



Actinomicetos Promueven Crecimiento en Plántulas de *Nicotiana tabacum* L. Actinomycetes Promote Growth in *Nicotiana tabacum* L. Seedlings

Milagro García-Bernal^{1,2} , Ricardo Medina-Marrero¹ , Leniel Cuevas-Hernández³,
Ubaldo Álvarez-Hernández³ , Carlos Michel Ojeda-Silvera² ,
Daulemys Batista-Sánchez² y José Manuel Mazón-Suástequi^{2†}

¹ Universidad Central de Las Villas, Centro de Bioactivos Químicos. ³ Facultad de Ciencias Agropecuarias. Carretera a Camajuaní km 5.5. 54830 Santa Clara, Villa Clara, Cuba; (M.G.B.), (R.M.M.), (L.C.H.), (U.A.H.).

² Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). Av. Instituto Politécnico Nacional no. 195. Colonia Playa Palo de Santa Rita Sur. 23096 La Paz, Baja California Sur, México; (M.G.B.), (C.M.O.S), (D.B.S), (J.M.M.S.).

† Autor para correspondencia: jamazon04@cibnor.mx

RESUMEN

Las bacterias que promueven crecimiento vegetal (BPCV) son una opción viable para la agricultura sostenible y una variante eco-amigable frente al uso excesivo de fertilizantes químicos y pesticidas. Microorganismos benéficos de este tipo, como las actinobacterias, tienen la capacidad de favorecer el crecimiento de las plantas. El estudio tiene como objetivo evaluar el potencial de dos cepas de actinomicetos *Streptomyces* sp. (EA2 y B8), como promotoras del crecimiento inicial de plántulas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) bajo condiciones controladas. Se evaluaron *in vitro* características benéficas como producción de ácido indolacético (IAA), fijación biológica de nitrógeno y solubilización de fosfatos. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con dos tratamientos de BPCV: T1 (*Streptomyces* sp. EA2 + B8); T2 (*Trichoderma harzianum*), y T3 (Agua destilada estéril) tratamiento control, con tres réplicas por tratamiento. Las variables de respuesta estudiadas *in vivo* fueron longitud de tallo (LT) y de raíz (LR), anchura (AH) y longitud (LH) de hoja, y biomasa fresca y seca de parte aérea y de raíz. Los resultados obtenidos revelan que las cepas EA2 y B8 poseen características de BPCV, tales como solubilización de fosfatos, producción de IAA y fijación biológica de nitrógeno. Las cepas del T1 (EA2 + B8) tuvieron un efecto positivo en los indicadores del crecimiento evaluados, superando al T2 (*T. harzianum*) y al tratamiento control (T3). Se confirma que la combinación de las cepas de *Streptomyces* sp (EA2 + B8) son una alternativa eficaz, segura, y eco-amigable, con potencial para disminuir la aplicación de agroquímicos en el cultivo del tabaco (*N. tabacum* L.).



Cita recomendada:

García-Bernal, M., Medina-Marrero, R., Cuevas-Hernández, L., Álvarez-Hernández, U., Ojeda-Silvera, C. M., Batista-Sánchez, D., & Mazón-Suástequi, J. M. (2025). Actinomicetos Promueven Crecimiento en Plántulas de *Nicotiana tabacum* L. *Terra Latinoamericana*, 43, 1-11. e1981. <https://doi.org/10.28940/terra.v43i.1981>

Recibido: 11 de junio de 2024.

Aceptado: 8 de noviembre de 2024.

Artículo. Volumen 43.

Marzo de 2025.

Editor de Sección:
Dr. Fernando Abasolo Pacheco



Copyright: © 2025 by the authors.

Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY NC ND) License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Palabras clave: agricultura eco-amigable, cultivo de tabaco, *Streptomyces* spp.

SUMMARY

Plant growth promoting bacteria (PGPB) are a viable option for sustainable agriculture and an eco-friendly alternative to the excessive use of chemical fertilizers and pesticides. Beneficial microorganisms of this type, such as actinobacteria, have the ability to promote plant growth. The study aims to evaluate the potential of two strains of actinomycetes *Streptomyces* sp. (EA2 and B8), as promoters of the initial growth of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seedlings under controlled conditions. Beneficial characteristics such as indoleacetic acid (IAA) production, biological nitrogen fixation and phosphate solubilization were evaluated *in vitro*. A completely randomized experimental design was applied with two PGPB treatments: T1 (*Streptomyces* sp. EA2 + B8); T2 (*Trichoderma harzianum*), and T3 (Sterile distilled water) control treatment, with three replicates per treatment. The response variables

studied in vivo were stem length (TL) and root length (RL), leaf width (W) and length (LH), and fresh and dry biomass of shoot and root parts. The results obtained reveal that strains EA2 and B8 possess BPCV characteristics, such as phosphate solubilization, IAA production and biological nitrogen fixation. T1 strains (EA2 + B8) had a positive effect on the evaluated growth indicators, outperforming T2 (*T. harzianum*) and the control treatment (T3). It is confirmed that the combination of *Streptomyces* sp strains (EA2 + B8) is an effective, safe, and eco-friendly alternative, with the potential to reduce the application of agrochemicals in tobacco cultivation (*N. tabacum* L.).

Index words: Eco-friendly agriculture, tobacco cultivation, *Streptomyces* spp.

INTRODUCCIÓN

El tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), es una de las especies vegetales no comestible más cultivadas a nivel mundial de las que solo se comercializa su hoja (Calero-Hurtado, Quintero, Olivera, Peña y Pérez, 2019). Su cultivo aporta grandes beneficios económicos en países como Brasil, Argentina, República Dominicana, Cuba, Colombia y México, pero se cultiva ampliamente en América, Asia, Europa y África (Torrecilla, Pino, Franganillo y Duarte, 1999; Tovar, 2013). El tabaco cubano posee reconocimiento internacional por su calidad y es un recurso económicamente importante para Cuba y para otros países latinoamericanos en vías de desarrollo.

Para la República de Cuba este cultivo forma parte de los productos fundamentales de la cartera de exportación, por tal razón es primordial incrementar sus rendimientos bajo conceptos agroecológicos, donde el manejo integrado de plagas (MIP), los fertilizantes orgánicos, elaborados a partir microorganismos y restos vegetales y las sustancias estimulantes del crecimiento vegetal tienen gran valor (Cruz y González, 2008). En las últimas tres décadas han surgido innovaciones y avances tecnológicos enfocados a maximizar la eficiencia productiva de los sistemas agrícolas, incluyendo de manera muy relevante a la eliminación progresiva de agroquímicos sintéticos como fertilizantes y pesticidas peligrosos (Punia et al., 2020; Calvo, Nelson y Kloepfer, 2014).

