

Efecto de *Bacillus* spp. sobre el crecimiento y rendimiento agrícola de plantas *in vitro* de papa cv. 'Romano' en casa de cultivo

Yelenys Alvarado-Capó¹, Michel Leiva-Mora¹, Mileidy Cruz-Martín¹, Eilyn Mena¹, Mayra Acosta-Suárez¹, Berkis Roque¹, Tatiana Pichardo¹, Leyanes García-Aguila¹, Felipe Jiménez-Terry¹, Ortelio Hurtado¹, Novisel Veitía¹, Legnara Padrón². *Autora para correspondencia

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830 e-mail: yelenys@ibp.co.cu

²Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830

RESUMEN

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) requiere el uso intensivo de fertilizantes que tienen un alto costo y producen daños ambientales al suelo y el agua. La aplicación de microorganismos que puedan contribuir a la nutrición de las plantas sería una alternativa para disminuir los fertilizantes químicos. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal del género *Bacillus* en la producción de minitubérculos en casa de cultivo. Se utilizaron plantas *in vitro* de papa cv. 'Romano' obtenidas por organogénesis y cinco cepas de bacterias (CCIBP-M27, CCIBP-C5, CCIBP-B14, CCIBP-W13 y CCIBP-B12) que se aplicaron a las plantas por inmersión de las raíces en la suspensión bacteriana. Además, se incluyeron controles con y sin fertilizante. La aplicación de las cepas bacterianas aumentó la altura de las plantas con diferencias significativas con el control sin fertilizante. Además, influyeron en el número de minitubérculos por planta, sus dimensiones y masa seca. Se encontró que la inoculación de las bacterias en el momento de la siembra influyó en el crecimiento y el desarrollo de las plantas *in vitro* de papa cv. 'Romano'. Se observaron diferencias en las variables evaluadas en dependencia de la cepa bacteriana evaluada.

Palabras clave: bacterias promotoras del crecimiento vegetal, minitubérculos, *Solanum tuberosum*

Effect of *Bacillus* spp. on agricultural growth and yield of potato *in vitro* plant cv. 'Romano' in greenhouse

ABSTRACT

The potato (*Solanum tuberosum* L.) culture requires the intensive use of fertilizers which are expensive and cause environmental damage to soil and water. The application of microorganisms that may contribute to plant nutrition would be an alternative to reduce chemical fertilizers. The aim of this study was to determine the effect of plant growth promoting bacteria of *Bacillus* genus on minituber production at greenhouse. *In vitro* potato plants cv. 'Romano' obtained by organogenesis and five strains of bacteria (CCIBP-M27, CCIBP-C5, CCIBP-B14, and CCIBP-W13-B12) to be applied to plants by dipping the roots in the bacterial suspension. In addition, controls were included without fertilizer. The application of bacterial strains increased the height of the plants with significant differences to the control with and without fertilizer. Also they influenced the number of minitubers per plant, dry mass and dimensions. It was found that inoculation of bacteria at the time of planting influenced the growth and development of *in vitro* potato plants cv. 'Romano'. Differences evaluated variables were observed depending of bacterial strains.

Key words: minituber, plant growth promoting bacteria, *Solanum tuberosum*

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de microorganismos que mejoren la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas

continúa atrayendo la atención debido al incremento de los costos de los fertilizantes y sus impactos negativos en el ambiente (Adesemoye *et al.*, 2009).

En el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) las prácticas agronómicas tanto para la producción de semilla, como tubérculos para el consumo humano buscan obtener altos rendimientos, pero se requiere un uso intensivo de fertilizantes que además de su elevado costo, provocan afectaciones medioambientales tanto al suelo como al agua. Ante esta problemática el uso de microorganismos que contribuyan a la nutrición de la planta y permitan disminuir el empleo de fertilizantes químicos ha cobrado gran interés.

