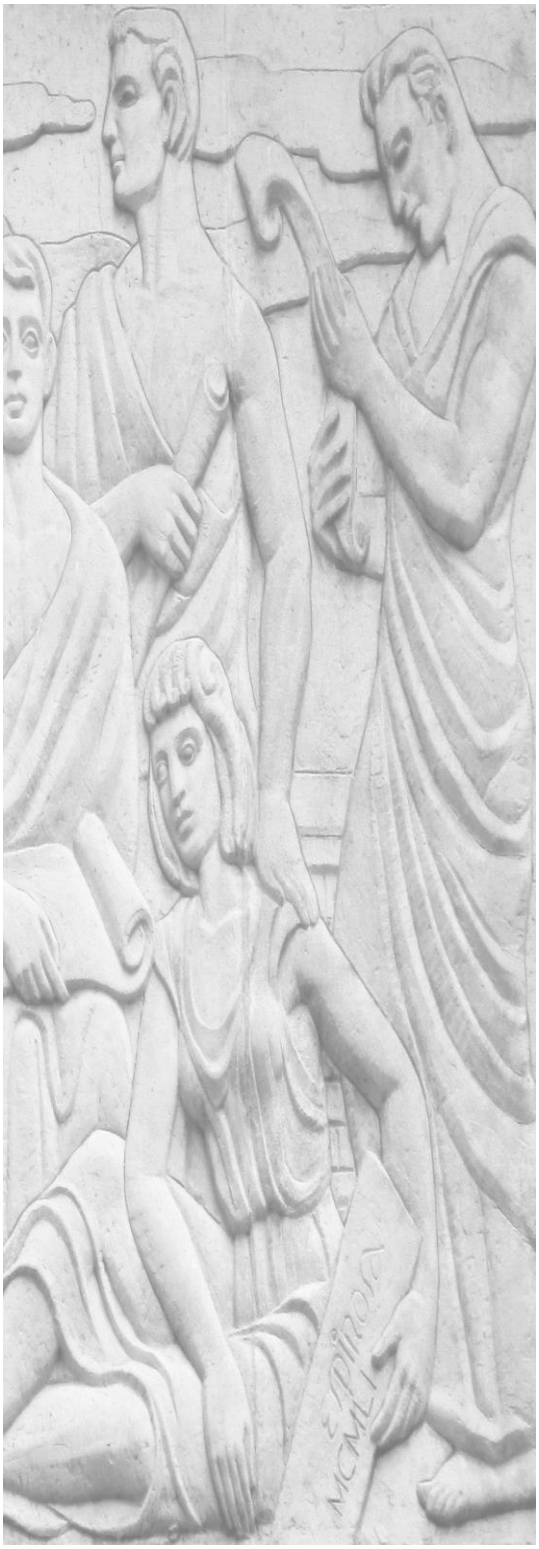
UNIVERSIDAD DE ORIENTE



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

EFECTOS BIOESTIMULANTES DE *BREVIBACILLUS* SP. B65 SOBRE EL CULTIVO DE *VIGNA UNGUICULATA* SUBSP. *SESQUIPEDALIS*

Tesis presentada en opción al Título Académico de Máster en Biotecnología

Mención Ambiental

Autora**: Ing. Iraida Bayard Vedey**

Tutora: **Dra. C. Teresa Orberá Ratón**

-2020-

DEDICATORIA

A Mi mamá, por siempre estar presente para mí y para toda la familia, por su abnegación, por su laboriosidad y por ser una guerrera.

A la memoria de mi padre, por su educación y por inculcarnos la necesidad de estudiar y ser independientes, a pesar de solo haber alcanzado el cuarto grado.

A Bruno Manuel Alarcón Bayard, el gran amor de mi vida, para que nunca ceje en el empeño de ser un gran Profesional de la Ingeniería Biomédica.

A la memoria mi Tío Angel Suárez Bubaire, por su silencio ensordecedor.

AGRADECIMIENTOS

A toda mi Familia por darme la posibilidad de realizar mis estudios, por todo el apoyo, cariño y esfuerzo constante durante todos estos años (Mi mamá, Taty, Cuquito, Ernestico)

A mi tutora la Dra.C Teresa de los Milagros Orberá, por brindarme tiempo, conocimiento y apoyo para la realización de este trabajo, por abrirme las puertas hacia el maravilloso mundo de los microorganismos.

A la profe Catalina, por darme la oportunidad para hacer esta Maestría a mis gloriosos 50 años y por sus consejos.

Al claustro de profesores y trabajadores del CEBI por su profesionalidad y enseñanzas; quiero que sepan que los admiro mucho.

A Raulito por su gran cariño, por su amor y comprensión, por su ayuda y disposición constante para la realización de esta tesis.

A Pablo Columbié Abella, Director de la UEB Semillas Santiago de Cuba por su apoyo incondicional desde el mismo momento en que decidí hacer esta maestría, por su colaboración, por sus ideas. Gracias.

A Yadira López, mi compañera de estudios, por el pacto que hicimos de no rendirnos y de llegar hasta el final por difícil que fuera el camino.

A mis compañeros de la Planta de Beneficio, en especial a Germán por siempre creer en mí.

A Juan Larduet por su cooperación y por el arranque.

A Sisi y a la China, por su alegría y su optimismo.

A todos los trabajadores de Biofábrica Santiago por abrirme las puertas, en especial a su directora MSc. Irene Mustelier Palenzuela por depositar su confianza en mi trabajo y a Leo por su ayuda, responsabilidad y apoyo desinteresado.

A mis amigos de toda la vida, por brindarme su gran amistad, cariño y apoyo constante durante todos estos años, por siempre estar a mi lado en los malos y buenos momentos, ellos saben quiénes son.

A mi equipo de trabajo del Departamento de Personal de la Delegación Provincial de la Agricultura en esta última etapa por su apoyo.

A todas las personas que de una forma u otra me ayudaron y me brindaron colaboración en la realización de este trabajo.

A todos Muchas Gracias.

RESUMEN

En la presente investigación se estudió el efecto estimulador del crecimiento, el desarrollo y rendimiento productivo, que ejerce la bacteria rizosférica *Brevibacillus* sp. B65 sobre el cultivo de Habichuela china. Se utilizaron semmilas cetificadas de *Vigna unguiculata,* subsp. *unguiculata* L. cv. Sesquipedalis, variedad Lina, tropical y autóctona para Cuba y un biopreparado de la rizobacteria autóctona *Brevibacillus* sp. B65, donada por la Colección de Cultivos del CEBI. Los experimentos se realizaron en la Biofábrica de Vitroplantas de Santiago de Cuba. La siembra se realizó en canteros a cielo abierto. Se diseñó un experimento con 4 tratamientos consistentes en semillas tratadas con la bacteria B65 sembradas en suelo sin fertilizar (T1) y fertilizado con materia orgánica (T2), semillas sin inocular sembradas en suelo tratado con materia orgánica (T3) y en suelo fertilizado con NPK (T4). Los efectos de los tratamientos sobre el cultivo se estudiaron mediante la evaluación de la germinación de las semillas, la formación de flores, frutos, hojas y raíces, el crecimiento de la planta, así como sobre el rendimiento productivo del cultivo. También se realizó la caracterización química del suelo antes y después del cultivo y se recogieron los datos climáticos en la zona del experimento durante la duración del mismo. Se reporta por primera vez el aumento del contenido de potasio disponible en el suelo cultivado con Habichuela china y tratado con un aislado del género *Brevibacillus*. Se determinó el efecto bioestimulante de la bacteria B65 suplementada con materia orgánica sobre la germinación y la emergencia de las plántulas, la emergencia floral y la altura de planta, con diferencias estadísticamente significativas sobre los restantes tratamientos. Los efectos bioestimulantes y biofertilizantes de B65 sobre la leguminosa se atribuyeron a la capacidad de producir y excretar las fitohormonas etileno y ácido indolacético y la biodisponibilización de nutrientes esenciales para las plantas como el fósforo y el potasio.

Palabras claves: Habichuela-china, *Brevibacillus*, bioestimulante, biofertilizante, organopónico, fósforo, potasio, AIA, etileno.

ABSTRACT

In the current research the biostimulant and biofertilizer effect of the plant growth promoter rhizobacteria *Brevibacillus* sp. B65 on Yardlong bean was studied. The experiment was conducted at open sky conditions in the In-vitro plant factory, Biofábrica of Santiago de Cuba. There were used certified seeds of *Vigna unguiculata,* subsp. *unguiculata* L. cv. Sesquipedalis, tropical variety Lina, autochthonous to Cuba and a fluid inoculum of the bacterial isolate *Brevibacillus* sp. B65, gently donated by CEBI- Culture Collection. Plant growth promotion of Yardlong bean was assessed through the effects of four different treatments on seed germination, flowering, fruits, leaves and roots formation, as well as on plant growth and yield increase. The four experimental treatments were: fluid inoculum of B65 (T1), fluid inoculum of B65 suplemented with organic matter (T2), organic matter alone (T3) and NPK inorganic fertilizer (T4). Chemical characterisation of soil samples before and after seed's planting was done. Moreover, data from climatologic parameters during the period of the experiment was collected, as well. It was reported by the first time the increase of potassium content in soil samples cultivated with Yardlong bean and treated with an isolate of *Brevibacillus* sp. In addition, it was reported the biostimulant effect of *Brevibacillus* sp. B65 on Yardlong bean seed's germination and plantlets emergence, flower emergence and plant heigh, with statistics differences in compare with the remaining treatments. Biostimulant and biofertilizer effects of B65 on legume species were attributed to the strain production of plant hormones like indolacetic acid and ethylene, as well as solubilization and plant availability increase of essential nutrients like phosphorous and potassium.

Key words: Yardlong bean, *Brevibacillus*, bioestimulant, bio-fertilizer, organoponics, phosphorous, potassium, IAA, ethylene.

Contenido

I. INTRODUCCION 1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 4
I.1. Características generales y agronómicas del cultivo de Habichuela china. 4
II.2. Actividad estimuladora del crecimiento vegetal de las bacterias de la clase Bacilli. 8
III. MATERIALES Y MÉTODOS 13
III.1. Especie vegetal 13
III.2. Preparación del inóculo de *Brevibacillus* sp. B65 13
III.3. Inoculación de las semillas con el biopreparado bacteriano 13
III.4. Diseño del experimento 13
III.4. Caracterización química del suelo 14
III.6. Evaluación de los parámetros estimuladores del crecimiento vegetal 14
III.7. Análisis estadístico 15
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 16
IV.1. Efectos de *Brevibacillus* sp. B65 sobre la germinación y la formación de flores, frutos, hojas y raíces en cultivos de Habichuela china 16
IV.2. Efectos de *Brevibacillus* sp. B65 sobre el crecimiento de Habichuela china 23
IV.3. Efectos de *Brevibacillus* sp. B65 sobre la productividad de Habichuela china 25
– ***Brevibacillus* sp. B65 podría contribuir al incremento del rendimiento productivo de *V. unguiculata* subsp. *unguiculata* a través de la biodisponibilización de potasio.** 25
- **Influencia del clima y la calidad nutricional del suelo sobre el cultivo de Habichuela china.** 27
V. CONCLUSIONES 29
VI. RECOMENDACIONES 30
VII. BIBLIOGRAFÍA i
ANEXOS xiii
Anexo 1 xiii
Anexo 2. ..... **xiv**

I. INTRODUCCION

La sociedad contemporánea enfrenta una serie de retos fundamentales y de carácter global, de cuya resolución adecuada depende en buena parte el futuro mismo de la existencia de la vida sobre el planeta. Ellos se refieren esencialmente a encontrar formas tecnológicas de producción de bienes y servicios que cumplan a su vez con la doble función de asegurar la permanencia, calidad y sostenibilidad de los recursos de la naturaleza y de asegurar la calidad de vida de las poblaciones que emergen y evolucionan en diferentes formaciones culturales alrededor del mundo (León y Altieri, 2010).

Los agroecosistemas se consideran los sistemas agrícolas de mayor riqueza de la biodiversidad, un ejemplo de esto, se encuentra en la agricultura urbana. La agricultura es el principal sector de crecimiento económico de los países en desarrollo (Nehra, et al., 2016), entre los cuales se encuentra Cuba. Sin embargo, en los sistemas de producción contemporáneos, la mayoría de los cultivos son muy exigentes respecto a la demanda de fertilizantes químicos, provocando impactos negativos en los agro ecosistemas, como lixiviación de nitratos, contaminación de recursos hídricos y emisiones gaseosas, causando daños irreparables al ecosistema y al medio ambiente en general (Zahid et al., 2015; Vejan et al., 2016). El empleo de las rizobacterias estimuladoras del crecimiento vegetal (*Del inglés:* plant growth promoting bacteria [PGPB]) como biofertilizantes es una opción sustentable para favorecer la disponibilidad de los elementos nutritivos, el crecimiento de las plantas y los rendimientos productivos (Vessey, 2003).

En el mundo son diversas las especies de leguminosas cuyas vainas pueden ser consumidas como habichuelas verdes (Ramos, 2018). En Cuba la especie más explotada tradicionalmente es *Vigna unguiculata* L. Walp sub especie sesquipedalis, conocida comúnmente como habichuela china o habichuela larga (Ponce y Casanova, 1999). Las estructuras de las plantas de habichuela china son fuentes de alimentos humano y animal; en África las hojas verdes son importantes para el consumo humano. También se consumen las vainas inmaduras y a menudo mezcladas con otros alimentos (Kamala et al., 2014). En el Oeste de África, en la India, Estados Unidos de América y México se consume el grano seco y la vaina verde. Es considerado un excelente alimento como verdura por su alto contenido de proteínas, carbohidratos, vitaminas A y C (Davis et al., 1991) y minerales carentes en muchos otros alimentos básicos (CIAT, 1998). Esta planta puede ser cultivada en suelos ácidos y bajo condiciones de elevadas temperaturas (Tofiño et al., 2018) y como todas las especies de *Vigna,* la cosecha es tolerante a la sequía, así como a valores altos de humedad y salinidad (Boukar et al., 2018).

En la provincia Santiago de Cuba, el cultivo de habichuela se siembra fundamentalmente en la época de primavera (ACTAF, 2010), sin embargo, aún persisten los bajos niveles de productividad de los cultivos (Arumugam et al., 2017). En estudios recientes se han publicado los efectos positivos que ejercen los fertilizantes orgánicos sobre la habichuela china (Islam et al., 2016). Sin embargo, las estrategias de fertilización más beneficiosas deben ser aquellas que combinan el uso de fertilizantes orgánicos, el mejoramiento genético y los microorganismos estimuladores del crecimiento vegetal. Por otra parte, para producir hortalizas de manera intensiva sobre sustratos orgánicos y favorecer la

obtención de altos rendimientos en estos cultivos, se requiere de una adecuada disciplina tecnológica, además de la fertilización orgánica, la que debe complementarse con productos bioactivos, que estimulan el crecimiento y desarrollo de las plantas; además de ser inocuos y no contaminantes del medio ambiente (Izquierdo, 2015).

Los biofertilizantes y estimuladores del crecimiento vegetal son ampliamente utilizados a nivel mundial y en Cuba en la nutrición de cultivos de importancia económica (João et al., 2016; Apáez et al., 2016; Nápoles et al., 2016; Mujica et al., 2017). La fertilización de semilleros de hortalizas en los organopónicos se realiza con substratos orgánicos como el humus de lombriz de tierra y el compost (Wright, 2009). El humus incrementa el contenido de nutrientes esenciales y mejora la estructura del suelo, pero carece de fitohormonas, las cuales influyen directamente sobre el crecimiento de las plantas (Hidalgo et al., 2006). Las hormonas vegetales pueden ser suministradas a las plantas a través de la actividad fisiológica de las bacterias rizosféricas estimuladoras del crecimiento vegetal (PGPB) (Compant, 2010).

Basados en las consideraciones antes señaladas, así como la importancia de la aplicación de estas alternativas agroecológicas y la determinación de su influencia en el suministro de nutrientes para el crecimiento y productividad del cultivo de la habichuela surge la interrogante ¿Cómo lograr un desarrollo agroproductivo satisfactorio de las hortalizas en condiciones de organopónico, disminuyendo la aplicación de fertilizantes químicos?

Los estudios de los efectos estimuladores sobre el crecimiento de las plantas que producen las bacterias del género *Brevibacillus* se limitan a pocas especies como *Brev. laterosporus* con una fuerte actividad nematicida (Kumar et al., 2011; Zeigler, 2013) antifúngica y elevado potencial antibacteriano (Edwards y Seddon, 2001; Singh et al., 2012). Sin embargo, los aislados del género también pueden ejercer efectos como bioestimulantes a través de la producción de fitohormonas tales como ácido indolacético (AIA) y giberelinas, así como la disponibilización de nutrientes minerales en el suelo como el zinc (Zeigler, 2013).

La bacteria rizosférica *Brevibacillus* sp. B65 fue aislada a partir de muestras de raíces de caña de azúcar cultivada sin fertilizantes químicos ni orgánicos. Estudios *in vitro* mostraron las potencialidades de este microorganismo como estimulante del crecimiento vegetal, a través de la solubilización de fosfato de calcio y la producción de las fitohormonas etileno y AIA (Orberá, 2012). La inoculación de cultivos hortícolas con un biopreparado de B65 corroboró sus potencialidades como biofertilizante al estimular la germinación de las semillas, así como el crecimiento vegetativo y el desarrollo de las especies vegetales, tales como ají chay, berenjena y remolacha cultivadas en condiciones de organopónico. Igualmente, se determinó un incremento de los rendimientos productivos de dichos cultivos en presencia del inoculante bacteriano (Orberá *et al*., 2012; Nápoles *et al*., 2014; Téllez-Soria y Orberá, 2018).

Brevibacillus sp. B65 resultó positiva al ensayo de reducción de acetileno (ARA) y crece en condiciones de anarobiosis en medio exento de nitrógeno combinado (Orberá *et al*., 2012). Lo anterior sugiere que este microorganismo pudiera estimular el crecimiento y los

rendimientos productivos en cultivos de leguminosas a través de aumento del contenido de proteínas en los granos, principales partes comestibles de estos cultivos. Por otro lado, Peña et al (2017) demostró la respuesta positiva de la habichuela china cultivada en organopónico, a la aplicación de hongos micorrizógenos utilizados como biofertilizantes. Sin embargo, los efectos de los biopreparados de bacterias del género *Bravibacillus* sobre habichuelas y otras legumbres altamente demandadas como alimento humano, aún no han sido estudiados.

Planteamiento del Problema: ¿Es posible incrementar los niveles productivos de habichuela china, mediante la fertilización del cultivo con un biopreparado de *Brevibacillus* sp. B65 suplementado con materia orgánica en condiciones de organopónico, que permitan lograr un desarrollo agroproductivo satisfactorio disminuyendo la aplicación de fertilizantes químicos?

Por lo anterior nos propusimos la siguiente **hipótesis** de trabajo: Los biopreparados de la bacteria *Brevibacillus* sp. B65 poseen propiedades bioestimulantes de la germinación, el crecimiento vegetal y los rendimientos productivos de cultivos de habichuela (*Vigna unguiculata subsp. sesquipedalis*).

Para dar cumplimiento a la hipótesis nos planteamos el siguiente **objetivo general**:

Evaluar el efecto bioestimulante de la bacteria rizosférica *Brevibacillus* sp. B65 sobre cultivos de *Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis*.