En función de su fuente de origen, los bioestimulantes se clasifican en microbianos y no microbianos. La fuente microbiana incluye consorcios de hongos y bacterias, hongos micorrílicos arbusculares (HMA), productos fermentados, residuos orgánicos, etc., (Rouphael et al., 2015), que pueden provocar mayor crecimiento de las plantas, disminuyendo el uso de agroquímicos, son ecológicos y además de eso, son rentables (Pacholczak, Szydł, Jacygrad y Federowicz, 2012). Los bioestimulantes favorecen el desarrollo de los cultivos desde la germinación de la semilla hasta la nutrición integral de la planta, lo cual, aumenta su adaptabilidad a diversos tipos de estrés biótico y abiótico (Masondo, Kulkarni, Finnie y Van Staden, 2018).

Entre las bacterianas promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) se incluyen cepas diversas de los géneros *Enterobacter*, *Ochrobactrum*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Bacillus* y *Acinetobacter* (Dias et al., 2017; Zhao, Xu y Lai, 2018). Existen otras cepas benéficas de rizobacterias de los géneros *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Streptomyces*, que actúan eficazmente como agentes de biocontrol (Snapp, Price y Morton, 2008).

En los últimos años en la agricultura ha ganado interés las BPCV y en especial las del género *Streptomyces*, donde se incluyen bacterias Grampositivas, formadoras de micelio y con acción dual como estimuladoras del crecimiento y también como control biológico (Doumbou, Akimov, Côté, Charest y Beaulieu, 2001; Palaniyandi, Yang, Zhang y Suh, 2013) y que uno de sus mecanismos de acción responsables de tales efectos, es por la producción de determinadas moléculas (auxinas o sideróforos) (Sadeghi et al., 2012). Existen cepas de *Streptomyces* que pueden colonizar e incluso vivir como endófitos en la raíz de numerosos cultivos de gran importancia comercial, como la lechuga (Bonaldi et al., 2015), el maíz (Orole, Adejumo, Link y Voegele, 2023), el trigo (Colombo, et al., 2019) y el tomate (Cao, Qiu, You, Tan y Zhou, 2004). En estudios realizados por El-Tarabily (2008) se reportó efecto positivo en la germinación tras la aplicación de *Streptomyces* y en la producción de determinados metabolitos secundarios de importancia agrícola.

Existen otras evidencias del efecto positivo de los actinomicetos, ya que la aplicación profiláctica de algunas cepas ha mostrado tener un resultado positivo en *Phaseolus acutifolius* Gray y en *Phaseolus vulgaris*, revelando sus potencialidades para ser utilizadas como una opción de producción agroecológica (Arias-Díaz, 2015¹; García-Bernal et al., 2022; Díaz-Díaz et al., 2022; 2023).

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, se propuso como objetivo evaluar el potencial de dos cepas de actinomicetos *Streptomyces* sp. (EA2 y B8), como promotoras del crecimiento inicial de plántulas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) bajo condiciones controladas

¹ Arias-Díaz, J. R. (2015). Selección de cepas de actinomicetos biocontroladoras de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, con efecto estimulante en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias Agrícolas. Universidad Central de Las Villas, Santa Clara, Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de Estudio

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Bioactivos Químicos (LM-CBQ), localizado en la Universidad Central de Las Villas (Santa Clara, Cuba).

Selección de los Agentes Promotores del Crecimiento Vegetal

Las cepas de actinomicetos EA2 y B8, propiedad del LM-CBQ, pertenecen al género *Streptomyces* y fueron seleccionadas debido a su efectividad *in vitro* reportada por Díaz-Díaz et al. (2022), al ser productoras de enzimas proteolíticas, quitinolíticas y celulolíticas y potenciales agentes para biocontrol de patógenos como *Macrophomina phaseolina* y *Rhizoctonia solani*.

VARIABLES DE RESPUESTA PARA LA EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LAS CEPAS DE ACTINOMICETOS EA2 Y B8 COMO PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL

Para medir las propiedades estimuladoras del crecimiento de las cepas EA2 y B8, se determinó evaluar como variables de respuesta su capacidad para solubilizar fosfatos, fijar nitrógeno y producir ácido indolacético (AIA). Enseguida se describen las metodologías aplicadas.

ESTUDIO DE LA FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO

Para estudiar la fijación biológica de nitrógeno, se sembraron las cepas EA2 y B8 en placa de Petri por medio de la técnica de estriado en agar Ashby (Du et al., 2022), cuyos componentes por cada litro de medio elaborado son los siguientes: Manitol (20 g); agar-agar (15.0 g); KH_2PO_4 (1.0 g); MgSO_4 (0.2 g); NaCl (0.2 g); CaCl_2 (0.2 g) y FeSO_4 (0.005 g). Enseguida se incubaron las placas a 30 °C, y se observó durante 7 días su crecimiento (Du et al., 2022). Se consideraron como microorganismos con capacidad de crecimiento en ausencia de nitrógeno a aquellos que crecieron sobre este medio de cultivo.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATOS Y PRODUCCIÓN DE AIA

Para determinar la capacidad de las cepas EA2 y B8 para solubilizar fosfatos, se siguió la metodología de Misk y Franco (2011). Tomando como indicador efectivo a la prueba realizada, la presencia de halos de aclaramiento alrededor de las colonias (Nautiyal, 1999; Franco-Correa et al., 2010; Misk y Franco, 2011).

Para determinar la producción de AIA, se evaluó la absorbancia a 530 nm y se comprobó la concentración de AIA generada por cada cepa (por triplicado) comparando con una curva estándar (Nimnoimn, Pongsilp y Lumyong, 2010).

CAPACIDAD BIOESTIMULANTE DE CEPAS DE ACTINOMICETOS EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE *Nicotiana tabacum* L.

El experimento se realizó en el invernadero. Las condiciones de crecimiento se controlaron ambientalmente con un fotoperiodo de 16/8 h (día/noche), temperatura de 24±1 °C y humedad relativa de 70.8±5.07%. El estudio, correspondiente a la fase de semillero tuvo una duración de 45 días, utilizando como sustrato un suelo ferralítico amarillento, según (Hernández-Jiménez, Pérez, Bosch y Castro, 2015). Teniendo en cuenta las indicaciones del instructivo técnico para semilleros de tabaco, se realizaron las atenciones culturales (Minagri, 2012).

DISEÑO EXPERIMENTAL Y PREPARACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

Para el desarrollo experimental se aplicó un diseño completamente al azar, con una mezcla de actinomicetos T1 (*Streptomyces* sp. EA2 + B8); T2 (*Trichoderma harzianum*), y T3 (Agua destilada estéril) como tratamiento control, con tres réplicas por tratamiento de 15 semillas cada una.

