TERRA LATINOAMERICANA



Influencia de Biofertilizantes en el Desarrollo y Composición Mineral del Brócoli (*Brassica oleracea* var. italica) Influence of Biofertilizers on the Development and Mineral Composition of Broccoli (*Brassica oleracea* var. italica)

Raul Alejandro Ramos-Salazar¹⁰, Rosalinda Mendoza-Villarreal¹⁰, Valentín Robledo-Torres¹⁰, Henry López-López²⁰ y Alberto Sandoval-Rangel^{1‡0}

- ¹ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista. 25315, Saltillo, Coahuila, México; (R.A.R.S.), (R.M.V.), (V.R.T.), (A.S.R.).
- $\ ^{\ddagger} Corresponding \ author: \ as and ovalr 16@gmail.com$
- ² Universidad Autónoma de Baja California. Carretera a Delta s/n, Ejido Nuevo León. 21705, Mexicali, Baja California, México; (H.L.L.).

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo evaluar el impacto de diferentes biofertilizantes en el cultivo de brócoli, durante el ciclo otoño-invierno 2022-2023, en Saltillo, Coahuila, México. Se probaron tres mezclas de Bacillus spp. y lixiviado de humus de lombricomposta en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, cada una conformada por cinco plantas. Se analizaron variables como biomasa fresca y seca, diámetro de tallo, humedad de la inflorescencia, contenido mineral de macro y micronutrientes en raíz, inflorescencia y follaje, así como glucosinolatos y estimación de clorofila. Los resultados mostraron que la aplicación de biofertilizantes afectó significativamente la humedad de la inflorescencia y favoreció la acumulación de nutrientes, con diferencias destacadas en nitrógeno, fósforo, calcio y potasio. Además, el tratamiento con lixiviado de humus de lombricomposta incrementó el contenido de clorofila y se registraron valores elevados de glucosinolatos, aunque con alta variabilidad. Estos hallazgos respaldan el potencial de los biofertilizantes como una alternativa viable para mejorar la calidad nutricional y funcional del brócoli, particularmente en lo relacionado con la acumulación de nutrientes y compuestos bioactivos, lo que los posiciona como una opción prometedora frente a los fertilizantes convencionales en sistemas agrícolas sostenibles.

Palabras clave: Bacillus spp., glucosinolatos, lixiviado de humus de lombricomposta, RPCV.

SUMMARY

This study aimed to evaluate the impact of different biofertilizers on broccoli cultivation during the autumn-winter 2022-2023 cycle in Saltillo, Coahuila, Mexico. Three combinations of Bacillus spp. and vermicompost leachate were tested using a randomized complete block design with four replicates, each consisting of five plants. The variables evaluated included fresh and dry biomass, stem diameter, inflorescence moisture, and the mineral content of macro-and micronutrients in the roots, inflorescence, and foliage, as well as glucosinolate concentration and chlorophyll estimation. The application of biofertilizers significantly influenced inflorescence moisture and promoted nutrient accumulation, with notable differences in nitrogen, phosphorus, calcium, and potassium. Moreover, the treatment with vermicompost leachate increased chlorophyll content, and high levels of glucosinolates were observed, although with considerable variability. These findings highlight the potential of biofertilizers as a viable alternative to improve the nutritional and functional quality of broccoli, particularly regarding nutrient accumulation and bioactive compound content, positioning them as a promising option to conventional fertilizers in sustainable agricultural systems.

Index words: Bacillus spp., glucosinolates, vermicompost leachate, PGPR.



Cita recomendada:

Ramos-Salazar, R. A., Mendoza-Villarreal, R., Robledo-Torres, V., López-López, H., & Sandoval-Rangel, A. (2025). Influencia de Biofertilizantes en el Desarrollo y Composición Mineral del Brócoli (*Brassica oleracea* var. italica). *Terra Latinoamericana*, 43, 1-18. e2227. https://doi.org/10.28940/terra. v43i.2227

Recibido: 7 de febrero de 2025. Aceptado: 20 de abril de 2025. Artículo. Volumen 43. Octubre de 2025.

Editor de Sección: Dra. Dámaris Leopoldina Ojeda-Barrios

Editor Técnico: Dr. Fermín Pascual Ramírez



Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY NC ND) License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

INTRODUCCIÓN

La agricultura moderna es fundamental para garantizar la seguridad alimentaria de una población global en constante crecimiento (Mariscal-Méndez, Ramírez-Miranda y Pérez-Sánchez, 2017). Esto ha llevado a una intensificación agrícola dependiente del uso masivo de fertilizantes químicos sintéticos, para incrementar el rendimiento de los cultivos en el corto plazo (Guo, Li, Cao, Cao y Huang, 2021). Sin embargo, este modelo de producción tiene consecuencias adversas que comprometen la sostenibilidad a largo plazo de los sistemas agrícolas. Entre ellas, se encuentran la degradación de los suelos (Pahalvi, Rafiya, Rashid, Nisar y Kamili, 2021), la contaminación de cuerpos de agua (Srivastav, 2020), la pérdida de biodiversidad (Barros-Rodríguez, Rangseekaew, Lasudee, Pathom-Aree y Manzanera, 2021) y la exacerbación de los efectos del cambio climático (Wu et al., 2021).

La aplicación prolongada de insumos químicos junto con la carencia de materia orgánica, deteriora la estructura y reduce la capacidad de retención de agua y nutrientes en los suelos agrícolas (Bai *et al.*, 2020; Lal, 2020). Esto provoca un círculo vicioso en el que, ante la pérdida de capacidad productiva, se requieren dosis cada vez mayores de fertilizantes para mantener los niveles de producción, lo que intensifica la degradación.

La escorrentía y lixiviación de nutrientes, especialmente nitratos y fosfatos, ha derivado en procesos de eutrofización en cuerpos de agua, alteran ecosistemas acuáticos y afectan la salud pública (Brush et al., 2020; Payen, Cosme y Eliot, 2021). A esto se añade la pérdida de biodiversidad provocada por prácticas de monocultivo intensivo, que reduce la resiliencia de los agroecosistemas frente a plagas y enfermedades (Raven y Wagner, 2021; Jote, 2023).

La fabricación y uso de fertilizantes químicos, especialmente nitrogenados, es una fuente significativa de emisiones de gases de efecto invernadero debido a su dependencia del proceso Haber-Bosch y la liberación de óxido nitroso en el suelo (Kudeyarov, 2020; Rothenberg, 2023).

Estas problemáticas obligan a buscar alternativas sostenibles que mitiguen el impacto ambiental sin comprometer la productividad agrícola. Una de las más prometedoras es el uso de biofertilizantes, insumos biológicos capaces de mejorar la nutrición vegetal y la calidad del suelo mediante la acción de microorganismos benéficos o compuestos orgánicos estabilizados (Dzvene y Chiduza, 2024). Dentro de esta categoría destacan las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) y los lixiviados de humus de lombricomposta (LHL), los cuales han demostrado ser herramientas eficaces para fortalecer los cultivos sin recurrir a fertilizantes de síntesis.

Las RPCV se caracterizan por establecer relaciones beneficiosas con las raíces, promoviendo la absorción de nutrientes, el crecimiento radicular y la tolerancia al estrés biótico y abiótico (Mishra, Singh, Singh y Verna, 2019). Entre ellas, el género *Bacillus* ha sido ampliamente estudiado por su versatilidad funcional: estas bacterias pueden solubilizar fósforo (Gómez-Ramírez y Uribe-Vélez, 2021), fijar nitrógeno atmosférico (Wickramasinghe, Girija, Gopal y Kesevan, 2021), producir fitohormonas como auxinas y giberelinas (Kang *et al.*, 2019), así como sintetizar sideróforos que mejoran la disponibilidad de hierro en el entorno radicular (Manasa *et al.*, 2021). Además, su capacidad para inducir resistencia sistémica en las plantas contribuye a una mayor resiliencia frente a condiciones adversas (Meena *et al.*, 2020), incrementa el peso de fruto, rendimiento, cantidad de fenoles y vitamina C en frutos de *Capsicum annuum* L (Luna-Ortega *et al.*, 2025). Estas propiedades convierten a *Bacillus* spp., en un biofertilizante ideal para cultivos de alto valor, al potenciar tanto su rendimiento como su calidad nutricional (Acurio-Vásconez, *et al.*, 2020; Mohamed *et al.*, 2021; Demir, Sönmez, Uçan y Akgün, 2023).

Los LHL aportan al suelo una fuente rica y equilibrada de materia orgánica, microorganismos benéficos y nutrientes de liberación lenta. Este biofertilizante, obtenido mediante la transformación biológica de residuos orgánicos por lombrices, mejora la estructura del suelo, su capacidad de retención de agua y su actividad biológica (Alkobaisy, Abdel-Ghani, Mutlag y Lafi, 2021; Arosha y Sarvananda, 2022). Su uso favorece el desarrollo radicular y contribuye a una fertilidad más estable en el tiempo.

La aplicación de LHL y RPCV no solo puede generar efectos sobre el crecimiento y la nutrición de las plantas, sino también fortalecer el equilibrio ecológico del sistema agrícola. Entre los cultivos que pueden beneficiarse del uso de biofertilizantes, el brócoli (*Brassica oleracea* var. italica) destaca por su importancia nutricional, agronómica y económica. Este cultivo resalta por su alto contenido en vitaminas (A, B6, B12, C, D, E y K), tiamina, riboflavina, niacina, ácido fólico y compuestos fitoquímicos como polifenoles, flavonoides, carotenoides, sulforafano y glucosinolatos (Nagraj, Chouksey, Jaiswal y Jaiswal, 2020). Estos metabolitos secundarios le confieren propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antiinflamatorias, y se asocian con la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles (Liebman y Le, 2021).

Desde el punto de vista agronómico, el brócoli desempeña un papel estratégico en los sistemas de rotación de cultivos, al contribuir a la ruptura de ciclos de plagas y enfermedades y mejorar la estructura del suelo cuando se maneja adecuadamente (Zavatta et al., 2021; Liu et al., 2023). Como la mayoría de las crucíferas, sintetiza y acumula una elevada concentración de glucosinolatos en sus tejidos, especialmente en las hojas (Yan et al., 2023).

Al descomponerse, generan metabolitos volátiles como isotiocianatos, sulfhidrilos, nitrilos y tiocianatos, con propiedades biofumigantes (Dubey et al., 2021). Esta característica hace que los residuos del cultivo, que pueden representar entre el 60 y 75% de la biomasa total cosechada (Petkowicz y Williams, 2020), sean una excelente fuente de materia orgánica para enriquecer el suelo y contribuir a su desinfección biológica (Bermejo, De la Fuente, Morales, Mendoza y Rangel, 2021). Además, su ciclo de cultivo relativamente corto, sus altas demandas nutricionales y su respuesta sensible a la fertilización lo convierten en un modelo experimental adecuado para evaluar el efecto de biofertilizantes sobre variables productivas, fisiológicas y nutracéuticas.

Diversos estudios han evaluado el efecto de biofertilizantes sobre el cultivo de brócoli, obteniendo resultados alentadores en variables fisiológicas, agronómicas y de calidad nutricional. Saste, Danawale, Mane, Khedkar y Kale (2024) demostraron que la aplicación de consorcios microbianos compuestos por *Azotobacter* y *Trichoderma*, en combinación con fertirrigación, incrementó significativamente el rendimiento y la rentabilidad del cultivo. De manera similar, Naorem et al. (2024) reportaron mejoras en biomasa, contenido nutricional y calidad de la inflorescencia al emplear insumos orgánicos concentrados junto con RCPV como *Azotobacter* y *Azospirillum*. En la misma línea, Saini et al. (2024) observaron aumentos en altura de planta, área foliar y diámetro del tallo al combinar estas bacterias con una fertilización química reducida al 50%, mientras que Singh y Sharma (2024) registraron incrementos en número de hojas, peso fresco y diámetro de cabeza utilizando bacterias solubilizadoras de fósforo (P). Asimismo, Alkobaisy et al. (2021) demostraron que el uso de lombricomposta y su extracto líquido mejora significativamente el crecimiento, rendimiento y calidad del brócoli, además de optimizar diversas propiedades físico-químicas del suelo. Sin embargo, persiste una brecha en la literatura respecto a estudios que analicen de manera conjunta variables de desarrollo, composición mineral y metabolitos secundarios como los glucosinolatos.