Las bacterias promotoras de crecimiento en plantas (BPCP) son un grupo de especies de bacterias que pueden incrementar el crecimiento y la productividad vegetal. Entre los organismos más conocidos están las especies pertenecientes a los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*. Como resultado de su metabolismo estas bacterias liberan compuestos al medio. Mediante ello incrementan la disponibilidad de nutrientes para las plantas (solubilización de fosfatos, producción de hormonas, fijación de nitrógeno atmosférico). De igual forma pueden tener influencia directa sobre el metabolismo de la planta (aumento de la capacidad de toma de agua y nutrientes), su desarrollo radicular y la actividad enzimática. Además, pueden tener efecto a través de la reducción de poblaciones de microorganismos patógenos o activación de mecanismos de defensa en las plantas (De-Bashan *et al.*, 2007; Desai *et al.*, 2012).

Bacterias del género *Bacillus* se han encontrado como habitantes de la rizosfera de plantas de papa (Calvo *et al.*, 2010) y se ha demostrado su papel como promotoras del crecimiento vegetal al inocular tubérculos

Teniendo en cuenta estos antecedentes el trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de la aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal del género *Bacillus* en la obtención de minitubérculos de papa cv. 'Romano' en casa de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se emplearon plantas *in vitro* de papa cultivar 'Romano' en fase de enraizamiento que habían

sido propagadas por organogénesis según lo descrito por Agramonte (1999).

Condiciones de cultivo

Para la aclimatización de las plantas, estas se colocaron en contenedores de polietileno de 247 alvéolos que contenían una mezcla de compost y zeolita (80:20). Estos se ubicaron en casa de cultivo con iluminación reducida mediante sábanas. El riego se efectuó mediante microaspersores con una frecuencia de un minuto y medio cada dos horas la primera semana y dos minutos cada cuatro horas en la segunda semana (Jiménez-Terry *et al.*, 2001).

Después de la aclimatización las plantas se transfirieron a una casa de cultivo con canchales de 1.2 m de ancho por 10 m de largo y 0.6 m de profundidad. El sustrato estuvo compuesto por materia orgánica procedente de cachaza descompuesta. El riego se efectuó con el uso de microaspersores de baja presión. El fertilizante químico utilizado fue NPK (9 kg de N, 13 kg de P₂O₅, 17 kg de K₂O) a dosis de 2.5 kg m⁻³. Las atenciones culturales y fitosanitarias se realizaron acorde con el Instructivo técnico de la papa (IBP, 2005).

Cepas bacterianas

Se emplearon cinco cepas bacterianas de la Colección de Cultivos Microbianos del IBP: *Bacillus* sp. CCIBP-W13, *Bacillus subtilis* CCIBP-M27, *Bacillus* sp. CCIBP-Bv14, *Bacillus pumilus* CCIBP-C5, *Bacillus* sp. CCIBP-Bv12.

Efecto sobre el crecimiento y rendimiento agrícola

Se evaluó el efecto de la aplicación de las cepas bacterianas sobre el crecimiento de plantas *in vitro* de papa cv. 'Romano' en fase de aclimatización. Para ello, se tomaron plantas en fase de enraizamiento que tenían más de 4 cm de altura y abundantes raíces. Se extrajeron de los frascos de cultivo, se eliminó el agar y se lavaron las raíces.

Las plantas se sumergieron durante 30 minutos en suspensiones (DO₆₀₀=0.1, aprox. 10⁹ cel ml⁻¹) de cada una de las cepas bacterianas que se prepararon en agua destilada estéril a partir de colonias crecidas en placas de Petri con Agar

Nutriente durante 24 h a 30 °C y oscuridad. Con cada cepa se conformó un tratamiento con 10 plantas cada uno y dos repeticiones (cinco tratamientos, 100 plantas en total). Se utilizó un tratamiento control sin inocular. Luego, las plantas se transfirieron a los recipientes de polieturano y se mantuvieron en casa de cultivo por 15 días. En la fase de aclimatización no se aplicaron fertilizantes.

Al cabo de ese tiempo se evaluaron las siguientes variables: altura (cm), medida desde la base de la planta hasta la yema apical, número de entrenudos, masa fresca foliar (g), masa fresca radicular (g), masa seca foliar (g), masa seca radicular (g), longitud de la raíz más larga (cm), número de estolones por planta, número de tubérculos por planta, masa fresca de los tubérculos (g) y masa seca de los tubérculos (g).

