

**EFFECTO COMBINADO DE RIZOBACTERIAS Y OLIGOGALACTURÓNIDOS EN LA ESTIMULACIÓN DEL CRECIMIENTO Y DEL RENDIMIENTO DE HABICHUELA (*Vigna unguiculata* L)**

**COMBINED EFFECT OF RHIZOBACTERIA AND OLIGOGALACTURONIDES ON THE GROWTH STIMULATION AND YIELD OF BEAN (*Vigna unguiculata* L)**

Irasema Pérez-Portuondo<sup>1</sup> <http://orcid.org/0000-0001-9511-5107>

Ariel López-Duany<sup>2</sup> <http://orcid.org/0000-0001-6249-215X>

Rosa M. Pérez-Silva<sup>1</sup> <http://orcid.org/0000-0002-9878-7192>

Areliis Ábalos-Rodríguez<sup>1</sup> <http://orcid.org/0000-0002-0007-5825>

Manuel Serrat-Díaz<sup>1\*</sup> <http://orcid.org/0000-0003-1482-2454>

<sup>1</sup>Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

<sup>2</sup>Centro Universitario Municipal San Luis, Universidad de Oriente, San Luis, Santiago de Cuba, Cuba

\*Autor para la correspondencia: [mserrat@uo.edu.cu](mailto:mserrat@uo.edu.cu)

Recibido: 20 de julio de 2024

Aprobado: 1 de septiembre de 2024

## RESUMEN

El empleo de rizobacterias para promover el crecimiento vegetal es una alternativa al uso de fertilizantes químicos y una opción amigable con el ecosistema. En esta investigación se exploró el efecto del inoculante bacteriano *Bacillus* sp. RC138, y tres dosis del bioestimulante PectinHydrol sobre indicadores morfométricos y productivos (altura de la planta, longitud de la raíz, peso y longitud de las vainas y rendimiento) de la habichuela (*Vigna unguiculata* L.) variedad Lina. Se utilizó un diseño de bloques al azar de nueve tratamientos con cuatro réplicas; los datos experimentales se procesaron mediante un análisis bifactorial, para determinar la influencia del estimulante y la bacteria. Se demostró el efecto positivo y determinante de la bacteria combinada con el bioestimulante PectinHydrol sobre los parámetros evaluados. La aplicación de la rizobacteria RC138, conjuntamente con el PectinHydrol a 20 mg·L<sup>-1</sup>, fue la mejor combinación (p < 0,05). Los resultados obtenidos ofrecen una nueva alternativa agroecológica para la producción sostenible de habichuela.

**Palabras clave:** *Vigna unguiculata* L.; bioestimulante; oligogalacturonidos; rizobacteria promotora del crecimiento vegetal.

## ABSTRACT

The use of rhizobacteria to promote plant growth is an alternative to the use of chemical fertilizers, and an ecosystem-friendly option. This research explored the effect of the bacterial inoculant *Bacillus* sp. RC138 and three doses of the biostimulant PectinHydrol on morphometric and productive indicators (plant height, root length, weight and length of pods and yield) of the bean (*Vigna unguiculata* L.) variety Lina. A randomized block design of nine treatments with four replicates was used; the experimental data were processed by mean of a two-factor analysis to determine the influence of stimulant and bacteria. The positive and determinant effect of the bacteria combined with the biostimulant PectinHydrol on the parameters evaluated was demonstrated. The application of the rhizobacterium RC138 in conjunction with PectinHydrol at 20 mg·L<sup>-1</sup> was the best combination (p < 0,05). The obtained results offer a new agroecological alternative for sustainable bean production.

**Keywords:** *Vigna unguiculata* L.; biostimulant; oligogalacturonides (OGA); plant growth promoter rhizobacteria.

## INTRODUCCIÓN

En el marco de la agricultura sostenible, el uso de inoculantes microbianos ayuda a reducir la aplicación de plaguicidas y fertilizantes químicos. Estos pueden desempeñar un papel vital en la protección de los cultivos mediante el control biológico de enfermedades, la promoción del crecimiento y la mejora de la fertilidad del suelo.<sup>(1)</sup> Las bacterias que ejercen efectos beneficiosos sobre el crecimiento y el desarrollo de las plantas a través de mecanismos directos o indirectos, que en consecuencia, promueven su crecimiento, se denominan bacterias promotoras del crecimiento vegetal.<sup>(2)</sup>

El uso de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) para una agricultura sostenible y segura, ha aumentado en todo el mundo en las últimas dos décadas. Las rizobacterias beneficiosas se han utilizado para mejorar la absorción de agua y nutrientes, así como para mejorar la tolerancia al estrés biótico y abiótico.<sup>(3,4)</sup> Diversas rizobacterias simbióticas (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*) y no simbióticas (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Azomonas*), se utilizan actualmente en muchos países como bioinoculantes para promover el crecimiento y el desarrollo de las plantas.<sup>(5)</sup>

