

VALIDACIÓN AGRONÓMICA DEL BIOBAC® EN EL CULTIVO DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) EN CONDICIONES DE AGRICULTURA ORGÁNICA.

Ing. Aniuska López Martínez
alopez@isch.edu.cu

MSc. Ing. Lázaro Izquierdo Damas
ldamas@isch.edu.cu

MSc. Lic. Aida Nieve Rodríguez Ruiz
aidita@isch.edu.cu

Universidad Agraria de la Habana
"Fructuoso Rodríguez Pérez"

RESUMEN

El uso de productos biológicos beneficiosos para los cultivos agrícolas, en condiciones de organopónico, constituye una tarea primordial para la agricultura urbana, que garantiza una producción sostenible de alimentos más sanos. Evaluar en condiciones de organoponía, la efectividad del biopreparado bacteriano BIOBAC®, obtenido a partir de la cepa Bs INIFAT -101 de *Bacillus subtilis*, como antagonista y estimulador del crecimiento vegetal en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ha constituido el objetivo fundamental de este trabajo. Este bioproducto demostró actividad antagonista y estimuladora del crecimiento vegetal, en plántulas de tomate (variedad INIFAT- 28), donde se destacó la dosis de 0.37 mL/alveolo en condiciones controladas que logró incrementos entre 14 y 61% en los diferentes componentes del crecimiento y en un segundo experimento se destacaron las dosis de 0,4 y 0,6 mL/alveolo, incrementando los componentes del crecimiento estudiados entre 12 y 36 %. En condiciones de organoponía se demostró, en el cultivo de tomate (variedad Placero H), el efecto positivo del BIOBAC® en dos momentos de aplicación (0.5 mL/alveolo en la siembra y 0.5 mL/m² en el trasplante), con un incremento del rendimiento de 45,3 %, y una reducción de 59 % del Tizón temprano causado por *Alternaria solani*.

Palabras claves: Productos biológicos, beneficiosos, organopónico, cultivo de tomate.

I- INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha desarrollado en Cuba un fuerte movimiento agrícola en las ciudades y asentamientos poblacionales al cual se ha denominado Agricultura Urbana. El objetivo de este movimiento es obtener la máxima producción de alimentos, diversos, frescos y sanos en áreas disponibles anteriormente improductivas, esta producción se basa en prácticas orgánicas que no contaminan el ambiente, en el uso racional de los recursos de cada territorio y en una comercialización directa con el consumidor.

Este movimiento ha generado no sólo la producción de hortalizas, sino que además impulsó un amplio accionar con múltiples ajustes, medidas alternativas y todo un desarrollo de actividades colaterales para apoyar y complementar estas producciones, todo lo cual conllevó a la conformación de un estilo verdaderamente integral de producir alimentos con un profundo carácter de sostenibilidad y desarrollo local (Companioni, et al. 2007).

El Programa Nacional de Agricultura Urbana de Cuba se basa en un enfoque agroecológico sustituyendo los fertilizantes y plaguicidas por abonos orgánicos, biofertilizantes, controles

biológicos y otras herramientas que permiten obtener producciones sostenibles (Companioni y Rodríguez, 2006).

El incremento en Cuba de la Agricultura Orgánica, hace necesario garantizar la protección de los cultivos de enfermedades, mediante la aplicación de productos biológicos constituidos por agentes microbianos y/o sus metabolitos así como abonos orgánicos.

Los bioplaguicidas elaborados a partir de microorganismos y productos naturales, se insertan como un todo dentro del esquema del manejo integrado de plagas para dar respuesta eficaz a la necesidad de proteger las especies agrícolas.

Esta investigación contribuye a la búsqueda de alternativas biológicas en función de una agricultura sostenible, como premisa fundamental para la Agricultura Urbana y se plantea la siguiente hipótesis: el biopreparado bacteriano BIOBAC[®], obtenido a partir de la cepa (Bs INIFAT- 101) de *Bacillus subtilis*, puede ser utilizado en condiciones de organopónico como control biológico de enfermedades fúngicas y estimulador del crecimiento vegetal en cultivos hortícolas.

