

Coinoculación de biofertilizantes microbianos en pepino y habichuela y su efecto en el crecimiento y rendimiento

Co-inoculation of microbial biofertilizers in cucumber and green bean and its effect on growth and yield

Alexander Calero Hurtado^{1*}, Yanery Pérez Díaz¹, Kolima Peña Calzada¹,
Dilier Olivera Viciado², Janet Jiménez Hernández¹, Annerys Carabeo Pérez¹

Recibido para publicación: 17 de agosto de 2023 - Aceptado para publicación: 02 de noviembre de 2023

RESUMEN

La coinoculación entre bacterias y hongos puede ser una alternativa eficiente y viable para la producción de hortalizas. El propósito de esta investigación fue evaluar efectos de la coinoculación entre *Trichoderma harzianum* y el bioestimulante Microorganismos eficientes (ME-50®) en la promoción del crecimiento y la productividad del pepino (*Cucumis sativus* L.) y la habichuela [*Vigna unguiculata* (L.) Walpen]. Se realizaron dos experimentos en condiciones de organoponía, en arreglo factorial 2×2, en bloques al azar, con cinco réplicas, para evaluar los efectos de la inoculación (100 mL L⁻¹) y sin inoculación al suelo con el bioestimulante ME-50® en combinación con inoculación de semillas (100 mL L⁻¹) y semillas sin inoculación con *T. harzianum* cepa A-34, para mejorar el crecimiento (altura, área foliar y materia seca en hojas y tallos) y productividad (número, longitud y la masa de los frutos y el rendimiento) del pepino y la habichuela. La inoculación con el bioestimulante ME-50® promovió mayor crecimiento y productividad de las plantas de pepino y la habichuela en comparación con la inoculación de *T. harzianum*. Sin embargo, la coinoculación entre ambos bioestimulantes fue más eficiente en el crecimiento y desarrollo de ambas especies de plantas; incrementándose la productividad del pepino (133%) y la habichuela (138%). Los resultados de este estudio sugieren que la coinoculación entre el bioestimulante ME-50® y *T. harzianum* tienen un efecto sinérgico, eficiente y viable en el crecimiento y productividad de las plantas de pepino y habichuela, considerándose útiles en la producción orgánica, ecológica y sostenible de los cultivos.

Palabras clave: Inoculación del suelo, bioestimulantes, *Cucumis sativus*, rendimiento, *Vigna unguiculata*

¹Universidad de Sancti Spiritus “José Martí Pérez”, Cuba.

²Institute of Agrifood, Animals and Environmental Sciences- Universidad de O'Higgins, San Fernando, Chile.

Autor para correspondencia: Alexander Calero Hurtado

Email: alexcalero34@gmail.com

ABSTRACT

Inoculation between bacteria and fungi can be an efficient and viable alternative for production of horticultural crops. The purpose of this research was to evaluate the effects of co-inoculation between *Trichoderma harzianum* and the biostimulant ME-50® on the growth promotion and productivity of cucumber (*Cucumis sativus* L.) and green beans [*Vigna unguiculata* (L.) Walpen]. Two experiments under garden conditions were carried out, in a 2×2 factorial arrangement, in a random blocks with five replicates, to evaluate the effects of inoculation (100 mL L⁻¹) and not inoculation to the soil with the biostimulant ME-50® in combination with seed inoculation (100 mL L⁻¹) and non-inoculation seeds with *T. harzianum* strain A-34 to improve the growth (height, leaf area and dry matter of leaves and stems) and productivity (number, length and mass of fruits and yield) of cucumber and green beans. Inoculation with the biostimulant ME-50® promoted greater growth and productivity of cucumber and green bean plants compared to the inoculation with *T. harzianum*. However, coinoculation between both biostimulants was more efficient in the growth and development of both plant species; increasing the productivity of cucumber (133%) and green beans (138%). The results of this study suggest that coinoculation between the biostimulant ME-50® and *T. harzianum* has a synergistic, efficient and viable effect on the growth and productivity of cucumber and green beans plants, being considered useful in organic, ecological and sustainable of the crops.

Key words: Soil inoculation, biostimulants, *Cucumis sativus*, yield, *Vigna unguiculata*.

Cómo citar

Calero Hurtado, A., Pérez Díaz, Y., Peña Calzada, K., Olivera Viciado, D., Jiménez Hernández, J. y Carabeo Pérez, A. 2023. Coinoculación de biofertilizantes microbianos en pepino y habichuela y su efecto en el crecimiento y rendimiento. *Temas Agrarios* 28(2): 220-232. <https://doi.org/10.21897/bz3pz58>



Temas Agrarios 2023. Este artículo se distribuye bajo los términos de la Licencia Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es>), que permite copiar, redistribuir, remezclar, transformar y crear a partir del material, de forma no comercial, dando crédito y licencia de forma adecuada a los autores de la obra.

INTRODUCCIÓN

La producción de alimentos a base de plantas saludables y ecológicas, es una prioridad para los investigadores y académicos en la actualidad. La Agricultura Orgánica se presenta como una alternativa eficiente y aunque existen inquietudes acerca del rendimiento, estudios más recientes muestran que una producción orgánica bien administrada puede lograr rendimientos similares a los producidos por la agricultura convencional (Calero Hurtado, *et al.*, 2020a). La Agricultura Sostenible (AS) es la principal estrategia para contrarrestar el rápido declive de la calidad ambiental por medio del mantenimiento del equilibrio de los ecosistemas (Singh *et al.*, 2020). Uno de los elementos más importantes en la AS es el empleo de los bioproductos, los cuales son una alternativa viable e factible para lograr un progreso agrícola, que permita la producción a bajos costos, no contamina el medio ambiente y conserva la fertilidad y biodiversidad del suelo (Keswani *et al.*, 2019).