Por otra parte, los oligogalacturonidos (OGA) son oligosacáridos lineales de unidades de ácido D-galacturónico, unidos por enlaces del tipo  $\alpha(1\rightarrow4)$ . Los OGA pueden obtenerse por hidrólisis ácida o enzimática de la pared celular vegetal o del ácido poligalacturónico. Este último se obtiene por desmetoxilación básica o enzimática de la pectina. Las materias primas más abundantes para la producción de pectinas son los residuos de la producción de jugos de manzana y de cítricos.<sup>(6,7)</sup>

Varios autores consideran los OGA como biorreguladores endógenos, que inciden en el desarrollo de las plantas, pues regulan la síntesis y acción de las hormonas, y distintos procesos relacionados con la organogénesis y el crecimiento.<sup>(8)</sup>

Un ejemplo de un preparado comercial de OGA es el **Pectimorf®**, el cual fue desarrollado por el grupo de productos bioactivos del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA, Cuba). El **Pectimorf®**, constituido por una mezcla de OGA con diferentes grados de polimerización (entre 9 y 16), se produce por la degradación enzimática de la pectina presente en la pared celular de la corteza de los cítricos.<sup>(8)</sup> El mismo actúa como estimulante del enraizamiento, el

crecimiento y la diferenciación celular de diferentes especies vegetales; se ha demostrado que también puede activar mecanismos de defensa y disminuir o atenuar el estrés ambiental en las plantas.<sup>(6)</sup>

La habichuela (*Vigna unguiculata* L.) es, entre las leguminosas, una de las especies más importante para el consumo humano. Su abarca áreas agro-ecológicas diversas. América Latina es la zona de mayor producción y consumo, y se estima que más del 45 % de la producción mundial total proviene específicamente del sur de México, Bolivia y Perú, donde se encuentran, incluso, formas silvestres que se cruzan sin dificultad con especies cultivadas. Entre sus principales características se distinguen su valor nutricional, su alto contenido de proteínas, calorías y su riqueza en vitaminas y minerales, carentes en muchos otros alimentos básicos.<sup>(9)</sup>

La habichuela constituye una de las principales hortalizas cultivadas en Cuba, a causa de las propiedades culinarias y nutricionales que la población, en su generalidad, le confiere. Sin embargo, en la actualidad su presencia en espacios de venta es limitada, debido a que las tecnologías intensivas de producción no ofrecen los rendimientos esperados.<sup>(10)</sup> Para superar esta limitación, se incorporan nuevas propuestas a la dinámica productiva de la habichuela, tales como la aplicación de inoculantes bacterianos y de bioestimulantes foliares, como el Pectimorf.<sup>(11)</sup> Recientemente, se han revelado las potencialidades del PectinHydrol, producto desarrollado en el Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba) como bioestimulante agrícola. Entre otros efectos, se ha encontrado que favorece el crecimiento y desarrollo de las plantas, y propicia un incremento sustancial del rendimiento agrícola.<sup>(12)</sup>

Escasos estudios han indagado acerca de la asociación de microorganismos y bioestimulantes agrícolas de naturaleza bioquímica, y sus efectos sobre los cultivos agrícolas. En este sentido, existen algunas experiencias previas en especies hortícolas como el frijol común y la zanahoria, logrando incrementos en los indicadores morfoproductivos evaluados.<sup>(12,13,14)</sup> Sin embargo, no hay evidencias sobre los beneficios que puede provocar la aplicación de diferentes dosis de mezclas polisacáridicas ácidas y neutras (OGA y polisacáridos fúngicos), como la presente en el PectinHydrol, en asociación con RPCV.

En consideración con la problemática antes planteada, el objetivo de esta investigación fue evaluar los

efectos sobre el crecimiento e indicadores productivos de la habichuela, de la aplicación por vía foliar de diferentes dosis de PectinHydrol, en combinación con el tratamiento previo de las semillas con la rizobacteria *Bacillus* sp. RC138.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló entre los meses julio-septiembre de 2023 (período óptimo para el cultivo) en un patio familiar de la Agricultura Urbana, perteneciente al Consejo Popular “Capitán San Luis”, municipio San Luis, provincia de Santiago de Cuba.

### Material biológico

Se emplearon semillas certificadas de habichuela variedad Lina, con un 98 % de poder germinativo y un potencial productivo de 2,5-3,5 kg·m<sup>-2</sup>. Las semillas utilizadas fueron suministradas por la Granja Urbana “Rafael Reyes”, del Consejo Popular Rafael Reyes, municipio San Luis, provincia Santiago de Cuba.

### Características de los productos

Para el ensayo, se utilizaron los productos PectinHydrol (mezcla de un hidrolizado de pectina con polisacáridos fúngicos) y la rizobacteria *Bacillus* sp. RC138, ambos producidos y suministrados por el Centro de Biotecnología Industrial (CEBI) de la Universidad de Oriente, Cuba, los cuales se encuentran en proceso de validación.

El PectinHydrol es un producto obtenido mediante la fermentación de residuales del beneficiado del café, ricos en pectina con la levadura *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 (CEBI).<sup>(12)</sup> La rizobacteria *Bacillus* sp. RC138, fue aislada de la rizosfera de caña de azúcar, y presenta las siguientes características relevantes para la promoción del crecimiento vegetal: producción de ácido indolacético (22,43 ± 0,76 µg·mL<sup>-1</sup>), solubilización de fosfato inorgánico (412,23 ± 0,81 mg·L<sup>-1</sup>), fijación de nitrógeno atmosférico (0,78 ± 0,014 mg·L<sup>-1</sup>, en medio extracto de suelo), así como producción de ácidos orgánicos y proteasas, datos no publicados.

