



## **Contenido Proteico en Plántulas de *Moringa oleifera* Bioestimuladas con Biol y Rizobacterias en Condiciones de Invernadero**

## **Protein Content in *Moringa oleifera* Seedlings Biostimulated with Biol and Rhizobacteria Under Greenhouse Conditions**

Ramón Zulueta-Rodríguez<sup>1</sup>, Nora E. Aquino-Bolaños<sup>2</sup>; Jimena E. Alba-Jiménez<sup>2</sup>,  
Isabel Alemán-Chávez<sup>1</sup>, Luis G. Hernández-Montiel<sup>3</sup> y Liliana Lara-Capistrán<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana, *Campus* Xalapa, Circuito Universitario Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, Zona Universitaria, C.P. 91000, Xalapa, Veracruz, México.

<sup>2</sup>Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentos de la Universidad Veracruzana, Av. Doctor Luis Castelazo, Industrial Las Animas, C.P. 91190. Xalapa, Veracruz, México.

<sup>3</sup> Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Calle Instituto Politécnico Nacional No. 195, Col. Playa Palo de Santa Rita Sur, C.P. 23096, La Paz, Baja California Sur, México.

\*Autor de correspondencia: [llara\\_capistran@hotmail.com](mailto:llara_capistran@hotmail.com)

Recibido 20 de septiembre 2021; recibido en forma revisada 16 de noviembre de 2021; aceptado 12 de diciembre de 2021

### **RESUMEN**

Como estrategia para aumentar el contenido proteico en plántulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) se evaluó su bioestimulación con Biol y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) en condiciones de invernadero. Se utilizó un diseño completamente aleatorio con cinco tratamientos y, 13 repeticiones: T1 Testigo absoluto (T), T2

*Azospirillum brasilense* (Ab), T3 *Bacillus subtilis* (Bs), T4 Biol (B) y T5 Fertilizado (F), con disposición total de 65 unidades experimentales. Se evaluó altura de la planta y diámetro del tallo a los 39, 63 y 87 días después del trasplante (DDT), contenido de proteína foliar (102 DDT) y unidades formadoras de colonias (UFC, 238 DDT). Los resultados obtenidos se valorizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y contraste de la diferencia significativa mínima (DSM) de Fisher, con un nivel de significancia del 5 % ( $\alpha= 0.05$ ). El ANOVA distinguió a T4 B (34-38 colonias·g<sup>-1</sup> de raíz) como el mejor tratamiento en altura y diámetro con incrementos respectivos de 39.18 %, 3.9 % y 25.79 %; y 38.09 %, 59.6 % y 21.26 % con relación a las plantas-testigo (T). Sin embargo, T2 Ab (1-2 colonias·g<sup>-1</sup> de raíz) fue el más efectivo para contenido proteico con incremento de 26.57 % en comparación con T. Se concluye que *A. brasilense* fue un eficaz bioestimulador y alternativa de origen biológico potencialmente elegible para la producción de proteína foliar (mg de proteína·g<sup>-1</sup> base seca) en esta Moringaceae bajo condiciones de invernadero.

**Palabras clave:** Proteína, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasilense*, Moringaceae

### ABSTRACT

As a strategy to increase the protein content in moringa (*Moringa oleifera* Lam.) seedlings, its biostimulation with Biol and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) was evaluated under greenhouse conditions. A completely randomized design with five treatments and 13 repetitions was used: T1 Absolute Control (T), T2 *Azospirillum brasilense* (Ab), T3 *Bacillus subtilis* (Bs), T4 Biol (B) and T5 Fertilized (F), with total availability of 65 experimental units. Plant height and stem diameter were evaluated at 39, 63 and 87 days from transplantation (DDT), foliar protein content and colony-forming units (UFC). The results obtained were valued by means of an analysis of variance (ANOVA) and Fisher's minimum significant difference (DSM) contrast, with a significance level of 5 % ( $\alpha = 0.05$ ). The ANOVA test allowed us to distinguish T4 B (34-38 colonies·g<sup>-1</sup> root) as the best treatment in height and diameter with respective increases of 39.18 %, 3.9 % and 25.79 %; and 38.09 %, 59.6 % and 21.26 % compared to the control plants

(T). However, T2 *Ab* (1-2 colonies·g<sup>-1</sup> root) was the most effective for protein content with an increase of 26.57 % compared to T. It is concluded that *A. brasilense* was an effective biostimulator and alternative of biological origin potentially eligible for the production of foliar protein (mg of protein·g<sup>-1</sup> dry matter basis) in this Moringaceae under greenhouse conditions.

