

## Efecto de rizobacterias solubilizadoras de calcio en caracteres agronómicos y minerales de *Tagetes erecta*

Effect calcium solubilizing rhizobacteria on agronomic characters and mineral of *Tagetes erecta*

Ramos Salazar RA, Mendoza Villarreal R\*, Robledo Torres V, Hernández Pérez A

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Horticultura. Calzada Antonio Narro 1923, CP 25315, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

### RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar tres rizobacterias silvestres (*Bacillus* sp., *B. cereus* y *B. licheniformis*) inoculadas de forma individual y combinadas sobre las propiedades agronómicas y calidad mineral de flor de cempasúchil en campo abierto. Se evaluaron ocho tratamientos: T0=testigo, T1= *Bacillus* sp., T2= *B. cereus*, T3= *B. licheniformis*, T4= *Bacillus* sp. + *B. cereus*, T5= *Bacillus* sp. + *B. licheniformis*, T6= *B. cereus* + *B. licheniformis*, T7= *Bacillus* sp. + *B. cereus* + *B. licheniformis*, se aplicó solución nutritiva Steiner sin Calcio. El experimento se estableció en bloques completos al azar con tres repeticiones por tratamiento. Los resultados mostraron que la biomasa fresca y seca de raíz se incrementó con la aplicación del tratamiento T6, la biomasa fresca, biomasa seca de follaje y contenido de carotenoides totales ( $847.01 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) presentaron mayores valores en T5, En minerales, el calcio se concentró en hoja en T2 y T1, el magnesio en hoja en T7, en tallo el potasio en T5, el fósforo en pétalos en T5, en hojas el nitrógeno en T1 y T2. La aplicación de *Bacillus* es una alternativa para sustituir los fertilizantes cálcicos, lo que podría ayudar a mitigar los efectos negativos de una fertilización química.

**Palabras clave:** Calcio; PGPR; *Tagetes erecta*; *Bacillus*.

### ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate three wild rhizobacteria (*Bacillus* sp, *B. cereus* and *B. licheniformis*), inoculated individually and in combination on the agronomic properties and mineral quality of marigold crop on open field. Eight treatments were compared: T0= control, T1= *Bacillus* sp., T2= *B. cereus*, T3= *B. licheniformis*, T4=*Bacillus* sp. + *B. cereus*, T5= *Bacillus* sp. + *B. licheniformis*, T6= *B. cereus* + *B. licheniformis*, T7= *Bacillus* sp. + *B. cereus* + *B. licheniformis*, with Steiner nutrient solution without Calcium. The experiment was established in randomized complete blocks with three repetitions per treatment. The results showed that the fresh and dry root biomass increased with the application of the T6 treatment, fresh biomass, dry foliage biomass and total carotenoids ( $847.01 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) presented higher values in T5. Meanwhile the minerals, calcium was concentrated in leaves, in T2 and T1, magnesium in leaves in T7, potassium in stem in T5, phosphorus in petals in T5, nitrogen in leaves in T1 and T2. *Bacillus* application is an alternative to replace calcium

fertilizers, which could help mitigate the negative effects of chemical fertilization.

**Keywords:** Calcium; PGPR; *Tagetes erecta*; *Bacillus*.

### INTRODUCCIÓN

La fertilización química es una actividad necesaria en la agricultura moderna, ya que proporciona a los cultivos los nutrientes necesarios para el óptimo desarrollo de las plantas a corto plazo, pero con aplicación constante podría ocasionar el deterioro de las propiedades físicas y químicas de los suelos, como la acidificación de los mismos, la compactación del suelo (Yan *et al.*, 2018) y pérdida de N y P por escurrimiento (Rauber, *et al.*, 2018).

La flor de cempasúchil es una flor ornamental de corte de gran importancia cultural en México, es parte fundamental del día de muertos, también es conocida como flor de muerto. Es una fuente alimenticia de gran relevancia por las propiedades antioxidantes y el potencial neuroprotector que posee (Moliner *et al.*, 2018). Además, gracias a los carotenoides, los principales pigmentos de la flor, pueden ser utilizados como colorantes para alimentos funcionales (Petrova *et al.*, 2016).