Como control positivo, se utilizó el bioproducto Fitomás E, el cual es producido y comercializado por el Instituto Cubano de Investigaciones en los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA, La Habana, Cuba). Este se presenta en forma líquida, y está compuesto por 150 g·L<sup>-1</sup> de extracto orgánico, 55 g·L<sup>-1</sup> de nitrógeno total, 60 g·L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O y 31 g·L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

### Inoculación de las semillas

Las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al uno por ciento, durante diez minutos; luego se lavaron tres veces con agua destilada, según recomiendan Gebreegziabher y Qufa.<sup>(15)</sup> Posteriormente, se sumergieron en una suspensión de la rizobacteria RC138 (a una concentración de 1·10<sup>8</sup> UFC·mL<sup>-1</sup>) durante una hora, sometiendo la mezcla a agitación manual frecuente. Por último, las semillas se separaron del líquido y se secaron sobre papel filtro durante quince minutos, e inmediatamente fueron sembradas.

### Desarrollo del experimento agrícola

El suelo utilizado fue del tipo pardo carbonatado, y presentó la siguiente composición química: P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 400,50 mg·(100 g)<sup>-1</sup>; K<sub>2</sub>O, 34,06 mg·(100 g)<sup>-1</sup>; materia orgánica 1,1 %, y pH 6,88; según análisis realizado por el Laboratorio de Suelos de la Estación Territorial de la Caña de Azúcar “Oriente Sur” - Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (Palma Soriano, Santiago de Cuba). El suelo se mezcló con estiércol vacuno, en una proporción estiércol/suelo 1:3, para mejorar su contenido de materia orgánica.

La siembra se realizó de manera directa, a doble hilera, a una distancia entre plantas de 0,25 m, en canteros tradicionales de 1,20 m de ancho y 6,0 m de largo. Se utilizó un diseño de bloques al azar, conformado por cuatro réplicas y nueve tratamientos (Tabla 1). El comportamiento de las variables meteorológicas durante el período experimental (julio-septiembre/2023) se muestra en la tabla 2.

Se realizaron tres aplicaciones foliares del bioestimulante PectinHydrol, a los 10, 20 y 30 días posteriores a la germinación, a razón de 0,25 l·m<sup>-2</sup>, utilizando para ello una mochila MAX FILL de cinco litros de capacidad con boquilla de cono, a presión constante. Las aplicaciones se realizaron en horas tempranas de la mañana (6:00-9:00 a.m.) para aprovechar la apertura estomálica en las hojas de las plantas. Los controles se aplicaron de igual manera, utilizando agua de riego en el caso de los tratamientos sin bioestimulantes.

Se seleccionaron, de forma aleatoria, cinco plantas por cada parcela experimental para evaluar los indicadores morfométricos y productivos. Las variables evaluadas fueron: altura de la planta, longitud de la raíz, longitud y peso de las vainas, y rendimiento agrícola.

**Tabla 1-** Diseño experimental utilizado

| Tratamientos          | Bacteria           | Bioestimulante                       |
|-----------------------|--------------------|--------------------------------------|
| T1(Control)           | -                  | -                                    |
| T2                    | Rizobacteria RC138 | PectinHydrol a 20 mg·L <sup>-1</sup> |
| T3                    | Rizobacteria RC138 | PectinHydrol a 30 mg·L <sup>-1</sup> |
| T4                    | Rizobacteria RC138 | PectinHydrol a 40 mg·L <sup>-1</sup> |
| T5                    | -                  | PectinHydrol a 20 mg·L <sup>-1</sup> |
| T6                    | -                  | PectinHydrol a 30 mg·L <sup>-1</sup> |
| T7                    | -                  | PectinHydrol a 40 mg·L <sup>-1</sup> |
| T8 (Control positivo) | -                  | Fitomás E a 2 l·ha <sup>-1</sup>     |
| T9                    | Rizobacteria RC138 | -                                    |

**Tabla 2-** Comportamiento de las variables meteorológicas durante el período experimental (julio-septiembre/2023)

| Variables              | Julio | Agosto | Septiembre |
|------------------------|-------|--------|------------|
| Temperatura media (°C) | 28,8  | 28,9   | 28,5       |
| Precipitaciones (mm)   | 46,8  | 71,5   | 54,0       |
| Humedad relativa (%)   | 76,3  | 76,2   | 76,6       |