El objetivo general de esta investigación fue evaluar en condiciones de organoponía, la efectividad del biopreparado bacteriano BIOBAC[®], como antagonista y estimulador del crecimiento vegetal en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Para demostrar la hipótesis científica se propusieron los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar, el efecto de diferentes dosis de aplicación del biopreparado BIOBAC[®] como antagonista y estimulador del crecimiento vegetal, durante la fase de semillero en el cultivo del tomate.
2. Evaluar, el efecto de dosis y momento de aplicación del BIOBAC[®] en el cultivo de tomate en condiciones de organoponía.

II- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Características y potencialidades de las bacterias pertenecientes al género *Bacillus*.

Las bacterias están presentes en una concentración media de 6×10^8 UFC/g de suelo y son los microorganismos más abundantes en las muestras de suelo, cifrándose su peso en 10 000 kg/ha (Kilian, et al. 2002), además, por la diversidad de características, son las bacterias, las más empleadas para estudios y para la obtención de productos microbianos de uso agrícola. El género *Bacillus* se caracteriza por presentar células en forma de barras, rectas o casi rectas, de 0,3 -2,2 x 1,2- 7,0 μm , mayoritariamente móviles por flagelo típico lateral. Forma endospora termorresistente; no más de una por células. La esporulación no es reprimida por la exposición al aire. Gran reacción positiva sólo en los primeros estadios del crecimiento o negativa. Son microorganismos quimiorganotróficos, con un metabolito estrictamente respiratorio, fermentativo o ambos usando varios sustratos. Forma catalasa en la mayoría de sus especies. Son aerobios estrictos o anaerobios facultativos

La capacidad del género *Bacillus* para producir enzimas extracelulares, antibióticos, vitaminas, insecticidas, aminoácidos, nucleótidos o nucleósidos y proteínas continúa siendo estudiada desde el punto de vista genético y bioquímico. La caracterización del genoma *Bacillus subtilis* (cepa 168) contribuyó a la búsqueda de estrategias en la ingeniería bioquímica para mejorar los rendimientos en la formación de los diversos metabolitos que ella produce y que tienen importancia industrial, tanto en la alimentación como la medicina (Schallmey, et al. 2004).

Bacillus subtilis esporula, la célula cuyo destino es formar una espora se divide asimétricamente; una célula, la “preespora” se convierte en espora; la otra es una madre sacrificada de breve vida. La división celular y la segregación del cromosoma pierden su sincronía y el septo entre las dos células se estrecha antes de que el ADN se haya transferido por completo a la futura espora. No se conoce por qué ocurre así pero, unos dos tercios del ADN destinado a la espora tienen que atravesar un estrecho poro en el septo de la preespora. Una proteína llamada SpoIIIE, está muy involucrada y actúa como una translocasa de ADN. El *Bacillus subtilis* es el miembro mejor caracterizado del grupo de bacterias Gram (+). Su genoma está formado por 4214 810 pares de bases que comprometen 4100 genes codificadores de proteínas. La cuarta parte de sus genes no tiene similitudes con otros descubiertos hasta ahora. Y la presencia de varias vías de producción de antibióticos indica que puede defender su nicho ecológico. Se plantea que una cantidad elevada de su capacidad genética se debe a la utilización de una variedad de fuentes de carbono, incluyendo moléculas derivadas de numerosas plantas. (Jonh, et al., 1994; Wulff, et al. 2002).

Pal, et al. (2004), demostraron que una cepa de *Bacillus subtilis* produce surfactina y forma biopelículas que protegen a las plantas del ataque de bacterias fitopatógenas. El agente biocontrol obtenido garantizó en el cultivo de tomate, una inhibición efectiva de la *Pseudomona syringae* pv *tomato* que provoca la infección de *Arabidopsis* en raíces y suelos.