Ante esta necesidad, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el impacto de la aplicación de tres mezclas de RPCV y LHL sobre distintos aspectos del cultivo de brócoli. Se analizaron parámetros como el desarrollo, la calidad, y el contenido de minerales esenciales (macronutrientes y micronutrientes) en los distintos órganos de la planta, así como la concentración de glucosinolatos en el tejido foliar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio del Estudio

El estudio se llevó a cabo en condiciones de campo abierto, en los campos experimentales del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México (25° 21′ 22.52″ N, 101° 2′ 9.88″ O; 1760 m de altitud), durante el ciclo otoño-invierno 2022-2023. La zona presenta un clima templado semiseco, clasificado como Cfb según Köppen-Geiger, con una temperatura media anual de 17 °C y una precipitación pluvial promedio de 481 mm. El suelo del sitio experimental es de tipo calcáreo, con textura franca y 3.2% de materia orgánica. Presenta un punto de saturación de 43%, capacidad de campo de 22.9% y densidad aparente de 1.13 g cm⁻³. El contenido de carbonatos totales fue de 55.8%, con un pH de 8.07 y conductividad eléctrica (CE) de 6.93 dS m⁻¹. La saturación de bases fue de 70.6%, distribuida en: calcio (Ca) 18.5 mEq 100 g⁻¹, magnesio (Mg) 3.64 mEq 100 g⁻¹, potasio (K) 1.08 mEq 100 g⁻¹ y sodio (Na) 2.95 mEq 100 g⁻¹. Para el establecimiento del experimento, se sembraron semillas de *brócoli* var. Avenger (Sakata Seed America, 2023), el 27 de octubre de 2022, en charolas de poliestireno de 338 cavidades, empleando turba como sustrato. El trasplante se realizó 30 días después de la siembra, a doble hilera, con una separación entre plantas e hileras de 0.3 m, sobre ocho camas de cultivo acolchadas de 40 m de largo y 1.6 m de separación entre camas, con una densidad de plantación de 4.16 plantas por metro lineal.

Tratamientos Evaluados

Se evaluaron tres mezclas de RCPV, un LHL producido con estiércol de equinos y como control un fertilizante de liberación controlada (Cuadro 1).

El testigo consistió en la aplicación de Blaukorn° de la casa comercial CompoExpert, un fertilizante granular de liberación controlada. Este producto contiene 12% de nitrógeno total (5% nítrico y 7% amoniacal), 8% de pentóxido de fósforo (P_2O_5), 16% de óxido de potasio (K_2O), 3% de óxido de magnesio (MgO), 9% de azufre (S), así como micronutrientes: boro (B; 0.02%), hierro (Fe; 0.06%) y zinc (Zn; 0.01%).

Cuadro 1. Tratamientos de biofertilizantes utilizados, dosis y abreviaciones. Table 1. Biofertilizer treatments used, doses, and abbreviations.

Tratamientos	Dosis	Abreviación	
Testigo BlauKorn de CompoExpert®	250 kg ha ⁻¹	T	
Bacillus sp. + B. Cereus	50 L ha-1 [1 × 107 UFC ml ⁻¹]	BS + BC	
Bacillus sp. + B. Licheniformis	50 L ha-1 [1 × 107 UFC ml ⁻¹]	BS + BL	
B. Cereus + B. Licheniformis	50 L ha-1 [1 × 107 UFC ml ⁻¹]	BC + BL	
Lixiviado de humus de lombricomposta	50 L ha ⁻¹	LHL	

Las cepas bacterianas utilizadas fueron previamente aisladas a partir de suelo rizosférico de tomatillo silvestre recolectado en el estado de Coahuila, México. Se seleccionaron tres cepas debido a su alta solubilización de P y Ca. La identificación molecular de las cepas seleccionadas se realizó mediante extracción de ADN genómico utilizando un kit comercial de Promega, seguida de amplificación por PCR utilizando la mezcla GoTaq Green Master Mix 2X (Promega, USA) con los iniciadores PF27 y PR1429. Los productos amplificados se enviaron al Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO, CINVESTAV) para su secuenciación e identificación (Ramos-Salazar, Mendoza, Robledo y Hernández, 2022).

El tratamiento con LHL consistió en un lixiviado acuoso elaborado a partir de estiércol de equinos, proporcionado por un productor local de la comunidad de Rincón de los Pastores, Saltillo, Coahuila. Para la caracterización del extracto, se determinó su contenido de humedad mediante deshidratación térmica en estufa a 80 °C hasta peso constante. La materia seca se calcinó a 600 °C durante 4 h en una mufla Thermo Scientific Lindberg/Blue. Las cenizas obtenidas se trataron con 5 mL de HCl al 20%, completando el volumen a 50 mL con agua desionizada. La solución resultante se utilizó para la cuantificación de K, Ca, Mg, Fe, Zn, Na, cobre (Cu) y manganeso (Mn) mediante espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) en un equipo Thermo Scientific iCAP 7400 Duo (USA).

Cada tratamiento se evaluó en cuatro repeticiones con cinco plantas por repetición. Los tratamientos se aplicaron al cuello de la planta o "Drench", una sola vez, una semana después del trasplante. En campo, los tratamientos se colocaron en un diseño experimental de bloques completos al azar (BCA), siendo cada bloque dos camas de cultivo de 40 m. Para asegurar una nutrición basal uniforme entre tratamientos y evitar deficiencias, se aplicó una solución nutritiva tipo Hoagland y Arnon (1938) al 50% vía fertirriego. Esto para poder identificar con mayor claridad los efectos específicos de las RPCV y del LHL sobre la absorción de nutrientes y el desarrollo de las plantas (Naorem et al., 2024; Saini et al., 2024).

Variables Agronómicas

La cosecha se realizó el 2 de marzo de 2023, cuando más del 50% de las plantas presentaron inflorescencias compactas, uniformidad de los botones florales y sin apertura floral. Las variables agronómicas evaluadas incluyeron la biomasa fresca foliar y de la inflorescencia y se midieron con balanza Vinson, modelo VIN-5, diámetro de tallo con un vernier Hisemy, modelo H7-MX028, y la circunferencia de la inflorescencia con una cinta métrica. La cantidad de unidades SPAD se midió con un clorofilómetro MaquiGra, modelo B089YR5X3P, y el número de hojas se contó manualmente. El área foliar se determinó utilizando la aplicación Petiole (Petiole LTD, 2019; Petrovska, Bugmann, Hobi, Ghosh y Brang, 2022). Para calcular el área foliar total, se multiplicó el área estimada de una hoja por el doble del número de hojas, considerando que tanto la superficie adaxial como la abaxial participan en el proceso fotosintético, de acuerdo con lo sugerido por Yang et al. (2025), quienes destacan el rol funcional activo de ambas caras en la captura de luz.

Análisis Mineral y Contenido de Glucosinolatos

Para el análisis de contenido mineral, se recolectaron cinco plantas por cada unidad experimental, las cuales se secaron al sol, se molieron a una granulometría de 1 mm y homogeneizaron. La concentración de Ca, Mg, K, Fe y Cu se determinó mediante espectrofotometría de absorción atómica (GBC Xplor AA) con llama de aireacetileno. El P se cuantificó mediante espectrofotometría UV-VIS (Biomate V7-07) a 650 nm, y el nitrógeno (N) se determinó utilizando el método Micro-Kjeldahl (Sadzawka et al., 2007).

La cuantificación de glucosinolatos totales se realizó mediante el método colorimétrico basado en degradación alcalina y reacción con ferricianuro, con modificaciones al protocolo propuesto por Jezek, Haggett, Atkinson y Rawson (1999). Se utilizó como estándar la sinigrina, y los resultados se expresaron como miligramos equivalentes por kilogramo de materia seca (mg eq. Sin kg-1). Se utilizaron hojas de cinco plantas por unidad experimental, se liofilizaron y se homogeneizaron. Para la extracción, se pesaron 0.5 g de tejido, que se mezcló con 7.5 mL de metanol al 70% (relación 1:15 p/v). La mezcla se incubó en baño maría a 70 °C durante 10 min con agitación ocasional y posteriormente se centrifugó a 6,000 rpm durante 10 min. El sobrenadante fue recolectado y evaporado a sequedad en un rotavapor a 40 °C. Al residuo seco se le adicionaron 700 μL de tampón acetato 0.2 M (pH 4.2), incubando a temperatura ambiente con agitación durante 15 min. Posteriormente se agregaron 100 μL de acetato de plomo y 100 μL de cloruro de bario 0.5 M, agitando vigorosamente en vórtex. Luego se incorporaron 49 mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP) y se incubó por 10 min a temperatura ambiente. Se añadieron 100 µL de sulfato de sodio 2 M y se centrifugó a 13 000 rpm durante 5 min. Del sobrenadante se tomaron 200 µL y se mezclaron con 200 µL de NaOH 2 M, incubando durante 30 min a temperatura ambiente para permitir la degradación alcalina de los glucosinolatos. Luego se adicionaron 31 µL de HCl concentrado, y la mezcla se centrifugó nuevamente a 4000 rpm por 10 min. Para la lectura espectrofotométrica, se tomaron 100 µL del sobrenadante y se mezclaron con 100 µL de una solución de ferrocianuro (2 mM) preparada en tampón fosfato 0.2 M (pH 7.0). La absorbancia se midió a 420 nm en un intervalo no mayor a 15 s después de la mezcla, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis (Biomate V7-07).

Análisis Estadístico

Se realizó una prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para todas las variables experimentales. Las variables agronómicas, el contenido de glucosinolatos y las unidades SPAD mostraron una distribución normal, por lo que se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño de BCA. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey ($p \le 0.05$).

En el caso del contenido mineral, los datos no cumplieron con el supuesto de normalidad. Por ello, se estandarizaron mediante transformación Z-score, utilizando la ecuación:

$$Z = \frac{X - \mu}{\sigma} \tag{1}$$

Donde X representa el valor original, μ la media de la variable y σ la desviación estándar.

Posteriormente, se aplicó un diseño de parcelas divididas en BCA, considerando como parcela mayor el órgano vegetal (inflorescencia, foliar o raíz) y como parcela menor el tratamiento biofertilizante. Esta estructura jerárquica permitió analizar tanto los efectos principales como la interacción entre órgano y tratamiento, relevante para evaluar la redistribución diferencial de nutrientes en función del órgano y la fuente de fertilización. Finalmente, las comparaciones de medias también se realizaron mediante la prueba de Tukey ($p \le 0.05$).

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software InfoStat versión 2018 (Di Rienzo et al., 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del LHL

El LHL presentó un 14.6% de materia seca, lo que indica una alta proporción de sólidos en relación con su fase líquida. En el Cuadro 2 se muestran las concentraciones de K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn y Na, expresadas en mg kg⁻¹ de materia seca y mg L⁻¹ de LHL.

Al comparar este perfil con lo reportado por otros autores, como Čabilovski et al. (2023), se observa que el LHL obtenido en este estudio presenta concentraciones más elevadas de ciertos macronutrientes, particularmente K y Ca. Estas diferencias se atribuyen al tipo de sustrato empleado y al método de obtención del LHL (Tejada, Gonzalez, Hernandez, y Garcia, 2008; Masondo et al., 2016). En contraste, las concentraciones de algunos micronutrientes como Fe, Cu y Mn fueron ligeramente inferiores, aunque se mantienen en niveles funcionales para uso agrícola (Yatoo, Bhat, Ali, Baba y Zaheen, 2022). El contenido de Zn fue similar al descrito en estudios previos, lo cual refuerza la consistencia del análisis. En conjunto, estos resultados confirman que el LHL posee una composición adecuada para su aplicación como fuente complementaria de nutrientes en sistemas de producción vegetal.