Fuente: <https://meteostat.net>

### Análisis estadístico

La distribución normal de los datos se comprobó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov para la bondad de ajuste, y se aplicó la prueba Dócima de Levene, para evaluar la homogeneidad de la varianza. Cuando existió normalidad y homogeneidad, se realizó un análisis de varianza simple (ANOVA), o en su defecto, una prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas. Para determinar la existencia de diferencias significativas entre las muestras de los tratamientos, se utilizó la prueba de Rangos Múltiples de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Los datos experimentales se sometieron a un análisis bifactorial, para comprobar la influencia de la bacteria y

el PectinHydrol en los parámetros medidos ( $p < 0,05$ ). También se realizó un análisis de correlación, para determinar sobre cuáles parámetros influían en cada factor estudiado. Todos los procesamientos estadísticos se realizaron utilizando el *software* Statgraphics Centurion XV (v. 15.2.05; StatPoint, Inc., USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existen algunos antecedentes con respecto al efecto de la asociación entre microorganismos y bioestimulantes foliares, sobre los indicadores agroproductivos en cultivos de interés económico.<sup>(12,13)</sup> Los resultados derivados del presente trabajo de investigación, mostraron las bondades de combinar la inoculación de la semilla con la rizobacteria RC138, con la aplicación foliar de PectinHydrol, para influir sobre parámetros fenológicos y productivos de la habichuela.

Como se puede observar en la [tabla 3](#), todos los tratamientos que incluyeron la aplicación de bioestimulantes, mostraron valores superiores para la totalidad de las respuestas examinadas, al ser comparados con el control. Los mejores resultados se encontraron en el tratamiento 2, los cuales superaron a los exhibidos por el tratamiento 9, donde solo se aplica la bacteria.

Los parámetros morfométricos de la planta presentaron los mayores incrementos en los tratamientos, donde se combinaron la bacteria y el PectinHydrol. Los incrementos, con respecto al control, en la altura de la planta, fueron superiores al 40 %, y los de la longitud de la raíz, superiores al 70 %. Similares resultados se observaron cuando se analizó el peso y la longitud de la vaina, con incrementos superiores al 31 % en ambos parámetros y similares a los obtenidos en el tratamiento con la bacteria sola ([Tabla 3](#)).

**Tabla 3-** Influencia de la rizobacteria RC138 y el PectinHydrol sobre los parámetros morfoprodutivos de la habichuela\*

| Tratamiento | Altura de planta (cm)    | Longitud de raíz (cm)   | Peso de la vaina (g)    | Longitud de la vaina (cm) | Rendimiento (kg/m <sup>2</sup> ) |
|-------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| T1          | 26,1 ± 0,5 <sup>g</sup>  | 12,8 ± 0,6 <sup>e</sup> | 4,6 ± 0,6 <sup>e</sup>  | 21,6 ± 0,5 <sup>e</sup>   | 1,93 ± 0,32 <sup>e</sup>         |
| T2          | 42,5 ± 0,7 <sup>a</sup>  | 25,8 ± 0,6 <sup>a</sup> | 6,9 ± 0,2 <sup>b</sup>  | 33,1 ± 0,5 <sup>a</sup>   | 3,93 ± 0,23 <sup>a</sup>         |
| T3          | 38,2 ± 0,5 <sup>b</sup>  | 22,6 ± 0,7 <sup>b</sup> | 6,5 ± 0,5 <sup>bc</sup> | 30,7 ± 0,7 <sup>b</sup>   | 3,55 ± 0,12 <sup>ab</sup>        |
| T4          | 36,8 ± 0,5 <sup>b</sup>  | 18,1 ± 0,5 <sup>c</sup> | 6,0 ± 0,4 <sup>cd</sup> | 29,0 ± 0,8 <sup>c</sup>   | 3,23 ± 0,27 <sup>abc</sup>       |
| T5          | 33,8 ± 0,7 <sup>cd</sup> | 16,6 ± 0,5 <sup>d</sup> | 5,5 ± 0,3 <sup>d</sup>  | 27,6 ± 0,8 <sup>c</sup>   | 2,91 ± 0,37 <sup>bcd</sup>       |
| T6          | 32,6 ± 0,7 <sup>de</sup> | 16,1 ± 0,3 <sup>d</sup> | 5,5 ± 0,3 <sup>d</sup>  | 26,6 ± 0,6 <sup>cd</sup>  | 2,63 ± 0,15 <sup>cde</sup>       |
| T7          | 31,6 ± 1,1 <sup>e</sup>  | 15,8 ± 0,5 <sup>d</sup> | 5,3 ± 0,6 <sup>d</sup>  | 24,9 ± 1,1 <sup>d</sup>   | 2,58 ± 0,70 <sup>cde</sup>       |
| T8          | 34,8 ± 0,9 <sup>c</sup>  | 16,6 ± 0,5 <sup>d</sup> | 5,4 ± 0,2 <sup>d</sup>  | 28,1 ± 0,9 <sup>c</sup>   | 2,67 ± 0,30 <sup>cde</sup>       |
| T9          | 29,4 ± 0,4 <sup>f</sup>  | 21,4 ± 0,4 <sup>b</sup> | 9,0 ± 0,2 <sup>a</sup>  | 28,9 ± 0,7 <sup>c</sup>   | 2,35 ± 0,06 <sup>de</sup>        |

\*Se presentan los valores de la media ± desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos para el parámetro evaluado (pruebas de Tukey,  $P < 0,05$ )

El rendimiento del cultivo fue superior en los tratamientos donde se utilizó el inoculante bacteriano, en correspondencia con las propiedades promotoras del crecimiento vegetal que posee esta bacteria (Tabla 3). Se observó un incremento del 103 % con respecto al control cuando la bacteria se combinó con la menor dosis ensayada del estimulante foliar, lo que resultó casi cinco veces mayor que el obtenido cuando se aplicó la bacteria sola (22 %). Lo anterior evidenció la estimulación sinérgica lograda con la aplicación combinada de ambos productos. Se encontró, además, que a medida que se aumentó la dosis del PectinHydrol disminuyó el efecto positivo del estimulante, lo cual sugiere que en investigaciones futuras, se deberá realizar un estudio dosis-respuesta para este bioproducto.