**Keywords:** Protein, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasilense*, Moringaceae

## INTRODUCCIÓN

El árbol de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) crece en áreas tropicales, posee hojas perennes y es de crecimiento rápido, pudiendo alcanzar hasta 12 m de altura en los primeros 3 a 4 años (Pina *et al.*, 2018). Su propagación es por semillas o mediante fragmentos de la planta (tallos, raíces o ramas), y suele ser resistente a diversos climas, aunque vulnerable en tiempos de viento y sequía (Meza-Leones *et al.*, 2018).

Contiene macro y micronutrientes de gran importancia para la alimentación humana, aunque la composición de las hojas, tallos, semillas y/o flores puede variar según sea el vigor de la planta, su manejo y el cultivar (Oyeyinka y Oyeyinka, 2018).

En México ya se le utiliza ampliamente como fortificante o fuente suplementaria de protidos, debido a que las hojas de esta Moringaceae no solo incluyen macronutrientes y vitaminas del grupo B, A, C y E (Pilay, 2019; Agudelo, 2020), sino también proteínas equivalentes a las proporcionadas por la leche (Trigo *et al.*, 2021), y las aisladas de las flores comparables con las aportadas en la carne (Javed *et al.*, 2021).

La moringa se ha utilizado durante siglos en la medicina ayurvédica y Unani debido a su amplia gama de

compuestos nutricionales y bioactivos que le permiten tener propiedades físico-químicas y farmacológicas de amplio espectro, entre las que figuran su valor funcional en aplicaciones potenciales como agentes cardioprotectores, antidiabéticos, antioxidantes, antimicrobianos, antiinflamatorios, anticancerígenos y hepatoprotectores (García *et al.*, 2021), por cierto, cualidades sobresalientes en comparación con otros cultivos convencionales, pues las hojas, flores, semillas y casi todas las partes de este árbol son comestibles y tienen inmensas propiedades terapéuticas (Islam *et al.*, 2021).

No obstante, el prominente contenido de proteína cruda es una de las características más importantes de la planta (Bocarando-Guzmán *et al.*, 2019; Sultana, 2020), incluso para enriquecer las dietas de los animales con aminoácidos que los semovientes no pueden sintetizar para su crecimiento satisfactorio (Trigo *et al.*, 2020; Su y Chen, 2020).

A tenor de lo expuesto, y tomando en consideración que en la literatura especializada se ha documentado que los valores nutrimentales de esta planta pueden modificarse mediante el agregado de fertilizantes químicos u orgánicos (Guzmán-Albores *et al.*, 2019), el objetivo del

presente estudio fue evaluar el contenido proteico en el follaje de plántulas de *M. oleifera* bioestimuladas con biol y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en condiciones de invernadero.

## METODOLOGÍA

### Localización geográfica del experimento

El presente trabajo se realizó en un invernadero tipo macrotúnel de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Veracruzana, *Campus* Xalapa., ubicada a 19°51'61.4" de latitud norte, 96°91'85.5" de longitud oeste y elevación de 1,358 msnm.

### Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cinco tratamientos y 13 repeticiones: T1: Testigo absoluto (T), T2 *Azospirillum brasilense* (*Ab*), T3 *Bacillus subtilis* (*Bs*), T4 Biol (B) y T5 Fertilizado (F), y disposición total de 65 unidades experimentales.

### Germinación de las semillas

Las semillas de moringa recibieron un tratamiento pre-germinativo para la germinación y ruptura de la dormición, el cual consistió en colocarles sobre una cobertura absorbente dentro de una bandeja plana de plástico que se humedeció por 24 h para desencadenar el proceso de imbibición (Zapata *et al.*, 2017).

A continuación, se les colocó en una charola plana termoformada de 200 cavidades, las cuales se habían llenado previamente con Peat Moss humedecido (o turba de *Sphagnum* canadiense orgánico) como sustrato, el cual retiene la humedad y nutrimentos necesarios para el mantenimiento de las plántulas emergidas durante sus primeras etapas de crecimiento.

### Desinfección del sustrato

El sustrato utilizado en este bioensayo fue suelo más tepezil (2:1, v/v) desinfectado con Bunema (METAM SODIO 45 %. SA) a razón de 100 mL·m<sup>2</sup> durante 72 h para eliminar organismos indeseables, patógenos y semillas de arvenses.