Las plantas procedentes de la fase de aclimatización se plantaron en canteros en casa de cultivo. La distancia de plantación fue de 10 cm entre plantas y 20 cm entre surcos. Se mantuvieron los mismos tratamientos de la fase de aclimatización (plantas inoculadas con cinco cepas y control sin inocular) y se añadió un tratamiento con fertilización química de fondo (el fertilizante se añadió al sustrato antes de la plantación) y no se aplicaron otros fertilizantes durante el periodo.

A los 90 días de cultivo se evaluaron las siguientes variables: altura de la planta (cm), número de tallos por planta, número de entrenudos, masa fresca foliar (g), masa fresca radicular (g), masa seca foliar (g), masa seca radicular (g), número de tubérculos por planta, masa fresca de los tubérculos (g), masa seca de los tubérculos, largo y ancho de los tubérculos (cm). Para determinar la masa seca, tanto las plantas como los tubérculos se colocaron en estufa a 60°C hasta que el peso fuera constante.

Análisis estadísticos

Los datos de las variables utilizadas se analizaron estadísticamente mediante las pruebas de Kruskal Wallis y Mann Whitney previa comprobación del no cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas para $p < 0.05$. Se empleó el software SPSS versión 21.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de 15 días en la fase de aclimatización se observó en las plantas *in vitro* que se había inducido la formación de estolones y tubérculos en todos los tratamientos. Los estolones se observaron cortos y la formación de tubérculos cercana a la yema del tallo. Los tubérculos tenían forma redondeada y en cada planta se podían encontrar entre uno y tres tubérculos (Figura 1).



Figura 1. Plantas *in vitro* de papa cultivar 'Romano' en fase de aclimatización y casa de cultivo.

Las variables evaluadas tanto de las plantas como de los estolones y los tubérculos después de los 15 días de la inoculación mostraron una respuesta similar en todos los tratamientos, sin diferencias significativas entre ellos.

A los 90 días de plantación en casa de cultivo se observó que las cepas bacterianas, con las que se inocularon las plantas de papa, tuvieron efecto sobre las variables evaluadas tanto de las plantas como de los minitubérculos. Además, se constataron diferencias entre los tratamientos de acuerdo con la cepa inoculada.

Todas las cepas ocasionaron un incremento significativo en la altura de las plantas, con respecto al control sin fertilizante. Además, en las plantas del tratamiento inoculado con las cepas CCIBP-Bv12, CCIBP-M27 y CCIBP-Bv14 esta variable no difirió del control con fertilizante y con CCIBP-C5 fue superior. Además, en el tratamiento inoculado con la cepa CCIBP-W13 se formó la mayor cantidad de tallos por planta y el resto de las cepas, excepto CCIBP-Bv14, ocasionaron un incremento con respecto al control sin

fertilizante en esta variable aunque con diferencias significativas en relación con el control con fertilizante químico (Tabla 1).

Con respecto a la variable número de entrenudos, excepto con el tratamiento inoculado con *Bacillus* sp. CCIBP-Bv14, el resto mostró valores significativamente superiores a los del control con fertilizante. De igual forma, la masa seca de la planta se incrementó en los tratamientos con las cepas CCIBP-M27, CCIBP-Bv12 y CCIBP-C5 (Tabla 1).

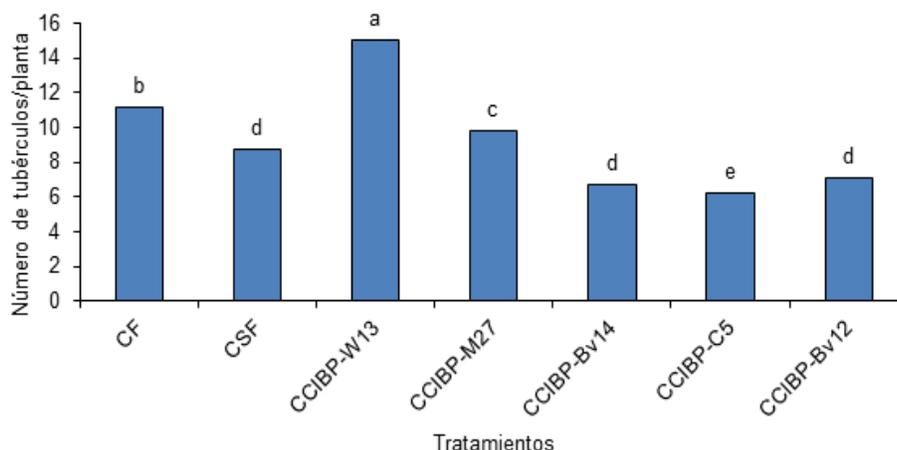
En todos los tratamientos se obtuvieron minitubérculos. Se observó que en las plantas inoculadas con la cepa bacteriana CCIBP-W13 se incrementó significativamente el número de tubérculos con respecto a los controles y al resto de los tratamientos. Igualmente, los resultados con la cepa CCIBP-M27 fueron significativamente superiores al control sin fertilizante (Figura 2).

