

EFFECTO BIOFERTILIZANTE DE HEBERNEM-S EN CULTIVOS DE *GLYCINE MAX*, *PHASEOLUS VULGARIS* Y *ZEA MAYS*

Licette León Barreras^{*1}, Leyenis García Santos¹, Jesús Mena Campos¹, Merardo Pujol Ferrer¹, Suriam Valdes Fernandez¹, Vladimir Cordero Porras¹, Yohana Carnesolta Alfonso¹, Livan Álvarez Martínez¹, Abel Hernández Velazquez¹ y Mario Pablo Estrada García¹.

1. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Habana. Cuba

Autora para correspondencia: Licette.leon@cigb.edu.cu

Recibido: 18 de octubre de 2023; Aceptado: 20 de marzo de 2024

RESUMEN

Los suelos del mundo dedicados a la agricultura están cada vez más degradados. El cambio climático y las actuales estrategias de manejo de los suelos, dependientes de fertilizantes inorgánicos de síntesis química, empleadas de forma inapropiada, constituyen una seria amenaza para la salud humana y ambiental. La utilización de microorganismos benéficos como biofertilizantes, se identifican como alternativa biotecnológica para aumentar la fertilidad del suelo, con potencial protagonismo en la seguridad alimentaria y la producción agrícola sostenible. En el presente trabajo se evaluó el efecto biofertilizante del bionematicida HeberNem-S y la cepa natural *Brevibacterium celere* cepa C-924, aplicados al suelo en fase de establecimiento de las plantas de *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*. Las conclusiones del estudio estuvieron en concordancia con los resultados del análisis de los parámetros fenológicos y germinación de las plantas. Se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los porcentajes de germinación de las plantas tratadas con el microorganismo con respecto al control sin inocular. La aplicación del producto formulado HeberNem-S y *Brevibacterium celere* cepa C-924 al sustrato, influyó sobre el crecimiento y desarrollo vegetal de las especies de plantas *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*. Se presume que esta actividad radica en su capacidad para producir ácido indolacético, fitohormona que estimula el desarrollo del sistema radical. De igual forma, podría beneficiar la nutrición mineral de la planta, a partir de su capacidad para solubilizar fosfatos y producir amoníaco a partir de la materia orgánica.

Palabras clave: *Brevibacterium celere*, HeberNem-S, Promotor de crecimiento

BIOFERTILIZING EFFECT OF HEBERNEM-S IN *GLYCINE MAX*, *PHASEOLUS VULGARIS* AND *ZEA MAYS* CROPS

ABSTRACT

The world's soils dedicated to agriculture are increasingly degraded. Climate change and current soil management strategies dependent on chemically synthesized inorganic fertilizers, used inappropriately, cause a serious threat to human and environmental health. The use of beneficial microorganisms as biofertilizers has been identified as a biotechnological alternative to increase soil fertility, due to its potential role in food security and sustainable crop production. In the present work, the biofertilizing effect of the new formulation of the bionematicide HeberNem-S, and the natural strain *Brevibacterium*

celere strain C-924, was evaluated on a substrate where *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* and *Zea mays* plants were seeded. The conclusions of the study were in accordance with the results of the analysis of the phenological parameters and germination of the plants. Significant differences ($P < 0.01$) were observed in the germination percentages of plants treated with microorganisms compared with the uninoculated control. The application of the formulated product HeberNem-S and *Brevibacterium celere* strain C-924 on the plant species *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* and *Zea mays*, performed as a plant growth promoter. It is presumed that this activity lies in its ability to produce indoleacetic acid, a phytohormone that stimulates the development of the root system. Likewise, it could benefit the plant's mineral nutrition from its ability to solubilize phosphates and produce ammonia from organic matter.

Keywords: *Brevibacterium celere*, HeberNem-S, PGPR

INTRODUCCION

HeberNem-S es un bioproducto formulado a partir de la bacteria *Tsukamurella paurometabola* cepa C-924, aislada de la rizosfera del suelo, reevaluada como *Brevibacterium celere* por la 16S (Microbiological Test No.117.2017), su mecanismo de acción se basa en la producción simultánea de quitinasas y sulfuro de hidrógeno, en cantidades suficientes para impedir la eclosión de los huevos y la muerte de las juveniles en nematodos, ejerciendo el control efectivo sobre especies como *Melodogyne incognita*, *Radopholus similis* y *Pratylenchus* spp. (Mena, 2003 a), (Mena et al., 2003 b).