Varias especies de bacterias y hongos desempeñan un papel clave en la mejora de la fertilidad del suelo. La utilización de estos microorganismos aumentan la materia orgánica e incrementan la disponibilidad de macros y micronutrientes en el suelo (Naik *et al.*, 2019). Varios estudios han reportado que la coinoculación con múltiples microorganismos, presentan un efecto sinérgico porque mejoran la nodulación y crecimiento de las plantas (Calero Hurtado *et al.*, 2020c; Henry *et al.*, 2020). Los microorganismos de la rizósfera, como los géneros de *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, entre otros, comúnmente encontrados en la rizósfera de las leguminosas y no leguminosas, han sido utilizados como consorcios microbianos para la promoción de crecimiento y productividad de las plantas (Singh *et al.*, 2020).

Actualmente es aplicada la tecnología de los microorganismos eficientes (ME), un consorcio microbiano de microorganismos benéficos, descubierto por el profesor Teuro Higa, Japón, compuestos por géneros de bacterias, hongos y levaduras; la cual ha sido generalizada y aplicada en varios países emergentes o en vía de desarrollo (Calero Hurtado *et al.*, 2019). El empleo de este bioestimulante ha favorecido el crecimiento y la productividad de varias especies de plantas hortícolas, como el tomate (Lizaso *et al.*, 2022; López *et al.*, 2017a; Olivera *et al.*, 2015), cebolla (López *et al.*, 2017b), rábano (Calero *et al.*, 2019b), pepino (Calero Hurtado, *et al.*, 2019c) y la habichuela (Calero Hurtado *et al.*, 2020a).

Por otra parte, este bioestimulante puede aplicarse de forma combinada con otros microorganismos, en este sentido, fue reportado que la aplicación conjunta de ME y *Trichoderma* spp., bioestimulan el crecimiento de la cebolla (Liriano *et al.*, 2015). Asimismo, la aplicación conjunta de ME con *Rhizobium* favoreció el crecimiento y el rendimiento del frijol (Calero-Hurtado *et al.*, 2022; Calero Hurtado *et al.*, 2020b).

Otro microorganismo que favorece la protección y el crecimiento de las plantas es el hongo *Trichoderma* spp. Este hongo tiene un amplio uso como biocontrolador de enfermedades del suelo, por la producción de antibióticos y metabolitos (Hoseini *et al.*, 2022). Además, la promoción del crecimiento de las plantas por *Trichoderma* spp., es uno de los principales mecanismos estudiados (Cubilla-Ríos *et al.*, 2019). La inducción del crecimiento de las raíces laterales por *Trichoderma* spp., es un mecanismo importante en el mejoramiento del crecimiento de las plantas, además que, algunas cepas de *Trichoderma* inducen la promoción del crecimiento, por su capacidad en síntesis del Ácido Indolacético (IAA) (Singh *et al.*, 2022).

En la naturaleza existen múltiples relaciones simbióticas (microorganismos-planta), que pueden ser utilizadas en el crecimiento de las plantas (Singh *et al.*, 2020). Estudios anteriores reportaron los efectos beneficiosos de la aplicación conjunta del bioestimulante ME y *T. harzianum* (TH) en plántulas de cebolla (Liriano *et al.*, 2015), pero los efectos de estos microorganismos aplicados de forma conjunta en plantas de pepino y habichuela son escasos. Por tanto, la importancia de estudiar los efectos de estos dos bioestimulantes en la producción de pepino y habichuela en condiciones de organoponía, puede ser una estrategia económica, viable y amigable con el medio ambiente, para elevar los rendimientos de estos cultivos. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de la coinoculación entre el bioestimulante ME y *T. harzianum* en la promoción del crecimiento y la productividad del pepino y la habichuela en condiciones de organoponía.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación fue concebida entre los meses de enero a abril de 2021, en el organopónico "El Estadio", en la provincia de Sancti Spíritus, Cuba. Durante el desarrollo de la investigación fueron registradas las variables climatológicas por la Estación Provincial de Sancti Spíritus, donde la temperatura media diaria fue de 24,05 °C, la humedad relativa media diaria de 78% y la precipitación pluvial acumulada de 111,24 mm.

Se utilizaron semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.) cv. Su Yi Sung y de habichuela (*Vigna unguiculata* L.), var. Lina, obtenidas en la Empresa de Semillas de Sancti Spíritus, ambas con un similar porcentaje de germinación de 97% y una pureza física del 99%. La siembra fue realizada de forma manual y se depositaron tres semillas por sitio. Las semillas de pepino fueron depositadas a una distancia entre líneas de 0,90 m y entre

plantas de 0,20 m, mientras que, las semillas de habichuela se depositaron a 0,70 m entre líneas y 0,15 m entre plantas. A los 10 días posteriores de la emergencia, se realizó un raleo uniforme para eliminar la abundancia de plantas y se dejó una planta por sitio en cada especie cultivada.

Los experimentos se distribuyeron en bloques al azar con arreglo factorial 2×2, con cinco réplicas para cada especie, se realizaron para comprobar los efectos de la inoculación (100 mL L⁻¹) y no inoculación del suelo con el bioestimulante ME-50® y su combinación con la inoculación (100 mL L⁻¹) y no inoculación de las semillas con TH, formándose los siguientes tratamientos combinados: -ME-TH: sin adición de ME-50® al suelo y semillas sin inocular con TH; -ME+TH: sin adición de ME-50® al suelo y semillas inoculadas con 100 mL L⁻¹ de TH; +ME-TH: con adición de 100 mL L⁻¹ de ME-50® al suelo y semillas sin inocular con TH y +ME+TH: con adición de 100 mL L⁻¹ de ME-50® al suelo y semillas inoculadas con 100 mL L⁻¹ de TH. Las parcelas experimentales fueron de 4,0 m², distribuidas en canteros de 18 m² (18 m de longitud y un metro de ancho), con un espacio de 0,5 m entre parcelas y un metro entre las réplicas.

La adición del bioestimulante ME-50® a la concentración de 100 mL L⁻¹, se realizó directamente al suelo, seguidamente se depositaron las semillas y posteriormente se taparon de las semillas. Esta solución se seleccionó según los resultados obtenidos anteriormente en frijol (Calero Hurtado *et al.*, 2019c) y se aplicó con apoyo de con una asperjadora manual (ECHO MS-21H) de 7,6 litros de capacidad, mientras que, las semillas de ambas especies se embebieron durante dos horas en una concentración de 100 mL L⁻¹ de un biopreparado líquido de *T. harzianum* cepa A-34, de acuerdo con los resultados reportados anteriormente en tomate (Pérez *et al.*, 2013).

