientes elementos se determinaron por los métodos descritos por Alcántar y Sandoval (1999), los cuales se validaron en el Laboratorio Agroindustrial, Suelo, Planta y Agua (LASPA) del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco: el fósforo

(P, %) y potasio (K, %) se midieron en el digestado con HNO₃ / HClO₄, la cuantificación del fósforo con espectrofotómetro UV-visible (Marcs Perkin Elmer, Modelo LAMBDA 10) y el potasio por espectrometría de absorción atómica (Perkin Elmer, Modelo 5000). El calcio (Ca, %), magnesio (Mg, %), sodio (Na, %), hierro (Fe, mg kg⁻¹), cobre (Cu, mg kg⁻¹), zinc (Zn, mg kg⁻¹) y manganeso (Mn, mg kg⁻¹) se midieron usando un espectrofotómetro UV-visible y por espectrometría de absorción atómica.

Análisis Estadístico

Los datos se analizaron mediante el programa Statistical Analysis System versión 9.0 (SAS, 2014) y la comparación de medias se hizo con las variables que resultaron con diferencias estadísticas significativas con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Los datos de porcentaje se transformaron con raíz cuadrada, antes de realizar el análisis de varianza. En general, podemos decir que los datos que requieren la transformación con la raíz cuadrada no violan los supuestos del análisis de varianza debido a que los datos se hicieron más normales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos únicamente en las variables: contenido de potasio en hojas y contenido de calcio y hierro en tallo y se encontró diferencia significativa en el contenido de sodio en tallo, como se muestra en el Cuadro 2.

Peso Seco y Proteína Cruda

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a las variables peso seco de hoja y de tallo ($P \leq 0.05$); en promedio se produjeron valores de 2.3 g en hoja y en el tallo, varió de 1.5 a 1.8 g. Respecto al contenido de proteína cruda en hojas y tallos, no se observaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos, como se muestra en el Cuadro 3.

En el presente estudio la inoculación de *Azospirillum* spp. no afectó significativamente el rendimiento, lo que podría ser causado por la concentración del inoculo, la cual se relaciona directamente con los cambios que puede generar *Azospirillum* a nivel radicular: de acuerdo a Zayed (2012) encontró que las plántulas de moringa

Cuadro 2. Análisis de varianza ($P \leq 0.05$) de hoja y tallo en *Moringa oleifera* Lam.**Table 2. Analysis of variance ($P \leq 0.05$) of leaf and stem in *Moringa oleifera* Lam.**

Variable	Componente de la planta	Nivel de significancia	Componente de la planta	Nivel de significancia
Peso seco	Hoja	0.9225*	Tallo	0.5634*
Proteína cruda	Hoja	0.0981	Tallo	0.9288
Fósforo	Hoja	0.9288	Tallo	0.1187
Potasio	Hoja	0.0002	Tallo	0.1341
Calcio	Hoja	0.7060	Tallo	0.0020
Magnesio	Hoja	0.3637	Tallo	0.6549
Sodio	Hoja	0.6498	Tallo	0.0270
Fierro	Hoja	0.7991	Tallo	0.0001
Cobre	Hoja	0.2603	Tallo	0.5560
Manganeso	Hoja	0.3047	Tallo	0.4128

* $P \geq 0.05$, no significativo. * $P \geq 0.05$, Not significant.

tratadas con *Azospirillum brasilense* mostraron un aumento significativo en el peso seco de las hojas de moringa en comparación con el control, resultados que difieren a los encontrados en este estudio, donde no se obtuvieron diferencias significativas, cabe mencionar que estos autores utilizaron una mayor concentración de UFC. García *et al.* (2010) encontraron que las cepas nativas de *Azospirillum* spp. aumentaron los niveles de materia seca de hojas y raíces de *Oryza sativa* L.; Cárdenas Caro *et al.* (2014) reportaron incrementos de 45.67% en materia seca foliar en plantas de *Panicum maximum* Jacq tratadas con *Azospirillum* y Das *et al.* (2007) muestran una mayor producción de biomasa en la planta de *Rebaudiana Bert*, con la aplicación de *Azospirillum*.

