

Halobacterias promotoras del crecimiento vegetal en *Brassica oleracea* en el noroeste de México*

Plant growth promoting halobacteria in *Brassica oleracea* in Northwest of Mexico

Jesús Borboa Flores¹, Francisco Javier Wong Corral¹, Francisco Rodríguez Félix¹, Luis Guillermo Hernández-Montiel², Juan José Reyes-Pérez^{3,4} y Edgar O. Rueda-Puente^{5§}

¹Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México. (jborboa@guayacan.uson.mx, fjwong@guayacan.uson.mx, frodriguez@guayacan.uson.mx). ²Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. La Paz, B.C.S. México. (lhernandez@cibnor.mx). ³Universidad Técnica de Cotopaxi. Extensión La Maná, Ecuador. (jjreyesp1981@gmail.com). ⁴Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo, Ecuador. ⁵Departamento de Agricultura y Ganadería. Universidad de Sonora. Carretera a Bahía de Kino, km 20.5. Hermosillo, Sonora, México. §Autor para correspondencia: erueda04@santana.uson.mx.

Resumen

La producción de brócoli en las zonas frescas y áridas del estado de Sonora, México, muestra un fuerte dinamismo en los últimos años, constituyéndose como un producto bandera dentro de los no tradicionales de exportación. El brócoli tiene una respuesta significativa a la fertilización nitrogenada. Sin embargo, altas cantidades provoca tallos vanos o huecos en el cultivo. Asimismo, el uso indiscriminado de fertilizantes por parte de los productores agrava el problema de la salinidad. Con la finalidad de disminuir la fertilización química y una alternativa de solución a lo anteriormente citado, es la aplicación de microorganismos benéficos, en los que se incluyen a las bacterias promotoras de crecimiento en plantas (BPCP). Con la meta de ampliar el conocimiento del uso de biofertilizantes como una alternativa agro-ecológica en el establecimiento de brócoli, la presente investigación consistió en evaluar el efecto de *Azospirillum halopraeferens* y *Bacillus amilolyquefasceniens*, como complemento a la fertilización edáfica en el rendimiento de *Brassica oleracea*, de los híbridos Marathon Heritage y Avenger, bajo condiciones de invernadero. Los resultados arrojaron que el híbrido Avenger al ser co-inoculada con ambas bacterias mostró valores significativos en la variable de rendimiento. Se recomienda que en posteriores estudios, factores relacionados con fechas

Abstract

The broccoli production in fresh and dry of state of Sonora, Mexico areas, showing a strong dynamism in recent years, becoming a flagship within the non-traditional export product. The broccoli has a significant response to nitrogen fertilization. However, high amounts causes stems openings or gaps in the crop. In addition, the indiscriminate use of fertilizers by producers aggravates the problem of salinity. In order to reduce chemical fertilization and an alternative solution to the aforementioned, it is the application of beneficial microorganisms, which include the growth promoting bacteria in plants (BPCP). With the meta to expand the knowledge of the use of bio-fertilizers as an alternative agro-ecological in the establishment of broccoli, this research was to evaluate the effect of *Azospirillum halopraeferens* and *Bacillus amilolyquefasceniens*, as a complement to soil fertilization on yield of *Brassica oleracea*, hybrids Marathon Heritage and Avenger, under greenhouse conditions. The results showed that the hybrid Avenger when co-inoculated with both bacteria showed significant values in the performance variable. It is recommended that in future studies, factors related to planting dates, use of chemicals (bactericides), etc., and limiting conditions of water resources considering promoting bacteria inoculation of plant growth, should be taken into account.

* Recibido: febrero de 2016
Aceptado: mayo de 2016

de siembra, uso de productos químicos (bactericidas), etc., y condiciones limitantes del recurso agua considerando la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento de plantas, deban ser tomados en cuenta.

Palabras clave: *Azospirillum halopraeferens*, *Bacillus amilolyquefasceniens*, horticultura protegida.

Introducción

En la República Mexicana, principalmente en la zona árida del noroeste, en los últimos años ha cobrado un auge sorprendente el cultivo de hortalizas de otoño-invierno, debido a que en la actualidad tiene mayor rentabilidad por superficie, generando una gran demanda de mano de obra (110 jornales ha⁻¹ ciclo⁻¹) y divisas. La producción de brócoli (*Brassica oleracea* L.) en las zonas frescas y áridas del estado de Sonora, México, muestra un fuerte dinamismo en los últimos años, constituyéndose como un cultivo dentro de los no tradicionales de exportación. No obstante lo anterior, el estado nutricional de las hortalizas en la zona árida desértica, está relacionado con el rendimiento y calidad de la cosecha y se ve afectado por diversos factores figurando la baja fertilidad de los suelos, las bajas precipitaciones, la demanda *per se* del cultivo y sus interacciones con otros factores presentes en el suelo (Francescangeli *et al.*, 2007; Fraire *et al.*, 2010).

Asimismo, la zona árida de Sonora, México, presenta un problema abiótico que afecta gravemente la agricultura; este fenómeno está denominado como intrusión salina, el cual se caracteriza por emerger sales a la superficie de los suelos agrícolas, debido a las altas temperaturas (45 ± 5 °C) y bajas precipitaciones (<100 mm anuales), principalmente. El brócoli tiene una respuesta significativa a la fertilización nitrogenada (Lazcano *et al.*, 2006); sin embargo, altas cantidades provoca tallos vanos o huecos en el cultivo. Este problema ha generado el interés de realizar estudios con relación a las cantidades idóneas de nitrógeno, fósforo y potasio, además que los agricultores están aplicando fertilizantes en exceso, encareciendo los costos de producción, desmejorando la calidad y desnaturalizando la poca fertilidad de los suelos áridos en el noroeste de México. Los fertilizantes químicos en esta zona árida del noroeste de México, son productos que representan entre 35 y 45% de los costos de producción de un cultivo.