Por otra parte, las variables largo, ancho, masa fresca y masa seca de los tubérculos fueron superiores en los tratamientos con las cepas CCIBP-C5, CCIBP-Bv12 y CCIBP-Bv14, en comparación con el control con fertilizante y sin fertilizante (Tabla 2).

Tabla 1. Efecto de la inoculación de cepas bacterianas sobre plantas *in vitro* de papa cv. 'Romano'. Resultados sobre variables de la planta a los 90 días de plantación en casa de cultivo.

Tratamiento	Altura planta (cm)		No. de tallos /planta		No. de entrenudos/ planta		Masa seca (g) planta	
	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango
CF	29.84	78.53 b	2.53	67.11 b	21.21	64.50 e	4.25	66.74 d
CSF	14.29	26.50 d	2.05	53.76 e	16.21	42.50 f	2.62	47.53 g
CCIBP-W13	22.08	52.39 c	3.32	84.53 a	22.84	68.61 c	3.31	55.89 f
CCIBP-M27	23.62	58.09 bc	2.29	64.38 d	21.00	66.62 d	4.16	69.65 c
CCIBP-Bv14	23.66	57.39 bc	2.26	60.05 e	20.89	58.26 f	3.59	57.87 e
CCIBP-C5	40.29	103.47 a	2.26	65.63 c	25.52	81.39 a	5.00	81.21 b
CCIBP-Bv12	32.11	84.79 ab	2.42	66.37 c	25.26	80.18 b	5.24	83.50 a

Rangos medios con letras diferentes en una misma columna representan diferencias significativas según las pruebas de Kruskal Wallis/ Mann Whitney para $p \leq 0.05$. CF Control con fertilización química, CSF Control sin fertilizante químico y sin inocular.



Letras diferentes sobre barras indican diferencias significativas de los rangos medios según las pruebas de Kruskal Wallis/ Mann Whitney para $p \leq 0.05$

Figura 2. Efecto de la inoculación de cepas bacterianas a plantas *in vitro* de papa cv. 'Romano' sobre el número de tubérculos por planta. CF: control con fertilización química, CSF: Control sin fertilizante y sin inocular.

Tabla 2. Efecto de la inoculación de cepas bacterianas a plantas *in vitro* de papa cv. 'Romano' sobre características de minitubérculos obtenidos en casa de cultivo.

Tratamientos	Largo (cm)		Ancho (cm)		Masa fresca (g)		Masa seca (g)	
	Media	Rango medio	Media	Rango medio	Media	Rango medio	Media	Rango medio
CF	1.69	404.50 c	1.18	396.15 d	2.22	398.00 c	0.41	402.08
CSF	0.95	209.13 e	0.73	199.35 g	0.56	198.76 f	0.08	218.13
CCIBP-W13	0.92	205.72 f	0.75	213.13 f	0.63	213.46 e	0.09	225.98
CCIBP-M27	1.14	274.58 d	0.88	273.49 e	0.92	274.10 d	0.16	262.73
CCIBP-Bv14	2.00	448.64ab	1.40	446.36 b	3.62	449.62 b	0.68	435.64
CCIBP-C5	1.85	422.35 b	1.29	421.57 c	2.85	416.08 b	0.50	409.09
CCIBP-Bv12	2.30	483.64 a	1.68	498.60 a	6.65	498.61 a	1.24	495.13

Rangos medios con letras diferentes en una misma columna representan diferencias significativas según las pruebas de Kruskal Wallis/Mann Whitney para $p \leq 0.05$. CF: control con fertilización química, CSF: Control sin fertilizante y sin inocular

La inoculación de plantas *in vitro* de papa cv. 'Romano' con las cepas bacterianas también influyó sobre la masa fresca de los tubérculos por planta (Figura 3) y en la distribución de calibres de los tubérculos en cada tratamiento (Figura 4).

