

Bacillus subtilis y *glomus fasciculatum* en la producción sustentable de *chrysanthemum* spp. Cv polaris white

M. RUBÍ-ARRIAGA,^{1*} A. GONZÁLEZ-HUERTA,¹
V. OLALDE-POTUGAL,² DELFINA DE J. PÉREZ-LÓPEZ,¹
RAMÍREZ-DÁVILA J.E,¹ GUTIÉRREZ-RODRÍGUEZ, F.

Resumen

El Estado de México aporta el 44% (6 731 ha) de la superficie establecida con cultivos ornamentales en México y se ubica como líder en esta actividad; el crisantemo (*Chrysanthemum* spp.) se cultiva en el 43.7% de ésta superficie y es el principal cultivo. Para satisfacer la calidad, volumen y continuidad que requiere el mercado, los productores de esta especie desarrollan programas basados en un elevado consumo de productos químicos, como los fertilizantes, que originan serios problemas al ambiente; el uso de biofertilizantes es una alternativa para su sustitución parcial. Para estudiar los efectos de *Bacillus subtilis*, *Glomus fasciculatum* y sus interacciones con la época de inoculación y la dosis de fertilización sobre el crecimiento y la calidad de flor en *Chrysanthemum* cv. Polaris white, en 2015 bajo cubierta plástica se establecieron 36 tratamientos en un diseño completamente al azar, en un arreglo factorial 2x2x3x3. Los tratamientos con ambos simbiontes más 50% de fertilización química incrementaron en 20.6% el diámetro de la flor, en 11% la intensidad del color, en 36% el contenido de fenoles, en 65.8% sólidos solubles, en 11.72% N y 17% K en tallo, y sin fertilizante 48.14% de N en flor, 24% y 25.6% de P en tallo y en flor respectivamente y 16.6% de K en flor. Ambos microorganismos rizosféricos interactuaron positivamente para mejorar la calidad de flor con menos fertilizantes químicos.

Palabras clave: Rizobacterias, micorrizas, calidad de la flor, agricultura sustentable

¹ Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas. Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento (CIEAF). Campus Universitario "El Cerillo". El Cerrillo Piedras Blancas, Municipio de Toluca, Estado de México, km 15.5 carretera Toluca-Ixtlahuaca, C.P. 50200.

² Cinvestav-IPN. Unidad Irapuato. Departamento de Biotecnología y Bioquímica. Laboratorio de Bioquímica Ecológica. Unidad Irapuato km 9.6 Libramiento norte carretera Irapuato-León, Irapuato, Guanajuato. Código Postal 36500.

* Autor para correspondencia: mrubia@uaemex.mx; m_rubi65@yahoo.com.mx Tel. (52 722) 2965518 Ext. 193 o 127

Introducción

México dedica 15 221 hectáreas a la producción de ornamentales, 6 731 ha, equivalentes al 44% de la superficie, se encuentran en el Estado de México por lo que éste ocupa el liderazgo nacional en la producción de flor de corte, y la horticultura ornamental se ha convertido en un detonador de su economía. En esta entidad mexiquense prevalece el cultivo de 19 especies, Crisantemo (*Chrysanthemum* spp.) se ha consolidado como la de mayor importancia al ocupar una superficie sembrada de 2 942.5 ha que representan el 43.7% de la superficie florícola estatal; se producen 15 329 173.73 gruesas con un valor de producción de \$ 2 146 997.860, que superan dos veces la superficie de Gladiolo (*Gladiolus* spp.) y cinco la de Rosa (*Rosa* spp.), ubicadas en segundo y tercer lugar, respectivamente (Anónimo, 2013).

Con el propósito de satisfacer las demandas de calidad, volumen y continuidad que requieren los mercados nacional e internacional, los productores de crisantemo han establecido programas de manejo basados en el uso indiscriminado de fertilizantes, que colateralmente ocasionan degradación en los componentes del sistema (Chang *et al.*, 2010; Rubí *et al.*, 2012a). Ante los problemas al medio, la salud humana y la economía que esto representa, resulta necesario fortalecer el desarrollo sustentable en la producción de ornamentales basado en la búsqueda de alternativas eficientes y económicas que permitan enfrentar un mercado cada día más exigente en el cual los consumidores demandan flores cultivadas de manera adecuada, y donde la nutrición cobra un papel fundamental (Chang *et al.*, 2010).

Una alternativa importante para lograr tal fin es el uso de los hongos micorrizico arbusculares arbusculares (HMA) y las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) (Olalde y Mena, 2009; Jaizme-Vega y Rodríguez-Romero, 2008; Vessey, 2003; Ferrol *et al.*, 2002). Los primeros forman una asociación mutualista al colonizar la raíz de las plantas, lo cual contribuye al abastecimiento de los requerimientos de nutrientes y agua; éstos forman hifas capaces de explorar un mayor volumen de suelo que las raíces mismas (Smith *et al.*, 2011), y se han utilizado para mejorar la producción de un importante número de cultivos ornamentales (Perner *et al.*, 2007; Callejas *et al.*, 2009; Maya Matsubara, 2013).

Entre las rizobacterias destaca *Bacillus subtilis*, una bacteria gram positiva que posee la capacidad de formar esporas y coloniza raíces, por lo que participa activamente en el crecimiento y desarrollo de las plantas al involucrarse en mecanismos de solubilización y asimilación de nutrimentos, entre ellos los fosfatos, en la síntesis de metabolitos y reguladores de crecimiento y también modifica la estructura de la raíz (Cárdenas *et al.*, 2007; Olalde y Mena, 2009), parámetros involucrados en la producción de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

(Mena y Olalde, 2007), Azafrán (*Crocus sativus*) (Sharaf *et al.*, 2008) y crisantemo (*Chrysanthemum* spp.) (Tan, 2005).

Recientes investigaciones han mostrado la utilidad de la inoculación conjunta con *B. subtilis* y *G. fasciculatum* en la producción agrícola (Olalde y Mena, 2009; Main y Franco, 2011) e incluso en ornamentales (Cárdenas *et al.*, 2007; Rubí *et al.*, 2009; 2012a,b) pero es necesario generar mayor conocimiento sobre esta alternativa nutricional para la producción sustentable de cultivos ornamentales sin incrementar los costos económicos y los daños ambientales.

Con base en lo anterior se estableció el presente trabajo, para estudiar los efectos de *Bacillus subtilis*, *Glomus fasciculatum* y sus interacciones con inóculo, época de aplicación y dosis de fertilización en las variables de crecimiento y calidad de flor en *Chrysanthemum* cv. Polaris withe.

Materiales y métodos

Este trabajo se desarrolló de febrero a junio de 2015 bajo condiciones de cubierta plástica en una parcela ubicada en la localidad Loma de Acuitlapilco, en el municipio de Coatepec Harinas, Estado de México, México, localizada a una altitud de 2 400 m, entre 18° 54' Norte y 99° 47' Oeste, con una temperatura promedio de 28 °C durante el día y 10 °C por la noche.