En cuanto a los contenidos de proteína cruda, Guzmán-Maldonado *et al.* (2015) mencionan que se

pueden encontrar valores del 21% y Moyo *et al.* (2011) refiere que este valor puede llegar a ser de 30.3% en hojas de moringa, lo cual dependerá de la fertilización o no del cultivo. El presente estudio sugiere que la inoculación a 0.5, 1 y 1.5 mL de suspensión con 9.8×10^5 UFC mL⁻¹ de *Azospirillum* spp., no aumentó estadísticamente los porcentajes de proteína con respecto a los resultados del control. Sin embargo, se encontró que con 1 mL de suspensión, se obtiene 30.2% de proteína. Los valores de proteína encontrados por (Guzmán-Albores *et al.*, 2019) son menores a los de este estudio, los cuales estuvieron en un rango de 22.9-24% a los 45 días después de la emergencia de la planta.

Aunque no se encontraron diferencias estadísticas en cuanto a PC, los valores más altos se asociaron a la inoculación con *Azospirillum* spp. Es importante

Cuadro 3. Peso seco y contenido de proteína cruda en hojas y tallo de moringa cosechada a los 70 días después de la siembra.**Table 3. Dry weight and crude protein content in leaves and stem of moringa harvested 70 days after sowing.**

Tratamiento	Peso seco de hoja	Peso seco de tallo	Proteína cruda en hoja [†]	Proteína cruda en tallo [†]
- - - - - g - - - - -				
T ₃ AZ	2.43 a [‡]	1.82 a	29.2 a	11.5 a
T ₁ AZ	2.35 a	1.59 a	28.6 a	12.0 a
T ₂ AZ	2.37 a	1.78 a	30.2 a	12.3 a
TSI	2.32 a	1.58 a	28.5 a	11.3 a

[†] Medias originales; datos transformados según \sqrt{X} . [‡] Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

[†] Original means; data were transformed according to \sqrt{X} . [‡] Means with the same letter within each column do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

señalar la importancia del N en la determinación de los niveles de PC; y es que los microorganismos benéficos mediante sus procesos metabólicos generan enzimas que catalizan la ruptura de los enlaces del nitrógeno y del ácido fítico constituyéndose en precursores de reacciones químicas (Corrales-Ramírez *et al.*, 2017), además, las plantas de moringa solo se midieron en sus primeras etapas de crecimiento donde la planta no tiene un sistema de raíces bien desarrollado con raíces cortas y no pudo absorber el N del suelo; así que conforme ocurre el crecimiento aumentaría la utilización de N (Leghari *et al.*, 2016). Esto evidencia que en un periodo más largo de evaluación puede mejorarse los niveles de PC.

Los resultados de Zayed (2012) también difieren, debido que al aplicar 5 mL de biofertilizante (10^8 UFC mL⁻¹) de *Azospirillum brasiliense* y *B. megatherium*, encontraron diferencias estadísticas con los niveles más altos de proteína en hojas en comparación con el control (0.433 y 0.41 g de proteína respectivamente). El-Baha *et al.* (2016) usaron el producto HALEX como biofertilizante que incluye cepas de rizobacterias fijadoras de N₂ (*Azospirillum brasiliense*, *Azotobacter chroococcum* y *Klebsiella pneumoniae*) reportando un valor de 23.28%, el cual es inferior a los encontrados en el presente estudio. Adicionalmente, Mazher-Azza *et al.* (2014) utilizaron los biofertilizantes fosforina, rizobactrina, microbina y nitrobina, encontraron valores de proteína de 17.1 a 18.4% en hojas y de 15.4 a 16.2% de proteína en tallos. Attia *et al.* (2014) reportaron valores entre 12.5 y 26.5% de proteína cuando se aplica la combinación de fertilizante mineral con biofertilizante basado en *Azotobacter* y *Bactria* en moringa, sin embargo, los resultados son inferiores a los encontrados en este estudio.

De acuerdo a Davaran-Hagh *et al.* (2015) una dosis al 75% de fertilizante químico nitrogenado más la inoculación con *Azospirillum* afecta significativamente la absorción de nutrientes en maíz. Tal como es el caso del cultivo de sorgo donde la inoculación con *Azospirillum brasiliense* asociada con la fertilización con nitrógeno es beneficiosa para el rendimiento y contenido de N (Teixeira Filho *et al.*, 2018), por lo tanto de proteína.