Para preparar el inóculo de las cepas EA2 y B8 (*Streptomyces* sp.) utilizadas como tratamiento T1, se añadieron 20 µL de la suspensión original de esporas conservadas (LM-CBQ) a -20 °C en glicerol al 20% en tubos estériles de 15 mL con CTS y se incubaron a 30 °C durante 48 horas (Hamdali, Hafidi, Virolle y Ouhdouch, 2008). A continuación, los cultivos se transfirieron a matraces Erlenmeyer de 250 mL con 100 mL de CTS y se colocaron en un agitador orbital Gerhardt a 28 °C a una velocidad de 120 g durante 72 horas. Por último, el inóculo de cada cepa de actinomiceto se ajustó a 1×10^8 esporas mL⁻¹ utilizando un hemocitómetro (Díaz-Díaz et al., 2022).

Se incluyó como T2 la cepa *Trichoderma harzianum* A-34 perteneciente al Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV, La Habana, Cuba) como control positivo (Stefanova, de Villegas y Mena, 2014) con fines comparativos. El inóculo de *T. harzianum* A-34 se preparó en un matrás Erlenmeyer estéril con 100 mL de Caldo Papa Dextrosa (BioCen) inoculado con cinco discos de 10 mm de diámetro de medio sólido con micelio del hongo A-34, obtenidos de su cultivo previo. El inóculo para imbibición de las semillas se ajustó a 1×10^8 esporas mL⁻¹ (Díaz-Díaz et al., 2022).

Tratamiento de las Semillas

Las semillas botánicas de *Nicotiana tabacum* L. variedad H-2000, provenientes del Instituto de Investigaciones del Tabaco, Cuba; fueron sometidas a una prueba de germinación (ISTA, 2010) antes del experimento. Para la desinfección de las semillas se tuvo en cuenta la metodología descrita por García-Bernal et al. (2022). Luego fueron embebidas durante 30 minutos en los tratamientos experimentales: (T1) mezcla de las cepas de actinobacterias EA-2 y B-8 a una carga de 1×10^8 esporas mL⁻¹; (T2) cepa de *T. harzianum* A-34 a 1×10^8 esporas mL⁻¹, y (T3) agua destilada estéril como tratamiento control. Las semillas se sembraron en bandejas plásticas con 150 alveolos una semilla por alveolo con 30 g de sustrato con materia orgánica previamente esterilizada y se cultivaron en el invernadero del CBQ.

Variables Morfométricas

Transcurridos 45 días (final del experimento), se evaluó las siguientes variables, longitud de tallo y raíz (LT y LR) (cm), diámetro del tallo (mm), la anchura y longitud de la hoja (AH y LH) promedio de dos hojas centrales (cm), la biomasa fresca de raíz, tallo y hojas (BFR, BFt y BFH) (g), la biomasa seca de raíz, tallo y hojas (BSR, BST y BSH). Las determinaciones de biomasa se realizaron con apoyo de balanza analítica (Mettler Toledo®, modelo AG204 USA).

Análisis Estadístico

Mediante la prueba de Shapiro Wilk se verificaron los supuestos de normalidad. Para los datos que no siguieron distribución normal se procesaron mediante las pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis; así como la prueba de U de Mann Whitney. Se realizó un análisis estadístico de varianza ANOVA de clasificación simple y comparaciones múltiples de medias (Tukey HSD, $P \leq 0.05$). Los valores promedio se consideraron significativamente diferentes para todas las variables ($P \leq 0.05$), utilizando el programa Statistica versión 10.0 para Windows® (StatSoft, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para explorar el mecanismo potencial de las cepas EA2 y B8 en la actividad promotora del crecimiento vegetal, se analizaron tres características biológicas de las mismas, típicas de las BPCV.

Fijación Biológica del Nitrógeno

Las cepas EA2 y B8 de actinomicetos (*Streptomyces* sp.) crecieron en medio sin nitrógeno (Ashby), demostrando que estos microorganismos tienen capacidad para fijar el nitrógeno de la atmósfera (Figura 1A). En un estudio realizado por Moscol, Castro, Tuesta y Quispe (2020), se encontró que más del 85% de las cepas de actinomicetos de la rizosfera evaluadas tenían la capacidad de fijar nitrógeno, una tasa mucho mayor (33.3 y 68%) a las reportadas por Franco-Correa (2008²) y Salazar y Ordóñez (2013³) respectivamente, en los actinomicetos aislados por estos autores.

² Franco-Correa, M. (2008). Evaluación de caracteres PGPR en Actinomicetos e interacciones de estas rizobacterias con hongos formadores de micorrizas. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias, Universidad de Granada, Granada. España. Disponible en <https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/2110/17716093.pdf?sequence=1>

³ Salazar-Loaiza, A. M., & Ordóñez-Guerrero, C. A. (2013). Aislamiento e identificación de actinomicetos fijadores de nitrógeno en suelo del Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira. Tesis para obtener el grado de Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira. Colombia. Disponible en <https://hdl.handle.net/11059/3050>

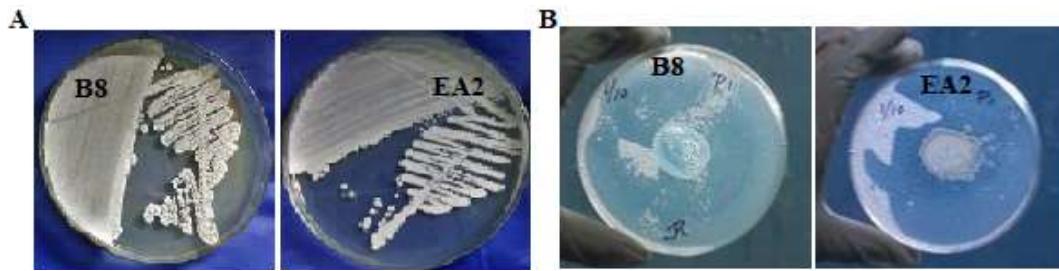


Figura 1. Evaluación de las cepas de actinomicetos en cuanto a rasgos clave relacionados con la promoción directa del crecimiento de las plantas. (A) Ensayo de actividad de fijación biológica del nitrógeno, (B) Ensayo cualitativo de solubilización de fosfato.

Figure 1. Evaluation of actinomycetes strains for key traits related to direct plant growth promotion. (A) Biological nitrogen fixation activity assay, (B) Qualitative phosphate solubilization assay.