Se conoce que un conjunto de bacterias que habitan en la rizosfera de las plantas producen beneficios, al potenciar su crecimiento, mejorar la disponibilidad o la absorción de minerales y otras sustancias que ayudan a la producción de hormonas necesarias para el desarrollo de vegetal (fitohormonas, giberelinas), además, de protegerlas contra posibles agentes patógenos y la contaminación de los suelos, (Obianuju y Babalola, 2020); (Velasco et al., 2020).

Diferentes mecanismos, como la síntesis de fitohormonas, fijación y solubilización del dinitrógeno atmosférico y de fosfato inorgánico han sido objeto de estudio. Marín et al., (2013), observaron en *Brevibacterium celere* cepa C-924 características que le permitieron promover el crecimiento en diferentes cultivos de interés económico en ausencia de patógenos hasta los 38 días. Razón por la cual, se propone como objetivo del presente trabajo evaluar el efecto biofertilizante de la formulación de HeberNem-S, en fase de establecimiento de las plantas de *Glycine max*, *Zea mays* y *Phaseolus vulgaris* sembradas en suelo tratado con el producto y la cepa natural.

MATERIALES Y METODOS

Modelos empleados, condiciones de mantenimiento y sustancia de ensayo

Se emplearon semillas de plantas de las especies *Glycine max* (Incasoy-1), *Phaseolus vulgaris* (Tomeguín 93) y *Zea mays* (Tusón). Los ensayos se desarrollaron en casa de cultivo climatizada, del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, instalación certificada por el Centro de Seguridad Biológica, bajo las condiciones ambientales de temperatura: $23 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperiodo: Ciclos luz/oscuridad de 12 h y una humedad relativa: 65-85 %.

Sustancia de ensayo

HeberNem-S formulado a base de la cepa C-924 de la bacteria Gram-positiva *Brevibacterium celere*, que cumple los criterios de aceptación para las características de

calidad del producto, lote 52S.005, a una concentración comprobada de 1×10^{11} ufc/g, según certificado de liberación del lote.

Brevibacterium celere cepa C-924 natural crecida en zaranda en medio Luria Bertani a la concentración de 1×10^{11} ufc/ml.

Procedimiento del ensayo

Para el desarrollo del ensayo se emplearon 270 macetas a las que se les adicionaron 400 g suelo ferralítico rojo, certificado por el Laboratorio Provincial de Suelos de Camagüey. La siembra se realizó con semillas certificadas, procedentes del Instituto Nacional de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Se conformaron tres grupos experimentales por especie de semilla con diez réplicas cada una, para un total por especie de 90 semillas, cada maceta con tres plantas, comparado con igual número de réplicas para el control por cada especie de semilla, a los que se le añadieron 50 ml de agua destilada días alternos. El cálculo de los porcentajes de retención de agua, se llevó a cabo por el método gravimétrico (Morales y Casanova, 2015). Durante el ensayo se mantuvo control de las variables de temperatura, humedad relativa y pH (Ramos y Zuñiga, 2008).

Después de la primera hora de iniciado el estudio se cuantificó la persistencia de *Brevibacterium celere* en el sustrato. A partir del tercer día, se evaluó la germinación de las semillas de las tres especies. Se consideró como semilla germinada aquella con una radícula de longitud mayor o igual a 2 mm. El porcentaje de germinación (PG) se calculó con la siguiente fórmula.

$$PG = [(N^{\circ} \text{ semillas germinadas}) / (N^{\circ} \text{ semillas sembradas})] \times 100.$$

En los días 7 y 14 días del ensayo se evaluaron el peso fresco de la raíz, grosor del tallo y número de hojas por especie de plantas en fase de establecimiento, comparado entre el control y los tratamientos con HeberNem-S y *Brevibacterium celere*.

Grupos experimentales

Grupo 1- Agua destilada (control *Glycine max*)

Grupo 2- Agua destilada (control *Phaseolus vulgaris*)

Grupo 3- Agua destilada (control *Zea mays*)

Grupo 4- HeberNem-S, 1×10^8 ufc/g *Glycine max*.

Grupo 5- HeberNem-S, 1×10^{11} ufc/g *Phaseolus vulgaris*

Grupo 6- HeberNem-S, 1×10^{11} ufc/g *Zea mays*

Grupo 7- *Brevibacterium celere* cepa C-924 1×10^8 ufc/g (*Glycine max*)

Grupo 8- *Brevibacterium celere* cepa C-924 1×10^{11} ufc/g (*Phaseolus vulgaris*).

Grupo 9- *Brevibacterium celere* cepa C-924 1×10^{11} ufc/g (*Zea mays*)

En todos los casos el tratamiento se aplicó en 120 mL de solución final.