Calidad Nutrimental de Hojas y Tallos

Con respecto al contenido nutrimentales en hojas de moringa, se observaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos; para la variable contenido de K y de acuerdo a la comparación de medias ($P \leq 0.05$) los mejores tratamientos fueron T₁AZ y T₂AZ, como se muestra en el Cuadro 4. Estos resultados muestran que *Azospirillum* spp. mejoró los contenidos de K en las hojas de moringa y es que, aunque naturalmente, los suelos contienen K en cantidades mayores que cualquier otro nutriente, la mayor parte no está disponible para la absorción de la planta, sin embargo las bacterias benéficas además de proporcionar N para las plantas (a través de fijación de N₂), aumentan el crecimiento y la raíz de las plantas, lo que lleva a una mayor absorción de nutrientes entre ellos el K (Etesami *et al.*, 2017), como se encontró en el estudio realizado. Es necesario precisar que el K es uno de los elementos vitales necesarios para el crecimiento y la fisiología de las plantas, tiene una función reguladora en varios procesos bioquímicos relacionados con la síntesis de proteínas, el metabolismo de los carbohidratos, la activación enzimática, regulación estomática y la fotosíntesis

Cuadro 4. Contenido de nutrientes en hojas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.).

Table 4. Nutrient content in moringa leaves (*Moringa oleifera* Lam.).

Tratamiento	P [†]	K [†]	Ca [†]	Mg [†]	Na [†]	Fe	Cu	Mn
			%			mg kg ⁻¹		
T ₂ AZ	0.35a [‡]	1.4a	1.4a	0.35a	0.01a	80.7a	8a	37.6a
T ₃ AZ	0.33a	0.8b	1.3a	0.31a	0.01a	86.3a	10a	42.8a
T ₁ AZ	0.34a	1.6a	1.2a	0.33a	0.03a	86.1a	7.9a	38.6a
TSI	0.33a	0.9b	1.4a	0.31a	0.01a	95a	8.8a	42.9a

[†] Medias originales; datos transformados según \sqrt{X} . [‡] Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

[†] Original means; data were transformed according to \sqrt{X} . [‡] Means with the same letter within each column do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

lo que contribuye al crecimiento y desarrollo de las plantas (Hasanuzzaman *et al.*, 2018).

En relación con los contenidos nutrimetales en tallos de moringa, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0.05$) para las variables: contenido de Ca, Na y Fe. Según la comparación de medias ($P \leq 0.05$), el control fue el mejor tratamiento para la variable contenido de Ca, para el contenido de Na los mejores tratamientos fueron los tres con *Azospirillum*; para el contenido de Fe el mejor resultado fue con T₁AZ, como se muestra en el Cuadro 5. Los resultados en cuanto al Ca, pueden atribuirse a la capacidad de intercambio catiónico y materia orgánica (retención de cationes) del suelo donde se estableció moringa, por lo que *Azospirillum* spp. no mostró efectos significativos. Los contenidos de Ca se consideran adecuados en concentraciones de 1-5%, ya que las raíces extraen el calcio de la solución del suelo y lo envían a través del xilema, por lo que el flujo de Ca hacia el xilema es alto (White y Broadley, 2003). En cuanto a los efectos significativos de Na por *Azospirillum* spp. es importante tomar en cuenta que moringa es una planta con metabolismo C3, con capacidad de producir frutos de alto valor energético como alimento humano y animal o combustible (Funes-Monzote *et al.*, 2011). En este sentido, aunque la absorción y el movimiento de Na a través de las plantas es limitado en condiciones naturales, es posible aumentar el ciclo del Na a través de las plantas mediante la implementación de prácticas adecuadas de manejo de nutrientes (Subbarao *et al.*, 2003), como sucedió en el estudio realizado. Otro aspecto importante en tipos de planta C3, es que el K puede ser remplazado por el Na en ciertas funciones metabólicas (Gattward *et al.*, 2012). Lo que pudo haber ocurrido en los contenidos de K en los tallos.