Uno de los métodos para reducir el uso de estos fertilizantes es con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), presentes en la rizósfera de la planta y aportan efectos positivos para el desarrollo vegetal (Labra-Cardón, *et al.*, 2012), ácidos orgánicos, y enzimas, que solubilizan los minerales presentes en el suelo para que la planta pueda aprovecharlos (Chauhan *et al.*, 2017).

El género *Bacillus* es uno de los PGPR más utilizados por sus amplios mecanismos para el crecimiento vegetal. *B. pumilus* y *B. megaterium* tienen la capacidad de solubilizar los fosfatos y fijar el N de los suelos por lo que incrementa el transporte de estos nutrientes hacia las raíces (Kuan *et al.*, 2016). *B. subtilis* y *B. methylotrophicus* ayudan el crecimiento vegetal al producir fitohormonas como ácido indolacético, ácido giberélico, citoquininas y espermidinas (Radhakrishnan y Lee, 2016). *B. subtilis* y *B. mojavensis* inhiben la senescencia al secretar ACC-deaminasa (Pourbabaee *et al.*, 2016.). *B. megaterium* y *B. methylotropicus* favorece la producción vegetal de proteínas, aminoácidos, azúcares, pigmentos fo-

\*Autor para correspondencia: Rosalinda Mendoza Villarreal  
Correo electrónico: rosalingdamendoza@hotmail.com

Recibido: 28 de noviembre de 2021

Aceptado: 16 de marzo de 2022

tosintéticos, así como la acumulación de minerales como  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  y  $NO_3^-$  (Radhakrishnan y Lee, 2016).

En este estudio se plantea el uso de rizobacterias solubilizadoras de Ca para reducir el uso de fertilizantes cálcicos convencionales y así aminorar la contaminación edafológica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Aislamiento y selección de cepas bacterianas

Se utilizó suelo recolectado de la rizósfera de tomatillo silvestre en el estado de Coahuila, México para el aislamiento de las bacterias. Se pesó un gramo de muestra de suelo, se llevó a dilución seriada y se incubaron en cajas Petri con medio Rennie a 30 °C por 48 horas (Matsumoto *et al.*, 2005). Las colonias obtenidas se incubaron en medio Pikovskaya sólido a 30 °C por 48 horas. Se realizó una selección de aquellas colonias que presentaron halos de solubilización, las cuales fueron incubadas en medio Pikovskaya líquido por 48 horas a 30 °C a 120 rpm, filtrándose con papel filtro Whatman No. 42 para después diluirse 1 en 100 (Kumar *et al.*, 2012). La dilución fue medida en un Espectrómetro de Absorción Atómica GBC Xplor AA para determinar el calcio soluble presente (Sadzawka *et al.*, 2004). De todas las cepas, se seleccionaron las mejores tres con capacidad solubilizadora de calcio para ser probadas en campo. Se realizaron extracciones de ADN genómico de las tres cepas seleccionadas siguiendo la metodología proporcionada por Promega, proveedor del kit de extracción. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó utilizando la mezcla comercial GoTaq Green Master Mix, 2XTM (Promega, USA), con los primers PF27 y PR1429, según las especificaciones del fabricante. Los productos de PCR se enviaron al Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad LANGE BIO, CINVESTAV, Irapuato, Guanajuato para su identificación molecular.

### Material vegetal y tratamientos

El experimento se llevó a cabo bajo condiciones de campo abierto en las instalaciones del departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, con ubicación geográfica de 25°21'22.52" de latitud norte y 101°2'9.88" longitud oeste, con una elevación de 1760 msnm con una precipitación media de 400 mm y una temperatura media anual entre 12 y 18 °C. Se utilizaron semillas de cempasúchil de crecimiento indeterminado proporcionadas por productores de la población de Atlixco, Puebla, México. Ocho tratamientos fueron evaluados: T0= testigo, T1= *Bacillus* sp., T2= *B. cereus*, T3= *B. licheniformis*, T4= *Bacillus* sp. + *B. cereus*, T5= *Bacillus* sp. + *B. licheniformis*, T6= *B. cereus* + *B. licheniformis*, T7= *Bacillus* sp. + *B. cereus* + *B. licheniformis*, se aplicó una solución nutritiva Steiner sin Calcio. Las semillas de cempasúchil se sembraron en charolas de poliestireno con 200 cavidades, se colocó una semilla en cada cavidad, se utilizó como sustrato una mezcla de peat moss con perlita a una proporción 1:1. El trasplante se realizó un mes después cuando las plátulas alcanzaron una altura de 30 cm a doble hilera con 15 cm de separación en camas de 0.80 x 7 m, con 0.80 m de distancia entre camas.