Determinación de la persistencia de C-924 en suelo tratado con HeberNem-S y *Brevibacterium celere*

La persistencia de la cepa C-924 en el suelo, se determinó en todos los grupos en los tiempos de una hora, 24, 48, 72 y 96 h, de aplicados los tratamientos y en los días 7, 14 y 21. Para ello se cuantificó la concentración del microorganismo, expresado en unidades formadoras de colonias (ufc), a partir de las muestras de suelo con el producto y sus variantes en estudio. De cada réplica por muestra, se pesó 0,1 g de suelo, se diluyó en 9,9 ml de solución salina peptonada que contenía tween 80 al 1 %, e incubada por 1 h a

28°C con agitación a 100 rpm en zaranda Sakura. Transcurrido el tiempo de incubación, se procedió con diluciones seriadas en solución salina 0,9 % para un volumen final de 1 ml, se homogenizó por agitación vigorosa. A partir de esta suspensión se realizaron diluciones seriadas (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}), en tubos Eppendorff. Un volumen de 10 µL de cada dilución seriada, se sembró por el método de dilución traza con tres repeticiones (Pérez *et al.*, 2003) en placas de Petri, con medio de cultivo Luria Bertani selectivo (LBs), (triptona 10 g/L, extracto de levadura 5 g/L, NaCl 10 g/L), con una combinación de antimicrobianos de diferentes espectros de acción, Kanamicina 100 mg/ml, Ampicillina 100 mg/ml, más la adición de telurito de potasio 0,5 %, procedimiento descrito por (Marín *et al.*, 2010). Las placas, con las muestras, se incubaron de forma invertida a 28°C durante 96 h. Las colonias observadas se contaron y se calcularon las ufc de cepa C-924 por gramos de suelo en cada tratamiento por especie de planta.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se basó en la comparación de medias. Los datos se sometieron a análisis de normalidad y homogeneidad de varianzas. Las variables fueron comparadas mediante la prueba ANOVA para la estimación entre grupos y tratamientos. Se determinó la variabilidad de la muestra por el error estándar, la varianza y el test de Kruskal-Wallis para la comparación peso del tallo, la raíz y número de hojas con respecto al control y entre grupos.

Se empleó el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI.

Para el análisis de germinación se empleó el programa GraphPad Prism 9.

RESULTADOS Y DISCUSION

Con las aplicaciones de HeberNem-S (1×10^{11} ufc/g), (1×10^8 ufc/g y *Breviacterium celere* no se observaron cambios en el pH del suelo. Tanto al inicio como al finalizar el ensayo los valores de pH para el control se detectaron en 7,4; mientras que, el valor de pH en los tratamientos se mantuvo entre 7,1 - 7,2, acorde a los requisitos establecidos para el cultivo de las especies en estudio reportados entre 6,0 a 7,5 como aceptables para el desarrollo de la mayoría de las plantas (Castillo *et al.*, 2021).

Determinación de la persistencia de *Breviacterium celere* en suelo tratado.

En las muestras del tratamiento control no se observaron colonias del microorganismo. El crecimiento de colonias de *B. celere* en el suelo ocurrió después de la primera hora de aplicados los tratamientos con HeberNem-S (1×10^{11} ufc) y *Breviacterium celere* cepa C-924 (1×10^{11} ufc); en las muestras tomadas a partir del suelo tratado del cultivo de *Zea mays* la persistencia del microorganismo mostró concentración similar a la concentración de aplicación 1×10^{11} ufc/g de suelo (Figura 1). Semejante comportamiento al crecimiento del microorganismo con la aplicación de la cepa natural en *Phaseolus vulgaris*, sin embargo, el producto formulado se comportó similar al suelo tratado con HeberNem-S (1×10^8 ufc) *Glycine max*.