Keywords: *Azospirillum halopraeferens*, *Bacillus amilolyquefasceniens*, protected horticulture

Introduction

In Mexican Republic, mainly in the arid zone of northwest in recent years it has taken a surprising rise growing vegetables in autumn-winter, because today has greater yield surface, creating a high demand for labor work (110 migrant workers ha⁻¹ cycle⁻¹) and currencies. The production of broccoli (*Brassica oleracea* L.) in fresh and dry of state of Sonora, Mexico areas, showing a strong dynamism in recent years, becoming a culture within the non traditional export. Notwithstanding the foregoing, the nutritional status of vegetables in the arid desert, is related to the performance and quality of the harvest and is affected by various factors appearing low soil fertility, low rainfall, demand *per se* crop and their interactions with other factors present in the soil (Francescangeli *et al.*, 2007; Fraire *et al.*, 2010).

Also, the arid zone of Sonora, Mexico, has an abiotic problem that seriously affects agriculture; this phenomenon is termed as saltwater intrusion, which is characterized by surface salts to the surface of agricultural soils, due to high temperatures (45 ± 5 °C) and low rainfall (<100 mm per year), mainly. The broccoli has a significant response to nitrogen fertilization (Lazcano *et al.*, 2006); however, high amounts causes stems openings or gaps in the crop. This problem has generated interest for studies concerning the appropriate amounts of nitrogen, phosphorus and potassium, in addition that farmers are applying too much fertilizer, more expensive production costs, degrading quality and distorting the low fertility of arid soils in Northwest Mexico. The chemical fertilizers in this arid area of Northwest Mexico, are products that represent between 35 and 45% of the costs of crop production.

In the area of influence of broccoli production in Northwestern Mexico, for production they have been used different sources and levels of fertilizer in vegetable crops, as well as different varieties and hybrids. The indiscriminate use of fertilizers by producers aggravates the problem of salinity. In order to reduce chemical fertilizer and an alternative solution to the aforementioned,

En el área de influencia de producción de brócoli en el Noroeste de México, para su producción se han utilizado diferentes fuentes y niveles de fertilizantes en cultivos hortícolas, así como también diferentes variedades e híbridos. El uso indiscriminado de fertilizantes por parte de los productores agrava el problema de la salinidad. Con la finalidad de disminuir la fertilización química y una alternativa de solución a lo anteriormente citado, es la aplicación de microorganismos benéficos, en los que se incluyen a las bacterias promotoras de crecimiento en plantas (BPCP), las cuales tienen la capacidad de asociarse al sistema radicular y beneficiar a la planta fijando nitrógeno atmosférico, solubilizar fosfatos y producir fitohormonas, en las que figuran las auxinas y giberelinas (AG3), principalmente (Puente y Bashan, 1993; Puente *et al.*, 1999).

Con la finalidad de ampliar el conocimiento del uso de biofertilizantes como una alternativa agro-ecológica en el establecimiento de brócoli, la presente investigación consistió en evaluar el efecto de halo-bacterias promotoras del crecimiento de plantas plant growth promoting bacteria (PGPB) *Bacillus amilolyquefasceniens* y *Azospirillum halopraeferens*, como complemento a la fertilización edáfica en el rendimiento de *Brassica oleracea* L., de los híbridos Marathon Heritage y Avenger, y así dilucidar el efecto de dos fuentes de biofertilizantes fijadores de nitrógeno y solubilizadoras de fósforo en el rendimiento de brócoli.

Materiales y métodos

Caracterización del área de estudio. El presente trabajo se llevó a cabo en los invernaderos, ubicados en el municipio de Imuris, en el km 5 de la carretera Imuris-Cananea, al norte del estado de Sonora; durante el ciclo otoño-invierno de 2015. El sitio de estudio se encuentra en el paralelo 30° 47' de latitud norte, 110° 52' longitud oeste del meridiano de Greenwich y a una elevación de 840 msnm. (INEGI, 2015). El invernadero cuenta con nueve naves con una superficie de 400 m² cada una (10 m de ancho por 40 m de largo), sumando un total de 3.6 ha, de las cuales se tomó una nave con la finalidad de facilitar el mantenimiento del ambiente acondicionado. La estructura es de perfil tubular de 2 pulgadas, el techo de lámina transparente y los lados de hule transparente. En medio de dos naves se tiene un tanque para almacenamiento de agua con capacidad de 2 000 L, con una bomba hidroneumática, para tener presión en las líneas

it is the application of beneficial microorganisms, which include the growth promoting bacteria in plants (BPCP), which have the ability to join the root system and benefit the plant by fixing atmospheric nitrogen, solubilize phosphates and produce plant hormones, which include auxins and gibberellins (AG3), mainly (Puente and Bashan, 1993; Puente *et al.*, 1999).

In order to expand the knowledge of the use of bio-fertilizers as an alternative agro-ecological in the establishment of broccoli, this research was to evaluate the effect of halo-bacteria promoting plant growth plant growth promoting bacteria (PGPB) *Bacillus amilolyquefasceniens* and *Azospirillum halopraeferens*, to supplement the soil fertilization yields *Brassica oleracea* L., hybrid Marathon Heritage and Avenger, and thus elucidate the effect of two sources of nitrogen fixing biofertilizer and phosphorus solubilizing in the performance broccoli.