Material biológico

Se utilizaron plantas de *Chrysanthemum* cv Polaris white, provenientes de la empresa Plantamar ubicada en el municipio de Tenancingo, Estado de México; éstas fueron propagadas por enraizamiento de esquejes y tenían una edad aproximada de 2 semanas.

Plantación

El trasplante se realizó en camas de un metro de ancho por 30 m de longitud, previamente preparadas y desinfectadas con Iodomín (Alquilfenox I polietoxietanol-yodo, equivalente a 90 g con 17.5 g de yodo), en dosis de 1 L ha⁻¹, las plantas se colocaron a una distancia de 15 cm y 10 cm entre líneas. El riego se aplicó cada cuatro días.

Inoculación

Ésta se realizó alrededor del cuello de la raíz de cada planta; se utilizaron 2 ml de una suspensión con 1x10⁷ ufc*mL de *Bacillus subtilis* BEB-ISbs (BS-13) (ab-

sorbancia 0.1 a 535 nm) por planta. Se distribuyeron 2 g de inóculo constituido de un suelo limoso con 73 esporas por gramo de *Glomus fasciculatum* y fragmentos de raíz con un 50% de colonización. La inoculación con ambos se efectuó en tres ocasiones; un día, 20 días y 40 días después del trasplante. Ambos inóculos fueron proporcionados por el Laboratorio de Bioquímica Ecológica del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV), del Instituto Politécnico Nacional (IPN), Unidad Irapuato.

Manejo agronómico

A excepción de la inoculación y de la fertilización en los tratamientos correspondientes, el manejo agronómico en las unidades experimentales correspondió al que aplican los productores en esta especie, basado en riegos, control de malezas manual, tutorado, desbotonado y control fitosanitario. Por planta se aplicó el tratamiento de fertilización utilizado tradicionalmente por el productor; 2.5 g de fosfato diamónico (18-46-00), 2.5 g de triple 18 y 2.5 g de 15-5-20 a los 15, 70 y 90 días del trasplante, respectivamente.

VARIABLES EVALUADAS

Variables vegetativas

Número de brotes (NB): se contabilizó en 30 plantas a la quinta semana del trasplante. Altura de planta (cm) (AP): medida en 30 plantas, desde la base del tallo hasta el ápice floral.

Variables de calidad

Diámetro de la inflorescencia (cm) (DF): registrada al cosechar, en 18 unidades experimentales, utilizando un vernier digital mod. CD-6" C Mitutoyo. Peso fresco (g) (PF): con una balanza digital Sartorius i 1800 ésta se registró diariamente en 18 unidades experimentales desde el corte hasta que terminó la vida en florero. Índice de verdor (unidades spa) (SP): con un medidor de clorofila (Chlorophyllmeter SPAD-502 modelo Konica-Minolta) se registraron los datos en tres inflorescencias, el primer y último día que permanecieron en el florero, en las tres primeras hojas (parte apical). Color de la inflorescencia (L, a, b): con un fotolorímetro Chroma Meter CR-400 Modelo Konica-Minolta, cada tercer día se registró una lectura tres veces. Fenoles (mg g^{-1} PF) (F): Se utilizó el método Folin ciocalteu descrito por Waterman y Mole (1994), citado por Barrón-Yáñez *et al.* (2011). Sólidos solubles ($^{\circ}$ Bx) (SS): se molió un gramo de hoja en 10

ml de agua destilada y se realizó por triplicado el análisis con un refractómetro Pocket Refractometer PAL-1 Modelo ATAGO, en una muestra colocada sobre el cristal de refracción, éste se limpió con agua destilada y se secó perfectamente con un papel toalla para tomar la siguiente lectura.

Variables de nutrición

Concentración de N, P, K (ppm): Se lavaron varias veces hojas, tallos e inflorescencias de tres plantas con una solución jabonosa al 2% y se enjuagaron con agua destilada, posteriormente se dejaron escurrir en papel revolución para ser secadas en una estufa de circulación forzada a 60 °C durante 72 hr, cada parte (tallo con hojas e inflorescencias) se maceraron por separado de acuerdo con el método descrito por Alcántar y Sandoval (1999). Posteriormente se realizaron los análisis de Nitrógeno total, fósforo y potasio con los métodos de Kjeldahl, de Vanadato-Molibdato Amarillo y de Emisión de llama-Flamometría, respectivamente (Alcántar y Sandoval, 1999).

Diseño experimental

Este experimento se estableció en un diseño completamente al azar, en un arreglo factorial, 2x2x3x3: el factor A fue *B. subtilis* (50% y 100%), el factor B tuvo a *G. fasciculatum* (50% y 100%), el factor C correspondió a la fertilización química (0, 50 y 100%) y el factor D fueron épocas de inoculación (1, 20 y 40 días después del trasplante) (DDT). Cada uno de los 36 tratamientos tuvo tres repeticiones, cada repetición constó de 32 plantas y una planta fue una unidad experimental. El tratamiento testigo no consideró inoculación ni fertilización. (Cuadro 1).

Para cada variable se realizó un análisis de varianza y las medias de cada factor de estudio fueron comparadas con la prueba de la diferencia mínima significativa (DMS) a un nivel de significancia del 5%. Además se realizó un análisis de componentes principales (ACP), empleando el programa descrito por Sánchez (1995) y aplicado por González *et al.*, (2010) y Rubí *et al.*, (2012a,b). Esta metodología multivariada permite la inspección de una matriz de datos para el cálculo de varianzas y correlaciones aproximadas; los tratamientos se asignaron a las hileras y las variables a las columnas. En una gráfica de biplot se representó simultáneamente en dos dimensiones, el mayor porcentaje de la variación de los datos originales, para determinar visualmente si existieron patrones entre los tratamientos como resultado de los valores de las variables; qué variables separaron los grupos definidos y qué relación existió entre las variables. El ACP se obtuvo con el Sistema para Análisis Estadístico (SAS/IML) y la gráfica del biplot se generó con el programa Microsoft Excel (González *et al.*, 2010; Rubí *et al.*, 2012a,b).

CUADRO 1. *Tratamientos establecidos en campo.*

Trat.	*B. s	**G. f	***F. Q	****E. I	Trat.	*B. s	**G. f	***F. Q	****E. I
1	50	50	SF		19	100	50	SF	
2	50	50	50	1 DDT	20	100	50	50	1 DDT
3	50	50	100		21	100	50	100	
4	50	50	SF		22	100	50	SF	
5	50	50	50	20 DDT	23	100	50	50	20 DDT
6	50	50	100		24	100	50	100	
7	50	50	SF		25	100	50	SF	
8	50	50	50	40 DDT	26	100	50	50	40 DDT
9	50	50	100		27	100	50	100	
10	50	100	SF		28	100	100	SF	
11	50	100	50	1 DDT	29	100	100	50	1 DDT
12	50	100	100		30	100	100	100	
13	50	100	SF		31	100	100	SF	
14	50	100	50	20 DDT	32	100	100	50	20 DDT
15	50	100	100		33	100	100	100	
16	50	100	SF		34	100	100	SF	
17	50	100	50	40 DDT	35	100	100	50	40 DDT
18	50	100	100		36	100	100	100	

*B. s: *B. subtilis*, 1 ml por planta = 50% y 2 ml = 100%, **G. f: *G. fasciculatum*, 1 g por planta como el 50% y de 2 g = 100%, ***F.Q: fertilización química, 1.25 g = 50% y 2.5 g = 100%, SF sin fertilización y ****E.I: épocas de inoculación, 1, 20 y 40 días después del trasplante.