Al comparar los tratamientos donde se aplicaron el Fitomás-E y el PectinHydrol (ambos bioestimulantes de naturaleza bio/química), se observaron resultados similares. De estos hallazgos se puede inferir, que ambos productos son equivalentes en cuanto a sus

efectos sobre la estimulación del rendimiento agrícola, pudiendo emplearse indistintamente. No obstante, los efectos combinados del Fitomás-E con la bacteria RC138 u otra RPCV aún requerirán de estudios posteriores.

Al ser sometidos los datos experimentales a un análisis de varianza bifactorial (Tablas 4, 5, 6, 7, 8), se pudo apreciar la influencia significativa y positiva de la bacteria sobre el comportamiento de todas las respuestas estudiadas. Ambos factores (bacteria y PectinHydrol), influyeron en la altura de la planta, la longitud de la raíz y la longitud de las vainas, lo cual puede deberse a la capacidad auxínica de estos bioestimulantes. Por otro lado, la bacteria influyó directamente sobre el aumento del peso de la vaina, y con ello, en el rendimiento del cultivo. Este análisis demostró que la presencia de la bacteria en los tratamientos resulta crucial en los efectos observados; su combinación con el PectinHydrol los incrementa o disminuye, dependiendo de la dosis del bioestimulante utilizada.

**Tabla 4-** Análisis de varianza para “Altura de planta” - Suma de Cuadrados Tipo III

| Fuente              | Suma de cuadrados | Gl | Cuadrado medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Efectos principales |                   |    |                |         |         |
| A: bacteria         | 262,148           | 1  | 262,148        | 165,65  | 0,0000  |
| B: Pectinhydrol     | 468,446           | 3  | 156,149        | 98,67   | 0,0000  |
| Residuos            | 42,7286           | 27 | 1,58254        |         |         |
| Total (corregido)   | 773,323           | 31 |                |         |         |

**Tabla 5-** análisis de varianza para “longitud de raíz” - suma de cuadrados tipo III

| Fuente              | Suma de cuadrados | Gl | Cuadrado medio | Razón-f | Valor-p |
|---------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Efectos principales |                   |    |                |         |         |
| A: bacteria         | 354,712           | 1  | 354,712        | 146,18  | 0,0000  |
| B: Pectinhydrol     | 98,8226           | 3  | 32,9409        | 13,57   | 0,0000  |
| Residuos            | 65,5181           | 27 | 2,4266         |         |         |
| Total (corregido)   | 519,052           | 31 |                |         |         |

**Tabla 6-** análisis de varianza para “peso de vaina” - suma de cuadrados tipo III

| Fuente              | Suma de cuadrados | Gl | Cuadrado medio | Razón-f | Valor-p |
|---------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Efectos principales |                   |    |                |         |         |
| A: bacteria         | 28,899            | 1  | 28,899         | 36,04   | 0,0000  |
| B: Pectinhydrol     | 5,65158           | 3  | 1,88386        | 2,35    | 0,0948  |
| Residuos            | 21,6513           | 27 | 0,8019         |         |         |
| Total (corregido)   | 56,2019           | 31 |                |         |         |

**Tabla 7-** Análisis de Varianza para “Longitud de vaina” - Suma de Cuadrados Tipo III

| Fuente              | Suma de cuadrados | Gl | Cuadrado medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Efectos principales |                   |    |                |         |         |
| A: bacteria         | 219,661           | 1  | 219,661        | 220,46  | 0,0000  |
| B: Pectinhydrol     | 112,63            | 3  | 37,5435        | 37,68   | 0,0000  |
| Residuos            | 26,9021           | 27 | 0,996374       |         |         |
| Total (corregido)   | 359,193           | 31 |                |         |         |

**Tabla 8-** Análisis de Varianza para “Rendimiento” - Suma de Cuadrados Tipo III

| Fuente              | Suma de cuadrados | Gl | Cuadrado medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Efectos principales |                   |    |                |         |         |
| A: bacteria         | 10,3285           | 1  | 10,3285        | 60,22   | 0,0000  |
| B: Pectinhydrol     | 1,41207           | 3  | 0,470692       | 2,74    | 0,0625  |
| Residuos            | 4,63061           | 27 | 0,171504       |         |         |
| Total (corregido)   | 16,3712           | 31 |                |         |         |

El análisis de correlación (Tabla 9) evidenció que la adición del PectinHydrol influyó de manera directa sobre la altura de la planta e indirectamente sobre el resto de los parámetros. En cambio, la bacteria correlacionó de forma positiva con todos los parámetros, lo cual sugiere que su acción estimuladora abarca diversos procesos fisiológicos de la planta.