Ambos bioproductos fueron gentilmente donado por la Sucursal de Labiofam de Sancti Spíritus". El inoculo de ME-50[®] constituido por *Bacillus subtilis* B/23-45-10 Nato ($5,4 \cdot 10^4$ unidades formadoras de colonias (UFC) mL⁻¹), *Lactobacillus bulgaricum* B/103-4-1 ($3,6 \cdot 10^4$ UFC mL⁻¹), y *Saccharomyces cerevisiae* L-25-7-12 ($22,3 \cdot 10^5$ UFC mL⁻¹), con certificado de calidad emitido por el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), código R-ID-B-Prot-01-01. Además, se identificaron la presencia de

otros géneros de microorganismos benéficos en este bioestimulante, como *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Rhizobiales*, *Saccharomyces*, etc, reportados como como promotores del crecimiento vegetal (Carabeo *et al.*, 2022).

Por otro lado, las propiedades fisicoquímicas de este bioestimulante [(ver tabla 1(Calero Hurtado *et al.*, 2020d)], se determinaron, de acuerdo con los métodos propuestos anteriormente para medios líquidos (Raij *et al.*, 2001).

Tabla 1. Composición fisicoquímica del bioestimulante Microorganismos eficientes.

pH	MS	MO	C	N	K ⁺	P	Ca ²⁺	Mg ²⁺	C/N
	g				mg g ⁻¹				-
3,5	13,2	6,8	133,2	16,9	36,0	2,2	56,1	24,3	7,9

pH: potencial de hidrogeno; MS: materia seca; MO: materia orgánica; C, carbono; N: nitrógeno; K⁺: potasio; P: fósforo; Ca²⁺: calcio; Mg²⁺: magnesio. Fuente: Elaboración propia

El formulado líquido a base *Trichoderma harzianum* A-34, fermentado hasta la fase miceliar con 10^8 conidios mL⁻¹, producido superficialmente en medio líquido, batido, filtrado y con preservante (Pérez *et al.*, 2014).

A los 30 días después de la emergencia (DDE), se realizó la evaluación de los parámetros del crecimiento en el pepino (fase vegetativa V3, cuando la planta se centra en el máximo desarrollo del follaje y los tallos) y en ambas especies de plantas fueron muestreadas 50 plantas por tratamientos, en el área útil de cada parcela (1,15 m²) y se observaron los siguientes parámetros del crecimiento:

Altura de las plantas (cm): se realizó con ayuda de una regla graduada.

Área foliar (AF): se determinó mediante la fórmula de Kemp con algunas modificaciones (Kemp, 1960):

$$AF = \Sigma(l\alpha)k \quad (1)$$

Dónde: l es la longitud de cada hoja o foliolo,

α el ancho de la hoja o foliolo y k (constante de Kemp para las dicotiledóneas) igual a 0,66.

La masa seca del tallo y hojas de las plantas de pepino y habichuela, ambas partes fueron separadas y colocadas en bolsas de papel y colocadas en estufa de circulación de aire forzada a 60 °C hasta obtener masa constante. La masa seca fue obtenida en una balanza del tipo digital, Sartorius, con una precisión de 0,01 g.

La cosecha del pepino se realizó a los 50, 60 y 70 DDE (fase R5, última fase del crecimiento del pepino, en la que la planta se centra en la producción de los frutos), mientras que, la habichuela fue recolectada a los 55, 65 y 75 DDE (fase R7, penúltima fase del crecimiento y desarrollo, estado de vainas verdes con granos llenos, en la que la planta se centra en el crecimiento de los frutos) y se determinaron los siguientes parámetros productivos:

- Número de frutos por planta (NF): se determinó por conteo directo en las tres primeras cosechas, para cada especie.

- Longitud de frutos (LF): se realizó con apoyo de una regla metálica milimétrica (con error de lectura de 0,05 cm).
- Masa de los frutos por planta (MF): se obtuvo en una balanza del tipo digital, Sartorius, con una precisión de 0,01 g.
- Rendimiento (kg m⁻²): se determinó con la masa de los frutos (área útil) de ambas especies, multiplicado por el número de plantas que caben en un m² a la distancia de siembra mencionada anteriormente y después convertido a kg.

Se utilizó un análisis factorial para probar los efectos de los dos niveles de aplicación del bioestimulante ME-50® y *T. harzianum* cepa A-34, así como sus interacciones (ME×TH). Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis descriptivo para variables continuas y cuantitativas, para distribución normal, al test de Shapiro-Wilk para la bondad de ajuste y se aplicó la prueba de Fisher para evaluar la homogeneidad de la varianza. Cuando existió normalidad y homogeneidad, se realizó un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), y cuando la F fue significativa ($p < 0,05$), las medias fueron comparadas por la prueba de Rangos Múltiples de Tukey ($p < 0,05$). Los datos fueron procesados en el software R (R Core Team, 2019).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efectos sobre el crecimiento de las plantas de pepino y habichuela

El ANOVA reveló interacciones significativas ($p < 0,001$) entre el consorcio de ME y TH en la altura de la planta (AP) y el área foliar (AF) de ambas especies hortícolas (Figura 1a-d). La AP del pepino y la habichuela fue superior en la coinoculación con ME y mostró diferencias significativas ($p < 0,0001$) en comparación a la inoculación con TH y al

tratamiento sin inoculación (-ME-TH) (Figura 1a, b). Sin embargo, el tratamiento +ME+TH fue significativamente ($p < 0,0003$) superior a los otros tratamientos e incrementó la AP de las plantas de pepino en 31, 15 y 8% y de la habichuela en 56, 41 y 9%, respectivamente, comparado con los tratamientos -ME-TH, -ME+TH y +ME-TH (Figura 1a, b). No obstante, los tratamientos +ME-TH y +ME+TH incrementaron la AP de pepino en 9 y 23% y las de habichuela en 29 y 42% y mostraron diferencias significativas ($p < 0,01$) en comparación al tratamiento -ME+TH (Figura 1a, b).