Resultados

Variables vegetativas

En número de brotes hubo diferencias significativas $p \leq 0.05$ (Cuadro 2), entre tratamientos: el tratamiento 100% de *B. subtilis* + 100% de *G. fasciculatum* + 100% de la fertilización química aplicado a los 20 días del trasplante presentó los mejores resultados. En altura de planta también se encontró significancia estadística ($p \leq 0.05$) entre tratamientos, y el mejor resultado se obtuvo con 100% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 100% de fertilización química aplicado

CUADRO 2. Cuadrados medios, significancia estadística de los valores de F, media aritmética y coeficiente de variación (CV) para las variables vegetativas y de esfuerzo reproductivo.

FV	NB	AP	DF	L	A	B	PF	SP	SS	F	NT	FT	PT	NF	FF	PY
TRAT	0.16*	47.8*	39.1**	6.13ns	0.67**	5.4**	6.58**	14.29ns	0.016*	0.054ns	0.055**	59.42**	1735**	0.036**	6.58**	2147*
REP	0.03ns	7.2ns	1.3ns	5.35ns	0.01ns	0.3ns	2.18ns	2.74ns	0.012ns	0.907**	0.002ns	15.6ns	280ns	0.009ns	2.18ns	5.86ns
ERROR	0.94	30.5	12.3	5.18	0.34	2.4	1.85	17.47	0.007	0.057	0.006	14.58	580	0.008	1.85	834
MEDIA	3.28	50.9	106	89.1	-4.68	15.6	15.29	6.98	0.49	1.26	1.35	45.95	446	0.57	15.29	543
C. V. (%)	9.34	10.8	3.2	2.55	-12.62	9.88	8.9	6.74	17.44	18.96	5.97	8.31	5.3	15.52	8.9	5.3

FV= fuente de variación, NB= número de brotes, AP= altura de la planta, DF= diámetro de la inflorescencia, L, A y B= color de la inflorescencia, PF= peso fresco, SP= índice de verdor (SPA), SS= sólidos solubles, F= fenoles, NT= nitrógeno en tallo, FT= fósforo en tallo, PT= potasio en tallo, NF= nitrógeno en inflorescencia, FF= fósforo en inflorescencia, PY= potasio en inflorescencia.

un día después del trasplante; la altura promedio fue de 58.16 cm, y ésta superó en un 25.53% al control (Cuadro 3).

Variables de calidad

En diámetro de la inflorescencia el tratamiento que mejores resultados presentó es el conformado por 100% de la rizobacteria + 100% del HMA + 50% de fertilizante químico, aplicado 20 días después del trasplante (Cuadros 2 y 3); éste tuvo un valor de 11.45 cm y superó en 20.6% al control. En los parámetros (a) (brillantez) y (b) (intensidad) se obtuvo significancia estadística $p \leq 0.05\%$, y los mejores resultados los arrojaron los tratamientos 100% de rizobacteria + 50% del hongo + 100% de fertilización química, al primer día del trasplante y 100% de la rizobacteria + 50% del hongo + 50% de fertilizante químico aplicado un día después del trasplante respectivamente. En el parámetro (L) (luminosidad) no hubo significancia estadística (Cuadros 2 y 3).

En peso fresco de la planta los mejores resultados se encontraron en la aplicación del 50% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 00% de fertilizante químico, aplicados un día posterior al trasplante; el valor promedio fue de 18.0 g, y éste superó al control en 25.8%. Para Índice de verdor (Unidades SPA) destacó la aplicación de 50% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 50% de fertilizante químico, a los 20 días de la plantación, que fue superior en un 14.2% al control. En sólidos solubles los mejores tratamientos tuvieron 100% de *B. subtilis* + 100% de *G. fasciculatum* + 50% de fertilizante aplicados a los 20 días del trasplante y 50% de *B. subtilis* + 100% de *G. fasciculatum* + 50% de fertilizante químico aplicados a los 40 días de la plantación, con un incremento de 65.8% con respecto al control. En fenoles el mejor tratamiento fue 100% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 50% de fertilización química, aplicados a los 20 días de la plantación, con un valor de 36.06% mayor que el control.

Variables de nutrición

En tallo, hubo significancia estadística entre tratamientos (Cuadro 2), para N, P y K: En N con la aplicación del 100% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 50% de fertilizante químico, suministrados a los 20 días de la plantación, se alcanzó la mayor concentración (11.72% superior al testigo. Para fósforo (P) 50% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 00% de fertilizante químico al día siguiente de la plantación y 50% *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 100% de fertilizante químico a los 40 días del trasplante, (24.1% y 22.9% respectivamente) superaron al control. Para potasio (K) 100% de *B. subtilis* + 100% de *G. fasciculatum* + 50% de fertilizante químico aplicados a los 40 días de establecido el experimento mostró los mejores resultados (17.0% más que el control).

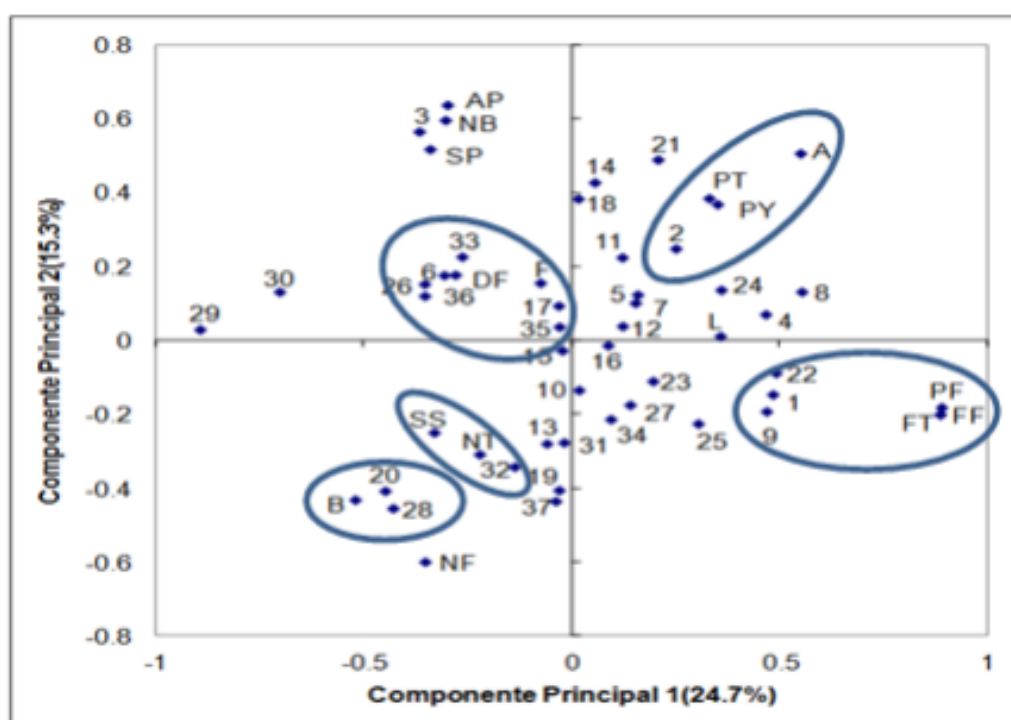
En la inflorescencia 100% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 00% de fertilizante químico, aplicados un día después de la plantación, permitió alcanzar una concentración de 0.80 de N, superior al testigo en 48.14%. En P los mejores resultados se obtuvieron con 50% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 00% de fertilizante químico suministrados el día siguiente del trasplante y con 50% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 100% de fertilizante químico a los 40 días del trasplante, superior al testigo en 25.6%. Para K 50% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 00% de fertilizante químico, aplicados 40 días después del trasplante superó estadísticamente al resto de los tratamientos (16.68% mayor que el control).

