



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS
CAMPUS MONTECILLO**

POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

**RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL
CRECIMIENTO VEGETAL EN BRÓCOLI
(*Brassica oleracea* L.)**

LUZ MARÍA ISABEL MIGUEL CRUZ

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2019



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, la que suscribe, **Luz María Isabel Miguel Cruz**, alumna de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del profesor **Dr. Juan José Almaraz Suárez**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis “**RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN BRÓCOLI (*Brassica oleracea* L.)**”, y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo con las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, a 19 de junio de 2018.

Luz María Isabel Miguel Cruz

Vo. Bo. Del Dr. Juan José Almaraz Suarez

La presente tesis titulada: **“RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN BRÓCOLI (*Brassica oleracea* L.)”** realizada por la alumna: **Luz María Isabel Miguel Cruz** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO (A) _____
Dr. Juan José Almaraz Suarez

ASESOR (A) _____
Dr. E. Gabriel Alcántar González

ASESOR (A) _____
Dra. Rosalba Esquivel Cote

Montecillo, Texcoco, Estado de México, agosto de 2019

RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN BRÓCOLI

(*Brassica oleracea* L.)

Luz María Isabel Miguel Cruz, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2019

RESUMEN

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) han sido empleadas como inoculantes para favorecer el rendimiento y producción de una gran variedad de cultivos, principalmente cereales, y algunas hortalizas. El brócoli es una hortaliza con alto valor nutricional y una de las de mayor producción en México. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la inoculación de RPCV en el rendimiento y contenido nutrimental del brócoli (*Brassica oleracea* L.). Para ello se realizaron dos experimentos. En el primero se evaluó el efecto de cuatro RPCV (*Pseudomonas tolaasii* P61, *Pseudomonas tolaasii* A46, *Bacillus pumilus* R44 y *Paenibacillus* sp. BSP1.1) en plántulas a nivel de semillero las cuales fueron fertilizadas con dos niveles de la solución Steiner. En el segundo se evaluó el efecto de las dos cepas sobresalientes en el experimento 1 (*P. tolaasii* P61 y *P. tolaasii* A46) en plantas a nivel de campo que fueron fertilizadas con dos dosis de NPK (45-14-36 y 90-28-72). En el experimento de semilleros, las plántulas inoculadas con las cepas A46 y P61 y regadas con el 50% de solución Steiner obtuvieron los valores más altos en el contenido de clorofila (50.3 y 48 unidades SPAD), peso seco de raíz (25.8 y 24.4 mg) y volumen radical (0.43 y 0.38 cm³). En el experimento de campo, los resultados mostraron que el tratamiento inoculado con la cepa P61 y con el 100 % de la fertilización obtuvo los valores más altos en la extracción de N (248.6 kg/ha) y P (41 kg/ha). En relación con las variables medidas en la pella, este tratamiento presentó los valores más altos de diámetro (15.8 cm), altura (16.5 cm) y peso fresco (446.2 g). Con respecto al rendimiento el mejor tratamiento fue el inoculado con la cepa P61 y con 100 % de fertilización obteniendo lo equivalente a 17.8 ton/ha, superando a los dos tratamientos fertilizados y sin inoculación que presentaron rendimientos de 11.1 y 13.4 ton/ha, respectivamente.

Palabras claves: hortalizas, semillero, fertilización nitrogenada, extracción nutrimental, rendimiento.

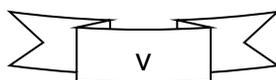
PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA IN BROCCOLI (*Brassica oleracea* L.)

Luz María Isabel Miguel Cruz
Colegio de Postgraduados, 2019

ABSTRACT

The plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) have been used as inoculants to favor the yield and production of a wide variety of crops, mainly cereals, and some vegetables. Broccoli is a vegetable with high nutritional value and one of the most cultivated in México. The objective of this research was to evaluate the effect of inoculation of PGPR on the yield and nutritional content of broccoli (*Brassica oleracea* L.). For this, two experiments were performed. In the first one, the effect of four PGPR (*Pseudomonas tolaasii* P61, *Pseudomonas tolaasii* A46, *Bacillus pumilus* R44 and *Paenibacillus* sp.BSP1.1) were evaluated in seedbed where seedlings were fertilized with two levels of the Steiner solution. In the second one, the effect of the two most outstanding strains P. tolaasii P61 and P. tolaasii A46), obtained in first experiment, were evaluated in field conditions where inoculated plants were fertilized with two doses of NPK (45-14-36 and 90-28- 72). In the seedbed experiment, the seedlings inoculated with strains A46 and P61 and watered with 50% Steiner solution had the highest values in the chlorophyll content (50.3 and 48 SPAD units), root dry weight (25.8 and 24. 4 mg) and radical volume (0.43 and 0.38 cm³). In the field experiment, the results showed that the treatment inoculated with the P61 strain and fertilized with the 100% dose obtained the highest values in the extraction of N (248.6 kg / ha) and P (41 kg / ha). In relation to the variables measured in the head, this treatment presented the highest values of diameter (15.8 cm), height (16.5 cm) and fresh weight (446.2 g). With respect to yield, the best treatment was the one inoculated with P61 strain and with 100% dose, obtaining the equivalent of 17.8 ton/ha, surpassing the two treatments fertilized and without inoculation, which presented yields of 11.1 and 13.4 ton/ha, respectively

Key words: vegetables, seedbed, nitrogen fertilization, nutrient extraction, yield.



DEDICATORIA

A Dios por iluminar mi camino y estar siempre presente en mi vida.

A mi hijo Alexis por darle sentido a mi vida y ser siempre la fuente de inspiración, espero verte un día cumpliendo todos tus sueños.

A mi esposo por que pese a todos los obstáculos que hemos pasado, sigues ahí, con nuestro hijo y conmigo.

A mi Madre, por darme la vida y permitirme salir a realizar mis estudios.

A mis hermanos Luis, Sergio, Julia y Valentin por que, aunque no los vea tan seguido los tengo siempre presente.

A mis abuelitos María y Fidel por todos los valores inculcados, enseñarme que para conseguir algo, se debe trabajar muy duro.

A la familia Mora Cruz, por todos los consejos, compañía y apoyo en todo este tiempo.

A la familia Conejo por que aun siendo una completa desoconocida me han apoyado y han festejado mis logros.

A toda mi familia por ser un apoyo incondicional en esta gran travesía llamada “vida”.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados por darme la oportunidad de formar parte de su comunidad.

Al Dr. Juan José Almaraz Suarez por que me acepto como su estudiante, compartio sus conocimientos conmigo, me guio y apoyo en todo momento. Definitivamente su participación fue pieza clave en este trabajo.

Al Dr. Gabriel Alcántar González, por sus observaciones y su disposición en la realización de esta investigación.

A la Dra. Rosalba Esquivel Cote por su valioso apoyo en la realización de esta tesis, el tiempo que le dedico y el gran entusiasmo que siempre me transmitia en sus emails.

Al Dr. Ronald Ferrera Cerrato por permitirme ser parte del Área de Microbiología de Suelos y brindarme su apoyo como sinodal.

A Don Genaro y a Margarito por su apoyo durante el tiempo que el cultivo estuvo en campo.

A Deysi y Vivian por todos sus consejos y apoyo en el laboratorio, además de brindarme su amistad.

A todos los chicos del laboratorio de Microbiología por brindarme su amistad y siempre estar dispuestos a dar apoyo cuando se requiere.

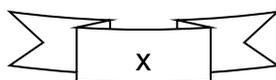
A mi esposo Guillermo Martínez Martínez y a mi tía Rosa por estar apoyándome siempre, son personas excepcionales.

CONTENIDO

RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
I.INTRODUCCIÓN	1
II.OBJETIVOS.....	2
III.HIPÓTESIS.....	3
IV.REVISIÓN DE LITERATURA	4
4.1 La rizosfera	4
4.2 Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal.....	4
4.2.1 Producción de fitohormonas.....	5
4.2.1.1 Auxinas	6
4.2.1.2 Giberelinas	7
4.2.1.3 Citocininas.....	10
4.2.2 Fijación de nitrógeno	11
4.2.3 Solubilización de fosfatos	12
4.2.4 Producción de sideróforos	14
4.3 El cultivo de brócoli	15
4.3.1 Fenología del cultivo.....	16
4.3.1.1 Etapa de semillero.....	16
4.3.1.2 Etapa juvenil.....	17

4.3.1.3	Etapa de emergencia floral	17
4.3.1.4	Etapa de la formación de la pella	17
4.3.1.5	Etapa de floración	17
4.3.1.6	Polinización y fructificación	17
4.3.2	Requerimientos edafoclimáticos.....	18
4.3.2.1	Temperatura.....	18
4.3.2.2	Humedad.....	18
4.3.2.3	Suelo	18
4.3.3	Requerimiento nutricional.....	19
4.3.3.1	Nitrógeno.....	19
4.3.3.2	Fósforo	20
4.3.3.3	Potasio	20
V.MATERIALES Y MÉTODO		21
5.1	Experimento en semilleros.....	21
5.1.1	Ubicación del experimento	21
5.1.2	Material microbiano	21
5.1.3	Material vegetal	21
5.1.4	Factores de estudio, tratamientos y diseño experimental.....	23
5.1.5	Medición de las variables	24
5.1.6	Análisis estadístico	25
5.2	Experimento en campo	25
5.2.1	Ubicación de la parcela experimental.....	25
5.2.2	Material microbiano	25
5.2.3	Material vegetal	26
5.2.4	Factores de estudio	26

5.2.5	Diseño de tratamientos.....	27
5.2.6	Manejo del cultivo.....	27
5.2.7	Variables de estudio.....	28
5.2.7.1	Contenido relativo de clorofila.....	28
5.2.7.2	Altura, diámetro ecuatorial y peso fresco de la pella.....	29
5.2.7.3	Materia seca total de planta.....	29
5.2.7.4	Concentración de NPK en planta.....	29
5.2.7.5	Determinación de NPK en suelo.....	29
5.2.7.6	Extracción nutrimental de la planta.....	30
5.2.8	Análisis estadístico.....	30
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
6.1	Experimento en semillero.....	30
6.2	Experimento de campo.....	33
6.2.1	Componentes de rendimiento.....	33
6.2.2	Contenido relativo de clorofila.....	34
6.2.3	Distribución de materia seca.....	36
6.2.4	Contenido nutrimental.....	37
6.2.4.1	Nitrógeno.....	37
6.2.4.2	Fósforo.....	41
6.2.4.3	Potasio.....	44
6.2.5	Rendimiento del cultivo.....	47
VII.	CONCLUSIONES.....	49
7.1	Experimento en semillero.....	49
7.2	Experimento de campo.....	50
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	51



LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Síntesis de giberelinas por bacterias	9
Cuadro 3. Características de las cepas bacterianas.	22
Cuadro 4. Características del brócoli (<i>Brassica oleracea</i> L.) variedad Heritage.....	23
Cuadro 5. Tratamientos en el experimento en semillero.	23
Cuadro 6. Solución Steiner utilizada en el experimento.	24
Cuadro 7. Variables estudiadas en el experimento de semillero.....	24
Cuadro 8. Análisis físico-químico del suelo de la parcela experimental.	26
Cuadro 9. Tratamientos en el experimento de campo.....	27
Cuadro 10. Efecto de la inoculación de cepas de RPCV en plántulas de brócoli.....	33
Cuadro 11 .Efecto de la inoculación de RPCV en la pella de brócoli..	34
Cuadro 12. Efecto de la inoculación de RPCV en la materia seca de brócoli	37
Cuadro 13. Efecto de la inoculación de RPCV en la concentración de Nitrógeno total en brócoli.....	38
Cuadro 14. Efecto de la inoculación de RPCV en la extracción de Nitrógeno en brócoli..	39
Cuadro 15. Efecto de la inoculación de RPCV en la concentración de Fósforo en brócoli..	42
Cuadro 16. Efecto de la inoculación de RPCV en la extracción de Fósforo en brócoli..	43
Cuadro 17. Efecto de la inoculación de RPCV en la concentración de Potasio en brócoli.	45

Cuadro 18. Efecto de la inoculación de RPCV en la extracción de Potasio en brócoli (kg/ha). 46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Rutas metabólicas para la síntesis de AIA en bacterias.....	8
Figura 2. Ejemplos de sideróforos.....	15
Figura 3. Distribución de tratamientos en la parcela experimental.	28
Figura 4. Efecto de la inoculación de RPCV en contenido de clorofila del cultivo de brócoli.....	35
Figura 5. Contenido de NO ₃ en el suelo al finalizar el ciclo del cultivo de brócoli.....	40
Figura 6. Fósforo disponible en el suelo analizado por el método de Bray.	44
Figura 7. Potasio extractable en el suelo.....	47
Figura 8. Efecto de la inoculación de RPCV en el rendimiento del cultivo de brócoli... ..	49

I. INTRODUCCIÓN

La agricultura convencional ha desempeñado un papel fundamental ante la constante demanda de alimentos en el mundo (Mahanty *et al.*, 2017), sin embargo, es altamente dependiente de fertilizantes sintéticos (Tilman *et al.*, 2002) que si se aplican en exceso pueden tener impactos en el ambiente, ya que no todo el fertilizante es aprovechado por los cultivos (Gupta *et al.*, 2015; Martínez-Hidalgo *et al.*, 2018). Esto ha llevado a la idea de utilizar microorganismos benéficos como las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) (Olanrewaju *et al.*, 2017; Tsukanova *et al.*, 2017).

Las RPCV son un grupo de bacterias que habitan en el suelo y favorecen el crecimiento de los cultivos (Chaudhary y Shukla, 2019) mediante varios mecanismos, como fijación de nitrógeno, producción de sideróforos, solubilización de fosfatos, síntesis de fitohormonas, entre otros (Gomes *et al.*, 2018; Numan *et al.*, 2018). Su uso en la agricultura tiene potencial, particularmente en la seguridad alimentaria y la producción sostenible de cultivos, debido a su capacidad de incrementar el rendimiento y la producción cuando se usan en combinación con la fertilización, además de ser de bajo costo económico y ambiental (Bhardwaj *et al.*, 2014; Olanrewaju *et al.*, 2017; Tsukanova *et al.*, 2017). Esto puede resultar en un uso de dosis más racionales de fertilizantes químicos aprovechando que las RPCV pueden ayudar a las plantas a ser más eficientes en la absorción de nutrimentos.

El brócoli (*Brassica oleracea* L.) es una hortaliza con importancia desde el punto de vista nutricional al ser una fuente importante de vitaminas, ácido fólico, calcio y minerales (Maynard y Hochmuth, 2007). Además, cuenta con actividad antioxidante y anticancerígena, esta última está dada por el contenido de glucosinolatos (Li *et al.*, 2010). Debido a que existen pocos estudios que demuestren el efecto de las RPCV en brócoli el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) en el rendimiento y contenido nutrimental de este cultivo.

II. OBJETIVOS

General

- Evaluar el efecto de la inoculación con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) y la fertilización mineral sobre el rendimiento y contenido nutrimental del brócoli (*Brassica oleracea* L.).

Específicos

- Seleccionar cepas de RPCV que incrementen el crecimiento de brócoli a nivel de semillero.
- Evaluar la respuesta de brócoli a la inoculación de RPCV en combinación con dos dosis de fertilización.
- Evaluar la extracción de N, P y K por el cultivo de brócoli con base en la inoculación y la fertilización química.

III. HIPÓTESIS

General

- La inoculación de RPCV en combinación con la fertilización mineral incrementa el rendimiento en 20 % y el contenido nutrimental en 10 %.

Específicas

- Cepas de RPCV tienen diferente efecto en el crecimiento de brócoli a nivel de semillero.
- Los tratamientos de inoculación de RPCV en combinación con la fertilización tiene mayor efecto positivo en el rendimiento de brócoli en comparación con tratamientos que llevan solo fertilizante.
- Los tratamientos de inoculación de RPCV en combinación con la fertilización incrementan la extracción de N, P y K del brócoli en comparación con los tratamientos que llevan solo fertilizante.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 La rizosfera

El término rizosfera, fue utilizado por primera vez en 1904 por el científico Lorenz Hilter, para denominar a la región del suelo que está en contacto con las raíces de las plantas (Curl y Truelove, 1986; Hartmann *et al.*, 2008). En esta zona se encuentran azúcares, aminoácidos, fitohormonas, vitaminas, carbohidratos poliméricos, purinas, nucleótidos, enzimas y algunos gases como etileno y CO₂ (Lynch y Whipps, 1990; Dakora y Phillips, 2002). Gran parte de estos compuestos provienen de exudados radicales (Curl y Truelove, 1986; Glick, 2012), que pueden modificar las condiciones del medio (Gunawardena *et al.*, 2001; Jia *et al.*, 2019). De esta forma se favorece la presencia de una gran diversidad de especies de microorganismos (Vacheron *et al.*, 2013), capaces de ejercer efectos negativos, neutros o positivos (Nelson, 2004) en la salud, el crecimiento y la productividad de las plantas (Gunawardena *et al.*, 2001; Berendsen *et al.*, 2012; Breidenbach *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2019) e influir en la fertilidad del suelo (Hayat *et al.*, 2010).

Aquellos microorganismos que ejercen efectos positivos en el crecimiento de las plantas pueden ser aislados e inoculados en cultivos de interés agrícola (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2006), funcionando como una tecnología sustentable para incrementar el rendimiento de los cultivos en la agricultura (Peña y Reyes, 2007; Berendsen *et al.*, 2012).

4.2 Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, son un grupo de bacterias, que habitan en la rizosfera, filosfera o endorizosfera de las plantas (Orozco-Mosqueda *et al.*, 2018), que son capaces de afectar positivamente el crecimiento de las plantas directa o indirectamente (Ahemad y Kibret, 2014). Dentro de los mecanismos directos se encuentra la solubilización de fosfatos, la fijación de nitrógeno, la producción de sideróforos, la producción de fitohormonas y la síntesis de enzimas como la AAC

desaminasa. Como mecanismos indirectos, se considera la resistencia sistémica inducida, agentes de biocontrol y competencia por nutrientes y espacio cerca de la raíz (Glick *et al.*, 1999). Sin embargo, algunas cepas presentan más de un mecanismo de acción que al ser evaluado por separado, podría estar siendo subestimado el potencial de esas cepas; ya que existe la posibilidad que la promoción del crecimiento vegetal sea el resultado de una acción conjunta de los mecanismos de acción de una cepa o de varias cepas (Bashan y De-Bashan, 2010).

Algunos de los géneros de bacterias que se consideran rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) son: *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Microbacterium*, *Ochrobactrum*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Sphingomonas*, entre otros (Acebo *et al.*, 2007; Saharan y Nehra, 2011; Bhattacharyya y Jha, 2012; Luna *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2014; Arikan y Pirlak, 2016), que han sido utilizadas en cultivos de interés agrícola, por tener un efecto benéfico en la planta. Además, son una importante herramienta en la agricultura sostenible (Lucy *et al.*, 2004; Berendsen *et al.*, 2012; Goswami *et al.*, 2015). Algunos de los géneros de bacterias con mecanismos múltiples de acción son: *Azospirillum sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Enterobacter sp.*, *Burkholderia sp.* y *Bacillus sp.* (Ahemad y Kibret, 2014; Bashan y De-Bashan, 2010; Gupta *et al.*, 2002).

4.2.1 Producción de fitohormonas

Las hormonas vegetales o fitohormonas son compuestos orgánicos que se sintetizan en alguna parte de la planta y se traslocan a otra parte de la misma en concentraciones muy bajas, y contribuyen en procesos fisiológicos como: regulación de la quiescencia, germinación de la semilla, formación de raíz, floración, ramificación, amacollamiento y maduración de frutos (Salisbury y Ross, 1996; Tsavkelova *et al.*, 2006; Javid *et al.*, 2011). Las principales fitohormonas identificadas en las plantas son: auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscísico y etileno (Davies, 2010).

Además de las plantas, diferentes cepas de RPCV son capaces de sintetizar fitohormonas, metabolizarlas o afectar la síntesis en las plantas (Karadeniz *et al.*, 2006); funcionan como parte fundamental en la interacción planta–microorganismo, coordinando las repuestas celulares y metabólicas e interviniendo en la traducción de señales (Tsavkelova *et al.*, 2006; Vacheron *et al.*, 2013; Boivin *et al.*, 2016; Tsukanova *et al.*, 2017).