En este estudio se observaron los efectos benéficos de la coinoculación entre el consorcio de ME y *T. harzianum* en la promoción del crecimiento y la productividad de las plantas de pepino y habichuela. Esta coinoculación favoreció la estructura aérea (AP y AF) de ambas especies hortícolas, probablemente debido a la incorporación de nutrientes como nitrógeno (N) y calcio (Ca) presentes en el bioestimulante (tabla 1), que benefician la formación estructural y la división celular de las plantas (Calero Hurtado *et al.*, 2020d). Por otra parte, la introducción de microorganismos, como *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus bulgaricum*, *Saccharomyces cerevisiae* y *T. harzianum* pudieron ayudar a solubilizar nutrientes minerales y producir sustancias (hormonas) y otro, que favorecen el desarrollo de las plantas (Jindo *et al.*, 2020). Estos resultados apoyan nuestra primera hipótesis, que la coinoculación entre los biofertilizantes ME y *T. harzianum*, constituye una estrategia eficiente y viable para la producción sostenible de alimentos. Estudios previos mostraron efectos benéficos entre el consorcio de ME-50® y *T. harzianum* en el crecimiento de las plántulas de cebolla (Liriano *et al.*, 2015).

Los resultados exhibieron que el AF mostró efectos significativos entre los tratamientos

evaluados en ambos cultivos. En la presencia de ME-50® el AF fue significativamente superior en 22% en el pepino y 27% en la habichuela comparado con la inoculación con *T. harzianum*, y ambos bioestimulantes fueron significativamente superior ($p < 0,01$) en comparación a las plantas no inoculadas (Figura 1c, d). Sin embargo, el AF se incrementó en el tratamiento +ME+TH en 42, 24 y 10% en plantas de pepino y 43, 23 y 9% en la

habichuela, respectivamente, comparado con los tratamientos -ME+TH, +ME-TH y -ME-TH ($p < 0,0001$) (Figura 1c, d). Similarmente, el AF se incrementó significativamente ($p < 0,001$) en los tratamientos +ME-TH y +ME+TH aproximadamente en 12 y 29% en las plantas de pepino y 13 y 31% en la habichuela en comparación con el tratamiento -ME+TH ($p < 0,002$) (Figura 1c, d).

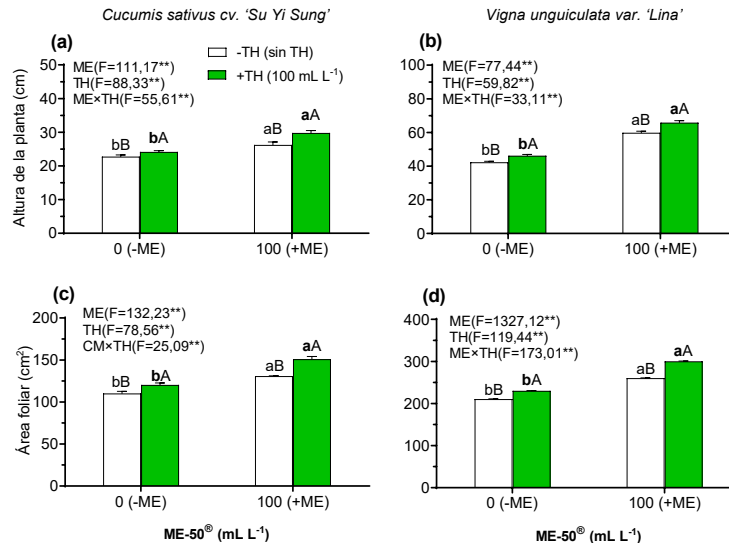


Figura 1. Altura de las plantas de pepino (a), altura de las plantas de habichuela (b), área foliar en pepino (c) y área foliar en la habichuela (d) obtenidos a los 30 DDE. Letras minúsculas (ej. a, b o a, b) difieren entre las concentraciones de ME-50® en los tratamientos sin o con inoculación con *T. harzianum*, respectivamente y letras mayúsculas (Ej. A, B) indican diferencias significativas entre la inoculación o no de las semillas con *T. harzianum* en la misma concentración de ME-50®, de acuerdo con Tukey ($p < 0,05$). ME × TH, interacción entre ME-50® y *T. harzianum*. Fuente: Elaboración propia.

El resultado del ANOVA exhibió interacciones significativas ($p < 0,001$) entre los factores ME y TH en la masa seca las hojas (MSH) y del tallo del tallo (MST) de ambos cultivos (Figura 2a-d). La MSH reveló incrementos significativos ($p < 0,001$) en las parcelas coinoculadas con el ME comparadas con las inoculadas con TH y las no inoculadas (Figura 2a-d). No obstante, la MSH se incrementó en las plantas coinoculadas con ME+TH aproximadamente en 78, 42, y 19% en pepino y 75, 46 y 24% en la habichuela, respectivamente en comparación con los tratamientos -ME-TH, -ME+TH y +ME-TH ($p < 0,0001$) (Figura 2a-b). Además, incrementó la MSH del pepino de 50 y 25% y en la habichuela de 41 y 21%, respectivamente,

comparado con los tratamientos -ME+TH y +ME-TH ($p < 0,0021$) (Figura 2a-b). Pero estos últimos tratamientos, al mismo tiempo el incrementaron significativamente ($p < 0,0003$) la MSH en 17 y 22% en el pepino y 21 y 25% en la habichuela, respectivamente, en comparación con el tratamiento -ME-TH (Figura 2a, b).

Este beneficio en la promoción del crecimiento de ambas especies hortícolas, presumiblemente ocurre por la incorporación de las especies *B. subtilis* y *L. bulgaricum* favorecen la solubilización de nutrientes, la producción de hormonas y la producción de metabolitos secundarios (Basu *et al.*, 2021; Jindo *et al.*, 2020).