Respecto a los efectos significativos de *Azospirillum* spp. en los contenidos de Fe, es un resultado importante ya que generalmente su biodisponibilidad en entornos de pH neutro y aeróbico es limitada (aunque es abundante en los suelos), por lo que un desequilibrio entre la solubilidad del Fe en el suelo y la demanda de Fe por parte de la planta son las causas principales de la clorosis de Fe. El Fe juega un papel importante en diversas vías fisiológicas y bioquímicas en las plantas, ej. Síntesis de clorofila y es esencial para el mantenimiento de la estructura y función del cloroplasto (Rout y Sahoo, 2015). En síntesis, *Azospirillum* spp. mejoró la biodisponibilidad del Fe.

Los valores reportados por Moyo *et al.* (2011) para micro y macro nutrientes en hojas provenientes de plantas sin ningún manejo de fertilización, muestran valores similares de P (0.3%) y K (1.5%) pero valores más altos de Ca (3.65%) y Mn (86.8 mg kg⁻¹) a los encontrados en el presente estudio. Los niveles de Cu (10 mg kg⁻¹) observados en el presente estudio fueron más altos, en comparación con el autor antes mencionado (8.2 mg kg⁻¹). Sin embargo, los contenidos de Cu con *Azospirillum* y el control fueron iguales estadísticamente, esto se debe a que los contenidos de Cu en la planta, están directamente relacionados con los contenidos de Cu en el suelo, ya que la planta de ahí lo adquiere y de ello depende su variación, dónde el contenido es regulado por las células y orgánulos de la planta (Yruela, 2005). También se encontraron contenidos más altos de Cu (10 mg kg⁻¹) y Fe (95 mg kg⁻¹) frente a los encontrados por Zayed (2012) 0.003 mg kg⁻¹ y 1.468 mg kg⁻¹, respectivamente; el mismo autor no encontró efectos significativos de *Azospirillum* en los contenidos de P y K, vale la pena señalar que el autor utilizó 5 mL de biofertilizante basado en *Azospirillum* (10^5 UFC mL⁻¹). El-Baha *et al.* (2016) utilizaron

Cuadro 5. Contenido de nutrientes en tallos de moringa (*Moringa oleifera* Lam.).

Table 5. Nutrient content in stalks of moringa (*Moringa oleifera* Lam.).

Tratamiento	P [†]	K [†]	Ca [†]	Mg [†]	Na [†]	Fe	Cu	Mn
% ----- mg kg ⁻¹ -----								
T ₂ AZ	0.31a [‡]	0.60a	0.57a	0.28a	0.04a	43.6b	7.3a	12.2a
T ₃ AZ	0.28a	0.71a	0.53a	0.27a	0.04a	68.5a	7.4a	11.3a
T ₁ AZ	0.29a	0.68a	0.52a	0.27a	0.03ab	34.4b	8.1a	10.7a
TSI	0.27a	0.65a	0.44b	0.28a	0.02b	32.2b	6.8a	11.7a

[†] Medias originales; datos transformados según \sqrt{X} . [‡] Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

[†] Original means; data were transformed according to \sqrt{X} . [‡] Means with the same letter within each column do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

el producto HALEX como biofertilizante que incluye cepas de rizobacterias fijadoras de N₂ (*Azospirillum brasiliense*, *Azotobacter chroococcum* y *Klebsiella pneumoniae*) y encontraron valores más altos de P (1.63%), Ca (6.61%) y valores similares de K (1.59%) en hojas. Mazher-Azza *et al.* (2014) encontraron valores de P en hojas de 0.20% y K de 1.73% valores más bajos en términos de P y más altos en K en comparación con el estudio. Respecto al contenido de P y K en el tallo, los autores encontraron 0.25 y 1.5%, respectivamente, que son diferentes de los encontrados en este estudio (0.31% P y 0.7% K), estos resultados difieren por el tipo de microorganismo utilizado y su concentración. Attia *et al.* (2014) combinaron fertilizante mineral con biofertilizante basado en *Azotobacter* y *Bactria* en moringa, encontraron resultados menores de P (0.29%), K (1.32%) y Ca (0.58%) en relación con los valores encontrados en este estudio de 0.35%, 1.6% y 1.4% de P, K y Ca respectivamente, sin embargo, los valores de Mg fueron iguales (0.35%).