Análisis de componentes principales

Esta metodología multivariada permitió verificar que la dispersión de los 37 tratamientos y las 16 variables en los cuatro cuadrantes del biplot sugiere que entre éstos y en sus interrelaciones existen diferencias significativas (figura 1).

El CP1 se explicó principalmente por PF, FF y FT y el CP2 se asoció más estrechamente con AP, NB, SP, A y NF (Figura 1). Las 16 variables evaluadas se clasifican en cuatro grupos, uno para cada cuadrante del biplot. El tratamiento 3

FIGURA 1. Interrelaciones entre 37 tratamientos (*B. subtilis* + *G. fasciculatum* + fertilización química y época de inoculación) y 16 variables registradas en crisantemo cv Polaris White.



CUADRO 3. Comparación de medias de tratamientos con la prueba de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) ($p \leq 0.05$).

No. Trat.	Variables																
	NB	AP	DF	L	A	B	PF	SP	SS	F	NT	FT	PT	NF	FF	PY	
1	3.12d-i	49.29a-f	101.9k	88.96a	—	4.81b-h	16.1a-g	18.0a	61.2a-d	0.45c-f	1.34a-e	1.07p	53.66a	431.3d-j	0.45j-l	18.00a	5.30.3c-i
2	3.29a-i	54.83a-f	105.2f-k	89.73a	—	4.21a-d	14.6e-j	16.0a-f	62.6a-d	0.43d-f	1.19b-e	1.28b-m	48.33a-f	446.0a-i	0.44k	16.00a-f	548.6a-h
3	3.62a-c	55.54a-c	106.3d-k	87.96a	—	4.57b-h	15.5b-i	12.6b-j	64.2a-c	0.38f	1.38a-e	1.31g-m	38.33j-l	461.6a-f	0.41l	12.66b-j	568.0a-d
4	2.92b-i	44.46f	106.2d-k	90.18a	—	4.11a-c	13.6g-j	16.0a-f	62.2a-d	0.43d-f	1.09de	1.20m-o	48.00a-g	465.3a-d	0.47l-i	16.00a-f	572.3a-c
5	3.39a-h	51.67a-f	110.3a-f	89.74a	—	4.63b-h	15.5b-i	16.6a-e	65.9a	0.50b-f	1.12b-e	1.29b-m	50.33a-e	444.0c-i	0.54e-l	16.66a-e	546.0b-h
6	3.29a-i	57.37ab	103.7i-k	89.61a	—	4.88c-h	15.9a-g	13.6g-j	63.6a-c	0.41ef	1.30a-e	1.34f-l	41.00i-l	425.3e-j	0.51f-i	13.66g-j	523.0d-i
7	3.27b-i	47.04c-f	106.9c-k	90.01a	—	4.54a-h	15.2c-j	15.3c-g	64.0a-c	0.46c-f	1.28a-e	1.41c-h	46.66c-i	483.3ab	0.64b-g	15.33c-g	594.3a
8	3.43a-g	53.79a-e	105.0f-k	90.38a	—	4.04a-c	13.9f-j	17.6ab	60.5a-d	0.45c-f	1.10c-e	1.36e-k	53.00ab	452.3a-g	0.50g-l	17.66ab	553.0a-g
9	2.96g-i	49.79a-f	105.6e-k	88.98a	—	5.19e-i	17.1a-d	18.0a	60.7a-d	0.49b-f	1.27a-e	1.07op	54.00a	462.6a-e	0.50g-l	18.00a	568.6a-d
10	3.10d-i	48.75b-f	110.1a-f	87.93a	—	4.80b-h	16.2a-f	15.0d-g	58.8b-d	0.47b-f	1.00e	1.25k-n	45.33d-l	460.0a-f	0.60d-i	15.00d-g	565.6a-e
11	3.41a-h	50.87a-f	106.2d-k	90.03a	—	4.55b-h	15.5b-i	15.3c-g	63.3a-d	0.47b-f	1.33a-e	1.14n-p	47.00b-i	459.6a-f	0.53e-l	15.33c-g	565.3a-e
12	3.60a-d	54.58a-d	104.3g-k	20.26a	—	4.28a-e	14.8d-j	14.6e-h	61.0a-d	0.60ab	1.15b-e	1.40d-i	44.66e-i	431.3d-j	0.67a-e	14.66e-h	574.0a-c
13	2.850i	46.12d-f	103.0j-k	89.54a	—	5.29f-i	17.4abc	14.6e-h	61.5a-d	0.51b-f	1.29a-e	1.26j-n	44.00f-j	466.6a-d	0.65b-f	14.66e-h	574.0a-c
14	3.25b-i	51.66a-f	104.2g-k	89.15a	—	4.31a-e	14.5e-j	14.0f-j	61.8a-d	0.45c-f	1.48a-c	1.52a-d	42.00g-k	480.3a-c	0.26m	14.00f-j	590.6ab
15	3.08e-i	52.21a-f	105.3f-k	89.17a	—	4.62b-h	15.4b-j	15.0d-g	61.6a-d	0.43d-f	1.41a-d	1.37e-k	44.66e-i	428.6d-j	0.55e-l	15.00d-g	527.3c-i
16	3.52a-e	51.37a-f	106.4c-k	89.69a	—	4.74b-h	16.2a-f	15.6b-g	58.4b-d	0.51b-f	1.20b-e	1.14n-p	47.00b-i	439.0d-j	0.52f-i	15.66b-g	540.0c-i
17	3.42a-g	53.75a-e	109.2a-i	88.42a	—	4.83b-h	16.4a-e	16.0a-f	63.8a-c	0.69a	1.25b-e	1.25k-n	48.00a-g	457.3a-f	0.52e-l	16.00a-f	562.3a-e
18	3.73a-b	53.96a-e	107.5b-k	90.06a	—	4.28a-e	14.6e-j	15.0d-g	63.5a-d	0.48b-f	1.231b-e	1.23n	45.00e-i	465.3a-d	0.53e-l	15.00d-g	539.0c-i
19	3.16c-i	44.10f	109.4a-h	88.41a	—	0.82b-h	16.7a-e	15.0d-g	56.8d	0.52b-e	1.23b-e	1.49a-d	45.00e-i	480.3a-c	0.80a	15.00d-g	557.3a-f
20	3.23c-i	52.79a-f	108.2b-j	88.47a	—	5.50b-i	18.2a	14.6e-h	62.6a-d	0.43d-f	1.08de	1.49a-e	43.33f-j	402.6j	0.77ab	14.66e-h	495.3i
21	3.52a-d	58.16a	108.1b-j	89.87a	—	3.59a	12.9j	15.3c-g	60.4a-d	0.42ef	1.41a-d	1.20m-p	46.00d-i	460.6a-f	0.52f-i	15.33c-g	533.3c-i
22	3.16c-i	44.29f	104.9g-k	88.89a	—	4.38a-g	14.9d-j	17.0a-d	60.2a-d	0.40ef	1.26b-e	1.49a-e	50.66a-e	480.0a-c	0.58d-k	17.00a-d	590.3ab