Objetivos específicos:

1. Evaluar los efectos de la bacteria rizosférica *Brevibacillus* sp. B65 suplementada y sin suplementar con materia orgánica, así como los fertilizantes tradicionales NPK y materia orgánica, sobre la germinación de las semillas, así como sobre la floración y fructificación, y la formación de hojas y raíces en Habichuela china cultivada en condiciones de organopónico.

2. Evaluar los efectos de la bacteria rizosférica *Brevibacillus* sp. B65 suplementada y sin suplementar con materia orgánica, así como los fertilizantes tradicionales NPK y materia orgánica, sobre el crecimiento vegetativo de Habichuela china cultivada en condiciones de organopónico.

3. Evaluar los rendimientos productivos del cultivo de Habichuela china en condiciones de organopónico inoculado con *Brevibacillus* sp. B65 suplementada y sin suplementar con materia orgánica, así como los fertilizantes tradicionales NPK y materia orgánica.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

I.1. Características generales y agronómicas del cultivo de Habichuela china.

Bajo la denominación *"Vigna"* se reconocen múltiples especies del género *Vigna* con características de plantas muy diferentes por su longitud de tallo, hábitos de crecimiento, color, tamaño y forma de sus granos, así como de su ciclo productivo. Se considera originaria del continente de África, donde existe una amplia diversidad genética, extendiéndose posteriormente por Asia y América, resultando una alternativa interesante para los agricultores de estos países, por la posibilidad de manejar precios relativamente estables, por su contenido nutricional y su demanda por parte de los consumidores (Vázquez et al., 2012).

La habichuela china *(Vigna unguiculata L. Walp*) es entre las leguminosas una de las especies más importantes para el consumo humano. Su producción abarca áreas agro-ecológicas diversas. América Latina es la zona de mayor producción y consumo, se estima que más del 45% de la producción mundial total proviene de específicamente del sur de México, Bolivia y Perú, donde se encuentran incluso formas silvestres que se cruzan sin dificultad con especies cultivadas. En la actualidad, se calcula que anualmente se siembran 1 200 ha, y su producción equivale al 10% de la producción total de hortalizas. Aunque existen diferentes variedades en el mercado, el 90% del área cultivada está ocupada con las variedades Lina y Cantón (FAO, 2010). La variedad Lina, es la más aceptada por los productores y consumidores en Cuba. Posee vainas que presentan buena exposición para la cosecha y crecen separadas del suelo. Por la forma de crecimiento de la planta, se facilitan las labores de cultivos. Su consecha inicia entre los 48 y 52 dias después de sembrada. Las semillas son de color crema rayada en rojo; las flores son de color violeta y las vainas verde oscuras. La altura del vástago floral es de 51cm, la longitud de vaina es de 34,1 com y el peso oscila alrededor de los 7,4g. Se puede sembrar todo el año, pero su época óptima de cultivo se extiende entre los meses de mayo y octubre, los cuales coinciden con el período lluvioso en países de clima tropical como Cuba. El ciclo económico tiene una duración de 60 a 90 días después de sembrado y el rendimiento productivo oscila entre 2.5 – 3.5 Kgm^2.

Esta hortaliza, requiere para alcanzar altos rendimiento, la disponibilidad de alternativas sostenibles, en la que van a jugar un papel protagónico los bioestimulantes y fertilizantes orgánicos, destacándose los brasinoesteroides y el Enerplant, así como el humus de lombriz, los que están encaminados a la disminución del uso de productos químicos debido a que estos, entre otros daños, ocasionan un efecto negativo sobre el medio ambiente (Pita, 2001). Es cultivada tanto para vaina verde como para grano, en otras regiones es también utilizada como forraje verde, concentrado de proteína, cultivo de cobertura y enlatados industriales. Otros países donde el cultivo se le ha prestado atención son Estados Unidos por minorías asiáticas, en la Cuenca del Caribe y Brasil (Purseglove, 1984).

- **Clasificación taxonómica.**

Según Duke (1981) la clasificación de la Habichuela china es la siguiente:

Reino:	*Plantae*
División:	*Magnoliophyta*
Clase:	*Magnoliopsida*
Subclase:	*Rosidae*
Orden:	*Fabaceales*
Familia:	*Fabaceae*
Subfamilia:	*Faboideae*
Tribu:	*Phaseoleae*
Género:	*Vigna*
Especie:	*Vigna unguiculata (L) Walp*
Subespecie	*sesquipedalis*

Los estudios acerca del cultivo de esta especie son escasos. En Cuba solo unos pocos trabajos se enfocan hacia la Habichuela china, su botánica, cultivo, productividad y beneficios (Ortiz y Vera, 2001 y Boicet et al., 2013); sin embargo, Shagarodsky et al., (2003) reporta la habichuela entre las legumbres más demandadas por la población y vendida durante los once meses del año en los mercados de La Habana.

En nuestro país la habichuela tiene una amplia demanda, destacándose dentro de las hortalizas por su participación en el consumo diario en muchos hogares de la población, resultando ser una de las prioridades fundamentales para la agricultura urbana; sin embargo, la especie que se consume es la perteneciente al género *Vigna sesquipedalis*.

- **Descripción botánica.**

En Fery (2002) se indica que la habichuela es una planta herbácea anual, de forma arbustiva, de crecimiento determinado e indeterminado, cuya altura varía de 0.3 a 2 m. La raíz principal puede alcanzar hasta 2 m de profundidad y las laterales desarrollan una retícula cónica. Forman nódulos que son producidos por bacterias fijadoras de nitrógeno de la atmósfera. Las hojas son de color verde obscuro, trifolioladas con largos peciolos y estípulas auriculadas, pubescente y puntiagudo con el terminal de mayor tamaño que las laterales que son asimétricas.

Las flores constan de un cáliz con cinco sépalos y una corola con 5 pétalos. Suelen tener 10 estambres que pueden estar todos soldados en una única estructura o dispuestos en dos grupos, uno de nueve y otro de uno. Algunas especies también presentan los estambres libres. El gineceo es súpero, es decir, está situado por encima de las demás piezas florales y en la mayor parte de los casos consta de un único carpelo, estructura portadora del óvulo. Polinización autógama. (Ramos, R. y Sánches, E. Minag, 2018).

El fruto es una legumbre generalmente larga, vainas largas, estrechas, colgantes, comprimidas sobre las semillas las cuales están muy próximas entre sí, con curvaturas más o menos acentuadas, dehiscentes, la longitud puede variar de 15 a 60 cm. Las

semillas de color, forma y tamaño variable, pueden ser blancas, cremas, amarillas, purpuras, pardas o negras, también existen multicoloreadas, ya sea veteadas o moteadas. La superficie puede ser lisa o corrugada (Duke, 1981).

- **Suelos para el cultivo de la Habichuela china.**

Los suelos para este cultivo deben ser fértiles, profundos, con pH entre 5,8 a 6,5; con buen drenaje interno y externo. Los suelos arcillosos pesados no son apropiados, en cambio los ligeros con buena capacidad para mantener la humedad son muy favorables para el desarrollo del sistema radicular (Ramos, R. y Sánches, E. Minag, 2018.

La habichuela china, variedad Lina es arbustiva de crecimiento determinado. Las vainas presentan buena exposición para la cosecha y crecen separadas del suelo. Por la forma de crecimiento de la planta, se facilitan las labores de cultivo. Inicia la cosecha entre 48-52 días.

- **Ecología del cultivo.**

Para un crecimiento óptimo de la habichuela china, la siembra debe ser en suelos profundos, fértiles, sin problemas de salinidad, con buen drenaje interno y externo. Los suelos arcillosos, pesados no son apropiados, en cambio los ligeros con buena capacidad para mantener la humedad son muy favorables para el desarrollo del sistema radicular. El pH entre 5.5 a 6.5 (Nielsen, 1996). Es un cultivo de clima cálido, muy adaptado a zonas de los trópicos húmedos, también se puede desarrollar en zonas templadas. Es tolerante al calor y condiciones secas, sin embargo, es sensible a las heladas; con temperaturas de 5 a 7 °C se tienen problemas con la germinación; siendo la temperatura óptima entre 18 y 20 °C (Davis et al., 1991). Prospera en lugares con precipitación entre 650 a 2000 mm. Es moderadamente tolerante a la sequía, ya que se puede desarrollar a precipitación menor de 400 mm. (Tropical Forages, 2008).

- **Prácticas agronómicas**.

La siembra puede hacerse en forma mecanizada o manual en hilera sencilla o doble. La separación entre las hileras sencillas puede ser de 50, 60 y 70 cm. Cuando se utilizan hileras dobles se recomienda separarlas a 40 cm, dejando las calles a 60 cm (Jolibois, 1983). La profundidad de siembra debe ser de 2-4 cm. En canteros dos hileras separadas de 40 a 50 cm entre ellas.

- **Épocas de siembra**.

Se siembra cuando las lluvias no son intensas, procurando que estas no sobrepasen la época de fructificación, ya que si continúa lloviendo las plantas mantienen su desarrollo emitiendo nuevas flores y manteniendo el follaje verde, dificultándose la cosecha, debido a que algunas vainas están secas y el resto está verde. La planta presenta una maduración no uniforme de ahí la importancia de lograr que tanto la vaina como la planta sequen de forma simultánea (Jolibois, 1983). El grupo de las habichuelas chinas son propias para cultivarse en los meses de primavera verano por su resistencia a las altas temperaturas y humedad relativa en esta época (ACTAF, 2010). En Cuba se cultiva

durante todo el año, gracias a que tiene una composición de variedades tradicionales e introducidas de una amplia adaptabilidad, aunque el período óptimo es de mayo hasta octubre (Ramos et al., 2010)

- **Nutrición.**

La inoculación con *Rhizobium* es indispensable, ésta puede dar buenos rendimientos en suelos fértiles sin hacer aplicaciones de fertilizantes de fórmula completa. Inoculando *Rhizobium* a la semilla y añadiendo de 20 a 30 Kg/ha de N, diez días antes de la floración, se pueden alcanzar los mejores rendimientos. La inoculación con *Rhizobium*, más la aplicación de otros bioestimulantes como las Micorrizas, con dosis de 5 Kg/ha y el Fitomás a razón de 2 l/ha, es otra práctica que puede disminuir las aplicaciones de fertilizantes de fórmula completa necesitando solamente 30 – 90 – 60 Kg/ha de N – P2O5 – K2O antes de siembra. En caso de no disponer de *Rhizobium* o que se sembrará en suelos poco fértiles, antes de realizar la siembra, se aplicará fertilizante de fórmula completa y 10 días antes de la floración se aplicará Urea, como suplemento. En la época de primavera la aplicación de nitrógeno debe hacerse con mucho cuidado, pues esta especie puede dar menor producción si se propicia un desarrollo excesivo del follaje, por tanto, es necesario evaluar el estado del follaje para decidir la aplicación. Como indicación general se aplican antes de la siembra, los siguientes niveles de nutrientes: N (60 Kg/Ha), P (150 Kg/Ha) y K (150 Kg/Ha) (Ramos *et al*., 2018).

- **Propiedades medicinales**.

El grano del Habichuela China posee propiedades diuréticas. Puede ser utilizado en el tratamiento de la obesidad, por su riqueza en fibras naturales y taninos. También se usa para la prevención de diabetes y astringencia (Fery, 2002). En comunidades europeas las semillas se utilizan para curar problemas digestivos (Duke, 1981). La composición nutricional de la especie vegetal se relaciona en la Tabla No.1.

Tabla 1. Composición nutricional de la especie de cultivo habichuela china (*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*).

Componentes nutricionales	**Cantidad** *(100g de materia seca)*
Energía	47 kcal 197 kJ
Carbohidratos	8.35 g
Grasas	0.4 g
Proteínas	2.8 g
Retinol (vit. A)	43 µg (5%)
Tiamina (vit. B1)	0.107 mg (8%)
Riboflavina (vit. B2)	0.11 mg (7%)
Niacina (vit. B3)	0.41 mg (3%)
Ácido pantoténico (vit. B5)	0.55 mg (11%)
Vitamina B6	0.024 mg (2%)
Calcio	50 mg (5%)
Hierro	0.47 mg (4%)
Magnesio	44 mg (12%)
Manganeso	0.205 mg (10%)
Fósforo	59 mg (8%)
Potasio	240 mg (5%)
Sodio	4 mg (0%)
Zinc	0.37 mg (4%)

II.2. Actividad estimuladora del crecimiento vegetal de las bacterias rizosféricas.

- **Efectos beneficiosos de las bacterias rizosféricas sobre las plantas.**

La expresión Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) fue acuñada por J. W. Kloepper y M. N. Schroth en 1978, para describir las bacterias que habitan la rizósfera (Barea et al., 2005) y que afectan positivamente el desarrollo de las plantas (Labra-Cardón et al., 2012). La riqueza y diversidad de estos grupos microbianos se favorecen por los exudados radicales que constituyen fuentes de nutrientes y energía para su desarrollo (Gray y Smith, 2005).

Estas bacterias colonizan activamente el sistema radicular para favorecer y mejorar su crecimiento y rendimiento (Berendsen et al., 2012). Representan alrededor del 2 al 5 % de las bacterias rizosféricas (Jha y Saraf, 2015). Son especies nativas del suelo que colonizan las raíces e inciden directa e indirectamente sobre el crecimiento de las plantas a través de complejos mecanismos fisiológicos. Las bacterias rizosféricas se clasifican, teniendo en cuenta los estratos sucesivos en los cuales se ubican en el suelo adherido a las raíces, en el rizoplano, en los espacios de la zona cortical de las raíces y en los nódulos (Hayat et al., 2010).

Las PGPB ejercen efectos benéficos en las plantas a través de mecanismos directos e indirectos, o una combinación de ambos (Beauchamp, 1993; Kloepper, 1993; Kapulnik, 1996; Lazarovits y Nowak, 1997; Aguado-Santacruz et al., 2012; Parray et al.,2016). Los mecanismos directos son aquellos donde la bacteria produce un metabolito o actividad capaz por sí misma de estimular el crecimiento vegetal. Aquí se incluye la producción de volátiles bacterianos estimulantes y de fitohormonas, la disminución del nivel de etileno en la planta, la mejora del estado nutricional mediante la liberación de fosfatos y micronutrientes de fuentes insolubles, la fijación no simbiótica de nitrógeno, y la estimulación de mecanismos de resistencia a enfermedades vegetales (Jacobsen, 1997).

Los efectos indirectos, en cambio, se originan cuando los PGPR liberan algún metabolito que afecta a otros factores rizosféricos provocando una mejora o estimulación del crecimiento de la planta. De esta manera, actúan como agentes de biocontrol reduciendo las enfermedades, estimulando otras simbiosis beneficiosas, o protegiendo a la planta degradando xenobióticos en suelos contaminados (Jacobsen, 1997).

Las funciones beneficiosas que desarrollan fueron resumidas por Hayat et al. (2010), do Vale et al. (2010) y (Esquivel-Cote, 2013) e incluyen: síntesis de la enzima 1-aminociclopropano -1- carboxilato desaminasa (ACC), producción de hormonas vegetales, fijación biológica de nitrógeno molecular y control biológico de especies fitopatógenas, entre otras.

- **Incremento de la disponibilidad de fósforo en suelos agrícolas.**

Varios procesos importantes de la fisiología vegetal están asociados a la nutrición del fósforo y determinan el papel limitante de este elemento para el desarrollo de las plantas. Entre estos se encuentran el crecimiento de las raíces, el aumento de la robustez de los tallos, de la floración y la formación de semillas. De igual manera, el P incide en la fijación

biológica de nitrógeno en las leguminosas, en la calidad y el rendimiento de los cultivos, así como la resistencia de las plantas a las enfermedades (Khan et al., 2009). En los suelos tropicales, generalmente ácidos, la dinámica del fósforo tiene lugar a través de procesos químico – físicos (sorción – desorción) y biológicos (inmovilización – mineralización) (Khan et al., 2007; Khan et al., 2009). La baja disponibilidad del nutriente en el suelo se debe a su capacidad de asociarse con diferentes elementos metálicos para formar sales de calcio, hierro y aluminio; también puede ser adsorbido por el barro o integrase a la materia vegetal formando compuestos orgánicos fosforados recalcitrantes (Khan et al., 2007; Jorquera et al., 2011).

Los mecanismos utilizados por las bacterias del suelo y la rizosfera para la solubilización del fosfato de calcio y otras sales inorgánicas de fósforo, incluyen la disminución del pH del medio que rodea el cultivo bacteriano, la formación de complejos entre los ácidos orgánicos y los iones metálicos de las sales de fósforo y la competencia por los sitios de unión de los grupos fosfato al barro o la arcilla (Khan et al., 2007; Khan et al., 2009).

Cepas de *Bacillus y Paenibacillus* realizan solubilización y mineralización de sales de P asociadas a la estimulación del crecimiento vegetal. Estudios recientes informan la solubilización de sales de fosfato de calcio y fosfato de aluminio por bacterias del género *Brevibacillus* (Hayat et al., 2010). La búsqueda de aislados de BAFE (Bacterias Formadoras de Endosporas) solubilizadoras de fosfatos, ha permitido la identificación de especies nuevas pertenecientes al grupo, como es el reciente hallazgo de *Paenibacillus telluris* PS38 (T) sp nov (Lee et al., 2011).

- **Producción de fitohormonas y reguladores del crecimiento vegetal.**

Las rizobacterias estimuladoras del crecimiento vegetal sintetizan y exportan hormonas vegetales, los cuales son compuestos orgánicos que actúan a muy bajas concentraciones, regulando el crecimiento y el desarrollo de las plantas. Existen 5 grupos de fitohormonas producidas por bacterias rizosféricas que son las auxinas, giberelinas, citoquinas, etileno y ácido abscísico (Hayat et al., 2010).

El ácido indol-3-acético (AIA) es la auxina de mayor importancia para el desarrollo de las plantas, estimulando su crecimiento a través del aumento de la elongación, la división y la diferenciación celular (Hayat et al., 2010). El etileno es una hormona de estructura química muy simple y de naturaleza gaseosa, cuya adición en pequeñas cantidades despliega varios efectos en las especies vegetales, entre los que se encuentran la aceleración de la maduración de los frutos, la gemación y la germinación de las semillas. Interviene en los procesos de abscisión de las hojas, floración, formación de raíces adventicias en semillas vegetativas y en la senescencia (Schooley, 1996). Las citoquinas aumentan la división celular, estimulan la germinación de las semillas, la formación de los cotiledones y el crecimiento de las hojas. (Schooley,1996; Pessarakli, 2001; Hayat et al., 2010). Las giberelinas aumentan la velocidad de la mitosis y participan en la elongación del tallo (Schooley, 1996; Hayat et al., 2010). El ácido abscísico se produce cuando la planta está sometida a condiciones de estrés hídrico (Schooley, 1996)

La síntesis y excreción de hormonas vegetales se ha referido en cepas de *Bacillus* con actividad estimuladora del crecimiento vegetal. Los primeros trabajos de producción de etileno por estos microorganismos, hacen mención al aislado alcalófilo Bacillus ALK-7 (Bae y Kim, 1997). Recientemente, Lugtenberg y Kamilova (2009) publicaron datos de producción de etileno por aislados rizosféricos de *B. subtilis y B. amyloliquefaciens*. Existen muy pocos informes de producción de etileno por bacterias de la clase Bacilli, aspecto que podría deberse a los niveles de ACC desaminasa detectados en miembros del género (Raddadi et al., 2008; Sgroy et al., 2009). La ACC desaminasa hidroliza el precursor de la síntesis del etileno en plantas, disminuyendo las concentraciones del compuesto en el microambiente de la rizosfera (Vessey, 2003; Lugtenberg y Kamilova, 2009; do Vale et al., 2010).