CONCLUSIONES

Con la inoculación de *Azospirillum*, no se logró aumentar el peso seco y los contenidos de proteína; sin embargo, los valores más altos se asociaron a su aplicación. *Azospirillum* mostró efectos significativos para los contenidos de potasio en las hojas y mejoró significativamente los contenidos de calcio, sodio y fierro en los tallos. La ausencia de efectos significativos en las demás variables evaluadas se asocia con la concentración del inoculo, sin embargo se muestran valores superiores en los contenidos de nutrientes en relación con resultados reportados en otras investigaciones.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al laboratorio de geomática del Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, por su apoyo para la realización del mapa.

LITERATURA CITADA

Alcántar, G. and M. Sandoval V. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación. Publicación especial No. 10 de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C. Chapingo, México.

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official methods of analysis. 17th ed. The Association of Official Analytical Chemists, International. Arlington, Texas. Gaithersburg, Maryland, MD, USA.
- Attia, M. F., M. F. M. Shahin, M. A. Merwad, S. El-Hady Eman, and L. F. Haggag. 2014. Effect of mineral, organic and biofertilization on productivity of moringa plant under saline conditions at north sinai. Middle East J. Appl. Sci. 4: 825-832.
- Bashan, Y. and L. E. De-Bashan. 2010. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment. Chapter two. Adv. Agron. 108: 77-136. doi: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)08002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)08002-8).
- Bolarinwa, I. F., T. E. Aruna, and A. O. Raji. 2019. Nutritive value and acceptability of bread fortified with moringa seed powder. J. Saudi Soc. Agric. Sci. 18: 195-200. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.05.002>.
- Cárdenas Caro, D. M., M. F. Garrido Rubiano, B. A. Roncallo Fandiño y R. R. Bonilla Buitrago. 2014. Inoculación con *Azospirillum* spp. y *enterobacter agglomerans* en pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.) en el departamento de cesar (Colombia). Rev. Fac. Nac. Agron.-Medellín 67: 7271-7280. doi: <https://doi.org/10.15446/rfnam.v67n2.44168>.
- Córdoba-Bautista, Y., M. C. Rivera-Cruz, R. Ferrera-Cerrato, J. Obrador-Olán y V. Córdoba-Ávalos. 2009. Detección de bacterias benéficas en suelo con banano (musa aaa simmonds) cultivar 'gran enano' y su potencial para integrar un biofertilizante. Univ. Cienc. 25: 253-265.
- Corrales-Ramírez, L. C., L. Caycedo-Lozano, M. A. Gómez-Méndez, S. J. Ramos-Rojas y J. N. Rodríguez-Torres. 2017. *Bacillus* spp.: Una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. Nova 15: 46-65.
- Dalla Santa, O. R., R. F. Hernández, G. L. M. Alvarez, P. Ronzelli Junior, and C. R. Soccol. 2004. *Azospirillum* sp. Inoculation in wheat, barley and oats seeds greenhouse experiments. Braz. Arch. Biol. Technol. 47: 843-850.
- Das, K., R. Dang, T. N. Shivan, and N. Sekeroglu. 2007. Influence of bio-fertilizers on the biomass yield and nutrient content in stevia rebaudiana bert. Grown in indian subtropics. J. Med. Plants Res. 1: 005-008.
- Davarán-Hagh, E., B. Mirshekari, M. Reza-Ardakani, F. Farahvash, and F. Rejali. 2015. *Azospirillum lipoferum* and nitrogen fertilization effect on chlorophyll content, nutrients uptake and biometric properties of *Zea mays* L. Agrociencia 49: 889-897.
- del Toro M., J. J. A. Carballo Herrera y L. Rocha Roma. 2012. Valoración de las propiedades nutricionales de Moringa oleifera en el departamento de Bolívar. Rev. Cienc. 15: 23-30. doi: <https://doi.org/10.25100/rc.v15i0.514>.
- El-Baha, A. M., H. A. Abou-Gazia, M. Z. M. Salem, N. H. Mohamed, and P. A. Salaheldin. 2016. Initial growth response and chemical composition of Moringa oleifera seedlings to different levels of npk and biofertilizer at two different soil types. Alexandria Sci. Exch. J., Int. Quart. J. Sci. Agric. Environ. 37: 186-196. 10.21608/asejaiqsa.2016.2241.
- Etesami, H., S. Emami, and H. A. Alikhani. 2017. Potassium solubilizing bacteria (ksb): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects A review. J. Soil Sci. Plant Nutr. 17: 897-911. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162017000400005>.