En todos los tratamientos se obtuvieron valores de rendimiento agrícola superiores al control sin fertilizante y en el caso del tratamiento con *B. pumilus* CCIBP-C5 con valores similares al control con fertilizante (Figura 3).

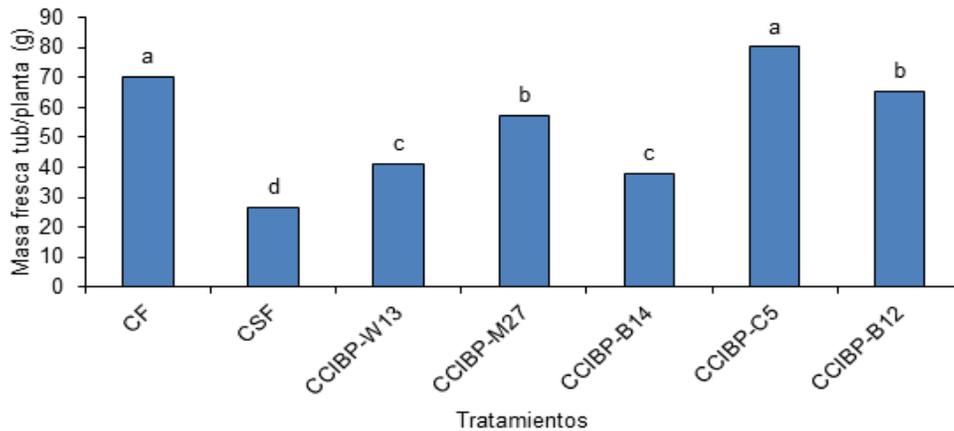
En las condiciones experimentales de la casa de cultivo predominaron los tubérculos menores de 21 mm, aunque en todos los tratamientos se obtuvieron con dimensiones requeridas para semilla (22 a 36 mm) (Figura 4).

DISCUSIÓN

La utilización de microorganismos para sustituir la fertilización química de las plantas en aras de reducir costos financieros y

disminuir el impacto ambiental negativo de estas sustancias es una práctica que ha cobrado auge en las últimas décadas (Adesemoye *et al.*, 2009; Desai *et al.*, 2012). La selección de cepas de microorganismos con efecto específico sobre determinadas especies de plantas de interés económico ha devenido en la creación de bioproductos que se han denominado biofertilizantes, bioestimulantes o más

recientemente como promotores del crecimiento vegetal. La búsqueda de cepas candidatas promisorias para la producción industrial de estos bioproductos es una necesidad. Las cepas bacterianas de microorganismos utilizadas en este estudio para la inoculación de plantas *in vitro* de papa empleadas para obtener minitubérculos en casa de cultivo pudieran contribuir a estos propósitos.



Letras diferentes sobre barras indican diferencias significativas de los rangos medios según las pruebas de Kruskal Wallis/ Mann Whitney para $p \leq 0.05$

Figura 3. Efecto de la inoculación de cepas bacterianas a plantas *in vitro* de papa cv. 'Romano' sobre el rendimiento agrícola de las plantas. CF: control con fertilización química, CSF: Control sin fertilizante y sin inocular.