La producción de niveles elevados de auxinas se determinó en aislados de *Bacillus y Paenibacillus* (Joseph et al., 2007; Egamberdieva, 2008; Ahmad et al. 2008). Estudios recientes demuestran el incremento de los niveles de enraizamiento en semillas vegetativas de kiwi y frijol tratadas con aislados de P. polymyxa, B. subtilis, B. megaterium y B. simplex, productores de AIA (Tsavkelova, et al., 2007; Ertuk et al., 2010).

Estas sustancias son moléculas indicadoras que actúan como mensajeros químicos que influyen en la capacidad de las plantas para responder a su entorno (Tahir y Aqeel, 2013). Regulan la expresión de genes implicados en el crecimiento y desarrollo vegetal, las cuales son sintetizadas en diferentes estructuras de la planta y su acción varía en función de los cambios ambientales que modifican la expresión génica del organismo (Molina-Romero et al., 2015) y generalmente son efectivas en pequeñas concentraciones (Tahir y Aqeel, 2013). Se ha establecido que también están implicadas en las vías de represión catabólica y regulación de la formación de biopelículas. Incluso, estas moléculas exhiben efectos específicos sobre la fisiología vegetal, como incrementar el volumen radicular, aumentar la tasa de respiración de la raíz de la planta hospedera y el flujo de protones en la membrana de la raíz; en consecuencia, se favorece la absorción de elementos minerales solubles (Molina-Romero et al., 2015).

El etileno es una hormona involucrada en numerosos procesos de la fisiología vegetal (Schooley, 1996; Mehdi, 2001) y participa como señal de activación de los mecanismos de defensa en las plantas (Weingart y Volksch, 1997). Los resultados presentados por Grichko y Glick (2001) estimaron que la producción de etileno ocurría en el 30% del total de los microorganismos aislados en muestras de suelo. Numerosas investigaciones han hecho referencia a la producción de etileno por hongos y bacterias de las especies *Escherichia coli, Pseudomonas syringae y Rhizobium trifolii* (Baca y Elmerich, 2003); sin embargo, los escasos trabajos publicados que abordan la producción de esta hormona en formadores de endosporas se restringen al género *Bacillus (*Bae y Kim, 1997).

- **Biofertilización**

El mejoramiento de la fertilidad del suelo ha sido una de las estrategias comúnmente utilizadas para incrementar la producción agrícola. Sin embargo, a través del tiempo, se ha vuelto evidente que el empleo de fertilizantes sintéticos aplicados solo del 10 al 40 % es asimilado por las plantas (Bhardwaj et al., 2014) y además, porque la pérdida de la

fertilidad de los suelos, en los sistemas de intensivos, ha obligado a los productores a incrementar el uso de estos fertilizantes para mantener su producción, a costa del incremento de los costos de producción y de los impactos ambientales (Cotler et al., 2016).

Por otro lado, a consecuencia del encarecimiento de los fertilizantes sintéticos, las escasas reservas naturales de algunos minerales, así como los grandes consumos energéticos para su producción, se ha promovido el uso de las alternativas biológicas, no solo como una necesidad en la producción agrícola (Barroso et al., 2015).

Se entiende por biofertilizantes todos aquellos productos que contienen microorganismos vivos, con capacidad para colonizar la rizósfera o el interior de las plantas, que aplicados al suelo y/o a éstas, a través de la inoculación, pueden vivir asociados o en simbiosis con las especies vegetales y les ayudan a su nutrición y protección, con ellos se pretende sustituir parcial o totalmente la aplicación de fertilizantes sintéticos, y reducir su efecto contaminante (Mishra y Dash, 2014). La inoculación de biofertilizantes que contienen bacterias rizosféricas ha provocado incrementos significativos en la productividad de los cultivos agrícolas (Armenta- Bojórquez et al., 2010).

Mishra y Dash (2014) elaboraron un listado de ventajas y desventajas inherentes al empleo de biofertilizantes, las cuales se describen a continuación:

Ventajas:

- El suministro de elementos nutritivos es más balanceado, y ayuda a mantener la salud de las plantas.

- Ayudan a incrementar la actividad biológica del suelo, con lo cual se mejora la movilización de elementos nutritivos y la descomposición de sustancias tóxicas.

- Incrementan la estructura del suelo, favoreciendo un mejor crecimiento radicular

- Aumentan el contenido de materia orgánica (MO) del suelo, con lo cual se mejora la capacidad de intercambio catiónico, incrementan la retención de humedad, promueven la formación de agregados y amortiguan cambios bruscos contra acidez, alcalinidad, salinidad, pesticidas y metales pesados tóxicos.

- Liberan de forma gradual o lentamente elementos nutritivos y contribuyen a la reserva residual de N y P orgánicos del suelo, reduciendo las pérdidas de N por lixiviación y la fijación de P y también pueden suministrar micro elementos nutritivos.

- Ayudan a suprimir enfermedades y parásitos transmitidas por organismos nativos del suelo.

La importancia del uso de este tipo de producto radica en su capacidad para suplementar o movilizar nutrientes con un mínimo de recursos no renovables, en que generan procesos microbianos rápidos, se aplican en pequeñas dosis y permiten solucionar

problemas locales específicos. Se ha demostrado que el empleo de la inoculación con microrganismos benéficos en los cultivos permite ahorrar fertilizantes químicos a niveles que oscilan entre 25 y 50%, además que con el uso de esta tecnología se realiza una importante contribución a la protección del medio ambiente, el establecimiento de los cultivos, protegiéndolos contra el estrés, en tanto se incrementan los rendimientos agrícolas entre 10 y 20% (Funes y Vázquez, 2016).

- **Sustratos Orgánicos**

El abono orgánico es el material resultante de la descomposición natural de la materia orgánica por acción de los microorganismos presentes en el medio, los cuales digieren los materiales, transformándolos en otros benéficos que aportan nutrimentos al suelo y, por tanto, a las plantas que crecen en el. Es un proceso controlado y acelerado de descomposición de los residuos, que puede ser aeróbico o anaerobio, dando lugar a un producto estable de alto valor como mejorador del suelo (Libreros, 2012).

La agricultura orgánica es una forma de producir sosteniblemente, disminuyendo el uso de fertilizantes y plaguicidas (Soto, 2008). Resulta importante incrementar la eficiencia de utilización de los fertilizantes para evitar la degradación ambiental. Para ello, es necesario implementar tecnologías que permitan la aplicación de estos en el sitio y cultivo específico con el fin de cumplir la demanda del mismo (Delgado, 2006).

Los abonos orgánicos constituyen un elemento crucial para la regulación de muchos procesos relacionados con la productividad agrícola; son bien conocidas sus principales funciones, como sustrato o medio de cultivo, cobertura o mulch, mantenimiento de los niveles originales de materia orgánica del suelo y complemento o reemplazo de los fertilizantes de síntesis; este último aspecto reviste gran importancia, debido al auge de su implementación en sistemas de producción limpia y ecológica (Medina et al., 2010).

Los abonos orgánicos tienen altos contenidos de nitrógeno mineral y cantidades significativas de otros elementos nutritivos para las plantas (Cegarra et al., 1993). Dependiendo del nivel aplicado, originan un aumento en los contenidos de materia orgánica del suelo, en la capacidad de retención de humedad y en el pH (Courtney et al., 2008), también aumentan el potasio disponible, el calcio y el magnesio. En cuanto a las propiedades físicas, mejoran la infiltración de agua, la estructura del suelo y la conductividad hidráulica; disminuyen la densidad aparente y la tasa de evaporación, así como promueven un mejor estado fitosanitario de las plantas (Andrea, 2004).

Los sustratos se preparan a base de mezclas de diferentes materiales degradados de la capa vegetal, en dicha mezcla un componente esencial es el suelo porque en él se encuentra la vida biológica, es decir microorganismos (diferentes cepas rizobacterianas) que hacen posible la nutrición de las plantas y además están presentes otros nutrimentos para las mismas (Rodríguez Nodals, 2005).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó durante los meses de febrero a mayo de 2019 en parcelas de la Biofábrica de Santiago de Cuba ubicada en la carretera de Siboney Km 5½, La Redonda, perteneciente a la Empresa Productora y Comercializadora de semillas de este territorio, subordinada al Ministerio de la Agricultura.

III.1. Especie vegetal

El cultivo corrsponde a la especie de leguminosa Habichuela china (*Vigna unguiculata,* subsp. *unguiculata* L. cv. Sesquipedalis) (Boukar *et al*., 2018). Se utilizó la variedad Lina, la cual es una variedad agrícola tropical y autóctona para Cuba (Ortiz, 2001). La siembra se realizó a partir de semillas certificadas por el Sistema de Inspección y Certificación de Semillas (SICS) de Santiago de Cuba. Esta variedad es de crecimiento determinado, por lo que no necesita tutores.

III.2. Preparación del inóculo de *Brevibacillus* sp. B65

Como inoculante bacteriano se utilizó una cepa autóctona de *Brevibacillus* sp. B65 depositada en la Colección de Cultivos del Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI) de la Universidad de Oriente. Esta bacteria fue aislada a partir de rizosfera de *Saccharum* sp (caña de azúcar) y se identificó a través del análisis de secuencias parciales del gen ARNr 16S. Las secuencias genéticas se encuentran depositadas en el Centro Nacional de Información para Biotecnología (Del Ingés: NCBI (National Centre for Biotechnology Information), con el número de acceso FJ480186 (www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/FJ480186) (Orberá et al., 2012).

La preparación del inóculo bacteriano se realizó a partir del método reportado por Nápoles et al (2014), consistente en el uso del biopreparado compuesto por la bacteria crecida durante 24 hrs a 120 rpm en Caldo Nutriente BIOCEN, sin centrifugar, a una concentración bacteriana de 10^6 mL^{-1}.

III.3. Inoculación de las semillas con el biopreparado bacteriano

Para la inoculación, las semillas de Habichuela china fueron embebidas durante 20 min antes de la siembra, en la suspensión de *Brevibacillus* sp. B65 anteriormente referida. La siembra se realizó de forma directa, a razón de 2 semillas por nidos en canteros de 2 m de largo x 1 m de ancho. El suelo utilizado fue de tipo Renzina Roja, típico, el que se encuentra en la categoría agroproductiva IV (muy poco productiva), sustentado sobre caliza dura, carbonatado, medianamente profundo (20-50 cm), con fuerte erosión y muy pedregoso. Son suelos recomendados para la siembra de forestales y ganadería.

III.4. Diseño del experimento

Se utilizó un diseño en bloques al azar con cuatro tratamientos, los cuales se describen en la Tabla 2. Se realizaron 4 réplicas por cada tratamiento. Para la medición de las variables que caracterizaron el crecimiento y desarrollo de las plantas se seleccionaron

10 plantas por cada cantero y se desecharon las plantas de los extremos para evitar el efecto de borde. Las semillas se sembraron en canteros con un marco de plantación de (0.60 x 0.15) m. Las atenciones culturales aplicadas fueron las establecidas por el Ministerio de la Agricultura (MINAG) para el cultivo de Habichuela china, según lo establecido en el Manual Técnico para Organopónicos y Huertos Intensivos (Martínez, 2010). La fertilización orgánica y con NPK fue realizada una sola vez previa a la siembra de las semillas. Las variables medidas fueron porcentaje de germinación de las semillas (%), cantidad de flores (N), cantidad de vainas por plantas (N), largo de las vainas (cm) y cantidad de semillas por vaina (N). Los datos se refieren en los histogramas presentados en las figuras que se muestran en la sección de resultados y discusión.

Fueron recogidos los valores de temperatura máxima, mínima y media, así como la humedad relativa y las precipitaciones mensuales durante el período comprendido entre febrero y mayo de 2018 y 2019, los que fueron certificados por el Centro Provincial de Meteorología de Santiago de Cuba y que aparecen referidos en el Anexo 1. Estos valores fueron utilizados en el análisis y discusión de los resultados cuando fue pertinente.

III.4. Caracterización química del suelo

Se realizó la caracterización química del suelo antes y después del cultivo de Habichuela china bajo los diferentes tratamientos de fertilización que se refieren anteriormente. El análisis de suelo se realizó en el Laboratorio de Servicio Agroquímico del Departamento Provincial de Suelos, perteneciente a la Delegación Provincial de la Agricultura en la provincia de Granma.

Se analizaron 68 muestras de suelo procedentes de los canteros destinados a la siembra de la Habichuela china. Las muestras de suelo fueron colectadas abarcando una profundidad de 5 cm de la superficie del suelo, a razón de 10 muestras por cada tratamiento. Se determinó el pH, contenido de potasio (K) y fósforo (P). El contenido de K se expresó en miligramos (mg) de dióxido de potasio (K_2O) por cada 100 mg de suelo analizado, mientras que el P se expresó en miligramos de pentóxido de difósforo (P_2O_5) por cada 100 g de suelo analizado. La caracterización de las muestras de suelo se realizó atendiendo a las Normas Cubanas para el Análisis de Suelos Agrícolas (NC 51 y 52-1999). Los resultados que muestran los valores de pH del suelo antes y después de la siembra, el contenido de N y P, así como la clasificación del suelo atendiendo a su composición nutricional, se muestran en la Tabla 2.

III.6. Evaluación de los parámetros estimuladores del crecimiento vegetal

Las variables a medir fueron:

- Germinación de las semillas (%): Para determinar el porcentaje de germinación se hicieron conteos de las plantas germinadas a los 3, 6 y 9 días después de sembradas.

- Cantidad de flores (N), cantidad de vainas/planta (N), largo de las vainas (cm), cantidad de semillas/vainas, cantidad de hojas/plantas (N),

- Longitud del tallo y altura de la planta: A partir de la superficie del suelo hasta la yema apical del tallo (cm).

- Largo de la raíz central: Se midió a partir del cuello de la raíz (cm).

- Rendimiento por canteros (kg/m^2): Se determinó después de cosechar cada cantero, teniendo en cuenta el número de vainas por plantas, la masa fresca de las vainas y el número de plantas por metro cuadrado.

Los parámetros longitudinales se midieron con regla graduada y el pesaje se realizó en una balanza comercial. De igual manera se hicieron determinaciones a los 45 d (fase de inicio de cosecha) del número de flores y de vainas por planta. Las mediciones en la fase final del cultivo incluyeron el número de semillas por vainas, así como, la longitud, peso y rendimiento.

III.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó a través de un Análisis de Varianza de Clasificación Simple (ANOVA-I) a una significación estadística de $P < 0.05$. Las diferencias significativas entre las muestras de los diferentes tratamientos se determinaron mediante la prueba de comparación múltiple de Tukey a un 95% de confianza. Los datos correspondientes a la desviación standard y las diferencias estadísticas de las muestras reflejan en los histogramas y tablas de Resultados. El análisis estadístico se realizó a través del programa Prism 7 para Windows (Radushev *et al*., 2017).

Tabla 2. Descripción de los diferentes tratamientos de fertilización de Habichuela china evaluados en el presente experimento.

Tratamiento	Denomin.	Descripción	Siembra	Observaciones
T1	B65	Semillas de Habichuela china embebidas durante 20 min en biopreparado de *Brevibacillus* sp. B65	Suelo Renzina Roja típica, sin fertilizar	-
T2	B65 + MO	Semillas de Habichuela china embebidas durante 20 min en biopreparado de *Brevibacillus* sp. B65	Suelo Renzina Roja, típica, suplementado con materia orgánica (MO): Mezcla de estiércol vacuno fresco + cachaza de caña de azúcar (1:1)	Se adicionó una capa de 60 cm de MO en cada cantero previo a la siembra de las semillas
T3	MO	Semillas de Habichuela china sin inocular	Suelo Renzina Roja, típica, suplementada con MO: Mezcla de estiércol vacuno fresco + cachaza de caña de azúcar (1:1)	Se adicionó una capa de 60 cm de MO en cada cantero previo a la siembra de las semillas
T4	NPK	Semillas de Habichuela china sin inocular	Suelo Renzina Roja, típica, se adicionó fórmula completa del fertilizante NPK	Se adicionó a razón de 144 gm^2 (= 180 g por canteros)

Tabla 3. Caracterización química de las muestras de suelo procedentes de la Biofábrica – Santiago de Cuba utilizadas en el cultivo de Habichuela china (este experimento).

MINISTERIO DE LA AGRICULTURA
DEPARTAMENTO PROVINCVIAL DE SUELOS
Carretera Central No 371 % 1a y Manuel del Socorro Roberto Reyes. Bayamo. Granma
director@slo.grm.minag.gob.cu. Teléfonos 42 2757 y 42 3715
Resultados de Análisis de Suelos servicio Agroquímico

Empresa: UEB Semillas Santiago de Cuba | Provincia: Santiago de Cuba | Municipio: Santiago de Cuba | Año: 2019
Procedencia:
Cultivo: Habichuela China | Agroquímica # : 37 | Cantidad de Muestras: 68
Método analítico: Oniani | Fecha de entrega de análisis | Normas empleadas: NC 52-1999. NC 2001-2015

# de mtra	# de Lab	# de campo	Coordenadas	Productor o lugar	Lote	Área (ha)	pH KCl	Eval.	P2O5 mg/100g	Eval.	K2O mg/100g	Eval.	% MO	Eval.
29	107	1,1		Biofábrica			6,2	Neutro	+40	A	+100	A		
30	108	1,2		Biofábrica			6,7	Neutro	+40	A	85,71	A		
31	109	1,3		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	91,42	A		
32	110	1,4		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	77,14	A		
33	111	2,1		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	71,42	A		
34	112	2,2		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	+100	A		
35	113	2,3		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	80,0	A		
36	114	2,4		Biofábrica			6,7	Neutro	+40	A	60,0	A		
37	115	3,1		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	52,0	A		
38	116	3,2		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	74,28	A		
39	117	3,3		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	71,42	A		
40	118	3,4		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	36,362	A		
41	119	4,1		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	29,090	A		
42	120	4,2		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	23,636	A		
43	121	4,3		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	29,090	A		
44	122	4,4		Biofábrica			6,9	Neutro	+40	A	27,272	A		
45	123	AS		Biofábrica			6,8	Neutro	+40	A	36,362	A		

Leyenda:

AS: Muestras de suelo sin cultivar y sin fertilizar
Muestras (1,1; 2,1; 3,1 y 4,1): Suelo cultivado con Habichuela china fertilizado con B65
Muestras (2,1; 2,2; 3,3 y 4,2): Suelo cultivado con Habichuela china fertilizado con B65 + MO
Muestras (3,1; 3,2; 3,3 y 3,4): Suelo cultivado con Habichuela china fertilizado con MO
Muestras (4,1; 4,2; 4,3 y 4,4): Suelo cultivado con Habichuela china fertilizado con NPK

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El desarrollo de las plantas se mide a través de caracteres fenotípicos tales como la germinación de las semillas, floración y formación de frutos, así como la calidad de estos últimos, la formación de hojas y raíces. Otros parámetros permiten evaluar el crecimiento, entre estos se encuentran la altura de las plantas, la longitud y grosor del tallo. Los caracteres fenotípicos se utilizan además para estudiar la respuesta de los cultivos a la acción de fertilizantes y plaguicidas químicos, biofertilizantes y bioestimulantes. De igual manera, se utilizan para medir la adaptación de los cultivos al estrés climático y a la presencia de compuestos tóxicos en los suelos, así como la resistencia a plagas y enfermedades (Trivedi *et al*., 2012).