Bacillus subtilis es una de las bacterias que produce un mayor número de antibióticos, algunos de ellos son específicos a determinadas especies, y una especie puede producir varios de ellos. Se ha demostrado que cepas de *Bacillus subtilis* no sólo producen antibióticos antibacteriales sino también antifúngicos (Souto, et al. 2004). Muchos péptidos antifúngicos secretados por *Bacillus subtilis* tienen un peso molecular menor que 2000 Da. La aparición de resistencia contra péptidos antimicrobianos es menos probable que la resistencia a antibióticos convencionales (Orad, et al. 2004).

Sosa, et al. (2006), analizaron en *Bacillus subtilis* la liberación de compuestos con propiedades antifúngicas como la subtilina y otros antibióticos de la familia de las Iturinas. Estas últimas son polipéptidos que actúan sobre la pared celular de los hongos, vacuolizando y deformando las hifas de *Rhizoctonia solani* y *Pythium ultimum* ocasionadas por la formación de un compuesto volátil con propiedades fungicidas. Las iturinas presentan actividad hemolítica y antifúngica contra varias levaduras y hongos patógenos, pero tienen una limitada actividad antibacteriana (Stein, 2005). Se plantea que la surfactina sola no inhibiría el desarrollo de hongos fitopatógenos, pero aumenta significativamente la actividad antifúngica de iturina A, actuando sinérgicamente (Chitarra, et al. 2003).

III- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Aplicación del BIOBAC® en la producción de posturas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

El bioproducto utilizado BIOBAC® fue obtenido por vía fermentativa a partir de la cepa (Bs INIFAT-101) de *Bacillus subtilis*, utilizando un medio de cultivo optimizado por (Tejeda, et al. 1998). El proceso de fermentación se llevó a cabo en erlenmeyers de 200 mL con 50 mL de medio de cultivo en una zaranda rotatoria con una agitación de 200 rpm y 30 °C de temperatura. El proceso se desarrolló durante 96 horas combinando condiciones de agitación y fermentación estática (Tejeda, et al. 2004), obteniéndose el bioproducto en forma líquida.

Para la obtención de las posturas (variedad INIFAT-28) del primer bloque experimental bajo condiciones controladas se utilizaron seis cepellones con 248 alvéolos cada uno, el sustrato utilizado se preparó con una composición de un 75 % de materia orgánica en forma de humus de lombriz y un 25 % de suelo Ferralítico Rojo Típico (FRT) (Hernández, et al. 1999), después de un riego ligero con el objetivo de humedecer el sustrato se realizó la siembra, se utilizaron 30 semillas por tratamiento, la aplicación de las dosis del producto reflejadas en la tabla 1 se realizaron por aspersión al sustrato. Se trasladaron los cepellones hacia una Casa de Cristal, con las condiciones necesarias de riego e iluminación.

Tabla 1: Evaluación de dosis del BIOBAC® en el cultivo del tomate variedad (INIFAT -28). Época de Frío.

Tratamientos	Dosis (mL /alveolo)
T1 (testigo)	0 (testigo)
T2	0.12
T3	0.25
T4	0.37

Las evaluaciones de estimulación del crecimiento vegetal se realizaron a los 30 días de sembradas las posturas, se tomó como variables respuestas: el largo de la raíz (L R), el largo del tallo (L T), el diámetro del tallo (D T), el número de hojas (N H), el área foliar (A F), la altura de la planta (A P) y el peso fresco de la planta (P F).

El segundo bloque experimental se realizó utilizando la Variedad Placero H. Las posturas se obtuvieron a partir de 5 cepellones de 112 alvéolos cada uno, las dosis que aparecen en la siguiente tabla, las cuales fueron aplicadas por aspersión a las semillas y al sustrato; el que fue preparado con una composición de 50% de suelo Ferralítico Rojo Típico (FRT) y 50 % de materia orgánica procedente de humus de lombriz (Peña, et al. 2007).

Se evaluaron de forma aleatoria 50 posturas /tratamiento a los 21 días de la siembra, detectándose una afectación de *Damping off*, donde se determinaron 2 Grados de infección para esta evaluación: Grado 0: plantas sanas, Grado 1: plantas infestadas.