Cuadro 2. Composición mineral del lixiviado de humus de lombricomposta con base en materia seca (mg kg $^{-1}$) y en solución (mg L $^{-1}$).

Table 2. Mineral composition of vermicompost leachate expressed on a dry matter basis (mg kg⁻¹) and in liquid phase (mg L⁻¹).

Elemento	Materia Seca		
	mg kg ⁻¹	mg L ⁻¹	
K	18435.50	2673.15	
Ca	1291.50	187.27	
Mg	343.00	49.74	
Fe	154.06	22.34	
Cu	5.66	0.82	
Zn	20.57	2.98	
Mn	4.54	0.66	
Na	18.21	2.64	

K = potasio; Ca = calcio; Ca = magnesio; Ca = mag

Variables Agronómicas

La aplicación de biofertilizantes afectó el contenido de humedad de la inflorescencia (Cuadro 3). El tratamiento BS + BC registró la humedad más baja con un valor 5.11% inferior al testigo, mientras que los otros tratamientos no mostraron diferencias significativas entre sí.

Los resultados obtenidos indican que la aplicación de los biofertilizantes evaluados no tuvo un impacto significativo en la biomasa fresca y seca de la inflorescencia de brócoli, así como en los diámetros. Este comportamiento está relacionado con la naturaleza de los biofertilizantes utilizados, los cuales, si bien han demostrado promover la solubilización de nutrientes como P y K mediante la producción de ácidos orgánicos y enzimas específicas, no siempre generan incrementos inmediatos en biomasa bajo condiciones de fertilidad media a alta (Dhayalan y Karuppasamy, 2021; Demir et al., 2023). La ausencia de una respuesta considerable en estas variables se debe a que la fertilidad del suelo en todos los tratamientos fue suficiente para cubrir las necesidades nutricionales básicas del cultivo, incluyendo el tratamiento testigo.

Cuadro 3. Efecto de diferentes biofertilizantes en la biomasa fresca y seca, humedad y diámetro de la inflorescencia y diámetro de tallo de brócoli.

Table 3. Effect of different biofertilizers on the fresh and dry biomass, moisture content, and inflorescence diameter, as well as stem diameter, of broccoli.

Tratamientos	Inflorescencia		Tallo		
	Biomasa fresca	Biomasa seca	Humedad	Diámetro	Diámetro
	<u>-</u>	1	%	Cr	n
Т	599.59 ± 71.30	88.75 ± 11.28	85.17 ± 1.07 a	16.68 ± 0.41	3.61 ± 0.12
BS + BC	526.08 ± 40.37	102.12 ± 9.43	80.82 ± 2.26 b	16.52 ± 0.29	3.51 ± 0.14
BS + BL	615.88 ± 79.85	96.98 ± 12.41	84.06 ± 0.37 a	16.65 ± 0.25	3.57 ± 0.09
BC + BL	569.28 ± 43.61	91.95 ± 5.80	83.77 ± 0.37 a	16.56 ± 0.32	3.52 ± 0.08
LHL	601.18 ± 40.89	92.11 ± 10.71	84.68 ± 0.97 a	16.86 ± 0.60	3.76 ± 0.17
Tukey	ns	ns	0.0020	ns	ns

[†] Medias con la misma letra dentro de columnas son iguales estadísticamente ($p \le 0.05$). ns = no significancia; T = testigo; BS = *Bacillus* sp.; BC = *Bacillus* cereus; BL = *Bacillus licheniformis*; LHL = lixiviado de humus de lombricomposta.

[†] Means with the same letter within columns are statistically equal ($\dot{p} \le 0.05$). ns = not significant; T = control; BS = Bacillus sp.; BC = Bacillus cereus; BL = Bacillus licheniformis; LHL = vermicompost leachate.

En contraste, la humedad de la inflorescencia mostró diferencias significativas entre los tratamientos, lo cual refleja un efecto modulador de los biofertilizantes sobre la fisiología de la planta. El tratamiento BS + BC resultó en una reducción significativa del contenido de humedad en la inflorescencia, lo que está relacionado con una alteración en los mecanismos de absorción y retención de agua a nivel celular, provocada por la interacción específica entre las cepas de *Bacillus* sp. y *B. cereus*. Estudios recientes han reportado que cepas de *B. cereus* pueden modificar la fisiología hídrica de las plantas al reducir la permeabilidad de membranas, mejorar la eficiencia antioxidante y regular la acumulación de compuestos osmoprotectores, influyendo así en el contenido relativo de agua en tejidos vegetales (Azeem, Haider, Javed, Saleem y Alatawi, 2022). Esta reducción de humedad, sin embargo, no es deseable, ya que el contenido de agua está directamente relacionado con el peso fresco del producto, lo que afecta su precio de mercado.

Resultados comparables han sido reportados por Thakur et al. (2023) quienes evaluaron el uso de Bacillus spp., vermicomposta y fertilización química reducida en condiciones de campo, en cultivos de Brassica oleracea. Aunque observaron efectos positivos sobre ciertos parámetros productivos, los tratamientos con biofertilizantes no siempre produjeron incrementos significativos en variables como el tamaño de la inflorescencia, el grosor del tallo o la biomasa total, especialmente cuando los nutrientes disponibles en el suelo eran suficientes para cubrir las demandas del cultivo.

Las variables relacionadas con la biomasa fresca foliar total, el número de hojas y el área foliar no mostraron diferencias significativas entre tratamientos con la aplicación de los distintos biofertilizantes (Cuadro 4), lo cual sugiere que, a nivel foliar, los biofertilizantes aplicados no modificaron sustancialmente el crecimiento vegetativo bajo las condiciones del presente estudio.

Mohamed et al. (2021) reportaron mayores valores de biomasa fresca foliar (hasta 627 g), área foliar (hasta 462 cm²) y número de hojas (hasta 19.24 hojas) al aplicar *Bacillus megaterium* en combinación con micorriza arbuscular y fuentes minerales de P como MAP. Las diferencias en el manejo nutricional, en particular la inclusión de fertilización completa en su estudio, limitan la comparación directa con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

Glucosinolatos y Clorofila

Los resultados obtenidos en cuanto al contenido de glucosinolatos y la estimación de clorofila en hojas de brócoli tras la aplicación de diferentes biofertilizantes se presentan en el Cuadro 5. En cuanto a glucosinolatos, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con biofertilizantes y el testigo; sin embargo, el tratamiento LHL presentó un contenido significativamente superior al de BS + BL, con un incremento del 127.45%. Por otro lado, en la estimación de clorofila, tanto LHL como BC + BL mostraron valores significativamente más altos que el testigo, con aumentos del 5.79% y 5.92% respectivamente en unidades SPAD. Los resultados sugieren que, si bien los biofertilizantes no modificaron de forma generalizada la acumulación de compuestos secundarios, algunas formulaciones específicas como el lixiviado de lombricomposta o la combinación de ciertas cepas bacterianas pueden inducir efectos positivos en parámetros fisiológicos particulares.

Cuadro 4. Efecto de diferentes biofertilizantes sobre la biomasa fresca foliar, el número de hojas y el área foliar, tanto unitaria y total de brócoli. Table 4. Effect of different biofertilizers on fresh leaf biomass, number of leaves, and both unit and total leaf area of broccoli.

Tratamientos	Biomasa fresca foliar total	Número de hojas	Área foliar unitaria	Área foliar total
	g		C	:m²
Т	528.58 ± 25.18	10.79 ± 1.20	384.23 ± 71.43	8206.59 ± 1648.70
BS + BC	524.00 ± 66.61	10.58 ± 0.73	379.92 ± 20.72	7974.31 ± 420.38
BS + BL	469.96 ± 110.19	11.25 ± 1.37	363.19 ± 59.18	8040.28 ± 547.72
BC + BL	458.46 ± 46.19	10.21 ± 0.71	394.78 ± 87.28	8127.69 ± 2059.51
LHL	603.71 ± 138.05	10.42 ± 1.27	373.22 ± 22.04	7769.44 ± 1142.25
Tukey	ns	ns	ns	ns

 $^{^{\}dagger}$ Medias con la misma letra dentro de columnas son iguales estadísticamente ($p \le 0.05$). ns = no significancia; T = testigo; BS = Bacillus sp.; BC = Bacillus cereus; BL = Bacillus licheniformis; LHL = lixiviado de humus de lombricomposta.

[†] Means with the same letter within columns are statistically equal ($p \le 0.05$). ns = not significant; T = control; BS = Bacillus sp.; BC = Bacillus cereus; BL = Bacillus licheniformis; LHL = vermicompost leachate.

Cuadro 5. Efecto de diferentes biofertilizantes sobre el contenido de clorofila y glucosinolatos en hojas de brócoli.

_ 1	
Table 5. Ettect of different biotertilizers on chloro	phyll and glucosinolate content in broccoli leaves.

Tratamientos	Glucosinolatos	Clorofila
	mg eq Sin kg ⁻¹	SPAD
Т	176.24 ± 76.32 ab	15.52 ± 0.33 b
BS + BC	131.58 ± 17.50 ab	16.35 ± 0.26 ab
BS + BL	94.42 ± 28.04 b	15.97 ± 0.34 ab
BC + BL	124.42 ± 26.36 ab	16.44 ± 0.35 a
LHL	214.76 ± 52.26 a	16.42 ± 0.19 a
Tukey	0.0205	0.0160

 $^{^\}dagger$ Medias con la misma letra dentro de columnas son iguales estadísticamente ($p \le 0.05$). ns = no significancia; T = testigo; BS = Bacillus sp.; BC = Bacillus cereus; BL = Bacillus licheniformis; LHL = lixiviado de humus de lombricomposta.

Estos resultados son considerablemente más bajos que los reportados por Naquib et al. (2012), quienes, mediante un método espectrofotométrico sobre tejido seco, reportaron niveles de glucosinolatos de 15.83 a 25.64 µmol g⁻¹ de materia seca en cultivares de brócoli cultivados en campo bajo fertilización orgánica y bioorgánica. La diferencia puede atribuirse a factores como el tipo de tejido, el método de cuantificación (curva de calibración con sinigrina vs. espectrofotometría total), las condiciones agroclimáticas, o incluso posibles sobreestimaciones derivadas del método utilizado. Por otro lado, Vanegas-Torres, Tish y Rodov (2022) obtuvieron contenidos de glucosinolatos cercanos a 130 mg kg⁻¹ de materia seca en brotes de brócoli en etapa de plántula cultivados en condiciones controladas de laboratorio, tratados con peróxido de hidrógeno como elicitor. En ese caso, las diferencias se atribuyen al estadio de desarrollo del vegetal (plántulas vs plantas adultas), el tipo de estímulo aplicado (elicitor químico vs biofertilizante) o la naturaleza del tejido analizado. A pesar de ello, el comportamiento observado en el tratamiento HL de este estudio, sugiere un efecto potencial positivo en la acumulación de glucosinolatos, compuestos clave en la defensa vegetal (Román, Lagos, Mahn y Quintero, 2024), cuya síntesis está estrechamente relacionada con la disponibilidad de azufre en el entorno radicular (Jeschke, Weber, Moore y Burow, 2019).