La producción de estimulantes como el ácido indolacético (AIA) depende del tipo de especie y cepas de rizobacteria, pero también de sus condiciones de cultivo, la fase de crecimiento en que se encuentre y la disponibilidad de sustratos apropiados en la rizosfera del suelo. Cuando se inoculan las plantas con RPCV, puede mejorar el desarrollo radical de estas, incrementando la capacidad de absorción de agua y nutrientes. Esto, a su vez, ocasiona un incremento proporcional en la longitud y grosor del tallo pues, además de la ya citada mejora en la nutrición, las bacterias que se asocian a la raíz, contribuyen al desarrollo vegetativo de la planta a través de la producción de la fitohormona AIA, al tiempo que incrementan la fijación de nitrógeno y la solubilización de fosfatos, mejorando la disponibilidad de estos dos macronutrientes.<sup>(16)</sup> Las auxinas producidas por las rizobacterias desempeñan un papel importante en las plantas, al contribuir a una mayor formación de yemas y brotes conducentes a flores y frutos, sin afectar el crecimiento, lo que conduce a una mayor productividad.<sup>(17)</sup> Estos aspectos, ya referidos en investigaciones precedentes, permiten explicar satisfactoriamente los resultados obtenidos.

Algunos estudios han descrito la capacidad de producir auxinas por cepas de *Bacillus*.<sup>(18)</sup> De igual modo, la evaluación de cepas de la clase *Bacilli*

demonstró la factibilidad biológica de la aplicación de las mismas en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.), fundamentado en su capacidad de producir el AIA, y estimular la producción de raíces laterales.<sup>(16)</sup> Oloyede *et al.* describieron una cepa de *Bacillus subtilis* que incrementó la altura de las plantas y el número de hojas y semillas, al asociarlo a semillas de pepino.<sup>(19)</sup> Estudios desarrollados anteriormente por este grupo de investigación, demostraron la producción de dicha fitohormona por la rizobacteria RC138. Esta bacteria también solubiliza el fosfato, lo que proporciona nutrientes durante el crecimiento de la planta e influye, además, por mecanismos indirectos de promoción del crecimiento vegetal, a través de la producción de enzimas hidrolíticas como amilasas y proteasas.

El PectinHydrol fue capaz de inducir, de forma significativa, en todos los casos estudiados en el proceso de elongación del tallo en las plantas de habichuela. La actividad biológica ejercida por este bioestimulante, en particular a la dosis de 20 mg·L<sup>-1</sup> (T2), pudiera estar ocasionada por la presencia de OGA con grado de polimerización entre 6 y 8 en este biopreparado. Los resultados obtenidos en este estudio son similares a los informados por Nápoles *et al.*, al sumergir semillas de esta especie hortícola en Pectimorf y la posterior aplicación foliar del mismo antes de la floración, en ambos casos a 10 mg·L<sup>-1</sup>.<sup>(11)</sup> Resultados obtenidos en diferentes especies han demostrado, que los oligogalacturónidos promueven el desarrollo de raíces y regulan los procesos de crecimiento y desarrollo de distintos órganos en las plantas, así como otros procesos fisiológicos, a concentraciones entre 5 y 20 mg·L<sup>-1</sup>.<sup>(6,8,20,21)</sup> En el caso del PectinHydrol, Montero informó que el mejor efecto

**Tabla 9-** Análisis de correlación entre las variables estudiadas (se presentan los valores del coeficiente de correlación; momento producto de Pearson)

|                   | Altura de planta | Longitud de raíz | Longitud de vaina | Peso de vaina | Rendimiento  |
|-------------------|------------------|------------------|-------------------|---------------|--------------|
| Bacteria          | 0,5822 (***)     | 0,8267 (***)     | 0,7820 (***)      | 0,7171 (***)  | 0,7943 (***) |
| Pectinhydrol      | 0,4954 (***)     | 0,0208 (ns)      | 0,2133 (ns)       | -0,3168 (ns)  | 0,0050 (ns)  |
| Altura de planta  | -                | 0,7628 (***)     | 0,8512 (***)      | 0,1992 (ns)   | 0,5987 (***) |
| Longitud de raíz  | 0,7628 (***)     | -                | 0,9193 (***)      | 0,6948 (***)  | 0,8583 (***) |
| Longitud de vaina | 0,8512 (***)     | 0,9193 (***)     | -                 | 0,6106 (***)  | 0,8805 (***) |
| Peso de vaina     | 0,1992 (ns)      | 0,6948 (***)     | 0,6106 (***)      | -             | 0,8140 (***) |
| Rendimiento       | 0,5987 (***)     | 0,8583 (***)     | 0,8805 (***)      | 0,8140 (***)  | -            |

\*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,005

sobre la longitud total de la raíz de la zanahoria, se obtiene a  $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .<sup>(12)</sup>