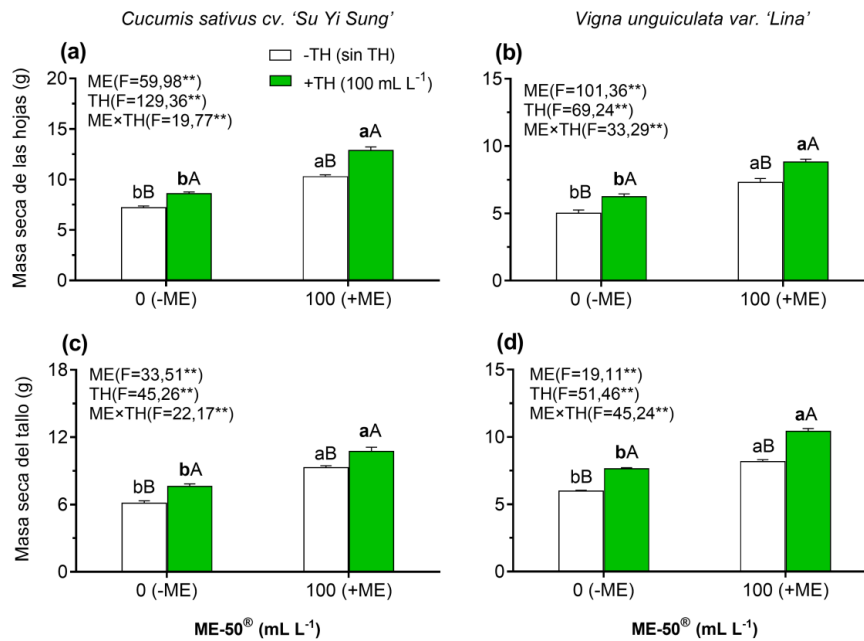


Figura 2. Masa seca de las hojas en pepino (a), masa seca de las hojas de la habichuela (b), masa seca de los tallos de pepino (c) y masa seca de los tallos de la habichuela (d). Letras minúsculas (ej. a, b o a, b) difieren entre las concentraciones de ME-50® en los tratamientos sin o con inoculación con *T. harzianum*, respectivamente y letras mayúsculas (Ej. A, B) indican diferencias significativas entre la inoculación o no de las semillas con *T. harzianum* en la misma concentración de ME-50®, de acuerdo con Tukey ($p < 0,05$). ME × TH, interacción entre ME-50® y *T. harzianum*. Fuente: Elaboración propia.

En este sentido, anteriormente se reportó que algunos de estos géneros (*Bacillus* y *Trichoderma*) actúan de forma coordinada en la interface suelo-raíz, actuando como biocontroladores de enfermedades (Singh *et al.*, 2020). Varias investigaciones reportan que el incremento de especies de bacterias y hongos en la rizósfera, podrían potencialmente incrementar los efectos biológicos y ecológicos, lo que favorece el desarrollo de las plantas (Henry *et al.*, 2020).

Los resultados mostraron que la MST en ambos cultivos se incrementó con la inoculación del consorcio ME-50® y mostraron efectos significativos ($p < 0,001$) comparadas con las plantas inoculadas con *T. harzianum* y las no inoculadas (Figura 2c-d). Sin embargo, la MST mostró un incremento en el tratamiento +ME+TH de 75, 51 y 24 % en el pepino y en la habichuela de 74, 36 y

28 %, comparado con los tratamientos -ME-TH, -ME+TH y +ME-TH, respectivamente, $p < 0,0001$) (Figura 2c-d). No obstante, el tratamiento +ME+TH mostró incrementos en la MST en plantas de pepino de 41 y 15 % y la habichuela de 36 y 28 %, respectivamente, y mostró diferencias significativas ($p < 0,001$) en comparación con los tratamientos -ME+TH y +ME-TH, pero este último, al mismo tiempo reveló aumentos significativos ($p < 0,0022$) de 22 y 10 % en la MST de las plantas de pepino y habichuela respectivamente, comparado con el tratamiento -ME+TH (Figura 2c, d).

Los resultados de este estudio indican que existe una relación sinérgica entre el consorcio bioestimulante ME-50® y *T. harzianum*, porque favorecen el crecimiento y desarrollo de las plantas de pepino y habichuela cultivadas en condiciones de organoponía. En consecuencia, esta mayor acumulación y producción de materia seca, ocurre presumiblemente de

forma directa por una mayor adquisición y acumulación de nutrientes, debido a que los microorganismos como *B. subtilis* y *L. bulgaricum* favorecen la solubilización de los nutrientes, la producción de hormonas y metabolitos secundarios (Basu *et al.*, 2021). Indirectamente, la coinoculación entre el consorcio de ME-50® y *T. harzianum* incrementaron la producción de materia seca, posiblemente debido a un efecto sinérgico en la supresión de enfermedades, que favorece el desarrollo de las raíces y consecuentemente la absorción de aguas y nutrientes (Naik *et al.*, 2019). Resultados similares en el incremento del crecimiento de las plántulas de cebolla fueron reportados con la aplicación conjunta entre el consorcio microbiano ME y *T. harzianum* (Liriano *et al.*, 2015). Por tanto, los resultados de este estudio indican que la coinoculación entre el consorcio de ME y *T. harzianum* son una alternativa eficiente para promover el crecimiento y la producción sostenible de las plantas en condiciones de organoponía.

Efectos sobre la productividad de las plantas de pepino y habichuela

El ANOVA de dos vías reveló efectos interactivos ($p < 0,0014$) entre el bioestimulante ME-50® y TH en el número de frutos por planta (NF) y la longitud de los frutos (LF) en ambas especies (Figura 3a-d). Los resultados exhibieron que el NF fue superior en las plantas coinoculadas con el bioestimulante ME-50® (con diferencias significativas, $p < 0,001$) en comparación a las inoculadas con TH y las sin inoculación (Figura 3a, b). Pero, el NF fue significativamente ($p < 0,003$) superior en el tratamiento +ME+TH con incrementos aproximados de 118, 69 y 26% en plantas de pepino, mientras que, en la habichuela fueron de 45, 29 y 45% comparado con los tratamientos -ME-TH, -ME+TH y +ME-TH, respectivamente ($p < 0,0011$) (Figura 3a, b). Sin embargo, el NF en los tratamientos -ME+TH y +ME-TH fueron superiores en 29 y 55% en pepino y de 12 y 64% en la habichuela comparado con el tratamiento sin inocular (-ME-TH) ($p < 0,0021$) (Figura 3a, b).