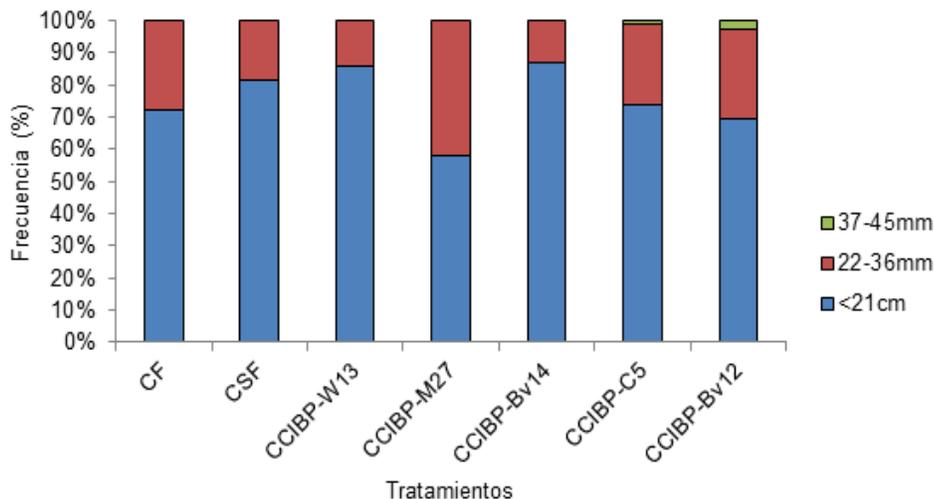


Figura 4. Frecuencia de distribución de los calibres (diámetro) de minitubérculos de papa cv. 'Romano' formados en plantas inoculadas con cepas bacterianas con propiedades como promotoras del crecimiento vegetal. CF: control con fertilización química, CSF: Control sin fertilizante y sin inocular.

En los 15 primeros días después de la inoculación las cepas bacterianas no tuvieron efecto sobre las plantas. Los microorganismos cuando se inoculan a las plantas requieren de un tiempo para colonizar las raíces, adaptarse a las nuevas condiciones y producir un efecto visible sobre sus características fenotípicas. En el caso de las plantas obtenidas por cultivo *in vitro*, están libres de microorganismos patógenos y las poblaciones de otros microorganismos asociados están muy disminuidas por las condiciones asépticas del cultivo. Esto podría favorecer la colonización de las raíces por las cepas inoculadas cuyas suspensiones contenían un elevado número de células por mililitro (aprox. 10^9) en detrimento de microorganismos que se encuentran en el sustrato donde se aclimatizaron las plantas.

Sin embargo, a los 90 días de cultivo se observó influencia de la inoculación de las cepas en las variables evaluadas tanto a las plantas como a los minitubérculos. Según los resultados de Beukema y van der Zaag (1990) durante el primer estado de crecimiento de las plantas de papa todos los asimilatos son empleados para el crecimiento del follaje y de la raíz. Posteriormente, son almacenados en los tubérculos. En este estudio aunque se observó mayor altura en algunos tratamientos y número de entrenudos esto no se tradujo en mayor número de tubérculos pero sí en un incremento en sus dimensiones y masa. Por ejemplo la cepa CCIBP-Bv12 incrementó en tres veces el valor de la masa seca de los minitubérculos con respecto al control con fertilizante.

Por otra parte, se destacó el hecho de que con solo una aplicación de la suspensión bacteriana por inmersión de las raíces los valores de las variables evaluadas en muchos casos no mostraron diferencias o fueron superiores al control con fertilizante lo cual indica su potencial para incrementar el crecimiento de las plantas. No todas las cepas de una especie microbiana se comportan de la misma forma en cuanto a su atracción por los exudados de las raíces de una especie vegetal. Estas diferencias se deben tanto a las peculiaridades de las plantas como a las características de la cepa microbiana. Los resultados positivos en la obtención y manejo de bacterias promotoras del crecimiento y desarrollo vegetal, se relacionan con la correcta

selección de cepas de los microorganismos que más inciden en las asociaciones benéficas con plantas superiores (Dibut, 2006).

Es importante señalar que las cepas bacterianas también tuvieron efecto sobre las características de los minitubérculos, su masa fresca por planta y la frecuencia de distribución de los calibres. Específicamente las plantas inoculadas con las cepas CCIBP-C5, CCIBP-Bv12 y CCIBP-Bv14 se obtuvieron los valores mayores con respecto a las variables largo, ancho, masa fresca y masa seca aunque estos tratamientos fueron los de menor número de minitubérculos. En el caso de las cepas CCIBP-C5 y CCIBP-Bv12 indujeron la formación de minitubérculos predominantemente con calibres entre 22 y 36mm y un rendimiento comparable con el control con fertilización química. La aplicación de estas cepas podría contribuir a la producción de semilla con sistema de cultivo orgánico.