23	3.12d-i	55.50a-c	11.3a-e	90.06a	—	4.57b-h	15.6b-h	17.3a-c	62.3a-d	0.47b-f	1.66a	1.62a	52.33a-c	42.56e-j	0.62c-h	17.33a-c	523.6d-i
24	3.08e-i	54.12a-e	109.1a-i	89.62a	—	4.35a-f	14.7d-j	17.0a-d	64.1a-c	0.42ef	1.22b-e	1.43c-g	51.33a-d	46.63a-d	0.58d-k	17.00a-d	573.3a-c
25	3.31a-i	45.38e-f	103.8b-k	90.06a	—	4.75b-h	16.2a-f	17.0a-d	60.7a-d	0.47b-f	1.41a-d	1.44b-g	50.33a-e	45.80a-f	0.57d-k	17.00a-d	530.0c-i
26	3.39a-h	51.42a-f	108.7b-l	88.99a	—	5.18e-i	17.2a-d	14.0f-j	64.9ab	0.58a-c	1.32a-e	1.35f-i	42.33f-k	46.63a-d	0.48h-l	14.00f-j	540.0c-i
27	3.54a-e	52.46a-f	105.3f-k	89.99a	—	4.75b-h	15.9a-h	17.0a-d	61.2a-d	0.42ef	1.30a-e	1.38e-k	50.66a-e	417.3g-j	0.72a-d	17.00a-d	513.3f-i
28	3.14c-i	44.42f	103.6i-k	89.60a	—	5.93j	16.7a-e	13.6g-j	62.2a-d	0.60ab	1.31a-e	1.51a-d	41.33h-l	44.43b-l	0.76a-c	13.66g-j	546.3b-h
29	3.54a-e	57.16ab	112.7ab	87.49a	—	5.31f-i	18.3a	12.3i-j	64.5ab	0.56a-d	1.20b-e	1.38e-k	36.66k-l	410.0j	0.64b-g	12.33j	504.3hi
30	3.44a-f	53.58a-e	109.8a-g	89.65a	—	5.32g-i	17.8ab	12.0j	62.7a-d	0.51b-f	1.50ab	1.27l-m	35.33l	450.3a-h	0.64b-g	12.00j	553.6a-g
31	2.96g-i	50.62a-f	108.8a-l	89.21a	—	4.44a-g	15.1b-j	15.3c-g	60.9a-d	0.48b-f	1.13b-e	1.53a-c	45.33d-l	42.33f-j	0.71a-d	15.33c-g	520.3e-i
32	2.89i	46.79c-f	114.5a	87.65a	—	4.87b-h	15.9a-g	15.6b-g	61.8a-d	0.68a	1.39a-d	1.34f-i	47.33b-h	413.0h-j	0.59d-l	15.66b-g	508.0g-i
33	3.77a	53.50a-e	107.2b-k	89.29a	—	5.10d-i	16.7a-e	14.6e-h	65.9a	0.50b-f	1.18b-e	1.35f-i	44.00f-j	45.80a-f	0.60d-i	14.66e-h	559.6a-f
34	3.40a-h	46.08d-f	104.9f-k	89.31a	—	3.95ab	13.4h-j	15.3c-g	59.0b-d	0.50b-f	1.16b-e	1.56ab	46.33c-i	40.30j	0.61d-l	15.33c-g	495.6i
35	3.14c-i	49.21a-f	112.1a-c	89.47a	—	4.50a-g	15.4b-j	14.6e-h	60.9a-d	0.58a-c	1.10c-e	1.39d-j	43.33f-j	48.43a	0.54e-l	14.66e-h	559.0a-f
36	3.46a-f	54.17a-e	111.7a-d	81.88b	—	4.15a-d	13.1i-j	14.3f-i	64.7ab	0.44d-f	1.22b-e	1.49a-e	44.00f-j	41.80g-j	0.76a-c	14.33f-i	514.0f-i
37	3.02f-i	46.33d-f	94.9i	89.09a	—	4.97c-i	16.5a-e	14.3f-i	57.7c-d	0.41ef	1.22b-e	1.45b-f	43.66f-j	41.40g-j	0.54e-l	14.33f-i	509.3g-i

NB= número de brotes, AP= altura de la planta, DF= diámetro de la inflorescencia, L, A y B= color de la inflorescencia, PF= peso fresco, SP= índice de verdor (SPA), SS= sólidos solubles, F= fenoles, NT= nitrógeno en tallo, FT= fósforo en tallo, PT= potasio en tallo, NF= nitrógeno en inflorescencia, FF= fósforo en inflorescencia, PY= potasio en inflorescencia.

(50% *B.subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 100% FQ-1 DDT) fue el más sobresaliente en AP, NB y SP. Los tratamientos 2 (50% *B.subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 50% FQ-1 DDT), 8 (50% *B.subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 50% FQ- 40 DDT), 21 (100% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 100% FQ- 1 DDT) y 24 (100% *B.subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 100%FQ – 20 DDT) fueron los mejores en PT, PY y A. Los tratamientos 1 (50% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 00 FQ – 1 DDT), 9 (50% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 100 FQ – 40 DDT) y 22 (100% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 00% FQ - 20 DDT) sobresalieron en PF, FF y FT. Los tratamientos 19 (100% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 00% FQ – 1 DDT) y 32 (100% *B.subtilis* + 100% *G. fasciculatum* + 50% FQ – 20 DDT) exhibieron los mejores resultados para NT y SS y los tratamientos 20 (100% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 50% FQ – 1 DDT) y 28 (100% *B. subtilis* + 100% *G. fasciculatum* + 00% FQ – 1 DDT) fueron los mejores en NF y B.