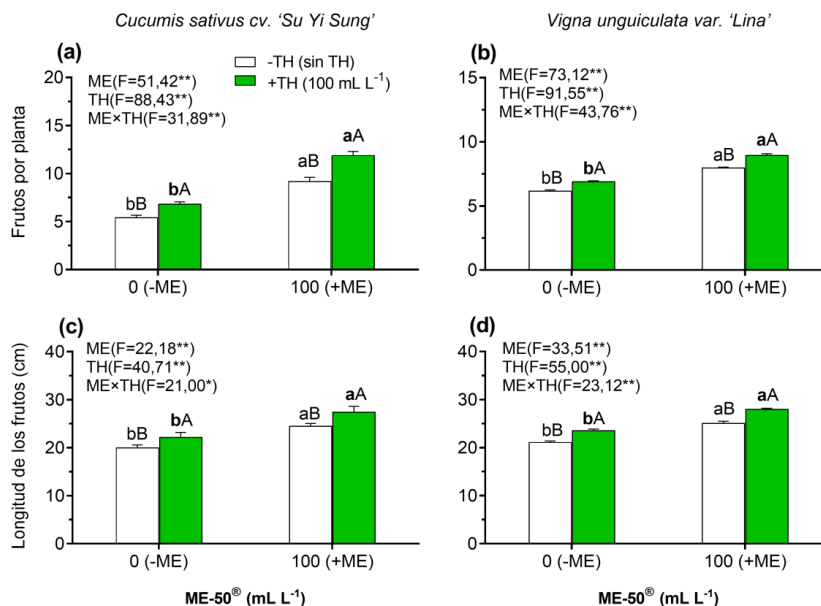


Figura 3. Número de frutos de pepino por plantas (a), Número de frutos de habichuela por planta (b); longitud de los frutos de pepino (c) y longitud de los frutos de habichuela (d) obtenidos en la cosecha. Letras minúsculas (ej. a, b o a, b) difieren entre las concentraciones de ME-50® en los tratamientos sin o con inoculación con *T. harzianum*, respectivamente y letras mayúsculas (Ej. A, B) indican diferencias significativas entre la inoculación o no de las semillas con *T. harzianum* en la misma concentración de ME-50®, de acuerdo con Tukey ($p < 0,05$). ME × TH, interacción entre ME-50® y *T. harzianum*. Fuente: Elaboración propia.

Los resultados revelaron que la inoculación con el consorcio de ME fue significativamente ($p < 0,0011$) superior al TH en la longitud de los frutos (LF) de ambos cultivos, estos incrementos fueron 69% en el pepino y 29% en la habichuela (Figura 3c, d). El tratamiento +ME+TH incrementó la LF en 118, 74 y 22% en las plantas de pepino y 45, 29 y 18% en la habichuela comparado con los tratamientos -ME-TH, -ME+TH y +ME-TH, respectivamente ($p < 0,0013$) (Figura 3c, d).

Los resultados del ANOVA multifactorial exhibieron interacciones significativas

($p < 0,0001$) entre el consorcio de ME y TH en la masa de los frutos (MF) y el rendimiento en ambas hortalizas (Figura 4a-d). La MF fue superior con la inoculación del ME en 59% en plantas de pepino y 46% en la habichuela en comparación con el TH ($p < 0,002$) (Figura 4a-d). La coinoculación con +ME+TH reveló incrementos significativos ($p < 0,0002$) en la MF de pepino en 92, 70 y 21%, mientras que, en la habichuela fueron de 75, 52 y 20% y mostró diferencias significativas ($p < 0,0003$) comparado con los tratamientos -ME-TH, -ME+TH y +ME-TH, respectivamente.

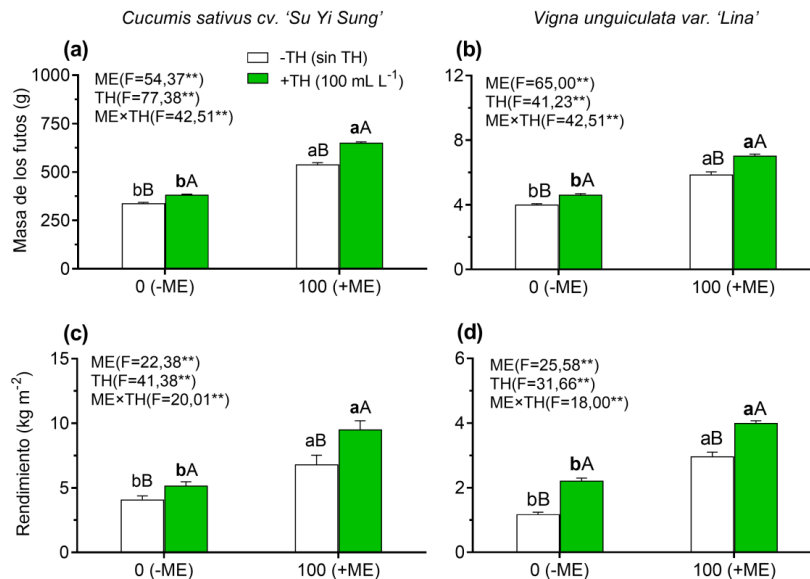


Figura 4. Masa de los frutos de pepino (a), masa de los frutos de la habichuela (b); rendimiento del pepino (c) y rendimiento de la habichuela (d) obtenidos en la cosecha. Letras minúsculas (ej. a, b o a, b) difieren entre las concentraciones de ME-50® en los tratamientos sin o con inoculación con *T. harzianum*, respectivamente y letras mayúsculas (Ej. A, B) indican diferencias significativas entre la inoculación o no de las semillas con *T. harzianum* en la misma concentración de ME-50®, de acuerdo con Tukey ($p < 0,05$). ME × TH, interacción entre ME-50® y *T. harzianum*. Fuente: Elaboración propia.