Materials and methods

Characterization of the study area. This work was carried out in greenhouses, located in the municipality of Imuris, at km 5 of the road Imuris-Cananea in northern of state of Sonora; during the autumn-winter cycle of 2015. The study site is located at latitude 30° 47' north latitude, 110° 52' west longitude of Greenwich and at an elevation of 840 masl. (INEGI, 2015). The greenhouse has nine buildings with an area of 400 m² each (10 m wide by 40 m long), totaling 3.6 ha, of which a ship was taken in order to facilitate the maintenance of the environment conditioning . The structure is made of tubular profile 2 inches, the roof and sides transparent sheet of transparent rubber. The between two ships have a water storage tank with a capacity of 2 000 L, with hydropneumatic pump to have pressure in water lines needed for irrigation; also in the same part you will find a gas heater mark L. B. White, model 408 G-4, necessary to cushion low temperatures. The soil is sandy loam and irrigation water with electrical conductivity of 0.61 dS m⁻¹ and pH of 7.5.

Agroclimatic characteristics. According to data reported by the Weather Station Center Bachelor of Technology in Imuris, Sonora, was recorded an average temperature between December and May 34.88 °C and an average rainfall of 110 mm.

de agua, necesaria para los riegos; también en la misma parte se encuentra un calentón de gas marca L. B. White, modelo 408 G-4, necesario para amortiguar las bajas temperaturas. El suelo es de textura franco arenosa y agua para riego con conductividad eléctrica de 0.61 dS m^{-1} y pH de 7.5.

Características agroclimáticas. De acuerdo con datos reportados por la Estación Meteorológica del Centro de Bachillerato Tecnológico en Imuris, Sonora, se registra una temperatura media entre los meses de diciembre a mayo de 34.88°C y una precipitación promedio de 110 mm.

Tratamientos y diseño experimental. Los materiales vegetativos fueron tres híbridos (Avenger, Marathon y Heritage) de la empresa Sakata, Com., cuyas características son: Avenger es para épocas de Otoño-Invierno, días a cosecha 90, fruto de color verde azulado de grano fino con un tamaño de 12 ± 3 cm de diámetro, sin brotes laterales; el híbrido Marathon, es para épocas de otoño, días a cosecha 97, con un domo alto, grano fino, y cabeza pesada que mide 15 ± 3 cm de diámetro, por su parte el material vegetativo Heritage es para épocas de otoño invierno; días a cosecha 95, especial para climas fríos, granulometría fina y de color verde oscuro; una cabeza que mide 15 ± 3 cm de diámetro.

Los factores en estudio fueron dos: el factor A tres halobacterias (*Azospirillum halopraeferens* (A.h) y *Bacillus amiloliquefasciens* (B.a), su combinación (A.h-B.a.) y testigo-control (fertilización regional a base de NPK: 180-80-80). El factor B los tres híbridos (Avenger, Marathon y Heritage). De la combinación de los niveles de los factores en estudio se obtuvo 12 tratamientos los que se presentan en el Cuadro 1. Cabe indicar que se aplicó fósforo durante la primera mitad del cultivo hasta el inicio de la formación de la cabeza y el nitrógeno y potasio distribuido durante todo el ciclo en el sistema de riego (Cuadro 1).

Se utilizó un diseño experimental de bloques completamente al azar con doce tratamientos y diez repeticiones, con un arreglo factorial A*B, en el que A fueron los biofertilizantes, el factor B los híbridos, quedando de la siguiente manera 4×3 . Se desarrolló un análisis de varianza de las variables en estudio y la prueba de Duncan al 5%, en el programa estadístico SAS (2004).

Características de la unidad experimental. El estudio se desarrolló al interior de un invernadero; el área de la unidad experimental constó de surcos a una distancia de 0.7 m, 20 m de largo y 0.3 m entre plantas; la plántula de brócoli

Tratamientos and experimental design. The vegetative materials were three hybrids (Avenger, Marathon and Heritage) of the Company Sakata, Com, whose characteristics are: Avenger is for season of Autumn-Winter, days to harvest 90, fruit bluish green fine grain size 12 ± 3 cm in diameter, without side shoots; hybrid Marathon, is for season autumn, harvest 97 days, with a high dome, fine grained, and heavy head that measuring 15 ± 3 cm in diameter, meanwhile Heritage vegetative material is for autumn and winter seasons; 95 days to harvest, especially for cold climates, thin and dark green grain; a head that is 15 ± 3 cm in diameter.

The factors under study were twofold: the factor A three halobacteria (*Azospirillum halopraeferens* (A.h) y *Bacillus amiloliquefasciens* (B.a), combination (A.h-B.a.) and control-monitoring (based regional NPK fertilization: 180-80-80). The factor B three hybrid (Avenger, Marathon and Heritage). The combination of factor levels under study 12 treatments which are presented in Table 1. It is noted that phosphorus was applied during the first half of the crop was obtained until the start of the formation of the head and nitrogen and potassium distributed throughout the cycle in the irrigation system (Table 1).

Cuadro 1. Tratamientos para evaluar los biofertilizantes y la fertilización química en brócoli.

Table 1. Treatments to evaluate bio-fertilizers and chemical fertilization on broccoli.