Solubilización de Fosfatos

Durante el bioensayo se observó halos de solubilización de fosfato en las colonias, evidenciando dicha actividad zonas de aclaramiento en el medio de cultivo (Pikovskaya) (Figura 1B). El potencial de algunas bacterias de la rizosfera para realizar esta actividad permite considerarlas BPCV, especialmente cuando se encuentran en suelos con abundante fosfato precipitado, no disponible para las plantas (Sakure y Kshemkalyani, 2018). La cepa B8 presentó la mayor capacidad de solubilización, con halos de 84.5 mm con respecto a EA2 que mostró halos de 42.5 milímetros.

Entre los microorganismos con esta capacidad se encuentran las bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSF) que incluyen algunos géneros de actinomicetos. Se ha demostrado que algunas cepas de *Streptomyces*, *Micrococcus*, *Micromonospora* (Hamdali et al., 2008) y *Thermobifida* (Franco-Correa et al., 2010), pueden promover el crecimiento de las plantas mediante la solubilización de fosfato, haciendo posible su captación en el tejido radicular. Las BSF pueden tener vida libre en el suelo o establecer simbiosis con algunas plantas, adaptarse, colonizar y persistir en la rizósfera, favoreciendo su desarrollo y crecimiento asociado a la solubilización de fosfato inorgánico, incluyendo fosfato bicálcico y tricálcico, y otros derivados de roca fosfórica (Patiño-Torres, 2010⁴).

La aplicación de BPCV permite mejorar la eficiencia de los cultivos comerciales. Por citar un ejemplo, Yu et al. (2022) demostraron que mediante la aplicación de *Pseudomonas* sp. JP233, una bacteria solubilizadora de fosfato, se pudo mejorar la absorción de este nutriente en plantas de maíz, sin aumentar la lixiviación de fósforo. Los estudios realizados indican que las cepas estudiadas (B8 y EA2) contribuyen a la solubilización de fosfato aumentando la disponibilidad de fosfato soluble, de vital importancia para el crecimiento y productividad vegetal (Balakrishna, Shiva y Pindi, 2012) y parte esencial de numerosos procesos fisiológicos básicos en el metabolismo vegetal, como la biosíntesis de glucidos, lípidos, clorofillas y carotenoides, la glucólisis y el metabolismo de los ácidos orgánicos (Estrada-Ortiz, Trejo, Gómez, Núñez y Sandoval, 2011). El fosfato soluble también fortalece el sistema radicular, favoreciendo la extensión y ramificación lateral de las raíces (Rubio, 2002); promueve la división celular y por lo tanto aumenta el vigor y crecimiento de las plantas (Razaq, Zhang, Shen y Salahuddin, 2017; Malhotra, Vandana, Harma y Pandey, 2018).

Una vez expuesto lo anterior, es importante destacar los resultados obtenidos durante la presente investigación (Cuadro 1), ya que se registraron altos valores de solubilización del fosfato para las cepas de *Streptomyces* sp. evaluadas (B8 y EA2). En contraparte, los valores reportados por Rico-Gallegos (2009⁵) para 45 cepas de actinomicetos son inferiores, ya que solo el 11% de las cepas formaron halos de aclaramiento con un diámetro variable (13 a 35 mm), correspondiendo el valor superior (35 mm) a la cepa A1-45/08.

Ácido Indolacético (AIA)

La producción de AIA por las cepas estudiadas (B8 y EA2), se cuantificó utilizando el reactivo de Salkowsky a 530 nm de absorbancia; se desarrolló una regresión a partir los datos de absorbancia y concentración y se determinó la ecuación de una recta que mostró un coeficiente R²= 0.9839 (Figura 2). Con base en este procedimiento se consideró una dispersión apropiada de los valores registrados, por lo que se empleó dicha ecuación para calcular la concentración de AIA correspondiente a cada cepa.

⁴ Patiño-Torres, C. O. (2010). Solubilización de fosfatos por poblaciones bacterianas aisladas de un suelo del Valle del cauca. Estudio de biodiversidad y eficiencia. Tesis para obtener el grado de doctor en ciencias. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Disponible en <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/7293>

⁵ Rico-Gallegos, M. A. (2009). Capacidad promotora de crecimiento vegetal por bacterias del género Azotobacter y Actinomicetos aislados de cultivos de *Solanum tuberosum Linnaeus*, 1753 (*Papa*) cultivados en zonas altoandinas del Perú. Tesis para optar al título profesional de Biólogo. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Disponible en <https://hdl.handle.net/20.500.12672/875>

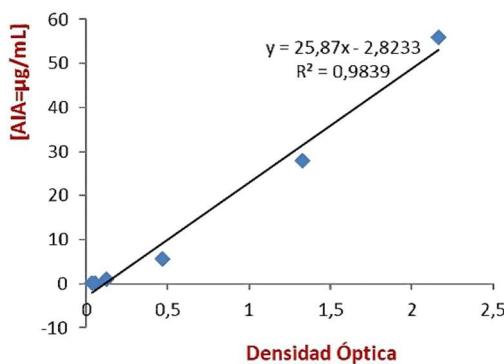


Figura 2. Determinación de la curva estándar de Ácido Indolacético.
Figure 2. Determination of the Indol Acetic Acid standard curve.

En la presente investigación, las cepas EA2 y B8 fueron capaces de producir AIA a concentraciones de 8.31 y 4.15 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente (Cuadro 1). La producción de fitohormonas como la auxina (AIA) tiene un papel importante en la estimulación del desarrollo radicular, ya que actúan como moléculas señalizadoras implicadas en la producción de metabolitos secundarios y la esporulación de actinobacterias (Duca, Lorr, Patten, Rose y Glick, 2014; Lasudee, Tokuyama, Lumyong y Pathom-Aree, 2018).

Las cepas evaluadas fijaron nitrógeno, solubilizaron fosfato y sintetizaron indoles, mostrando tener efectos positivos en el crecimiento y desarrollo vegetal. Estas características son indispensables para que un microorganismo se considere BPCV (Banerjee, Palit, Sengupta y Standing, 2010)

Capacidad Bioestimulante de las Cepas EA2 + B8 en el Crecimiento de *Nicotiana tabacum* L.

Mediante la aplicación del tratamiento T1 (EA2 + B8) se obtuvieron los valores más altos y significativos para LT (3.18 cm) y LR (7.82 cm) de las plántulas de tabaco estudiadas. En los grupos de plántulas que recibieron T2 (*T. harzianum* y el control T3 (Agua destilada estéril), se observaron los valores significativos más bajos en longitud de tallo (1.46 cm y 1.14 cm, respectivamente), (Figura 3). Las plantas tratadas con T1 (EA2 + B8) tuvieron un mejor comportamiento en ambos parámetros (longitud de tallo y de raíz), respecto a los tratamientos T2 y T3.