El efecto de las cepas bacterianas del género *Bacillus* utilizadas en este estudio sobre las variables evaluadas a los 90 días de la plantación que en la mayoría de los casos mostraron resultados superiores al control sin fertilizante indicaron el potencial para ser utilizadas en la promoción del crecimiento de las plantas de papa cv 'Romano' y reducir el uso de fertilizantes. En experiencias previas autores como Adesemoye *et al.* (2009) inocularon plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*), con una mezcla de BPCP entre las que se encontraban las cepas de *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a y *Bacillus pumilus* T4, junto con *Glomus intraradices* y los resultados indicaron que con el 75% de la fertilización recomendada junto con los inoculantes microbianos se alcanzó un crecimiento de las plantas, rendimiento e incorporación de nutrientes equivalente estadísticamente al control con el 100% de los fertilizantes. Sumado a ello se conoce que las cepas del género *Bacillus* tienen como ventaja la formación de endosporas que les confieren gran estabilidad como biofertilizantes o biofungicidas (Desai *et al.*, 2012).

El cultivo de la papa se ha caracterizado por el elevado costo de los insumos donde destacan los fertilizantes y la semilla. La producción de minitubérculos de papa en casa de cultivo se convierte en una alternativa viable para

programas de semilla (Jiménez-Terry *et al.*, 2009). En este sentido, la aplicación de estas cepas bacterianas a las plantas podría contribuir a reducir los costos e insertarse en un programa de cultivo orgánico. Este punto de vista es sustentado por diferentes autores quienes indican que el uso en la agricultura sostenible de inóculos basados en microorganismos beneficiosos permite mejorar la productividad de los cultivos con menores dosis de fertilizantes, entre otros aspectos por su influencia en el crecimiento y sanidad de las plantas (Rai, 2006; Desai *et al.*, 2012).

CONCLUSIONES

Los resultados indicaron que la inoculación de plantas *in vitro* de papa cv. 'Romano' con cepas de bacterias del género *Bacillus* tuvo influencia sobre las variables evaluadas en las plantas y en los minitubérculos y esta depende del tipo de cepa. La aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en la obtención de minitubérculos de papa podría disminuir el uso de fertilizantes químicos.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó en el marco del proyecto Nacional Fortalecimiento de la semilla de papa que se ejecuta entre varios centros de investigación del país.

REFERENCIAS

Adesemoye AO, Torbert HA, Kloepper JW (2009) Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Allow Reduced Application Rates of Chemical Fertilizers. *Microb Ecol* 58 (4):921-929

Agramonte D (1999) Métodos biotecnológicos para la producción de semilla original de papa (*Solanum tuberosum* L.). Tesis para aspirar al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Central

de Las Villas, Instituto de Biotecnología de las Plantas. Cuba

Beukema HP, DE van der Zaag (1990) Introducción a la Producción de Patatas. NIVAA. Wageningen

De-Bashan Luz E, Gina Holguin, Bernard R Glick, Yoav Bashan (2007) Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. En: Ferrera-Cerrato R, Alarcon A (Eds.). *Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo*. Capítulo 8, pp. 170-224. Editorial Trillas. Mexico City

Desai Suseelendra, Minakshi Grover, E Leo Daniel Amalraj, G Praveen Kumar, SK Mir Hassan Ahmed (2012) Exploiting Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms for Enhanced Crop Productivity. En: Satyanarayana T, Bhavdish Narain Johri, Anil Prakash (Eds.). *Microorganisms in sustainable agriculture and biotechnology*. Chapter 12, pp.227-242. Springer. Dordrecht

Dibut B (2006) Biofertilizantes como insumos en Agricultura Sostenible. INIFAT. México DF

IBP (2005) Protocolo para la producción de semilla de papa con el uso de métodos biotecnológicos. 1ra (ed.) Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Santa Clara

Jiménez-Terry Felipe Alberto, Daniel Agramonte Peñalver, Juan Nivaldo Pérez Ponce, Daymí Ramírez Aguilar, Odalis Gutiérrez Martínez, Martha Pérez Peralta (2001) Aclimatización de plantas *in vitro* de *Solanum tuberosum* (L.) variedad Desiree. *Biotecnología vegetal* 1(2): 103-108

Rai MK (2006) Handbook of microbial biofertilizers. Haworth Press, Technology & Engineering. New York

Recibido: 15-09-2014

Aceptado: 23-12-2014