Nápoles *et al.* Postularon, que los incrementos observados en la longitud de las vainas al momento de la cosecha, eran debidos a la acción fisiológica de los OGA del Pectimorf.<sup>(11)</sup> Autores como Zhao *et al.*<sup>(22)</sup> plantearon, que los OGA afectan al metabolismo de las plantas de varias formas, incluyendo la activación de un amplio rango de respuestas de defensa, entre las que se encuentran, la acumulación de fitoalexinas, glucanasa, quitinasas, producción de especies reactivas de oxígeno y generación de óxido nítrico. Lara *et al.* comentaron, que estos oligosacáridos pudieran regular, de manera positiva, algunos de los procesos fisiológicos en la planta, dinamizando el desarrollo de las yemas y primordios foliares, y el posterior desarrollo de estas, cuando se aplican de forma exógena.<sup>(6)</sup>

Agbodjato *et al.*<sup>(23)</sup> encontraron efectos sinérgicos en parámetros de crecimiento del maíz como la altura de la planta, área foliar y número de hojas por plantas, cuando evaluaron la combinación de tres rizobacterias con quitosano. Los efectos sinérgicos o aditivos de los bioestimulantes microbianos y no microbianos, fueron resumidos por Rophael y Colla,<sup>(24)</sup> quienes describieron incrementos significativos en el peso seco de la cebolla y el contenido de carotenos (106,7 y 123,6 %, respectivamente), cuando se añadían ácidos húmicos y luego un inóculo de micorrizas, con respecto a las plantas no tratadas o tratadas con cada bioestimulante de manera independiente.

## CONCLUSIONES

Se comprobó, que la aplicación combinada del producto bioactivo natural PectiHydrol y el inoculante bacteriano *Bacillus* sp. RC138, beneficia los indicadores morfoproductivos de la habichuela. La presencia de la rizobacteria resulta determinante en estos efectos. La concentración de  $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  del bioestimulante foliar PectiHydrol, resultó la dosis más efectiva cuando se utiliza en combinación con la rizobacteria. Se corroboraron las potencialidades estimuladoras del crecimiento vegetal de ambos bioproductos bajo las condiciones ensayadas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DUBEY, R. K. *et al.* "Role of plant growth-promoting microorganisms in sustainable agriculture and environmental remediation". En: SINGH, H. B.;

SARMA, B. K. y KESWANI, C. (Eds.). *Advances in PGPR Research*. Boston: CAB International, 2017, pp. 75-125. ISBN:

9781786390332. <https://lccn.loc.gov/2017016222>

2. ORTIZ-CASTRO, R.; LÓPEZ-BUCIO, J. S.; LÓPEZ-BUCIO, J. "Physiological and molecular mechanisms of bacterial phyto-stimulation". En: SINGH, H. B.; SARMA, B. K. y KESWANI, C. (Eds.). *Advances in PGPR Research*. Boston: CAB International, 2017, pp.16-28., ISBN: 9781786390332. <https://lccn.loc.gov/2017016222>

3. OLENSKA, E. *et al.* "Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review", *Science of the Total Environment*. 2020, **743**, 140682. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140682>

4. BLANCO, E. L.; CASTRO, Y. "Antagonismo de rizobacterias sobre hongos fitopatógenos, y su actividad microbiana con potencial biofertilizante, bioestimulante y biocontrolador", *Rev. Colomb. Biotecnol.* 2021, **23**(1), 6-16. Doi: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v23n1.84808>

5. PRASAD, M.; SRINIVASAN, R.; CHAUDHARY, M.; CHOUDHARY, M.; JAT, L. K. "Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture: perspectives and challenges". En: SINGH, A. K.; KUMAR, A.; SINGH, P. K. (Eds.). *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture*. Elsevier Inc., 2019, Cap. 7., pp.129-157. Doi: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815879-1.00007-0>

6. LARA, D.; COSTALES, D.; FALCÓN, A. "Los oligogalacturónidos en el crecimiento y desarrollo de las plantas". *Cultivos Tropicales*. 2018, **39**(2), 127-134. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v39n2/ctr20218.pdf>

7. MARTÍNEZ-GÓMEZ, S.; FERNÁNDEZ-BAUTISTA, M.; RIVAS, S.; YÁÑEZ, R.; ALONSO, J. L. "Recent advances in the production of oligogalacturonides and their biological properties". *Food Funct.* 2023, **14**, 4507-4521. Doi: <https://doi.org/10.1039/d3fo00327b>

8. REYES-PÉREZ, J. J.; RAMOS-REMACHE, R. A.; LLERENA-RAMOS, L. T.; RAMÍREZ-ARREBATO, M. A.; FALCÓN-RODRÍGUEZ, A. B. "Potencialidades de oligogalacturónidos y quitosacáridos en el enraizamiento de las plantas". *Terra Latinoamericana*. 2021, **39**, 1-9. e846. <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.846>

9. DEL ÁNGEL, V. (2007). Estudio de la cadena agroalimentaria de habichuelas en República Dominicana.

<http://www.iicard.org/areastematicas/cadenasagroalimentarias/Cadena%20Agroalimentaria%20de%20Habichuelas.pdf>

10. RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, P. "Impacto del lixiviado de humus de lombriz sobre el crecimiento y productividad del cultivo de habichuela (*Vigna unguiculata* L. Walp)", *Ciencia en su PC*. 2017, **2**, 44-58.