Nuestros resultados coinciden con Balakrishnan, Thirumalairaj, Radhakrishnan, Gopikrishnan y Balagurunathan (2021), quienes aplicaron actinobacterias en plantas de frijol mungo (*Vigna radiata*), y observaron que mejoraron significativamente la AP y LR; con respecto al grupo control no tratado. El-Sayed, Kobisi, Elsehemy y El-Sakhawy (2023) reportaron que la aplicación de *Nocardiopsis alba* BH35 favoreció el crecimiento vegetal de *Vicia faba* en condiciones de invernadero, lo cual se evidenció mediante el aumento de la LR y los brotes de las plantas tratadas, versus el tratamiento control.

Cuadro 1. Producción de AIA por las cepas de actinomicetos evaluadas.
Table 1. AIA production by the actinomycete strains evaluated.

Cepa	Ácido Indolacético	
	Medias reales $\mu\text{g mL}^{-1}$	Error estándar
B8	4.150 b	± 0.90
EA2	8.310 a	± 1.42

Medias con letras desiguales en una misma columna denotan diferencias significativas según prueba HSD Tukey para $P < 0.05$.

Means with unequal letters in the same column denote significant differences according to the HSD Tukey test for $P < 0.05$.

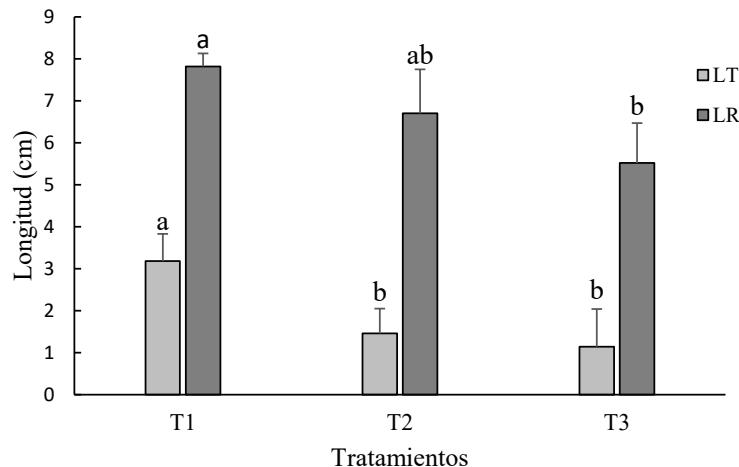


Figura 3. Efecto de las cepas de actinomicetos y *T. harzianum* en la longitud de tallo y raíz de *Nicotiana tabacum* L. T1 = *Streptomyces* sp. EA2 + B8; T2 = *Trichoderma harzianum*; T3 = agua destilada estéril. LT = longitud de tallo; LR = longitud de raíz. Letras distintas muestran diferencia estadística significativa ($P < 0.05$).

Figure 3. Effect of actinomycetes and *T. harzianum* strains on stem and root length of *Nicotiana tabacum* L. T1 = *Streptomyces* sp. EA2 + B8; T2 = *Trichoderma harzianum*; T3 = sterile distilled water. LT = stem length; LR = root length. Different letters show significant statistical difference ($P < 0.05$).

Los tratamientos T1 (EA2 + B8) y T2 (*Trichoderma harzianum*) aumentaron significativamente ($P < 0.05$) la anchura (AH) y longitud (LH) promedio de las hojas centrales en las plántulas de tabaco (*N. tabacum* L.) tratadas, con respecto al tratamiento control T3 (Agua destilada). Al concluir la investigación, los valores promedio obtenidos fueron de 4.67 cm (AH) y 8.52 cm (LH) para el grupo T1 y de 4.38 cm (AH) y 8.64 cm (LH) para el grupo T2 con respecto al grupo control T3 cuyos valores promedio de AH (2.99 cm) y LH (6.37 cm) fueron significativamente menores (Figura 4).

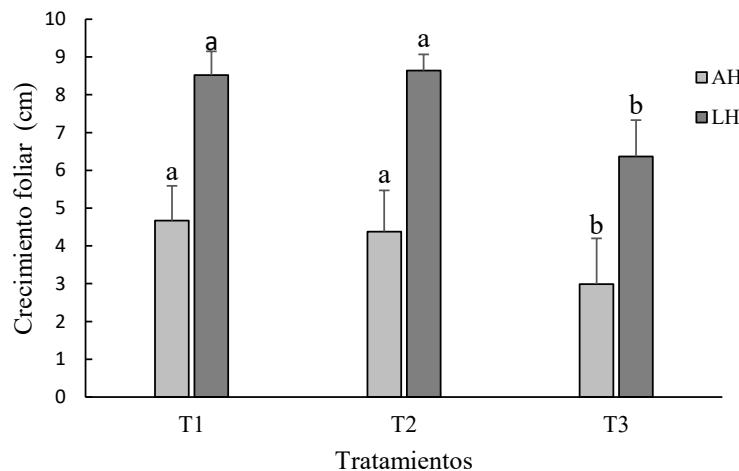


Figura 4. Efecto de las cepas (EA2 y B8) de actinomicetos (*Streptomyces* sp.) y *T. harzianum* en el crecimiento foliar de tabaco *Nicotiana tabacum* L. T1 = *Streptomyces* sp. EA2 + B8; T2 = *Trichoderma harzianum*; T3 = agua destilada estéril. AH = anchura de hoja; LH = longitud de hoja. Letras distintas muestran diferencia estadística significativa ($P < 0.05$).

Figure 4. Effect of strains (EA2 and B8) of actinomycetes (*Streptomyces* sp.) and *T. harzianum* on leaf growth of tobacco *Nicotiana tabacum* L. T1 = *Streptomyces* sp. EA2 + B8; T2 = *Trichoderma harzianum*; T3 = sterile distilled water. AH = leaf width; LH = leaf length. Different letters show significant statistical difference ($P < 0.05$).

Al respecto, Calero-Hurtado *et al.* (2019) reportaron que la combinación de dos bioestimulantes (ME-50 + Biobras-16[®]) aumentó los valores promedio de AH y LH en plantas de la variedad de tabaco negro "Sancti Spíritus 2006". Estos hallazgos concuerdan con estudios previos que describen un efecto significativo de las BPCV en los parámetros de crecimiento de varios cultivos agrícolas de gran importancia comercial, como trigo (Majeed, Abbasi, Hameed, Imran y Rahim, 2015), maíz (Araújo *et al.*, 2023) y tomate (Gashash *et al.*, 2022); entre otros.