4.2.1.1 Auxinas

Son fitohormonas que están involucradas en procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas. Las auxinas se encuentran principalmente en los meristemos apicales de frutos, hojas, tallo y raíces (Jankiewicz, 2003). Participan en la formación de órganos, diferenciación de tejidos vasculares, producción de etileno, dominancia apical (Bidwell, 1987; Teale *et al.*, 2006; Tanaka *et al.*, 2006; Vanneste y Friml, 2009; Finet y Jaillais, 2012; Reddy, 2014; Tivendale y Cohen, 2015; Strader y Zhao, 2016).

Las cuatro auxinas naturales presentes en las plantas son: ácido indol-3-acético (AIA), ácido indol-3-butírico (IBA), ácido 4-cloroindol-3-acético (4-Cl-AIA) y ácido fenilacético (PAA) (Simon y Petrášek, 2011). El AIA es el que se encuentra presente en la mayoría de las plantas (Zhao, 2012; Duca *et al.*, 2014).

La síntesis del AIA no sólo está limitado únicamente a plantas, algunos microorganismos como hongos, bacterias y algas son capaces de producirlo también (Patten y Glick, 1996, Lee *et al.*, 2004). Se estima que más del 80 % de las bacterias aisladas de la rizosfera pueden sintetizar AIA, a través de múltiples rutas (Spaepen y Vanderleyden, 2011). Las tres rutas metabólicas más utilizadas por las bacterias son: la del ácido indol-3-pirúvico (Figura 1a), identificada en *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Enterobacter*, *Erwinia herbicola*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, entre otras; la segunda es la formación de triptamina a partir del triptófano (Figura 1b) utilizada por *Bacillus* y la tercera es la vía indol-3-acetamida (Figura 1c), comúnmente presente en *Azospirillum*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia herbicola*, *Rhizobium sp.* y *Bradyrhizobium sp.*

(Costacurta y Vanderleyden, 1995; Camelo *et al.*, 2011; Amara *et al.*, 2015; Goswami *et al.*, 2016).

La cantidad de AIA sintetizado es variable, por ejemplo en *Enterobacter cancerogenus* se registraron 25 $\mu\text{g ml}^{-1}$ después de 72 horas de incubación (Jha *et al.*, 2012), *Pseudomonas mucilaginosus* produjo 13 $\mu\text{g ml}^{-1}$ pasadas 72 horas de incubación (Goswami *et al.*, 2015), mientras que para *Pseudomonas fluorescens* se reportaron 29 $\mu\text{g ml}^{-1}$ después de 48 horas (Goswami *et al.*, 2013).

4.2.1.2 Giberelinas

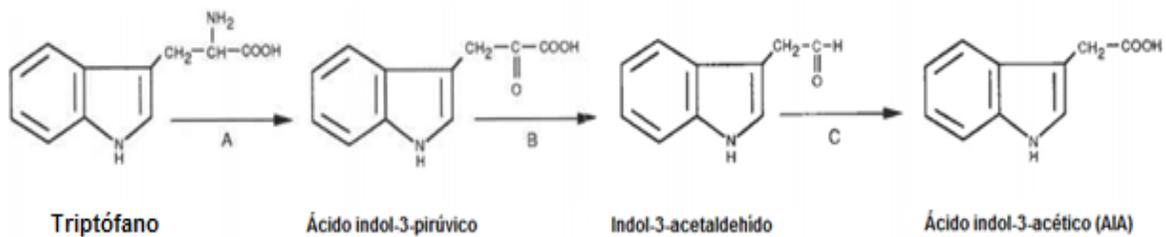
Son fitohormonas, pertenecientes a la familia de los diterpenoides que tienen en común un esqueleto de *ent-giberelano*; compuestas por 19 o 20 átomos de carbono, agrupados en sistemas de cuatro o cinco anillos, donde el quinto anillo es una lactona (Salisbury y Ross, 1996; Salazar-Cerezo *et al.*, 2018), son sintetizadas por plantas, hongos y bacterias (Morrone *et al.*, 2009). Las giberelinas fueron aisladas por primera vez en 1930 por T. Yubata y T. Hayashi, a partir del hongo *Gibberella fujikuroi* (ahora reclasificado como *Fusarium fujikuroi*) causante de la enfermedad “plántula tonta” en arroz (Salisbury y Ross, 1996; Binenbaum *et al.*, 2018).

En 2015 ya se conocían 136 giberelinas, en plantas, hongos y bacterias. Sin embargo, únicamente la G₁, G₃, G₄ y G₇, son considerados como compuestos bioactivos (Bömke y Tudzynski, 2009; Hedden y Sponsel, 2015). De ellos el más conocido es el ácido giberélico (G₃), el cual se obtiene a partir de *Fusarium fujikuroi*, se produce comercialmente y es de gran utilidad en la agricultura (Rademacher, 1994; Salisbury y Ross, 1996; Davies, 2010).

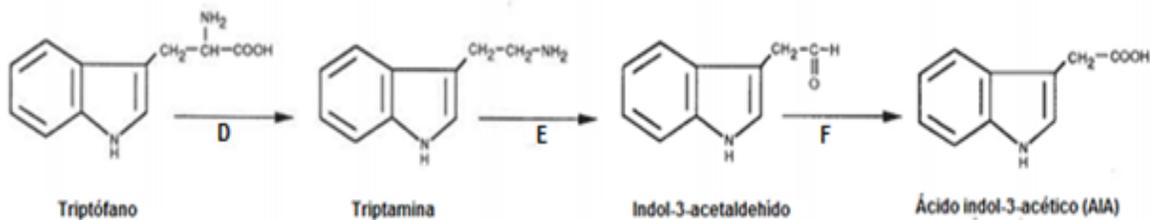
Las principales funciones que desempeñan las giberelinas en las plantas son: estimular la elongación de tallo y raíz, favorecer la germinación de las semillas, participar en la floración e inducir el desarrollo de frutos partenocárpicos (sin semilla) (Hedden y Sponsel, 2015; Binenbaum *et al.*, 2018).

La producción de giberelinas por las bacterias ha sido identificada en RPCV desde 1961 (Vančura *et al.*, 1961; Bömke y Tudzynski, 2009). La primera cepa bacteriana reportada como productora de giberelinas fue *Azotobacter chroococcum* (Vančura *et al.*, 1961), posteriormente se han identificado otras cepas productoras como *Bradyrhizobium sp.* (Dobert *et al.*, 1992), *Azospirillum lipoferum* (Piccoli *et al.*, 1996) y las que se señalan en el Cuadro 1.

a) Ruta del ácido indol-3-pirúvico



b) Ruta de la triptamina



c) Ruta del indol-3-acetamida

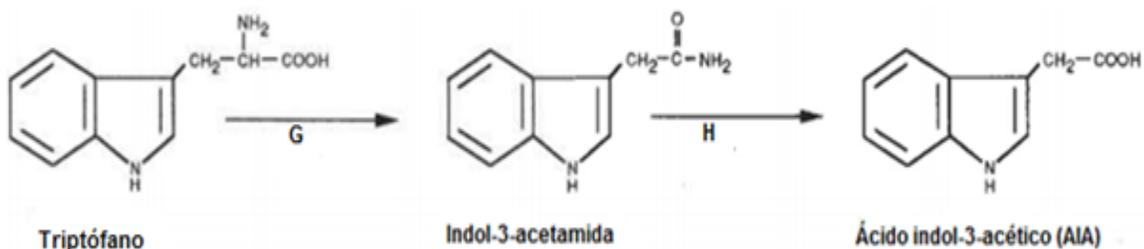


Figura 1. Rutas metabólicas para la síntesis de AIA en bacterias. (A) triptófano transferasa, (B) indol-3-piruvato descarboxilasa, (C) indol-3-acetaldehído oxidasa, (D) triptófano descarboxilasa; (E) amina oxidasa, (F) indol-3-acetaldehído oxidasa, (G) triptófano 2-monooxigenasa y (H) indoleacetamida hidrolasa. Modificada de Patten y Glick, 1996.

Cuadro 1. Síntesis de giberelinas por bacterias (Adaptado de Salazar-Cerezo *et al.*, 2018).

Bacteria	Giberelina sintetizada	Referencia
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	G ₁ , G ₃ , G ₄ , G ₉ , G ₁₂ , G ₁₅ , G ₁₉ , G ₂₀ , G ₂₄ , G ₅₃	Kang <i>et al.</i> (2009)
<i>Acetobacter diazotrophicus</i>	G ₁ , G ₄ G ₃	Atzorn <i>et al.</i> (1988) Moreno-Ramirez <i>et al.</i> (2014)
<i>Azospirillum lipoferum</i>	G ₁ , G ₃	Bastián <i>et al.</i> (1998)
<i>Azospirillum brasilense</i>	G ₁ , G ₃ , G ₄ , G ₉ , G ₂₀	Bottini <i>et al.</i> (1989) y Piccoli <i>et al.</i> (1996)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	G ₄ , G ₅ , G ₈ , G ₉ , G ₁₂ , G ₁₉ , G ₂₀ , G ₂₄ , G ₃₆ , G ₅₃	Shahzad <i>et al.</i> (2016)
<i>Bacillus cereus</i>	G ₁ , G ₃ , G ₄ , G ₇ , G ₉ , G ₁₂ , G ₁₉ , G ₂₀ , G ₂₄ , G ₃₄ , G ₃₆ , G ₄₄ , G ₅₃	Joo <i>et al.</i> (2004)
<i>Bacillus sp.</i>	G ₁ , G ₃	Janzen <i>et al.</i> (1992)
<i>Bacillus licheniformis</i>	G ₁ , G ₃ , G ₄ , G ₂₀ G ₄ , G ₉ , G ₃₄	Gutiérrez-Mañero <i>et al.</i> (2001) Kang <i>et al.</i> (2015)
<i>Bacillus macroides</i>	G ₁ , G ₃ , G ₄ , G ₇ , G ₉ , G ₁₂ , G ₁₉ , G ₂₀ , G ₂₄ , G ₃₄ , G ₃₆ , G ₄₄ , G ₅₃	Joo <i>et al.</i> (2004)
<i>Bacillus methylophilus</i>	G ₁ , G ₃ , G ₇ , G ₈ , G ₉ , G ₁₂ , G ₁₉ , G ₂₀ , G ₂₄ , G ₃₄ , G ₅₃	Radhakrishnan y Lee (2016)
<i>Bacillus pumilus</i>	G ₁ , G ₃ , G ₄ , G ₂₀	Gutiérrez-Mañero <i>et al.</i> (2001)
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	G ₁₅ , G ₂₄ , G ₉	Méndez <i>et al.</i> (2014)
<i>Burkholderia cepacia</i>	G ₁ , G ₃ , G ₄ , G ₉ , G ₁₂ , G ₁₅ , G ₂₀ , G ₂₄	Joo <i>et al.</i> (2004)
<i>Burkholderia sp.</i>	G ₁ , G ₃ , G ₄ , G ₂₀	Gutiérrez-Mañero <i>et al.</i> (2001)
<i>Enterococcus faecium</i>	G ₁ , G ₃ , G ₄ , G ₉ , G ₁₂ , G ₁₅ , G ₂₀ , G ₂₄	Kang <i>et al.</i> (2015)
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	G ₁ , G ₃ , G ₇ , G ₈ , G ₉ , G ₁₂ , G ₁₉ , G ₂₀ , G ₂₄ , G ₅₃	Lee <i>et al.</i> (2015)
<i>Leifsonia soli</i>	G ₁ , G ₃	Kang <i>et al.</i> , 2014a, Kang <i>et al.</i> , 2014b
<i>Pseudomonas monteilii</i>	G ₃	Pandya y Desai (2014)
<i>Promicromonosporasp.</i>	G ₁ , G ₄ , G ₉ , G ₁₂ , G ₁₉ , G ₂₀ , G ₂₄ , G ₃₄ , G ₅₃	Kang <i>et al.</i> (2012)
<i>Rhizobium meliloti</i>	G ₁ , G ₄ , G ₉ , G ₂₀	Atzorn <i>et al.</i> (1988)

4.2.1.3 Citocininas

Estructuralmente las citocininas naturales son derivadas de la adenina y se clasifican de acuerdo con la configuración de su cadena lateral N6, en isoprenoides o aromáticas (Mok y Mok, 2001; Kieber y Schaller, 2014). La presencia de esta hormona, es esencial para la división y diferenciación celular (Sakakibara *et al.*, 2005; Kamada-Nobusada y Sakakibara, 2009); además de afectar una serie de procesos fisiológicos y de desarrollo como: senescencia de la hoja, movilización de nutrientes, dominancia apical, desarrollo floral, germinación de las semillas, participa en la respuesta al estrés biótico y abiótico y favorece la nodulación durante la simbiosis rizobio-leguminosa (Taiz y Zeiger, 2006; Werner y Schmölling, 2009; Maheshwari *et al.*, 2015; Reid *et al.*, 2017; Mens *et al.*, 2018). Su descubrimiento, inició en 1913 con los trabajos de Haberlandt, pero fue hasta 1956 cuando Carl Miller en el laboratorio de Folke Skoog en la Universidad de Wisconsin, Madison, descubrió que una adenina sustituida, 6 furfuril amino purina, era mucho más potente que la adenina para promover la división celular en explantes de tabaco; esta sustancia recibió el nombre de cinetina, sin embargo, este compuesto no se encuentra de forma natural en las plantas (Salisbury y Ross, 1996). Fue hasta 1963, cuando Letham aisló la primera citocinina natural, la zeatina, aislada de granos de maíz (Raven *et al.*, 1992; Salisbury y Ross, 1996; Segura, 2008). Este compuesto es el predominante en la mayoría de las plantas y junto con las auxinas son compuestos claves en el cultivo de tejidos (Raven *et al.*, 1992; Taiz y Zeiger, 2006).

En la biosíntesis de las citocininas se han propuesto dos vías, la vía directa, involucra el desarrollo de dimetilalil pirofosfato (DMAPP) y N6-isopenteniladenosina monofosfato (i6 AMP) de adenosin monofosfato (AMP), posteriormente se da la formación de compuestos de tipo zeatina a partir de la hidroxilación de la cadena lateral, y la vía indirecta, en la que las citoquininas se liberan por recambio (hidrolisis) de ARNt que contiene cis-zeatina (Mok *et al.*, 2000; Segura, 2008; Amara *et al.*, 2015; Goswami *et al.*, 2016).

Las citocininas también pueden ser sintetizadas por cepas bacterianas, algunas de ellas patógenas, por ejemplo, *Agrobacterium tumefaciens*, jugando un importante papel durante el proceso de infección (Akiyoshi *et al.*, 1984 Sugawara *et al.*, 2008). Sin embargo, también se han identificado en RPCV, por ejemplo: *Azospirillum lipoferum* (Esquivel-Cote *et al.*, 2010), *Burkholderia sp.*, *Enterobacter sp.*, *Methylobacterium sp.*, (Lee *et al.*, 2006) y *Pseudomonas fluorescens* (García de Salamone *et al.*, 2001).

4.2.2 Fijación de nitrógeno

El nitrógeno es un nutriente esencial para los seres vivos, debido a que es parte estructural de compuestos vitales como aminoácidos, proteínas, enzimas, nucleoproteínas, ácidos nucleicos y clorofila (Reddy, 2014).

A pesar de que el nitrógeno constituye más del 78 % del volumen de aire de la atmosfera terrestre (Erisman *et al.*, 2008; Sutton *et al.*, 2011), es también uno de los elementos que más limita la producción de los cultivos (García y Espinosa, 2008). Esto se debe a que las plantas son incapaces de asimilar el dinitrogeno (N₂) atmosférico (Reddy, 2014), ya que las raíces lo absorben en forma de iones de nitratos (NO₃⁻) y amonio (NH₄⁺) (Cárdenas-Navarro *et al.*, 2004; Alcántar-González *et al.*, 2016). Para que el N₂ se transforme en NH₄ es necesario que ocurra la fijación biológica del nitrógeno realizada por microorganismos simbióticos o de vida libre (Reddy, 2014), descubierta durante el siglo XIX por Jean Batiste Boussingault, Hermann Hellriegel y Hermann Wilfarth, (Galloway *et al.*, 2013); esto es posible, debido a que, las bacterias fijadoras de nitrógeno en su estructura poseen un complejo enzimático llamado nitrogenasa encargada de catalizar la reacción (Taiz y Zeiger, 2006; Domínguez- Valdivia *et al.*, 2008). La nitrogenasa necesita energía en forma de ATP (16 ATP por N₂ reducido) y la presencia de Mg²⁺ que actúa como puente de unión entre uno de los componentes de la enzima y el ATP (Navarro-García y Navarro-García, 2013). La ecuación global es:



Las cepas bacterianas que tienen la capacidad de fijar N_2 se clasifican en dos categorías. La primera categoría está constituida por bacterias que establecen una relación mutualista con leguminosas y algunos árboles (Martínez-Viveros *et al.*, 2010; Goswami *et al.*, 2016). Los rizobios son un grupo de bacterias que tienen la capacidad para establecer simbiosis con leguminosas y formar nódulos en las raíces, donde se lleva a cabo la fijación de nitrógeno (Gupta *et al.*, 2015). Algunos géneros bacterianos representantes de este grupo son: *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium* y *Sinorhizobium* (Zahran, 2001; Vessey, 2003; Reddy, 2014). Frankia, es una actinobacteria que establece simbiosis con árboles entre los que se encuentran *Alnus* y *Casuarina*, forma nódulos parecidos a los de las leguminosas (Guerrero y Valdés, 2008; Battenberg *et al.*, 2017).

La segunda categoría corresponde a las bacterias de vida libre (Goswami *et al.*, 2016). Este grupo de microorganismos viven fuera de las células de las plantas (Reddy, 2014). Algunos ejemplos son: *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella* y *Paenibacillus mucilaginosus* (Reddy, 2014; Goswami *et al.*, 2015; Goswami *et al.*, 2016).

Los mejores microorganismos fijadores de nitrógeno son aquellos que forman asociaciones simbióticas, sin embargo, es un grupo muy limitado. Las bacterias de vida libre son las más abundantes en la naturaleza y también aportan una gran cantidad de nitrógeno a los ecosistemas (Dahal *et al.*, 2017).

4.2.3 Solubilización de fosfatos

El fósforo es el segundo de los nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Vessey, 2003; Bhattacharyya y Jha, 2012; Reddy, 2014), debido a que es parte estructural de las moléculas de DNA y RNA, de los fosfolípidos de las membranas celulares y del adenosín trifosfato (ATP) (Aldridge, 1999; Ferrera-Cerrato *et al.*, 2016).). Representa del 0.2 a 0.8 % del peso seco de la planta (Sharma *et al.*, 2013) y es considerado el menos disponible en los suelos agrícolas (Raghothama y Karthikeyan,

2005). La reserva de este elemento se encuentra en las apatitas y depósitos de fosfato natural de donde es liberado a través de procesos de meteorización, erosión y extracción industrial como fertilizante (Ceron y Aristizábal, 2012). Algunos microorganismos tienen la habilidad de convertir estas formas del fósforo en formas accesibles para las plantas como el ortofosfato (Rodríguez *et al.*, 2006). Aproximadamente del 1-50 % de las bacterias que se encuentran en el suelo son solubilizadoras de fosfatos, mientras que en hongos menos del 0.1 % tienen esta capacidad (Khan *et al.*, 2009), su influencia en el ciclo del fósforo se ha reconocido desde 1903 (Rodríguez y Fraga, 1999; Khan *et al.*, 2009).