Este se destapó y dejó ventilar hasta descartar fitotoxicidad mediante la prueba estática-preliminar sugerida por Sobrero y Ronco (2008). A continuación, se procedió al llenado de los contenedores individuales (vasos Chinet Extra-resistentes [Rígido-Premium de 10.0 cm de diámetro y 11.5 cm de alto]) hasta en dos terceras partes de su capacidad, con 204-210 g del sustrato previamente preparado y desinfectado. El traslado de plántulas de *M. oleifera* se realizó a los 15 días después de la siembra (DDS), cuando estas contaban con *ca.* 10 cm de altura.

### Aplicación de bioestimulantes

La aplicación de los bioestimulantes se realizó al momento del trasplante con *Azospirillum brasilense* (5 mL·planta<sup>-1</sup>), *Bacillus subtilis* (5 mL·planta<sup>-1</sup>) y Biol (250 mL·planta<sup>-1</sup>) de una dilución de 500 mL de Biol·20 L<sup>-1</sup> agua.

### Fertilización

Los tratamientos fertilizados se asperjaron con una mochila de líquido a presión y boquilla ajustable, marca EVANS con capacidad de 20 L, cargada con Gro Green Campbell 20N-30P-10K (0.33 mL·L<sup>-1</sup> agua).

### Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron altura de la planta y diámetro del tallo a los 39, 63 y 87 días después del trasplante (DDT), proteína en hojas a los 102 DDT (método Bradford, 1976) y unidades formadoras de colonias (UFC) (Zulueta *et al.*, 2009).

### Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, en primera instancia, se realizaron los contrastes de normalidad correspondientes y, tras comprobar la fiabilidad estadística de los datos obtenidos en este bioensayo, las variables evaluadas fueron analizadas mediante un ANOVA y la comparación múltiple de medias de LSD de Fisher, con

un nivel de significancia del 5 % ( $\alpha= 0.05$ ) del software STATISTICA versión 8.0 (StatSoft, Inc. 2007) para Windows.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ANOVA mostró diferencias significativas entre los tratamientos para las variables altura de la planta y diámetro del tallo de moringa a los 39, 63 y 87 DDT (LSD de Fisher,  $P\leq 0.05$ ) siendo B el mejor tratamiento con incrementos de 39.18 %, 3.9 % y 25.79 %; y 38.09 %, 59.6 % y 21.26 % con relación a las plantas-testigo (T), respectivamente (Cuadro 1).

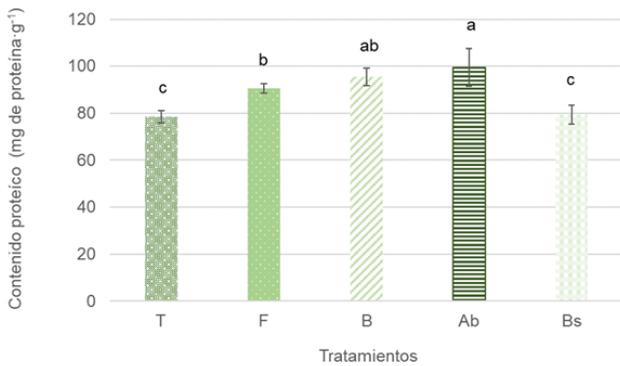
**Cuadro 1.** Análisis estadístico para las variables altura de la planta y diámetro del tallo a los 39, 63 y 87 DDT.

Tratamientos	Alturas de las plantas (cm) DDT			Diámetros del tallo (mm) DDT		
	39	63	87	39	63	87
T	12.10 c	13.22 c	15.12 c	1.89c	2.50 b	3.48b
F	13.53 b	15.33 b	16.75 ab	2.32b	2.68 b	3.54b
B	15.38 a	18.40 a	19.02 a	2.61a	3.99 a	4.22a
Ab	14.96 ab	17.76 ab	18.12 ab	2.46b	3.98 a	3.86ab
Bs	13.57 b	15.67 b	16.76 ab	2.41b	2.69 b	3.71ab

DDT= Días después del trasplante. Letras distintas en la misma columna indican diferencia estadística significativa (LSD de Fisher,  $P\leq 0.05$ ). Clave de los tratamientos: Testigo absoluto (T), Fertilizado (F), Biol (B), *Azospirillum brasilense* (Ab) y *Bacillus subtilis* (Bs).