Al momento del trasplante se aplicaron 20 ml de los tratamientos a la base de las plantas a una concentración de  $10^7$  UFC mL<sup>-1</sup>, en un diseño de bloques completos al azar, con 3 repeticiones y 10 plantas por repetición. Se utilizó la solución nutritiva Steiner sin la adición de calcio. Se hicieron otras dos aplicaciones a los 30 y 60 días después del trasplante. Cuando inició la floración, los órganos de las plantas fueron seccionados en raíz, tallo, hoja y pétalos, posteriormente, se midió la biomasa. La determinación de carotenoides se obtuvo por el método descrito por AOAC (1984).

### Determinación de minerales

La determinación del calcio, magnesio y potasio se llevó a cabo mediante el método de espectrofotometría de absorción atómica en un EAA GBC xplor AA. La determinación de fósforo por el método de colorimetría en un espectrofotómetro UV-VIS Biomate V7-07. La determinación de nitrógeno mediante el método Micro-Kjeldhal, todos los anteriores siguiendo la metodología descrita por Sadzawka *et al.* (2004).

### Análisis estadístico

Para el procesamiento de los datos se realizaron análisis de varianza y pruebas de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), utilizando el software InfoStat versión 2018.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Solubilización de Ca *in vitro*

De las 11 cepas probadas, las cepas C06, identificada como *B. Cereus*, C09 identificada como *B. licheniformis* y C04 identificada como *Bacillus* sp. fueron las que presentaron la mayor solubilización de Ca (Tabla 1). La cepa de *B. cereus* solubilizó el 24.5% del Ca disponible en el medio, la cepa de *B. licheniformis*, solubilizó el 23.4% del Ca del medio, y en tanto la cepa de *Bacillus* sp. presentó un 23.0% de Ca soluble. El género *Bacillus* tiene la capacidad de producir moléculas de ácido indol-3-acético (Glick, 2014), que son capaces de solubilizar moléculas como el  $Ca_3(PO_4)_2$  (Chauhan *et al.*, 2017), liberando los iones de  $(PO_4)^{3-}$  a la rizósfera, siendo así asimilables para las plantas.

### Propiedades agronómicas y carotenoides totales en flor

El rendimiento floral obtenido por los diferentes tratamientos estudiados se muestra en la Tabla 2, donde las combinaciones de *B. cereus* y *B. licheniformis* y entre *Bacillus* sp. y *B. cereus*, son estadísticamente iguales que el testigo. En experimentos similares, el género *Bacillus* no muestra incremento en los rendimientos, como sucede con *Pseudomonas fluorescens* (Amereshwar-Reddy & Saravanan, 2020) y *Azotobacter* (Rolaniya *et al.*, 2017).

En cuanto a la biomasa de la raíz, la interacción entre las cepas *B. cereus* y *B. licheniformis* fue la que estadísticamente presentó mayor biomasa fresca en comparación del testigo, siendo un 62.9% mayor, así mismo, ésta combinación incrementó la biomasa seca de raíz en 86.1%. En cuanto a la biomasa de la parte foliar, la combinación de *Bacillus* sp. y *B. licheniformis* presentó una biomasa fresca de 27.8% superior

al testigo. La producción de biomasa se ve favorecido al aplicarse cepas del género *Bacillus* en distintos cultivos como lo comprobaron Castro-Barquero *et al.* (2015) y Sosa-Pech *et al.* (2019) en distintos cultivos.