La inoculación con el consorcio ME incrementó el rendimiento del pepino (62%) y la habichuela (113%) y mostró diferencias significativas ($p < 0,0001$) en comparación con la inoculación con TH (Figura 4c, d). La coinoculación con +ME+TH reveló incrementos significativos en el rendimiento de 133, 84 y 40% en plantas de pepino, mientras que, los incrementos fueron de 138, 80 y 35% en la habichuela comparado con los tratamientos -ME-TH, -ME+TH y +ME-TH ($p < 0,0004$) (Figura 4c, d).

El estudio actual muestra que el aumento de los parámetros productivos en ambos cultivos, pudo estar influenciado porque el incremento de los indicadores morfológicos, como AP, AF, MST y MSH (Figuras 1 y 2). Existen evidencias que la coinoculación entre bacterias y hongos desempeñan un papel favorable en el crecimiento y rendimiento de las plantas, debido a la mejora en la adquisición de minerales y otras sustancias que estimulan el

desarrollo de las plantas (Paungfoo-Lonhienne *et al.*, 2019). Estos resultados apoyan la segunda hipótesis y están de acuerdo con los hallazgos reportados anteriormente en la literatura, que la coinoculación entre varias especies de microorganismos aumentan la productividad de las plantas (Keswani *et al.*, 2019).

Los resultados de esta investigación evidencian que, la coinoculación entre el bioestimulante ME-50® y *T. harzianum* impactó positivamente en la producción del pepino y la habichuela cultivados en condiciones de organoponía. Este incremento del rendimiento pudo estar debido a un mayor desarrollo de los parámetros morfológicos (Figuras 1 y 2) y productivos (Figuras 3 y 4a, b). Estos efectos positivos de la coinoculación entre el bioestimulante ME-50® y *T. harzianum* en el aumento del rendimiento agrícola fueron observados anteriormente en plantas de cebolla (Liriano *et al.*, 2015). Por tanto, los hallazgos de este estudio sugieren que la coinoculación entre el consorcio de ME-50® y *T. harzianum* son una estrategia eficiente y viable en la producción sostenible del pepino y la habichuela en condiciones de organoponía.

CONCLUSIONES

La utilización del bioestimulante ME-50® promueve mayores crecimientos y productividades en las plantas de pepino y habichuela comparado con la inoculación con *T. harzianum*, pero la inoculación con *T. harzianum* superó el crecimiento y rendimiento en ambos cultivos en comparación con la no utilización de bioestimulantes. Sin embargo, la coinoculación entre ME-50® y *T. harzianum*, promocionan el crecimiento, desarrollo y rendimiento de ambas especies cultivadas en condiciones de organoponía en comparación con la inoculación individual de ambos bioproductos. Colectivamente, los hallazgos de este estudio indican que la coinoculación con el consorcio microbiano a base de Microorganismos eficientes y *T.*

harzianum desempeñan un rol sinérgico en el crecimiento y la productividad de las plantas y pueden potenciar la producción ecológica y sostenible de alimentos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Sancti Spíritus “José Martí Pérez” (UNISS) por el apoyo incondicional a las investigaciones. También agradecen a la unidad “El Estadio” por la disponibilidad en el acompañamiento del trabajo en campo. Agradecen también a los revisores pares y a los editores de esta revista por sus comentarios, que ayudaron a mejorar este trabajo.

Conflictos de intereses

El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

Financiación

Este estudio fue financiado por la Universidad de Sancti Spíritus “José Martí Pérez (UNISS).

REFERENCIAS

- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S. y Enshasy, H. El. 2021. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. *Sustainability* 13(3): 1140. <https://doi.org/10.3390/su13031140>
- Calero Hurtado, A., Díaz, Y. P., Hurtado, Y. G.-P., Simón, L. A. Y., Calzada, K. P., Olivera-Viciedo, D. y Rodríguez, J. F. M. 2020a. Green bean agro-productive response to the application of leached vermicompost and efficient microorganisms. *Revista de la Facultad de Ciencias* 9(1): 112–124. <https://doi.org/10.15446/REV.FAC.CIENC.V9N1.82584>

- Calero Hurtado, A., Olivera Vicedo, D., Pérez Díaz, Y., Hurtado, Y. G.-P., Yáñez Simón, L. A. y Peña Calzada, K. 2020b.** Management of different planting densities and application of efficient microorganisms increase rice productivity. *IDESIA (Arica)* 38(2): 109–117. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292020000200109>
- Calero Hurtado, A., Pérez Díaz, Y., Olivera Vicedo, D., Quintero Rodríguez, E., Peña Calzada, K., Theodore Nedd, L. L. y Jiménez Hernández, J. 2019a.** Effect of different application forms of efficient microorganisms on the agricultural productive of two bean cultivars. *Revista de la Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 72(3): 8927–8935. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v72n3.76272>
- Calero Hurtado, A., Pérez, Y., Peña, K., Quintero, E. y Olivera, D. 2019b.** Efecto de tres bioestimulantes en el comportamiento morfológico y productivo del cultivo del rábano (*Raphanus sativus* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 36(1):54–73.
- Calero Hurtado, A., Quintero, E., Pérez, Y., González-Pardo, Y. y Lorenzo, T. N. 2019c.** Microorganismos eficientes y vermicompost lixiviado aumentan la producción de pepino. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 22(2): e1167. <https://doi.org/10.31910/RUDCA.V22.N2.2019.1167>
- Calero-Hurtado, A., Pérez-Díaz, Y., Rodríguez-Lorenzo, M. y Rodríguez-González, V. 2022.** Joint application of beneficial microorganisms consortium and FitoMas-E® increases the agricultural indicators of beans. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 25(1): e2252. <https://doi.org/10.31910/RUDCA.V25.N1.2022.2252>
- Calero Hurtado, A., Quintero Rodríguez, E., Pérez Díaz, Y., Jiménez Hernández, J. y Castro Lizazo, I. 2020c.** Association between AzoFert® and efficient microorganism potentiates the growth and productivity of beans. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 37(4): 387–409. [https://doi.org/10.47280/RevFacAgron\(LUZ\).v37.n4.04](https://doi.org/10.47280/RevFacAgron(LUZ).v37.n4.04)
- Carabeo, A., Jiménez, J., Gil, Z., Henderson, D., Adams, P. y Calero-Hurtado, A. 2022.** Taxonomic identification and diversity of effective soil microorganisms: towards a better understanding of this microbiome. *Agronomía Colombiana* 40(2): 278–292. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v40n2.101378>
- Cubilla-Ríos, A. A., Ruíz-Díaz-Mendoza, D. D., Romero-Rodríguez, M. C., Flores-Giubi, M. E. y Barúa-Chamorro, J. E. 2019.** Antibiosis de proteínas y metabolitos en especies de *Trichoderma* contra aislamientos paraguayos de *Macrophomina phaseolina*. *Agronomía Mesoamericana* 30(1): 63–77. <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.34423>
- Herrera-Parra, E., Cristóbal-Alejo, J., Zavala-León, M. J., Basto-Pool, C. I., Agrarios, T. y citar Herrera-Parra, C. 2023.** Hongos micorrícicos arbusculares y *Trichoderma* en *Capsicum annuum* disminuyen el daño inducido por *Meloidogyne incognita*. *Temas Agrarios*, 28(1): 37–45. <https://doi.org/10.21897/RTA.V28I1.3158>