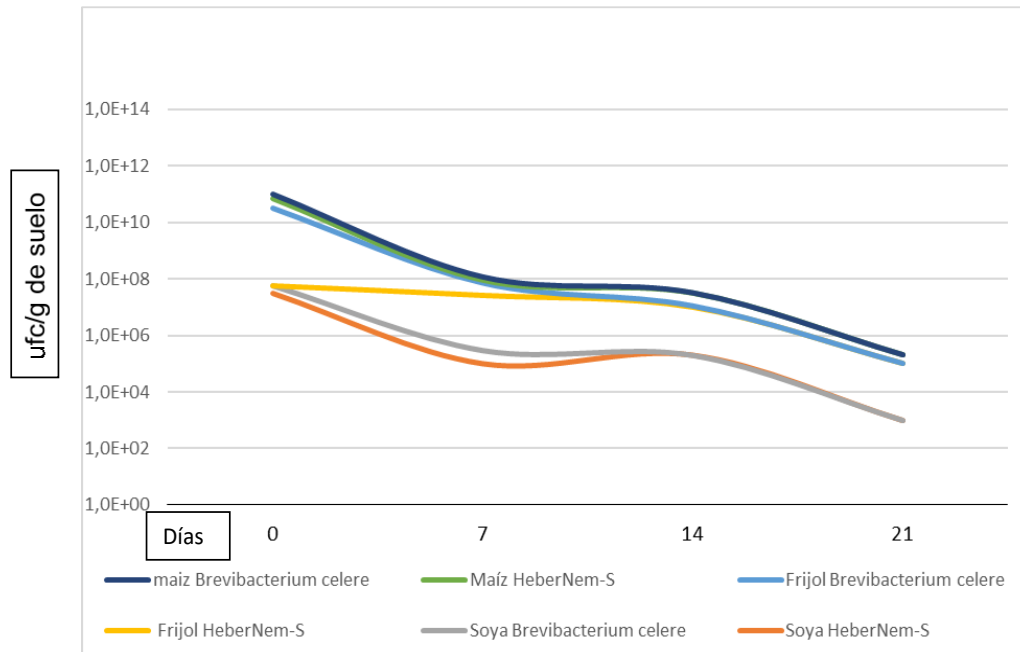


Figura 1. Persistencia de *Brevibacterium celere* en el suelo tratado de los tres cultivos.

La bacteria, ejerció actividad en la rizosfera, sin que la población del microorganismo se estableciera de forma definitiva en los suelos donde se introdujo, observándose una tendencia a disminuir en el tiempo hasta desaparecer de forma similar a los resultados de Alcarraz *et al.*, (2019); Marín (2010) y Padhan *et al.*, (2020). En coincidencia con estudios de interacción de la cepa C-924 realizados por Mena *et al.*, (2006), quien determinó el periodo de supervivencia de la bacteria en suelos de casas de cultivo tratadas con HeberNem-S en 21 días.

Evaluación de los efectos fisiológicos de HeberNem-S y cepa C-924 en las especies *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*

El porcentaje de semillas germinadas, arrojó los datos siguientes (Tabla 1).

Se observaron diferencias entre el porcentaje de plántulas emergidas en las muestras control comparadas con las plantas de maíz, soya y frijol tratadas con HeberNem-S y *Brevibacterium celere* cepa C-924, con un mayor porcentaje de germinación para las plantas que recibieron tratamientos como muestra figura 2. Resultados que coinciden con los informados por Marín *et al.*, (2013) y en ensayos desarrollados con frijol y maíz en macetas, donde se aplicó la cepa C-924 y de igual forma se obtuvo un mayor porcentaje de germinación en las plantas tratadas, con respecto al control.

Tabla 1. Porcentaje de emergencia de semillas por especies.

Tratamientos	Número de plantas germinadas	Especie	Porcentaje de germinación
Control	28	<i>Phaseolus vulgaris</i>	93,3
HeberNem-S (1×10^{11} ufc/g)	29	<i>Phaseolus vulgaris</i>	96,6
<i>Breviacterium celere</i> (1×10^{11} ufc/g)	29	<i>Phaseolus vulgaris</i>	96,6
Control	27	<i>Zea mays</i>	90
HeberNem-S (1×10^{11} ufc/g)	29	<i>Zea mays</i>	96,6
<i>Breviacterium celere</i> (1×10^{11} ufc/g)	29	<i>Zea mays</i>	96,6
Control	26	<i>Glycine max</i>	86,6
HeberNem-S (1×10^8 ufc/g)	30	<i>Glycine max</i>	100
<i>Breviacterium celere</i> (1×10^8 ufc/g)	30	<i>Glycine max</i>	100

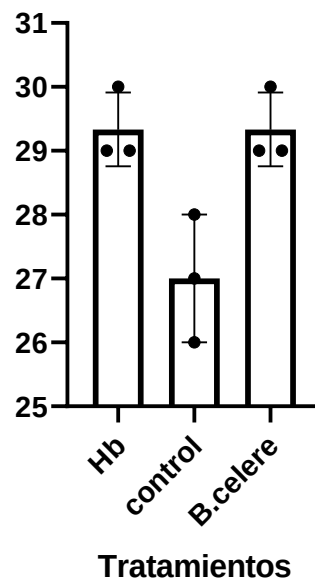


Figura 2. Porcentaje de germinación de las plantas.