En la presente investigación se determinó la respuesta del cultivo de Habichuela china a la inoculación con una formulación de la nueva bacteria estimuladora del crecimiento vegetal *Brevibacillus* sp. B65, sola o combinada con materia orgánica, a través de la evaluación de caracteres fenotípicos del cultivo que determinan el crecimiento, desarrollo y rendimiento productivo. Como referente se utilizaron modalidades tradicionales de fertilización del cultivo, como son la materia orgánica y el fertilizante inorgánico NPK (fórmula completa). Los resultados y el análisis de los mismos se explican a continuación.

IV.1. Efectos de *Brevibacillus* sp. B65 sobre la germinación y la formación de flores, frutos, hojas y raíces en cultivos de Habichuela china

- **Germinación**

En la Figura 1 se muestra el análisis de la germinación de semillas de Habichuela china tratadas con *Brevibacillus* sp. B65, así como con fertilizante orgánico e inorgánico. Este indicador fue evaluado a los 3, 6 y 9 días después de la siembra del cultivo. Sin embargo, aquí solo se presenta el análisis de los resultados al tercer día después de la siembra, los cuales mostraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. El porciento más elevado de germinación se muestra en las semillas tratadas con la mezcla inoculante de B65 + materia orgánica (T2), lo que demuestra el efecto estimulante de la germinación en semillas de Habichuela china que ejerce este biopreparado, con diferencias significativas respecto a los tratamientos restantes. Las diferencias significativas entre los tratamientos a un 95% de confianza se observaron solo al 3er día posterior a la siembra. El valor más bajo de primordios germinados se observó a partir de semillas tratadas con fórmula completa (NPK), con diferencias altamente significativas respecto al resto de los tratamientos. No se encontraron diferencias entre las semillas tratadas con B65 (T1) y MO (T3).

En la investigación se informó por primera vez el efecto bioestimulante de la bacteria rizosférica *Brevibacillus* sp. B65 sobre el cultivo de Habichuela china, lo cual coincide con resultados similares obtenidos con esta bacteria en otras hortalizas cultivadas en organopónico, como son Ají Chay y Berenjena (Nápoles, et al 2014), así como, en Remolacha (Téllez – Soria et al 2018) y Moringa (Nápoles, 2017). La mezcla de

Brevibacillus sp. B65 + MO aceleró la germinación de las semillas en las primeras etapas de crecimiento de los cultivos, lo que se correlaciona con los niveles de etileno y AIA producidos por dicho microrganismo en condiciones *in vitro* (Orberá et al., 2012). El AIA estimula la elongación y la diferenciación celular en la zona de crecimiento activo de la raíz. Por otro lado, el etileno incide sobre la ruptura del estado de dormancia de las semillas, acelerando la germinación a partir de la emergencia (Pessarakli, 2001). De acuerdo con Nascimiento (2000), el etileno estimula la germinación de semillas a través de la ruptura del estado de latencia en varias especies. Puede interactuar con la luz y las giberelinas para promover la germinación de semillas de alfalfa.

Los resultados obtenidos en este trabajo corroboran experiencias similares. Marquina, et al (2018), en estudios realizados en pimentón *Capsicum annuum* corroboró que la cinética de germinación de las semillas inoculadas con las diferentes cepas (*Azospirillum* sp, *Rhizobium tropici*, *Sinorhizobium* sp, *Bradyrhizobium* sp) alcanzó el máximo germinativo al tercer día, acelerando la germinación en 24 horas con relación al control sin inocular. Reyes et al. (2008) observaron incrementos cercanos al 10 % en la germinación de semillas de pimentón inoculada con diferentes cepas bacterianas, entre ellas unas pertenecientes a los géneros *Azospirillum y Rhizobium*, resultados que son congruentes con los registrados en nuestro trabajo. De igual manera, Santillana et al. (2005) encontraron aumentos de 20 % de germinación en semillas de tomate inoculadas con diversas cepas de rizobios.

Igualmente, se corroboró que los substratos orgánicos utilizados en los Organopónicos, estiércol vacuno en este caso y el IHPlus, producen un efecto sinérgico en la actividad bioestimulante de B65. Esto puede deberse a que la bacteria es capaz de obtener C, N y otros nutrientes esenciales a partir de la degradación enzimática de substratos ricos en urea, celulosa y pectina, acelerando su crecimiento y potenciando la actividad fisiológica (Orberá et al., 2012), los cuales forman parte de la materia orgánica utilizada como suplemento, en este caso compuesta por una mezcla de estiércol vacuno y cachaza procedente de bagazo de caña de azúcar (Tabla 2). Esto lógicamente tiene relación estrecha con los resultados obtenidos como respuesta de la aplicación de los materiales orgánicos incorporados al suelo, pues aportan materia orgánica, nutrimentos y microorganismos, lo cual favorece la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas (Eghball et al., 2004 citados por Álvarez-Solís et al., 2010).

Estudios realizados en semillas que, luego de su almacenamiento, habían disminuido su viabilidad de 98 a 75 % fueron estimuladas por rizobacterias e incrementaron la germinación entre 13 y 23 %. Además, aceleraron en un día la máxima germinación respecto al control. Luego de 55 días de crecimiento, se registraron incrementos en longitud y peso seco de raíz y vástago de plantas inoculadas con YAC1 (Azospirillum) y Leu2A(1)2 (Sinorhizobium sp.) que habían recibido aplicaciones de triptófano. Se demostró que la inoculación de semillas de pimentón con rizobacterias, especialmente con Leu2A(1)2, representa una alternativa para incrementar su germinación y posterior crecimiento de la planta. (Marquina M.E, 2018). Nápoles et al. (2017) encontraron que el producto bioactivo natural Pectimorf ® y el bioproducto bacteriano elaborado con *Brevibacillus* sp. B65 de forma aislada, favorecieron el estadío inicial de crecimiento de *Moringa oleífera*; lo cual coincide con nuestros resultados en Habichuela china.

- **Floración**

En la La Figura 2 se exponen los resultados del análisis de la floración de Habichuela China tratadas con *Brevibacillus* sp. B65, así como con fertilización orgánica e inorgánica. Los conteos se realizaron entre los 37 – 40 d. En los días del 37 al 39 la emergencia floral fue muy baja en todos los tratamientos; sin embargo, a partir de los 40 d posterior a la siembra se produjo una explosión de la floración. En este momento, la mayor floración tuvo lugar en plantas tratadas con la mezcla de B65 + MO, sin diferencias significativas respecto a las plantas tratadas con B65 y materia orgánica de manera aislada. En este caso, también se observó una emergencia floral estadísticamente inferior en plantas fertilizadas sólo con NPK (Figura 2).

Como se aprecia, la floración fue superior en plantas tratadas con la bacteria inoculante suplementada o sin suplementar con MO, al igual que en plantas tratadas sólo con materia orgánica. La materia orgánica ejerció un efecto sinérgico sobre la actividad fisiológica de este microorganismo. La actividad bioestimulatente de B65 puede deberse a la producción de ácido indolacético por la bacteria *Brevibacillus sp*, así como solubilización de fósforo (P) y otros nutrientes disponibles en el substrato para la nutrición de las plantas. El aislado B65 produjo más de 4600 $ngmL^{-1}$ de AIA y de 300 mgL^{-1} de fosfato en condiciones óptimas de cultivo in vitro, reportadas previamente por Orberá et al (2012). Es evidente que el contenido de materia orgánica es el factor que más contribuye a la fertilidad del suelo, ya que es la fuente de nutrientes para las plantas y los microorganismos que en él existen. La materia orgánica es responsable de aumentar la porosidad del suelo, lo cual contribuye a su aireación, facilita la entrada y retención de agua, favorece la nutrición mineral y mantiene un adecuado balance hídrico en el suelo (Zúñiga et al., 2009).

Según reportes de la Andrea B., 2004 citado por Ramos y Terri, 2014, los abonos de origen orgánico, actúan aumentando las condiciones nutritivas del suelo, pero también mejoran su condición física, aportan materia orgánica, bacterias beneficiosas, en ocasiones hormonas y por supuesto también fertilizan. Además, Fuentes y Monzote (1997) hacen referencias a que la aplicación de materia orgánica en cultivos hortícolas de interés económico como la habichuela, es de gran importancia por el efecto que ejerce sobre el crecimiento y desarrollo del cultivo, así como por su influencia en la incorporación de nutrientes y el mejoramiento de las propiedades físico – químicas del suelo. Estudios previos informan la estimulación de la floración en especies de Bromelias por bacterias productoras de auxinas y cultivadas en suelo suplementado con estiércol vacuno (Schooley, 1996), lo cual coincide con las condiciones experimentales de la presente investigación. Las auxinas, como el ácido indolacético (AIA) constituyen reguladores hormonales de los procesos de floración y formación de los frutos. En el caso de la floración, la estimula no sólo a través de la emergencia floral, sino también el crecimiento de las diversas partes de la flor y la femineidad (Davies, 2014).

La estimulación de la floración en Berenjena y Ají Chay en cultivo a cielo abierto, ejercida por *Brevibacillus* sp B65, fue significativamente superior en plantas tratadas con la bacteria respecto a sus controles, lo cual fue informado previamente por Orberá et al (2014); y coincide con Schooley et al (1996), quienes reportaron los efectos del etileno

sobre la inducción de la floración en cultivos de Piña. Al respecto, Flores et al (2015), encontraron una respuesta positiva en la inoculación de plantas de fresa con *Rhizobium* sp. cepa PEPV16, cuyos resultados demuestran que estimula el crecimiento de las plantas con aumentos significativos en el número de estolones, flores y frutos. Del mismo modo se corrobora lo reportado por Ferrer et al. (1991), con el incremento del número de flores cuando se utilizan los HMA (hongos micorrizógenos arbusculares), que contribuyen a la nutrición, particularmente en la absorción de fósforo por las plantas, lo que destaca la importancia de añadir biofertilizantes a los cultivos para incrementar la producción. Arozarena (2005) reportó un incremento de la cantidad de flores cuando se combinó el estimulante natural del crecimiento (FitoMas E) con los fertilizantes minerales. La floración es clave para el éxito reproductivo de las plantas y juega un papel determinante en su adaptación y distribución geográfica. También, debe producirse en un momento favorable de luz y temperatura, que permita el correcto desarrollo de flores y frutos; a la vez que la dispersión de las semillas (Muñoz, 2017).

- **Fructificación**

En la Figura 3 se aprecia la influencia de la fertilización con *Brevibacillus* sp. B65 (T1) sola y suplementada con MO (T2), así como el efecto de la fertilización con materia orgánica (T3) y fórmula completa (NPK) (T4) sobre la fructificación de Habichuela china. El análisis de la fructificación se realizó a partir de tres parámetros que fueron, la cantidad de vainas por plantas, el número de semillas por vaina y la longitud de las vainas. Como se aprecia en la Fig. 3, el número de vainas por planta no mostró diferencias significativas entre los 4 tratamientos evaluados. Sin embargo, el número de semillas por vaina fue estadísticamente superior en plantas tratadas con el fertilizante inorgánico NPK, lo cual demuestra la importancia de incorporar nutrientes esenciales como el N y P a los cultivos de leguminosas, por el papel que ejercen en la formación de la semila. El número de semillas por vaina fue estadísticamente inferior en plantas tratadas solo con materia orgánica. El hecho de que la cantidad de semillas por vainas en plantas tratadas con la bacteria B65 (T1) y la bacteria suplementada con MO (T2) sea significativamente superior a la de las plantas tratadas solo con MO (T3), revela el papel de *Brevibacillus* sp. B65 en la formación de las semillas en habichuela y otras leguminosas. Lo anterior, pudiera deberse a la capacidad de B65 de contribuir a la nutrición nitrogenada de los cultivos a través de la fijación biológica de nitrógeno de vida libre. *Brevibacillus* sp. B65 es capaz de crecer en condiciones de anaerobiosis en un medio excento de nitrógeno combinado y dio resultado positivo al ensayo de reducción de acetileno (ARA, del Inglés: *Acethylene Raduction Assay*), utilizado para aislar e identificar bacterias diazotróficas (Orberá *et al*., 2012).

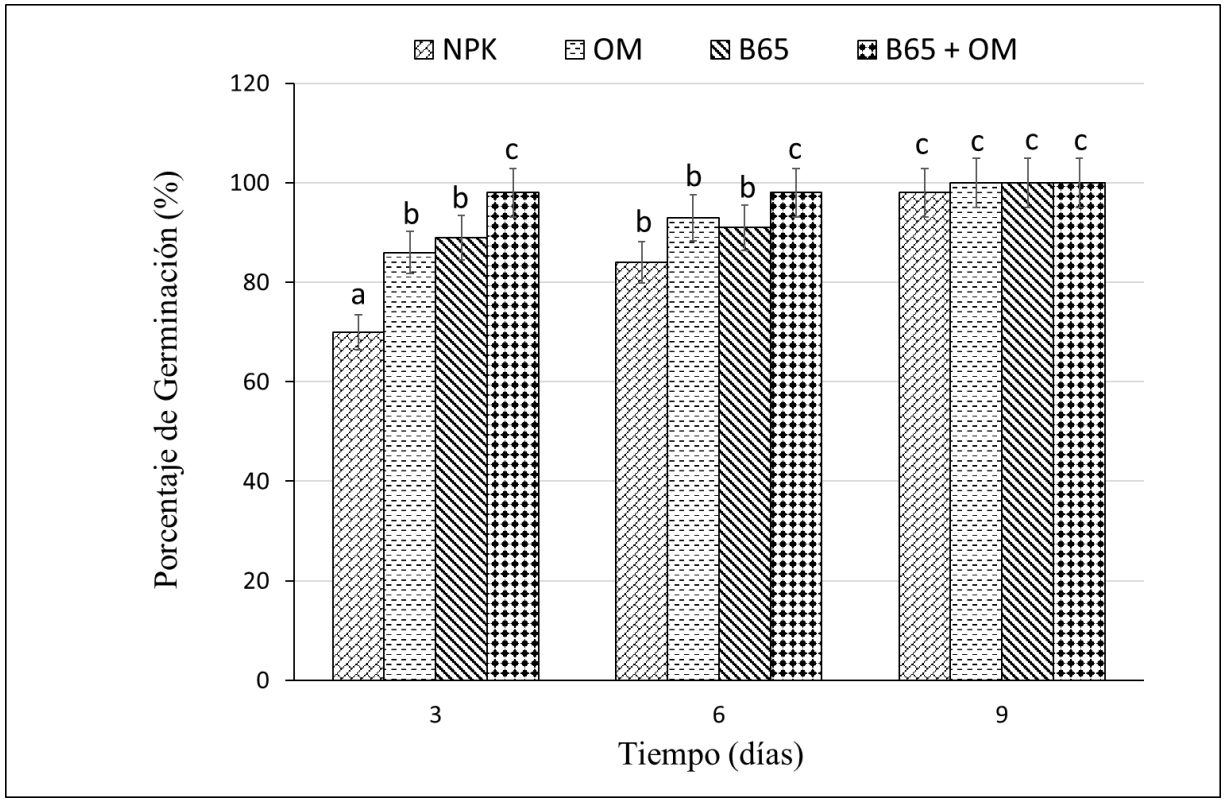


Figura 1. Porcentaje de germinación de semillas de Habichuela china tratadas con *Brevibacillus* sp. B65, así como con fertilizante orgánico e inorgánico. Las mediciones se realizaron a los 3, 6 y 9 días después de sembrados. **B65** (*Brevibacillus* sp. B65); **NPK** (fertilizante inorgánico); **OM (**materia orgánica). Las barras sobre las columnas representan la desviación estándar (σ) al 5% de error. Letras diferentes significan diferencias estadísticas entre los tratamientos a $p \leq 0,05$.

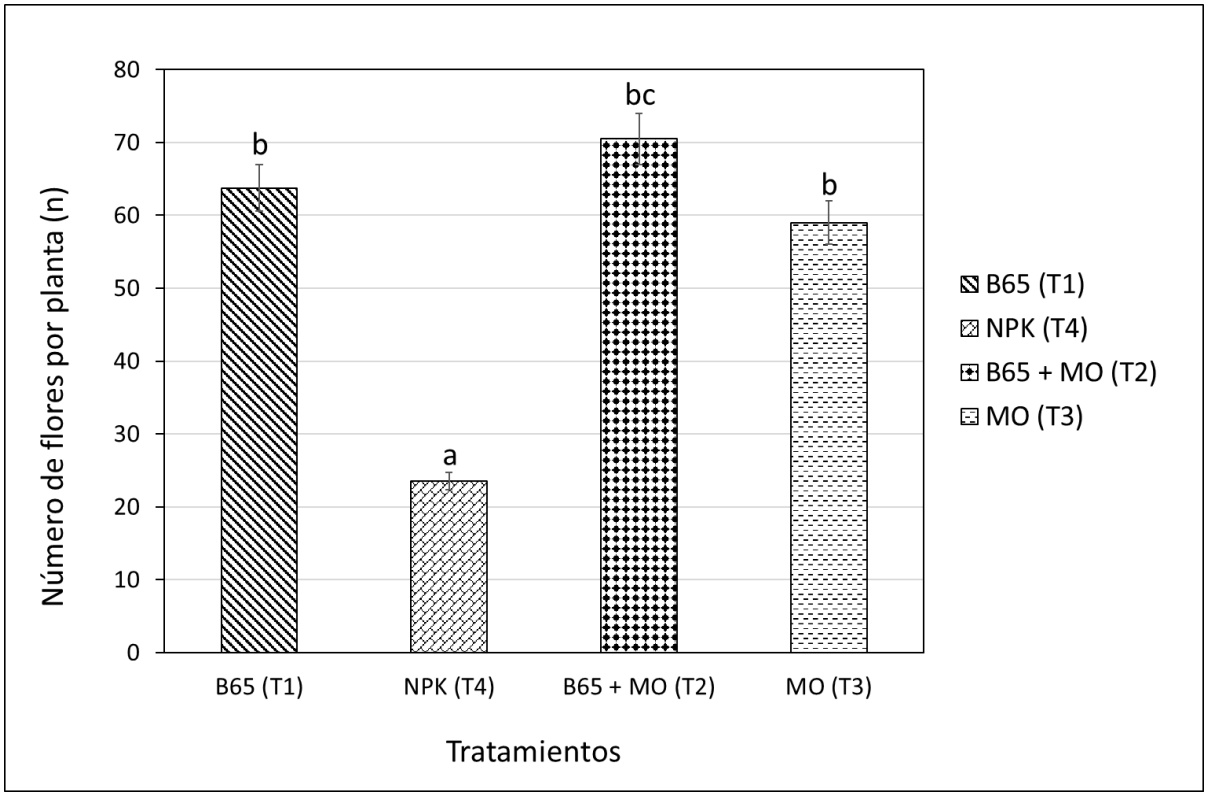


Figura 2. Energencia floral de Habichuela china tratadas con *Brevibacillus* sp. B65, así como con fertilización orgánica e inorgánica. Las mediciones se realizaron a los 40 días después de plantado. Las barras sobre las columnas representan la desviación estándar (σ) al 5% de error. Letras diferentes significan diferencias estadísticas entre los tratamientos a $p \leq 0,05$.