Bashan y su grupo de colaboradores (Bashan *et al.*, 2013), reportaron cinco mecanismos mediante los cuales se lleva a cabo la solubilización de fosfatos por parte de los microorganismos, los cuales son: liberación de protones, ácidos orgánicos y enzimas fosfatasas, actividad redox y la disolución indirecta al ser estimulados por la liberación de exudados radicales por la planta. Sin embargo, el más documentado, es mediante la liberación de ácidos orgánicos (Khan *et al.*, 2009; Bhattacharyya y Jha, 2012; Goswami *et al.*, 2016) como el ácido cítrico, láctico, glucónico, isobutírico, oxálico, málico, entre otros (Khan *et al.*, 2007). Este mecanismo está representado mediante la siguiente reacción química, donde H_nX es el ácido, m es el coeficiente estequiométrico en el complejo de calcio formado y n es el índice igual al valor absoluto de la carga del anión (X^{n-}) (Bashan *et al.*, 2013):



Algunos de los géneros bacterianos que han sido identificados con la capacidad de ser solubilizadores de fosfatos son: *Achromobacter*, *Aereobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* y *Rhizobium* (Rodríguez y Fraga, 1999; Jeon *et al.*, 2003, Sharma *et al.*, 2013).

4.2.4 Producción de sideróforos

El hierro es el micronutriente más importante en las plantas (Aguado–Santacruz *et al.*, 2012). Actúa como cofactor de varias enzimas oxido-reductasas y es fundamental para la formación de la clorofila, aunque no es parte estructural de la molécula (Bidwell, 1987; Goswami *et al.*, 2016). Es abundante en los suelos en forma de Fe_3^+ pero su disponibilidad es baja por su tendencia a formar óxidos e hidróxidos (Bulgarelli *et al.*, 2013; Goswami *et al.*, 2016). Las plantas utilizan estrategias para la adquisición eficiente del hierro, como: la acidificación del medio y la excreción de fitosideróforos (Ferrera-Cerrato *et al.*, 2016). Las RPCV, que habitan en la rizosfera de las plantas, también contribuyen secretando sideróforos (Reddy, 2014).

Los sideróforos son compuestos de bajo peso molecular, generalmente por debajo de 1 kDa, que contienen grupos funcionales con alta afinidad por el ion férrico (Fe_3^+) (Figura 2) y son solubles en agua (Martínez-Viveros *et al.*, 2010; Bulgarelli *et al.*, 2013; Ahemad y Kibret, 2014; Reddy, 2014; Goswami *et al.*, 2016; Ferrera-Cerrato *et al.*, 2016). Se dividen en tres familias principales en función del grupo funcional característico: hidroxamatos (Figura 2a), catecolatos (Figura 2b) y carboxilatos (Figura 3c) (Gupta *et al.*, 2015). No todas las bacterias producen el mismo tipo de sideróforo. Por ejemplo: *Enterobacter cancerogenes* produce sideróforos de tipo hidroximato y *Paenibacillus mucilaginosus* puede producir sideróforos de tipo catecolatos (Goswami *et al.*, 2015).

Algunos géneros de bacterias productoras de sideróforos son: *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Geobacter*, *Mesorhizobium*, *Pseudomonas* y *Rizhobium* (Braud *et al.*, 2009; Reddy, 2014; Ferrera-Cerrato *et al.*, 2016). Una característica importante de las bacterias es que tanto las gramnegativas como grampositivas reducen el Fe_3^+ a Fe_2^+ en su membrana (Ahemad y Kibret, 2014), que es la forma como las plantas lo prefieren para su absorción (Vessey, 2003). De esta forma las RPCV favorecen indirectamente el crecimiento de las plantas (Grobelak y Hiller, 2017).

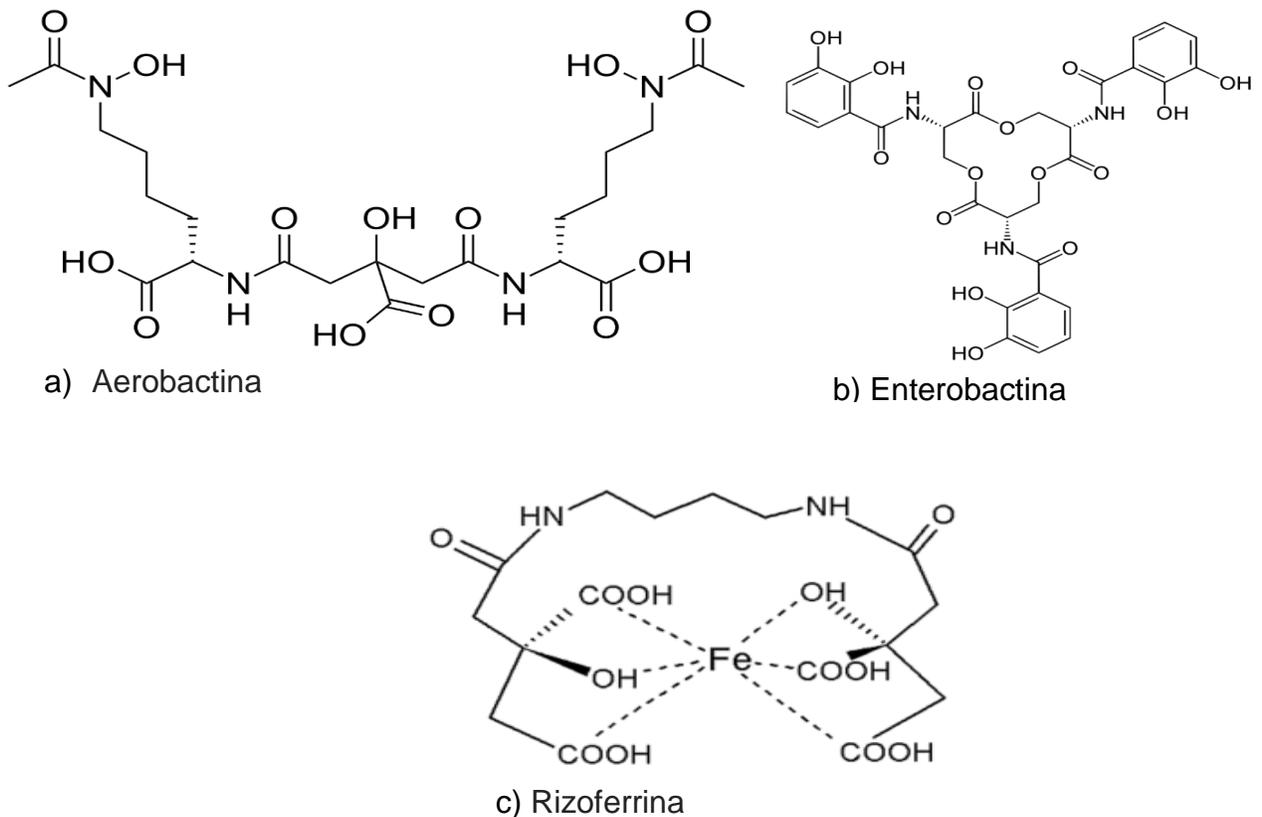


Figura 2. Ejemplos de sideróforos. a) Aerobactina, pertenece al tipo hidroxamatos, b) Enterobactina, pertenece al tipo catecolatos y c) Rizoferrina, pertenece al tipo carboxilatos (Sah y Singh, 2015).

4.3 El cultivo de brócoli

El brócoli es una planta anual con habito de crecimiento erecto, su altura va de 60 a 90 cm (Jaramillo y Díaz, 2006). Es una planta herbácea cuyo producto comestible es una inflorescencia conocida como “pella”, conformada por flores dispuestas en un corimbo principal, su color varía de verde a púrpura dependiendo del cultivar, puede alcanzar un diámetro de hasta 35 cm (Casaca, 2005). Su tallo es herbáceo, con un diámetro de 2-6 cm de longitud, en donde se disponen las hojas en forma helicoidal; los entrenudos son cortos. Las hojas son de color verde oscuro sin estipulas y cerosas (Jaramillo y Díaz, 2006). La parte superior del tallo termina en la inflorescencia principal, las únicas

ramificaciones son las inflorescencias secundarias que se ubican en los nudos superiores (Dixon, 2007). Su contenido nutricional por cada 100 gramos de peso fresco se encuentra en el Cuadro 2. El fruto es una vaina de color verde cenizo que mide en promedio de 3-4 cm. Las semillas, son en forma de munición y miden de 2-3 mm de diámetro (Quesada y Méndez, 2005).

4.3.1 Fenología del cultivo

4.3.1.1 Etapa de semillero

Caracterizada por la formación de hojas y raíces, también llamada fase de almácigo. Esta fase se inicia con la germinación de la semilla y culmina cuando la planta tiene de 3 a 4 hojas bien formadas y con una altura de 10-12 cm (Jaramillo y Díaz, 2006). El intervalo óptimo de temperatura para la germinación del brócoli se establece entre 20 a 30 °C (Maroto *et al.*, 2007).

CUADRO 2. Composición nutrimental del brócoli (Modificado de Maynard y Hochmuth, 2007).

Componente	Concentración
Agua	89 %
Energía	34 Kcal
Proteína	2.8 g
Lípidos	0.4 g
Carbohidratos	6.6 g
Fibra	2.6 g
Calcio	47 mg
Fosforo	66 mg
Hierro	0.7 mg
Sodio	33 mg
Potasio	316 mg
Vitamina A	660 IU
Tiamina	0.07 mg
Riboflavina	0.12 mg
Niacina	0.64 mg

4.3.1.2 Etapa juvenil

Esta etapa comienza con el trasplante en el campo y termina con la aparición del primordio floral, tiene una duración aproximada de 40 días, durante este periodo únicamente presenta crecimiento vegetativo (Jaramillo y Díaz, 2006).

4.3.1.3 Etapa de emergencia floral

Para que sea posible la formación de la pella, es necesario un periodo con temperaturas bajas, de tal forma que la planta sea estimulada y resulte en la emisión del florete (Martínez, 2004). Generalmente esto se da entre los 40- 45 días después del trasplante, dependiendo del cultivar y el ciclo de producción; cuando esto sucede siguen brotando hojas de tamaño más pequeño que en la etapa juvenil (Jaramillo y Díaz, 2006).

4.3.1.4 Etapa de la formación de la pella

Tras haber inducido la floración, las plantas dejan de formar nuevas hojas y las que se habían formado poseen una tasa de crecimiento menor. En esta fase se da el crecimiento de la inflorescencia en diámetro y biomasa, dura aproximadamente 20 días (Maroto *et al*, 2007). Finalizando esta etapa la pella ha alcanzado su madurez comercial.

4.3.1.5 Etapa de floración

Una vez ocurrida la compactación de la pella inicia una nueva etapa, la cual se distingue por el amarillamiento de la cabeza del brócoli perdiendo así la calidad comercial (Villalva, 2011).

4.3.1.6 Polinización y fructificación

A pesar de que el brócoli tiene flores perfectas presenta problemas de autoincompatibilidad, por lo tanto, se necesitan polinizadores (Krarup, 1992).

4.3.2 Requerimientos edafoclimáticos

4.3.2.1 Temperatura

El rango de temperatura óptimo en el suelo para la germinación de la semilla de brócoli es de 5 a 28 °C, bajo este rango de temperaturas normalmente la semilla germina y emerge la plántula en 3 - 8 días (Casseres, 1980).

Las temperaturas mínima y máxima de desarrollo se sitúan entre 6 y 30 °C, respectivamente y el óptimo de crecimiento se alcanza entre 16 y 18 °C. (INIFAP, 2009). Durante la formación de la inflorescencia, se prefieren temperaturas comprendidas entre 12 y 18 °C, con el objetivo de que la inflorescencia se forme compacta; así mismo temperaturas menores a 10 °C durante este periodo propician un crecimiento lento y daños en la inflorescencia (Maroto *et al.*, 2007).

Se debe hacer mención que a temperaturas mayores de 22 °C durante la formación de las pellas provoca que estas se abran prematuramente perdiendo la compactación y calidad y por lo tanto adquiere un escaso valor comercial.

4.3.2.2 Humedad

Se requiere de humedad constante en el suelo, pero sin llegar al exceso. Con poca humedad y altas temperaturas, las hojas quedan pequeñas y las pellas de mala calidad. Con sequía prolongada, parte de las hojas viejas se tornan amarillentas y mueren (Cosme, 2015).

4.3.2.3 Suelo

Requiere de suelos francos y profundos, alto porcentaje de materia orgánica, a falta de esto existen problemas en el desarrollo radical (Cosme, 2015). Es un cultivo ligeramente tolerante a la acidez del suelo, siendo el pH óptimo de 6.0- 6.8 (Maynard y Hochmuth, 2007).

4.3.3 Requerimiento nutricional

La producción de los cultivos está en función de factores bióticos y abióticos como el clima, las características físicas, químicas y biológicas del suelo, manejo agronómico, entre otros. La nutrición del cultivo es uno de los factores determinantes sobre el rendimiento final, por lo que su manejo debe ser supervisado cuidadosamente durante todo el ciclo de la planta (Alcantar-González *et al.*, 2016).

Para que las plantas se desarrollen adecuadamente se consideran únicamente 17 elementos: carbono (C), hidrogeno (H), oxígeno (O), nitrógeno (N), fosforo (P), potasio (K), azufre (S), calcio (Ca), magnesio (Mg), hierro (Fe), manganeso (Mg), cobre (Cu), zinc (Zn), boro (B), molibdeno (Mo), cloro (Cl) y níquel (Ni), que cumplen con los cuatro criterios de esencialidad establecidos por Arnon y Stout en 1939: 1) Con la usencia del elemento en cuestión no es posible el desarrollo de la planta y ésta es incapaz de completar su ciclo vital, 2) No puede ser sustituido por ningún otro, 3) Sus funciones deben ser conocidas e influir directamente en la nutrición de la planta y 4) Debe ser requerido por la mayoría de las plantas (Bidwell, 1987; Alcantar-González *et al.*, 2016). Estos nutrimentos se dividen en dos grupos con base a las cantidades encontradas en la materia seca de las plantas, por tanto, los primeros 9 corresponden a los macronutrientes y los últimos 8 a los micronutrientes. Con frecuencia en los sistemas de producción agrícola, los macronutrientes con excepción del C, H y O, son abastecidos como fertilizantes sintéticos y los micronutrientes, al ser muy bajo su requerimiento, generalmente son aportados por el suelo.

4.3.3.1 Nitrógeno

Dentro de los cultivos que responden positivamente a la fertilización con nitrógeno, se encuentra el brócoli (Conversa *et al.*, 2019). Muchos investigadores se han enfocado en la fertilización nitrogenada en esta especie (Rincón *et al.*, 1999), por ejemplo: Rincón *et al.* (1999) alcanzó el máximo rendimiento (19.2 ton/ha), con 243.9 kg/ha de N, mientras que Cartagena *et al.* (2010), reportó un requerimiento interno del cultivo de 309 kg/ha para la variedad Avenger y de 325 kg/ha para el cultivar Heritage. Risco-Arias *et al.*

(2016), reportaron el mayor rendimiento con 350 kg/ ha y Zebarth *et al.*, 1995, observaron incrementos significativos en peso fresco de las pellas con una fertilización superior a 450 Kg/ ha. Dado lo anterior, es muy importante que se siga estudiando la respuesta del brócoli a la fertilización nitrogenada, debido a que existe una gran variación en las recomendaciones actuales (Risco-Arias *et al.*, 2016).

4.3.3.2 Fósforo

El fósforo se absorbe como aniones H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} , a diferencia de otros elementos, no es reducido en la planta, sino que es incorporado en el mismo estado de oxidación (Alcántar-González *et al.*, 2016). La cantidad requerida está en función del cultivo, la etapa fisiológica, entre otros factores. Para el caso del brócoli a diferencia del nitrógeno, el fósforo es el nutriente menos requerido por este cultivo (Rincón *et al.*, 1999), su aplicación influye significativamente en el inicio de la floración, en el diámetro y peso de la pella, y esto se ve reflejado en el rendimiento final (Islam *et al.*, 2010).

Puenayan *et al.* (2010), reportaron que los mayores rendimientos para el híbrido Legacy, se alcanzaron con 200 kg/ha de P, similar a lo reportado por Islam *et al.* (2010), mientras que Rincón *et al.* (1999) reportaron que este cultivo únicamente extrae 28.7 kg/ha. Al igual que con el nitrógeno las recomendaciones para la fertilización con P presentan una diferencia muy amplia.

4.3.3.3 Potasio

El K es el catión absorbido en mayor cantidad por las plantas (Alcántar-González *et al.*, 2016) en forma de K^+ y la deficiencia de este elemento es común en suelos arenosos, debido a que se puede perder fácilmente por lixiviación (Bidwell, 1987). Los suelos generalmente tienen de 1-5 kg/ha de potasio en solución, que son absorbidos por las plantas por difusión, flujo de masas y por intercepción radical (Thompson y Troeh, 1988). En brócoli la aplicación de potasio influye significativamente en el rendimiento y en la acumulación de peso y su absorción es similar a la de nitrógeno de acuerdo con Rincón *et al.* (2009), quienes además indicaron que con 240.9 kg/ha se obtiene el máximo

rendimiento (19.2 ton/ha), muy similar a lo reportado por Islam *et al.* (2010). En el caso del potasio existe cierta uniformidad en las recomendaciones.

V. MATERIALES Y MÉTODO

5.1 Experimento en semilleros

5.1.1 Ubicación del experimento

El experimento se estableció en uno de los invernaderos del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, ubicado en las coordenadas 19.52°N, 98.88°O a una altitud de 2240 metros sobre el nivel del mar.

5.1.2 Material microbiano

Se utilizaron las cepas: *Pseudomonas tolaasii* P61, *Pseudomonas tolaasii* A46, *Bacillus pumilus* R44 y *Paenibacillus sp.* BSP1.1, obtenidas del cepario del Laboratorio de Microbiología de Suelos del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Las características fisiológicas promotoras del crecimiento vegetal de las cepas se muestran en el Cuadro 3. Cada una de las cepas utilizadas fue crecida en caldo nutritivo a 28°C durante 72 horas en una agitadora horizontal marca Thermo scientific® modelo MAXQ 400 a 180 rpm hasta obtener una carga bacteriana de 1×10^9 unidades formadoras de colonias (UFC) mL⁻¹. Posteriormente cada inóculo fue impregnado en turba, previamente esterilizada durante 3 horas a 18 lb tres veces cada 48 h para eliminar esporas de hongos que pudieran germinar. Se adicionó 20 mL de inóculo por cada 100 gramos de turba estéril. Los inoculantes bacterianos obtenidos se colocaron en una incubadora marca BINDER® durante 2 semanas hasta tener una carga bacteriana de 1×10^9 UFC, que se midió por la técnica de diluciones y conteo en cajas con agar nutritivo.

5.1.3 Material vegetal

Se utilizaron semillas de la variedad Heritage de la casa comercial SEMINIS® (ver Cuadro 4), estas fueron germinadas en charolas de unicel de 200 cavidades. El sustrato

utilizado fue una mezcla de peat moss y agrolita en una relación 2:1, el cual fue esterilizado por 3 horas a 18 lb tres veces cada 48 h para eliminar esporas de hongos que pudieran germinar. La inoculación se llevó a cabo mezclando el biofertilizante con el sustrato en proporción 1:10 (10 g de inoculante por cada 100 g de sustrato) y después se llenaron las celdas de los semilleros. Cuando las plantas tuvieron un par de hojas se inició con la fertilización usando solución Steiner. Se realizaron 9 aplicaciones de 15 mL de solución por planta, no consecutivas, durante 3 semanas.

Cuadro 3. Características de las cepas bacterianas.

Clave Cepa	Especie	Origen	Aislada de	Característica promotora del crecimiento vegetal
P61	<i>Pseudomonas tolaasii</i>	Valle de Toluca, Estado de México	de Rizosfera de Papa	Solubiliza fosfatos, produce auxinas y sideróforos, controla <i>Rhizoctonia solani</i> (Pineda-Mendoza <i>et al.</i> , 2018 y Pineda-Mendoza <i>et al.</i> , 2019).
A46	<i>Pseudomonas tolaasii</i>	Valle de Toluca, Estado de México	de Rizosfera de papa var. Alpha	Solubiliza fosfatos, produce auxinas y sideróforos, controla <i>Rhizoctonia solani</i> (Pineda-Mendoza <i>et al.</i> , 2018 y Pineda-Mendoza <i>et al.</i> , 2019).
R44	<i>Bacillus pumilus</i>	Valle de Toluca, Estado de México	de Rizosfera de papa var. Rosita	Solubiliza fosfatos, produce auxinas (datos no publicados).
BSP1.1	<i>Paenibacillus sp.</i>	Villa Allende, Estado de México	de Suelo andisol	Solubiliza fosfatos, produce auxinas y controla <i>Rhizoctonia solani</i> (Pineda-Mendoza <i>et al.</i> , 2019).