- Henry, A. B., Maung, C. E. H. y Kim, K. Y. 2020.** Metagenomic analysis reveals enhanced biodiversity and composting efficiency of lignocellulosic waste by thermoacidophilic effective microorganism (tEM). *Journal of Environmental Management* 276: 111252. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111252>
- Hoseini, A., Salehi, A., Sayyed, R. Z., Baloushi, H., Moradi, A., Piri, R., Fazeli-Nasab, B., Poczai, P., Ansari, M. J., Obaid, S. Al y Datta, R. 2022.** Efficacy of biological agents and fillers seed coating in improving drought stress in anise. *Frontiers in Plant Science* 13: 955512. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2022.955512/BIBTEX>
- Jindo, K., Canellas, L. P., Albacete, A., Figueiredo, L., Luiz, R., Rocha, F. y Baia, D. C. 2020.** Interaction between Humic Substances and Plant Hormones for Phosphorous Acquisition. *Agronomy*, 10: 640. <https://doi.org/10.3390/agronomy10050640>
- Kemp, C. 1960.** Methods of estimating the leaf area of grasses from linear measurements. *Annals of Botany* 24(4): 491–499. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a083723>
- Keswani, C., Prakash, O., Bharti, N., Vilchez, J. I., Sansinenea, E., Lally, R. D., Borriss, R., Singh, S. P., Gupta, V. K., Fraceto, L. F., Lima, R. D. y Singh, H. B. 2019.** Re-addressing the biosafety issues of plant growth promoting rhizobacteria. *Science of the Total Environment* 690: 841–852. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.046>
- Liriano, R., Núñez, D., Hernández, L. y Castro, A. 2015.** Evaluación de microorganismos eficientes y *Trichoderma harzianum* en la producción de posturas de cebolla (*Allium cepa* L.). *Centro Agrícola* 42(2):25–32.
- Lizazo, I. C., Calero Hurtado, A., Rodríguez Hernández, M. G., Casas, A. P., Balmori, D. M. y Díaz, Y. P. 2022.** Potencialidades de dos bioestimulantes en la germinación y el crecimiento de las plántulas de tomate. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 23(1): e2343. https://doi.org/10.21930/rcta.vol23_num1_art:2343
- López, E., Calero, A., Gómez, Y., Gil, Z., Henderson, D. y Jiménez, J. 2017a.** Efecto agronómico del biosólido en cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*): control biológico de *Rhizoctonia solani*. *Cultivos Tropicales* 38(1):13–23.
- López, E., Unday, Z. G., Henderson, D., Calero, A. y Jiménez, J. 2017b.** Uso de efluente de planta de biogás y microorganismos eficientes como biofertilizantes en plantas de cebolla (*Allium cepa*, cv. Caribe-71). *Cultivos Tropicales* 38(4):7–14.
- Naik, K., Mishra, S., Srichandan, H., Singh, P. K. y Sarangi, P. K. 2019.** Plant growth promoting microbes: Potential link to sustainable agriculture and environment. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 21: 101326. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101326>
- Olivera, D., Leiva, L., Calero Hurtado, A. y Meléndrez, J. F. 2015.** Empleo de microorganismos nativos multipropósitos (MNM) en el comportamiento agro-productivo de cultivos hortícolas. *Agrotecnia de Cuba* 39(7):34–42.

- Paungfoo-Lonhienne, C., Redding, M., Pratt, C. y Wang, W. 2019.** Plant growth promoting rhizobacteria increase the efficiency of fertilisers while reducing nitrogen loss. *Journal of Environmental Management* 233: 337–341. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2018.12.052>
- Pérez, Y., Ayala, J. L. y Calero, A. 2014.** Applications the Trichobiol 34 PH in the control the nematodes in house cultivation. *Centro Agrícola* 41(3):43–45.
- Pérez, Y., Ayala, J. y Calero, A. 2013.** Bio-stimulant effects of two liquids formulated of *Trichoderma harzianum* Rifai A-34 in tomatoes in green house. *Centro Agrícola* 40(3):53–56.
- Raij, B. V., Andrade, J. C., Cantarella, H. y Quaggio, J. 2001.** Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. 2a ed. Instituto Agronômico, Campinas, São Paulo, Brasil, 285 pp.
- R Core Team. 2019.** “R: A language and environment for statistical computing, 2015.” (p. 4). <http://www.r-project.org/>
- Singh, A., Karmegam, N., Singh, G. S., Bhaduria, T., Chang, S. W., Awasthi, M. K., Sudhakar, S., Arunachalam, K. D., Biruntha, M. y Ravindran, B. 2020.** Earthworms and vermicompost: an eco-friendly approach for repaying nature’s debt. *Environmental Geochemistry and Health* 42: 1617–1642. <https://doi.org/10.1007/s10653-019-00510-4>
- Singh, P., Singh, R., Madhu, G. S. y Singh, V. P.(2022).** Seed biopriming with *Trichoderma harzianum* for growth promotion and drought tolerance in rice (*Oryza sativa*). *Agricultural Research* 12: 154–162. <https://doi.org/10.1007/s40003-022-00641-8>