<https://www.redalyc.org/pdf/1813/181351615003.pdf>

11. NÁPOLES, S.; GARZA, T.; REYNALDO, I. "Respuesta del cultivo de habichuela (*Vigna unguiculata* L.) var. Lina a diferentes formas de aplicación del Pectimorf". *Cultivos Tropicales*. 2016, **37**(3), 172-177. ISSN: 1819-4087. Doi: <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1878.1688>

12. MONTERO, C. (2018). Efectos de *Brevibacillus borstelensis* B65 y el bioestimulante PectinHydrol en el cultivo de la Zanahoria (*Daucus carota* L.). Tesis para optar por el título de Máster en Biotecnología. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba. 2018, 48 p.

13. CALERO-HURTADO, A. *et al.* "Efecto entre microorganismos eficientes y Fitomas-E en el incremento agroproductivo del frijol". *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. 2019, **17**(1), 25-33. Doi: <https://doi.org/10.18684/bsaa.v17n1.1201>

14. LARA-ACOSTA, D., COSTALES-MENÉNDEZ, D., NÁPOLES-GARCÍA, M. C., FALCÓN-RODRÍGUEZ, A. "Pectimorf® and Azofert-F® in the growth of vean plants (*Phaseolus vulgaris*L.)", *Cultivos Tropicales*. 2019, **40**(4), e05. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-9362019000400005&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-9362019000400005&script=sci_arttext&tlng=pt)

15. GEBREEGZIABHER, B. G.; QUFA, C.A. "Plant physiological stimulation by seeds salt priming in maize (*Zea mays*): Prospect for salt tolerance". *African Journal of Biotechnology*. 2017, **16**, 209-223. Doi: <https://doi.org/10.5897/AJB2016.15819>

16. SÁNCHEZ, D.; GONZÁLEZ, L.; DEL MONTE-MARTÍNEZ, A.; ROJAS, M. M. "Factibilidad biológica del uso de cepas de *Bacilli* productoras de ácido 3-indolacético en el crecimiento in vitro del cultivo del arroz". *Revista Cubana de Ciencias Biológicas*. 2019, **7**(1), 1-10. ISSN: 2307-695X.

<http://www.rccb.uh.cu/index.php/RCCB/article/view/252/336>

17. GOWTHAM, H. G.; DURAIIVADIVEL, P.; HARIPRASAD, P.; NIRANJANA, S. R. "A novel split-pot bioassay to screen indole acetic acid producing rhizobacteria for the improvement of plant growth in tomato ENT[*Solanum lycopersicum* L.ENT]". *Scientia Horticulturae*. 2017, **224**, 351-357. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.06.017>

18. WAGI, S.; AHMED, A. "Bacillus spp.: potent microfactories of bacterial IAA". *Peer J*. 2019, **7**, e7258. Doi: <https://doi.org/10.7717/peerj.7258>

19. OLOYEDE, A. R.; OJO, A. E.; AIJOLA, W. R. "Exogenous inoculation of seed with plant growth-promoting rhizobacteria effectively enhanced growth of cucumber in a greenhouse". *West African Journal of Applied Ecology*. 2024, **32**(1), 22-36. <https://www.ajol.info/index.php/wajae/article/view/272639>

20. FALCÓN, A. B.; COSTALES, D.; GONZÁLEZ-PEÑA D.; NÁPOLES M. C. "Nuevos productos naturales para la agricultura: las oligosacarinas". *Cultivos Tropicales*. 2015, **36**, 111-129. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v36n/ctr10s115.pdf>

21. NÚÑEZ, M.; MARTÍNEZ, L.; REYES, Y. "Oligogalacturónidos estimulan el crecimiento de plántulas de arroz cultivadas en medio salino". *Cultivos Tropicales*. 2018, **39**(2), 96-100. ISSN: 1819-4087. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v39n2/ctr13218.pdf>

22. ZHAO, C. *et al.* "Effect of oligogalacturonides on seed germination and disease resistance of sugar beet seedling and root". *J. Fungi*. 2022, **8**, 716. <https://doi.org/10.3390/jof8070716>

23. AGBODJATO, N. A.; NOUMAVO, P. A.; ADJANOHOON, A.; AGBESSI, L.; BABAMOUSA, L. "Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and chitosan on *in vitro* seeds germination, greenhouse growth, and nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.)". *Biotechnology Research International*. 2016, **1**, 7830182. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7830182>

24. ROPHAEL, Y.; COLLA, G. "Synergistic biostimulatory action: designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture", *Front. Plant Sci*. 2018, **9**, 1655. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01655>

## **DECLARACIÓN CONFLICTO DE INTERESES**

No se declaran conflictos entre los autores.

## **CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES**

Irasema Pérez Portuondo: concepción y diseño de investigación, recolección de datos, análisis e interpretación de los resultados, escritura y revisión del manuscrito.

Manuel Serrat Díaz: concepción y diseño de investigación, recolección de datos, análisis e interpretación de los resultados, escritura y revisión del manuscrito.

Ariel López Duany: diseño de investigación, recolección de datos, análisis e interpretación de los resultados.

Rosa M. Pérez Silva: redacción y revisión del manuscrito.

Areli Ábalos Rodríguez: redacción y revisión y del manuscrito.