**Tabla 1.** Prueba de comparación de medias de solubilización de Ca en 11 cepas silvestres del estado de Coahuila

**Table 1.** Ca solubilization in 11 wild strains of the state of Coahuila mean comparison test.

Cepa	Calcio (mg L <sup>-1</sup> )	% solubilización Ca
C00	243.94 e	12.2 e
C01	408.28 cd	20.4 cd
C02	455.78 b	22.8 b
C03	412.66 cd	20.6 cd
C04	460.07 ab	23.0 ab
C05	408.31 cd	20.4 cd
C06	489.91 a	24.5 a
C07	386.51 d	19.3 d
C08	451.48 b	22.6 b
C09	468.62 ab	23.4 ab
C10	438.58 bc	21.9 bc
C11	393.05 d	19.7 d
CV(%)	2.57	2.57

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ; Tukey test).

Se puede observar que el tratamiento compuesto por la combinación de las cepas *Bacillus* sp. y *B. licheniformis* fue el que presentó un mejor comportamiento en comparación de los demás, obteniendo un 18.5% más carotenoides totales que el testigo. El calcio exógeno al ser añadido en cultivos como el tomate (Wasti *et al.*, 2016) y al tabaco (Hu *et al.*, 2018) ha producido plantas con mayor contenido de carotenoides totales en condiciones de estrés hídrico, al contrario la aplicación del género *Bacillus* no resulta tan efectiva para la producción de carotenoides (Karamat & Ahmed, 2018).

### Contenido mineral

El contenido mineral en cada órgano de la planta se presenta en la Tabla 3. En el Ca<sup>2+</sup> presente en la raíz, la interacción entre *Bacillus* sp. y *B. licheniformis* así como la cepa *Bacillus* sp. fueron los tratamientos con mayor contenido siendo superiores al testigo 102.2% y 62.0%. En el tallo se aprecia que la interacción entre *B. cereus* y *B. licheniformis* y la cepa individual *B. cereus* fueron los tratamientos que presentaron la más alta concentración de Ca<sup>2+</sup>, al ser superiores un 42.1% y 41.4% al testigo. En las hojas, la concentración de Ca<sup>2+</sup> se observa que todos los tratamientos son estadísticamente superiores al testigo, destacando las cepas *B. cereus* y *Bacillus* sp. al superar al testigo por un 70.8% y 68.2%. La concentración de Ca<sup>2+</sup> en los pétalos tuvo un comportamiento estadísticamente más uniforme, aun así, el tratamiento de la interacción entre las 3 cepas presentó un incremento de 30.4% en contraste con el testigo. Las concentraciones encontradas en el presente estudio son superiores a los encontrados por Sonmez *et al.* (2017).

**Tabla 2.** Rendimiento, biomasa fresca y seca y carotenoides totales de las plantas de cempasúchil tratadas con distintas cepas de rizobacterias solubilizadoras de Ca.

**Table 2.** Yield, fresh and dry biomass and total carotenoids of marigold plants treated with different strains of Ca-solubilizing rhizobacteria.

Tratamientos	Flores por m <sup>2</sup>	Biomasa fresca de raíz (g)	Biomasa seca de raíz (g)	Biomasa fresca follaje (g)	Biomasa seca follaje (g)	Carotenoides totales en flor (ug/g)
T0	129.61 ab	31.76 cd	12.22 c	248.33 b	67.55 a	714.68 b
T1	121.28 bc	29.92 d	13.26 c	185.67 d	48.12 d	746.21 b
T2	102.78 de	42.94 b	15.96 b	241.67 b	67.51 a	742.84 b
T3	100.92 e	39.20 bc	13.59 c	187.33 d	49.94 d	699.09 b
T4	135.19 a	21.46 e	7.54 d	254.00 b	59.77 b	688.94 b
T5	100.03 e	27.29 de	9.41 d	317.33 a	66.18 a	847.01 a
T6	137.97 a	51.74 a	22.74 a	220.33 d	50.28 cd	735.07 b
T7	112.06 cd	38.47 bc	16.91 b	246.67 b	53.38 c	741.51 b
CV (%)	3.22	7.38	5.70	2.67	1.88	4.46