La producción de biomasa en las plántulas de tabaco que fueron tratadas con las cepas EA2 y B8 (T1) presentaron diferencia significativa ($P < 0.05$) en BFR y en BSPA, con respecto a las plántulas tratadas con *T. harzianum* (T2) y a las no tratadas del grupo control (T3) (Cuadro 2).

Estos resultados sugieren que las raíces de las plantas tratadas con las cepas EA2 y B8 de *Streptomyces* sp. (T1) pudieron absorber más fósforo soluble del suelo hacia los tejidos vegetales, y puede explicarse como consecuencia de una mayor disponibilidad del mismo, relacionada con una pérdida de fósforo por lixiviado y aumentos significativos concomitantes en la biomasa vegetal. En un estudio realizado por Yu *et al.* (2022) en plantas de maíz, al inocular la cepa JP233 de *Pseudomonas* sp., aumentó significativamente la biomasa de los componentes aéreos del maíz y de las plantas enteras. Estos autores llegaron a la conclusión de que la cepa JP233 mostró un significativo efecto promotor del crecimiento.

García-Bernal *et al.* (2022) estudiaron otra cepa de actinobacteria (RL8 de *Streptomyces* sp.) y su capacidad bioestimuladora del crecimiento de *Phaseolus acutifolius* Gray en ambiente controlado. Los autores observaron respuestas positivas en los grupos tratados versus el grupo control en producción de biomasa, y sugieren utilizarla como una alternativa ecoamigable para optimizar el cultivo de frijol.

Los hallazgos antes descritos tienen como fundamento el hecho de que las actinobacterias facilitan directamente el crecimiento de las plantas liberando metabolitos secundarios benéficos como antibióticos, sideróforos y fitohormonas (Pandey, Chandra, Srivastava, Kumar y Kumar, 2018) y haciendo disponibles nutrientes biológicos como P y N, que son preferibles a los agroquímicos que pueden causar graves daños medioambientales y además son caros (Tanvir, Sheikh y Javeed, 2019). Las actinobacterias también influyen indirectamente en el crecimiento vegetal, minimizando los efectos nocivos asociados a microorganismos patógenos a través de la producción de compuestos antagonistas (Mitra *et al.*, 2022). Por otro lado, los microorganismos productores de proteasas y celulasas desempeñan un rol crucial en la descomposición de la materia orgánica y la mineralización de nutriente, como coadyuvantes y promotores del crecimiento de las plantas. Al respecto, Díaz-Díaz *et al.* 2022 destacaron la producción de enzimas proteolíticas, quitinolíticas y celulolíticas por las cepas EA2 y B8.

Cuadro 2. Efecto de las cepas EA2 y B8 en la producción de biomasa de plántulas de Nicotiana tabacum L.
Table 2. Effect of strains EA2 and B8 on biomass production of Nicotiana tabacum L. seedlings.

Tratamientos	BFR	BFPA	BSR	BSPA
----- g -----				
T1	0.28±0.15 a	2.24±0.04	0.02±0.02	0.17±0.05 a
T2	0.11±0.14 b	2.21±0.08	0.02±0.02	0.14±0.02 b
T3	0.09±0.13 b	1.18±0.07	0.01±0.03	0.14±0.03 b

T1 (*Streptomyces* sp. EA2 + B8); T2 (*Trichoderma harzianum*), y T3 (Agua destilada estéril). BFR = biomasa fresca de la raíz; BFPA = biomasa fresca de la parte aérea; BSR = biomasa seca de la raíz; BSPA = biomasa seca de la parte aérea. Valores expresados como media±desviación estándar; medias con diferentes letras en la columna difieren significativamente ($P < 0.05$).

T1 (*Streptomyces* sp. EA2 + B8); T2 (*Trichoderma harzianum*), and T3 (Sterile distilled water). BFR = fresh root biomass; BFPA = fresh shoot biomass; BSR = dry root biomass; BSPA = dry shoot biomass. Values are expressed as mean ± standard deviation; means with different letters in the column differ significantly ($P < 0.05$).

CONCLUSIONES

Esta investigación aporta evidencia experimental de que las cepas de actinomicetos EA2 y B8 de *Streptomyces* sp. tienen características propias de las bacterias que promueven crecimiento vegetal, tales como solubilización de fosfatos, producción de AIA y fijación biológica de nitrógeno. Los resultados *in-vitro* obtenidos en ambiente controlado (Laboratorio) y los obtenidos *in-vivo* en ambiente productivo (Invernadero) en plántulas de tabaco, sugieren potenciales e importantes beneficios productivos derivados de su aplicación agrícola. Se considera que estas cepas de *Streptomyces* sp. son BPCV y que tienen potencial como alternativa natural y biosegura para optimizar el cultivo de *Nicotiana tabacum* L. en semilleros, reduciendo la demanda de agroquímicos cuyo uso excesivo puede tener efectos nocivos.

DECLARACIÓN DE ÉTICA

No aplicable.

CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

DISPONIBILIDAD DE DATOS

No aplicable.

CONFLICTO DE INTERESES

No aplicable.

FINANCIACIÓN

El estudio fue financiado por el Proyecto Sectorial de Ciencia, Tecnología e Innovación "Salud Animal y Vegetal" (PSSAV) 2024-2026, Cuba, titulado "Desarrollo de un novedoso agente bioestimulante para el crecimiento de plántulas de *Nicotiana tabacum* L." en semilleros, código PS223my003-139, bajo la responsabilidad académica de RMM. Se agradece el apoyo del personal técnico del CBO: Marlen Casanova González.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización, metodología e Investigación: R.M.M., M.G.B. y L.C.H. Análisis de datos: M.G.B., R.M.M. y L.C.H. Escritura, revisión y edición: M.G.B., R.M.M., U.A.H., C.M.O.S., D.B.S. y J.M.M.S.

AGRADECIMIENTOS

No aplicable.

LITERATURA CITADA

- Araújo, V. L. V. P., Fracetto, G. G. M., Silva, A. M. M., de Araujo-Pereira, A. P., Freitas, C. C. G., do Rêgo-Barros, F. M., ... & Cardoso, E. J. B. N. (2023). Potential of growth-promoting bacteria in maize (*Zea mays* L.) varies according to soil moisture. *Microbiological Research*, 271, 127352. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127352>
- Balakrishna, G., Shiva-Shanker, A., & Pindi, P. K. (2012). Isolation of Phosphate Solubilizing Actinomycetes from Forest Soils of Mahabubnagar District, IOSR. *Journal of Pharmacy*, 2(2), 271-275.
- Balakrishnan, K., Thirumalairaj, J., Radhakrishnan, M., Gopikrishnan, V., & Balagurunathan, R. (2021). Phosphate solubilization and plant growth promoting actinobacteria from rhizosphere soil. *Indian Journal of Agricultural Research*, 55(1), 87-92.
- Bonaldi, M., Chen, X., Kunova, A., Pizzatti, C., Saracchi, M., & Cortesi, P. (2015). Colonization of lettuce rhizosphere and roots by tagged *Streptomyces*. *Frontiers in Microbiology*, 25, 2-10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00025>
- Banerjee, S., Palit, R., Sengupta, C., & Standing, D. (2010). Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. isolated from tomato rhizosphere. *Australian Journal of Crop Science*, 4(6), 378-383.