Discusión

Variables vegetativas

La promoción en la emisión del número de brotes (NB) por planta y en la altura de la planta (AP) en *Chrysanthemum* cv Polaris white que originaron los tratamientos que involucraron a ambos simbiontes adquiere mayor relevancia; éstos están implicados en un incremento en la producción al obtener un mayor número de tallos florales por unidad de superficie con mayor crecimiento, parámetro de primordial valor en la comercialización de esta especie. Estos resultados coinciden con los reportados en *Lilium* por Rubí *et al.* (2009; 2012a,b) y pueden atribuirse al enlace entre el suelo y las plantas que establecen los HMA donde actúan como una extensión de la superficie radical con lo que favorecen los procesos de absorción y movilización de agua, nutrientes y reguladores del crecimiento (Smith y Smith, 2011). Efectos similares en la promoción del crecimiento de la planta por la misma cepa de *B. subtilis* han sido reportados por Cárdenas *et al.* (2007) en *Tagetes erecta* quienes lo atribuyen a la participación de esta rizobacteria en la síntesis de auxinas y secreción de pequeños péptidos de actividad deaminasa ACC (Jiménez, 2004). Hechos afines fueron obtenidos en crisantemo (*Chrysanthemum* spp.) bajo condiciones *in vitro* e *in vivo* con *Bacillus* spp. (Tan, 2005) y en Azafrán (*Crocus sativus*) (Sharaf *et al.*, 2008). En ambos se sugiere que el mecanismo de estimulación del crecimiento no es del todo conocido, pero que diferentes especies de *Bacillus* participan en la producción de ácido giberélico, ácido indol 3 acético y citocininas que pueden ser los agentes estimulantes del crecimiento, aunado a su capacidad para solubilizar fosfatos (Aslantas *et al.*, 2007; Bhromsiri y Bhromsiri, 2010).

Variables de calidad

Aunque la mejora en el crecimiento es importante, la calidad de la inflorescencia en crisantemo cv Polaris white impacta directamente en el precio de venta. De esta manera diámetro de la inflorescencia (DF), peso fresco (PF), color de la inflorescencia (A, B), índice de verdor (unidades SPA) (SP), sólidos solubles (SS) y contenido de fenoles (F) resultan fundamentales para incrementar los ingresos de los floricultores.

La coinoculación con *B. subtilis* y *G. fasciculatum* estimuló todos los factores de calidad de la flor de crisantemo cv Polaris white analizados: los tratamientos 20 (100% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 50% FQ + 1 DDT), 21 (100% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 100% FQ + 1 DDT), 5 (50% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 50% FQ + 20 DDT), 17 (50% *B. subtilis* + 100% *G. fasciculatum* + 50% FQ + 40 DDT), 32 (100% *B. Subtilis* + 100% *G. fasciculatum* + 50 FQ + 20 DDT) y 23 (100% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 50% FQ + 20 DDT), mostraron una participación clara sobre los parámetros de calidad citados. Diámetro de la inflorescencia (DF), peso fresco (PF), color de la inflorescencia (A, B), sólidos solubles (SS) y contenido de fenoles (F) están vinculados a una mayor calidad comercial; Olalde y Mena (2009) coinciden en que la apariencia es el medio para juzgar la calidad de un producto y ésta se caracteriza principalmente por la ausencia de defectos, mayor tamaño y mejores dimensiones en forma y color. En el presente estudio un mayor diámetro de la inflorescencia reflejó un mayor tamaño de este órgano y mayor peso fresco (PF). Esto y la mayor intensidad y brillantez en el color (valores de A y B) de las flores representan mejores oportunidades de ingresar a mercados más exigentes, donde los consumidores demandan flores prácticamente perfectas. Una mayor vida de la flor implica flores con condiciones aceptables para su comercialización por más días y más tiempo en que las flores presentan características adecuadas en el florero del consumidor, lo cual puede estar relacionado por una parte al mayor valor presentado en las unidades SPA que indica un mayor índice de verdor que se relaciona con plantas más verdes con mayor actividad fotosintética, proceso fisiológico en el que los microorganismos utilizados han demostrado una estrecha vinculación (Rubí *et al.*, 2009; 2012a), que se refleja en mejor tamaño, calidad y vida de la flor, a lo que se puede sumar el mayor valor en el contenido de fenoles encontrado; Barrón-Yáñez *et al.* (2011) mencionan que existe una clara relación entre éstos y la actividad antioxidante de los extractos de las plantas, a mayor contenido de compuestos fenólicos mayor actividad antioxidante, y quizás una mayor vida útil de la flor. Lo anterior implica mayores ventajas desde el corte de la flor y comercialización hasta su vida en florero.

Variables de nutrición

La mayor concentración de N, P y K cuantificado en inflorescencia y en tallo estuvo estrechamente relacionado con la participación eficiente de los simbiontes utilizados, individual o colectivamente.

El N es un elemento esencial de los aminoácidos, que forman los péptidos y las proteínas, importantes en la síntesis enzimática y en todo el metabolismo; éste se encuentra también en las purinas y pirimidinas de los ácidos nucleicos, esenciales para la síntesis de proteínas, porfirinas de las clorofilas y en los fitocromos, que son indispensables para la fotosíntesis y la respiración, así como en coenzimas, nucleótidos, amidas y ureidos (Torres-Oliver, 2014; Marschner, 2012). Atul-Nayyar *et al.* (2009) demostraron que las hifas de las micorrizas pueden transportar nitrógeno del suelo a las raíces. El contenido de N observado en el presente estudio puede atribuirse a la participación de los simbiontes, pero diversos factores influyen de manera directa en su asimilación por los HMA como la disponibilidad de agua, su concentración en el suelo (Azcón *et al.*, 2008) y las fuentes utilizadas (NO_3 ó NH_4) (Ngwene *et al.*, 2012).

El P forma parte de los ácidos nucleicos y participa en la síntesis de proteínas, es constituyente del ATP y de muchas coenzimas (NAD y FAD), indispensables en reacciones redox. Este interviene en todos los procesos metabólicos de transferencia de energía. Se localiza, entre muchos otros compuestos, en los fosfolípidos que participan activamente en la formación de las membranas, tanto a nivel de mitocondrias y cloroplastos, como de plasmalema y otros organelos. Es constituyente de nucleoproteínas y participa en la división celular y en la transferencia de características hereditarias por los cromosomas, como constituyente del ADN y del ARN. Se presenta en otros compuestos "ricos en energía" como guanina trifosfato (GTP), uridina trifosfato (UTP) y citosina trifosfato (CTP), que unen procesos endergónicos a procesos exergónicos (intercambio de energía). La fotosíntesis, la glucólisis, el ciclo de Krebs, la β -oxidación, la oxidación directa de la glucosa y la descomposición de los carbohidratos involucran reacciones de fosforilación (Marschner, 2012; Tian *et al.*, 2013). Lo anterior justifica el uso de ambos microorganismos utilizados (Cárdenas *et al.*, 2007; Rubí *et al.*, 2012a,b; Tian *et al.*, 2013).