El efecto observado en el contenido de clorofila por la aplicación de distintos tratamientos con Bacillus spp. está relacionado con factores fisiológicos específicos y la interacción de las cepas en la rizosfera. Los tratamientos BC + BL y LHL mostraron incrementos significativos en comparación con el testigo, lo que indica una activación efectiva de las vías metabólicas relacionadas con la síntesis de clorofila. Este aumento en los valores SPAD sugiere que estas combinaciones facilitaron una mejor absorción o aprovechamiento del N foliar, así como del Mg, elemento clave en la estructura molecular de la clorofila (Tränkner, Jákli y Tavakol, 2016). Sin embargo, la variabilidad observada entre los diferentes tratamientos con Bacillus resalta la importancia de factores específicos como la compatibilidad entre cepas bacterianas y su capacidad para colonizar eficazmente la rizosfera en condiciones de campo, aspectos que requieren estudios adicionales para clarificar su influencia exacta sobre el metabolismo de la clorofila en brócoli. El efecto positivo observado con el tratamiento LHL está relacionado con efectos indirectos del mismo, tales como una posible mejora en la estructura del suelo, una mayor retención y disponibilidad de nutrientes, o incluso una estimulación de la microbiota nativa en la rizosfera (Al-Rawi y Alkobaisy, 2023). Si bien estos mecanismos no se evaluaron directamente en este estudio, la literatura especializada sugiere que el uso de este insumo orgánico genera condiciones edáficas favorables para el desarrollo fisiológico del cultivo. Esto facilita una mayor eficiencia en la absorción de nutrientes, reflejándose en un contenido superior de clorofila. En comparación con estudios como el de Rodríguez-Ortiz et al. (2021), donde se obtuvieron valores SPAD superiores a 40 en condiciones controladas y con el uso de enmiendas orgánicas de alta disponibilidad de nitrógeno, los valores registrados en el presente estudio fueron menores. Sin embargo, este resultado resalta la eficiencia fisiológica alcanzada bajo condiciones de campo abierto y con una sola aplicación de biofertilizantes, lo que demuestra que insumos biológicos como el lixiviado de humus de lombricomposta o combinaciones específicas de Bacillus spp. pueden mantener niveles adecuados de clorofila sin recurrir a esquemas intensivos de fertilización o manejo protegido.

[†] Means with the same letter within columns are statistically equal ($p \le 0.05$). ns = not significant; T = control; BS = Bacillus sp.; BC = Bacillus cereus; BL = Bacillus licheniformis; LHL = vermicompost leachate.

Las evidencias encontradas refuerzan la hipótesis de que el LHL no solo actúa como una enmienda del suelo, sino que también tiene el potencial de influir en la acumulación de metabolitos secundarios y en la eficiencia fotosintética, lo que mejora la calidad nutricional y funcional del brócoli. La respuesta diferencial observada en los tratamientos con *Bacillus* spp. está relacionada con la especificidad de las combinaciones bacterianas empleadas, sugiriendo la necesidad de estudios adicionales para explorar la combinación óptima de biofertilizantes según objetivos agronómicos específicos.

Contenido Mineral

Nitrógeno

Se observaron diferencias altamente significativas en la distribución de macronutrientes entre los órganos evaluados. El N se acumuló predominantemente en la parte foliar, con un incremento del 398.08% respecto a la raíz y del 79.23% frente a la inflorescencia (Cuadro 6). La elevada concentración en hojas es consistente con su función como sitio principal de fotosíntesis y síntesis proteica (Sun et al., 2023); sin embargo, los valores registrados en hoja (5.18%) superan el rango típico para esta especie (2.5-4%) (Almeida et al., 2020), lo que refleja una absorción excesiva o un efecto concentrador debido a limitaciones en la translocación.

La aplicación de biofertilizantes mostró un efecto notable sobre el contenido de N en los tejidos de brócoli, todos los tratamientos superaron estadísticamente al testigo (Cuadro 6). Las combinaciones BS + BC (3.12%), BS + BL (3.07%), BC + BL (3.13%) y LHL (3.06%) mostraron contenidos de N más altos que el tratamiento testigo (2.79%). Estos resultados sugieren que tanto las cepas de *Bacillus* como el lixiviado de lombricomposta favorecieron la absorción o disponibilidad de N en la planta.

En el caso de las RCPV, se ha documentado su capacidad para promover la fijación biológica de N atmosférico, especialmente en el caso de cepas como Bacillus spp., que convierten el N_2 del aire en formas asimilables como amonio (NH_4^+) mediante la acción de la enzima nitrogenasa (Koirala y Brözel, 2021). Además, estas bacterias también pueden mejorar la asimilación de N del suelo a través de mecanismos indirectos, como la producción de fitohormonas (auxinas, citoquininas), que estimulan el desarrollo radicular y aumentan el área de absorción, y la liberación de ácidos orgánicos, que pueden acidificar la rizosfera y facilitar la liberación de formas minerales de N (Grzyb, Wolna-Maruwka y Niewiadomska, 2021). Algunos estudios también señalan su papel en la mineralización de compuestos zorgánicos del suelo, lo que incrementa la disponibilidad de N para la planta (Soumare et al., 2020). Estos mecanismos combinados explican el aumento observado en la concentración de N en los tratamientos con Bacillus.

Por su parte, el LHL contribuyó a mejorar la nutrición nitrogenada de las plantas a través de diversos mecanismos complementarios. En primer lugar, este tipo de insumo suele contener formas orgánicas e inorgánicas de N, incluyendo aminoácidos, amonio y pequeñas cantidades de nitrato, cuya liberación progresiva puede sostener la disponibilidad del nutriente durante etapas críticas del desarrollo (Kováčik, Šimanský, Smoleń, Neupauer y Olšovská, 2022). Asimismo, el lixiviado actúa como estimulante de la microbiota edáfica nativa, aportando compuestos húmicos y microorganismos beneficiosos (principalmente bacterias y actinomicetos) que incrementan la mineralización del N orgánico presente en el suelo (Maffia, Oliva, Marra, Mallamaci, Nardi y Muscolo, 2025). Esta actividad microbiana intensificada fomenta una liberación gradual de N, al tiempo que mejora la estructura y retención hídrica del suelo, creando un entorno más favorable para la absorción radicular (Khan, Aleinikovienė y Butkevičienė, 2024).

A pesar de este efecto general positivo, no se observaron diferencias significativas en la interacción órganotratamiento, lo que indica que los biofertilizantes no modificaron la distribución interna del N entre los órganos, sino solo su acumulación total. Este descubrimiento resalta la necesidad de considerar tanto la eficiencia de absorción como la redistribución fisiológica del nutriente, especialmente cuando se busca optimizar el contenido de N en órganos destinados a la cosecha como la inflorescencia.

Mohamed et al. (2021) evaluaron los efectos de biofertilizantes que incluían bacterias fijadoras de N en el rendimiento y nutrición de brócoli. En su experimento, se observó un incremento significativo en la concentración de N en los tejidos, alcanzando valores de hasta 4.74% de MS con la combinación de biofertilizantes + P_i. Esto es relevante para comparar con los valores obtenidos en el presente estudio, en el que el contenido máximo de N en hoja fue del 5.18%, lo cual supera incluso los niveles reportados por dicho trabajo.

Cuadro 6. Efecto de los biofertilizantes sobre el contenido de nitrógeno, fósforo y potasio en los distintos órganos de brócoli sobre base seca. Table 6. Effect of biofertilizers on the nitrogen, phosphorus and potassium content in different broccoli organs on a dry weight basis.

	N	Р	K
	%	mg k	·g·¹
Órgano			
Inflorescencia	$2.89 \pm 0.14 b$	7925.59 ± 2159.59 a	8026.89 ± 915.47 a
Foliar	5.18 ± 0.24 a	1256.37 ± 918.01 b	5748.58 ± 971.46 b
Raíz	1.04 ± 0.13 c	8461.99 ± 2334.61 a	2002.95 ±574.55 c
Tukey	<0.0001	<0.0001	< 0.0001
Tratamientos			
Т	2.79 ± 1.70 b	5152.16 ± 3205.23 b	5302.05 ± 2735.07
BS + BC	3.12 ± 1.77 a	7291.67 ± 4293.97 a	5643.33 ± 2888.50
BS + BL	3.07 ± 1.77 a	6310.29 ± 4500.95 ab	5270.60 ± 2547.47
BC + BL	3.13 ± 1.81 a	5180.52 ± 3258.91 b	5073.85 ± 2964.47
LHL	3.06 ± 1.80 a	5471.52 ± 3776.76 ab	5007.54 ± 2432.30
Tukey	<0.0001	0.021	ns
Interacciones			
Inflorescencia + T	2.71 ± 0.19	7505.23 ± 1313.08	8537.31 ± 342.57 a
Inflorescencia + BS + BC	2.98 ± 0.06	8904.00 ± 4034.68	8663.69 ± 342.91 a
Inflorescencia + BS + BL	2.90 ± 0.07	7425.63 ± 1705.68	7871.96 ± 850.38 ab
Inflorescencia + BC + BL	3.01 ± 0.05	7729.88 ± 625.76	8312.18 ± 914.68 a
Inflorescencia + LHL	2.84 ± 0.05	8063.23 ± 2512.42	6749.30 ± 555.21 bc
Foliar + T	4.81 ± 0.18	1178.89 ± 640.63	5063.25 ± 858.57 d
Foliar + BS + BC	5.26 ± 0.19	2495.28 ± 661.80	6204.38 ± 863.17 cd
Foliar + BS + BL	5.23 ± 0.10	828.00 ± 325.91	5778.24 ± 442.57 cd
Foliar + BC + BL	5.31 ± 0.14	936.67 ± 966.38	5292.33 ± 1116.47 d
Foliar + LHL	5.26 ± 0.21	843.01 ± 886.31	6424.70 ± 1123.35 cd
Raíz + T	0.85 ± 0.04	6772.35 ± 1898.22	2305.58 ± 755.42 e
Raíz + BS + BC	1.13 ± 0.12	10475.73 ± 1797.94	2061.91 ± 211.52 e
Raíz + BS + BL	1.09 ± 0.13	10677.25 ± 2026.32	2181.59 ± 902.03 e
Raíz + BC + BL	1.08 ± 0.09	6875.00 ± 1052.94	1617.06 ± 409.58 e
Raíz + LHL	1.08 ± 0.09	7509.63 ± 1464.50	1848.61 ± 307.01 e
Tukey	ns	ns	0.0002

[†] Medias con la misma letra dentro de columnas son iguales estadísticamente ($p \le 0.05$). ns = no significancia; T = testigo; BS = Bacillus sp.; BC = Bacillus cereus; BL = Bacillus licheniformis; LHL = lixiviado de humus de lombricomposta.

Fósforo

El P se concentró principalmente en la inflorescencia y raíz, con acumulaciones 530.83% y 573.53% superiores, respectivamente, a la parte foliar (Cuadro 6). Este patrón es posible debido al papel del P en el almacenamiento energético y desarrollo reproductivo (Mishra, Levengood, Fan y Zhang, 2024); los valores en las hojas (1256.37 mg kg⁻¹) fueron inferiores en comparación con los rangos de la literatura agronómica (Majkowska-Gadomska, Kaliniewicz, Francke, Sałata, y Jadwisieńczak, 2024), lo que limita procesos metabólicos en este tejido.

[†] Means with the same letter within columns are statistically equal ($\dot{p} \le 0.05$). ns = not significant; T = control; BS = Bacillus sp.; BC = Bacillus cereus; BL = Bacillus licheniformis; LHL = vermicompost leachate.

Una explicación para este resultado es la competencia nutricional generada por la acumulación elevada de otros cationes, particularmente $\mathrm{NH_4}$ y Mg, en el tejido foliar. Esta interacción es relevante, ya que el exceso de N, como se detectó en los tratamientos evaluados, provoca un crecimiento vegetativo acelerado que diluye la concentración de P en los tejidos (Voutsinos-Frantzis et al., 2022), mientras que el exceso de Mg interfiere con la absorción y movilidad del fosfato mediante mecanismos de competencia iónica en la raíz o en el transporte vascular (Chaudhry, Nayab, Hussain, Ali y Pan, 2021). Además, dado que la mayor concentración de P se registró en la inflorescencia y la raíz, no puede descartarse una redistribución preferencial hacia estos órganos, especialmente bajo condiciones de demanda reproductiva.

El tratamiento BS + BC fue el único que presentó una diferencia estadística significativa, del contenido de P, con respecto al testigo, alcanzando un incremento del 41.52%. Este resultado se atribuye a la acción combinada de *Bacillus* sp. y *B. cereus*, microorganismos conocidos por su capacidad para solubilizar fosfatos inorgánicos mediante la producción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular, como ácido cítrico, málico o gluconato, que disminuyen el pH de la rizosfera y liberan formas disponibles de P (Han, Kim y Maung, 2024). Además, ciertas cepas bacterianas poseen enzimas fitasas, capaces de hidrolizar fitato, una forma de P orgánico frecuentemente presente en el suelo, liberando fosfato inorgánico que puede ser absorbido por la planta (Gocheva *et al.*, 2024). La eficacia observada en BS + BC está relacionada con la capacidad solubilizadora de las bacterias y con una interacción sinérgica que intensifique su actividad enzimática en el entorno edáfico.