Trat	Híbrido	Biofertilizantes	Fertilización química		
			N	P ₂ O ₅	K ₂ O
1	Avenger	A.h.-B.a.	180	80	80
2	Marathon	A.h.-B.a.	180	80	80
3	Heritage	A.h.-B.a.	180	80	80
4	Avenger	B.a.	180	80	80
5	Avenger	A.h.	180	80	80
6	Marathon	B.a.	180	80	80
7	Marathon	A.h.	180	80	80
8	Heritage	A.h.	180	80	80
9	Heritage	B.a.	180	80	80
10	Avenger	Control	180	80	80
11	Marathon	Control	180	80	80
12	Heritage	Control	180	80	80

Azospirillum halopraeferens (A.h); *Bacillus amiloliquefasciens* (B.a), su combinación (A.h-B.a.).

fue generada en charolas germinadoras de 200 cavidades, utilizando como sustrato peat moss; de igual forma antes del trasplante, al suelo se tomaron cinco sub muestras utilizando el método en zig-zag, se mezcló y se envió al laboratorio de suelos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. (CIBNOR). La muestra recolectada fue analizada donde se determinó los contenidos de materia orgánica, macro y micro nutrientes; así como el pH del suelo. Previo al trasplante se realizó un riego por goteo y luego se procedió al trasplante por unidad experimental. Para un buen desarrollo del cultivo de brócoli, el requerimiento hídrico según Krarup (1992) y Nocolalde y Quintana (2010), debe ser de 400 mm y para ello se realizaron dos riegos semanales hasta la última semana, con turnos de riego por goteo de 120 minutos hasta lograr la lámina recomendada. El deshierbe, se hizo de forma manual ayudándose de herramientas manuales de labranza, para no afectar el sistema radicular, a los 19, 32 y 45 días luego del trasplante (ddt).

Variables evaluadas

Porcentaje de cabezas cosechadas a los 83 días: al momento de la recolección de datos se procedió a excluir dos plantas de los extremos de los surcos. Con relación al porcentaje de cabezas cosechadas, para su determinación se contó el número de cabezas cosechadas a los 83 ddt y luego se transformó a porcentaje con base al total de plantas de la parcela neta. La cosecha para brócoli se inició cuando la cabeza se había formado completamente y que los granos de la inflorescencia estuvieran bien diferenciados, cerrados y compactos, con un color azul verde oscuro y diámetro de 15 cm con un tallo de 5 cm, se realizaron seis cortes.

Diámetro de la cabeza: cada una de las cabezas obtenidas de cada tratamiento, fueron medidas con la ayuda de un vernier; para ello se midió el diámetro expresándose en cm/cabeza.

Rendimiento del cultivo: todas las cabezas recolectadas de cada tratamiento durante la cosecha, fueron medidas con una balanza granataria; los datos de las cabezas en cada tratamiento se sumaron para tener el peso total por unidad experimental, luego se dividió para el número de cabezas para obtener el peso por cabeza para cada unidad experimental y finalmente se transformaron a toneladas métricas (TM ha^{-1}) con relación de 42 000 plantas ha^{-1} , que es el número de población de plantas recomendada por Nocolalde y Quintana (2010); SAGARPA (2014).

The design was used experimental randomized complete block design with twelve treatments and ten repetitions, with a factorial arrangement A*B, which were biofertilizers A, factor B hybrids, being as follows 4*3. An analysis of variance was developed of the variables under study and Duncan test at 5% in the statistical program SAS (2004).

Characteristics of the experimental unit. The study was conducted inside a greenhouse; the area of the experimental unit consisted of grooves at a distance of 0.7 m, 20 m long and 0.3 m between plants; broccoli seedling was generated in germinating trays of 200 cavities, using peat moss substrate; likewise before transplantation, the five sub soil samples were taken using the zigzag method, mixed and sent to the soil laboratory of the Center for Biological Research of the Northwest, S.C. (CIBNOR). The sample collected was analyzed where the contents of organic matter, macro and micro nutrients was determined; and soil pH. Prior to transplant drip irrigation was performed and then proceeded to transplant experimental unit. For proper development of the crop of broccoli, water requirement according Krarup (1992) and Nocolalde and Quintana (2010), should be 400 mm and for this two weekly irrigations were carried out until the last week, with shifts drip irrigation 120 minutes to achieve the recommended film. Weeding, it was manually help of manual farming tools, not to affect the root system, the 19, 32 and 45 days after transplanting (ddt).

Variables evaluated

Percentage of heads harvested at 83 days: at the time of data collection proceeded to exclude two floors of the ends of the grooves. With regard to the percentage of harvested heads, for determining the number of heads harvested at 83 ddt and then transformed to a percentage based on the total of the net plot plants were counted. The broccoli harvest began when the head had fully formed and beans were well differentiated inflorescence, closed and compact, with dark green blue and diameter of 15 cm. with a stem of 5 cm. Six cuts were made.

Head diameter: each of the heads obtained from each treatment, were measured with the help of a vernier; for that it was measured diameter expressed in cm/head.

Crop yield: all heads collected from each treatment during harvest, were measured with a granataria balance; data heads in each treatment were added to take the total weight

Extracción de nitrógeno y fósforo: para la determinación de extracción total de N y P, los datos de rendimiento de materia seca de cabeza y resto de la planta de brócoli, además de la concentración de N y P en el tejido vegetal, fueron procesados según Nicolalde y Quintana (2010). El cálculo de la extracción de nitrógeno por la planta se realizó con la siguiente fórmula: $NP = \%N/100 * MSP$, donde: NP= nitrógeno en las cabezas en $kg\ ha^{-1}$; %N= porcentaje de N en las cabezas; MSP= materia seca cabezas en $kg\ ha^{-1}$. En el caso del fósforo se utilizó la fórmula: $PP = \%P/100 * MSP * 2.29$, donde: PP= fósforo en las cabezas en $kg\ ha^{-1}$ de P_2O_5 ; %P= porcentaje de P en las cabezas; MSP= materia seca en cabezas en $kg\ ha^{-1}$; 2.29= factor para convertir P a P_2O_5 . Para el resto de la planta se llevó a cabo el mismo procedimiento. La extracción total de N y P se calculó sumando la extracción por las cabezas y el resto de la planta (Nicolalde y Quintana, 2010).