Dichos efectos pueden atribuirse a que el Biol es un abono foliar procedente del proceso de descomposición de residuos orgánicos (Minagri, 2020) rico en nutrientes y fitoreguladores del crecimiento porque contienen fitohormonas (Mamani *et al.*, s.f.).

Sin embargo, vale la pena destacar el lugar ocupado por *Ab* (Cuadro 1) debido a sus efectos en cuanto al contenido proteínico en el follaje de moringa, donde el incremento registrado superó a las plantas-testigo (T) en 20.97 % (Fig. 1).



**Figura 1.** Análisis estadístico para contenido proteínico (mg de proteína·g<sup>-1</sup> base seca) en hojas de *Moringa oleifera* a los 50 DDS. Columnas con la misma letra son estadísticamente iguales entre sí (DSM,  $P \leq 0.05$ ). Las líneas verticales en las barras son el error estándar ( $\pm$ ). Clave de los tratamientos: Testigo absoluto (T), Fertilizado (F), Biol (B), *Azospirillum brasilense* (*Ab*) y *Bacillus subtilis* (*Bs*).

Lo denotado puede atribuirse a que *A. brasilense* es una rizobacteria relacionada con el incremento de proteína en las plantas, tal y como Licea-Herrera *et al.* (2020) lo han reportado en el cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.) y Hernández-Chontal *et al.* (2020) en plantas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.).

Para unidades formadoras de colonias (UFC) en los tratamientos *Bs* se encontraron entre 34 y 38 colonias·1

g<sup>-1</sup> raíz, mientras que para *Ab* solo se reportaron entre 1 y 2 colonias·1 g<sup>-1</sup> raíz en promedio, lo cual quiere decir que la mayor cantidad de bacterias no siempre tendrán un efecto significativo en el crecimiento de las plantas o en la concentración de proteínas en el follaje de esta Moringaceae, pues en este bioensayo se comprobó que solo esas UFC de *Ab* bastaron para que el efecto fuera significativo en la cantidad de proteína contenida en el follaje bajo las condiciones de manejo del cultivo de moringa que prevalecieron en el invernadero.

## CONCLUSIÓN

Se concluye que *A. brasilense* fue el mejor bioestimulador para promover la síntesis y mayor concentración de proteína foliar en plantas de *Moringa oleifera* manejadas bajo condiciones de invernadero, de modo que puede ser parte de una estrategia elegible para reducir el impacto derivado del uso desmedido de agroquímicos, disminuir los costos de producción e incrementar el contenido foliar proteico en este cultivo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Agudelo, L. (2020). Empleo del polvo de hojas de *Moringa oleifera* Lam como fortificante en un alimento enfocado a la población infantil colombiana menor de 4 años. Tesis doctoral, Corporación Universitaria Lasallista, Caldas, Antioquia, Colombia.
- Bocarando-Guzmán, M. D., Ríos-Corripio, M. A., Hernández-Cázares, A. S., Luna-Suárez, S., Herrera-Corredor, J. A. y Hernández-Martínez, R. (2019). La moringa (*Moringa oleifera* Lam.): Una fuente alternativa de proteína vegetal. In: Academia Journals (ed.). Competitividad Profesional a Través de la Investigación (pp. 126-131). Tuxpan, Veracruz, México. Accesado 20 sep 2021. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/340114432>.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Hernández-Chontal, M. A., Vázquez-Luna, D., Linares-Gabriel, A., De Dios-León, G. E., Guerrero-Peña, A. y Rodríguez-Orozco, N. (2020). Efecto de la inoculación de *Azospirillum* spp. sobre el contenido nutrimental de moringa (*Moringa oleifera* Lam.). *Terra Latinoamericana*, 38(1), 29-38.
- García M., P., Peñalver, R. y Nieto, G. (2021). Health benefits of uses and applications of *Moringa oleifera* in bakery products. *Plants*, 10: Article ID 318. Accesado 20 sep 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/plants10020318>.
- Guzmán-Albores, J. M., Ramírez-Merchant, M. L., Interiano-Santos, E. C., Manzano-Gómez, L. A., Castañón-González, J. H., Winkler, R., Abud-Archila, M., Montes-Molina, J. A., Gutiérrez-Miceli, F. A. y Ruíz-Valdiviezo, V. M. (2019). Metabolomic and proteomic analysis of *Moringa oleifera* cultivated with vermicompost and phosphate rock under water stress conditions. *International Journal of Agriculture & Biology*, 21(4), 786-794.
- Islam, Z., Islam, S. M. R., Hossen, F., Mahtab-ul-Islam, K., Hasan, M. R. y Karim, R. (2021). *Moringa oleifera* is a prominent source of nutrients with potential health benefits. *International Journal of Food Science*, 2021: Article ID 667265. Accesado