En cuanto a la interacción entre órganos y tratamientos, no se observaron diferencias significativas, lo que indica que, si bien hubo un efecto sobre el contenido total de P, los biofertilizantes no alteraron la distribución del nutriente entre inflorescencia, hojas y raíces. Este resultado sugiere que la movilización interna de P en la planta respondió principalmente a la etapa fenológica y a la demanda fisiológica, más que a un efecto diferencial de los tratamientos.

En comparación, Demir et al. (2023), quienes aplicaron un biofertilizante compuesto por B. megaterium, P. fluorescens y P. agglomerans, junto con fertilización química, reportaron un contenido de P de 4900 mg kg⁻¹ en brócoli, inferior al obtenido con BS + BC en este estudio (7291.67 mg kg⁻¹), a pesar del uso de insumos minerales. Esto sugiere que, bajo determinadas condiciones, biofertilizantes bien formulados son capaces de igualar o incluso superar los resultados obtenidos con insumos convencionales, lo que representa una alternativa viable para sistemas agrícolas más sostenibles.

Potasio

El K presentó su mayor concentración en la inflorescencia, superó en un 39.63% a las hojas y en un 300.75% a la raíz, debido a su papel clave en la acumulación de solutos en órganos de reserva (Cuadro 6); sin embargo los valores registrados estuvieron por debajo del rango reportado para brócoli (1.5-4%) (Almeida et al., 2020), por una limitación en su absorción. Al contrario de lo que se planteó al inicio, el análisis del suelo revela una explicación: el contenido de K fue relativamente bajo (1.08 mEq 100 g⁻¹) y su disponibilidad fue afectada por la elevada presencia de Ca²⁺ (18.5 mEq 100 g⁻¹), Mg²⁺ (3.64 mEq 100 g⁻¹) y, especialmente, Na⁺ (2.95 mEq 100 g⁻¹). Esta composición genera una fuerte competencia catiónica en los sitios de intercambio y en la solución del suelo, lo cual reduce la eficiencia en la absorción de K⁺ por parte del sistema radical (Appiah, Balla-Kovács, Ocwa, Csajbók, y Kutasy, 2024). Así, más allá de la cantidad absoluta, la relación entre cationes propone un desequilibrio nutricional que explica la baja acumulación, incluso en órganos de alta demanda. A diferencia de lo encontrado por Yildirim y Turan (2013), quienes obtuvieron valores de 10 380 mg kg⁻¹ en condiciones de fertilización química convencional.

Por otro lado, en el efecto de los biofertilizantes sobre el contenido de K, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos, porque bajo las condiciones de este experimento, su absorción no fue sustancialmente modificada por los insumos aplicados. Esto está relacionado con la relativa suficiencia basal del nutriente en el suelo y con el desequilibrio catiónico que limitó su disponibilidad efectiva; lo que redujo la posibilidad de observar efectos diferenciales atribuibles a los tratamientos. En la interacción órgano-tratamiento se detectó una diferencia valiosa en la inflorescencia, donde el tratamiento LHL mostró un contenido de K un 26.49% menor en comparación con el testigo. Este resultado es producto de una redistribución alterada de K hacia otros órganos o una eficiencia reducida en su movilización hacia estructuras reproductivas (Jadwisieńczak, Majkowska-Gadomska, Francke y Kaliniewicz, 2023). A pesar de esta reducción con significancia estadística, su relevancia agronómica es incierta, ya que los valores absolutos para este nutriente se mantuvieron bajos en todos los tratamientos, lo cual refuerza la hipótesis de que la disponibilidad limitada de K en el suelo fue el principal factor restrictivo. Además, el tratamiento LHL, a pesar de sus efectos beneficiosos observados en otros nutrientes, no tuvo una proporción suficiente de K asimilable.

Calcio

En el caso del Ca, se observó una clara acumulación en la raíz, con un contenido 155.76% y 206.41% superior al registrado en la inflorescencia y en la parte foliar, respectivamente (Cuadro 7). Este patrón es consistente con el comportamiento fisiológico de este elemento, el cual presenta baja movilidad en el floema y tiende a acumularse en los tejidos donde se absorbió. Debido a que su transporte dentro de la planta depende en gran medida del flujo transpiratorio, su redistribución hacia órganos con menor actividad transpiratoria, como las inflorescencias, es limitada (Coelho *et al.*, 2022). En términos absolutos, el contenido de Ca en raíces (20 810.27 mg kg⁻¹) supera el rango comúnmente reportado para cultivos de *Brassica oleracea* (5000-15 000 mg kg⁻¹) (Rivera-Martin, Reynolds-Marzal, Martin, Velázquez y Poblaciones, 2021), mientras que los valores en hojas (6791.57 mg kg⁻¹) e inflorescencias (8136.62 mg kg⁻¹) se sitúan en el límite inferior o por debajo del óptimo agronómico. Esta distribución está relacionada con factores ambientales que afectaron la transpiración y con interacciones catiónicas que limitaron el movimiento del Ca hacia órganos aéreos. A pesar de la absorción del nutriente, su acumulación en tejidos de interés agronómico como la inflorescencia fue limitada, lo que tiene implicaciones en la calidad del producto final (Grzebisz, Zielewicz y Przygocka-Cyna, 2023).

Desde el punto de vista del tratamiento, se observaron diferencias estadísticamente significativas, siendo los tratamientos LHL y BS + BL los que promovieron una mayor acumulación total de Ca en la planta, con valores promedio de 15 210.72 mg kg⁻¹ y 14,711.61 mg kg⁻¹, respectivamente. El comportamiento es por la presencia directa de Ca en el LHL, que alcanzó concentraciones de 1291.5 mg kg⁻¹, y por la acción sinérgica de *Bacillus* sp. y *B. licheniformis*, reconocidas por su capacidad para solubilizar formas insolubles de Ca en el suelo (Ramos-Salazar *et al.*, 2022).

La interacción entre órgano y tratamiento fue también altamente significativa, destacando la combinación raíz + HL, que alcanzó la mayor concentración registrada (32 336.99 mg kg⁻¹). Este valor fue 3.84 veces superior al tratamiento raíz + testigo (8426.50 mg kg⁻¹), lo que evidencia el efecto positivo del HL como fuente de Ca y su potencial para estimular procesos de absorción radicular. Esta diferencia indica que el efecto de los biofertilizantes favoreció una acumulación localizada en la raíz, debido a la aplicación dirigida al suelo, la alta concentración del nutriente en el lixiviado, y la limitada movilidad del Ca dentro de la planta (Coelho *et al.*, 2022).

Este patrón de acumulación indica que, aunque los biofertilizantes incrementan la disponibilidad y absorción de Ca, la translocación hacia los órganos producidos para la cosecha es un desafío agronómico, condicionado por factores como la competencia con otros cationes como Mg y Na, la fisiología del tejido y las condiciones ambientales (Appiah et al., 2024). En consecuencia, el uso de biofertilizantes como estrategia para mejorar la calidad del brócoli deberá considerar la absorción y la redistribución fisiológica del Ca hacia los órganos de interés comercial.

Aunque en este estudio se registraron aumentos significativos en la raíz (hasta +155.76% respecto al testigo con el tratamiento LHL), dichos aumentos no se reflejaron en las inflorescencias, lo que resalta una diferencia clave en la redistribución del nutriente. Estos resultados coinciden parcialmente con los reportados por Altuntaş (2018), quien observó un aumento de aproximadamente 20% en el contenido de Ca en el tejido foliar de brócoli tras la aplicación de un biofertilizante a base de *Bacillus subtilis* comparado con una fertilización química convencional.

Magnesio

El Mg se acumuló principalmente en la parte foliar, con niveles 266.57% y 298.08% superiores respecto a la inflorescencia y la raíz, respectivamente (Cuadro 7). Esta acumulación es fisiológicamente coherente, ya que el Mg cumple un papel central en la estructura de la molécula de clorofila y en diversas reacciones enzimáticas relacionadas con el metabolismo energético (Tränkner et al., 2016). Sin embargo, los valores observados en hoja (38 288.20 mg kg⁻¹, equivalentes al 3.83%) superan en casi diez veces el rango óptimo reportado para cultivos de *Brassica oleracea*, que oscila entre 2000 y 4000 mg kg⁻¹ (Jadwisieńczak et al., 2023). Por su parte Demir et al. (2023) lograron valores entre 1,100 y 1,300 mg kg⁻¹ con la aplicación de biofertilizantes. Esta concentración anormalmente elevada refleja un desbalance nutricional en la planta, más allá de un efecto beneficioso. El análisis de suelo mostró un nivel moderadamente alto de Mg²⁺ (3.64 mEq 100 g⁻¹), suficiente para abastecer a la planta, pero los niveles también elevados de Ca²⁺ y Na⁺, modificaron la dinámica de absorción de otros cationes, particularmente el K⁺, cuyos valores fueron anormalmente bajos.

Cuadro 7. Efecto de los biofertilizantes sobre el contenido de calcio, magnesio, cobre y hierro en los distintos órganos de brócoli sobre base seca. Table 7. Effect of biofertilizers on the calcium, magnesium, cooper, and iron content in different broccoli organs on a dry weight basis.

	Са	Mg	Cu	Fe
		mg kg	g ⁻¹	
Órgano				
Inflorescencia	8136.62 ± 1479.96 b	10445.02 ± 2222.11 b	8.08 ± 2.20 a	$28.10 \pm 8.41 b$
Foliar	6791.57 ± 2345.08 b	38288.20 ± 8493.57 a	5.97 ± 1.22 b	42.45 ± 13.68 a
Raíz	20810.27 ± 11106.75 a	9618.15 ± 3421.99 b	$4.63 \pm 1.00 b$	23.62 ± 7.60 b
Tukey	< 0.0001	<0.0001	0.0003	0.0019
Tratamientos				
Γ	8729.19 ± 1833.52 b	20690.63 ± 16241.93	7.35 ± 3.49 a	35.43 ± 14.06
BS + BC	9082.31 ± 4198.21 b	18971.89 ± 14620.76	5.69 ± 1.70 b	33.98 ± 12.46
BS + BL	14711.61 ± 10445.35 a	20977.63 ± 14398.89	5.95 ± 1.17 ab	27.43 ± 7.80
BC + BL	11830.28 ± 10261.96 ab	16816.03 ± 13794.70	6.09 ± 1.81 ab	26.96 ± 12.03
HL	15210.72 ± 12972.74 a	19776.55 ± 15309.20	6.05 ± 1.45 ab	33.15 ± 16.49
Гukey	0.0006	ns	0.0439	ns
nteracciones				
nflorescencia + T	9528.00 ± 1617.25 c	10458.01 ± 1051.50	10.90 ± 3.86	30.23 ± 3.79
nflorescencia + BS + BC	8201.61 ± 760.43 c	11705.07 ± 3393.32	7.41 ± 1.00	32.85 ± 17.03
nflorescencia + BS + BL	8704.94 ± 397.09 c	11712.70 ± 1520.07	7.08 ± 0.62	27.30 ± 3.96
nflorescencia + BC + BL	6325.42 ± 1190.64 c	8777.00 ± 2626.26	7.71 ± 0.77	27.03 ± 6.04
nflorescencia + LHL	7923.14 ± 1284.71 c	9572.30 ± 677.62	7.29 ± 0.50	23.09 ± 4.35
Foliar + T	8233.06 ± 2745.37 c	41239.86 ± 9985.36	6.29 ± 0.63	48.95 ± 15.23
Foliar + BS + BC	6223.81 ± 2817.40 c	37367.28 ± 8607.67	5.19 ± 1.69	42.10 ± 10.05
Foliar + BS + BL	7774.68 ± 2987.04 c	40185.81 ± 3074.86	6.00 ± 0.67	33.31 ± 6.16
Foliar + BC + BL	6354.27 ± 1557.26 c	34091.87 ± 9446.41	6.64 ± 0.85	35.51 ± 15.25
Foliar + LHL	5372.02 ± 759.26 c	38556.19 ± 11969.95	5.75 ± 1.82	52.39 ± 14.79
Raíz + T	8426.50 ± 934.27 c	10372.68 ± 4676.70	4.88 ± 1.67	27.13 ± 10.34
Raíz + BS + BC	12821.50 ± 5053.52 bc	7843.31 ± 3388.49	4.48 ± 0.66	26.98 ± 4.77
Raíz + BS + BL	27655.21 ± 7437.87 a	11094.37 ± 3436.60	4.78 ± 0.83	21.66 ± 8.88
Raíz + BC + BL	22811.14 ± 11879.67 ab	7579.21 ± 1935.32	3.93 ± 0.72	18.34 ± 8.07
Raíz + LHL	32336.99 ± 4887.41 a	11201.16 ± 2916.36	5.10 ± 0.87	23.98 ± 4.27
Tukey	<0.0001	ns	ns	ns

 $^{^{\}dagger}$ Medias con la misma letra dentro de columnas son iguales estadísticamente ($p \le 0.05$). ns = no significancia; T = testigo; BS = Bacillus sp.; BC = Bacillus cereus; BL = Bacillus licheniformis; LHL = lixiviado de humus de lombricomposta.