La relación estrecha que existió entre K con las variables de calidad de flor pone de manifiesto la eficiente participación de los microorganismos utilizados en su absorción, como lo han demostrado Bhromsiri y Bhromsiri (2010) y Rubí *et al.*, (2009; 2012a,b). El K es un activador de enzimas y osmoregulador y es indispensable en la fotosíntesis, debido a que la fosforilación fotosintética y la oxidativa en la respiración lo requieren, promueve una eficiente movilización de fotosintatos desde las hojas, favorece la liberación de las proteínas sintetizadas por los ribosomas, facilita la unión del ARNm con el ribosoma y es esencial

para el uso eficiente del N. El NO_3 es tomado por las raíces de las plantas vía un proceso activo y su absorción puede ser afectada por la influencia del K en la movilización de fotosintatos necesarios para apoyar éste proceso (Zörb *et al.*, 2014; Anschütz *et al.*, 2014).

Análisis de componentes principales

Esta metodología multivariada explicó el 40% de la variación original en los componentes principal 1 (24.7%) y 2 (15.3%). Los tratamientos 29 (100% *B. subtilis* + 100% de *G. fasciculatum* + 50% de FQ, 1DDT) y 8 (50% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 50% FQ, 40DDT) con valores negativos y positivos respectivamente, explicaron la mayor variabilidad asociada al CP1. La variabilidad representada en el CP2 se asoció negativamente con el tratamiento 28 (100% *B. subtilis* + 100% *G. fasciculatum* + 50% FQ, 1 DDT) y positivamente con los tratamientos 3 (50% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 100% FQ, 1 DDT) y 21 (100% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 100% FQ, 1 DDT). En el biplot también se detectó correlación positiva entre potasio en tallo (PT) y potasio en inflorescencia (PY) y color de la inflorescencia (A) con valores positivos en los CP1 y CP2. Diámetro de la inflorescencia (DF), fenoles (F), índice de verdor (SP), número de brotes (NB) y altura de la planta (AP) con correlaciones positivas, presentaron valores negativos en la CP1 y positivos en la CP2. En ambas coordenadas negativas de los CP1 y CP2 sólo se identificó a nitrógeno en inflorescencia (NF), nitrógeno en tallo (NT), sólidos solubles (SS) y color de la inflorescencia (B). Peso fresco (PF), fósforo en tallo (FT) y fósforo en inflorescencia (FF), con correlaciones positivas, tuvieron coordenadas positivas en el CP1 y negativas en el CP2 (Figura 1).

El tratamiento 2 conformado por 50% *B. subtilis* + 50% *G. fasciculatum* + 50% de FQ, aplicados al primer día del trasplante, indica una asociación positiva entre los simbiontes utilizados con las variables potasio en tallo (PT), potasio en inflorescencia (PY) y color de la inflorescencia. Éstos hechos se explican cómo se indicó anteriormente al considerar las funciones que este elemento desarrolla (Anschütz, 2014; Zörb, 2014; Marshner, 2012).

Los tratamientos 17, 26, y 35 (50% de *B. subtilis*, 100% de *G. fasciculatum*, 50% de FQ, a los 40 del trasplante; 100% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 50% de FQ, a los 40 días del trasplante; 100% de *B. subtilis* + 100% de *G. fasciculatum* + 50% de FQ aplicado a los 40 días después del trasplante) marcan una estrecha relación con DF y F. Este hecho resulta de interés pues la participación de los microorganismos favoreció el tamaño de la inflorescencia, parámetro altamente valorado en la comercialización de crisantemo, pero con el uso de 50% menos del fertilizante que normalmente utilizan los productores, lo que se traduce en ahorro de recursos económicos y un menor daño al ambiente. Resulta-

dos que coinciden con los obtenidos por Cárdenas *et al.* (2007) en *Tagetes erecta* y por Rubí *et al.* (2012a,b) en *Lilium* sp, y pueden atribuirse a la participación conjunta de la rizobacteria y el HMA (Barea *et al.*, 2005; Frey *et al.*, 2007; Toldjander *et al.*, 2007; Artursson *et al.*, 2006).

El tratamiento 32 (100% de *B. subtilis* + 100% de *G. fasciculaum* + 50% de FQ, aplicados a los 20 días después del trasplante), presenta una correlación significativa con NT y SS, comportamiento que puede atribuirse a los simbiontes empleados, cuya participación en la asimilación de N ha sido demostrada en trabajos anteriores (Ngwene *et al.*, 2012; Atul-Nayyar *et al.*, 2009; Rubi *et al.*, 2012a,b). Los tratamientos 20 y 28 (100% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum* + 50% de FQ, y 100% de *B. subtilis* + 100% del HMA + 00 de FQ, ambos aplicados 1 día después del trasplante) tienen estrecha interrelación con el color (B) (azul/amarillo).

Además los tratamientos 1 y 22 (50% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum*, aplicados el día 1 después del trasplante y 100% de *B. subtilis* + 50% de *G. fasciculatum*, aplicados a los 20 días del trasplante, ambos sin FQ, estuvieron estrechamente asociados a FT, FF y PF; éste hecho subraya la estrecha participación del fósforo en la conformación de estructuras vegetativas y reproductivas (Tian *et al.*, 2013), cuya solubilización y movilización están vinculadas directamente con los microorganismos utilizados los cuales participan en la regulación de la expresión de genes transportadores de P (Smith *et al.*, 2011; Tian *et al.*, 2013).

Conclusiones

El crecimiento, desarrollo, rendimiento y calidad de flor de crisantemo (*Chrysanthemum* spp) cv Polaris White fue mejor o similar cuando se aplicaron *Bacillus subtilis* y *Glomus fasciculatum* que el de los tratamientos que recibieron la fertilización tradicional. Éste hecho sugiere que la biofertilización puede reemplazar o sustituir parcialmente los sistemas de manejo tradicional a base de fertilizante químico para la producción de flores de corte de esta especie bajo las condiciones de producción directa en suelo predominante en ésta región florícola del territorio mexiquense.

Referencias

- Alcántar G y Sandoval M, 1999, Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación especial 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Chapingo, México. 156 pp.
- Anónimo, 2013. Secretaria de Desarrollo Agropecuario. Información básica sector florícola 2013. SEDAGRO. 15 pp.