Donde T0 es el testigo; T1 es *Bacillus* sp.1; T2 es *Bacillus cereus*; T3 es *Bacillus licheniformis*; T4 es la interacción entre *Bacillus* sp.1 y *Bacillus cereus*; T5 es la interacción entre *Bacillus* sp.1 y *Bacillus licheniformis*; T6 es la interacción entre *Bacillus cereus* y *Bacillus licheniformis*; y T7 es la interacción entre *Bacillus* sp.1, *Bacillus cereus* y *Bacillus licheniformis*. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ; Tukey).

**Tabla 3.** Contenido mineral de los distintos órganos de la planta de cempasúchil tratadas con las diferentes cepas de rizobacterias, donde Ca, Mg, K y P se representan en mg·kg<sup>-1</sup> y N en %.

**Table 3.** Mineral content of the different organs of the marigold plant treated with the different strains of rhizobacteria, where Ca, Mg, K and P are represented in mg·kg<sup>-1</sup> and N in %.

Órgano	Tratamientos	Ca	Mg	K	P	N
		mg·kg <sup>-1</sup>				%
Raíz	T0	18887 d	3676 b	4672 a	2337 a	1.05 d
	T1	30599 ab	2183 c	2085 bc	1619 d	1.93 c
	T2	29379 bc	4772 a	1297 c	2440 a	2.45 b
	T3	29441 bc	5253 a	709 c	1850 bc	2.98 a
	T4	26109 bcd	1630 c	1413 c	1851 bc	1.05 d
	T5	38189 a	3749 b	3627 ab	2021 b	2.63 ab
	T6	21649 cd	5129 a	4642 a	1476 d	1.93 c
	T7	18622 d	2034 c	4017 a	1831 c	2.80 ab
	CV (%)	11.18	6.88	23.01	3.39	6.2
Tallo	T0	7415 bc	4417 b	12557 d	979 bc	1.05 e
	T1	7397 bc	4987 a	16810 b	839 c	2.28 b
	T2	10484 a	5302 a	16141 bc	1227 a	1.75 c
	T3	8168 b	2594 d	15164 c	933 bc	1.40 d
	T4	7134 bc	2841 c	17358 b	944 bc	2.45 ab
	T5	6508 c	1996 e	19140 a	1022 b	2.63 a
	T6	10537 a	4077 bc	17598 ab	853 bc	1.40 d
	T7	8694 b	2319 de	12913 d	939 bc	1.23 de
	CV (%)	6.66	3.69	3.37	6.22	6.54
Hoja	T0	28656 d	4871 e	7572 d	2029 c	1.75 c
	T1	48349 ab	4577 f	14091 a	2103 bc	3.33 a
	T2	48935 a	6516 b	8557 cd	1824 c	3.33 a
	T3	41463 bc	2502 g	11648 b	1893 c	1.93 c
	T4	35855 c	5679 d	6466 e	1900 c	2.45 b
	T5	36426 c	6135 c	8984 c	1871 c	2.86 b
	T6	35919 c	6012 c	11082 b	2816 a	2.80 b
	T7	36168 c	7920 a	9410 c	1457 b	2.63 b
	CV (%)	6.31	1.27	3.78	5.86	5.9
Pétalos	T0	4448 ab	601 a	13718 ab	3681 c	1.05 e
	T1	3260 b	581 a	12638 ab	3482 c	2.10 c
	T2	4554 ab	577 a	12219 ab	3552 c	2.10 c
	T3	5245 ab	585 a	11698 b	3909 bc	2.28 bc
	T4	4377 ab	598 a	13844 ab	4327 ab	1.40 d
	T5	3742 ab	600 a	14805 a	4743 a	2.45 b
	T6	4164 ab	604 a	13901 ab	3636 c	2.28 bc
	T7	5798 a	663 a	14934 a	3786 c	2.98 a
	CV (%)	17.33	10.46	7.21	4.79	5.2

Donde T0 es el testigo; T1 es *Bacillus* sp.1; T2 es *Bacillus cereus*; T3 es *Bacillus licheniformis*; T4 es la interacción entre *Bacillus* sp.1 y *Bacillus cereus*; T5 es la interacción entre *Bacillus* sp.1 y *Bacillus licheniformis*; T6 es la interacción entre *Bacillus cereus* y *Bacillus licheniformis*; y T7 es la interacción entre *Bacillus* sp.1, *Bacillus cereus* y *Bacillus licheniformis*. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ; Tukey).