Respecto al efecto de los tratamientos, no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de Mg, lo que indica que ninguno de los biofertilizantes aplicados modificó de manera consistente la concentración de este nutriente en los tejidos vegetales. De igual forma, la interacción órgano-tratamiento no presentó diferencias considerables, por lo que no es posible atribuir variaciones en la distribución del Mg a los tratamientos evaluados. Esta falta de respuesta se debe a que el suelo ya presentaba un nivel moderadamente elevado de Mg²+ (3.64 mEq 100 g¹-1), suficiente para cubrir las necesidades del cultivo sin que los biofertilizantes ejercieran un efecto adicional.

[†] Means with the same letter within columns are statistically equal ($p \le 0.05$). ns = not significant; T = control; BS = Bacillus sp.; BC = Bacillus cereus; BL = Bacillus licheniformis; LHL = vermicompost leachate.

Cobre

El Cu se concentró principalmente en la inflorescencia, con valores que superaron en un 35.34% y 74.51% a los encontrados en la parte foliar y en la raíz, respectivamente (Cuadro 7). La acumulación diferencial es fisiológicamente factible, ya que el Cu participa como cofactor en diversas enzimas redox implicadas en la defensa celular, la lignificación y la formación de estructuras reproductivas (Wairich *et al.*, 2022). Además, su papel en enzimas como la superóxido-dismutasa produce mayor demanda en tejidos con alta actividad metabólica, como las inflorescencias en desarrollo (Jun, Shim y Park, 2023). En términos absolutos, los valores obtenidos (entre 4.63 y 8.08 mg kg⁻¹) se encuentran en el rango adecuado reportado para brócoli (5-10 mg kg⁻¹) (Jadwisieńczak *et al.*, 2023), lo cual indica una disponibilidad adecuada en el suelo y una distribución fisiológicamente coherente entre los órganos. La acumulación sin exceder niveles tóxicos refuerza la función del Cu como micronutriente esencial en etapas reproductivas, aunque su concentración final también depende del tipo de tejido, la tasa de transpiración y la actividad enzimática asociada.

A nivel de tratamientos, destaca el testigo con la mayor concentración de Cu (7.35 mg kg⁻¹), mientras que el tratamiento BS + BC mostró el valor más bajo (5.69 mg kg⁻¹). El resto de los tratamientos se mantuvo en un rango intermedio sin diferencias significativas con respecto al testigo. Todos los valores registrados se situaron dentro del rango apropiado para *Brassica oleracea* (5-10 mg kg⁻¹) (Jadwisieńczak *et al.*, 2023). Al analizar la interacción entre órgano y tratamiento, se encontró que la distribución del Cu fue similar. La concentración más alta de Cu se mantuvo en las inflorescencias sin influencia del tratamiento aplicado, lo que refuerza la idea de una regulación fisiológica interna asociada a la función del Cu en tejidos con alta actividad metabólica. Aunque los tratamientos modificaron ligeramente el contenido total de Cu, se mantuvo patrón general de distribución dentro de la planta, debido a su movilidad limitada y a la demanda específica de los órganos reproductivos durante el desarrollo.

El uso de biofertilizantes no mejoró el contenido de Cu en los tejidos evaluados, a diferencia de los resultados de Altuntaş (2018), quien reportó concentraciones de Cu entre 4 mg kg⁻¹ con la aplicación de *B. subtilis* y 6 mg kg⁻¹ con aplicaciones de microalgas en brócoli, los valores del presente estudio fueron ligeramente superiores, alcanzando hasta 8.08 mg kg⁻¹. Así que la absorción de Cu estuvo más influenciada por su disponibilidad edáfica intrínseca que por la acción de los microorganismos aplicados.

Hierro

El Fe se acumuló principalmente en la parte foliar, con niveles 51.07% y 79.72% superiores a los encontrados en la inflorescencia y la raíz, respectivamente (Cuadro 7). La distribución es fisiológicamente coherente, ya que el Fe participa en múltiples procesos metabólicos fundamentales en las hojas, como la fotosíntesis, la respiración celular y el metabolismo del N, donde actúa como cofactor en citocromos, ferredoxina y otras proteínas redox (Syed, 2024). A pesar de que no forma parte estructural de la clorofila, su presencia es fundamental para su biosíntesis y el mantenimiento de la actividad fotosintética (Kroh y Pilon, 2020). Los niveles observados (42.45, 28.10 y 23.62 mg kg⁻¹ en hoja, inflorescencia y raíz, respectivamente) se sitúan dentro del rango óptimo para el cultivo (20-50 mg kg⁻¹) (Rivera-Martin et al., 2021).

No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos, por lo que no puede atribuirse a los biofertilizantes un efecto claro sobre la concentración de Fe en los tejidos. Es importante señalar que el tratamiento testigo presentó un contenido relativamente alto de Fe en el sustrato (0.06% = 600 mg kg⁻¹), porque la disponibilidad del micronutriente en el suelo se adecuó para satisfacer la demanda del cultivo, sin necesidad de estímulos adicionales por parte de los biofertilizantes.

La interacción órgano-tratamiento no tuvo efectos significativos, y el patrón de acumulación foliar se mantuvo constante en todos los tratamientos por una regulación fisiológica interna. Yildirim, Karlidag, Turan, Dursun y Goktepe (2011), reportaron concentraciones de hierro de hasta 80 mg kg⁻¹ en hojas de brócoli mediante la aplicación conjunta de estiércol, roca fosfórica y *Brevibacillus reuszeri*, lo que representó un incremento del 22.6% en comparación con el tratamiento con fertilización química. Estos valores no coinciden con los observados en el presente estudio, debido a diferencias en las condiciones edafoclimáticas, el tipo de biofertilizante empleado o el sistema de manejo agronómico.

CONCLUSIONES

Este estudio demostró que la aplicación de biofertilizantes a base de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) y lixiviados de humus de lombricomposta (LHL) produjeron efectos diferenciados sobre las variables fisiológicas y nutricionales del brócoli, manteniendo un desempeño agronómico comparable al tratamiento de fertilizante químico, incluso superándolo. Se observaron diferencias significativas en la humedad de la inflorescencia, el índice de clorofila y la concentración de glucosinolatos. En particular, la combinación de Bacillus sp. con B. cereus redujo el contenido de humedad en la inflorescencia, mientras que el LHL incrementó el contenido de clorofila y los glucosinolatos.

En cuanto a la acumulación de nutrientes, *Bacillus* sp. con *B. cereus* favoreció el aumento de fósforo, *Bacillus* sp. con *B. licheniformis* incrementó el nitrógeno total, y el LHL promovió una mayor acumulación de calcio en la raíz. Aunque no se detectaron diferencias significativas en magnesio, potasio, hierro o cobre, los valores obtenidos fueron equivalentes a los del testigo, lo que indica que los biofertilizantes pueden mantener una nutrición mineral adecuada sin necesidad de fertilización química complementaria.

Estos hallazgos muestran que los biofertilizantes evaluados no sólo representan una alternativa viable, sino que tienen el potencial de sustituir parcial o totalmente la fertilización base convencional, contribuyendo a una producción más sostenible. La posibilidad de mantener rendimientos y niveles de nutrientes comparables al fertilizante sintético, pero con una menor dependencia de insumos de alto impacto ambiental, constituye un avance relevante en el contexto de la transición agroecológica.

Sin embargo, se requiere profundizar en estudios de largo plazo que evalúen la persistencia de los efectos observados, el establecimiento de las cepas de *Bacillus* en la rizosfera y la influencia indirecta del LHL sobre la microbiota edáfica y la estructura del suelo. La evidencia obtenida en este trabajo sienta las bases para consolidar el uso de biofertilizantes como una estrategia eficaz para reducir la huella ecológica de los sistemas hortícolas, manteniendo la productividad y mejorando progresivamente la fertilidad del suelo.

DECLARACIÓN DE ÉTICA

No aplicable.

CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

DISPONIBILIDAD DE DATOS

Los conjuntos de datos utilizados o analizados durante el estudio actual están disponibles del autor correspondiente a solicitud razonable.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

FONDOS

La fuente de financiamiento para el desarrollo de la presente investigación fue la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización: A.S.R, R.A.R.S. y R.M.V. Metodología: A.S.R., H.L.L. y V.R.T. Software: R.A.R.S. y H.L.L. Validación: A.S.R. Análisis formal: R.A.R.S. y A.S.R. Investigación: R.A.R.S. y A.S.R. Recursos: A.S.R. Escritura: R.A.R.S., A.S.R. Preparación del borrador original: R.A.R.S. Revisión y edición: A.S.R. y H.L.L. Supervisión: A.S.R. y R.M.V. Administración del proyecto: A.S.R. Adquisición de fondos: A.S.R.

AGRADECIMIENTOS

Al departamento de Horticultura y subdirección de Postgrado de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por las facilidades otorgadas para la realización de la presente investigación. A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por la beca otorgada.