Un resultado similar se observó en la longitud de las vainas, la cual fue significativamente superior en semillas tratadas con fórmula completa (T4), respecto al resto de los tratamientos (Figura 3).

En cultivos de Habichuela china, se ha comparado el efecto de la fertilización química respecto a la orgánica y se encontró que, aunque no hubo diferencias significativas en el rendimiento, la longitud de la vaina fue mayor bajo la fertilización inorgánica, pero la fertilización orgánica incrementó la nodulación (Angeli *et al*., 2016). En el presente trabajo, la formación de vainas respondió mejor a la fertilización inorgánica tradicional, en comparación a la fertilización con el inoculante bacteriano y la materia orgánica, lo cual se debe al aporte de nutrientes esenciales para el desarrollo de las plantas que realizan los fertilizantes tradicionales, en especial nitrógeno (N), cuya presencia en los granos de leguminosas es esencial para la composición proteica de los mismos. Resultados similares se reportaron para la especie de habichuela *Vigna radiata* L (Yin et al., 2018).

El uso de bacterias estimuladoras del crecimiento vegetal (Ing. PGPB) en el mundo crece en importancia debido a sus efectos beneficiosos: reduce notablemente el uso de los fertilizantes químicos, mejora los suelos en las propiedades fisicoquímicas y aumenta la microflora beneficiosa. Así se activa la descomposición de la materia orgánica nativa del suelo y la agregada, logrando un beneficio para la nutrición de cultivos (Muñoz, 1994). También otros autores como Bolaños et al (2003) exponen que la aplicación conjunta de materia orgánica y fertilizante mineral ejerce un efecto positivo sobre el suelo, contribuyendo al crecimiento y la formación de raíces secundarias y terciarias. Esto a su vez, mejora la capacidad de absorción de nutrientes minerales por las plantas de habichuela.

Los efectos estimulantes de la fructificación que ejerce la bacteria B65 están relacionados con el aporte de nutrientes tales como N y P que ejerce esta bacteria, explicados anteriormente y fundamentados en los estudios de Orberá *et al* (2012). El hecho de que las pequeñas cantidades de estiércol aplicadas al terreno ejerzan un efecto favorable sobre el crecimiento de las plantas, mucho más intenso de lo que cabría esperar por su solo contenido en principios minerales asimilables, se ha atribuido a la inoculación en el terreno de PGPB y al mayor desarrollo de organismos similares del propio terreno. Este aumento de la actividad bacteriana se supone que da lugar a la producción de estimulantes de los vegetales análogos a las vitaminas y hormonas (Adams *et. al*., 1954).

Es así que existen bacterias capaces de transformar las formas insolubles del fósforo en formas solubles, a través de reacciones enzimáticas, haciendo al fósforo disponible para las necesidades de las plantas (Sudhansu, 1998). La inoculación de semillas o suelos con bacterias capaces de solubilizar fosfato, mejora entonces la absorción del fosfato del suelo, así como el aplicado de manera artificial, dando como resultado el aumento del rendimiento de los cultivos (Nautiyal, 1999). Así mismo, muchos autores atribuyen la solubilización de fosfato inorgánico insoluble por los microorganismos, a la producción de ácidos orgánicos y ácidos quelantes de azúcares, la producción de estos ácidos orgánicos resulta en la acidificación de la célula microbiana y el medio que la rodea. El

ácido glucónico y el ácido 2- quetoglucónico son los agentes más producidos por bacterias con habilidad para solubilizar fosfato (Yadav y Dadarwal, 1997).

La solubilización de fosfatos inorgánicos es el mecanismo de estimulación del crecimiento vegetal más importante (Chabot *et al*., 1998, citado por Ahmed y Shahab, 2009); de hecho, el P es después del N, el segundo nutriente limitante para el desarrollo de las plantas (Khan *et al*., 2009). El uso de bacterias solubilizadoras de P (BSP) contribuye al crecimiento vegetal aumentando la eficiencia de la fijación biológica de nitrógeno (Mohammadi, 2012). La influencia de las bacterias solubilizadoras de P de la clase *Bacilli* sobre el aumento del tamaño global de plántulas germinadas y de plantas adultas, así como del rendimiento de los granos, fue informada en experiencias de inoculación de plantas ornamentales del género *Lilium* y de cereales con cepas de *Bacillus subtilis y Pseudomonas* sp (Arriaga *et al*., 2009; Mohammadi, 2012).

- **Formación de hojas**

El efecto de los diferentes tratamientos en la formación de hojas fue evaluado a partir del número de hojas por plantas y largo de las hojas a los 40 días después de la siembra, no existiendo diferencias significativas en los valores promedios del número y largo de hojas por plantas, aunque en ambos casos, los valores más altos se observaron en plantas tratadas con el fertilizante inorgánico NPK y la mezcla de B65 + MO (T2) (Tabla 4).

La respuesta positiva de la formación de hojas en el cultivo de la habichuela con elevado contenido de nutrientes producto de la fertilización inorgánica NPK y la mezcla del inoculante de la bacteria rizosférica *Brevibacillus* sp. B65 y materia orgánica formada de estiércol vacuno + residuos vegetales, fue reportado por Owolabi et al., (2016) en *Jatropha curcas*. Resultados similares fueron reportados en girasol, los autores correlacionaron el incremento del número de hojas por plantas con el incremento del desarrollo vegetativo por el Nitrógeno disponible (Irika et al., 2018). Karlova y de Vries (2006), plantean que los bioestimulantes son capaces de estimular el crecimiento, tanto en los tallos, hojas, como en el tamaño de los frutos, y de esta manera incrementar el rendimiento del cultivo donde se aplican, al compararse con las plantas donde no se aplica.

La respuesta mostrada por el efecto de los tratamientos en el número de hojas resulta interesante, por cuanto una mayor cantidad de hojas debe representar una superficie foliar superior y, por tanto, una posible capacidad fotosintética más alta, lo que pudiera traducirse en más materia seca acumulada y quizás en un incremento del rendimiento (Morales et al., 2016). Así mismo, se ha comprobado el efecto positivo de otros estimuladores del crecimiento vegetal sobre el número de hojas por plantas. Nápoles et al. (2016), observaron que la aplicación del bioestimulante Pectimorf® en dos momentos, uno a la semilla y el otro antes de la floración indujeron a las plantas de (*V. unguiculata L*.) var. Lina a incrementar el número de hojas por plantas.

- **Formación de raíces**

La formación de raíces de Habichuela china fue evaluada por la determinación del efecto de los diferentes tratamientos en el largo de la raíz central, así como en el peso húmedo y la biomasa seca a los 80 y 88 días después de la siembra, respectivamente. La longitud de la raíz central y el peso seco no mostró diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, las variaciones estadísticas en la biomasa se observaron en el peso húmedo con elevados valores en plantas tratadas con B65 (T1), B65+MO (T2) y MO (T3), sin diferencias estadísticas entre ellas; mientras los valores más bajos se exhibieron en las plantas con fertilización inorgánica (T4), manifestando diferencias estadísticas en comparación con el resto de los tratamientos (Tabla 4).

La incidencia de la bacteria rizosférica B65 sobre el crecimiento de las raíces de habichuela china, puede estar relacionada con propiedades fisiológicas que posee la bacteria. *Brevibacillus* sp. B65 fue aislada de rizosfera de caña de azúcar, de ahí que, al ser inoculada en los cultivos, debe colonizar preferentemente las raíces y en ellas contribuir al desarrollo de las plantas a través del aumento de la absorción de P y N por las raíces a través de la solubilización de fosfato de calcio y de la producción de AIA (Orberá et al., 2012).

Numerosas evidencias explican el papel que ejercen las auxinas y principalmente el AIA en el control del gravitropismo de la raíz y de la formación de raíces (Baca y Elmerich, 2003). El geotropismo está directamente relacionado con el crecimiento de las plantas (Pessarakli, 2001), lo cual sugiere que los efectos que ejerció B65 sobre el crecimiento, provienen de su asociación a las raíces cuya elongación se estimuló a través de la liberación de AIA; de igual modo se ha informado el efecto de bacterias rizosféricas del género *Bacillus* sobre el desarrollo foliar y el aumento del tamaño de tallos y raíces de cultivos de trigo, guisantes y kiwi (Egamberdieva, 2008; Rojas *et al*., 2010; Erturk *et al*., 2010).

El AIA es una de las hormonas vegetales de mayor importancia por los efectos reguladores que ejerce sobre el ciclo y la división celular y actúa sobre la elongación y la diferenciación de las células en la zona de crecimiento activo de la raíz, es capaz de promover la formación de raíces laterales y adventicias, sin embargo, el efecto de ésta sobre la planta depende de su concentración y el tipo de cultivo en el que éste se evalúe (Davies et al., 2014). Más del 80% de las bacterias en la rizósfera del suelo son capaces de producir auxinas, sus efectos sobre el crecimiento de las plantas son notables, afectan principalmente a las raíces, aumentando su tamaño y peso, número de ramificación y la superficie en contacto con el suelo, mejorando así la nutrición de las plantas y su capacidad de crecimiento (Jha et al., 2015) y (Tsavkelova et al., 2006).

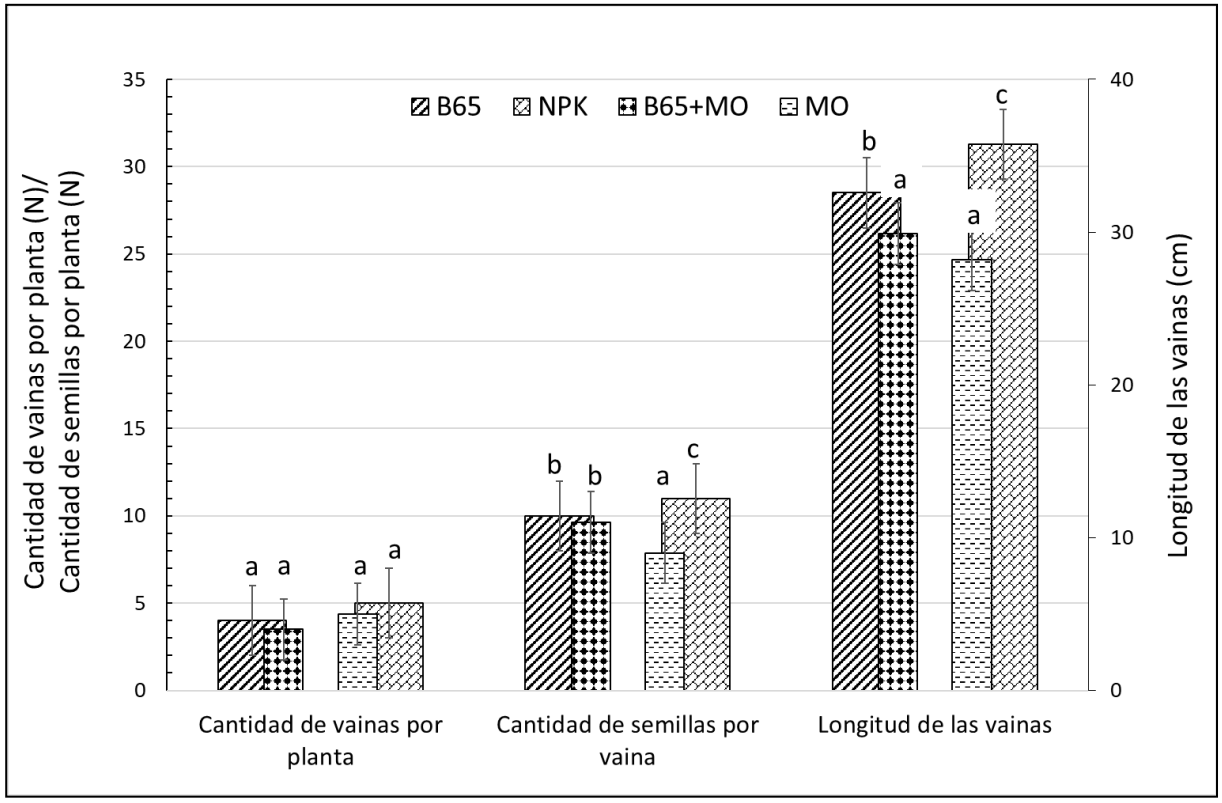


Figura 3. Fructificación de Habichuela china tratada con *Brevibacillus* sp. B65, así como con fertilización orgánica e inorgánica. Las mediciones se realizaron a los 40 días después de la siembra. Las barras sobre las columnas representan la desviación estándar (σ) al 5% de error. Letras diferentes significan diferencias estadísticas entre los tratamientos a $p \leq 0,05$.

Resultados publicados por Orberá et al (2012), muestran que el cultivo crecido de la cepa de *Brevibacillus* B65 fue el único que mostró cantidades detectables de ácido indolacético (AIA) en comparación con otros aislados procedentes de raíces de caña de azúcar en el mismo experimento, con un valor de 4627 $ngmL^{-1}$. Este microorganismo mostró el más amplio espectro de propiedades estimuladoras del crecimiento vegetal evaluadas en esta experiencia: capacidad de solubilizar fosfato de calcio, actividad celulolítica y pectinolítica, así como excreción de cantidades elevadas de las fitohormonas etileno y ácido indolacético.

Terry (2004) planteó que las plantas cuando son inoculadas con microorganismos que estimulan su crecimiento y desarrollo o son tratadas con algún producto bioestimulante, presentan una mayor capacidad para absorber más eficientemente el agua y los nutrientes del suelo, a través del estímulo provocado en el sistema radical, que se refleja en el estado nutricional de las plantas, de ahí que en este trabajo los mayores valores del largo de las raíces no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, aunque los mas elevados se alcanzaron en las plantas tratadas con MO (T3) y B65 (T1), de igual modo los valores mas elevados en el peso húmedo se observaron en las plantas tratadas con B65 (T1), B65+MO (T2) y MO (T3), sin diferencias estadísticas entre ellas; mientras que los valores más bajos se exhibieron en las plantas con fertilización inorgánica (T4). Corroboramos el estudio de Derkowska et al. (2015) que indica que la fertilización con biopreparaciones intensifica el crecimiento del sistema radicular de las plantas de fresa, concordando con la investigación de Sas et al. (2011) que constata un efecto positivo de los biofertilizantes en el crecimiento de la raíz de la fresa y parámetros morfológicos en comparación con las plantas fertilizadas únicamente con NPK.

IV.2. Efectos de *Brevibacillus* sp. B65 sobre el crecimiento de Habichuela china

El crecimiento de las plantas fue evaluado a partir de la medición de dos parámetros: longitud del tallo y altura de la planta (Figura 4). La longitud de los tallos no mostró diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, las plantas mostraron un valor promedio de 17.7 cm, con diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. Las plantas más altas se encontraron en el tratamiento de B65 (T1) y en la fertilización inorgánica NPK (T4), mientras que las más bajas se encontraban en la mezcla de B65+MO (T2) y MO (T3) sin diferencias significativas entre ellas (Fig. 6). El análisis de varianza de la interacción entre la longitud del tallo y la altura de la planta a un 95% de confianza no mostró diferencias significativas en la interacción de ambos parámetros (P = 0,9213), lo que significa que el crecimiento de las plantas de habichuela no fue afectado por las diferentes fertilizaciones evaluadas en la presente investigación. Los resultados mostraron los efectos de la bacteria sobre el tamaño de las plantas, favoreciendo el crecimiento de las mismas, lo cual se debe al aporte que realiza el microorganismo a la nutrición nitrógenofosforada de las plantas y la producción de auxinas (Orberá *et al*., 2012).

Tabla 4. Formación de Hojas en plantas de Habichuela china tratadas con *Brevibacillus* sp. B65, con enmiendas orgánicas e inorgánicas. Mediciones 40 DDS. Supraíndice NS: significan que no hay diferencias significativas entre tratamientos.

Formación de las hojas		
Tratamientos	Número de hojas por plantas (N)	Largo de las hojas (cm)
T1 (B65)	18 ^{NS}	11.1 ^{NS}
T2 (B65 + MO)	19 ^{NS}	11.7 ^{NS}
T3 (MO)	18 ^{NS}	11.2 ^{NS}
T4 (NPK)	19 ^{NS}	12,1 ^{NS}

Tabla 5. Formación de Raíces en plantas de Habichuela China tratadas con enmiendas orgánicas e inorgánicas. Mediciones hechas en el peso húmedo y la biomasa seca de las raíces a los 80 y 88 DDS respectivamente. Diferentes letras en subíndice significan diferencias significativas entre tratamientos; NS: No hay diferencias significativas.

Formación de raíces			
Tratamientos	Largo de raíces (cm)	Biomasa	
		Peso húmedo (gr)	Peso seco (gr)
T1 (B65)	15.05 ^{ns}	13.43 ^{b}	53.34 ^{ns}
T2 (B65 + MO)	13.5 ^{ns}	11.74 ^{b}	51.37 ^{ns}
T3 (MO)	16.1 ^{ns}	14.86 ^{b}	56.98 ^{ns}
T4 (NPK)	13.9 ^{ns}	8.77 ^{a}	54.80 ^{Ns}

El aporte de nitrógeno combinado de las bacterias que realizan fijación no asociativa de nitrógeno en la rizosfera de gramíneas, como es el caso de B65, no es comparable al de los rizobios asociados a los cultivos de leguminosas; sin embargo, las bacterias rizosféricas de vida libre poseen otras potencialidades que las hacen atractivas para la formulación de inoculantes de interés agrícola (Baldani y Baldani, 2005). La cepa B65 puede contribuir, además, al aumento del contenido de P en los suelos y susbtratos agrícolas, lo cual se explicó anteriormente. La solubilización de fosfatos inorgánicos es el mecanismo de estimulación del crecimiento vegetal más importante (Chabot *et al*., 1998, citado por Ahmed y Shahab, 2011); de hecho, el fósforo es después del nitrógeno, el segundo nutriente limitante para el desarrollo de las plantas (Khan *et al*., 2009). El uso de bacterias solubilizadoras de P contribuye al crecimiento vegetal aumentando la eficiencia de la fijación biológica de nitrógeno (Mohammadi, 2012). Estos resultados se corresponden con lo expresado por Karlova y de Vries (2006), quienes plantean que los bioestimulantes son capaces de estimular el crecimiento, tanto en los tallos, hojas, como en el tamaño de los frutos y de esta manera incrementar el rendimiento del cultivo donde se aplican, al compararse con las plantas donde no se aplica. González et al (2016), comprobaron que la aspersión de las semillas, con determinadas concentraciones de QuitoMax® (inoculante comercial a base de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y la inoculación con Azofert® (Azospirilum brasilense) y EcoMic® (Glomus clarum) estimularon, de forma general, el crecimiento de las plantas de frijol común (*Phaseolus vulgaris*).