Tabla 2: Efecto de dosis del BIOBAC® en el cultivo del tomate (var. Placero H). Época de Verano

Tratamientos	Dosis (mL /alveolo)
T1 (testigo)	0 (testigo)
T2	0,3
T3	0,4
T4	0,5
T5	0,6*

Nota: *
la

Dosis dividida en dos momentos durante etapa de semillero (siembra: 0,3 mL /alveolo y 15 días después de la siembra: 0,3 mL /alveolo).

Las evaluaciones de estimulación del crecimiento vegetal se realizaron a los 30 días, se tomó como variable respuesta el largo de la raíz, el largo del tallo, el número de hojas y la altura de la planta.

3.2 Evaluación de dosis y momento de aplicación del BIOBAC® en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Condiciones de organopónico.

En este bloque de experimentos, se utilizaron posturas tratadas con la dosis 0,4 mL/ alveolo y 0,5 mL/ alveolo y las no tratadas de la variedad (Placero H). El trasplante hacia los canteros se realizó después de preparar un sustrato con una mezcla de humus de lombriz y suelo (F.R.T.), en una proporción de 50 %, seguido de un riego ligero antes de la aplicación del bioproducto.

Las posturas fueron colocadas a una distancia de 35 cm entre plantas a doble hilera quedando el tratamiento con 6 posturas/m², posteriormente se realizó la aplicación del

producto por aspersión foliar y al sustrato con diferentes dosis. La segunda aplicación del producto se realizó a los 30 días después del trasplante.

Tabla 3: Evaluación de dosis y momento de aplicación del BIOBAC® en el cultivo del tomate.

Tratamientos	Dosis	Momento de Aplicación
T1 (testigo)	0	0
T2	0 + 0,5 mL/m ²	Siembra
T3	0,4 mL/alveolo + 0	Siembra
T4	0,4 mL/ alveolo + 0,5 mL/m ²	Siembra + Trasplante
T5	0,5 mL/ alveolo + 0	Siembra
T6	0,5 mL/ alveolo + 0,5 mL/m ²	Siembra + Trasplante

Las evaluaciones relacionadas con la estimulación del crecimiento vegetal y la actividad antifúngica del bioproducto se realizaron en el momento de la cosecha se determinó el número de hojas el diámetro del fruto, el peso del fruto y el índice de infección, aplicando la fórmula de (Townsend y Heuberguer, 1944).

IV- RESULTADO Y DISCUSIÓN

4.1 Aplicación del BIOBAC® en la producción de posturas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

En la tabla 4 se muestran los resultados obtenidos de la actividad estimuladora del crecimiento vegetal en el cultivo del tomate (var. INIFAT -28), al aplicársele diferentes dosis del producto, en condiciones controladas.

Tabla 4: Evaluación del efecto de dosis del BIOBAC® sobre la actividad estimuladora en el cultivo del tomate (var. INIFAT -28). Época de Frío.

Variantes	LR (cm)	LT (cm)	AP (cm)	NH	AF (cm ²)	DT (cm)	PF (g/planta)
Testigo	18.7 c	5.8 b	10.5 b	3.6 b	11.0 b	0.23 c	0.86
BIOBAC® (0.12)	19.9 b	6.0 b	9.9 b	3.6 b	10.6 b	0.22 bc	0.80
BIOBAC® (0.25)	22.7 b	6.0 b	10.1 b	3.7 ab	11.0 b	0.25 b	0.98
BIOBAC® (0.37)	27.3 a	7.3 a	12.5 a	4.1 a	17.8 a	0.28 a	1.30
CV(%)	16.23	0.8	3.52	0.30	38.26	0.0015	-
DsX	4.03	0.9	1.88	0.55	6.18	0.039	-
EsX	0.66	0.17	0.36	0.12	1.28	0.075	-

Letras iguales no difieren significativamente entre sí para $p \leq 0.05$

Los resultados obtenidos demuestran que la mejor dosis evaluada (0,37mL/ alveolo) superó significativamente al testigo logrando incrementos de 46 % en el largo de la raíz, 25 % en el largo del tallo, 26 % en el diámetro del tallo, 19 % en la altura de la planta, 14 % en el número de hojas, 61 % en el área foliar y 51 % en el peso fresco. Estos resultados corroboran lo obtenido por (Lazarette, et al. 1994), quienes aseguran que el efecto benéfico de *Bacillus subtilis* no se debe exclusivamente al antagonismo proporcionado a los patógenos sino que influye positivamente en la germinación, desarrollo y rendimiento del cultivo debido a la producción de sustancias promotoras del crecimiento y al mejoramiento de la nutrición de las plantas.