Cuadro 4. Características del brócoli (*Brassica oleracea* L.) variedad Heritage.

Características
Planta vigorosa
Pellas de grano denso color verde oscuro.
Hojas erectas
Cosechas uniformes
Tolerancia a la sobre-madurez
Precoz

5.1.4 Factores de estudio, tratamientos y diseño experimental

Se utilizó un experimento factorial 5x2 en un diseño completamente al azar con dos factores, resultando 10 tratamientos, cada uno con 4 repeticiones (Cuadro 5). Los factores de estudio fueron: cepas bacterianas y dosis de fertilización. Los niveles de las cepas fueron: 4 cepas y un testigo sin inocular y los niveles de fertilización fueron: solución Steiner al 50 % y solución Steiner al 100 % (Cuadro 6). La unidad experimental consistió en 10 celdas (plantas) del semillero.

Cuadro 5. Tratamientos en el experimento en semillero.

	C1	C2	C3	C4	C5
F1	C1F1	C2F1	C3F1	C4F1	C5F1
F2	C1F2	C2F2	C3F2	C4F2	C5F2

Donde:

C1= Cepa *Pseudomonas tolaasii* A46

C2= Cepa *Pseudomonas tolaasii* P61

C3=Cepa *Bacillus pumilus* R44

C4= Cepa *Paenibacillus* sp. BSP1.1

C5= Sin inoculación (Testigo)

F1= Solución Steiner al 50 %

F2= Solución Steiner al 100 %

Cuadro 6. Solución Steiner utilizada en el experimento (Baca-Castillo *et al.*, 2016).

N total	N-NO₃	N-NH₄	P-PO₄	K	Ca	Mg	S-SO₄	Fe	B	Mn	Zn	Cu	Mo
----- ppm -----													
168	168	0	31	273	180	48	112	3	0.5	0.5	0.05	0.025	0.002

5.1.5 Medición de las variables

Las plántulas se cosecharon a los 35 días después de la siembra, se cortó primero la parte aérea y después se extrajo la raíz del cepellón. Las variables medidas y el método y/o equipo usado se muestran en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Variables estudiadas en el experimento de semillero

Variables evaluadas	Equipo o método usado
Contenido de clorofila	Medido directamente en la hoja con un lector SPAD-502 plus marca KONICA®.
Área foliar	Las hojas se desprendieron de la planta y el área se midió en un integrador de área foliar marca LI-3100C Área meter®.
Volumen radical	La raíz se lavó y el volumen radical se midió utilizando la técnica de desplazamiento de agua en una probeta graduada (Böhm, 1979; Angulo-Castro <i>et al.</i> , 2018).
Peso seco de la raíz	Parte aérea y raíz se secaron en un horno por 72 h a 70 °C y después se pesaron en una balanza analítica marca Saktorius®.
Peso seco total	

5.1.6 Análisis estadístico

Una vez obtenidos los datos de cada una de las variables evaluadas, se realizó un análisis estadístico correspondiente a un experimento factorial en un diseño experimental completamente al azar con el paquete estadístico de SAS versión 9.2 (Statistical Analysis System). Posteriormente se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). Al finalizar esta etapa se seleccionaron las dos cepas con mejores resultados en la promoción vegetal de brócoli en semillero para ser empleadas en el experimento de campo.

5.2 Experimento en campo

5.2.1 Ubicación de la parcela experimental

El experimento se estableció en la comunidad de San Pablo Ixayoc, Texcoco, Estado de México en las coordenadas $18^{\circ} 28.78' N$ $98^{\circ} 47.8' O$ a una altitud de 2563 msnm. Cuenta con una temperatura media anual y precipitación media anual de $16.4^{\circ} C$ y 762.7 mm, respectivamente (Sistema Meteorológico Nacional, 2018). Presenta un clima templado con lluvias en verano (García, 2004). El suelo es un tipo andosol con una textura franco arenoso arcilloso. Se tomaron 4 muestras de suelo a una profundidad de 0 a 30 cm a lo largo de la parcela experimental, se enviaron al laboratorio Fertilab®, en Celaya, Guanajuato, México para determinar materia orgánica, densidad aparente, pH, carbonatos totales, N-NO₃, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, B y S. En el Cuadro 8 se presentan los resultados del análisis.

5.2.2 Material microbiano

Se utilizaron las cepas *Pseudomonas tolaasii* P61 y *Pseudomonas tolaasii* A46, las cuales fueron las que mostraron el mejor efecto en la promoción del crecimiento en plántulas de brócoli a nivel de semillero. Las cepas se propagaron mediante el mismo proceso descrito en el punto 5.1.2, con el fin de obtener el inóculo bacteriano.

Cuadro 8. Análisis físico-químico del suelo de la parcela experimental.

Características			
Textura	Franco arcillo arenoso		
pH	7.33		
Carbonatos totales	0.63 %		
Materia orgánica	1.72 %		
NO ₃	7.2 ppm	Fe	17.2 ppm
P	63.4 ppm	Zn	1.93 ppm
K	573 ppm	Mn	4.88 ppm
Ca	1264 ppm	Cu	1.18 ppm
Mg	363 ppm	B	0.30 ppm
Na	22.5 ppm	S	25.2 ppm

5.2.3 Material vegetal

Se sembraron semillas de la variedad Heritage de la casa comercial SEMINIS® en charolas de uniceL con 200 cavidades; las condiciones de siembra e inoculación fueron las mismas que se describen en el punto 5.1.3. Una vez emergidas las plantas, los semilleros fueron colocados al azar sobre bancales dentro del invernadero (aleatorización realizada con el programa “R” versión 3.6.0 (www.project.org)). Cuando las plantas tuvieron un par de hojas se inició con la fertilización usando solución Steiner. Se realizaron 9 aplicaciones de 15 mL de solución por planta, no consecutivas, durante 3 semanas. El trasplante se llevó acabo a los 35 DDS.

5.2.4 Factores de estudio

Se trabajó con dos factores: cepas bacterianas y dosis de fertilización. El factor cepas bacterianas, tuvo 3 niveles: dos cepas (*Pseudomonas tolaasii* A46 y *Pseudomonas tolaasii* P61) y un testigo sin inoculación. El factor dosis de fertilización tuvo dos niveles: el primero corresponde a la dosis 45-14-36 de NPK (50 % de la fertilización) y el segundo

90-28-72 de NPK (100 % de fertilización) (Cuadro 9). Estas dosis fueron ajustadas de acuerdo con el análisis de suelo, la fenología del cultivo y disponibilidad de agua.

Cuadro 9. Tratamientos en el experimento de campo.

	C1	C2	C3
F1	C1F1 = T1	C2F1 = T3	C3F1 = T5
F2	C1F2 = T2	C2F2 = T4	C3F2 = T6

Donde:

C1= Cepa de *Pseudomonas tolaasii* A46

C2= Cepa de *Pseudomonas tolaasii* P61

C3= Sin inocular (Testigo)

F1= Dosis (45-14-36 de NPK)

F2= Dosis (90-28-72 de NPK)

T= combinaciones (tratamientos) de los factores cepas y dosis

5.2.5 Diseño de tratamientos

Se utilizó un experimento factorial 3x2 en un diseño experimental completamente al azar con 4 repeticiones (Cuadro 9). Se obtuvieron 24 unidades experimentales establecidas en el terreno como se muestra en la Figura 3. Cada unidad experimental consistió en 4 surcos de 0.80 m de ancho por 3 metros de largo teniendo un área total de 9.6 m², los datos se tomaron únicamente de los 2 surcos centrales por lo que el área útil fue de 4.8 m². La densidad de población manejada fue de 31,250 plantas por hectárea.

5.2.6 Manejo del cultivo

El experimento en campo se estableció el 11 de mayo de 2018. Los tratamientos con inoculación bacteriana fueron reinoculados a los 11 DDT, aplicando 5 g de inóculo por planta en la base del tallo y cubriendo con suelo. La fertilización nitrogenada se dividió en dos partes, una se aplicó en el trasplante (33 %) y el resto a los 30 DDT (77 %), usando como fuente urea y nitrato de calcio, la fertilización fosfatada y potásica fue aplicada totalmente en el trasplante utilizando como fuente triple 17 y sulfato de potasio. Se aplicó un riego pesado antes del trasplante y una vez establecido el cultivo se dieron 4 riegos de acuerdo con la necesidad de las plantas, debido a que aún no se iniciaba el

periodo de lluvias. Posteriormente se dieron 6 riegos a lo largo del ciclo del cultivo cuando las lluvias no fueron suficientes para satisfacer la demanda de las plantas y estas mostraron síntomas visibles de déficit hídrico. Se llevaron a cabo dos labores culturales manuales, una a los 7 DDT y la otra a los 45 DDT. En cuanto al control de plagas y enfermedades se realizó una aplicación preventiva contra la palomilla dorso diamante (*Plutella xylostella*) a los 39 DDT con extracto de neem (Nimicide 80®) a una dosis de 2.5 L ha⁻¹. A los 67 DDT se inició la diferenciación de la inflorescencia (pella), a partir de aquí se presentó su crecimiento y desarrollo que culminó entre los 81 y 90 DDT, periodo durante el cual se realizó la cosecha y la toma de datos.

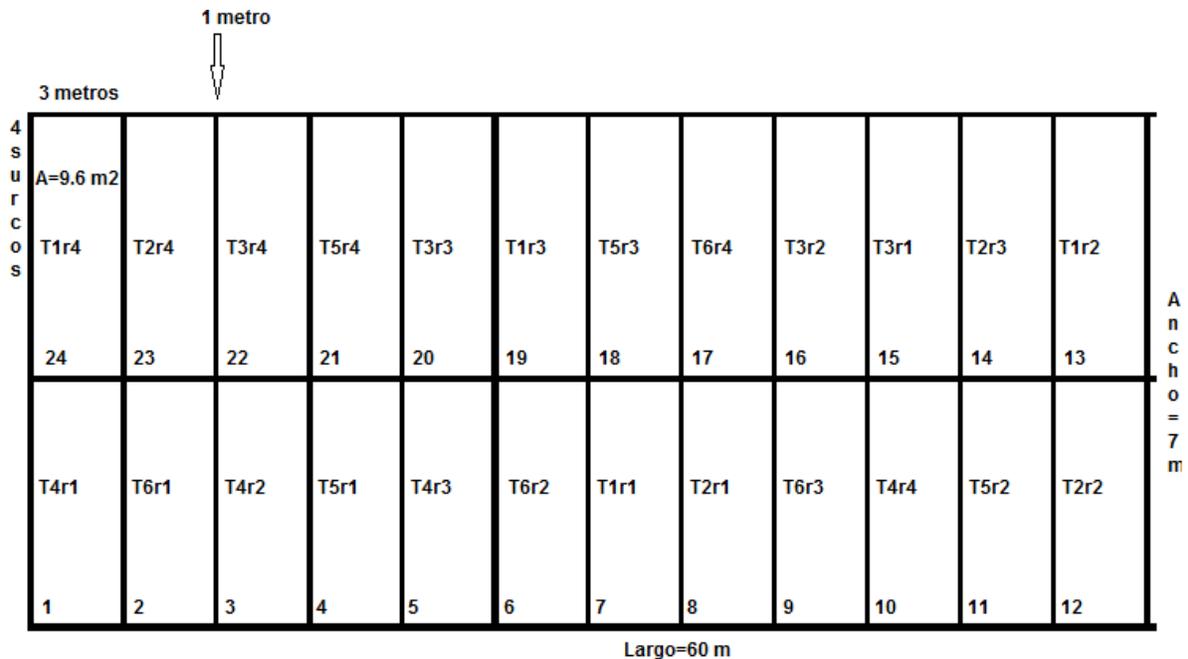


Figura 3. Distribución de tratamientos en la parcela experimental. T1, T2, T3, T4, T5 y T6 corresponden a los 6 tratamientos y r1, r2, r3, r4 son las repeticiones.

5.2.7 Variables de estudio

5.2.7.1 Contenido relativo de clorofila

El contenido relativo de clorofila fue medido directamente en la hoja de la planta con un SPAD-502 plus marca KONICA®, previo a la cosecha. La lectura se tomó en la parte superior de la hoja más recientemente madura.

5.2.7.2 Altura, diámetro ecuatorial y peso fresco de la pella

Las pellas fueron cortadas dejando aproximadamente 10 cm de tallo. Se tomaron 10 pellas de cada unidad experimental y se colocaron en bolsas para ser trasladadas inmediatamente al Laboratorio de Microbiología de Suelos del Colegio de Postgraduados, donde fueron pesadas y medidas (altura, diámetro ecuatorial y peso fresco de la pella) para evitar pérdida de humedad. Con los datos obtenidos de peso fresco se determinó el rendimiento del cultivo. Una vez pesadas se tomó una muestra de 4 pellas por unidad experimental y fueron colocadas en un horno de aire forzado a 70 °C por 72 h para evaluar peso seco. Dado que se conoce el peso fresco del material cosechado, el peso seco de las muestras se utilizó para calcular el peso seco de todas las pellas cosechadas.

5.2.7.3 Materia seca total de planta

Se extrajeron 2 plantas completas de cada unidad experimental y se separaron en raíz, tallo, hojas y pella; en el caso de la raíz esta se lavó con el chorro de agua y se dejó secar bajo sombra. Cada órgano se pesó directamente en el campo (peso fresco); posteriormente se tomaron muestras de cada órgano que fueron llevadas al laboratorio para secarlas en un horno de aire forzado a 70 °C hasta obtener peso constante. Las muestras fueron pesadas y los datos se extrapolaron con los de peso fresco, de tal forma que se determinó la materia seca total de las plantas.

5.2.7.4 Concentración de NPK en planta

Las muestras de cada órgano de la planta, una vez secas se molieron y después se enviaron a los Laboratorios Centrales de la Universidad Autónoma Chapingo para la determinación de N, P y K.

5.2.7.5 Determinación de NPK en suelo

Una vez finalizada la cosecha se tomaron 2 muestras de suelo de 1 kg en cada unidad experimental, las cuales fueron analizadas en el Laboratorio de Física de Suelos y en el

Laboratorio de Nutrición Vegetal del Colegio de Postgraduados. El contenido de NO₃ se determinó por arrastre de vapor con aleación Devarda (Bremner, 1965), el P mediante la metodología de Bray y Kurtz (1945), y el K se midió por espectrofotometría de emisión de flama en un equipo Flame photometer marca Jenway, modelo PFP7.

5.2.7.6 Extracción nutrimental de la planta

La extracción de nutrimentos (N, P, K) por la planta se calculó tomando en cuenta la concentración del nutrimento (%) y la materia seca de cada uno de los órganos de la planta (raíz, tallo, hojas y pella). La fórmula utilizada fue la siguiente:

$$\text{Extracción nutrimental} = \frac{\text{peso seco} * \text{concentración de nutrimento}}{100}$$

5.2.8 Análisis estadístico

Una vez obtenidos los datos de cada una de las variables evaluadas, se realizó un análisis estadístico correspondiente a un experimento factorial en un diseño experimental completamente al azar con el paquete estadístico de SAS versión 9.2 (Statistical Analysis System). Posteriormente se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Experimento en semillero

El efecto de cuatro cepas de RPCV para promover el crecimiento vegetal de plántulas de brócoli variedad Heritage, fertilizadas con dos concentraciones (50 y 100 %) de la solución Steiner (Baca-Castillo *et al.*, 2016), se evaluó a los 35 días después de la siembra (DDS).

Los resultados indican que todas las plántulas de brócoli inoculadas y fertilizadas, mostraron un incremento significativo en las diferentes variables evaluadas respecto a las plántulas no inoculadas y fertilizadas.

De acuerdo con la comparación de medias de los diferentes tratamientos, las plántulas inoculadas con la cepa A46 (*Pseudomonas tolaasii*) y fertilizadas con la solución al 50 % (C1F1) presentaron un mayor contenido relativo de clorofila que los tratamientos no inoculados bajo los dos niveles de fertilización, 10.25 % superior a las plántulas del tratamiento C5F1 y 17.7 % que aquellas del tratamiento C5F2 (Cuadro 10).

Respecto al volumen radical, se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. El volumen radical de las plántulas inoculadas con la cepa A46 (*Pseudomonas tolaasii*) y fertilizadas con el 50 % de solución Steiner (C1F1) fue 99.5 % superior al tratamiento sin inoculación y con solución Steiner al 50 % (C5F1) y 112 % más alto que el tratamiento sin inoculación y con solución Steiner al 100 % (C5F2) (Cuadro 10).

En cuanto al área foliar, se observó una influencia significativa de la inoculación con las cuatro cepas evaluadas en los dos niveles de fertilización. Las plantas inoculadas con cualquiera de las cuatro cepas y fertilizadas con solución Steiner al 100 % (C1F2, C2F2, C3F2 y C4F2) presentaron valores entre 27.4 y 29.1 cm² de área foliar, superiores a la de aquellas plántulas fertilizadas y no inoculadas (C5F1 y C5F2) que registraron valores entre 16.6 y 24.6 cm² (Cuadro 10).

En la variable de peso seco de la raíz, se encontraron incrementos significativos en aquellas plántulas inoculadas con cualquiera de las cuatro cepas bajo los dos niveles de fertilización. Los tratamientos inoculados con las cepas A46 (*Pseudomonas tolaasii*) y P61 (*Pseudomonas tolaasii*) y fertilizados con solución Steiner al 50 % (C1F1 y C2F1) fueron estadísticamente superiores al resto de los tratamientos. En el tratamiento C1F1 se registró un incremento del peso seco de la raíz en 72 % respecto al no inoculado y fertilizado al 50 % (C5F1) y en 109 % respecto al tratamiento sin inoculación y al 100% de fertilización (C5F2). En las plántulas del tratamiento C2F1 se registró un aumento del

peso seco de raíz en 62.7 % con relación al no inoculado y fertilizado al 50 % (C5F1) y en 97.3 % con respecto al no inoculado y fertilizado al 100 % (C5F2) (Cuadro 10).

En el peso seco total, hubo diferencias significativas entre tratamientos. De todos los tratamientos evaluados sobresalió el inoculado con la cepa A46 (*Pseudomonas tolaasii*) y fertilizado con el 100 % de la solución Steiner (C1F2), 56.1 % superior al valor obtenido con el tratamiento no inoculado y fertilizado al 50% (C5F1) y 34.26 % con respecto al no inoculado y fertilizado al 100 % de la solución Steiner (Cuadro 10).

El efecto de la inoculación de las RPCV ha sido documentado en otras hortalizas como: cebolla, lechuga, tomate, pepino, fresa, pimiento, chile jalapeño y chile habanero (Cruz *et al.*, 2016; Castillo-Aguilar *et al.* 2017; Angulo-Castro *et al.*, 2018). Esta habilidad de las RPCV de promover crecimiento se ha asociado a mecanismos tales como la síntesis de fitohormonas, la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfatos y la producción de sideroforos (Vessey, 2003; Bulgarelli *et al.*, 2013; Ahemad y Kibret, 2014).

En un cultivo de almácigo, Cruz-Romero *et al.*, (2018) reportaron un efecto positivo en el contenido de clorofila y volumen radical en plántulas de brócoli fertilizadas con el 100 % de la solución Steiner. En tanto que Angulo-Castro *et al.*, 2018, indicaron que la cepa A46 (*Pseudomonas tolaasii*) inoculada en plantas de chile jalapeño promovió un efecto positivo en las variables de volumen radical y peso seco total, mientras que en chile pimiento la mejor cepa fue la R44 (*Bacillus pumilus*).

Finalmente, y de acuerdo con los resultados obtenidos, se seleccionaron las cepas A46 (*Pseudomonas tolaasii*) y P61 (*Pseudomonas tolaasii*), para continuar con el experimento de campo, ya que ambas promovieron significativamente el contenido de clorofila, peso seco de raíz y volumen radical en plantas fertilizadas al 50 % de la solución Steiner y el área foliar y peso seco total al ser fertilizadas con el 100 % de la solución Steiner.