Los resultados obtenidos sobre la concentración de Mg<sup>2+</sup> en el cultivo de flor de cempasúchil al aplicar los distintos tratamientos muestran que en la raíz, las concentraciones estadísticamente más altas de Mg<sup>2+</sup> se presentaron al aplicar *B. licheniformis*, la interacción entre *B. cereus* y *B. licheniformis* y la aplicación individual de *B. cereus*, superiores al testigo un 42.9%, 39.5% y 29.8% respectivamente. En hoja, en la interacción entre las tres cepas, la concentración de Mg<sup>2+</sup> fue superior al testigo en un 62.6%. Las concentraciones de Mg<sup>2+</sup> en el tallo estadísticamente más altas se presentaron al aplicar *B. cereus* y *Bacillus* sp. individualmente, superando al testigo en un 20.1% y 13.0%, respectivamente. En cuanto a la concentración de Mg<sup>2+</sup> en los pétalos, no hubo diferencia significativa entre los diferentes tratamientos. Jiménez-Gómez et al. (2020) no encontraron señales de solubilización de Mg<sup>2+</sup> por parte de *B. halotolerans*, mientras que en este estudio se presentan especies de *Bacillus* que incrementaron la concentración de Mg<sup>2+</sup> en el cultivo de *Tagetes erecta*.

Las concentraciones de K<sup>+</sup> de los órganos principales del cultivo de cempasúchil al inocular los distintos tratamientos dan como resultado que en la raíz el testigo fue el que tuvo la mayor concentración de K<sup>+</sup> siendo estadísticamente igual a las concentraciones de K<sup>+</sup> de las raíces de plantas inoculadas con las interacciones de *B. cereus* y *B. licheniformis* y a la interacción entre las tres cepas. En las hojas, prácticamente todos los tratamientos fueron superiores al testigo, con excepción de la interacción entre *Bacillus* sp. y *B. cereus*, siendo la aplicación de *Bacillus* sp. individualmente la que arrojó la concentración de K estadísticamente más alta, siendo un 86.1% superior al testigo. En el tallo todos los tratamientos, excepto la interacción entre las tres cepas, fueron superiores estadísticamente, en cambio los tallos de las plantas inoculadas con la interacción entre *Bacillus* sp. y *B. licheniformis* fueron los que mostraron una concentración de K mayor, un 52.5% superior al testigo. En los pétalos, la interacción entre las tres cepas y la interacción entre *Bacillus* sp. y *B. licheniformis* fueron los tratamientos donde la concentración de K fue la más alta, al ser superiores, respectivamente un 8.9% y 7.9% al testigo. Los resultados obtenidos son similares a los obtenidos por Somnez et al. (2017).

Las concentraciones de P son más altas con la aplicación de *B. cereus* y el testigo, siendo estadísticamente iguales. En las hojas, la interacción entre la cepa *B. cereus* y *B. licheniformis* es la que presenta la concentración más alta de P siendo un 38.8% superior al testigo. En el tallo, la cepa *B. cereus*, al aplicarse individualmente, mostró la concentración de P más alta, siendo un 25.4% mayor al testigo. Las concentraciones mayores en los pétalos se presentan en las interacciones de las cepas *Bacillus* sp. y *B. licheniformis* y *Bacillus* sp. y *B. cereus*, siendo 28.8% y 17.5% superiores al testigo. El género *Bacillus* tiene la capacidad de solubilizar los fosfatos presentes en el suelo por su capacidad productora de ácidos orgánicos (Glick, 2014).