- Calero-Hurtado, A., Quintero-Rodríguez, E., Olivera-Vicedo, D., Peña-Calzada, K., & Pérez-Díaz, Y. (2019). Influencia de dos bioestimulantes en el comportamiento agrícola del cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). *Revista de la Facultad de Ciencias*, 8(1), 31-44. <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v8n1.73546>
- Calvo, P., Nelson, L., & Kloepfer, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil*, 383, 3-41. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>
- Cao, L., Qiu, Z., You, J., Tan, H., & Zhou, S. (2004). Isolation and characterization of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots. *Letters in Applied Microbiology*, 39(5), 425-30. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01606.x>
- Colombo, E. M., Kunova, A., Pizzatti, C., Saracchi, M., Cortesi, P., & Pasquali, M. (2019). Selection of an endophytic *Streptomyces* sp. strain DEF09 from wheat roots as a biocontrol agent against *Fusarium graminearum*. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2356. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02356>
- Cruz, F., & González, N. (2008). Influencia de las aplicaciones del Bion y algunos bioestimulantes en la incidencia de organismos plagas en el tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). *Revista Electrónica Granma Ciencia*, 12(2), 1-7.
- Dias, M. P., Bastos, M. S., Xavier, V. B., Cassel, E., Astarita, L. V., & Santarém, E. R. (2017). Plant growth and resistance promoted by *Streptomyces* spp. in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 479-493. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.07.017>
- Díaz-Díaz, M., Bernal-Cabrera, A., Trapero, A., González, A. J., Medina-Marrero, R., Cupull-Santana, R. D., ... & Agustí-Brisach, C. (2023). Biocontrol of root rot complex disease of *Phaseolus vulgaris* by *Streptomyces* sp. strains in the field. *Crop Protection*, 165, 106164. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2022.106164>
- Díaz-Díaz, M., Bernal-Cabrera, A., Trapero, A., Medina-Marrero, R., Sifontes-Rodríguez, S., Cupull-Santana, R. D., ... & Agustí-Brisach, C. (2022). Characterization of Actinobacterial Strains as Potential Biocontrol Agents against *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani*, the Main Soil-Borne Pathogens of *Phaseolus vulgaris* in Cuba. *Plants*, 11, 645. <https://doi.org/10.3390/plants11050645>
- Doumbou, C. L., Akimov, V., Côté, M., Charest, P. M., & Beaulieu, C. (2001). Taxonomic study on nonpathogenic streptomycetes isolated from common scab lesions on potato tubers. *Systematic and Applied Microbiology*, 24(3), 451-456. <https://doi.org/10.1078/0723-2020-00051>
- Du, Y., Wang, T., Jiang, J., Wang, Y., Lv, C., Sun, K., ... & Huang, L. (2022). Biological control and plant growth promotion properties of *Streptomyces albidoflavus* St-220 isolated from *Salvia miltiorrhiza* rhizosphere. *Frontiers in Plant Science*, 13, 976813. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.976813>
- Duca, D., Lorr, J., Patten, C. L., Rose, D., & Glick, B. R. (2014). Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie Leeuwenhoek*, 106(1), 85-125. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-0095-y>
- El-Sayed, M. H., Kobisi, A. E. N. A., Elsehemy, I. A., & El-Sakhawy, M. A. (2023). Rhizospheric-derived *Nocardiopsis alba* BH35 as an effective biocontrol agent actinobacterium with antifungal and plant growth-promoting effects: In vitro studies. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(5), 607.
- El-Tarabily, K. A. (2008). Promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing streptomycete actinomycetes. *Plant and Soil*, 308, 161-174. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9616-2>
- Estrada-Ortiz, E., Trejo-Téllez, L. I., Gómez-Merino, F. C., Núñez-Escobar, R., & Sandoval-Villa, M. (2011). Respuestas bioquímicas en fresa al suministro de fósforo en forma de fosfito. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17(3), 129-138.
- Franco-Correa, M., Quintana, A., Duque, C., Suárez, C., Rodríguez, M. X., & Barea, J. M. (2010). Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. *Applied Soil Ecology*, 45(3), 209-217. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.04.007>
- García-Bernal, M., Medina-Marrero, R., Abasolo-Pacheco, F., Ojeda-Silvera, C. M., Arcos-Ortega, G. F., & Mazón-Suástequi, J. M. (2022). Efecto antifúngico de la cepa de *Streptomyces* sp. RL8 y su acción promotora en la germinación y crecimiento inicial del frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius* Gray). *Terra Latinoamericana*, 40, 1-12. <https://doi.org/10.28940/terra.v40i0.1067>
- Gashash, E. A., Osman, N. A., Alsahl, A. A., Hewait, H. M., Ashmawi, A. E., Alshallash, K. S., ... & Ibrahim, M. F. M. (2022). Effects of Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Cyanobacteria on Botanical Characteristics of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Plants. *Plants*, 11, 2732. <https://doi.org/10.3390/plants11202732>
- Hamdali, H., Hafidi, M., Virolle, M. J., & Ouhdouch, Y. (2008). Growth promotion and protection against damping-off of wheat by two rock phosphate solubilizing actinomycetes in a P-deficient soil under greenhouse conditions. *Applied Soil Ecology*, 40(3), 510-517. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2008.08.001>
- Hernández-Jiménez, A., Pérez-Jiménez, J. M., Bosch-Infante, D., & Castro-Speck, N. (2019). The soil classification of Cuba: emphasis in the 2015 version. *Cultivos Tropicales*, 40(1), 1-31.
- ISTA (International Seed Testing Association). (2010). Rules proposals for the International Rules for Seed Testing 2010 Edition. OM Rules Proposals for the International Rules for Seed Testing 2010 Edition.doc. Approved by ECOM Decision. No.498. Bassersdorf, Switzerland: ISTA.
- Lasudee, K., Tokuyama, S., Lumyong, S., & Pathom-Aree, W. (2018). Actinobacteria Associated with arbuscular mycorrhizal *Funneliformis mosseae* spores, taxonomic characterization and their beneficial traits to plants: Evidence obtained from mung bean (*Vigna radiata*) and Thai Jasmine Rice (*Oryza sativa*). *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01247>
- Majeed, A., Abbasi, M. K., Hameed, S., Imran, A., & Rahim, N. (2015). Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion. *Frontiers in Microbiology*, 6, 198. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00198>
- Malhotra, H., Vandana, Sharma, S., & Pandey, R. (2018). "Phosphorus Nutrition: plant growth in response to deficiency and excess" in Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance. In M. Hasanuzzaman, M. Fujita, H. Oku, K. Nahar, & B. Hawrylak-Nowak (Eds.). *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance* (pp. 171-190). Singapore: Springer. http://dx.doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8_7
- Masondo, N. A., Kulkarni, M. G., Finnie, J. F., & Van Staden, J. (2018). Influence of biostimulants-seed-priming on *Ceratotheca triloba* germination and seedling growth under low temperatures, low osmotic potential and salinity stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147, 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.08.017>
- Minagri (2012). *Instructivo Técnico para semilleros de Tabaco*. La Habana, Cuba: Ministerio de la Agricultura.
- Misk, A., & Franco, C. (2011). Biocontrol of chickpea root rot using endophytic actinobacteria. *BioControl*, 56(5), 811-822. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9352-z>
- Mitra, D., Mondal, R., Khoshru, B., Senapati, A., Radha, T. K., Mahakur, B., ... & Mohapatra, P. K. D. (2022). Actinobacteria-enhanced plant growth, nutrient acquisition, and crop protection: Advances in soil, plant, and microbial multifactorial interactions. *Pedosphere*, 32(1), 149-170. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(21\)60042-5](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60042-5)
- Moscol, J. C., Castro, J. C., Tuesta, C. M., & Quispe, J. L. (2020). *In vitro* assessment of plant growth-promoting potential of rhizosphere actinomycetes from *Solanum tuberosum* sp. andigena. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 391-398. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.11>