- Ferreira, C., H. M. V. M. Soares, and E. V. Soares. 2019. Promising bacterial genera for agricultural practices: An insight on plant growth-promoting properties and microbial safety aspects. *Sci. Total Environ.* 682: 779-799. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.225>.
- Funes-Monzote, F. R., G. J. Martín, J. Suárez, D. Blanco, F. Reyes, L. Cepero, J. L. Rivero, E. Rodríguez, V. Savran, Y. Valle, M. Cala, M. C. Vigil, J. A. Sotolongo, S. Boillat y J. E. Sánchez. 2011. Evaluación inicial de sistemas integrados para la producción de alimentos y energía en cuba. *Pastos Forrajes 34*: 445-462.
- García, E. 1998. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía, UNAM. México, D. F.
- García, F., H. Muñoz, C. Carreño, and G. Mendoza. 2010. Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp. Y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L.“Arroz” en lambayeque. *Sci. Agropec.* 1: 107-116.
- Gattward, J. N., A. A. Almeida, J. O. Souza Jr, F. P. Gomes, and H. J. Kronzucker. 2012. Sodium–potassium synergism in theobroma cacao: Stimulation of photosynthesis, water-use efficiency and mineral nutrition. *Physiol. Plant.* 146: 350-362. doi: 10.1111/j.1399-3054.2012.01621.x.
- Guzmán-Albores, J. M., M. L. Ramírez-Merchant, E. C. Interiano-Santos, L. A. Manzano-Gómez, J. H. Castañón-González, R. Winkler, M. Abud-Achila, J. A. Montes-Molina, F. Antonio Gutiérrez-Miceli, and V. M. Ruiz-Valdiviezo. 2019. Metabolomic and proteomic analysis of moringa oleifera cultivated with vermicompost and phosphate rock under water stress conditions. *Int. J. Agric. Biol.* 21: 786-794. doi: <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0957>.
- Guzmán-Maldonado, S. H., A. Zamarripa-Colmenares y L. G. Hernández-Duran. 2015. Calidad nutrimental y nutraceutica de hoja de moringa proveniente de árboles de diferente altura. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 6: 317-330.
- Hasanuzzaman, M., M. H. M. Bhuyan, K. Nahar, M. S. Hossain, J. A. Mahmud, M. Hossen, A. A. C. Masud, Moumita, and M. Fujita. 2018. Potassium: A vital regulator of plant responses and tolerance to abiotic stresses. *Agronomy* 8: 31. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy8030031>.
- Khademian, R., B. Asghari, B. Sedaghati, and Y. Yaghoubian. 2019. Plant beneficial rhizospheric microorganisms (pbrms) mitigate deleterious effects of salinity in sesame (*Sesamum indicum* L.): Physio-biochemical properties, fatty acids composition and secondary metabolites content. *Industr. Crops Prod.* 136: 129-139. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.002>.
- Ledea-Rodríguez, J. L., G. R. Alonso, D. G. Benítez-Jiménez, R. Crucito-Arias, J. V. Ray-Ramírez, Y. Nuviola-Pérez y J. J. Reyes-Pérez. 2018a. Rendimiento forrajero y sus componentes según la frecuencia de corte de moringa oleifera, variedad criolla. *Agron. Mesoam.* 29: 425-431.
- Ledea-Rodríguez, J. L., G. Rosell-Alonso, D. G. Benítez-Jiménez, R. C. Arias-Pérez, J. V. Ray-Ramírez y J. J. Reyes-Pérez. 2018b. Producción de semillas de variedades de moringa oleifera lam en el valle del cauto. *Agron. Mesoam.* 29: 415-423.
- Leghari, S. J., N. A. Wahocho, G. M. Laghari, A. HafeezLaghari, G. MustafaBhabhan, K. HussainTalpur, T. A. Bhutto, S. A. Wahocho, and A. A. Lashari. 2016. Role of nitrogen for plant growth and development: A review. *Advances in Environ. Biol.* 10: 209-219.
- Lok, S. y Y. Suárez. 2014. Efecto de la aplicación de fertilizantes en la producción de biomasa de moringa oleifera y en algunos indicadores del suelo durante el establecimiento. *Rev. Cub. Cienc. Agríc.* 48: 399-403.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko, P. V. Dunlap y D. P. Clark. 2009. *Brock: Biología de los microorganismos*. Pearson. Londres, Reino Unido. ISBN: 9788478290970.