Tabla 2. Significación estadística para los valores del peso fresco de la raíz, grosor del tallo y número de hojas en *Glycine max* comparado con el control a los 14 días. ANOVA

Fuente	Suma de cuadrados	Df	significación	F-R	P-V
Entre grupos	0,411692	3	0,137231	14,15	0,0015
Dentro de los grupos	0,0776	8	0,0097		
Total (Corr.)	0,489292	11			

Dado que el valor P de la prueba F es menor de 0,05 hay una diferencia estadística significativa entre las medias de las variables en el nivel de confianza del 95,0%.

A). Peso fresco de la raíz

Combinaciones	Significación.	Diferencia	+/- Limits
control raíz - Hb	*	0,416667	0,185439
control raíz – <i>B.celere</i>	-	-0,0666667	0,185439
Hb raíz – <i>B. celere</i>	*	-0,483333	0,185439

B). Largo del tallo

Combinaciones	Significación	Diferencias	+/- Limit.
control tallo - Hb	*	0,313333	0,21605
control tallo – <i>B.celere</i>	-	-0,01	0,21605
Hb tallo – <i>B. celere</i>	*	-0,323333	0,21605

C). Número de hojas

Combinaciones	Significación	Diferencias	+/- Limit.
control hojas - Hb	*	0,52	0,225418
control hojas – <i>B.celere</i>	-	0,0766667	0,225418
Hb hojas – <i>B.celere</i>	*	-0,443333	0,225418

El peso fresco de la raíz, el largo del tallo y el número de hojas de las plantas de *Glycine max* tratadas con HeberNem-S mostraron mayor crecimiento con respecto al control y *Brevibacterium celere* cepa C-924 como muestran las tablas 2 A, B, C donde se detectaron diferencias estadísticas significativas en el nivel de confianza del 95,0%. Por lo que podemos afirmar la incidencia de HeberNem-S desde etapas tempranas de desarrollo de las plantas como la fase de establecimiento funciona como estimulador de crecimiento en soya.

Tabla 3. Significación estadística para los valores del peso fresco de la raíz, largo del tallo y número de hojas de *Phaseolus vulgaris* comparado con el control a los 14 días.

A). Peso fresco de la raíz

Combinaciones	Significación	Diferencia	+/- Limit
control - Hb	-	0,075	1,33984
control – <i>B. celere</i>	-	-0,785	1,33984
Hb - <i>B. celere</i>	-	-0,86	1,33984

B). Largo del tallo

Combinaciones	Significación	Diferencias	+/- Limit
control tallo - Hb	-	-0,93	1,34483
control tallo – <i>B.celere</i>	*	-0,085	1,34483
Hb tallo – <i>B.celere</i>	-	0,845	1,34483

C). Número de hojas

Combinaciones	Significación	Diferencias	+/- Limit
Control hojas - Hb	-	0,855	2,19107
Control hojas – <i>B.celere</i>	-	1,195	2,19107
Hb hojas – <i>B. celere</i>	-	0,34	2,19107

No existen diferencias estadísticamente significativas entre el peso fresco de la raíz y el número de hoja de las plantas de *Phaseolus vulgaris* tratados con HeberNem-S o la cepa C-924 en fase de establecimiento del cultivo. Sin embargo, se detectaron diferencias estadísticas significativas para el largo del tallo de las plantas tratadas con *Brevibacterium celere* en las plantas a los 14 días de germinadas como muestra la tabla 3 B); a diferencia de ello, lecturas realizadas por Marín, *et al.* (2013) muestran un mayor número de hojas en las plantas en fase de crecimiento rápido a los 36 días después de la siembra, con la aplicación de *B. celere* C-924 y observándose diferencias ($P < 0.05$) con respecto al control.

Tabla. 4. significación estadística para los valores del peso fresco de la raíz, largo del tallo y número de hojas de *Zea mays* comparado con el control a los 14 días.

A). Peso fresco de la raíz

Combinaciones	Significación	Difference	+/- Limits
control - Hb	-	0,31	1,24496
control – <i>B.celere</i>	*	-0,045	1,24496
Hb – <i>B.celere</i>	-	-0,355	1,24496

B). Largo del tallo

Combinaciones	Significación	Diferencia	+/- Limit
control tallo - Hb	-	-0,42	2,12272
control tallo – <i>B.celere</i>	-	-0,495	2,12272
Hb tallo - <i>B.celere</i>	-	-0,075	2,12272

C). Número de hojas

Combinaciones	Significación	Diferencia	+/- Limit
Control hojas - Hb	-	-0,055	2,38213
Control hojas – <i>B.celere</i>	-	0,255	2,38213
Hb hojas – <i>B.celere</i>	-	0,1	2,38213

El tratamiento de *Brevibacterium celere* incidió significativamente sobre el peso fresco de la raíz en las plantas de *Zea mayz* en fase de establecimiento (tabla 4), no se detectó influencia de los tratamientos en estudio para el largo del tallo o número de hojas para la especie. No obstante, en fase de crecimiento rápido de las plantas como los 21 días Marín *et al.*, (2013), detectaron una talla significativamente superior de las plantas inoculadas con C-924, con respecto al control sin inocular, en estudios comparativos.