LITERATURA CITADA

- Acurio-Vásconez, R. D., Mamarandi-Mossot, J. E., Ojeda-Shagñay, A. G., Tenorio-Moya, E. M., Chiluisa-Utreras, V. P., & Vaca-Suquillo, I. de los A. (2020). Evaluation of *Bacillus* spp. as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in broccoli (Brassica oleracea var. italica) and lettuce (*Lactuca sativa*). Ciencia Tecnologia Agropecuaria, 21(3), 1-16. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1465
- Almeida, H. J. D., Carmona, V. M. V., Cavalcante, V. S., Filho, A. B. C., Prado, R. D. M., Flores, R. A., ... & Mauad, M. (2020). Nutritional and visual diagnosis in broccoli (Brassica oleracea var. italica L.) Plants: disorders in physiological activity, nutritional efficiency and metabolism of carbohydrates. *Agronomy*, 10(10), 1-18. https://doi.org/10.3390/agronomy10101572
- Al-Rawi, Z. H. D., & Alkobaisy, J. S. (2023). Effect of mycorrhizae, azotobacter and vermicompost tea on nitrogen, phosphorus, and potassium (NPK) concentrations in soil and cucumber plants (*Cucumis sativus*). In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1259, 1-11. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1259/1/012010
- Alkobaisy, J. S., Abdel-Ghani, E. T., Mutlag, N. A., & Lafi, A. S. A. (2021). Effect of vermicompost and vermicompost tea on the growth and yield of broccoli and some soil properties. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 761(1), 1-7. https://doi.org/10.1088/1755-1315/761/1/012008
- Altuntaş, Ö. (2018). A comparative study on the effects of different conventional, organic and bio-fertilizers on broccoli yield and quality. Applied Ecology & Environmental Research, 16(2), 1595-1608. https://doi.org/10.3390/agronomy14081806
- Appiah, E. A., Balla-Kovács, A., Ocwa, A., Csajbók, J., & Kutasy, E. (2024). Enhancing alfalfa (*Medicago sativa* L.) productivity: exploring the significance of potassium nutrition. *Agronomy*, 14(8), 1-20. https://doi.org/10.3390/agronomy14081806
- Arosha, K. P. L., & Sarvananda, L. (2022). Vermicomposting tea a potential liquid biofertilizer. Frontiers in Life Science Research, 1(1), 1-5.
- Azeem, M., Haider, M. Z., Javed, S., Saleem, M. H., & Alatawi, A. (2022). Drought stress amelioration in maize (*Zea mays* L.) by Inoculation of *Bacillus* spp. strains under sterile soil conditions. *Agriculture*, 12(1), 1-21. https://doi.org/10.3390/agriculture12010050
- Bai, Y. C., Chang, Y. Y., Hussain, M., Lu, B., Zhang, J. P., Song, X. B., ... & Pei, D. (2020). Soil chemical and microbiological properties are changed by long-term chemical fertilizers that limit ecosystem functioning. *Microorganisms*, 8(5), 1-22. https://doi.org/10.3390/microorganisms8050694
- Barros-Rodríguez, A., Rangseekaew, P., Lasudee, K., Pathom-Aree, W., & Manzanera, M. (2021). Impacts of agriculture on the environment and soil microbial biodiversity. *Plants*, 10(11), 1-10. https://doi.org/10.3390/plants10112325
- Bermejo, B. F. C., de la Fuente, M. C., Morales, S. G., Mendoza, A. B., & Rangel, A. S. (2021). Residuos de repollo para biocontrol de *Fusarium* spp. en el cultivo de tomate. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 26, 95-104.
- Brush, M. J., Giani, M., Totti, C., Testa, J. M., Faganeli, J., Ogrinc, N., ... & Umani, S. F. (2020). Eutrophication, harmful algae, oxygen depletion, and acidification. En T. C. Malone, A. Malej & J. Faganeli (Eds.). *Coastal Ecosystems in Transition* (pp. 75-104). Hoboken, Nueva Jersey, USA: John Wiley & Sons, Ltd. https://doi.org/10.1002/9781119543626.ch5
- Čabilovski, R., Manojlović, M. S., Popović, B. M., Radojčin, M. T., Magazin, N., Petković, K., ... & Lakićević, M. D. (2023). Vermicompost and vermicompost leachate application in strawberry production: Impact on yield and fruit quality. *Horticulturae*, 9(3), 1-12. https://doi.org/10.3390/horticulturae9030337
- Chaudhry, A. H., Nayab, S., Hussain, S. B., Ali, M., & Pan, Z. (2021). Current understandings on magnesium deficiency and future outlooks for sustainable agriculture. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1-12. https://doi.org/10.3390/ijms22041819
- Coelho, A. R. F., Ramalho, J. C., Lidon, F. C., Marques, A. C., Daccak, D., Pessoa, C. C., ... & Reboredo, F. H. (2022). Foliar spraying of Solanum tuberosum L. with CaCl₂ and Ca(NO₃)₂: interactions with nutrients accumulation in tubers. *Plants*, *11*(13), 1-18. https://doi.org/10.3390/plants11131725
- Demir, H., Sönmez, İ., Uçan, U., & Akgün, İ. H. (2023). Biofertilizers improve the plant growth, yield, and mineral concentration of lettuce and broccoli. *Agronomy*, 13(8), 1-12. https://doi.org/10.3390/agronomy13082031
- Dhayalan, V., & Karuppasamy, S. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria in promoting sustainable agriculture. *Global Journal of Environmental Science and Management, 7*(3), 1-18.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L. A., Tablada, E. M., & Robledo, C. W. (2018). *InfoStat versión 2020 User's Guide*. Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat.
- Dubey, S., Guignard, F., Pellaud, S., Pedrazzetti, M., van der Schuren, A., Gaume, A., ... & Dubey, O. (2021). Isothiocyanate derivatives of glucosinolates as efficient natural fungicides. *PhytoFrontiers™*, 1(1), 40-50. https://doi.org/10.1094/PHYTOFR-08-20-0010-R
- Dzvene, A. R., & Chiduza, C. (2024). Application of biofertilizers for enhancing beneficial microbiomes in push-pull cropping systems: A review. *Bacteria*, 3(4), 271-286. https://doi.org/10.3390/bacteria3040018
- Gocheva, Y., Stoyancheva, G., Miteva-Staleva, J., Abrashev, R., Dishliyska, V., Yovchevska, L., ... & Krumova, E. (2024). Fungal phytases as useful tools in agricultural practices. *Agronomy*, 14(12), 1-17. https://doi.org/10.3390/agronomy14123029
- Gómez-Ramírez, L. F., & Uribe-Vélez, D. (2021). Phosphorus solubilizing and mineralizing *Bacillus* spp. contribute to rice growth promotion using soil amended with rice straw. *Current Microbiology*, 78(3), 932-943. https://doi.org/10.1007/s00284-021-02354-7
- Grzebisz, W., Zielewicz, W., & Przygocka-Cyna, K. (2023). Deficiencies of secondary nutrients in crop plants—a real challenge to improve nitrogen management. *Agronomy*, *13*(1), 1-30. https://doi.org/10.3390/agronomy13010066
- Grzyb, A., Wolna-Maruwka, A., & Niewiadomska, A. (2021). The significance of microbial transformation of nitrogen compounds in the light of integrated crop management. *Agronomy*, 11(7), 1-27. https://doi.org/10.3390/agronomy11071415
- Guo, L., Li, H., Cao, X., Cao, A., & Huang, M. (2021). Effect of agricultural subsidies on the use of chemical fertilizer. *Journal of Environmental Management*, 299(8), 113621. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113621

- Han, S. E., Kim, K. Y., & Maung, C. E. H. (2024). *Bacillus subtilis* PE7-mediated alleviation of phosphate starvation and growth promotion of netted melon (*Cucumis melo* L. var. reticulatus Naud.). *Microorganisms*, 12(12), 1-17. https://doi.org/10.3390/microorganisms12122384
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1938). The water-culture method for growing plants without soil. *University of California, College of Agriculture, 347*, 39. Jadwisieńczak, K. K., Majkowska-Gadomska, J., Francke, A., & Kaliniewicz, Z. (2023). An evaluation of the physical and chemical parameters in brassica seedlings grown on various organic substrates. *Applied Sciences, 13*(16), 1-14. https://doi.org/10.3390/app13169124
- Jeschke, V., Weber, K., Moore, S. S., & Burow, M. (2019). Coordination of glucosinolate biosynthesis and turnover under different nutrient conditions. Frontiers in Plant Science, 10, 1-17. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01560
- Jezek, J., Haggett, B. G. D., Atkinson, A., & Rawson, D. M. (1999). Determination of glucosinolates using their alkaline degradation and reaction with ferricyanide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11), 4669-4674. https://doi.org/10.1021/jf9906026
- Jote, C. A. (2023). The impacts of using inorganic chemical fertilizers on the environment and human health. *Organic and Medicinal Chemistry International Journal*, 13(3), 1-9.
- Jun, S. E., Shim, J. S., & Park, H. J. (2023). Beyond NPK: Mineral nutrient-mediated modulation in orchestrating flowering time. *Plants*, 12(18), 1-27. https://doi.org/10.3390/plants12183299
- Kang, S. M., Khan, A. L., Waqas, M., Asaf, S., Lee, K. E., Park, Y. G., ... & Lee, I. J. (2019). Integrated phytohormone production by the plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus tequilensis* SSB07 induced thermotolerance in soybean. *Journal of Plant Interactions*, 14(1), 416-423. https://doi.org/10.1080/17429145.2019.1640294
- Khan, M. T., Aleinikovienė, J., & Butkevičienė, L. M. (2024). Innovative organic fertilizers and cover crops: Perspectives for sustainable agriculture in the era of climate change and organic agriculture. *Agronomy*, 14(12), 1-29. https://doi.org/10.3390/agronomy14122871
- Koirala, A., & Brözel, V. S. (2021). Phylogeny of nitrogenase structural and assembly components reveals new insights into the origin and distribution of nitrogen fixation across bacteria and archaea. *Microorganisms*, 9(8), 1662. https://doi.org/10.3390/microorganisms9081662
- Kováčik, P., Šimanský, V., Smoleń, S., Neupauer, J., & Olšovská, K. (2022). The effect of vermicompost and earthworms (*Eisenia fetida*) application on phytomass and macroelement concentration and tetanic ratio in carrot. *Agronomy*, 12(11), 1-20. https://doi.org/10.3390/agronomy12112770
- Kroh, G. E., & Pilon, M. (2020). Regulation of iron homeostasis and use in chloroplasts. *International Journal of Molecular Sciences, 21*(9), 1-30. https://doi.org/10.3390/ijms21093395
- Kudeyarov, V. N. (2020). Nitrous oxide emission from fertilized soils: An analytical review. *Eurasian Soil Science*, 53(10), 1396-1407. https://doi.org/10.1134/S1064229320100105
- Lal, R. (2020). Soil organic matter and water retention. Agronomy Journal, 112, 3265-3277. https://doi.org/10.1002/agj2.20282
- Liebman, S. E., & Le, T. H. (2021). Eat your broccoli: Oxidative stress, nrf2, and sulforaphane in chronic kidney disease. *Nutrients*, 13(1), 1-18. https://doi.org/10.3390/nu13010266
- Liu, X., Ren, X., Tang, S., Zhang, Z., Huang, Y., ... & Sun, Y. (2023). Effects of broccoli rotation on soil microbial community structure and physicochemical properties in continuous melon cropping. *Agronomy*, 13(8), 1-19. https://doi.org/10.3390/agronomy13082066
- Luna-Ortega, J. G., Cervantes-Vázquez, T. J. A., Zúñiga-Gracia, D. A., Preciado-Rangel, P., Márquez-Mendoza, J. I., Lugo-Palacios, A. D., & Gallegos-Robles, M. A. (2025). Bacterias Nativas como Alternativa Sostenible en el Rendimiento de Chile Serrano. *Terra Latinoamericana*, 43, 1-9. https://doi.org/10.28940/terra.v43i.2156
- Maffia, A., Oliva, M., Marra, F., Mallamaci, C., Nardi, S., & Muscolo, A. (2025). Humic substances: Bridging ecology and agriculture for a greener future. *Agronomy*, 15(2), 1-33. https://doi.org/10.3390/agronomy15020410
- Majkowska-Gadomska, J., Kaliniewicz, Z., Francke, A., Sałata, A., & Jadwisieńczak, K. K. (2024). An evaluation of the biometric parameters and chemical composition of the florets, leaves, and stalks of broccoli plants grown in different soil types. *Applied Sciences*, 14(11), 1-11. https://doi.org/10.3390/app14114411
- Manasa, M., Ravinder, P., Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., Sayyed, R. Z., El Enshasy, H. A., ... & Hameeda, B. (2021). Co-inoculation of *Bacillus* spp. for growth promotion and iron fortification in sorghum. *Sustainability*, 13(21), 1-14. https://doi.org/10.3390/su132112091
- Mariscal-Méndez, A., Ramírez-Miranda, C. A., & Pérez-Sánchez, A. (2017). Soberanía y seguridad alimentaria: Propuestas políticas al problema alimentario. *Textual: Análisis Del Medio Rural Latinoamericano*, 69, 9-26. https://doi.org/10.5154/r.textual.2017.69.001
- Masondo, N. A., Kulkarni, M. G., Rengasamy, K. R., Pendota, S. C., Finnie, J. F., & Van Staden, J. (2016). Effect of vermicompost leachate in *Ceratotheca triloba* under nutrient deficiency. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(236), 1-10. https://doi.org/10.1007/s11738-016-2252-1
- Meena, M., Swapnil, P., Divyanshu, K., Kumar, S., Harish, Tripathi, Y. N., ... & Upadhyay, R. S. (2020). PGPR-mediated induction of systemic resistance and physiochemical alterations in plants against the pathogens: Current perspectives. *Journal of Basic Microbiology*, 60(10), 828-861. https://doi.org/10.1002/jobm.202000370
- Mishra, P., Singh, P. P., Singh, S. K., & Verma, H. (2019). Sustainable agriculture and benefits of organic farming to special emphasis on PGPR. In A. Kumar, A. K. Singh, & K. K. Choudhary (Eds.). Role of plant growth promoting microorganisms in sustainable agriculture and nanotechnology (pp. 75-87). Cambridge, United Kingdom: Woodhead Publishing. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817004-5.00005-1
- Mishra, S., Levengood, H., Fan, J., & Zhang, C. (2024). Plants under stress: Exploring physiological and molecular responses to nitrogen and phosphorus deficiency. *Plants*, 13(22), 3144. https://doi.org/10.3390/plants13223144
- Mohamed, M. H., Ali, M., Eid, R. S., El-Desouky, H. S., Petropoulos, S. A., Sami, R., ... & Zewail, R. M. (2021). Phosphorus and biofertilizer application effects on growth parameters, yield and chemical constituents of broccoli. *Agronomy*, 11(11). 1-16. https://doi.org/10.3390/agronomy11112210
- Nagraj, G. S., Chouksey, A., Jaiswal, S., & Jaiswal, A. K. (2020). Broccoli. In A. K. Jaiswal (Ed.), *Nutritional composition and antioxidant properties of fruits and vegetables* (pp. 5-17). London, United Kingdom: *Academic Press*. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812780-3.00001-5
- Naguib, A. E. M. M., El-Baz, F. K., Salama, Z. A., Hanaa, H. A. E. B., Ali, H. F., & Gaafar, A. A. (2012). Enhancement of phenolics, flavonoids and glucosinolates of broccoli (*Brassica olaracea*, var. italica) as antioxidants in response to organic and bio-organic fertilizers. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11(2), 135-142. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2012.03.001
- Naorem, J., Sarkar, A., Bihari, C., Adhikary, N. K., Kanaujia, S. P., Maiti, C. S., ... & Shil, S. (2024). Effect of different sources of concentrated organic inputs and bio-fertilizers on growth, yield and quality of broccoli cv calabrese. *Environment and Ecology*, 42(3A), 1194-1200. https://doi.org/10.60151/envec/IXAR8456
- Pahalvi, H. N., Rafiya, L., Rashid, S., Nisar, B., & Kamili, A. N. (2021). Chemical fertilizers and their impact on soil health. En G. H. Dar, R. A. Bhat, M. A. Mehmood, & K. R. Hakeem (Eds.), Microbiota and biofertilizers, Vol. 2: Ecofriendly tools for reclamation of degraded soil environs (pp. 1-20). Cham, Suiza: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61010-4_1
- Payen, S., Cosme, N., & Elliott, A. H. (2021). Freshwater eutrophication: spatially explicit fate factors for nitrogen and phosphorus emissions at the global scale. *International Journal of Life Cycle Assessment*, 26(2), 388-401. https://doi.org/10.1007/s11367-020-01847-0