El contenido de N presente en los diferentes órganos del cultivo de *Tagetes erecta* en todos los órganos, al aplicar cualquiera de los tratamientos con *Bacillus* fue superior esta-

dísticamente al testigo. En la parte radicular, el contenido más alto de N fue en las plantas inoculadas con *B. licheniformis* siendo 183.8% superior al testigo. En las hojas, la aplicación individual de *B. cereus* y *Bacillus* sp. fueron los que mayor concentración de N presentaron, al ser 90.3% mayores al testigo. La concentración estadísticamente más alta de N se observó en la interacción entre *Bacillus* sp. y *B. licheniformis* siendo 150.5% mayor que el testigo. Y en los pétalos, se presentó en la interacción entre las 3 cepas que fue 183.8% superior al testigo. Al momento de aislar las bacterias se utilizó un medio selectivo para bacterias fijadoras de N siendo los resultados concordantes. Se ha demostrado que el género *Bacillus* tiene la capacidad biológica de fijar el Nitrógeno (Kuan *et al.*, 2016).

## AGRADECIMIENTOS

Al Conacyt por la beca proporcionada al autor y a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por el apoyo económico brindado para realizar el proyecto de investigación.

## CONCLUSIONES

Este estudio demuestra que la inoculación de las cepas del género *Bacillus* en el cultivo de flor de compasúchil, tienen capacidad solubilizadora de Calcio, además de también solubilizan Fósforo, Magnesio y Potasio, así como fijar Nitrógeno. También la cantidad de carotenoides totales por flor se vio incrementada con la aplicación de PGPR. Los tratamientos que tuvieron mayor relevancia fueron la combinación de las cepas *Bacillus* sp. y *Bacillus licheniformis* y de *Bacillus cereus* y *Bacillus licheniformis*. Por lo tanto, al inocular el género *Bacillus* se pueden producir flores de compasúchil eliminando el uso de fertilizantes cálcicos convencionales en suelos calcáreos.