La evaluación de crecimiento de las plantas en fase de establecimiento tratadas HeberNem-S y C-924 mostraron indicios de la incidencia del microorganismo en fases tempranas del desarrollo. Se conoce que *Brevibacterium celere* cepa C-924 produce ácido indolacético (AIA), proteasas y quitinasas y solubiliza fosfato tricálcico, Marín *et al.*, (2014); Peña *et al.*, 2017).

El 80 % de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal producen ácido indolacético (AIA), considerándose la auxina responsable de la división, expansión y diferenciación de las células y tejidos de las plantas, estimuladora de la elongación de las raíces y promotora de la defensa contra fitopatógenos, su utilidad en la agricultura ha sido estudiada por diferentes autores que alcanzaron similares conclusiones (Jiménez, 2019; Licea, *et al.*, 2020; Navarro, 2021; Posada, *et al.*, 2021; Saino, 2020.).

La acción de los microorganismos solubilizadores de fosfato es esencial para facilitar la adquisición del nutriente por parte de las plantas; (de Andrade *et al.*, 2023; Mora *et al.*, 2021; Lugtenberg y Kamilove, 2019; Özdoğan *et al.*, 2022., Sharma, *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2021), forman parte integral de sistemas vivos concretos y ecosistemas y son reconocidas como responsables de la mayor parte de la fijación del nitrógeno atmosférico, por medio del proceso conocido como Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN) (Ramos *et al.*, 2021; Soumare *et al.* 2020; Sullins, 2023), además, genera beneficios como la tolerancia al estrés ambiental.

Es por ello que las formulaciones de biofertilizantes, a partir de microorganismos promotores del crecimiento vegetal se reconocen como una alternativa para la mejora del crecimiento de las plantas y para la protección de los cultivos, contribuye al desarrollo de una agricultura sostenible con relaciones ecológicas entre organismos, el medio ambiente y la salud radical, (Akhtar *et al.*, 2020; Ali y Xie, 2020; Asunción *et al.*, 2021, Marín y Grayston, 2019; Soumare *et al.*, 2020).

HeberNem-S es aplicable en campo potencialmente como promotor del crecimiento vegetal.

CONCLUSIONES

Se detectó acción como promotor del crecimiento vegetal en fase de establecimiento de las plantas de las especies *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays* con la aplicación de HeberNem-S y *Brevibacterium celere* cepa C-924.

BIBLIOGRAFIA

- ALCARRAZ, M; HEREDIA, V y IBARRA, JP. 2019. Cepas bacterianas nativas con actividades promotoras del crecimiento vegetal aisladas de la rizosfera de *Coffea* spp. en Pichanaqui, Perú. *Biotechnologia Vegetal*, 19 (4): 285-295. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2074-86472019000400285&lng=es&nrm=iso>. ISSN 2074-8647. DOI: s2074 86472019000400285 doi
- ALI, S. and Xie, L. 2020. Plant growth promoting and stress mitigating abilities of soil born microorganisms. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 11(2): 96-104. DOI:10.2174/2212798410666190515115548
- ASUNCION, E; VILLA-TORRES, J. A; HERNANDEZ, E. M; VAZQUEZ, E; y ALVAREZ, J. 2021. Función, identificación e importancia de fitohormonas: una revisión. *Biotechnologia Vegetal*, 21(4): 178-192. Instituto de Biotecnología de las Plantas. UCLV. MES. eISSN 2074-8647, RNPS: 2154.
- CASTILLO, X; ETCHEVERS, J. D; HIDALGO, C. M. Y AGUIRRE, A. 2021. Evaluación de la calidad de suelo: generación e interpretación de indicadores. *Terra Latinoamericana*, (39): 1-12. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.698>
- DE ANDRADE, L; SANTOS, C.H; TECIANO, E; RAMOS, L. and CID, E. 2023. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Sustainable Agricultural Production. *Microorganisms*, 11(4): 1088-10104. Disponible en: <https://www.mdpi.com/journal/microorganisms>. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088>.
- JIMENEZ, L; FONSECA, M; GARCIA, A; INFANTE, S Y VAZQUEZ, J. 2019. Efecto de diferentes concentraciones de Ácido Indolacético (AIA) en el enraizamiento *in vitro* de *Dahlia* sp. *Cultivos Tropicales*,1(40): a11-e11. Disponible en:

- <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362019000100011&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0258-5936. ISSN digital: 1819-4087
- LICEA, J; QUIROS, J; HERNANDEZ, JL. 2020. Impacto de *azospirillum brasilense*, una rizobacteria que estimula la producción de ácido indol-3-acético como mecanismo de mejora del crecimiento de las plantas en los cultivos agrícolas. *Revista Boliviana de Química*, 37(1): 34-39. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=426363282005>. DOI: 10.34098/2078-3949.37.1.5.
- MARIN, M. and GRAYSTON, S. (2019). Biological control of nematodes by plant growth promoting rhizobacteria: secondary metabolites involved and potential applications. *Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms: (eds) Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms*. Springer, Singapore. *Biomedical and Life Sciences*. Discovery and Applications, 253-264. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-13-5862-3_13.
- MARIN, M; MENA, J; CHAVELI, P; MORAN, R y PIMENTEL, E. 2013. Interacción de *Tsukamurella paurometabola* C-924 con *Rhizobium leguminosarium* biovar *phaseoli* CFH en el cultivo de frijol. *Acta agronómica*, 62(1): 52-58.
- MARIN, M; MENA, J; RAMON, F; PIMENTEL, E. and SANCHEZ, I. 2010. Effects of the bacterial-fungal interaction between *Tsukamurella paurometabola* C924 and *Glomus fasciculatum* and *Glomus clarum* fungi on lettuce microrrizal colonization and foliar weight. *Biotecnología Aplicada*, 27 (28): 48-51.
- MARIN, M; MENA, J; WONG, I; MORAN, R; FRANCO, R; ROJAS, M; CHAVELIS, P; GARCIA, G; BASULTO, R; HERNANDEZ, A; PIMENTEL, E; MOREIREIRA, A Y GONZALEZ, S. 2014. Determinación de la capacidad promotora del crecimiento vegetal de *Tsukamurella paurometabola* C-924 y caracterización de los principales mecanismos involucrados en el proceso. 31 (2):168-171.
- MENA, J. 2003 a. Determinación de cepas bacterianas con actividad nematocida. Disertación doctoral. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Cuba. Disponible En: https://www.researchgate.net/profile/Jesus-Mena-7/publication/255822002_CENTRO_DE_INGENIERIA_GENETICA_Y_BIOTECNOLOGIA_CIGB_CIGB_Camaquey_Laboratorio_de_Bioproductos/links/00463520be2ef470eb000000/CENTRO-DE-INGENIERIA-GENETICA-Y-BIOTECNOLOGIA-CIGB-CIGB-Camaquey-Laboratorio-de-Bioproductos.pdf.
- MENA, J; PIMENTEL, E; HERNANDEZ, A. T; LEON, L; RAMIREZ, Y; WONG, I; y HERRERA, L. 2006. Uso del bionemática HeberNem en los cultivos protegidos. *Fitosanidad*, 10 (2):45-50.
- MENA, J; PIMENTEL, E; VELOZ, L; HERNANDEZ, A; LEON, L; J.P; MENCHO; RAMIREZ, Y; PUJOL, M y BORROTO, C. 2003 b. Aislamiento y determinación de cepas bacterianas con actividad nematocida. Mecanismo de acción de *C. paurometabolum* C-924 sobre nematodos. *Biotecnología Aplicada*, 20 (4): 48-252. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/251522155>.
- Microbiological Test No.117. 2017. Plate cultured strain (ID: C-924/LKQH-1) Shandong Lukang Biological Pesticides Co., Ltd. *Brevibacterium celere* Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences No. 3, No. 1 Institute, Beichenxi Road, Chaoyang District, Beijing Postcode: 100101 <http://www.im.ac.cn>. DOI: 10.2478/jofnem-2023-0001. eCollection 2023 Feb.
- MORA, S; CUAICAL, E.T; GARCIA, J; REVELO, V; PUETATE, LM; AGUILA, E y RUIZ, M.2021. Biofertilización con bacterias solubilizadoras de fósforo y hongos micorrízicos