Resultados y discusión

Porcentaje de cosecha a los 83 días. El mayor porcentaje de cosecha a los 83 días se obtuvo con el híbrido Avenger inoculado con *Azospirillum halopraeferens* (A.h.) y *Bacillus amilolyquefasciens* (B.a.), con 69.07% de cabezas cosechadas, disminuyendo el porcentaje de cosecha en los dos restantes híbridos Marathon y Heritage co-inoculados con A.h y B.a.; con los niveles más bajos en porcentaje de cosecha fueron Avenger, Marathon y Heritage utilizados como controles, sin la inoculación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Cuadro 2). Hanke (1995), indica que los micronutrientes proporcionados por los microorganismos benéficos, así como el que fue proporcionado de forma manual o mecánica, son importantes en las primeras etapas fenológicas para la mitosis o división celular, influyendo positivamente en el peso y calidad de cabezas cosechadas, lo que consecuentemente incrementa el rendimiento del cultivo de brócoli.

Diámetro de cabezas: en el Cuadro 3, se observa la nula diferencia significativa al 5% para los diferentes tratamientos. El diámetro se encuentra en un promedio de 16.26 cm/cabeza, con un coeficiente de variación calculado de 6.19%, que es considerado bajo para esta investigación. El mayor diámetro de cabezas se obtuvo con el híbrido Avenger inoculado con las dos bacterias en estudio, siguiéndole en segundo orden el híbrido Marathon y posteriormente el Heritage. En el último rango fueron los tratamientos sin la inoculación de microorganismos benéficos (Cuadro 3).

per experimental unit, then divided for the number of heads to get the weight per head for each experimental unit and finally transformed metric tons ($MT\ ha^{-1}$) with ratio of 42 000 plants ha^{-1} , which is the number of population of plants recommended by Nicolalde and Quintana (2010); SAGARPA (2014).

Removal of nitrogen and phosphorus: for determining total removal of N and P, performance data dry matter head and rest of the broccoli plant, besides the concentration of N and P in the plant tissue, were processed according Nicolalde and Quintana (2010). The calculating nitrogen extraction plant was performed with the following formula: $NP = \%N/100 * MSP$, where: NP= nitrogen heads in $kg\ ha^{-1}$; %N= percent of N in the head; MSP= dry matter heads in $kg\ ha^{-1}$. The formula used in the case of phosphorus: $PP = \%P/100 * MSP * 2.29$, where PP= phosphorus heads in $kg\ ha^{-1}$ of P_2O_5 ; %P= percentage of P in their heads; MSP= dry matter heads in $kg\ ha^{-1}$; 2.29= factor to convert P to P_2O_5 . For the rest of the plant was carried out the same procedure. The total removal of N and P was calculated by adding the extraction heads and the rest of the plant (Nicolalde and Quintana, 2010).

Results and discussion

Percentage of harvest at 83 days. The highest percentage of harvest at 83 days was obtained with the Avenger hybrid inoculated with *Azospirillum halopraeferens* (A.h.) and *Bacillus amilolyquefasciens* (B.a.), with 69.07% of harvested heads, reducing the percentage of harvest in hybrids remaining two Marathon and Heritage co-inoculated with A.h and B.a.; with the lowest percentage of harvest levels were Avenger, Marathon and Heritage used as controls, without inoculation of plant growth promoting bacteria (Table 2). Hanke (1995), indicates that the micronutrients provided by the beneficial microorganisms, and which was provided manually or mechanically, are important in first phenological stages for mitosis or cell division, positively influencing the weight and quality of heads harvested, which consequently increases the crop yield of broccoli.

Diameter of heads: in the Table 3, the observed no significant difference was 5% for the different treatments. The diameter is an average of 16.26 cm/head, with a coefficient of variation calculated 6.19%, which is considered low for this research. The larger diameter head was obtained with hybrid Avenger

Rodríguez (1982); Rodríguez *et al.* (2003), indica que el nitrógeno provisto por microorganismos benéficos, estimula el vigor vegetativo el cual se manifiesta por el aumento de velocidad del crecimiento, determinado por un aumento del volumen de inflorescencias debido a los alargamientos celulares y la multiplicación celular, mayor producción de hoja de buena calidad y sanidad debido al aumento de su contenido proteico. INPOFOS (1997), afirma que la aplicación de N favorece a la absorción de P por la condición ácida que se crea en el suelo, mientras que el K puede estimular el crecimiento y desarrollo radicular, lo que sin duda, ayuda a la absorción de otros nutrimentos, y por ende mayor diámetro de cabezas.

Cuadro 2. Porcentaje de cosecha de cabezas de tres híbridos de brócoli (Avenger, Marathon y Heritage), a 83 días después del trasplante.

Table 2. Percentage harvesting heads of three hybrid broccoli (Avenger, Marathon and Heritage), at 83 days after transplantation.

Híbrido	Biofertilizantes	Media (%)	Duncan (0.05%)
Avenger	A.h.-B.a.	69.07	a*
Marathon	A.h.-B.a.	60.76	ab
Heritage	A.h.-B.a.	57.63	abc
Avenger	B.a.	56.71	abc
Avenger	A.h.	57.75	abc
Marathon	B.a.	57.68	abc
Marathon	A.h.	56.44	abc
Heritage	A.h.	54.77	abc
Heritage	B.a.	50.19	abc
Avenger	Control	49.31	abc
Marathon	Control	49.22	abc
Heritage	Control	41.15	abc