Al analizar el comportamiento del crecimiento de la planta, se pudo constatar que coincide con lo reportado por otros autores (Sheikha y Al-Malki, 2011), quienes encontraron resultados favorables en el crecimiento de los tallos en el cultivo del frijol (*P. vulgaris*), destacándose en sus resultados que las mejores respuestas se manifestaron con las menores dosis de quitosano aplicadas. Para explicar el incremento en el desarrollo de las plantas, se puede hacer referencia a la hipótesis aditiva (Bashan y Levanony, 1990), la cual plantea que, probablemente, más de un mecanismo está involucrado en la asociación planta-microorganismo, los que operan simultáneamente o en sucesión, ya sea en el aumento de la toma de agua y nutrientes, en la producción de fitohormonas o en el control biológico de fitopatógenos.

En este sentido, los resultados obtenidos en plantas tratadas con B65, las cuales aportan sustancias bioestimuladoras del crecimiento tales como auxinas, permiten la aceleración del desarrollo de las posturas (Davies, 2014). La influencia de las bacterias solubilizadoras de P de la clase Bacilli sobre el aumento del tamaño global de plántulas germinadas y de plantas adultas, así como, del rendimiento de los granos, fue informada en experiencias de inoculación de plantas ornamentales del género Lilium y de cereales con cepas de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas* sp (Arriaga et al., 2009; Mohammadi, 2012). Los aumentos en la longitud y peso de la planta están directamente relacionados con el aumento en la eficiencia del proceso, es decir, los resultados obtenidos demuestran que las estrategias de fertilización probadas basadas en la utilización de una menor dosis de químicos combinado con el uso de ciertos microorganismos con habilidades promotoras de crecimiento vegetal pueden igualar parcialmente o superar la productividad generada por los tratamientos convencionales de fertilización agrícola. (Sánchez, D. 2011).

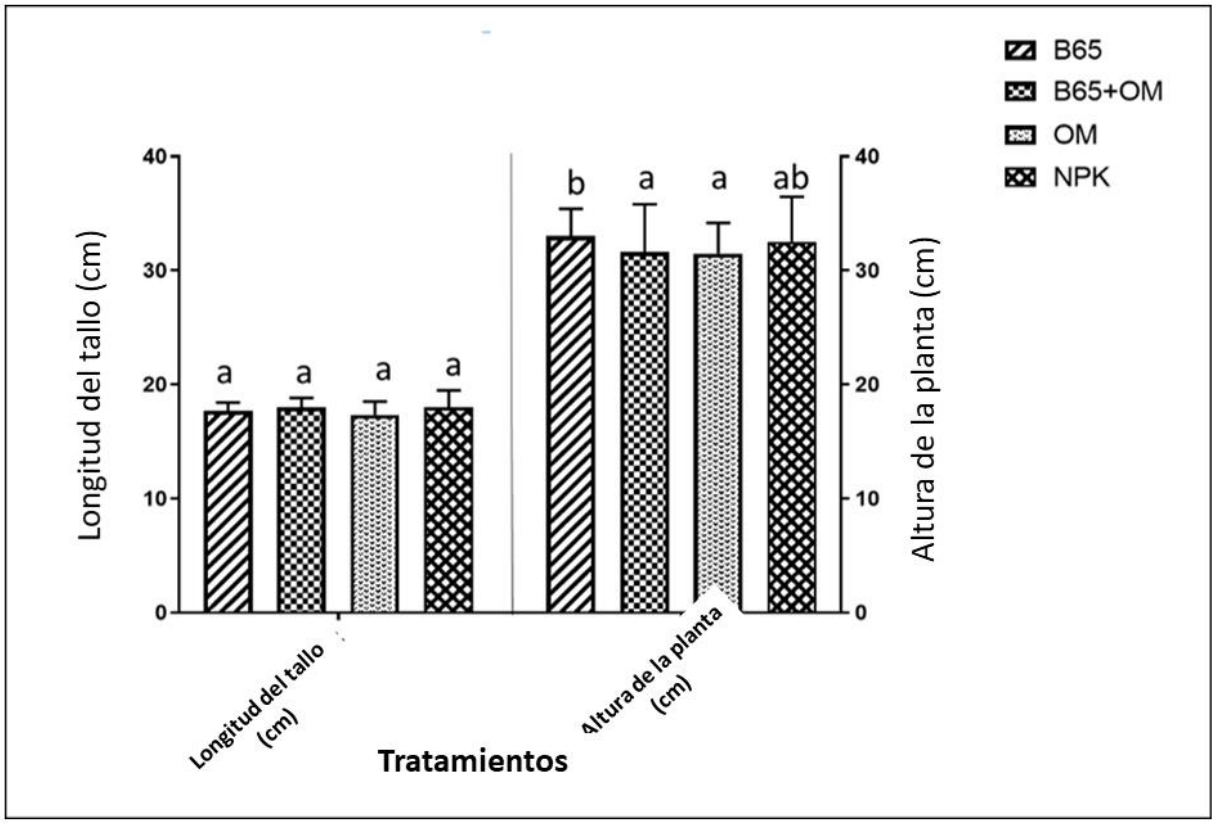


Figura 4. Longitud del tallo y altura de plantas de Habichuela china tratadas con PGPB *Brevibacillus* sp. B65 y B65 suplementado con MO, así como con MO y fertilizante inorgánico NPK. Las barras sobre las columnas representan la desviación estándar (σ) al 5% de error. Letras diferentes significan diferencias estadísticas entre los tratamientos a $p \leq 0,05$.

IV.3. Efectos de *Brevibacillus* sp. B65 sobre la productividad de Habichuela china

En este trabajo la productividad de la Habichuela china se expresó a través del número de vainas por canteros, el peso fresco de las vainas y el rendimiento productivo, determinado este último como peso fresco de las vainas por unidad de superficie cultivada. Los datos se muestran en la Tabla 6. Aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro tratamientos, el mayor número de vainas por cantero se determinó en las plantas tratadas con *Brevibacillus* sp. B65 (T1) y con la mezcla de B65 + MO (T2); mientras que, el menor número de vainas por cantero se determinó en plantas tratadas con fórmula completa NPK (T4). Un resultado similar se apreció en el peso de las vainas y el rendimiento productivo. En ambos parámetros nuevamente las plantas tratadas con B65 (T1) fueron las más productivas en cuanto a peso de las vainas y rendimiento; sin embargo, tampoco se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos.

Los resultados obtenidos en la presente investigación, demuestran que es indudable el efecto favorable que ejerció *Brevibacillus* sp. B65 suplementada o no con materia orgánica, sobre el rendimiento productivo de la Habichuela china, el cual resultó comparativamente superior a los resultados obtenidos con fertilizantes utilizados tradicionalmente en el cultivo, como son el agroquímico denominado 'fórmula completa' (NPK) y la materia orgánica. Lo anterior, es una consecuencia del impacto que ejerció la bacteria suplementada con MO inicialmente sobre la emergencia y la germinación de las semillas, lo cual influyó positivamente sobre la floración, el crecimiento de las plantas y la fructificación y como resultado, se favoreció el rendimiento productivo del cultivo. El efecto bioestimulante de la bacteria sobre el cultivo de la leguminosa está relacionado con caracteres fisiológicos expresados por B65 tales como producción de fitohormonas y la capacidad de disponibilizar nutrientes esenciales como el nitrógeno (N) y el fósforo (P), los cuales fueron explicados anteriormente; pero también el potasio (K), el cual se reveló por primera vez en esta bacteria y se explicará en detalle a continuación.

- ***Brevibacillus* sp. B65 podría contribuir al incremento del rendimiento productivo de *V. unguiculata* subsp. *unguiculata* a través de la biodisponibilización de potasio.**

La caracterización química de las muestras de suelo, antes y después del cultivo de la Habichuela china, mostraron que el valor promedio del contenido de K determinado en las muestras de suelo antes de la siembra fue de 36.36 mg de K_2O.100 g^{-1} de suelo; mientras que en las muestras de suelo cultivado con Habichuela china a los 88 días después de la siembra, tratada con los diferentes fertilizantes utilizados en esta experiencia, se observó un aumento considerable del contenido de K en todos los tratamientos, favoreciéndose la nutrición de este importante mineral para el desarrollo de las plantas (Tablas 3 y 7). Varios autores han reportado el efecto del K sobre el desarrollo de las raíces (Fageria y Moreira, 2011), las hojas, frutos y tallo, así como sobre el crecimiento de las plantas (Bakhshandeh et al., 2017) y el rendimiento productivo en cultivos de granos, hortalizas y leguminosas, entre estas últimas, miembros del género

Vigna (Yin *et al*., 2018). Con lo cual, podemos relacionar también los efectos bioestimulantes que ejerció B65 sobre la germinación de las semillas, la emergencia floral y la altura de planta, así como sobre el aumento del número y peso fresco de las vainas y el rendimiento productivo de la Habichuela china, a la estimulación de la nutrición del potasio en el cultivo.

Es importante resaltar que en este experimento el mayor contenido de K soluble fue determinado en las muestras de suelo procedentes del cultivo tratado con *Brevibacillus* sp. B65 sin suplementar con MO (> 70.39 mg de K_2O.100 g^{-1} de suelo) (Tabla 7), lo cual sugiere que la bacteria B65 pudiera biodisponibilizar el K en el suelo, favoreciendo la incorporación de este nutriente a las plantas. La solubilización de K en condiciones *in vitro* por microorganismos no identificados, aislados de rizosfera de caña de azúcar, al igual que nuestro aislado B65, fue reportado por Setiawati y Mutmainnah (2016). Entre las especies de la clase Bacilli solubilizadoras de K se han reportado *Bacillus mucilaginosus*, *B. edaphicus* y *B. circulans* (Etesami *et al*., 2017). La solubilización de potasio constituye un resultado de la mayor importancia y constituye una novedad para el género *Brevibacillus*, puesta en evidencia a través de la interacción entre dos aislados autóctonos para Cuba, la bacteria rizosférica *Brevibacillus* sp. B65 y la variedad Lina perteneciente al cultivar *V. unguiculata* subsp. *unguiculata* cv. Sesquipedalis. El potasio es un elemento esencial para el desarrollo de las plantas; sin embargo, más del 90% de este nutriente se encuentra en el suelo de forma insoluble, con lo cual la deficiencia de K en los suelos constituye un gran reto para el desarrollo de los cultivos (Aloo *et al*., 2020).

Como se explicó anteriormente, en este trabajo se muestran por primera vez evidencias preliminares de actividad solubilizadora de K y biodisponilización de este nutriente en el suelo, por una bacteria del género *Brevibacillus* y como consecuencia, la contribución del grupo a la nutrición del potasio en cultivos de importancia económica. Los resultados obtenidos demuestran un incremento del contenido de K soluble en suelos cultivados con Habichuela china tratada con la PGPB *Brevibacillus* sp. B65, los cuales podrían extrapolarse a otras hortalizas que responden positivamente a la inoculación del microorganismo tales como berenjena, ají Chay y remolacha (Orberá *et al*., 2014; Téllez – Soria y Orberá, 2018). Sin embargo, estos resultados aún no son concluyentes. En la tabla 7 se aprecia una ligera disminución del pH en las muestras de suelo procedentes del cultivo tradado con B65 (T1) y B65 + MO (T2) respecto al suelo sin cultivar y al suelo cultivado con la leguminosa tratado solo con MO (T3) y NPK (T4), lo cual sugiere que un posible mecanismo de solubilización de K por la bacteria B65 podría ser la disminución del pH del medio, debido a la excreción de ácidos orgánicos procedentes del metabolismo primario del microorganismo. Setiawati y Mutmainnah (2016) atribuyeron la actividad solubilizadora de K *in vitro* por aislados microbianos, a la capacidad de excretar ácidos orgánicos, tales como ác. cítrico, ferúlico, cumárico y málico, entre otros. La hipótesis anterior coincide con el análisis realizado por Orberá et al (2012), en el cual se demostraba que la acidificación del medio es uno de los mecanismos utilizados por *Brevibacillus* sp. B65 en la solubilización del P a partir de Ca_2PO_4 en condiciones *in vitro*.

Sin embargo, deben realizarse otros estudios de laboratorio para asegurar en primer lugar, que el efecto biofertilizante de B65 se atribuye a su capacidad de biodisponibilizar nutrientes esenciales para los cultivos como el N y principalmente P y K, este último

revelado por primera vez en la presente investigación, los cuales se absorben por las raíces y se translocan hacia las partes comestibles de las especies vegetales tales como frutos, tallos y hojas. Estos hallazgos revelarían en *Brevibacillus* sp. B65 nuevas propiedades no solo como biofertilizante, sino también como bacteria probiótica de plantas (Del Inglés: **'plant probiotic bacteria'**), una nueva aplicación que se atribuye a las rizobacterias estimuladoras del crecimiento vegetal, que les brinda un papel esencial en la biofortificación de cultivos vegetales que se consumen frescos como parte de la dieta en muchos países incluido Cuba y que impactan positivamente en la salud humana y animal (Radhakrishnan & Lee, 2016).

Por otro lado, el menor contenido de K soluble se observó en las muestras de suelo procedentes del cultivo fertilizado con MO (T3) y con B65 + MO (T2) (ver Tabla 7), lo cual está relacionado con la dinámica de este elemento en el suelo, el cual se inmoviliza muy rápidamente después de ser añadido como fertilizante, tanto en forma de sales inorgánicas como por la materia orgánica, formando con esta última la cuarta fuente de K insoluble en el suelo, la cual aporta muy poco del nutriente a la nutrición de las plantas (Prajapati y Modi, 2012). A diferencia de lo observado anteriormente con el efecto bioestimulante que expresó B65 en este estudio y en estudios anteriores (Orberá *et al*., 2014; Nápoles *et al*., 2014; Téllez-Soria y Orberá, 2018), el cual se potencia de manera sinérgica en presencia de materia orgánica, aquí se muestran evidencias que sugieren que la adición de materia orgánica al suelo como biofertilizante podría disminuir la actividad solubilizadora de K causada por la bacteria B65 y por consiguiente afectar la nutrición del K en los cultivos. Este elemento debe tenerse en cuenta en el diseño y bioprospección de inoculantes basados en *Brevibacillus* sp. B65 y su utilización en organopónicos y otros sistemas de agricultura urbana y periurbana que emplean básicamente fertilizantes orgánicos.

- **Influencia del clima y la calidad nutricional del suelo sobre el cultivo de Habichuela china.**

Por último, en la presente investigación se analizaron las condiciones externas, dígase factores climáticos y calidad del suelo, que influyen en el cultivo de la leguminosa favoreciendo o no su crecimiento, desarrollo y productividad. La Estación Meterológica de Santiago de Cuba informó la existencia de un patrón sostenido de precipitaciones con un promedio de 256.2 mm de lluvias entre los meses de Enero a Mayo de 2019, coincidentes con el período del presente experimento realizado en condiciones de campo. Además, se reportaron valores de humedad relativa (HR) entre 67 y 72% y temperatura promedio T = 25.4 – 27.8 ^{o}C (Anexo 1). Las variaciones climáticas que afectan el cultivo de la Habichuela china fueron reportadas por Boukar et al (2018) y se refieren a un patrón de lluvia errático y temperaturas superiores a 35º C, las cuales no fueron observadas durante el desarrollo del presente experimento. Por consiguiente, podemos asumir que el cultivo de Habichuela china se desarrolló bajo condiciones climáticas favorables. Las características fenotípicas de las plantas, sus flores y frutos reflejadas en las imágenes del Anexo 2, así lo demuestran.

El análisis químico de las muestras del suelo procedentes del área de siembra, reveló que el mismo posee una composición nutricional adecuada para el cultivo, caracterizada

por un elevado contenido de P (> 40 mg P_2O_5 *por* 100 g de suelo) y K (29 - >100 mg K_2O *por* 100 g de suelo). El contenido de ambos nutrientes se incrementó en presencia de los 4 tratamientos de fertilización realizados al cultivo, según se explicó anteriormente. El suelo utilizado fue clasificado como Clase A, atendiendo a las Normas Cubanas de Análisis y Certificación Agroquímica (NC 52-1999 and NC 2001 – 2015). Por ende, podemos asegurar que el cultivo de Habichuela china en este experimento se desarrolló bajo condiciones favorables del clima y calidad del suelo, de ahí que el incremento de la productividad observada en esta especie de leguminosa en presencia del inoculante bacteriano, se debió principalmente a las características estimuladoras del crecimiento vegetal que posee la bacteria B65 y que han sido expuestas ampliamente en este trabajo.

Resultados similares se obtuvieron en el cultivo de tomate, donde la inoculación con los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), más el estimulante natural del crecimiento (FitoMas- E®) y el 75 % de la dosis de NPK, ejercieron un efecto positivo en el estado nutricional de las plantas, estimularon la producción del cultivo del tomate en 40 tha^{-1}, también tuvo una respuesta positiva en la altura de la planta y el diámetro de copa. En un estudio sobre el rendimiento y peso del fruto de tomate Mayak *et al.* (2004), determinaron resultados significativamente mayores en plantas de tomate inoculadas con *A. piechaudii*, respecto a plantas testigo sin inocular. Igualmente, Dursun et al (2010) observaron resultados similares a los del presente experimento, con la aplicación de las cepas *A. baumannii y B. megaterium* en los cultivos de tomate y pepino (*Cucumis sativus* L).

Tabla 6. Productividad de la Habichuela China tratada con *Brevibacillus* sp. B65, asi como con fertilizante orgánico e inorgánico tradicional. Mediciones del número de vainas por plantas y peso fresco de las vainas a los 84 y 88 después de la siembra respectivamente. **NS**: No hubo diferencias significativas 95% de confianza.

Productividad			
Tratamientos	Número de vainas por cantero (N)	Peso fresco (Kg)	Peso fresco de las vainas por superficie cultivada ($Kg.m^{-2}$)
T1 (B65)	685 ^{NS}	4.1550 ^{NS}	0.519375 ^{NS}
T2 (B65 + MO)	645 ^{NS}	3.8500 ^{NS}	0.4813 ^{NS}
T3 (MO)	608 ^{NS}	3.735 ^{NS}	0.466875 ^{NS}
T4 (NPK)	570 ^{NS}	4.0 ^{NS}	0.5 ^{NS}

Tabla 7. Valor promedio del contenido de potasio (K) en muestras de suelo tomadas antes y posterior al cultivo de Habichuela china tratada con *Brevibacillus* sp. B65 suplementada y sin sumplementar con MO, así como cultivo tratado con fertilizante inorgánico e inorgánico tradicional.

Tratamientos	**Contenido de K** *(mg de K_2O.100 g^{-1} de suelo)*	**pH**
Suelo sin cultivar	36.36	6.8
T1 (B65)	>70.38	6.7
T2 (B65 + MO)	56.70	6.7
T3 (MO)	55.70	6.8
T4 (NPK)	> 69.41	6.8

V. CONCLUSIONES

1. El inóculo fluido de la bacteria rizosférica *Brevibacillus* sp. B65 suplementada con materia orgánica, estimula la germinación de las semillas, emergencia floral, formación de las hojas y biomasa de las raíces, así como la altura de las plantas de Habichuela china (*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*), cultivada a cielo abierto en condiciones de organopónico.

2. El uso de materia orgánica como suplemento ejerce un efecto sinérgico sobre los caracteres fisiológicos de *Brevibacillus* sp. B65, potenciando sus propiedades estimuladoras del crecimiento vegetal.

3. La formación de vainas y semillas de Habichuela china responde mejor a la adición de fertilización inorgánica tradicional (NPK), que a la fertilización con el inoculante bacteriano suplementado o no con materia orgánica y la fertilización orgánica.