- Nautiyal, S. C. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganism. *FEMS Microbiology Letters*, 170, 265-275. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
- Nimnoimn, P., Pongsilp, N., & Lumyong, S. (2010). Endophytic actinomycetes isolated from Aquilaria crassna Pierre ex Lec and screening of plant growth promoters production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(2), 193-203. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0159-3>
- Orole, O. O., Adejumo, T. O., Link, T., & Voegeli, R. T. (2023). Molecular identification of endophytes from maize roots and their biocontrol potential against toxigenic fungi of Nigerian maize. *Science Progress*, 106(3), 1-14. <https://doi.org/10.1177/00368504231186514>
- Pacholczak, A., Szydło, W., Jacygrad, E., & Federowicz, M. (2012). Effect of auxins and the biostimulator Algaminoplant on rhizogenesis in stem cuttings of two dogwood cultivars (*Cornus alba* 'Aurea' and 'Elegantissima'). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 11, 93-103.
- Palaniyandi, S. A., Yang, S. H., Zhang, L., & Suh, J. W. (2013). Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(22), 9621-9636. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5206-1>
- Pandey, A., Chandra, N., Srivastava, A., Kumar, D., & Kumar, S. (2018). Antimicrobial Metabolites Producing Soil Microorganisms: An update. *Indian Journal of Applied Microbiology*, 21(1), 46-57.
- Punia, H., Tokas, J., Malik, A., Sangwan, S., Baloda, S., Singh, N., ... & Mor, V. S. (2020). Identification and detection of bioactive peptides in milk and dairy products: Remarks about agro-foods. *Molecules*, 25, 3328. <https://doi.org/10.3390/molecules25153328>
- Razaq, M., Zhang, P., Shen, H. L., & Salahuddin. (2017). Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of Acer mono. *PLoS One*, 12, e0171321. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171321>
- Rouphael, Y., Franken, P., Schneider, C., Schwarz, D., Giovannetti, M., Agnolucci, M., ... & Colla, G. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 196, 91-108. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.002>
- Rubio, R. (2002). Conectando el fósforo del suelo con la planta. *Informaciones Agronómicas del Cono Sur*, 16, 19-24.
- Sadeghi, A., Karimi, E., Dahaji, P. A., Javid, M. G., Dalvand, Y., & Askari, H. (2012). Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of Streptomyces under saline soil conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 1503-1509. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0952-7>
- Sakure, S. S., & Kshemkalyani, S. B. (2018). Screening of actinomycetes for phosphate solubilization and their effect on plant growth. *International Journal of Recent Scientific Research*, 9(1), 23000-23005.
- Snapp, S., Price, R., & Morton, M. (2008). Seed priming of winter annual cover crops improves germination and emergence. *Agronomy Journal*, 100(5), 1506-1510. <https://doi.org/10.2134/agronj2008.0045N>
- Statsoft (2011). *STATISTICA User's Guide. Version 8*. Possmoorweg, Hamburg, Germany: StatSoft Europe.
- Stefanova, M., de Villegas, M. E. D., & Mena, J. (2014). Control biológico de enfermedades de plantas en Cuba. En W. Bettoli, M. C. Rivera, P. Mondino, J. R. Montealegre, & Y. C. Colmenarez (Eds.). *Control Biológico de Enfermedades de Plantas en América Latina y el Caribe* (pp. 201-204). Montevideo, Uruguay: Facultad de Agronomía-Universidad de la República. ISBN: 978-9974-0-1091-8.
- Tanvir, R., Sheikh, A. A., & Javeed, A. (2019). Endophytic actinomycetes in the biosynthesis of bioactive metabolites: chemical diversity and the role of medicinal plants. *Studies in Natural Products Chemistry*, 60, 399-424. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64181-6.00011-5>
- Torrecillas, G., Pino, L. A., Franganillo, D., & Duarte, A. (1999). Manejo y situación actual de los recursos del tabaco en Cuba, Cubatabaco. *Ciencia y Técnica (Cuba)*, 1(1), 20-24.
- Tovar, J. (2013). *El cultivo del tabaco en América Latina*. Colombia: CEDE. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.161363>
- Yu, H., Wu, X., Zhang, G., Zhou, F., Harvey, P. R., Wang, L., ... & Zhang, X. (2022). Identification of the Phosphorus-Solubilizing Bacteria Strain JP233 and Its Effects on Soil Phosphorus Leaching Loss and Crop Growth. *Frontiers in Microbiology*, 13, 892533. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.892533>
- Zhao, L., Xu, Y., & Lai, X. (2018). Antagonistic endophytic bacteria associated with nodules of soybean (*Glycine max* L.) and plant growth-promoting properties. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(2), 69-278.