## REFERENCIAS

- Amereshwar-Reddy, K. y Saravanan, S. 2020. Effect of bio fertilizers on plant growth and flower yield of african marigold *Tagetes erecta*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 9(5): 1334-1338.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
- Castro-Barquero, L., Murillo-Roos, M., Lorío, L. y Mata-Chinchilla, R. 2015. Inoculación al suelo con *Pseudomonas fluorescens*, *Azospirillum oryzae*, *Bacillus subtilis* y microorganismos de montaña (mm) y su efecto sobre un sistema de rotación soya-tomate bajo condiciones de invernadero. Agronomía Costarricense. 39(1): 21-36.
- Chauhan, A., Guleria, S., Balgir, P., Walia, A., Mahajan, R., Mehta, P. y Shirkot, C. 2017. Tricalcium phosphate solubilization and nitrogen fixation by newly isolated *Aneurinibacillus aneurinilyticus* CKMV1 from rhizosphere of *Valeriana jatamansi* and its growth promotional effect. Brazilian Journal of Microbiology, 48(2): 294-304.
- Glick, B. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. Microbiological Research. 169: 0-39.
- Hu, W., Tian, S., Di, Q., Duan, S. y Dai, K. 2018. Effect of exogenous calcium on mesophyll cell ultrastructure, gas exchange, and photosystem ii in tobacco (*Nicotiana tabacum* Linn.) under drought stress. Photosynthetia. 56(4): 1204-1211.
- Jiménez-Gómez, A., García-Estévez, I., García-Fraile, P., Escribano-Bailón, M. y Rivas, R. 2020. Increase in phenolic compounds of *Coriandrum sativum* L. after the application of a *Bacillus halotolerans* biofertilizer. Journal of the Science of Food and Agriculture. 100(6): 2742-2749.
- Karamat, M. y Ahmed, A. 2018 Impact of *Arthrobacter mysorens*, *Kushneria avicenniae*, *Halomonas* spp. and *Bacillus* sp. on *Helianthus annuus* L. for growth enhancement. The Journal of Animal & Plant Sciences, 28(6): 1629-1634.
- Kuan, K. B., Othman, R., Rahim, K. y Shamsuddin, Z. 2016. Plant growth-promoting rhizobacteria inoculation to enhance vegetative growth, nitrogen fixation and nitrogen remobilisation of maize under greenhouse conditions. PLoS ONE. 11(3): e0152478.
- Kumar, P., Dubey, R. y Maheshwari, D. 2012. *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens, Microbiological Research. 167(8): 493-499.
- Labra-Cardón, D., Guerrero-Zúñiga L., Rodríguez T., Montes-Villafán S., Pérez-Jiménez S. y Rodríguez-Dorantes A. 2012. Respuesta de crecimiento y tolerancia a metales pesados de *Cyperus elegans* y *Echinochloa polystachya* inoculadas con una rizobacteria aislada de un suelo contaminado con hidrocarburos derivados del petróleo. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 28(1): 7-16.
- Matsumoto, L., Martínez, A., Avanzi, M., Albino, U., Brasil, C., Saridakis, D., Rampazo, L., Zangaro, W. y Andrade, G. 2005. Interactions among functional groups in the cycling of carbon, nitrogen and phosphorus in the rhizosphere of three successional species of tropical woody trees. Applied Soil Ecology. 28: 57-65.
- Moliner, C., Barros, L., Dias, M., López, V., Langa, E., Ferreira, I., y Gómez-Rincón, C. 2018. Edible flowers of *Tagetes erecta* L. as functional ingredients: phenolic composition, antioxidant and protective effects on *Caenorhabditis elegans*. Nutrients. 10(12): 2002.
- Petrova, I., Petkova, N. e Ivanov, I. 2016. Five edible flowers – valuable source of antioxidants in human nutrition. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research. 8(4): 604-610.
- Pourbabae, A., Bahmani, E., Alikhani, H. & Emami, S. 2016. Promotion of wheat growth under salt stress by halotolerant bacteria containing ACC deaminase. Journal of Agricultural Science and Technology. 18: 855-864.
- Radhakrishnan, R. y Lee, I. J. 2016. Gibberellins producing *Bacillus methylotrophicus* KE2 supports plant growth and enhances nutritional metabolites and food values of lettuce. Plant Physiology and Biochemistry. 109: 181-189.
- Rauber, L., Andrade, A., Friederichs, A., Mafra, A., Baretta, D., da Rosa, M., Heberle Mafra, M. y Correa, J. 2018. Soil physical indicators of management systems in traditional agricultural areas under manure application. Scientia Agricola. 75 (4): 354-359.
- Rolaniya, M., Khandelwal, S., Koodi, S., Sepat, S. y Choudhary, A. 2017. Effect of NPK, biofertilizers and plant spacings on growth and yield of african marigold (*Tagetes erecta* Linn.). Chemical Science Review and Letters. 6(21): 54-58.

- Sadzawka, R., Grez, R., Carrasco, M. y Mora, M. 2004. Métodos de análisis de tejidos vegetales. Comisión de Normalización y Acreditación. Sociedad Chilena de la Ciencia de Suelo. Santiago, Chile.
- Sonmez, F., Alp, S. y Yasar, O. 2017. The effects of humic acid application on the nutrient contents and heavy metals in organs of marigold (*Tagetes erecta* L.). *Gresenius Enviromental Bulletin*. 26(8): 5340-5348.
- Sosa-Pech, M., Ruiz-Sánchez, E., Tun-Suárez, J., Pinzón-López, L. y Reyes-Ramírez, A. (2019). Germinación, crecimiento y producción de glucanasas en *Capsicum chinense* Jacq. Inoculadas con *Bacillus* spp. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*. 6(16): 137-143.
- Wasti, S., Manaa, A., Mimouni, H., Nsairi, A., Ibtissem, M., Gharbi, E. y Ben Ahmed, H. 2016. Exogenous application of calcium silicate improves salt tolerance in two contrasting tomato (*Solanum lycopersicum*) cultivars. *Journal of Plant Nutrition*. 40(5): 673–684.
- Yan, P., Shen, C., Fan, L., Li, X., Zhang, L., Zhang, L. y Han, W. 2018. Tea planting affects soil acidification and nitrogen and phosphorus distribution in soil. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 254: 20–25.