4. El aumento del rendimiento productivo del cultivo de Habichuela china tratado con el inoculante bacteriano *Brevibacillus* sp. B65 está asociado al incremento significativo de los niveles de potasio soluble en el suelo cultivado, respecto al suelo sin cultivar y al suelo tratado con fórmula completa (NPK).

5. La bacteria rizosférica *Brevivacillus* sp. B65 estimula el crecimiento y el incremento de los rendimientos productivos del cultivo de Habichuela china a través de mecanismos de fitoestimulación y biofertilización.

VI. RECOMENDACIONES

Evaluar el efecto de biofortificación en cultivos de hortalizas que puede ejercer *Brevibacillus* sp. B65, a través de la biodisponibilización y consecuente translocación a las partes comestibles de la planta, de nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo y potasio presentes en el suelo de cultivo.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ACTAF. (2010) Asociación Cubana de Técnicos Agrícolas y Forestales. Manual práctico de agricultura familiar Santiago de Cuba. Principales cultivos a sembrar en la Agricultura familiar. MINAG, Cuba, 2010, pp 28. ISBN: 978-959-7210.
- Adams, D. R., C. O, Jense, y P. M., Aithouse. 1954. Fundamentos de Bioquímica Agricola. Salvat Editores. España, pp. 196-202.
- Aguado-Santacruz, G. A., Moreno-Gómez, B., JiménezFrancisco, B., García-Moya, E. y Preciado-Ortiz, R. E. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: Una síntesis. Revista Fitotecnia Mexicana, 35(1), 9-21.
- Ahmad F., Ahmad I., Khan M.S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiol. Res., 163: 173 – 181. 2
- Ahmed N, Shahab S. 2009. Phosphate Solubilization: Their Mechanism Genetics and Application. ISPUB.COM. The Internet Journal of Microbiology. Volume 9 Number 1.
- Aloo BN, Makumba BA, Mbega E (2020). Plant Growth Promoting Rhizobacterial Biofertilizers for Sustainable Crop Production: The Past, Present, and Future. Preprints (https://doi:10.20944/preprints202009.0650.v1).
- Álvarez-Solís, D.; D.A. Gómez-Velasco; N.S. León-Martínez; F. A. Gutiérrez-Miceli: Manejo integrado de fertilizantes y abonos orgánicos en el cultivo de maíz. Agrociencia. (44) (5):575-586, 2010.
- Andrea, B. Manejo ecológico del suelo. Dominicana. Editorial RAP-AL. 2004, no 1, 27 pp
- Angeli, C., Cheimona, N., Kakabouki, I., Kontopoulou, C., Tabaxi, I., Papandreou, A., Bilalis, D. (2016). Effect of different types of fertilization on Vigna unguiculata subsp. sesquipedalis Crop. Horticulture and Forestry, 73(2), 216-21
- Apáez, B. P., Escalante, J. A., Sosa, M. E., Apáez, B. M., Rodríguez, G. M. T. y Raya, M. Y. A. (2016). Producción y calidad nutrimental de vaina del frijol chino, Vigna unguiculata (L.) Walp, en función de arreglo topológico y tipo de fertilización. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. 48(2): 31-42.
- Arozarena, N. 2005. Influencia del FitoMas en el Cultivo del Tomate bajo condiciones de Cultivo Protegido. Informe interno. La Habana: INIFAT.
- Arriaga M Rubi, A Gonzalez Huerta, AM Castillo Gonzalez, V Olalde Portugal, BG Reyes Reyes, LI Aguilera Gomez (2009) Respuesta de *Lilium* sp. al fósforo y su relación con *Glomus fasciculatum* y *Bacillus subtilis* FYTON ISSN 0031 9457, (2009) 78: 91-100 FYTON ISSN 0031 9457, (2009) 78: 91-100

- Arumugam Sathya A.; Vijayabharathi R.; Gopalakrishnan S. “Plant growth-promoting actinobacteria: a new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes”. 3 Biotech. 2017. 7, 102. ISSN, 2190572X
- Baca B.E., Elmerich C. (2003). Microbial production of plant hormones. En: C. Elmerich y W.E. Newton (edts). Associative and Endophytic Nitrogen - fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.
- Bae M., Kim M.Y. (1997). A New Alkalophilic Bacterium Producing Ethylene. J. Microbiol. Biotechnol. 7(3): 212 – 214.
- Baldani J. I., Baldani V. L. D. (2005). History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. Annual Braz. Academy Sci., 77(3): 549 – 579.
- Barea J. M., Pozo M.J., Azcón R., Azcón –Aguilar C. (2005). Microbial co-operation in the rhizosphere. J. Exper. Botany, 56 (417):1761–1778
- Barroso, F. L., Abad, M. M., Rodríguez, H. P. y Jerez, M. E. (2015). Aplicación de Fitomas-E y Ecomic® para la reducción del consumo de fertilizante mineral en la producción de posturas de cafeto. Cultivos Tropicales, 36(4), 158-167.
- Bashan Y, Holguin G. 1997. Azospirillum/plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). Can J Microb 43:103-121.
- Beauchamp, C (1993) Mode of actión of plant-promoting rhizobacteria and their potential use as biological control agents, Phytoprotection, 71, pp. 19-27
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. y Bakker, P. A. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. Trends Plant Sci, 17(8), 478-486. doi: 10.1016/ jtplants.2012.04.001.
- Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K. & Tuteja, N. (2014). Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. Microbial Cell Factories, 13(66), 1-10.
- Boicet Fabre T, Zamora Perez M, Boudet Antomarchi AD, Tornes Oliveras N (2013) Respuesta de producción de la habichuela a un suministro variable de agua mediante un riego deficitario. Ingeniería Agrícola; 3(3): 12 – 16.
- Bolaños, M., H. Morales y L. Celis. 2003. Fertilización (orgánica-química) y producción de ‘Dominico har-tón’. Infomusa 12, 36-45.
- Boukar O, Belko N, Chamarthi S, Togola A, Batieno J, Owusu, E. Haruna M, Sory D, Lawan Umar M, Olufajo O, Fatokun CH (2018). Cowpea (Vigna unguiculata): Genetics, genomics and breeding. Plant Breeding, 1–10.
- Cakmakci R., Donmez M.F., Erdogan U. (2007). The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Barley Seedling Growth, Nutrient Uptake, Some Soil Properties and Bacterial Counts. Turk. J. Agric. For., 31:189-199.
- Cegarra, J. A.; Roig, A. F.; Navarro, M. P.; Bernal, M.; Abad, M.; Climent, D. y Aragón, P. Características, compostaje y uso agrícola de residuos sólidos urbanos.

En: Memorias Jornadas de Recogidas Selectivas en Origen y Reciclaje. Córdoba, España: Ed Mundi - Prensa 1993. pp. 46-55.

- CIAT. (1998). Boletín informativo del programa de frijol del CIAT.
- Compant, S.; Clément, Ch. y Sessistch, A. Plant growthpromoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. Soil Biology & Biochemistry, 2010, vol. 42, pp. 669-678.
- Cotler, H., Martínez, M. y Etchevers, J. (2016). Carbono orgánico en suelos agrícolas de México: Investigación y políticas públicas. Terra Latinoamericana, 34(1): 125-138.
- Courtney, R. G. y Mullen, G. J. Soil quality and barley growth as influenced by the land application of two compost types. Bioresour. Technol., 2008, vol. 99, pp. 2913-2918. ISSN 1873-2976.
- Choudhary D. K., Johri B.N. (2009). Interactions of Bacillus spp and plants – With special reference to induced systemic resistance (ISR). Microbiol. Res., 164: 493 - 513.
- Davies P J (Editor), 2014. The Plant Hormones: Their Nature, Occurrence, and Functions. Cornell University, Ithaca, New York. DOI: 10.1007/978-1-4020-2686-7
- Davis, D.W., E.A. Oelke., E.A. Oplinger., J.D. Doll., C.V. Hanson and D.H. Putman. 1991. Cowpea. Alternative Field Crops Manual. University of Wisconsin, Cooperative Extension, University of Minnesota: Center for Alternative Plant and Animal Products and the Minnesota Extension Service. 11 p.
- Delgado, R. y Salas, A. M. Consideraciones para el desarrollo de un sistema integral de evaluación y manejo de la fertilidad del suelo y aplicación de fertilizantes para una agricultura sustentable en Venezuela. Agronomía Tropical, 2006, vol. 56, pp. 289-323. ISSN 0002-192X.
- Derkowska, E.; Paszt, L.S.; Harbuzov, A.; Sumorok, B. 2015. Root Growth, Mycorrhizal Frequency and Soil Microorganisms in Strawberry as Affected by Biopreparations. Advances in Microbiology 5: 65-73.
- Do Vale M., Seldin L., de Araújo F.F., de Lima R. (2010). Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Fundamentals and Applications. En: D.K. Maheshwari (edit.), Plant Growth and Health Promoting Bacteria. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Duke, S.O. 1981. The gene revolution. Office of Technology Assessment, Background paper for innovatine biological technologies for lasser developed countries. USGPO. Washington. 150 p.
- Dursun, A., M. Ekinci, and M. F. Dönmez. 2010. Effects of foliar application of plant growth promoting bacterium on chemical contents, yield and growth of tomato (Lycopersicon esculentum L.) and cucumber (Cucumis sativus L.). Pak. J. Bot., 42: 3349-3356.
- Edwards SG, Seddon B (2001) Mode of antagonism of Brevibacillus brevis against Botrytis cinerea in vitro. Journal of Applied Microbiology; 91, 652 – 659.

- Egamberdieva D. (2008). Plant Growth Promoting Properties of Rhizobacteria Isolated from Wheat and Pea Grown in Loamy Sand Soil. Turk. J. Biol., 32: 9-15.
- Erturk Y., Ercisli S., Haznedar A., Cakmakci R. (2010). Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwi fruit (Actinidia deliciosa) stem cuttings. Biol. Res., 43: 91-98.
- Esquivel-Cote Rosalba, Gavilanes-Ruiz Marina, Cruz-Ortega Rocío y Huante Pilar (2013) Importancia Agrobiotecnológica de la Enzima ACC Desaminasa en Rizobacterias, una Revisión. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 36 (3): 251 – 258.
- Etesami H, Somayeh Emami S, Alikhani H-A (2017). Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects - a review. J Plant Soil and Plant Nutr; 17(4): 897 – 911.
- Fageria NK, Moreira A (2011). The Role of Mineral Nutrition on Root Growth of Crop Plants. Chapter 4. Pp. 252 – 331. En: Donald L. Sparks (Edit.). Advances in Agronomy. Vol. 110. Burlington. Academic Press.
- FAO, 2006. Producción Mundial de Vigna unguiculata (L.) Walp. [en línea]. Disponible en. http://faostat.fao.org/faostat/default.jop. (Verificado el 30 de octubre de 2008).
- FAO.2010. Base de Datos Estadísticos de la FAO. Disponible en: http://www.un.org/spanish/datosestadisticos.asp
- Ferrer, R. y Herrera, R. 1991. Breve reseña sobre los biofertilizantes. La Habana: IES-CITMA, 50 p.
- Fery, R., L. 2002. Nuevas oportunidades en Vigna. ASHS de prensa, Alexandría, VA. pp. 424 – 428.
- Flores, D.; Marcos, M.; Silva, L.R.; Menéndez, E.; Martínez, E.; Mateos, P.F.; Velázquez, E.; García, P.; Andrade, P.; Rivas, R. 2015. Rhizobium as plant probiotic for strawberry production under micro-cosm conditions. Symbiosis 67(1-3): 25-32.
- Fuentes, F. y M. Monzote: Agricultura Orgánica, Año 2 y 3 La Habana, Cuba. 1997, 61 p.
- Funes F., Vázquez L. (2016). Avances de la Agroecología en Cuba. Estación Experimental Pastos y Forrajes Indio Hatuey. 141-155
- González, G. L. G., Jiménez, María Caridad, Terrero, J., Araujo, L., Paz, Irisneys, Arias, Rut Irene y Falcón, A. (2016). Resultados obtenidos con la aplicación de Quitomax (Quitosana) en el cultivo de tabaco (Nicotiana tabacum L.). Editorial Universitaria. 59 p. ISBN 978-959-16-3159-6.
- Gray E.J., Smith D.L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. Soil Biol. Biochem., 37:395–412.
- Grichko V. P., Glick B. R. (2001). Amelioration of flooding stress by ACC deaminasecontaining plant growth-promoting bacteria. Plant Physiol. Biochem., 39:11–17

- Hayat R., Ali S., Amara U., Khalid R., Ahmed I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. Ann. Microbiol., 60:579–598
- Hidalgo, P. R.; Matta, F. B. y Harkess, R. L. Physical and Chemical Properties of Substrates Containing Earthworm Castings and Effects on Marigold Growth. HortScience, 2006, vol. 41, no. 6, pp. 1474-1476. 7.
- Irika M, Kinama JM, Habineza MJ-P (2018). Assessment of inorganic and organic fertilizers regimes on yield and yield components of sunflower in Morogoro, Tanzania. Inter J Agron Agri Res; 12 (6): 83 – 93.
- Islam M. A.; Boyce A. N.; Rahman Mdm Azirun M. S.; Ashraf M. A. "Effects of organic fertilizers on the growth and yield of bush bean, winged bean and yard long bean". Brazilian Archives of Biology and Technology. 2016. 59, e16160586, Spec Iss 1ISSN 15168913.
- Izquierdo H, González MC., Núñez MC. (2014). Genetic stability of micropropagated banana plants (Musa spp.) with non-traditional growth regulators. Biotecnología Aplicada. 2014, Vol. 31, No.1, pp:23-27.
- Jacobsen, C. (1997). Plant protection and rhizosphere colonization of barley by seed inoculated herbicide degrading Burkholderia (Pseudomonas) cepacia DBO1 (pRO101) in 2.4-D contaminated soil, Plant Soil, 189, pp. 139-144.
- Jha, C. K. & Saraf, M. (2015). Plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR): a review. Journal of Agricultural Sciences, vol. 3, no. 2, pp. 73–84, ISSN 2276-7770.
- João, J., Espinosa, A., Ruiz, L., Simó, J. y Rivera, R. (2016). Efectividad de cepas de HMA en el cultivo de la yuca (Manihot esculenta Crantz) en dos tipos de suelos. Cultivos Tropicales. 37 (1): 48-56.
- Jolibois, H.M.C. 1983. Evaluación de prácticas Agronómicas de dos variedades de Caupi (Vigna unguiculata (L.) Walp.), en el distrito de riego "El Cenizo" Estado de Trujillo, Venezuela. Tesis de Licenciatura. Especialidad de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 29, 30.
- Jorquera M.A., Crowley D.E., Marschner P., Greiner R., Fernández M.T., Romero D., Menezes-Blackburn D., Mora M.L. (2011). Identification of b-propeller phytase-encoding genes in culturable Paenibacillus and Bacillus spp from the rhizosphere of pasture plants on volcanic soils. FEMS Microbiol. Ecol., 75: 163–172.
- Joseph B., Ranjan Patra R., Lawrence R. (2007). Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (Cicer arietinum L.). Intern. J. Plant Prod.,1(2):142 – 15.
- Kamala V, Aghora TS, Sivaraj N, Tejeshwar Rao T, et al. 2014 Germplasm Collection and Diversity Analysis in Yardlong Bean (Vigna unguiculata subsp. sesquipedalis) from Coastal Andhra Pradesh and Odisha. Indian J Plant Genet Resour; 27(2): 171-177.
- Kapulnik, Y. (1996). Plant growth promoting rhizosphere bacteria, En: plant Roots the Hidden Half, Waisel, Y, Eshel, A. & Kafkafi, U, eds, Marcel Dekker inc, NY, pp 769-781.

- Karlova Rumyana y de Vries, C. (2006). Advances in Understanding Brassinosteroid signaling. Science STKE Sci. 354: 36.
- Khan A.A., Jilani G., Akhtar M.S., Naqvi S.S.M., Rasheed M. (2009). Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their Role in Crop Production. J. Agric. Biol. Sci. 1(1):48-58.
- Khan M.S., Zaidi A., Wani P.A. (2007). Role of phosphate – solubilizing microorganisms in sustainable agriculture: A review. Agron. Sustain. Dev., 27:29-43.
- Kildea S., Ransbotyn V., Khan M.R., Fagan B., Leonard G., Mullins E., Doohan F.M. (2008). Bacillus megaterium shows potential for the biocontrol of Septoria tritici blotch of wheat. Biol. Control, 47: 37–45.
- Kloepper, J.W (1993) Plant growth promoting rhizobacteria on radishes En: Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Vol 2. Station de Pathologie Vegétale et de Phytobactérologie, INRA, Angers, France, pp. 879-882.
- Kumar A, Prakash A, Johri BN (2011) Bacillus as PGPR in crop ecosystem. In: Maheshwari DK (ed) Bacteria in agrobiology: crop ecosystems. Springer, Heidelberg, pp 37–59.
- Labra-Cardón, D., Guerrero-Zúñiga, L. A., Rodríguez Tovae, A. V., Montes-Villafán, S., Pérez-Jiménez, S. y Rodríguez-Dorantes, A. (2012). Respuesta de crecimiento y tolerancia a metales pesados de Cyperus elegans y Echinochloa polystachya inoculadas con una rizobacteria aislada de un suelo contaminado con hidrocarburos derivados del petróleo. Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 28(1), 7-16.
- Lazarovits G, & Nowak, J. (1997). Rhizobacteria for improvement of plant grow and establishment, HortScience, 32, pp. 188-192.
- Lee JC, Kim CJ, Yoon KH. (2011). Paenibacillus telluris sp nov, a novel phosphatesolubilizing bacterium isolated from soil. J. Microbiol., 49(4): 617-621.
- León Tomás y Altieri Miguel Angel (2010). Vertientes del pensamiento agroecológico: Fundamentos y Aplicaciones. Universidad Nacional de Colombia Instituto de Estudios Ambientales. IDEAS 21.
- Li B., Guan Lin X., Soad A., Coosemads J. (2005). Suppression of Meloidogyne javanica by antagonistic and plant growth-promoting rhizobacteria. J. Zhejiang University Sci.,68(6): 496-501.
- Libreros, S. S. La caña de azúcar fuente de energía: Compostaje de residuos industriales en Colombia. Tecnicaña, 2012, vol. 28, pp. 13-14. ISSN 0123-0409.
- Lugtenberg B., Kamilova F. (2009). Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. Annu. Rev. Microbiol., 63:541–556.
- Marquina M.E., Ramírez Y. y Castro Y., 2018. Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación y crecimiento del pimentón Capsicum annuum L. var. Cacique Gigante. Bioagro vol.30 no.1 ISSN 1316-3361

- Mayak, S., T. Tirosh, and B. R. Glick. 2004. Plant growth promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. Plant Sci. 166: 525-530. doi: 10.1016/j.
- Medina, L. A.; Monsalve, Ó. I. y Forero, A. F. Aspectos prácticos para utilizar materia orgánica en cultivos hortícolas. Ciencias Hortícolas, 2010, vol. 4, no. 1, pp. 109-125. ISSN 2011-2173.
- Mehdi S.S. (2001). Plant Growth Hormones: Growth Promotors and Inhibitors. En: M. Pessarakli (Edit) Handbook of Plant and Crop Physiology. Tukson.
- Mishra, P. y Dash, D. (2014). Rejuvenation of Biofertiliser for Sustainable Agriculture Economic Development Consilience. Journal of Sustainable Development, 11(1), 41-61.
- Mohammadi K. (2012). Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and Their Role in Crop Production. Res. Environm., 2(1): 80 – 85.
- Molina-Romero, D., Bustillos-Cristales, M. R., Rodríguez Andrade, O. y Elizabeth, Y. (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. Revista de La DES Ciencias Biológico Agropecuarias, 17(2), 24-34.
- Morales, G. D., Dell'Amico, R. J., Jerez, M. E., Díaz, H. Y. y Martín, M. R. 2016. Efecto del QuitoMax® en el crecimiento y rendimiento del frijol (Phaseolus vulgaris L.). Cultivos Tropicales. 37 (1): 142-147.
- Mujica, P., Y., Medina, C. A., & Rodríguez, G. E. (2017). Inoculación de hongos micorrícicos arbusculares y bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de maní (Arachis hypogaea, L.). Cultivos Tropicales. 38(2): 15-21.
- Muñoz, R. 1994. Los abonos orgánicos y su uso en la agri-cultura. pp. 293-304. En: Silva M., F. (ed.). Fertilidad de suelos, diagnóstico y control. Sociedad Colom-biana de la Ciencia del Suelo, Bogotá.
- Muñoz. J. (2017). Identificación Y Caracterización De Genes Implicados En La Floración Y El Estolonado En Fresa (Fragaria X Ananassa Duch.), 6. Retrieved From Https://Riuma.Uma.Es/Xmlui/Handle/10630/14322.
- Nápoles S, Serrat M, Ortega E, Ramos Barbosa H, Orberá T. 2014. Efectos de Brevibacillus bortelensis B65 sobre la germinación y el desarrollo de posturas de hortalizas en fase de semillero. Cultivos Tropicales, 35(3): 17-23.
- Nápoles, S. et al. "Impacto de los productos naturales Pectimorf® y biopreparado bacteriano rizosférico en la producción de Moringa Oleifera L. en vivero". 2017. Ciencia en su PC. 3, 53-65. ISSN: 1027-2887.
- Nápoles, Sucleidis; Taymi Garza e Inés Reynaldo. 2016. Respuesta del cultivo de Habichuela (Vigna unguiculata L.) Var. Lina a diferentes formas de aplicación del Pectimorf®. Cultivos Tropicales, 2016, vol. 37, no. 3, pp. 172-177. Disponible en http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v37n3/ctr19316.pdf Consulta Mayo 2017.
- Nautiyal, C. S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate-solubilizing microorganisms. FEMS Microbiology Letters 170: 265 – 270.