- Mazher, A. A., N. G. Abdel-Aziz, R. S. El-Dabah, M. A. El-Khateeb and A. A. A. El-Badaie. 2014. Effect of bio fertilization on growth and constituents of moringa oleifera lam. *Plants. Middle East J. Agric. Res.* 3: 793-798.
- Mehran, M., M. Reza Ardakani, H. Madani, M. Zahedi, M. Amirabadi, and S. Mafakheri. 2011. Response of sunflower yield and phytohormonal changes to azotobacter, azospirillum, pseudomonas and animal manure in a chemical free agroecosystem. *Ann. Biol. Res.* 2: 425-430.
- Meza-Leones, M., K. Riaños-Donado, I. Mercado-Martínez, R. Olivero-Verbel, and M. Jurado-Eraso. 2018. Evaluación del poder coagulante del sulfato de aluminio y las semillas de Moringa oleifera en el proceso de clarificación del agua de la ciénaga de Malambo, Atlántico. *Rev. UIS Ingenierías* 17: 95-103. doi: <https://doi.org/10.18273/revuin.v17n2-2018009>.
- Moyo, B., P. J. Masika, A. Hugo, and V. Muchenje. 2011. Nutritional characterization of moringa (Moringa oleifera Lam.) leaves. *Afr. J. Biotechnol.* 10: 12925-12933. doi: <http://dx.doi.org/10.5897/AJB10.1599>.
- Mridha, M. A. U. and F. N. Al-Barakah. 2017. Green cultivation of moringa on arid agricultural land in saudi arabia. *ISHS Acta Hortic.* 1158:143-148. doi: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1158.17>.
- NOM-021-RECNAT-2000 (Norma Oficial Mexicana). 2002. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. SEMARNAT. México, D. F.
- Oyeyinka, A. T. and S. A. Oyeyinka. 2018. Moringa oleifera as a food fortificant: Recent trends and prospects. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 17: 127-136. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.02.002>.
- Padilla, C., N. Fraga, and M. Suárez. 2012. Efecto del tiempo de remojo de las semillas de moringa (Moringa oleifera) en el comportamiento de la germinación y en indicadores del crecimiento de la planta. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 46: 419-421. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193027579013>.
- Pina, J. C., A. K. M. d. Oliveira, R. Matias, and F. d. Silva. 2018. Influência de diferentes substratos na produção de fitoconstituintes de moringa oleifera lam. *Cultivada a pleno sol. Ciênc. Florest.* 28: 1076-1087.
- Rout, G. R. and S. Sahoo. 2015. Role of iron in plant growth and metabolism. *Rev. Agric. Sci.* 3: 1-24. doi: <https://doi.org/10.7831/ras.3.1>.
- SAS Institute. 2014. SAS/SAT user's guide. Version 9.4. SAS Institute. Cary, NC, USA.
- Subbarao, G. V., O. Ito, W. L. Berry, R. Wheeler, Dr. Referee, and Pessarakli. 2003. Sodium-a functional plant nutrient*. *Crit. Rev. Plant Sci.* 22: 391-416. doi: 10.1080/07352680390243495.
- Teixeira Filho, M. C. M., F. S. Galindo, S. Buzetti, and E. H. M. Boleta. 2018. The effect of N fertilization on wheat under inoculation with *Azospirillum brasiliense*. Chapter 9. pp. 163-226. In: Amanullah and S. Fahad (eds.). *Nitrogen in agriculture-updates*. doi: 10.5772/intechopen.68904.

- White, P. J. and M. R. Broadley. 2003. Calcium in plants. *Ann. Bot.* 92: 487-511. doi: 10.1093/aob/mcg164.
- Yruela, I. 2005. Copper in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 17: 145-156. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202005000100012>.
- Zayed, M. S. 2012. Improvement of growth and nutritional quality of *moringa oleifera* using different biofertilizers. *Ann. Agric. Sci.* 57: 53-62. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2012.03.004>.