Azospirillum halopraeferens (A.h); *Bacillus amiloliquefasciens* (B.a), su combinación (A.h-B.a.). *Las literales indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Rendimiento del cultivo: los resultados indican la existencia de diferencias significativas para los tratamientos estudiados (Cuadro 4). El rendimiento se encuentra en un promedio de 15.13 TM ha⁻¹, con un coeficiente de variación calculado de 15.22%. En el Cuadro 4, se presenta la prueba de Duncan al 5% para tratamientos de la variable rendimiento de brócoli; Los mayores rendimientos se obtuvieron con los tratamientos híbridos inoculados con ambos biofertilizantes (A.h y B.a); los rendimientos son de 20.5, 20.03 y 19.82 para Avenger,

inoculated with both bacteria under study, followed in second order hybrid Marathon and subsequently the Heritage. In the last rank were the treatments without inoculation of beneficial microorganisms (Table 3). Rodríguez (1982); Rodríguez *et al.* (2003), it indicates that the nitrogen provided by beneficial microorganisms, stimulates vegetative vigor which is manifested by increased growth rate, determined by an increase in volume of inflorescences due to cell elongation and cell division, increased production of sheet of good quality and health due to increased protein content. INPOFOS (1997), states that the application of N favors the absorption of P by the acidic condition that is created on the ground, while the K can stimulate growth and root development, which undoubtedly, helps absorption other nutrients, and thus larger diameter head.

Cuadro 3. Diámetro de cabeza de tres híbridos de brócoli (Avenger, Marathon y Heritage).

Table 3. Head diameter three hybrid broccoli (Avenger, Marathon and Heritage).

Híbrido	Biofertilizantes	Media (cm)	Duncan (5%)
Avenger	A.h.-B.a.	15.91	a
Marathon	A.h.-B.a.	15.68	ab
Heritage	A.h.-B.a.	15.32	ab
Avenger	B.a.	15.21	ab
Avenger	A.h.	15.16	ab
Marathon	B.a.	15.11	ab
Marathon	A.h.	15.11	abc
Heritage	A.h.	15.06	abcd
Heritage	B.a.	15.05	abcd
Avenger	Control	15.05	abcd
Marathon	Control	15.03	abcd
Heritage	Control	14.99	abcd

Azospirillum halopraeferens (A.h); *Bacillus amiloliquefasciens* (B.a), su combinación (A.h-B.a.). *Las literales indican diferencias significativas ($p < 0.001$).

Crop yield: the results indicate the existence of significant differences for the treatments (Table 4). The yield is on average 15.13 TM ha⁻¹, with a coefficient of variation 15.22% calculated. In Table 4, the test is presented Duncan at 5% for treatments of variable yield of broccoli; The highest yields were obtained with hybrid treatments inoculated with both biofertilizers (A.h and B.a); the yields are 20.5, 20.03 and 19.82 for Avenger, Marathon and Heritage, respectively (all co-inoculated with both organisms under study).

Marathon y Heritage, respectivamente (todos co-inoculados con ambos microorganismos en estudio). Estos rendimientos son inferiores a los obtenidos por Vizcaino (2005) 24.16 TM ha⁻¹ y superiores a los resultados por Pantoja (2006) y Peralta (2006), que fueron de 18.24 TM ha⁻¹ y 16.71 TM ha⁻¹, respectivamente. Los tratamientos menos productivos fueron aquellos no inoculados con microorganismos promotores del crecimiento vegetal. Estudios realizados por (Juárez *et al.*, 2004), donde se evaluaron tres fuentes y tres niveles de nitrógeno en el cultivo de brócoli (hib. Shogun), concluyen en que el elemento nitrógeno en el diámetro y rendimiento de las cabezas aumenta de manera notable con niveles de (240 kg N ha⁻¹, 180 kg P₂O₅ ha⁻¹ y 230 kg K₂O ha⁻¹).

Extracción de nitrógeno y fósforo: Pandey y Kumar (1990), señalan que la vida no sería concebible sin la existencia del elemento nitrógeno; en el metabolismo vegetal normal, se encuentra presente en un gran número de compuestos de singular importancia fisiológica, tales como la clorofila, los nucleótidos, los fosfatitos, los alcaloides, así como en múltiples enzimas, hormonas y vitaminas. Acorde a los resultados obtenidos en el contenido de N y P, en el Cuadro 5, se observa que la cantidad de nitrógeno acumulada en el resto de la planta es alrededor de 77% y en la cabeza de 43%; asimismo, existe diferencia en la absorción de nitrógeno por efecto de los tratamientos en estudio. Se puede observar que el nitrógeno en aquellos tratamientos superiores fueron los inoculados con *Azospirillum halopraeferens* y *Bacillus amiloliquefasciens*, lo contrario ocurrió con aquellos no inoculados. Un comportamiento similar ocurrió con el P₂O₅ (Cuadro 6), en cabeza y planta con relación al N. Se apreció que aquellos no inoculados fueron los exentos de la inoculación de microorganismos promotores del crecimiento vegetal.

Estos resultados obtenidos, indican que al tener una mayor producción de brócoli se incrementa la extracción de N por el cultivo, siendo necesario de dosis altas de fertilización al incrementarse los requerimientos del cultivo. Pandey y Kumar (1990), detectaron que cuando hay deficiencias de N, el crecimiento del brócoli es lento y que la planta tiende a enamorar y es más delgada de lo normal; presenta defoliación y la formación de cabezas es tardía. Para la deficiencia de fósforo, las plantas presentan follaje de color púrpura y bronceado, sistema radicular reducido y muy superficial (Pandey *et al.*, 1998).

Sabra *et al.* (2001), manifiesta que el fósforo favorece el crecimiento, su acción es conjunta a la del nitrógeno, el desarrollo radicular y el acrecentamiento de la masa de pelos

These yields are lower than those obtained by Vizcaino (2005) 24.16 TM ha⁻¹ and above the results by Pantoja (2006) and Peralta (2006), which were 18.24 TM ha⁻¹ and 16.71 TM ha⁻¹, respectively. Less productive treatments were those not inoculated with plant growth promoting microorganisms. Studies by (Juárez *et al.*, 2004), where three sources and three nitrogen levels were assessed in the culture of broccoli (hib. Shogun), conclude that the nitrogen element in the diameter and yield of the heads increases so with remarkable levels (240 kg N ha⁻¹, 180 kg P₂O₅ ha⁻¹ and 230 kg K₂O ha⁻¹).