- Nehra, V., Saharan, B. S. & Choudhary, M. (2016). Evaluation of Brevibacillus brevis as a potential plant growth promoting rhizobacteria for cotton (Gossypium hirsutum) crop. Springerplus; 5(1), 948. doi: 10.1186/s40064-016-2584-8.
- Nielsen, S.A. 1996. Species hybridization in the genus Vigna. In Proceedings of IITA Collaborators meeting on grain Legume Improvement. Ed. R.A. Luse and Rachie, International Institute of tropical agriculture. Ibanda, Nigeria. pp: 11 – 13.
- Oficina Nacional de Normalización. Calidad del suelo. Análisis químico. Determinación del porciento de materia orgánica. Ciudad de la Habana, Cuba; NC 51, 1999.
- Oficina Nacional de Normalización. Calidad del suelo. Determinación de las formas móviles de fósforo y potasio. Ciudad de la Habana, Cuba; NC 52, 1999.
- Orberá Ratón T (2012). Bacterias rizosféricas de la clase Bacilli con potencialidades para la estimulación del crecimiento vegetal y el control de hongos fitopatógenos. *Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad de Oriente. Facultad de Ciencias Naturales. 25-11-2012.*
- Orberá Ratón, T. M.; Yano, R.; Rodríguez Gámez, O.; Segal Floh, E. I.; Serrat Díaz, M. J. y Ramos Barbosa, H (2012). Isolation and characterisation of aerobic endospore forming Bacilli from sugarcane rhizosphere for the selection of strains with agriculture potentialities. World Journal of Microbiology and Biotechnology; 28:1593-1603.
- Ortiz R, Vera C (2001) Estudio de la biodiversidad en huertos agrícolas urbanos de dos municipios de Ciudad de la Habana. Caracterización de las accesiones del género *Vigna*. Cultivos Tropicales; 22 (4): 17 – 24. ISSN 1819-4087
- Ortíz-Castro R., Valencia-Cantero E., López-Bucio J. (2008). Plant growth promotion by Bacillus megaterium involves cytokinin signaling. Plant Signal. Beh., 3(4): 263 – 265.
- Owolabi IO, Ashaolu JT, Abayomi YA (2016). Effects of Inorganic Fertilizer Application on Plant Growth and Dry Matter Yield of Physic Nut (Jatropha curcas L.). Int J Agr Food Res; 5 (1): 14 – 21.
- Parray, J. A., Jan, S., Kamili, A. N., Qadri, R. A., Egamberdieva, D. & Ahmad, P. (2016). Current Perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Journal of Plant Growth Regulation, 35(3), 877902. doi: 10.1007/s00344-016-9583-4.
- Peña Peña, E.; Proa Cebreros, M.G.; Reyes Valle, E.A.; Pupo Feria, C. González Ramírez, G. (2017) Respuesta agroproductiva de la habichuela (Vigna unguiculata (L) Walp.) a la aplicación simple y combinada de bioestimulantes y micorrizas en condiciones de organopónico en Cuba. Researchgate. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/326841817.
- Pessarakli M, Editor (2001) Handbook of Plant and Crop Physiology. 2nd Edition. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. 973pp. ISBN: 0-8247-0546-7.
- Pita, O .2001. Efecto del bioestimulador de crecimiento Enerplant en el rendimiento y la calidad del tabaco tapado. Revista CUBATABACO. Vol. 2, No.2, p: 15.

- Ponce, M. y Casanova, A. (1999). Bondadosa Guinea -1 nueva variedad de habichuela para cultivo en condiciones de primavera y verano. 5to Encuentro Científico Técnico de productores, investigadores de hortalizas de la Habana. 20 de mayo. Quivicán. La Habana. s/p.
- Prajapati K, Modi HA (2012). The importance of potassium in plant growth – A review. Indian Journal of Plant Sciences; 1 (02-03): 177 – 186.
- Purseglove, J. W. 1984. Tropical Crops. Dicotyledons. Logman, 719 p.
- Raddadi N., Cherif A., Boudabous A., Daffonchio D. (2008). Screening of plant growth promoting traits of Bacillus thuringiensis. Ann. Microbiol., 58 (1) 47-52.
- Radhakrishnan R, Lee I-J (2016). Gibberellins producing *Bacillus methylotrophicus* KE2 supports plant growth and enhances nutritional metabolites and food values of lettuce, Plant Physiology et Biochemistry (2016), doi: 10.1016/j.plaphy.2016.09.018.
- Radushev D y Otros. Prism 7 for Windows. Version 7.04. November 28, 2017. © 1992 – 2017 GraphPad Software Inc.
- Ramos, R.; Sánchez E. Minag 2018. Tecnologías para la Producción y el Beneficio de semillas de granos y hortalizas. pp 16.
- Reyes, I., A. Luimar, E. Hind y V. Alexis. 2008. Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz. Bioagro 20(1): 37-48.
- Rodríguez Nodals, A. Indicadores generales sobre Agricultura Urbana. En: Curso de Maestría sobre Agricultura Urbana, 2005 La Habana, 20 p.
- Rojas A., Rodríguez A.M., Montes S., Pérez S. 2010. Evaluación de la promoción del crecimiento de Cynodon dactylon L. por rizobacterias productoras de fitohormonasaisladas de un suelo contaminado con hidrocarburosderivados del petróleo. Polibotánica, 29: 131 – 147.
- Saidi N., Kouki S., M´Hiri F, Hajlaoui M.R., Mahrouk M., Ouzari H., Jedidi N., Hassen A. (2009). Characterization and selection of Bacillus sp strains, effective biocontrol agents against Fusarium oxysporum f. sp radicis-lycopersici, the causal agent of Fusarium crown and root rot in tomato. Ann. Microbiol., 59: 191-198.
- Sánchez, D (2011). Efecto de la inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre el cultivo de tomate (Solanum Lycopersicum var. Sofía) bajo invernadero. Tesis presentada en opción el grado científico de Master en Ciencias Biológicas. Bogotá, D.C. 40-55.
- Santillana, N., C. Arellano y D. Zuñiga. 2005. Capacidad del Rhizobium de promover el crecimiento en plantas de tomate (Lycopersicon esculentum Miller). Ecología Aplicada 4(1,2): 47-51.
- Schooley, J. Introduction to Botany. New York: Delmar Publishers .1996. 406 pp. ISBN 0-8273-7378-3.

- Setiawati TC, Mutmainnah L (2016). Solubilization of Potassium Containing Mineral by Microorganisms from Sugarcane Rhizosphere. Agriculture and Agricultural Science Procedia; 9:108 – 117.
- Sgroy V., Cassán F., Masciarelli O., Del Papa M. F., Lagares A., Luna V. (2009). Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasisregulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte Prosopis strombulifera. Appl. Microbiol. Biotechnol., [DOI 10.1007/s00253-009-2116-3]
- Shagarodsky T, Fuentes V, Barrios O, et al. (2003) Diversidad de especies alimenticias en tres mercados agrícolas de La Habana, Cuba. Agronomía Mesoamericana; 14(1): 27 – 39.
- Singh PK, Chittpurna, Ashish, Sharma V, Patil PB, et al. (2012) Identification, Purification and Characterization of Laterosporulin, a Novel Bacteriocin Produced by *Brevibacillus* sp. Strain GI-9. PLoS ONE 7(3): e31498. doi: 10.1371/journal.pone.0031498.
- Soto, M. Bananos: técnicas de producción, manejo poscosecha y comercialización. [CDROM]. 4a ed. San José (CR): Litografía e Imprenta LIL. 2008. ISBN 9977-47-154-1.
- Sudhansu, S. 1998. Interactions of an acid tolerant strain of phosphate solubilizing bacteria with a few acid tolerant crops. Plant and soil 198:169-177.
- Tahir, M. y Aqeel, S. M. (2013). Plant Growth promoting rhizobacteria (PGPR): A budding complement of synthetic fertilizers for improving crop production. Pakistan Journal of Life and Social Sciences, 11(1), 1-7.
- Téllez – Soria T, Orberá T. 2018. Efecto estimulador del crecimiento de dos biopreparados biotecnológicos en cultivos de remolacha (Beta vulgaris L.). Revista Cubana de Química; 30(3): 483 – 494.
- Terry, E. 2004. Microorganismos benéficos y productos bioactivos como alternativas para la producción ecológica de tomate (Lycopersicon esculentum, Mill. Var. "Amalia"). Tesis presentada en opción el grado científico de Doctor en Ciencias AgrícolasLa Habana.
- Terry, E.; Pino, M. A. y Medina, N. (1996). Azospirillum lipoferum, una alternativa para la nutrición del tomate (L. esculentuml) en asociación con el maíz (Zea mays). Cultivos Tropicales, vol. 17, no. 1, p. 48-51.
- Tofiño AP (Edit.) Modelo productivo de frijoles para el Caribe húmedo colombiano Mosquera, Colombia. Agrosavia, 2018. Pp. 225. ISBN e- Book: 978-958-740-265-0.
- Trivedi P, Pandey A, Palni LMS (2012). Bacterial Inoculants for Field Applications Under Mountain Ecosystem: Present Initiatives and Future Prospects. Capítulo 2. Pp: 15 – 44. En: D.K. Maheshwari (ed.), Bacteria in Agrobiology: Plant Probiotics. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Tropical Forages, (2008). Revista Alternativa. Número 19. (enero - junio 2009)

- Tsavkelova E.A., Cherdyntseva T.A., Botina S.G., Netrusov A.I. (2007). Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. Microbiol. Res. 162: 69 – 76.
- Tsavkelova, E., Yu, Klimova, S., Cherdyntseva, T. & Netrusov, A. 2006. Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and Their Practical Use: A Review. Applied Biochemistry and Microbiology 42: 117-126
- Vázquez López Ledisliana, Fajardo Acosta Jorge Luis, González Gómez Luis Gustavo, Puchades Izaguirre Yakelyn, Rodríguez Gross Reynaldo. Respuesta agronómica del cultivo de la habichuela (Vigna unguiculata L.) al bioestimulante biobras-plus aplicado en dos épocas. Cultivos tropicales, 2012, №1, pp 34. ISSN 1027-2887.
- Vejan, Abdullah, Khadiran, Ismail, Nasrulhaq-Boyce, 2016. "Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability-A Review" The National Center for Biotechnology Information
- Vessey, K. J. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil 255: 571-586.
- Weingart H., Volksch B. (1997). Ethylene Production by Pseudomonas syringae Pathovars In Vitro and In Planta. Appl. Environ. Microbiol., 63(1): 156–161.
- Wright, J. Sustainable agriculture and food security in an era of oil scarcity: lessons from Cuba. United Kingdom. 2009. ISBN: 978-1-84407-572-0.
- Yadav, K. y Dadarwal, K. 1997. Phosphate solubilization and mobilization through soil microorganisms. In: Biotechnological Approches in Soil Microorganisms for Sustainable Crop Production. Dadarwal, K., Ed. pp. 293-308.
- Yang J.H., Liu H.X., Zhu G.M., Pan Y.L., Xu L.P., Guo J.H. (2008). Diversity analysis of antagonists from rice-associated bacteria and their application in biocontrol of rice diseases. J. Appl. Microbiol., 104: 91–104.
- Yin Z.; Guo W.; Xiao H.; Liang J.; Hao X.; Dong N.; et al. "Nitrogen, phosphorus, and potassium fertilization to achieve expected yield and improve yield components of mung bean". PLoS ONE. 2018. 13(10), https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206285 ISSN:1932-6203
- Zahid, Abbasi, Hameed y Rahim. (2015). Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from Himalayan region of Kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (Zea mays L.) The National Center for Biotechnology Information 17;6:198.
- Zeigler DR (2013). The Family Paenibacillaceae. In: Bacillus Genetic Stock Center Catalog Strains. Part 5. Ed. Daniel R. Zeigler, Director. Pp. 28, Columbus, USA.
- Zhang X., Zhang B., Zhang Z., Shen W., Yang Ch., Yu J., Zhao Y. (2005). Survival of the biocontrol agents Brevibacillus brevis ZJY-1 and Bacillus subtilis ZJY-116 on the spikes of barley in the field. J Zhejiang Univ. Sci., 6B (8):770-777.
- Zúñiga, M.; A. Veja; O. Morales; P. Murillo; F. Vado; C. Amador; E. Arana; B. Rodriguez. (2009). Guia técnica de abonos orgánicos. Programa de desarrollo de

sistemas agroforestales y silvopastoriles. Instituto para el Desarrollo y la Democracia (IPADE). Nicaragua. 56 p.

ANEXOS

Anexo 1

Tabla 7. Variables climatológicas correspondientes al período óptimo de cultivo de Habichuela china var. Lina en Cuba. Los datos corresponden a los años 2018 y 2019 (período del experimento) y fueron suministrados por el Centro Provincial de Metereología de Santiago de Cuba.

Variables climatológicas	U/M	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo
2018						
Temp. media	°C	25.8	25.7	25.4	26.8	n. d
Temp. máx media	°C	31.2	31.8	31.1	31.9	n. d
Temp. min. media	°C	22.5	21.7	21.3	23.3	n. d
Humedad relativa media	%	76	65	66	73	n. d
Humedad relativa media máx	%	91	82	84	91	n. d
Humedad relativa media min.	%	54	41	42	73	n. d
Precipitación	mm	127.7	14.7	29.1	92.4	n. d
2019						
Temp. media	°C	25.4	25.9	26.3	26.9	27.8
Temp. máx media	°C	30.9	31.2	31.3	31.8	32.3
Temp. min. media	°C	21.7	21.8	22.8	23.3	24.2
Humedad relativa media	%	69	67	67	72	71
Precipitación	mm	17.7	47.5	13.9	73.6	103.5

(n.d.) No determinado

Anexo 2.

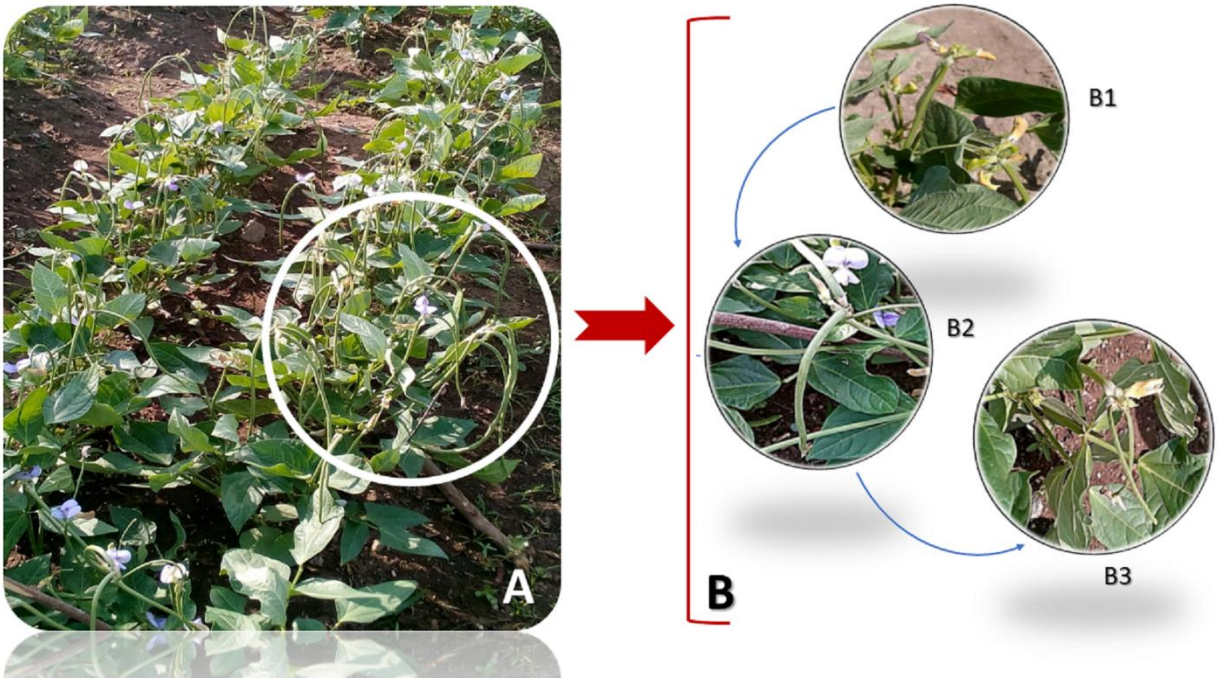


Figura 5. Cultivo de Habichuela china **(***Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata* cv. Sesquipedalis var. Lina**)** a partir de semillas tratadas con *Brevibacillus* sp. B65**.** Se aprecian imágenes de plantas adultas de 40 días posterior a la siembra en fase reproductiva (A) y del (B) ciclo de formación de primordios florales (B1), flores (B2) y vainas (B3).