- Artursson V, Finlay RD, Jansson JK, 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology* 8(1): 1-10.
- Aslantas R, Çakmakçı R, Şahin F, 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. *Scientia Horticulturae* 111(4): 371-377.
- Anschütz U, Becker D, Shabala S, 2014. Going beyond nutrition: regulation of potassium homeostasis as a common denominator of plant adaptive responses to environment. *Journal of Plant Physiology* 171: 670-687.
- Atul-Nayyar A, Hamel C, Hanson K, Germida J, 2009. The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. *Mycorrhiza* 19(4): 239-246.
- Azcón R, Rodríguez R, Amora-Lazcano E, Ambrosano E, 2008. Uptake and metabolism of nitrate of mycorrhizal plants as affected by water availability and N concentration in soil. *European Journal of Soil Science* 59: 131-138.
- Barea JM, Pozo MJ, Azcón R, Azcón-Aguilar C, 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 56(417): 1761-1778.
- Barrón-Yáñez RM, García-Mateos M del R, Soto-Hernández MR, Colinas-León T, Kite G, 2011. Flavonoides y actividad antioxidante. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34(3): 151-157.
- Bhromsiri C, Bhromsiri A, 2010. The effects of plant growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, development and nutrient uptake of different vetiver ecotypes. *Thai Journal of Agricultural Science* 43(4): 239-249.
- Callejas BA, Castillo AM, Colinas MT, González M del C, Pineda J, Valdez LA, 2009. Sustratos y hongos micorrízicos arbusculares en la producción de nochebuena. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15(1): 57-66.
- Cárdenas A, Estrada A, Olalde V, 2007. Yield and quality enhancement of marigold flower by inoculation with *Bacillus subtilis* and *Glomus fasciculatum*. *Journal of Sustainable Agriculture* 31: 21-31.
- Chang KH, Rung YW, Keng CC, Ting FH, Ren SC, 2010. Effects of chemical and organic fertilizers on the growth, flower quality and nutrient uptake of *Anthurium andreanum*, cultivated for cut flower production. *Scientia Horticulturae* 125(3): 434-441.
- Ferrol N, Barea JM, Azcón-Aguilar C, 2002. Mechanisms of nutrient transport across interfaces in arbuscular mycorrhizas. *Plant and Soil* 244: 231-237.
- Finlay RD, 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59(5): 1115-1126.

- Frey P, Garbaye J, Tarkka M, 2007. The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytol.* 176(1): 22-36.
- González A, Pérez D. de J, Sahagún J, Franco O, Morales EJ, Rubí M, Gutiérrez F, Balbuena A, 2010. Aplicación y comparación de métodos univariados para evaluar la estabilidad en maíces del Valle de Toluca-Atlacomulco, México. *Agronomía Costarricense* 34(2):129-143.
- Gutiérrez DM, Ortiz CA, Mendoza A, 2008. Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. Simposio de Metrología.
- Jaizme-Vega, M. y Rodríguez-Romero A, 2008. Integración de microorganismos benéficos (Hongos Micorrízicos y Bacterias Rizosféricas) en agrosistemas de las Islas Canarias. *Agroecología* 3: 33-39.
- Jiménez MR, 2004. Péptidos secretados por *Bacillus subtilis* que modifican la arquitectura de la raíz de *Arabidopsis thaliana*. Tesis de Doctorado en Biotecnología de Plantas. Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV) del Instituto Politécnico Nacional Unidad Irapuato. México. 85 pp.
- Main G, Franco J, 2011. Efecto de la bacteria *Bacillus subtilis* y el hongo Micorrízico Arbuscular *Glomus fasciculatum* en la fertilización fosfórica en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* ssp. andigena). *Revista Latinoamericana de la Papa* 16(2): 250-269.
- Marschner P, 2012. Mineral nutrition of higher plants. Elsevier Ltd. Third edition. 645pp.
- Maya MA, Matsubara Y, 2013. Influence of arbuscular mycorrhiza on the growth and antioxidative activity in cyclamen under heat stress. *Mycorrhiza* 23(5): 381-390.
- Mena HG, Olalde V, 2007. Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. *Scientia Horticulturae* 113(1): 103-106.
- Ngwene B, Gabriel E, George E, 2012. Influence of different mineral nitrogen sources (NO_3^- -N vs. NH_4^+ -N) on arbuscular mycorrhiza development and N transfer in a *Glomus intraradices*-cowpea symbiosis. *Mycorrhiza* 23(2): 107-117.
- Olalde V, Mena VH, 2009. Rhizosphere microorganisms and their effect on fruit quality. En: Post harvest biology and technology of fruits, vegetables and flowers. Ed. Gopinadhan, P. Dennis, P. Murr, Avtar, K. Anda y Susan Lorie. 482 pp.
- Perner H, Schwarz D, Bruns C, Mäder P, George E, 2007. Effect of arbuscular mycorrhizal colonization and two levels of compost supply on nutrient uptake and flowering of pelargonium plants. *Mycorrhiza* 17: 469-474.
- Rubí M, González A, Castillo AM, Olalde V, Reyes BG, Aguilera LI, 2009. Res-

- puesta de *ilium* sp. al fósforo y su relación con *Glomus fasciculatum* y *Bacillus subtilis*. Revista Internacional de Botánica Experimental 78: 91-100.
- Rubí M, González A, Olalde V, Reyes BG, Castillo AM, Pérez D de J, Aguilera LI, 2012a. Interrelación entre fósforo, *Bacillus subtilis* y *Glomus fasciculatum* con la calidad en *Lilium*. Revista Internacional de Botánica Experimental 81: 59-68.
- Rubí M, González A, Olalde V, Reyes BG, Castillo AM, Pérez D de J, Aguilera LI, 2012b. Contribución de fósforo al mejoramiento de calidad en *Lilium* y la relación con *Glomus fasciculatum* y *Bacillus subtilis*. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 3(1): 125-139.
- Sánchez GJ, 1995. El análisis biplot en clasificación. Revista Fitotecnia Mexicana 18: 188-203.
- Sharaf M, Elkholy S, Fernández JA, Junge H, Cheetham R, Guardiola J, Weathers P, 2008. *Bacillus subtilis* FZB24 affects flower quantity and quality of saffron (*Crocus sativus*). Planta medica 74(10): 1316-1320.
- Smith SE, Smith FA, 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. Annu Rev Plant Biol 62: 227-250.
- Smith SE, Jakobsen I, Gronlund M, Smith FA, 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. Plant Physiology 156(3): 1050-1057.
- Tan D, 2005. Positive effects of *Bacillus* spp. on the growth of *Chrysanthemum* spp. in vitro and ex vitro. Propagation of Ornamental Plants 5(3): 146-150.
- Tian H, Drijber RA, Li X, Miller DN, Wienhold BJ, 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi differ in their ability to regulate the expression of phosphate transporters in maize (*Zea mays* L.). Mycorrhiza 23(6): 507-514.
- Toljander JF, Lindahl BD, Paul LR, Elfstrand M, Finlay RD, 2007. Influence of arbuscular mycorrhizal mycelial exudates on soil bacterial growth and community structure. FEMS Microbiol Ecol 61(2): 295-304.
- Torres-Olivar V, Villegas-Torres OG, Domínguez-Patiño ML, Sotelo-Nava H, Rodríguez-Martínez A, Melgoza-Alemán RM, Valdez-Aguilar LA, Alia-Tejacal I, 2014. Role of Nitrogen and Nutrients in Crop Nutrition. Journal of Agricultural Science and Technology 4: 29-37.
- Vessey J.K, 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil 255: 571-586.
- Zörb C, Senbayram M, Peiter E, 2014. Potassium in agriculture - Status and perspectives. Journal of Plant Physiology 171: 656-669.