Cuadro 10. Efecto de la inoculación de cepas de RPCV en plántulas de brócoli (*Brassica oleracea* var. Italica) cv. Heritage, a los 35 DDS.

Tratamientos	Contenido de clorofila (Unidades SPAD)	Área foliar (cm ²)	Volumen radical (cm ³)	Peso seco de raíz (mg)	Peso seco total (mg)
C1F1	50.285 a	21.41 c	0.435 a	25.81 a	128.67 ab
C1F2	45.685 bc	29.11 a	0.258 dc	15.71 cde	140.12 a
C2F1	48.015 ab	17.77 ce	0.383 ab	24.41 a	110.56 bc
C2F2	44.420 cd	28.93 a	0.300 bcd	14.65 ef	119.91 cd
C3F1	47.050 bc	19.50 cd	0.300 bcd	18.28 bc	100.80 ab
C3F2	44.205 cd	27.43 a	0.265 dc	16.32 cde	133.34 d
C4F1	47.810 ab	20.27 c	0.363 abc	20.36 b	113.42 cd
C4F2	46.080 bc	28.06 a	0.268 dc	17.79 bcd	130.23 ab
C5F1	45.615 bcd	16.62 e	0.218 d	15.06 edf	84.00 e
C5F2	42.715 d	24.62 b	0.205 d	12.34 f	105.86 cd

C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= *Bacillus pumilus* R44, C4= *Paenibacillus* sp. BSP1.1, C5= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= Solución Steiner al 50% y F2= Solución Steiner al 100 %. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

6.2 Experimento de campo

6.2.1 Componentes de rendimiento

El experimento de campo consistió en evaluar las dos cepas de *Pseudomonas tolaasii* (A46 y P61) seleccionadas en el experimento de semillero. La planta de brócoli se caracteriza por la formación de una inflorescencia comestible llamada pella, la cual define el valor comercial de la planta (Salguero *et al.*, 2011). Variables como altura, diámetro y peso fresco de la pella determinan la calidad y el rendimiento del cultivo (Salguero *et al.*, 2011; Lozano *et al.*, 2017). En este contexto, las plantas inoculadas con la cepa P61 y con el 100 % de fertilización (tratamiento C2F2) mostraron el mayor efecto en la pella de la planta con un incremento de: 6.48 % en altura, 5.89 % en diámetro y 33.42 % en peso

fresco respecto a las plantas no inoculadas y con el 100 % de fertilización (tratamiento C3F2). No obstante, sólo la variable de peso fresco fue estadísticamente significativa (Cuadro 11). Al respecto, Puenayan *et al.* (2010), reportaron un diámetro de pella de 15.82 cm y un peso fresco de 506 g en peso fresco para el híbrido Legacy, al aplicar una dosis de 150-200-00 de NPK. Lozano *et al.* (2017), registraron un diámetro de pella de 9.47 cm y peso fresco de 142.3 g para el cultivar Formoso y de 7.3 cm y 120.2 g con el híbrido Legacy al fertilizar con fosfato diamónico y triple quince obtuvieron, estos valores tan bajos, los atribuyen a las altas temperaturas predominantes en el sitio experimental ($\geq 30^\circ \text{C}$). Yildirim *et al.* (2010) obtuvieron diámetros de pella de 14 cm y 800 g peso fresco para el cultivar Monet F1 utilizando una dosis de 120-180-00 de NPK.

Cuadro 11 .Efecto de la inoculación de RPCV en la pella de brócoli.

Tratamientos	Altura de pella	Diámetro de pella	Peso fresco de pella
	Cm		(g)
C1F1	15.02 b	13.87 b	293.22 bc
C1F2	15.02 b	13.87 b	322.61 bc
C2F1	15.18 b	13.98 b	352.39 b
C2F2	16.58 a	15.80 a	446.22 a
C3F1	14.86 b	13.46 b	276.55 c
C3F2	15.57 ab	14.92 ab	334.43 bc

C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de la dosis de fertilización (45-14-36 NPK) y F2= 100 % de dosis de fertilización (90-28-72 de NPK). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

6.2.2 Contenido relativo de clorofila

La clorofila es un pigmento involucrado en el proceso de la fotosíntesis (Salisbury y Ross, 1996; Rojas, 2011), está estrechamente relacionada con la concentración de nitrógeno en las plantas; por lo tanto, el contenido de clorofila refleja el estado nutricional del vegetal con respecto al nitrógeno (Reddy, 2014). En este estudio se evaluó el contenido

de clorofila en plantas de brócoli con un equipo portátil (SPAD-502 plus, marca KONICA®) que mide el índice de verdor (Sainz y Echeverría, 1998; Caires *et al.*, 2005 citados en Rincón-Castillo y Ligarreto, 2010; Mendoza *et al.*, 1998). De acuerdo con los valores SPAD obtenidos (Figura 4), se evidenció que casi todos los tratamientos tuvieron un contenido de clorofila muy similar entre ellos con excepción de dos tratamientos, el inoculado con la cepa P61 y con 100 % de fertilización (C2F2) y el no inoculado y con 100 % de fertilización (C3F2), los cuales presentaron los valores más bajos.

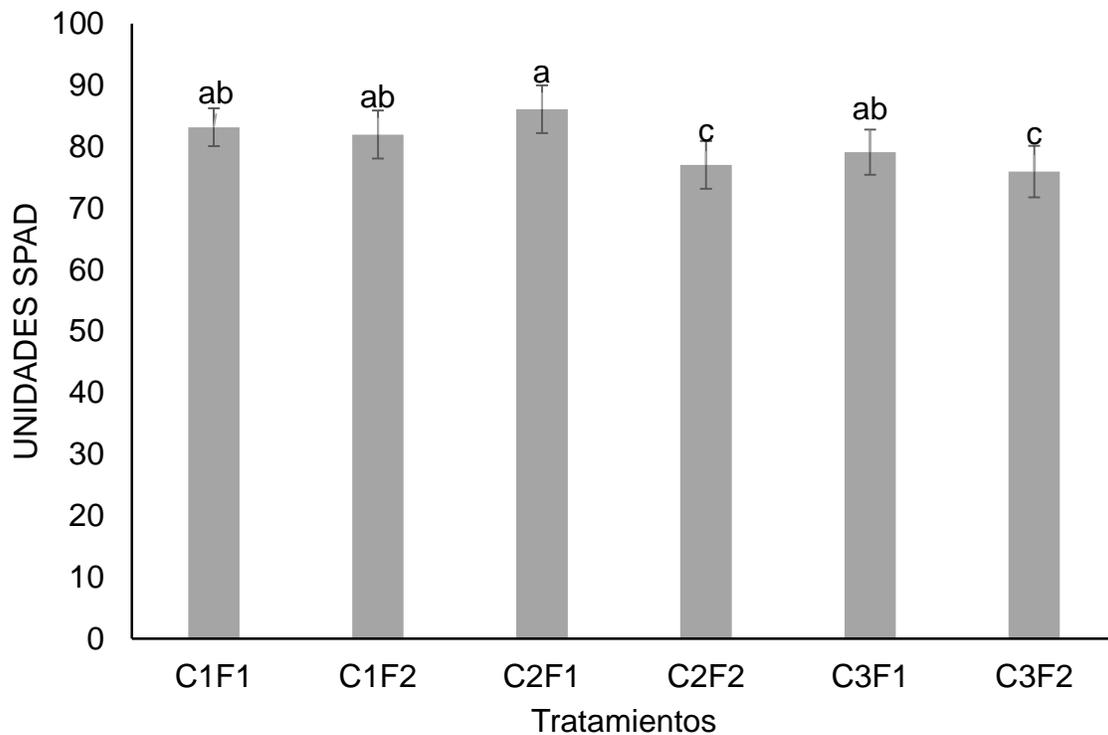


Figura 4. Efecto de la inoculación de RPCV en contenido de clorofila del cultivo de brócoli. C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de la dosis de fertilización (45-14-36 NPK) y F2= 100 % de dosis de fertilización (90-28-72 de NPK). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

6.2.3 Distribución de materia seca

Uno de los efectos benéficos de la inoculación de plantas con cepas RPCV es el incremento de la biomasa y el rendimiento de los cultivos (García *et al.*, 2010). En este experimento se observó que los tratamientos inoculados no incrementaron la materia seca total de las plantas con respecto a los tratamientos no inoculados. No obstante, la materia seca de las pellas de las plantas inoculadas con la cepa P61 (C2) y con el 50 % de la fertilización (C2F1) fue superior en 26.72 % con respecto al tratamiento no inoculado y con el 50 % de la fertilización (C3F1). El tratamiento inoculado con la cepa P61 y con el 100 % de la fertilización (C2F2) tuvo un incremento del 41.34 % con respecto al tratamiento no inoculado y con el 100 % de la fertilización (C3F2) (Cuadro 12).

Las plantas no inoculadas y con el 50 % de fertilización tuvieron la tendencia de acumular mayor materia seca en todos los órganos en comparación al tratamiento no inoculado y con 100 % de fertilización, excepto en la pella donde el comportamiento fue inverso. En el caso particular del tratamiento inoculado con la cepa P61 y con el 100 % de fertilización (C2F2) asignó mayor cantidad de materia seca en la pella (19.2 % con respecto al total acumulado), que se reflejó en menor materia seca acumulada en las hojas en comparación con los tratamientos no inoculados (C3F1 y C3F2) (Cuadro 12). Este porcentaje de materia seca acumulado fue superior al reportado por Rincón *et al.* (1999) y Carranza *et al.* (2008).

Cuadro 12. Efecto de la inoculación de RPCV en la materia seca de brócoli.

Tratamientos	Pella	Tallo	Hojas	Raíz	Total
	g/m ²				
C1F1	103.75 c	107.64 a	439.66 ab	84.54 a	735.58 b
C1F2	118.42 bc	119.70 a	617.07 a	83.12 ab	938.30 a
C2F1	128.74 ab	104.31 ab	489.65 ab	81.33 ab	804.02 ab
C2F2	147.61 a	80.35 b	470.27 b	69.88 ab	768.11 b
C3F1	104.05 c	123.64 a	566.62 ab	85.13 a	879.43 ab
C3F2	116.14 bc	97.29 ab	523.89 ab	67.42 b	804.76 ab

C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de la dosis de fertilización (45-14-36 NPK) y F2=100% de la dosis de fertilización (90-28-72 NPK). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

6.2.4 Contenido nutrimental

6.2.4.1 Nitrógeno

Se ha reportado que uno de los cultivos que mejor responden a la fertilización nitrogenada es el brócoli (Rincón *et al.*, 1999). De acuerdo con los análisis realizados en las plantas, se registró que la mayor concentración de nitrógeno (%) se presentó en la pella, aunque no hubo diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 13). Estos valores fueron superiores a lo reportado por Rincón *et al.* (1999) y Bowen *et al.* (1999). También se encontró que el menor contenido de N total se presentó en tallos y raíz. Probablemente estos resultados se debieron a que en la etapa reproductiva el N es direccionado al órgano que presenta mayor demanda de este elemento, que en este caso fue la pella.

Cuadro 13. Efecto de la inoculación de RPCV en la concentración de Nitrógeno total en brócoli.

Tratamientos	Pella	Tallo	Hojas	Raíz
	%			
C1F1	4.00 a	1.48 ab	2.70 a	1.37 a
C1F2	3.80 a	1.46 ab	2.82 a	1.39 a
C2F1	4.19 a	1.35 b	2.86 a	1.35 a
C2F2	3.79 a	1.88 a	2.49 a	1.51 a
C3F1	3.86 a	1.72 ab	2.75 a	1.37 a
C3F2	3.87 a	1.55 ab	2.65 a	1.27 a

C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de la dosis de fertilización (45-14-36 NPK) y F2=100 % de la dosis de fertilización (90-28-72 NPK). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

La extracción total de nitrógeno se obtuvo de la suma de la extracción de la pella, tallo, hojas y raíz (Cuadro 14). En el caso de la pella, los tratamientos inoculados con la cepa P61 (C2) en ambas dosis de fertilización (C2F1 y C2F2) fueron los que presentaron la mayor extracción de N. El tratamiento C2F1 extrajo 53.9 kg/ha de N, que representó un incremento de 35.6 % con relación al no inoculado y con el 50 % de fertilización (C3F1). El tratamiento C2F2 extrajo 56.4 kg/ha de N siendo superior en 26.5 % al tratamiento no inoculado y con el 100 % de fertilización (C3F2) (Cuadro 14). Estos valores son más bajos a los obtenidos por Borboa *et al.* (2016) con la inoculación de dos RPCV (*Azospirillum halopraeferens* y *Bacillus amiloliquefasciens*) y la aplicación de 180 kg/ha de N con el cultivar Heritage. Castellanos *et al.* (2001), alcanzó valores similares con la aplicación de 100 kg/ha de N con el cultivar Legacy. Bowen *et al.* (1999) reportó extracciones más bajas que en esta investigación con la incorporación de 125 kg/ha de N.

Cuadro 14. Efecto de la inoculación de RPCV en la extracción de Nitrógeno en brócoli.

Tratamientos	Pella	Tallo	Hojas	Raíz	Total
	kg/ha				
C1F1	40.79 b	15.87 b	119.37 b	11.73 a	187.76 b
C1F2	44.92 b	17.33 b	174.83 a	11.56 a	248.64 a
C2F1	53.94 a	14.08 b	140.23 ab	10.91 a	219.17 ab
C2F2	56.44a	15.07 b	117.98 b	10.52 a	200.01 ab
C3F1	39.79 b	21.15 a	156.42 ab	11.61 a	228.96 ab
C3F2	44.62 b	14.67 b	136.93 ab	8.46 a	204.68 ab

C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de la dosis de fertilización (45-14-36 NPK) y F2= 100 % de la dosis de fertilización (90-28-72 NPK). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

En todos los tratamientos los valores más altos en la extracción de N se presentaron en las hojas, mientras que, en tallo y raíz, los valores fueron muy similares. Considerando la extracción total de N, las plantas del tratamiento inoculado con la cepa A46 con la dosis más alta de nitrógeno (C1F2) presentaron el valor más alto que el resto de los tratamientos con 248.6 kg/ha de N que representó un incremento entre 8 y 17.5 % con respecto a los tratamientos no inoculados y fertilizados (C3F1 y C3F2), aun cuando este incremento no fue estadísticamente significativo ($\alpha=0.05$) (Cuadro 14). El valor obtenido, fue similar al que indican Rincón *et al.*, (1999), más bajo de acuerdo con Bowen *et al.* (1999) y Castellanos *et al.* (2001), y superior al obtenido por Borboa *et al.* (2016).

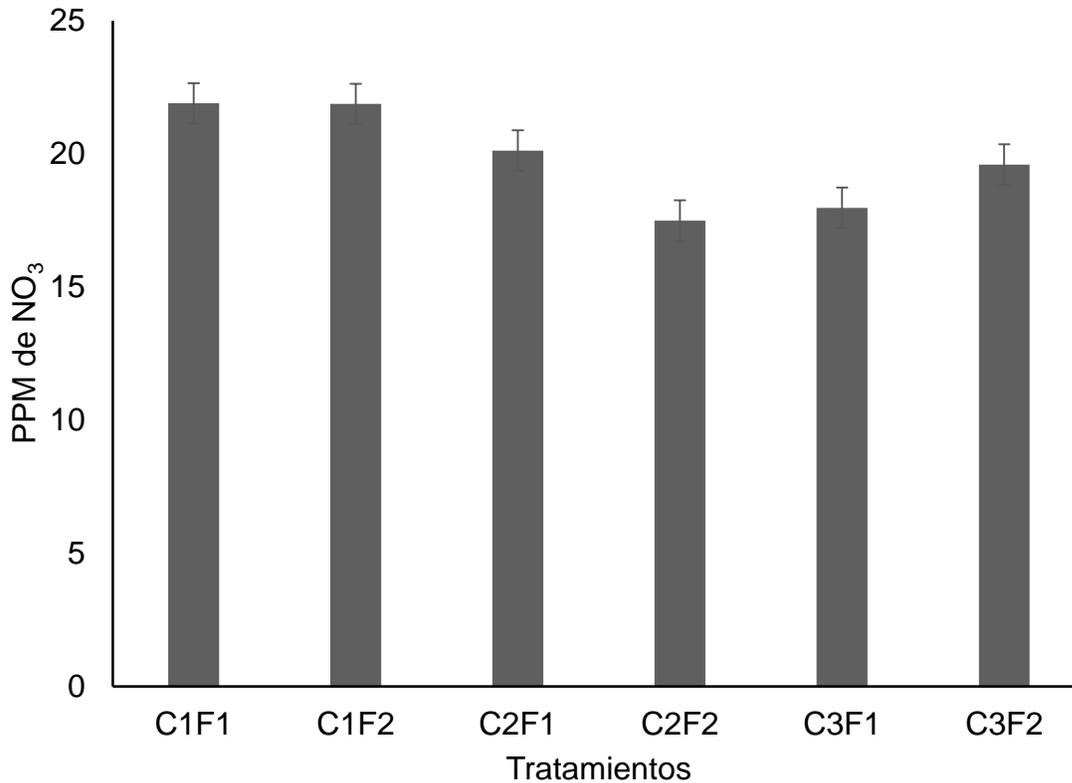


Figura 5. Contenido de NO₃ en el suelo al finalizar el ciclo del cultivo de brócoli. C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de la dosis de fertilización (45-14-36 NPK) y F2= 100 % de la dosis de fertilización (90-28-72 NPK). La barra sobre cada columna indica el error estándar.

Los resultados del análisis del suelo antes de establecer el cultivo mostraron menos de 10 ppm de NO₃, al finalizar el ciclo los niveles fueron superiores a 15 ppm (Figura 5), siendo las parcelas inoculadas con la cepa A46 donde se encontró la mayor concentración (ppm) de NO₃ en ambas dosis de fertilización. Cabe señalar que la extracción de N, en todos los tratamientos fue superior a las dosis aplicadas. Estas cantidades se consideran dosis bajas (Bowen *et al.*, 1999; Rincón *et al.*, 1999; Castellanos *et al.*, 2001; Yildirim *et al.*, 2007; Salguero *et al.*, 2011; Borboa *et al.*, 2016), y que pueden favorecer el proceso de mineralización, mientras que dosis altas conducen a pérdidas de N por desnitrificación o lixiviación (Letey *et al.*, 1983). Pese a que no se realizó un análisis de Nitrógeno total antes del trasplante, el realizado al finalizar el ciclo (datos no mostrados), sugiere que existe un reservorio orgánico, del cual se mineralizó

el nitrógeno extra que fue aprovechado por el cultivo. Adesemoye y Kloepper (2009) y Adesemoye *et al.* (2010), indican que la inoculación de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) pueden favorecer la absorción de fertilizantes nitrogenados por las plantas, haciendo posible la reducción de la dosis de fertilización. Estas tienen potencial de uso en la agricultura tradicional y en la orgánica, aumentando la eficiencia de los fertilizantes (Yildirim *et al.*, 2010; Kuzyakov y Xu, 2013).

6.2.4.2 Fósforo

En las plantas de brócoli, el P es un elemento que se requiere mayormente en la etapa de floración, e influye significativamente en las características de la pella y en el rendimiento del cultivo (Rincón *et al.*, 1999; Islam *et al.*, 2010). Con relación a la concentración de P en cada uno de los órganos de la planta, los tratamientos no presentaron diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 15). En la pella el P se mantuvo en un rango de concentración de 0.68 a 0.73 %. Al comparar estos resultados con otros estudios similares, se encontró que estos valores son superiores a las concentraciones reportadas por Rincón *et al.* (1999), Yoldas *et al.* (2008) con la variedad Marathon, Yildirim y Turan (2013) y Kaluzewicz *et al.* (2016); y están dentro del rango reportado por Rosa *et al.* (2002). Es importante señalar que las concentraciones de P en planta dependen del ciclo de producción, del cultivar, condiciones edafoclimáticas, entre otros factores (Rosa *et al.*, 2002; Veneklaas *et al.*, 2012; Kaluzewicz *et al.*, 2016).