- 20 sep 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2021/6627265>.
- Javed, M. S., Amjad, A., Shah, M., Shah, F-ul-H., Sardar, H., Tariq, M. R., Khan, A. A., Sajid, M. W., Ali, U., Amir, M. y Nasir, F. (2021). Isolation and characterization of *Moringa oleifera* l. Flower protein and utilization in functional food bars. *Food Science and Technology*, 41(3), 643-652.
- Licea-Herrera, J. I., Quiroz-Velásquez, J. Di. C. y Hernández-Mendoza, J. L. (2020). Impacto de *Azospirillum brasilense*, una rizobacteria que estimula la producción del ácido indol-3-acético como el mecanismo de mejora del crecimiento de las plantas en los cultivos agrícolas. *Revista Boliviana de Química*, 37(1), 34-39.
- Mamani, J., Almanza, J. y Herbas, J. (s.f.). El biol, biofertilizante casero para la producción ecológica de cultivos. Unidad de Comunicación PROINPA, Cochabamba, Bolivia. 11 p.
- Meza-Leones, M., Riaños-Donado, K., Mercado-Martínez, I., Olivero-Verbel, R. y Jurado-Eraso, M. (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. *Revista UIS Ingenierías*, 17(2), 95-103.
- Minagri (Ministerio de Agricultura y Riego) (2020). Conoce el Biol, abono orgánico del Minagri que mejora rendimiento y calidad de cultivos. Accesado 23 sep 2021. Disponible en: <https://andina.pe/agencia/noticia-conoce-biol-abono-organico-del-minagri-mejora-rendimiento-y-calidad-cultivos-781863.aspx>.
- Oyeyinka, A. T. y Oyeyinka, S. A. (2018). *Moringa oleifera* as a food fortificant: Recent trends and prospects. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(2), 127-136.
- Pilay M., M. V. (2019). Calidad nutricional de la moringa; *Moringa oleifera* Lam, en las condiciones ambientales de la parroquia Manglaralto. Tesis de licenciatura, Universidad Estatal Península de Santa Elena, La Libertad, Ecuador.
- Pina, J. C., Oliveira, A. K. M., Matias, R. y Silva, F. (2018). Influência de diferentes substratos na produção de fitoconstituintes de *Moringa oleifera* Lam. Cultivada a pleno sol. *Ciência Florestal*, 28(3), 1076-1087.

- Sobrero, M.C. y Ronco, A. (2008). Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. *In: Ramírez R., P. y Mendoza C., A. (Comps.). Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo: La experiencia en México* (pp. 55-67). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales/Instituto Nacional de Ecología, México.
- StatSoft, Inc., STATISTICA (data analysis software system), version 8.0, 2007, USA: SAS Institute Inc.
- Su, B. y Chen, X. (2020). Current status and potential of *Moringa oleifera* leaf as an alternative protein source for animal feeds. *Frontiers in Veterinary Science*, 7: Article ID 53. Accesado 22 sep 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00053>.
- Sultana, S. (2020). Nutritional and functional properties of *Moringa oleifera*. *Metabolic Open*, 8: Article ID 100061. Accesado 22 sep 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.metop.2020.100061>.
- Trigo, C., Castelló, M. L., Ortolá, M. D., García-Mares, F. J. y Desamparados S., M. (2021). *Moringa oleifera*: An unknown crop in developed countries with great potential for industry and adapted to climate change. *Foods*, 10: Article ID 31. Accesado 22 sep 2021. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.3390/foods10010031>.
- Zapata, R. N., Azagra M., C. y Karlin, M. S. (2017). Tratamientos pregerminativos para la ruptura de la dormición en semillas de tres poblaciones de *Ramorinoa girolae*, leñosa endémica de zonas áridas en Argentina. *Bosque*, 38(2), 237-245.
- Zulueta R., R., Lara C., L. y Trejo A., D. (2009). Preparación de medios de cultivo: Siembra de diferentes microorganismos (bacterias, hongos, actinomicetos). *In: Zulueta R., R., Lara C., L. y Trejo A., D. (Eds.). Manual de Prácticas Generales del Laboratorio de Organismos Benéficos* (pp. 23-27). Universidad Veracruzana, México.