- Petiole LTD (2019). Petiole: Mobile leaf area meter User's Guide. Londres, Reino Unido: Petiole LTD.
- Petkowicz, C. L. O., & Williams, P. A. (2020). Pectins from food waste: Characterization and functional properties of a pectin extracted from broccoli stalk. Food Hydrocolloids, 107, 105930. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105930
- Petrovska, R., Bugmann, H., Hobi, M. L., Ghosh, S., & Brang, P. (2022). Survival time and mortality rate of regeneration in the deep shade of a primeval beech forest. European Journal of Forest Research, 141(1), 43-58. https://doi.org/10.1007/s10342-021-01427-3
- Ramos-Salazar, R. A., Villarreal-Mendoza, R., Robledo-Torres, V., & Hernández-Pérez, A. (2022). Éfecto de rizobacterias solubilizadoras de calcio en caracteres agronómicos y minerales de *Tagetes erecta*. *Biotecnia*, 24(2), 149-154. https://doi.org/10.18633/biotecnia.v24i2.1621
- Raven, P. H., & Wagner, D. L. (2021). Agricultural intensification and climate change are rapidly decreasing insect biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(2), 1-6. https://doi.org/10.1073/pnas.2002548117
- Rivera-Martin, A., Reynolds-Marzal, D., Martin, A., Velazquez, R., & Poblaciones, M. J. (2021). Combined foliar zinc and nitrogen application in broccoli (Brassica oleracea var. italica L.): Effects on growth, nutrient bioaccumulation. Agronomy, 11(3), 1-11. https://doi.org/10.3390/agronomy11030548
- Rodríguez-Ortiz, J. C., Carballo-Méndez, F. D. J., Preciado-Rangel, P., Hernández-Coronado, M. D. C., Rodríguez-Fuentes, H., & Lozano-Cavazos, C. J. (2021). Broccoli seedling production in response to recognised organic inputs. *International Journal of Agriculture and Biology*, 26(3), 436-442.
- Román, J., Lagos, A., Mahn, A., & Quintero, J. (2024). The effect of broccoli glucosinolates hydrolysis products on *Botrytis cinerea*: A potential new antifungal agent. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(14), 1-17. https://doi.org/10.3390/ijms25147945
- Rothenberg, G. (2023). A realistic look at CO₂ emissions, climate change and the role of sustainable chemistry. Sustainable Chemistry for Climate Action, 2, 100012. https://doi.org/10.1016/j.scca.2023.100012
- Sadzawka, R., Carrasco, M. A., Demanet, R., Flores, H., Grez, R., Mora, M. de la L., & Neaman, A. (2007). *Métodos de análisis de tejidos vegetales* (2.ª ed.). Santiago, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
- Saini, S., Kumar, S., Yadavb, S., Jat, K., Singh, U. & Yadav, N. (2024). Effect of bio-fertilizers on growth attributes of broccoli (*Brassica oleracea* var. italica L.). *International Journal of Plant & Soil Science*, 36(12), 367-372. https://doi.org/10.9734/ijpss/2024/v36i125210
- Saste, D. N., Danawale, N. J., Mane, M. S., Khedkar, D. D., & Kale, K. D. (2024). Effect of different fertigation levels and microbial consortia on yield and economics of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. italica) under drip irrigation and plastic mulch. *Journal of Agriculture Research and Technology*, 49(2), 357-362. https://doi.org/10.56228/JART.2024.49221
- Sakata Seed America (2023). Broccoli Master Guide. Woodland, CA, USA: Sakata.
- Singh, T. K., & Sharma, C. K. (2024). Effect of different bio fertilizers on yield and quality attributes of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. italica) under gwalior condition of India. *Plant Archives* (09725210), 24(2), 1506-1512. https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2024.v24.no.2.211
- Soumare, A., Diedhiou, A. G., Thuita, M., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Gopalakrishnan, S., & Kouisni, L. (2020). Exploiting biological nitrogen fixation: A route towards a sustainable agriculture. *Plants*, 9(8), 1-22. https://doi.org/10.3390/plants9081011
- Srivastav, A. L., (2020). Chemical fertilizers and pesticides: Role in groundwater contamination. En M. N. V. Prasad (Ed.). *Agrochemicals detection, treatment and remediation: Pesticides and chemical fertilizers* (pp. 143-159). Oxford, UK: Butterworth-Heinemann. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-103017-2.00006-4
- Sun, J., Jin, L., Li, R., Meng, X., Jin, N., Wang, S., ... & Yu, J. (2023). Effects of different forms and proportions of nitrogen on the growth, photosynthetic characteristics, and carbon and nitrogen metabolism in tomato. *Plants*, 12(24), 1-30. https://doi.org/10.3390/plants12244175
- Syed, K. (2024). Ferredoxins: functions, evolution, potential applications, and challenges of subtype classification. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(9), 1-15. https://doi.org/10.3390/cimb46090574
- Tejada, M., Gonzalez, J. L., Hernandez, M. T., & Garcia, C. (2008). Agricultural use of leachates obtained from two different vermicomposting processes. *Bioresource Technology*, 99(14), 6228-6232. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.031
- Thakur, S., Sharma, A. K., Thakur, K., Sharma, S., Gudeta, K., Hashem, A., ... & Abd_Allah, E. F. (2023). Differential responses to integrated nutrient management of cabbage-capsicum-radish cropping sequence with fertilizers and plant-growth-promoting-rhizobacteria. *Agronomy*, 13(7), 1-13. https://doi.org/10.3390/agronomy13071789
- Tränkner, M., Jákli, B., & Tavakol, E. (2016). Magnesium deficiency decreases biomass water-use efficiency and increases leaf water-use efficiency and oxidative stress in barley plants. *Plant and Soil, 406, 409-423.* https://doi.org/10.1007/s11104-016-2886-1
- Vanegas-Torres, A., Tish, N., & Rodov, V. (2022). Enhancement of glucosinolate formation in broccoli sprouts by hydrogen peroxide treatment. *Foods*, 11(5), 1-16. https://doi.org/10.3390/foods11050655
- Voutsinos-Frantzis, O., Ntatsi, G., Karavidas, I., Neofytou, I., Deriziotis, K., Ropokis, A., ... & Savvas, D. (2022). Exploring the simultaneous effect of total ion concentration and K:Ca:Mg ratio of the nutrient solution on the growth and nutritional value of hydroponically grown Cichorium spinosum L. Agronomy, 12(9), 1-14. https://doi.org/10.3390/agronomy12092214
- Wairich, A., De Conti, L., Lamb, T. I., Keil, R., Neves, L. O., Brunetto, G., ... & Ricachenevsky, F. K. (2022). Throwing copper around: How Plants control uptake, distribution, and accumulation of copper. *Agronomy*, 12(5), 1-29. https://doi.org/10.3390/agronomy12050994
- Wickramasinghe, W., Girija, D., Gopal, K. S., & Kesevan, S. (2021). Multi-phasic nitrogen fixing plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer for rice cultivation. *Research Journal Agricultural Sciences*, 12(2), 399-404.
- Wu, H., MacDonald, G. K., Galloway, J. N., Zhang, L., Gao, L., Yang, L., ... & Yang, T. (2021). The influence of crop and chemical fertilizer combinations on greenhouse gas emissions: A partial life-cycle assessment of fertilizer production and use in China. *Resources, Conservation and Recycling*, 168, 105303. https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2020.105303
- Yan, M., Song, C., Su, S., Li, J., Hu, Z., Lin, S., ... y Yan, X. (2023). Quantification and diversity analyses of glucosinolates in 191 broccoli genotypes highlight valuable genetic resources for molecular breeding. *Agronomy*, 13(12), 1-11. https://doi.org/10.3390/agronomy13122928
- Yang, M., Huang, A., Wen, R., Tian, S., Mo, R., Zhai, R., ... & Zou, C. (2025). Identification of the arl1 locus controlling leaf rolling and its application in maize breeding. *Molecular Breeding*, 45(9), 1-18. https://doi.org/10.1007/s11032-024-01534-0
- Yatoo, A. M., Bhat, S. A., Ali, M. N., Baba, Z. A., & Zaheen, Z. (2022). Production of nutrient-enriched vermicompost from aquatic macrophytes supplemented with kitchen waste: Assessment of nutrient changes, phytotoxicity, and earthworm biodynamics production of nutrient-enriched vermicompost from aquatic macrophytes supple. *Agronomy*, 12(6), 1-19. https://doi.org/10.3390/agronomy12061303
- Yildirim, E., & Turan, M. (2013). Growth, yield and mineral content of broccoli intercropped with lettuce. The Journal of Animal & Plant Sciences, 23(3), 919-922.
- Yildirim, E., Karlidag, H., Turan, M., Dursun, A., & Goktepe, F. (2011). Growth, nutrient uptake, and yield promotion of broccoli by plant growth promoting rhizobacteria with manure. HortScience horts, 46(6), 932-936. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.46.6.932
- Zavatta, M., Muramoto, J., Milazzo, E., Koike, S., Klonsky, K., Goodhue, R. & Shennan, C. (2021). Integrating broccoli rotation, mustard meal, and anaerobic soil disinfestation to manage verticillium wilt in strawberry. Crop Protection, 146, 105659. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105659