Cuadro 4. Rendimiento de cabeza en TM ha⁻¹ de tres híbridos de brócoli (Avenger, Marathon y Heritage).

Table 4. Performance TM ha⁻¹ head three hybrid broccoli (Avenger, Marathon and Heritage).

Hibrido	Biofertilizantes	Media (TM ha ⁻¹)	Duncan (5%)
Avenger	A.h.-B.a.	20.5	a
Marathon	A.h. -B.a.	20.03	ab
Heritage	A.h. -B.a.	19.82	abc
Avenger	B.a.	19.46	abc
Avenger	A.h.	18.91	abc
Marathon	B.a.	18.43	abcd
Marathon	A.h.	18.4	abcd
Heritage	A.h.	18.33	abcd
Heritage	B.a.	18.05	abcd
Avenger	Control	17.82	abcd
Marathon	Control	16.17	abcd
Heritage	Control	16.5	abcd

Azospirillum halopraeferens (A.h); *Bacillus amiloliquefasciens* (B.a), su combinación (A.h-B.a.). *Las literales indican diferencias significativas ($p < 0.005$).

Removal of nitrogen and phosphorus: Pandey and Kumar (1990), indicate that life would not be conceivable without the existence of the element nitrogen; in normal plant metabolism, it is present in a large number of unique physiological compounds, such as chlorophyll, nucleotides, phosphorites, alkaloids, as well as multiple enzymes, hormones and vitamins importance. According to the results obtained in the content of N and P, in Table 5, it is observed that the amount of nitrogen accumulated in the rest of the plant is around 77% and the head of 43%; also, there is a difference in nitrogen absorption effect of the treatments under study. It can be seen that, in those higher nitrogen treatments were inoculated with *Azospirillum*

radiculares, la precocidad, consecuencia de un desarrollo radicular óptimo; la robustez de los tejidos, haciéndose menos sensibles al ataque de parásitos, aumenta la fecundación y fructificación. Pantoja (2006), indica que a medida que se aumenta los niveles de fertilización química la producción es mayor y de excelente calidad de exportación.

halopraeferens and *Bacillus amiloliquefasciens*, otherwise occurred with those uninoculated. A similar behavior was observed with P_2O_5 (Table 6), head and plant relative to N. It was seen that those inoculated were not exempt from the inoculation of plant growth promoting microorganisms.

Cuadro 5. Cantidad de nitrógeno absorbido en tres híbridos de brócoli (Avenger, Marathon y Heritage).

Table 5. Quantity of nitrogen absorbed in three hybrids broccoli (Avenger, Marathon and Heritage).

Híbrido	Biofertilizante	Nitrógeno absorbido (kg N ha ⁻¹)		Absorción total (kg N ha ⁻¹)
		Cabeza	Planta	
Avenger	A.h.-B.a.	69.55	107.555	177.111
Marathon	A.h. -B.a.	65.932	101.222	167.154
Heritage	A.h. -B.a.	65.313	99.809	165.122
Avenger	B.a.	64.071	100.04	164.111
Avenger	A.h.	43.373	89.995	133.368
Marathon	B.a.	39.334	77.391	116.725
Marathon	A.h.	26.688	89.494	116.182
Heritage	A.h.	25.794	90.156	115.95
Heritage	B.a.	30.888	83.112	114
Avenger	Control	25.258	85.888	113.146
Marathon	Control	36.96	75.916	112.876
Heritage	Control	57.196	54.68	111.876

Azospirillum halopraeferens (A.h); *Bacillus amiloliquefasciens* (B.a), su combinación (A.h-B.a.).

Cuadro 6. Cantidad de fósforo (P₂O₅) absorbido en tres híbridos de brócoli (Avenger, Marathon y Heritage).

Table 6. Quantity of phosphorus (P₂O₅) absorbed in three hybrids broccoli (Avenger, Marathon and Heritage).

Híbrido	Biofertilizante	P ₂ O ₅ absorbido (kg ha ⁻¹)		Absorción total (kg P ₂ O ₅ ha ⁻¹)
		Cabeza	Planta	
Avenger	A.h.-B.a.	30.01	53.65	83.66
Marathon	A.h. -B.a.	29.87	49.35	79.22
Heritage	A.h. -B.a.	30.23	49.11	79.34
Avenger	B.a.	27.99	43.22	71.21
Avenger	A.h.	28.87	40.47	69.34
Marathon	B.a.	25.87	43.45	69.32
Marathon	A.h.	26.23	37.89	64.12
Heritage	A.h.	23.34	36.75	60.09
Heritage	B.a.	25.88	33.57	59.45
Avenger	Control	27.99	15.33	43.32
Marathon	Control	23.12	21.17	44.29
Heritage	Control	23.29	15.90	39.19

Azospirillum halopraeferens (A.h); *Bacillus amiloliquefasciens* (B.a), su combinación (A.h-B.a.).

Conclusiones

Con la realización del presente estudio, fue posible ampliar el conocimiento del comportamiento de la estimulación de crecimiento de plantas de brócoli, inoculadas con las bacterias *Bacillus amilolyquefasciens* y *Azospirillum halopraeferens*, bajo condiciones de invernadero en ambientes de zonas áridas. Los resultados arrojaron que la variedad Avenger al ser co-inoculada con ambas bacterias mostró valores significativos en la variable de rendimiento. Se recomienda que en posteriores estudios, factores relacionados con fechas de siembra, utilización de productos químicos (bactericidas), etc., y condiciones limitantes del recurso agua considerando la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento de plantas, deban ser tomados en cuenta.