- arbusculares en el cultivo de la papa. Cultivos tropicales, 42 (2): e02. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362021000200002&lng=es&nrm=iso. ISSN digital: 1819-4087.
- MORALES, E. R and CASANOVA, F. 2015. Mixtures of organic and inorganic substrates, particle size and proportion. *Agronomía Mesoamericana*, 26(2): 365-372. DOI: <https://doi.org/10.15517/am.v26i2.19331>.
- NAVARRO, M. 2021. Desarrollo, estabilidad y eficacia de biofertilizantes para la mejora del cultivo de plantas de tomate y maíz. "Disertación doctoral". Programa de Ecología, Ciencias Ambientales y Fisiología Vegetal del Departamento de Biología Evolutiva Ciencias Ambientales (BEECA) de la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona. España. Disponible en: <http://hdl.handle.net/2445/184791>.
- OBIANUJU, O. and BABALOLA, O. 2020. Productivity and quality of horticultural crops through co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria. *Microbiological Research*, 239:126569. DOI: [tps://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126569](https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126569).
- ÖZDOĞAN, D.K., AKCELIK, N. and AKCELIK, M. (2022). Genetic Diversity and Characterization of Plant Growth-Promoting Effects of Bacteria Isolated from Rhizospheric Soils. *Current Microbiology*.79 (5): 132. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00284-022-02827-3>.
- PADHAN, A; BHATTACHARIYA, S; SAHU, A; MANNA, M.C; SHARMA, M.P; SINGH, M; WANJARI, R.H; SHARMA, R.P; SHARMA, G.K and PATRA, A.K. 2020. Soil N transformation as modulated by soil microbes in a 44 years long term fertilizer experiment in a sub-humid to humid Alfisol. *Applied Soil Ecology*.145: 103355. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.09.005>.
- PEÑA, K; RODRIGUEZ, J.C; SANTANA, M; OLIVERA, D; VALLE, C.D; DORTA, R. 2017. Efecto de un promotor del crecimiento activado molecularmente sobre la germinación y la producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Acta Agronómica*, 66 (3):360-366. DOI: <https://doi.org/10.15446/acag.v66n3.53820>.
- PEREZ, D; CAMPOS, D.L; DOMINGUEZ, I. y SOSA, A. 2003. Verificación rápida de la pureza microbiológica de bancos de *Escherichia coli* K12. *Biotecnología Aplicada*, 20 (4): 231-237
- POSADA, A; MEJIA, D; POLANCO-ECHEVERRY, D; y CARDONA, J. 2021. Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR): Una revisión sistemática 1990-2019. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12 (2):161-178. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.4040>.
- RAMOS, E. y ZUÑIGA, D. 2008. Efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio. Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. Perú. *Ecología Aplicada*, 7(1y2):123-130. DOI:10.21704/rea.v7i1-2.367. https://www.researchgate.net/publication/41394706_Efecto_de_la_humedad_temperatura_y_pH_del_suelo_en_la_actividad_microbiana_a_nivel_de_laboratorio. Depósito legal 2002-5474.
- RAMOS, E; DELGADO, Z; MURILLO, R; MUÑOZ, V Y HOYOS, J. 2021. Evaluación de bacterias endofíticas solubilizadores de fósforo en café, una alternativa sostenible. *Revista Bio Agro*.19 (2): 94-107. ISSN 1692-3561. DOI: <https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n2.2021.1554>.

- SAINO, T. 2020. Evaluación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en tomate. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Nacional de La Plata. 74p. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/107101>.
- SHARMA, V; KAUR, J y SHARMA, S. 2020. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: Potencial para la agricultura sostenible. *Biotecnología Vegetal*, 20 (3): 157-166. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2074-86472020000300157&lng=es.
- SILVA, J; ALMEIDA, M; CERIBELI, M; DE ASSIS, K; SILVA, F; CARNEIRO, J; SOUSA, T y SOUCHIE, E. 2021. Efecto de la inoculación de microorganismos solubilizadores de fosfato y hongos micorrícicos arbusculares en plantas de *Eugenia dysenterica* crecidas en diferentes sustratos. *Biotecnología Vegetal*, 21(1): 62-73. Instituto de Biotecnología de las Plantas. UCLV. MES. eISSN 2074-8647, RNPS: 2154. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2074-86472021000100062&lng=es&nrm=iso>. Epub 01-Mar-2021. ISSN 2074-8647.
- SOUMARE, A; ABDALA, G; MOSES, T; MOHAMED, H; OUHDOUCH, Y; GOPALA-KRISHNAN, S. and KOUISNI, L. 2020. Exploiting biological nitrogen fixation: a route towards a sustainable agriculture. *Plants*. 9 (8): 1011. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9081011>.
- SULLINS, K.N.; DILLARD, S.L.; HELD, D.W.; CARROLL, E.P. 2023. Utility of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Sustainable Production of Bermudagrass Forage. *Microorganisms*, 11: 863 - 875. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040863>.
- VELASCO, A; CASTELLANO, O; ACEVEDO, G; CLARENC, R Y RODRIGUEZ, A. 2020. Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana*. 38 (2): 333-345. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>.