Cuadro 15. Efecto de la inoculación de RPCV en la concentración de fósforo en brócoli.

Tratamientos	Pella	Tallo	%	
			Hojas	Raíz
C1F1	0.68 a	0.59 a	0.36 a	0.34 a
C1F2	0.69 a	0.44 a	0.41 a	0.36 a
C2F1	0.68 a	0.49 a	0.40 a	0.37 a
C2F2	0.71 a	0.57 a	0.43 a	0.37 a
C3F1	0.73 a	0.50 a	0.39 a	0.38 a
C3F2	0.73 a	0.48 a	0.40 a	0.39 a

C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de fertilización (45-14-36 NPK) y F2= 100 % de fertilización (90-28-72 NPK). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

En brócoli, el P es el elemento que se extrae en menor cantidad (Rincón *et al.*, 1999). En el Cuadro 16, se muestran los resultados de la extracción de P por los diferentes órganos de la planta. En relación a la pella, el tratamiento que presentó el mayor valor de extracción de P fue el inoculado con la cepa P61 y con el 100 % de fertilización (C2F2), el cual extrajo 10.19 kg/ha aportando el 23.3 % del total de P extraído por la planta. Las hojas fueron las que extrajeron la mayor cantidad de P, en un rango de 15.9 a 24.7 kg/ha, lo que representa entre el 49.7 y 60.3 % del total extraído por la planta. La extracción total más alta de P en la planta se obtuvo en el tratamiento C1F2, con 41 kg/ha. El tratamiento, no presenta diferencias estadísticamente significativas con respecto al tratamiento testigo sin inocular y bajo el 100 % de fertilización (C3F2), sin embargo, numéricamente fue superior en un 13.4 % (Cuadro 16). La cantidad extraída de P registrada en el tratamiento C1F2 fue 32 % mayor a la reportada por Rincón *et al.* (1999) y menor a la obtenida por Borboa *et al.* (2016). Es importante destacar, que la respuesta de los cultivos a la inoculación con RPCV, es variable dependiendo de factores tales como la temperatura del suelo, el pH, la disponibilidad del P, la cepa bacteriana, entre otros (Sharma *et al.*, 2013).

Cuadro 16. Efecto de la inoculación de RPCV en la extracción de Fósforo en brócoli.

Tratamientos	Pella	Tallo	Hojas	Raíz	Total
	kg/ha				
C1F1	6.98 c	6.28 a	15.95 c	2.90 a	32.10 b
C1F2	8.09 bc	5.27 ab	24.72 a	2.94 a	41.02 a
C2F1	8.72 b	5.02 ab	19.56 bc	2.93 a	36.23 ab
C2F2	10.19 a	4.56 b	19.98 abc	2.56 a	37.29 ab
C3F1	7.65 bc	6.11 a	21.63 ab	3.21 a	38.60 ab
C3F2	8.25 bc	4.51 b	20.80 ab	2.58 a	36.16 ab

C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de la dosis de fertilización (45-14-36 NPK) y F2= 100 de la dosis de fertilización (90-28-72 NPK). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

En la Figura 6 se observa el comportamiento que tuvo el P disponible del suelo en los diferentes tratamientos evaluados. El P antes del establecimiento del cultivo es la suma del P extractable del suelo (Etchevers-Barra y Padilla-Cuevas, 2016) más la aplicación del fertilizante (Triple 17), en cuanto al P final representa el P del suelo después de la cosecha de las plantas. En todos los tratamientos, el suelo tuvo un alto contenido de P extractable (NOM-021-RECNAT-2000). El P antes del cultivo fluctuó en valores que van de 305.9 a 319.8 kg/ha y después de la cosecha varió de 257.4 a 280.2 kg/ha. Esto indica que la extracción de P por el cultivo fue baja, independientemente de los tratamientos (Figura 6). El P extractable es liberado como subproducto de la mineralización de la materia orgánica o de las reservas del P inorgánico que está fijado en las partículas de suelo (Picone y Zamuner, 2002). La mineralización es mediada por la acción microbiana y enzimática (Ferrera-Cerrato *et al.*, 2016), y se ve afectada por la temperatura, aireación, composición de la materia orgánica y la relación C/P (Núñez-Escobar, 2016). Los

microorganismos desempeñan un papel muy importante en el ciclo del P (Sharma *et al.*, 2013), así como en la movilización de nutrientes en la planta. Aun cuando el brócoli extrajo bajos niveles de P, la inoculación de las bacterias favoreció la extracción, como ocurrió particularmente con el tratamiento C1F2 (Cuadro 16).

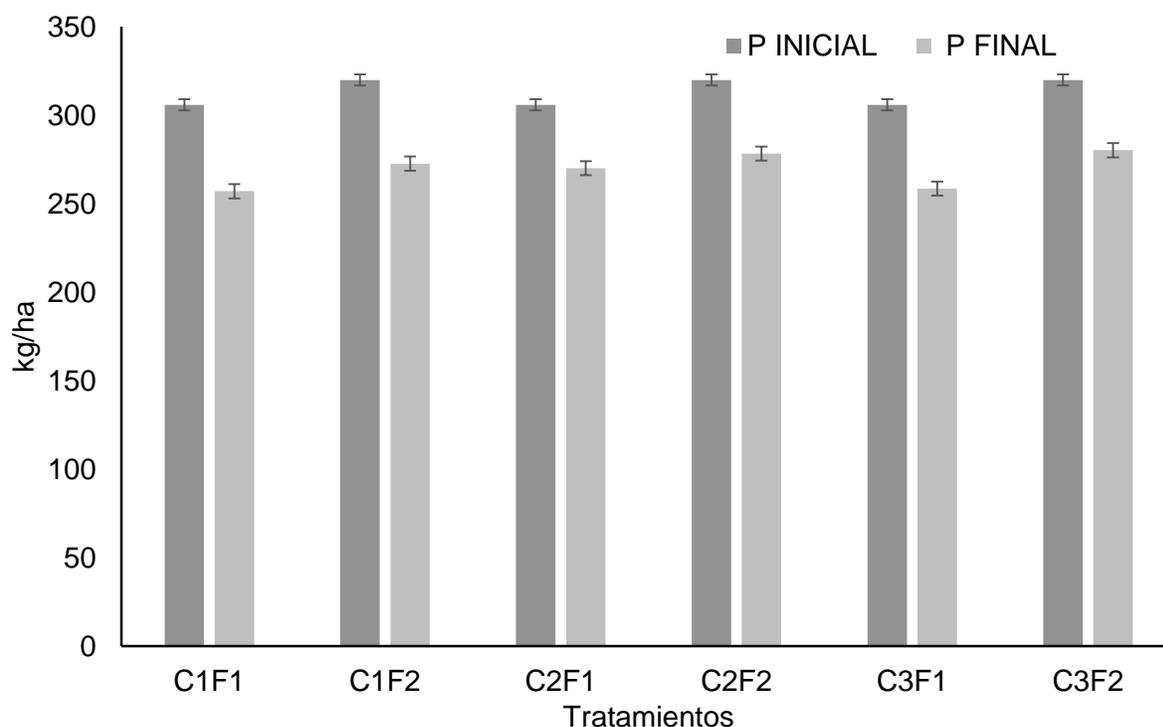


Figura 6. Fósforo disponible en el suelo analizado por el método de Bray. C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de la dosis de fertilización (45-14-36 NPK) y F2= 100 de la dosis de fertilización (90-28-72 NPK). La barra sobre cada columna indica el error estándar.

6.2.4.3 Potasio

El potasio es uno de los nutrientes más relacionados con la calidad nutricional de las hortalizas (Jifon y Lester, 2009). Su presencia en niveles óptimos en el tejido vegetal favorece la absorción de N (Gómez-Merino *et al.*, 2016). En el Cuadro 17 se muestran

las concentraciones que se registraron en diferentes órganos de las plantas de brócoli evaluadas en este estudio. En el tallo se presentaron las concentraciones de K más altas con valores de 4.16 a 4.88 %. En cuanto a pella, hojas y raíz los valores fueron muy similares (Cuadro 17).

A pesar de que las concentraciones de K presentes en tallo, raíz y hojas no mostraron diferencias estadísticamente significativas, los valores se mantuvieron dentro de los niveles de suficiencia reportadas por Alcántar-González et al. (2016). En cuanto a la pella las plantas inoculadas con la cepa P61 y con el 100 % de la dosis de fertilización (C2F2), registraron la mayor concentración (3.26 %) de K. El valor coincidió con lo reportado por Rincón *et al.* (1999) y es superior a la concentración obtenida por Yildirim *et al.* (2007), Rosa *et al.* (2002), Yildirim y Turan (2013) y Kałużewicz *et al.* (2016).

Cuadro 17. Efecto de la inoculación de RPCV en la concentración de Potasio en brócoli.

Tratamientos	Pella	Tallo	Hojas	Raíz
	%			
C1F1	2.72 ab	4.40 a	2.59 a	2.75 a
C1F2	2.49 b	4.16 a	2.34 a	2.83 a
C2F1	2.74 ab	4.19 a	2.70 a	2.78 a
C2F2	3.26 a	4.88 a	3.02 a	3.05 a
C3F1	2.69 ab	4.19 a	2.42 a	2.75 a
C3F2	3.22 ab	4.80 a	3.14 a	3.26 a

C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de la dosis de fertilización (45-14-36 NPK) y F2= 100 % de la dosis de fertilización (90-28-72 NPK). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

En brócoli, el K es el nutriente que más se relaciona con la acumulación de materia seca y peso fresco (Rincón *et al.*, 1999; Islam *et al.*, 2010). Respecto a la extracción total no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los diferentes tratamientos (Cuadro 18), sin embargo, es posible apreciar que los valores son superiores

comparados con la extracción de N (Cuadro 14), lo cual concuerda con lo reportado por Rincón *et al.* (1999). La pella extrajo del 11 al 19 % del total de K, equivalente a valores que van de 28.23 a 46.95 kg/ha. El tratamiento inoculado con la cepa P61 y con el 100 % de la fertilización, acumuló el porcentaje más alto de K en el órgano de interés comercial (Cuadro 18).

Cuadro 18. Efecto de la inoculación de RPCV en la extracción de Potasio en brócoli (kg/ha).

Tratamientos	Pella	Tallo	Hojas	Raíz	Total
	kg/ha				
C1F1	28.23 b	47.17 a	124.46 b	23.29 a	223.15 a
C1F2	29.70 b	49.57 a	152.42 ab	23.20 a	254.89 a
C2F1	35.28 b	43.25 a	131.52 ab	22.53 a	232.59 a
C2F2	46.95 a	39.12 a	140.35 ab	21.30 a	247.72 a
C3F1	28.51 b	49.15 a	134.55 ab	23.27 a	235.48 a
C3F2	34.14 b	46.49 a	164.79 a	22.02 a	267.44 a

C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de la dosis de fertilización (45-14-36 NPK) y F2= 100 % de la dosis de fertilización (90-28-72 NPK). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

En la Figura 7 se observan los datos de la disponibilidad de K extractable del suelo en dos etapas: 1) antes del establecimiento del cultivo y 2) después de realizar la cosecha del cultivo. El K antes del cultivo fluctuó en valores que van de 757.04 a 879.08 kg/ha y después de la cosecha varió de 601.95.4 a 805.82 kg/ha. Es importante señalar que en ambas mediciones la disponibilidad de potasio extractable fue alta (NOM-021-RECNAT-

2000). Silva- Laya *et al.* (2016), señalan que el brócoli responde a la fertilización con K, aunque el suelo no presente deficiencias en este nutriente. No existen antecedentes sobre la capacidad de en las cepas utilizadas en este estudio para solubilizar potasio, sin embargo, no se descarta la posibilidad, dado que los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, y *Aspergillus* son señalados con este potencial (Teotia *et al.*, 2016).

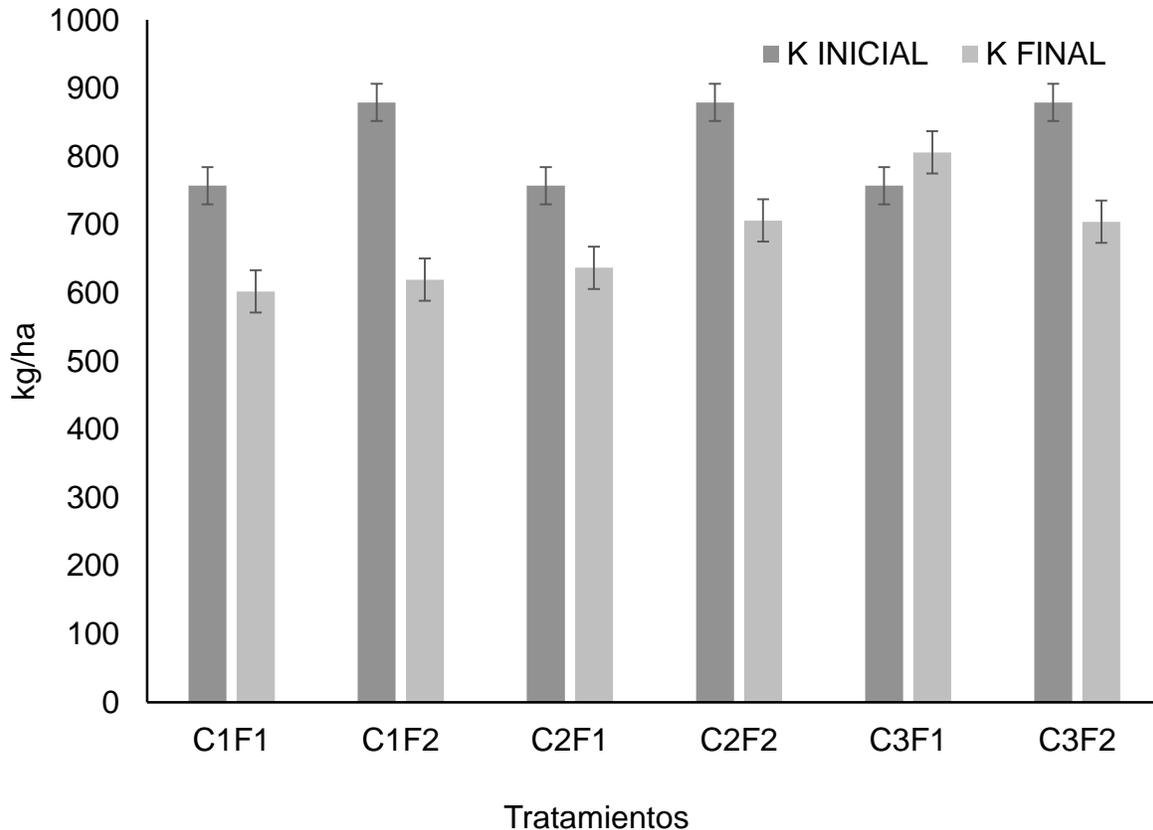


Figura 7. Potasio extractable en el suelo. C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2=*Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de la dosis de fertilización (45-14-36 NPK) y F2= 100 % de la dosis de fertilización (90-28-72 NPK). La barra sobre cada columna indica el error estándar.

6.2.5 Rendimiento del cultivo

Respecto al rendimiento obtenido (Figura 8) en cada uno de los tratamientos, se obtuvo que aquellas plantas inoculadas con la cepa P61 y con el 100 % de fertilización (C2F2), se registró el mayor peso de la pella por metro cuadrado (1785 g) siendo

estadísticamente diferente a los demás tratamientos ($\alpha=0.05$). En particular, éste fue 33.44% superior al tratamiento no inoculado y con 100 % de fertilización (C3F2). Cabe señalar que, el rendimiento obtenido con el tratamiento C2F2 (equivalente a 17.85 ton/ha) fue 23.49 % superior al promedio nacional (14.46 ton/ha) (SIAP, 2018). Así mismo, este resultado fue superior al reportado por Salguero *et al.* (2011) quienes emplearon en un cultivo de brócoli una dosis de fertilización de 250-75-75 NPK, y obtuvieron rendimientos de 6.98, 7.40, 8.37 y 10.53 ton/ha para los cultivares Green top, Liora, Monaco y Parthenon respectivamente. En nuestro caso con dosis menores (90-28-72 y 45-14-36 de NPK) y combinadas con la inoculación se obtuvieron rendimientos más altos (11.7 – 17.8 ton/ha). El rendimiento reportado por Rincón *et al.* (1999) para el híbrido Marathon, fue 9.2 % superior a lo que se reporta en este trabajo, sin embargo, la dosis de fertilización empleada por ellos fue más alta (244-29-241 NPK) que las que se emplearon en este estudio. Cartagena *et al.* (2010) obtuvieron altos rendimientos (17.7 y 14.6 ton/ha de los cultivares Avenger y Heritage respectivamente) con la aplicación de 300 kg/ha de nitrógeno. Los resultados de esta investigación indican que dosis de fertilizante al 50 %, combinadas con la inoculación de RPCV, resultan en respuestas iguales a las dosis de 100 % de fertilización sin uso de inoculante. Lo que significa que es posible reducir la dosis de fertilizante químico con el uso de RPCV, lo cual también ha sido señalado por otros autores para otros cultivos (Adesemoye *et al.*, 2009; Adesemoye y Kloepper, 2009). El uso de este tipo de microorganismos, representa una alternativa prometedora, para mejorar la eficiencia de absorción de nutrientes en las plantas, e incrementar el rendimiento de los cultivos (Adesemoye *et al.*, 2010; Yildirim, 2010).

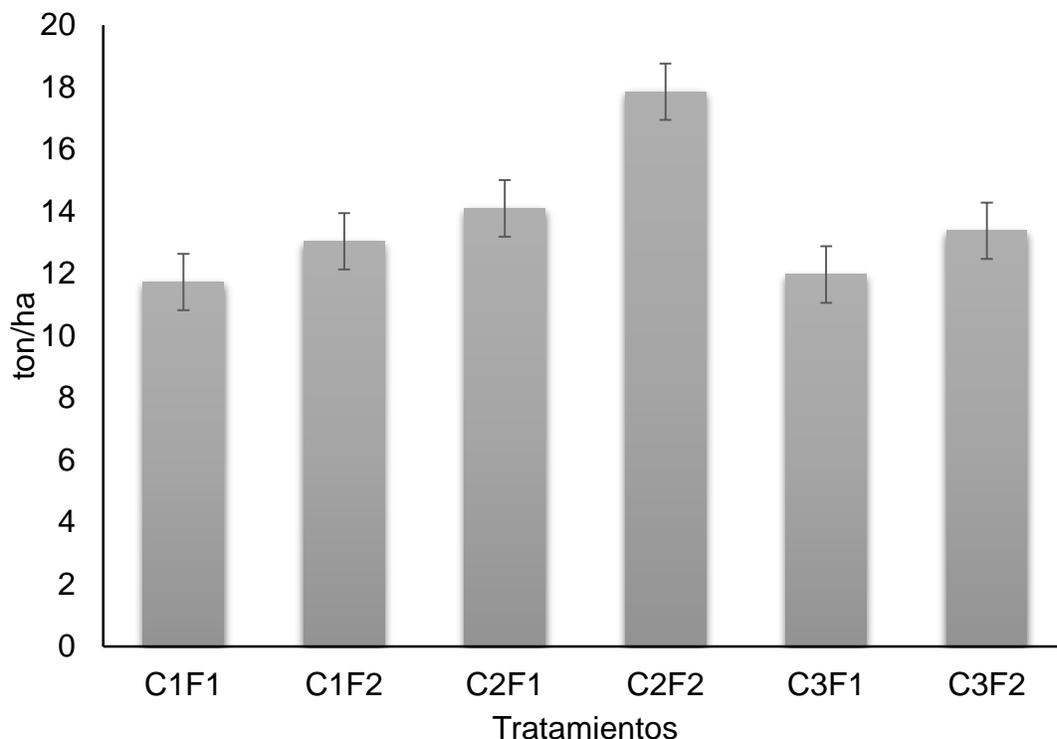


Figura 8. Efecto de la inoculación de RPCV en el rendimiento del cultivo de brócoli. C1=*Pseudomonas tolaasii* A46, C2= *Pseudomonas tolaasii* P61, C3= Tratamiento sin inoculación (Testigo), F1= 50 % de la dosis de fertilización (45-14-36 NPK) y F2= 100 % de dosis de fertilización (90-28-72 de NPK). La barra sobre cada columna indica el error estándar.