Literatura citada

- Fraire, C.; Nieto, A. D.; Cardenas, S. E.; Gutierrez A.; Bujanos M. y Vaquera H. 2010. Efecto de variedades y densidad de plantación en la calidad física del florete de brócoli. *Rev. Fitotec. Mex.* 33(2):14-23.
- Francescangeli, N.; Sangiacomo, M. and Marti, H. R. 2007. Vegetative and reproductive plasticity of broccoli at three levels of incident photosynthetically active radiation. *Spanish J. Agric. Res.* 5(3):389-401.
- Hanke, F. 1995. Los elementos mayores N, P, K. *Mic. Mol. Biol.* 2(1):234-239.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI). 2015. Carta topográfica 1:50 000. Aspectos geográficos de Sonora. Coordenadas geográficas y altitud de las cabeceras municipales. México.
- Instituto de la Potasa y el Fósforo, 1997. Manual Internacional de fertilidad de suelos. Quito.
- Juárez, B.; Martínez, M. y González, J. 2004. Grown *Azotobacter chroococcum* in chemically defined media containing p-hydroxybenzoic acid and protocatechui acid. *Chemosphere.* 55:1361-1365.
- Krarup, CH. 1992. Seminario sobre la producción de brócoli. Quito (Ecuador), Proexant. 25 p.
- Lazcano, F.; Carrillo, G.; Vidal, M.; Etchevers, B. y Núñez, E. 2006. Nutrición potásica del brócoli (*Brassica Oleracea*) con manejo convencional y fertirrigación en un vertisol en invernadero. *Agrociencia.* 1(40):1-11
- Nicolalde, M.A. y Quintana, L. D. 2010. Utilización de bacterias fijadoras de nitrógeno (*Azotobacter*) y solubilizadoras de fosfora en el cultivo de brócoli (*Brassica Oleracea* Var. Legacy) en Otavalo. Tesis de Licenciatura. Universidad Técnica Del Norte- Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y ambientales. Escuela de Ingeniería Agropecuaria. Ibarra, Ecuador. 215 p.

These results indicate that having increased production of broccoli extraction N is incremented by culture, requiring high doses of fertilization by increasing crop requirements. Pandey and Kumar (1990) found that when there are deficiencies of N, broccoli growth is slow and the plant tends to breeding and is thinner than normal; it presents defoliation and head formation is late. For phosphorus deficiency, the plants have purple foliage and tan, small and very shallow root system (Pa Pandey *et al.*, 1998).

Sabra *et al.* (2001), states that the phosphorus promotes growth, its action is combined to the nitrogen, root development and growth of root hairs mass, precocity result of optimal root development; robustness of tissues, becoming less sensitive to parasitic attack, increases fertilization and fruiting. Pantoja (2006), confirmed on the above and indicating that as the levels of chemical fertilizer production is greater and excellent export quality is increased.

Conclusions

With the completion of this study, it was possible to extend the knowledge of the behavior of stimulating growth of broccoli plants, inoculated with the bacteria *Bacillus amilolyquefasciens* y *Azospirillum halopraeferens*, under greenhouse conditions in arid environments. The results showed that the variety Avenger when co-inoculated with both bacteria showed significant values in the performance variable. It is recommended that in future studies, factors related to planting dates, use of chemicals (bactericides), etc., and limiting conditions of water resources considering promoting bacteria inoculation of plant growth, should be taken into account.

End of the English version



- Pandey, A. and Kumar, S. 1990. Inhibitory effects of *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasiliense* on a range of rhizosphere fungi. *Ind. J. Exp. Biol.* 28:52-54.
- Pandey, A.; Sharma, E. and Palni, L. 1998. Influence of bacterial inoculation on maize in upland farming systems of the Sikkim Himalaya. *Soil Biol. Biochem.* 30:379-384.
- Pantoja, C. 2006. Efecto de la fertilización química (N-P-K-Ca) en la incidencia de la mancha negra de la pella en un ciclo de producción comercial de brócoli (*Brassica oleracea* var. Iatalica, hib. legacy), Tesis Ing. Agr. Quito. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrícolas. 77-88 pp.

- Peralta, A. 2006. Evaluación de cuatro genotipos de brócoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*), con cuatro niveles de fertilización. Cayambe-Pichincha. Tesis Ing. Agr. Quito. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrícolas. 39-47 pp.
- Puente, M. y Bashan, Y. 1993. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* strains on germination and seedlings growth of the giant columnar cardon cactus (*Pachycerus pringlei*). *Symbiosis*. 15:49-60.
- Puente, M.; Holguin, G.; Glick, B. and Bashan Y. 1999. Root-surface colonization of black mangrove seedlings by *Azospirillum halopraeferens* and *Azospirillum brasilense* in seawater. *Microbiol. Ecol.* 29:283-292.
- Rodríguez, F. 1982. Fertilización y nutrición vegetal. México, D. F, México. Ed. A. G. T. 54 - 80 pp.
- Sabra, W.; Zeng, A. and Deckwer, W. 2001. Bacterial alginate: physiology, product quality and process aspects. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56:315-325.
- Statistical Analysis System (SAS) Institute. 2004. SAS user's guide. Statistics. Version 6.12 SAS, Institute, Cary, N.C. Quality, and elemental removal. *J. Environ. Qual.* 19:749-756.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2014. Anuario Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. <http://mx.search.yahoo.com/search?ei=UTF-8&fr=slv1-mdp&p=anuario%20agricultura%20sonora>.
- Vizcaíno, E. 2005. Evaluación de la adaptación y rendimiento de cinco híbridos de brócoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*), en Imbabura y Pichincha. Tesis Ing. Agr. Quito, Ecuador. 231 p.