VII. CONCLUSIONES

7.1 Experimento en semillero

A nivel de semillero las cepas A46 (*Pseudomonas tolaasii*), P61 (*Pseudomonas tolaasii*), R44 (*Bacillus pumilus*) y BSP1.1 (*Paenibacillus sp*) incrementaron el crecimiento vegetal de plántulas de brócoli variedad Heritage fertilizadas con dos dosis de la solución Steiner (50 y 100 %)

La cepa A46 (*Pseudomonas tolaasii*) destacó respecto a las otras cepas al incrementar en más del 28% el peso seco de las plántulas fertilizadas con cualquiera de las dos dosis de la solución Steiner (50 y 100 %).

Las cepas A46 (*Pseudomonas tolaasii*) y P61 (*Pseudomonas tolaasii*) promovieron un mayor efecto en el peso seco de raíz cuando se empleo el 50 % de la solución Steiner, superando en más del 60 % al tratamiento testigo regado solo con la solución.

7.2 Experimento de campo

La cepa P61 (*Pseudomonas tolaasii*) promovió el crecimiento vegetal de plantas de brócoli variedad Heritage, con ambas dosis de fertilización, destacando un incremento significativo en el peso seco de pellas, 27 % superior a las plantas no inoculadas y sólo fertilizadas (50 y 100 % de NPK).

Las plantas inoculadas con la cepa P61 (*Pseudomonas tolaasii*) y fertilizadas con el 100 % de la dosis presentaron la concentración más alta de N en tallo (1.88 %) y de K en pella (3.26 %) respecto a las planta no inoculadas y fertilizadas con la misma dosis.

Las plantas inoculadas con la cepa A46 (*Pseudomonas tolaasii*) y fertilizadas con el 100 % de la dosis fueron capaces de extraer del suelo la mayor cantidad de N (248.64 kg/ha) y de P (41 kg/ha) respecto al resto de los tratamientos.

En relación al rendimiento el tratamiento inoculado con la cepa P61 (*Pseudomonas tolaasii*) y con 100 % de la fertilización presentó el mayor rendimiento con un valor de 17.85 ton/ha superior al promedio nacional (14.46 ton/ha).

La inoculación de RPCV permitió reducir la dosis de fertilizante, ya que el rendimiento obtenido con la cepa P61 (*Pseudomonas tolaasii*) con el 50 % de la dosis de fertilizante aplicado fue equivalente al rendimiento obtenido con el 100 % de fertilización sin la inoculación.

El uso de RPCV en cultivos hortícolas como el brócoli resulta ser una tecnología sustentable, amigable con el ambiente, que podría reducir los costos de producción.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Acebo Y., Rives N., Hendrich M. y Hernández A. 2007. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal de cepas de *Azospirillum sp.* En el cultivo de arroz. Cultivos tropicales. 2007. Vol. 28. No. 3 pag. 29-32.
- Adesemoye, A. O. y J. W. Kloepper. 2009. Plant–microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(1), 1-12.
- Adesemoye, A. O., H. A. Torbert y J. W. Kloepper. 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology*, 58(4), 921-929.
- Adesemoye, A. O., H. A. Torbert y J.W. Kloepper. 2010. Increased plant uptake of nitrogen from 15N-depleted fertilizer using plant growth-promoting rhizobacteria. *Applied Soil Ecology*, 46(1), 54-58. DOI: 10.1016/j.apsoil.2010.06.010
- Aguado-Santacruz, G. A., B. Moreno-Gómez, B. Jiménez-Francisco, E. García-Moya y R. E. Preciado-Ortiz. 2012. Impacto de los sideróforos microbianos y fitosidéforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 9-21.
- Ahemad, M. y M. Kibret. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University-Science*, 26(1), 1-20. DOI: 10.1016/j.jksus.2013.05.001.
- Akiyoshi, D. E., H. Klee, R. M. Amasino, E. W. Nester y M. P. Gordon. 1984. T-DNA of *Agrobacterium tumefaciens* encodes an enzyme of cytokinin biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(19), 5994-5998.
- Alcántar-González G., L.I. Trejo-Téllez, L. Fernández-Pavía y Ma. de las N. Rodríguez-Mendoza. 2016. Elementos esenciales. pp. 23-52. In: G. Alcántar-Gozález, L. I. Trejo-Téllez y F.C. Gómez-Merino (eds). *Nutrición de cultivos*. Segunda edición. México.
- Aldridge S. 1999. *El hilo de la vida. De los genes a la ingeniería genética*. Editorial Cambridge Press. Madrid, España. 219 páginas.

- Amara U., R. Khalid y R. Hayat. 2015. Soil Bacteria and Phytohormones for Sustainable Crop Production. In: Maheshwari D. (eds) Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem. Sustainable Development and Biodiversity, vol 12. Springer, Cham
- Angulo-Castro, A., R. Ferrera-Cerrato, A. Alarcón, J. J. Almaraz-Suárez., J. Delgadillo-Martínez, M. Jiménez-Fernández y O. García-Barradas. 2018. Crecimiento y eficiencia fotoquímica del fotosistema ii en plántulas de 2 variedades de *Capsicum annuum* L. inoculadas con rizobacterias u hongos micorrícicos arbusculares. Revista Argentina de Microbiología, 50(2), 178-188. DOI: 10.1016/j.ram.2017.03.011
- Arikan S. y Pirak L. 2016. Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Growth, Yield and Fruit Quality of Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.). Erwerbsobstbau, 58(4), 221-226. DOI: 10.1007/s10341-016-0278-6
- Baca-Castillo, G. A. de J., E. Rodriguez- Cruz y A. Quevedo-Nolasco. 2016. La solución nutritiva en hidroponía. Primera edición. México.
- Bashan, Y. y L. E. De-Bashan. 2010. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment. In Advances in agronomy (Vol. 108, pp. 77-136). Academic Press. DOI: 10.1016/S0065-2113(10)08002-8
- Bashan, Y., A. A. Kamnev y L. E. de-Bashan. 2013. Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a proposal for an alternative procedure. Biology and Fertility of Soils, 49(4), 465-479.
- Battenberg, K., J. A. Wren, J. Hillman, J. Edwards, L. Huang y A. M. Berry. 2017. The influence of the host plant is the major ecological determinant of the presence of nitrogen-fixing root nodule symbiont cluster II Frankia species in soil. Applied and Environmental Microbiology. 83 (1), e02661-16.
- Berendsen, R. L., C. M. Pieterse y P. A. Bakker. 2012. The rhizosphere microbiome and plant health. Trends in plant science, 17(8), 478-486. DOI: 10.1016/j.tplants.2012.04.001

- Bhardwaj, D., M. W. Ansari, R. K. Sahoo y N. Tuteja. 2014. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories*, 13(1), 66.
- Bhattacharyya, P. N. y D. K. Jha. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327-1350. DOI: 10.1007/s11274-011-0979-9
- Bidwell, R. G. S. 1987. *Fisiología vegetal. Primera edición en español*. AGT Editor, S. A. México. 784 Pág.
- Binenbaum, J., R. Weinstain y E. Shani, E. 2018. Gibberellin localization and transport in plants. *Trends in plant science*. Vol. 23, No. 5
- Böhm W. 1979. Root Parameters and Their Measurement. In: *Methods of Studying Root Systems. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*, vol 33. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Boivin, S., C. Fonouni-Farde y F. Frugier. 2016. How auxin and cytokinin phytohormones modulate root microbe interactions. *Frontiers in plant science*, 7, 1240. DOI: 10.3389/fpls.2016.01240
- Bömke, C., y B. Tudzynski. 2009. Diversity, regulation, and evolution of the gibberellin biosynthetic pathway in fungi compared to plants and bacteria. *Phytochemistry*, 70(15-16), 1876-1893.
- Borboa Flores, J., F. J. Wong Corral, F. Rodríguez Félix, L. G. Hernández-Montiel, , J. J. Reyes-Pérez y E. O. Rueda-Puente. 2016. Halobacterias promotoras del crecimiento vegetal en Brassica oleracea en el noroeste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (17).
- Bowen, P. A., B. J. Zebarth y P. M. A. Toivonen. 1999. Dynamics of nitrogen and dry-matter partitioning and accumulation in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) in relation to extractable soil inorganic nitrogen. *Canadian Journal of Plant Science*, 79(2), 277-286.
- Braud, A., K. Jézéquel, S. Bazot y T. Lebeau, T. 2009. Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr-and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore-producing bacteria. *Chemosphere*, 74(2), 280-286.

- Bray, R. H. y L. T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soil. *Soil Sci.* 59: 39-45
- Breidenbach, B., J. Pump y M. G. Dumont. 2016. Microbial community structure in the rhizosphere of rice plants. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1537. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01537
- Bremner, J.M. 1965. Inorganic Forms of Nitrogen. In: Black, C.A., et al., Eds., *Methods of Soil Analysis, Part 2, Agronomy Monograph No. 9*, ASA and SSSA, Madison, 1179-1237.
- Bulgarelli, D., K. Schlaeppi, S. Spaepen, E. V. L. van Themaat y P. Schulze-Lefert. 2013. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 64, 807-838.
- Camelo, M., S. P. Vera y R. R. Bonilla. 2011. Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Revista Corpoica: Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 12(2), 159-166.
- Cárdenas-Navarro, R., J. M. Sánchez-Yáñez, R. Farías-Rodríguez y J. J. Peña-Cabriales. 2004. Los aportes de nitrógeno en la agricultura. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 10(2), 173-178.
- Carranza, C., O. Lancho, D. Miranda, M. R. Salazar y B. Chaves. 2008. Modelo simple de simulación de distribución de masa seca en brócoli (*Brassica sp.*) variedad Coronado y repollo (*Brassica oleracea*) híbrido Delus cultivados en la Sabana de Bogotá. *Agronomía Colombiana*, 26(1), 23-31.
- Cartagena, Y., A. Galvis, T. Hernández y G. Arévalo. 2010. Determinación de la demanda nutrimental de nitrógeno en brócoli (*Brassica oleracea* itálica). In XII Congreso Ecuatoriano de La Ciencia Del Suelo. Santo Domingo, Ecuador (pp. 17-19).
- Casaca, D. 2005. El cultivo del brócoli. Banco Interamericano de Desarrollo. Costa Rica. 15 páginas.
- Casseres, E. 1980. Producción de Hortalizas. IICA. Tercera Edición. San José.
- Castellanos, J. Z., S. Villalobos, J. A. Delgado, J. Muñoz-Ramos, A. Sosa, P. Vargas y S. A. Enriquez. 2001. Use of best management practices to increase nitrogen use efficiency and protect environmental quality in a broccoli-corn rotation of central Mexico. *Communications in soil science and plant analysis*, 32(7-8), 1265-1292.

- Castillo-Aguilar, C., R. Garruña, J. J. Zúñiga-Aguilar y A. A. Guzmán-Antonio. 2017. PGPR inoculation improves growth, nutrient uptake and physiological parameters of *Capsicum chinense* plants. *Phyton, International Journal of Experimental Botany*, 86, 199-204.
- Cerón-Rincón, L. E., y F. Ancízar Aristizábal Gutiérrez. 2012. Nitrogen and phosphorus cycles dynamics in Soils. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(1), 285-295.
- Chaudhary, T., y P. Shukla. 2019. Bioinoculants for Bioremediation Applications and Disease Resistance: Innovative Perspectives. *Indian Journal of Microbiology*, 59(2), 129-136.
- Conversa, G., C. Lazzizzera, A. Bonasia y A. Elia. 2019. Growth, N uptake and N critical dilution curve in broccoli cultivars grown under Mediterranean conditions. *Scientia Horticulturae*, 244, 109-121.
- Cosme, C. 2015. Tecnología de producción de brócoli. Ministerio de Agricultura. Costa Rica.
- Costacurta, A. y J. Vanderleyden. 1995. Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 21(1), 1-18.
- Cruz -Romero, W., J. M. Barrios Díaz, R. Mendoza, M. de las Nieves, D. Espinoza Victoria y J. L. Tirado Torres. 2016. Producción de plántulas de hortalizas con *Azospirillum* sp. y aspersión foliar de miel de abeja. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(1), 59-70.
- Curl E.A. y B. Truelove. 1986. Root Exudates. pp. 55-92. In: E.A. Curl y B. Truelove (eds). *The Rhizosphere*. Primera edición. Berlin, Heidelberg.
- Dahal, B., G. Nandakafle, L. Perkins y V. S. Brozela. 2017. Diversity of free-Living nitrogen fixing *Streptomyces* in soils of the badlands of South Dakota. *Microbiological Research*, 195, 31-39.
- Dakora, F. D., y D. A. Phillips. 2002. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. In *Food Security in Nutrient-Stressed Environments: Exploiting Plants' Genetic Capabilities* (pp. 201-213). Springer, Dordrecht.
- Davies, P. J. 2010. The plant hormones their nature, occurrence and function. Pp. 1-15. In D. J. Davies (eds). *Plant hormones*. Springer, Dordrecht. Cornell University, Ithaca, NY, U.S.A. DOI: 10.1007/978-1-4020-2686-7_1

- Dixon. 2007. Vegetable Brassicas and Related Crucifers. Editorial Cabi. 307 páginas.
- Dobert, R. C., S. B. Rood, K. Zanewich y D. G. Blevins. 1992. Gibberellins and the Legume-Rhizobium symbiosis: III. Quantification of gibberellins from stems and nodules of Lima Bean and Cowpea. *Plant Physiology*, 100(4), 1994-2001
- Domínguez-Valdivia, M. D., P. M. Aparicio-Tejo, C. Lamsfus, C. Cruz, M. A. Martins-Loução y J. F. Moran. 2008. Nitrogen nutrition and antioxidant metabolism in ammonium-tolerant and-sensitive plants. *Physiologia Plantarum*, 132(3), 359-369.
- Duca, D., J. Lorv, C. L. Patten, D. Rose y B. R. Glick. 2014. Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106(1), 85-125. DOI: 10.1007/s10482-013-0095-y
- Erisman, J. W., Sutton, M. A., Galloway, J., Klimont, Z., & Winiwarter, W. (2008). How a century of ammonia synthesis changed the world. *Nature Geoscience*, 1(10), 636-639. Doi: 10.1038/ngeo325
- Esquivel-Cote, R., R. M. Ramírez-Gama, G. Tsuzuki-Reyes, A. Orozco-Segovia y P. Huante. 2010. *Azospirillum lipoferum* strain AZm5 containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase improves early growth of tomato seedlings under nitrogen deficiency. *Plant and Soil*, 337(1-2), 65-75.
- Etchevers-Barra J.D y J. Padilla-Cuevas. 2016. Diagnóstico de la fertilidad del suelo. pp. 221-239. In: G. Alcántar-González, L. I. Trejo-Téllez y F.C. Gómez-Merino (eds). *Nutrición de cultivos. Segunda edición. México.*
- Ferrera-Cerrato, R, A. Alarcón, J. Delgadillo-Martínez, J.J. Almaraz-Suárez y J. Pérez-Moreno. 2016. Los microorganismos rizosféricos y su impacto en la nutrición vegetal. pp. 423-440. In: G. Alcántar-González, L. I. Trejo-Téllez y F.C. Gómez-Merino (eds). *Nutrición de cultivos. Segunda edición. México.*
- Finet, C. y Y. Jaillais. 2012. Auxology: when auxin meets plant evo-devo. *Developmental Biology*, 369(1), 19-31.
- Galloway, J. N., A. M. Leach, A. Bleeker y J. W. Erisman. 2013. A chronology of human understanding of the nitrogen cycle. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1621), 20130120.

- García de Salamone, I. E., R. K. Hynes y L. M. Nelson, L. M. 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(5), 404-411.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen.
- García, F., H. Muñoz, C. Carreño y G. Mendoza. 2010. Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum spp.* y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L. "arroz" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 1(2), 107-116.
- García, J. P. y J. Espinosa. 2008. Relación del índice de verdor con la aplicación de nitrógeno en diez híbridos de maíz. *Informaciones Agronómicas*, (71), 9-14.
- Glick, B. 2012. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica* Volume 2012. Article ID 963401, 15 pages.
- Glick, B.R., C.L. Patten, C. Holguin y D.M. Penrosa. 1999. Overview of Plant Growth Promoting Bacteria. pp 1-14. In B.R. Glick, C.L. Patten, C. Holguin y D.M. Penrosa (eds). *Biochemical and genetic mechanisms used by Plant Growth Promoting Bacteria*. Primera edición.
- Gomes, D. G., A. J. Radi y G. S. de Aquino. 2018. Growth-promoting bacteria change the development of aerial part and root system of canola. *Semina: Ciências Agrárias*, 39(6), 2375-2384.
- Gómez-Merino F. C., G. Alcántar-González, L. I. Trejo-Téllez. 2016. Nutrición molecular de N, P y K en plantas. pp. 371-419. In: G. Alcántar-González, L. I. Trejo-Téllez y F.C. Gómez-Merino (eds). *Nutrición de cultivos*. Segunda edición. México
- Goswami, D., H. Vaghela, S. Parmar, P. Dhandhukia y J. N. Thakker. 2013. Plant growth promoting potentials of *Pseudomonas spp.* strain OG isolated from marine water. *Journal of plant interactions*, 8(4), 281-290.
- Goswami, D., J. N. Thakker y P. C. Dhandhukia. 2016. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1127500. DOI: 10.1080/23311932.2015.1127500
- Goswami, D., S. Parmar, H. Vaghela, P. Dhandhukia y J. N. Thakker. 2015. Describing *Paenibacillus mucilaginosus* strain N3 as an efficient plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1000714. DOI: 10.1080/23311932.2014.1000714.

- Grobelak, A., y J. Hiller. 2017. Bacterial siderophores promote plant growth: screening of catechol and hydroxamate siderophores. *International Journal of Phytoremediation*, 19(9), 825-833.
- Guerrero, H. H. B., y M. Valdés. 2008. Frankia y la simbiosis actinorrízica. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 50(3-4), 90-102.
- Gunawardena, U., X. Zhao y M.C. Hawes. 2001. Roots: Contribution to the rhizosphere. eLS. Pp. 1-15. DOI: 10.1002/9780470015902.a0002335.pub2
- Gupta, A., J. M. Meyer y R. Goel. 2002. Development of heavy metal-resistant mutants of phosphate solubilizing *Pseudomonas* sp. NBRI 4014 and their characterization. *Current Microbiology*, 45(5), 323-327.
- Gupta, G., S. S. Parihar, N. K. Ahirwar, S. K. Snehi y V. Singh. 2015. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *J Microb Biochem Technol*, 7(2), 096-102.
- Hartman, A., M. Rotballer y M. Schmid. 2008. Distinct rhizosphere effect on active and total bacterial communities in paddy soils. *Plant Soil* 312: 7-14. DOI: 10.1007/s11104-007-9514-z.
- Hayat, R., S. Ali, U. Amara, R. Khalid y I. Ahmed. 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, 60(4), 579-598. DOI: 10.1007/s13213-010-0117-1
- Hedden, P. y V. Sponsel. 2015. A century of gibberellin research. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34(4), 740-760.
- Hernández-Rodríguez, A., M. Heydrich-Pérez, M. G. Velázquez-del Valle, M. G. y A. N. Hernández-Lauzardo. 2006. Perspectivas del empleo de rizobacterias como agentes de control biológico en cultivos de importancia económica. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1).
- INIFAP. 2009. *Requerimientos Agroecológicos de Cultivos*.
- Islam, M. H., M. R. Shaheb, S. Rahman, B. Ahmed, A. T. M. T. Islam y P. C. Sarker. 2010. Curd yield and profitability of broccoli as affected by phosphorus and potassium. *International Journal of Sustainable Crop Production*, 5(2), 1-7.
- Jankiewicz, L. S., 2003. *Reguladores del crecimiento, desarrollo y resistencia en plantas*. Ediciones MUNDI-PRENSA. México. 477 pág.

- Jaramillo, J. y D. Díaz. 2006. El cultivo de las Crucíferas. Manual técnico, (20).
- Javid, M. G., A. Sorooshzadeh, F. Moradi, S. A. M. Modarres Sanavy y I. Allahdadi. 2011. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. *Australian Journal of Crop Science*, 5(6), 726.
- Jeon, J. S., S. S. Lee, H. Y. Kim, T. S. Ahn y H. G. Song. 2003. Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. *The Journal of Microbiology*, 41(4), 271-276.
- Jha, C. K., B. Patel y M. Saraf. 2012. Stimulation of the growth of *Jatropha curcas* by the plant growth promoting bacterium *Enterobacter cancerogenus* MSA2. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(3), 891-899.
- Jia, X., X. D. Li, Y.H. Zhao, L. Wang, y C. Y. Zhang. 2019. Soil microbial community structure in the rhizosphere of *Robinia pseudoacacia* L. seedlings exposed to elevated air temperature and cadmium-contaminated soils for 4 years. *Science of The Total Environment*, 650, 2355-2363.
- Jifon, J. L. y G. E. Lester. 2009. Foliar potassium fertilization improves fruit quality of field-grown muskmelon on calcareous soils in south Texas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(14), 2452-2460.
- Kaluzewicz, A., M. Bosiacki y B. Fraszczak. 2016. Mineral composition and the content of phenolic compounds of ten broccoli cultivars. *Journal of Elementology*, 21(1).
- Kamada-Nobusada, T., y H. Sakakibara, H. (2009). Molecular basis for cytokinin biosynthesis. *Phytochemistry*, 70(4), 444-449. DOI: 10.1016/j.phytochem.2009.02.007
- Karadeniz, A., S. F. Topcuoğlu y S. Inan. 2006. Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(10), 1061-1064. DOI: 10.1007/s11274-005-4561-1
- Khan, A. A., G. Jilani, M. S. Akhtar, S. M. S. Naqvi y M. Rasheed. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *Journal of Agricultural and Biological Science* 1(1), 48-58.
- Kieber, J. J. y G. E. Schaller. 2014. Cytokinins. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 12. DOI: 10.1199/tab.0168

- Krarpup, C. (1992). Seminario sobre la producción de brócoli. Quito (Ecuador), PROEXANT. pág, 25.
- Kuzyakov, Y. y X. Xu. 2013. Competition between roots and microorganisms for nitrogen: mechanisms and ecological relevance. *New Phytologist*, 198(3), 656-669.
- Lee, S., M. Flores-Encarnacion, M. Contreras-Zentella, L. Garcia-Flores, J. E. Escamilla y C. Kennedy. 2004. Indole-3-acetic acid biosynthesis is deficient in *Gluconacetobacter diazotrophicus* strains with mutations in cytochrome biogenesis genes. *Journal of Bacteriology*, 186(16), 5384-5391. DOI: 10.1128/JB.186.16.5384-5391.2004.
- Letey, J., W. M. Jarrell, N. Valoras y R. Beverly. 1983. Fertilizer Application and Irrigation Management of Broccoli Production and Fertilizer Use Efficiency 1. *Agronomy Journal*, 75(3), 502-507
- Li, H., J. Q. Su, X. R. Yang, y Y.G. Zhu. 2019. Distinct rhizosphere effect on active and total bacterial communities in paddy soils. *Science of The Total Environment*, 649, 422-430. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.373
- Li, Y., T. Zhang, H. Korkaya, S. Liu, H. F. Lee, B. Newman y D. Sun. 2010. Sulforaphane, a dietary component of broccoli/broccoli sprouts, inhibits breast cancer stem cells. *Clinical Cancer Research*, 16(9), 2580-2590.
- Lozano, L., A. Tálamo, A. L. Artinián, J. Fernández y C. Arroyo. 2017. Evaluación de dos híbridos de brócoli (*Brassica oleracea* var. itálica). Valle de Lerma, Salta. Argentina.
- Lucy, M., E. Reed y B. R. Glick. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 86(1), 1-25. DOI: 10.1023/B:ANTO.0000024903.10757.6e.
- Luna M., L. Martínez, M. Hernández, M. Arvizu y A. J. Pacheco. 2013. Characterization of rhizobacteria isolated from tomato and their effect on tomato and bell pepper growth. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 36 (1): 63 – 69.
- Lynch, J. M. y J. M. Whipps. 1990. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and soil*, 129(1), 1-10.
- Mahanty, T., S. Bhattacharjee, M. Goswami, P. Bhattacharyya, B. Das, A. Ghosh, y P. Tribedi. 2017. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(4), 3315-3335.

- Maheshwari D.K., S. Dheeman y M Agarwal. 2015. Phytohormone-Producing PGPR for Sustainable Agriculture. In: Maheshwari D. (eds) Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem. Sustainable Development and Biodiversity, vol 12. Springer, Cham
- Maroto V., J. Pomares y C. Baixauli. 2007. El cultivo de la coliflor y el brócoli. Ediciones Mundi Prensa. España. 404 pág.
- Martínez, R. 2004. El cultivo del brócoli (*Brassica Oleracea* Var. Itálica) en el Norte de Guanajuato. "Antonio Narro". Coahuila. 47 páginas.
- Martínez-Hidalgo, P., M. Maymon, F. Pule-Meulenberg y A. M. Hirsch. 2018. Engineering root microbiomes for healthier crops and soils using beneficial, environmentally safe bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 65(2), 91-104.
- Martínez-Viveros, O., M. A. Jorquera, D. E. Crowley, G. M. L. M Gajardo y M. L. Mora. 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10(3), 293-319. DOI: 10.4067/S0718-95162010000100006
- Maynard D. y G. Hochmuth. 2007. Knott's Handbook for Vegetable Growers. Nueva Jersey: Wiley. Quinta edición. Editorial John Wiley & Sons, Inc.400 pag.
- Mendoza, R., M. de las Nieves, G. Alcantar Gonzalez, A. Aguilar Santelises, J. D. Etchevers Barra, S. Rincon y J. Antonio. 1998. Estimation of nitrogen and chlorophyll status of tomato with a portable chlorophyll meter. *TERRA (Mexico)*.
- Mens, C., D. Li, L. E. Haaima, P. M. Gresshoff y B. J. Ferguson. 2018. Local and Systemic Effect of Cytokinins on Soybean Nodulation and Regulation of Their Isopentenyl Transferase (IPT) Biosynthesis Genes Following Rhizobia Inoculation. *Frontiers in Plant Science*, 9.
- Mok, D. W. y M. C. Mok. 2001. Cytokinin metabolism and action. *Annual Review of Plant Biology*, 52(1), 89-118. DOI: 10.1146/annurev.arplant.52.1.89
- Mok, M. C., R. C. Martin y D. W. Mok. 2000. Cytokinins: biosynthesis metabolism and perception. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 36(2), 102-107.
- Morrone, D., J. Chambers, L. Lowry, G. Kim, A. Anterola, K. Bender y R. J. Peters. 2009. Gibberellin biosynthesis in bacteria: Separate ent-copalyl diphosphate and ent-kaurene synthases in *Bradyrhizobium japonicum*. *FEBS letters*, 583(2), 475-480.

- Navarro-García G. y S. Navarro-García. 2013. Química Agrícola. Química del suelo y de los nutrientes esenciales para las plantas. Editorial Mundiprensa. Primera edición. España. 639 páginas.
- Nelson, L. M. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): prospects for new inoculants. *Crop Management*, 3(1), 0-0. DOI: 10.1094/CM-2004-0301-05-RV
- NOM-021-RECNAT-2000. 2000. Establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y análisis. *Diario Oficial de la Federación* del, 14, 17.
- Numan, M., S. Bashir, Y. Khan, R. Mumtaz, Z. K. Shinwari, A. L. Khan y A. H. Ahmed. 2018. Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: a review. *Microbiological Research*, 209, 21-32.
- Núñez-Escobar R. 2016. El suelo como medio natural en la nutrición de cultivos. pp 105-144. In: G. Alcántar-Gozález, L. I. Trejo-Téllez y F.C. Gómez-Merino (eds). *Nutrición de cultivos*. Segunda edición. México.
- Olanrewaju, O. S., B. R. Glick y O. O. Babalola. 2017. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(11), 197.
- Orozco-Mosqueda, M. Del C., M. del C. Rocha-Granados, B. R. Glick y G. Santoyo. 2018. Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms. *Microbiological Research*, 208, 25-31. DOI: 10.1016/j.micres.2018.01.005
- Patten, C. L., y B. R. Glick. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology*, 42(3), 207-220.
- Peña, H. B. y I. Reyes. 2007. Aislamiento y evaluación de bacterias fijadoras de nitrógeno y disolventes de fosfatos en la promoción del crecimiento de la lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Interciencia*, 32(8), 560-565.
- Piccoli, P., O. Masciarelli y R. Bottini. 1996. Metabolism of 17, 17 [2H₂]-gibberellins A4, A9 and A20 by *Azospirillum lipoferum* in chemically-defined culture medium. *Symbiosis*. Vol. 21(3) 263-274.
- Picone, L., y E. Zamuner. 2002. Fósforo orgánico y fertilidad fosfórica. *Informaciones agronómicas del cono sur*, 16, 11-15.

- Pineda-Mendoza, D. Y., A. González-Mancilla, J. J. Almaraz-Suarez, M. P. Rodríguez-Guzmán, O. García-Barradas y R. Argumedo-Delira. 2018. Characterization of the antifungal activity of three rhizobacterial strains against *Rhizoctonia solani*. Spanish Journal of Agricultural Research, 16(4), 1011. DOI: 10.5424/sjar/2018164-13334
- Pineda-Mendoza, D. Y., J. J. Almaraz-Suárez, Hernandez, M. L., Garibay, R. A., y Rojas, H. V. S. 2019. Cepas de bacterias aisladas de esporomas de hongos ectomicorrízicos promueven el crecimiento vegetal. ITEA, información técnica económica agraria: revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA), 115(1), 4-17.
- Puenayan, A., F. Córdoba y A. Unigarro. 2010. Respuesta del brocoli *Brassica oleracea* Var. Italica L. Híbrido legacy a la fertilización con N-P-K en el municipio de Pasto, Nariño. Revista de Ciencias Agrícolas, 27(1), 49-57.
- Quesada R., G. y C. Méndez S. (2005). Evaluación de sustratos para almácigos de hortalizas. Agronomía Mesoamericana, 16(2).
- Rademacher, W. 1994. Gibberellin formation in microorganisms. Plant Growth Regulation, 15(3), 303-314.
- Raghothama, K. G., y A. S. Karthikeyan. 2005. Phosphate acquisition. Plant and Soil, 274(1-2), 37. DOI: 10.1007/s11104-004-2005-6
- Raven P.H., R. F. Evert y S. E. Eichhorn. 1992. Regulación del crecimiento y del desarrollo de las hormonas vegetales. Pp. 481-492. In P. H. Raven, R. F. Evert y S. E. Eichhorn (eds). Biología de las plantas. Editorial Reverte. Barcelona.
- Reddy P. P. 2014. Potential role of PGPR in agriculture. p.p.17-23. In P. P. Reddy (eds) Plant Growth Promoting Rizobacteria for horticultural Crop Protection. Editorial Springer. Primera edición. India.
- Reid, D. E., M. Nadzieja, O. Novak, A. B. Heckmann, N. Sandal y J. Stougaard. 2017. Cytokinin biosynthesis promotes cortical cell responses during nodule development. Plant Physiology, pp-00832.
- Rincón- Castillo, Á. y G. A. Ligarreto. 2010. Relación entre nitrógeno foliar y el contenido de clorofila, en maíz asociado con pastos en el Piedemonte Llanero colombiano. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 11(2), 122-128.

- Rincon, L., J. Saez, J. A. Perez Crespo, G. Lopez y C. Pellicer. 1999. Growth and nutrient absorption of broccoli. *Investigacion Agraria. Produccion y Proteccion Vegetales (España)*.
- Risco-Arias, D., A. C. Gutiérrez-Albán y M. E. Buenaño-Sánchez. 2016. Growth, yield and quality in broccoli grown under different nitrogen fertilizer rates. *Investigación Agraria*, 18(1), 44-49.
- Rodríguez M., M., R. San Miguel C., J. García C. y A. Buenavides M. 2014. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en el cultivo de melón (*Cucumis melon*). *Interciencia*, 38(12).
- Rodríguez, H. y R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17(4-5), 319-339.
- Rodríguez, H., R. Fraga, T. Gonzalez y Y. Bashan. 2006. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil*, 287(1-2), 15-21.
- Rojas, G. V. 2011. *Botánica General. Desde los musgos hasta los árboles*. EUNED. 229 pag.
- Rosa, E. A., S. H. Haneklaus y E. Schnug. 2002. Mineral content of primary and secondary inflorescences of eleven broccoli cultivars grown in early and late seasons. *Journal of Plant Nutrition*, 25(8), 1741-1751.
- Sah, S. y R. Singh. 2015. Siderophore: structural and functional characterisation—a comprehensive review. *Agriculture (Polnohospodárstvo)*, 61(3), 97-114.
- Saharan B. y V. Nehra. 2011. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Sci Med Res*, 21(1), 30.
- Sakakibara, H., H. Kasahara, N. Ueda, M. Kojima, K. Takei, S. Hishiyama y S. Yamaguchi. 2005. *Agrobacterium tumefaciens* increases cytokinin production in plastids by modifying the biosynthetic pathway in the host plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(28), 9972-9977. DOI: 10.1073/pnas.0500793102.
- Salazar-Cerezo, S., N. Martínez-Montiel, J. García-Sánchez, R. Pérez-y-Terrón y R. D. Martínez-Contreras. 2018. Gibberellin biosynthesis and metabolism: A convergent route for plants, fungi and bacteria. *Microbiological Research*, 208, 85-98.

- Salguero, J., M. V. Alarcon, L. Zájara, L. E. Carrasco y E. Ordiales. 2011. Evaluación agronómica de cuatro variedades de brócoli en las Vegas Bajas del río Guadiana. *Actas de Horticultura*, 58, 42-45.
- Salisbury F. B. y C. W. Ross. 1996. *Fisiología vegetal*. Grupo editorial Iberoamérica S. A. de C. V. CD. De México. 759 páginas.
- Segura, J. 2008. Citoquininas. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Barcelona (España): Editorial McGraw-Hill Interamericana, 421-443.
- Sharma, S. B., R. Z. Sayyed, M. H. Trivedi y T. A. Gobi. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2(1), 587.
- Silva-Laya, S. J., S. P. Martínez y L. A. R. Osorio. 2016. Evaluación agroecológica de sistemas hortícolas de dos zonas del oriente antioqueño, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10(2), 355-366.
- Simon, S., y J. Petrášek. 2011. Why plants need more than one type of auxin. *Plant Science*, 180(3), 454-460. DOI: 10.1016/j.plantsci.2010.12.007.
- SIAP (2018). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap> (Consultado: 2 de diciembre de 2018).
- Sistema Meteorológico Nacional (2018). Sistema Meteorológico Nacional. Disponible en: <https://smn.cna.gob.mx/es/> (Consultado: 30 diciembre de 2018).
- Spaepen, S. y J. Vanderleyden. 2011. Auxin and plant-microbe interactions. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3(4), a001438. DOI: 10.1101/cshperspect.a001438.
- Strader, L. C. y Y. Zhao. 2016. Auxin perception and downstream events. *Current Opinion in Plant Biology*, 33, 8-14.
- Sugawara, H., N. Ueda, M. Kojima, N. Makita, T. Yamaya y H. Sakakibara. 2008. Structural insight into the reaction mechanism and evolution of cytokinin biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(7), 2734-2739. DOI: 10.1073/pnas.0707374105.
- Sutton, M. A., O. Oenema, J. W. Erisman, A. Leip, H. van Grinsven y W. Winiwarter. 2011. Too much of a good thing. *Nature*, 472(7342), 159-161
- Taiz, L., y E. Zeiger. 2006. *Fisiología vegetal* (Vol. 10). Universitat Jaume I. 1265 pag.

- Tanaka, H., P. Dhonukshe, P. B. Brewer y J. Friml. 2006. Spatiotemporal asymmetric auxin distribution: a means to coordinate plant development. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 63(23), 2738-2754.
- Teale, W. D., I. A. Paponov y K. Palme. 2006. Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7(11), 847.
- Teotia, P., Kumar, V., Kumar, M., Shrivastava, N., & Varma, A. (2016). Rhizosphere Microbes: Potassium Solubilization and Crop Productivity—Present and Future Aspects. In *Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture* (pp. 315-325). Springer, New Delhi.
- Teotia, P., V. Kumar, M. Kumar, N. Shrivastava y A. Varma. 2016. Rhizosphere Microbes: Potassium Solubilization and Crop Productivity—Present and Future Aspects. In *Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture* (pp. 315-325). Springer, New Delhi.
- Thompson, L. M. y F. R. Troeh. 1988. *Los suelos y su fertilidad*. Reverté. 639 páginas.
- Tilman, D., K. G. Cassman, P. A. Matson, R. Naylor y S. Polasky. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418(6898), 671. ISO 690
- Tsavkelova, E. A., S.Y. Klimova, T. A. Cherdyntseva y A. I. Netrusov. 2006. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 42(2), 117-126. DOI: 10.1134/S0003683806020013
- Tsukanova, K. A., J. J. M. Meyer y T. N. Bibikova. 2017. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria on plant hormone homeostasis. *South African Journal of Botany*, 113, 91-102.
- Vacheron J., G. Desbrosses, M-L Bouffaud, B. Touraine, Y. Moënne-Loccoz, D. Muller, L. Legendre, F. Wisniewski-Dyé y C. Prigent-Combaret C. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front. Plant Sci.* DOI: 10.3389/fpls.2013.00356
- Vančura, V. 1961. Detection of Gibberellic Acid in *Azotobacter* Cultures. *Nature*, 192(4797), 88–89. DOI: 10.1038/192088b0.

- Vanneste, S. y J. Friml. 2009. Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell*, 136(6), 1005-1016.
- Veneklaas, E. J., H. Lambers, J. Bragg, P. M. Finnegan, C. E. Lovelock, W. C. Plaxton y J. A. Raven. 2012. Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. *New Phytologist*, 195(2), 306-320.
- Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255(2), 571-586.
- Villalba V. 2011. Evaluación de la eficacia del Cistefol en diferentes dosis, y épocas de aplicación en manchas genéticas del cultivo de brócoli (*Brassica Oleracea* Var. Itálica). Tesis. Escuela Politécnica Superior de Chimborazo. Riobamba- Ecuador. 123 páginas.
- Werner, T. y T. Schmölling. 2009. Cytokinin action in plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(5), 527-538. DOI: 10.1016/j.pbi.2009.07.002.
- Yildirim, E. y M. Turan. 2013. Growth, yield and mineral content of broccoli intercropped with lettuce. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 23(3), 919-922.
- Yildirim, E., H. Karlidag, M. Turan y M. Donmez. 2010. Potential use of plant growth promoting rhizobacteria in organic broccoli (*Brassica oleracea* L., var. italica) production. In *Ecofruit 14th International Conference on Organic Fruit-Growing. Proceedings for the Conference, Hohenheim, Germany* (pp. 227-235).
- Yildirim, E., I. Guvenc, M. Turan y A. Karatas. 2007. Effect of foliar urea application on quality, growth, mineral uptake and yield of broccoli (*Brassica oleracea* L., var. italica). *Plant Soil and Environment*, 53(3), 120.
- Yoldas, F., S. Ceylan, B. Yagmur y Mordogan. 2008. Effects of nitrogen fertilizer on yield quality and nutrient content in broccoli. *Journal of Plant Nutrition*, 31(7), 1333-1343.
- Zahran, H. H. 2001. Rhizobia from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. *Journal of Biotechnology*, 91(2-3), 143-153.
- Zhang, Y., P. Talalay, C. G. Cho y G. H. Posner. 1992. A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. *Proceedings of the national academy of sciences*, 89(6), 2399-2403.
- Zhao, Y. 2012. Auxin biosynthesis: a simple two-step pathway converts tryptophan to indole-3-acetic acid in plants. *Molecular Plant*, 5(2), 334-338.