En la tabla 5 se presentan los resultados obtenidos en el segundo bloque experimental para el cultivo de tomate, durante la fase de posturas en condiciones no controladas, al evaluar el efecto de dosis de aplicación del bioproducto. Se evidencia la estimulación del crecimiento vegetal al evaluarse las diferentes variables respuestas. Los mayores incrementos se

obtuvieron con el tratamiento 5 (0,6 mL/ alveolo) dividido en dos momentos: en la siembra (0,3 mL/ alveolo) y 15 días después de la siembra (0,3 mL/ alveolo), sin diferencias significativas con las dosis de 0,3 y 0,4 mL/ alveolo, aplicadas en el momento de la siembra, las cuales superan al tratamiento testigo, incrementando en un 12 % el largo del tallo, en un 36 % el diámetro del tallo y en un 13 % el número de hojas. Estos resultados corroboran el estudio realizado por Kuznetsov, et al. (2001), quienes plantearon que la utilización de la especie *Bacillus subtilis* ejerce su acción no sólo en el control que provocan sus metabolitos en la actividad antifúngica, sino también en la estimulación del crecimiento vegetal.

Tabla 5: Evaluación del efecto de dosis del BIOBAC® sobre la actividad estimuladora en el cultivo de tomate (var. Placero H). Época de verano.

Tratamiento	L T (cm)	D T (cm)	N H	Letras iguales no difieren signific ativamente entre sí
1. Testigo	9,44 cd	0,25 c	4,82 b	
2. BIOBAC® (0,3)	9,94 bc	0,30 ab	5,53 a	
3. BIOBAC® (0,4)	10,31 ab	0,32 ab	5,53 a	
4. BIOBAC® (0,5)	9,38 d	0,29 bc	4,76 b	
5. BIOBAC® (0,6)*	10,57 a	0,34 a	5,47 a	
CV (%)	9,28	23,87	14,68	
DsX	0,9174	0,0716	0,7658	
EsX	0,2018	0,0466	0,1708	

para $p \leq 0.05$

4.2 Evaluación de dosis y momento de aplicación del BIOBAC® en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Condiciones de organopónico.

La siguiente tabla muestra los resultados del segundo bloque de experimentos realizado al cultivo del tomate, donde se evalúa el efecto de dosis en dos momentos de aplicación del biopreparado BIOBAC®.

Tabla 5: Evaluación del efecto de dosis y momento de aplicación del BIOBAC® en el cultivo de tomate (var. Placero H). Época de verano.

Tratamientos	D F (cm)	PF (g)	NH	II (%)	Rend. (kg/m ²)
1. Testigo	2,83 d	17,37 c	50,7 c	36,5 a	2,58 c
2. 0 + 0,5 mL/m ²	3,0 ab	18,70 ab	53,4 bc	33,83 a	2,80 b
3. 0,4 mL/alveolo + 0	2,95 bc	18,17 bc	54,07 b	11,85 b	2,71 b
4. 0,4 mL/ alveolo + 0,5mL/m ²	2,87 cd	19,23 a	53,3 bc	12,73 b	3,66 a
5. 0,5 mL/ alveolo + 0	3,03 ab	18,53 ab	58,53 a	18,95 b	2,73 b
6. 0,5 mL/ alveolo + 0,5mL/m ²	3,07 a	18,83 ab	55,8 ab	15,69 b	3,75 a
CV(%)	5,68	6,44	8,45	93,22	14,47
DsX	0,1663	1,1896	4,5911	16,7597	0,4413
EsX	0,0383	0,2843	1,0466	3,8382	0,0464

Letras iguales no difieren significativamente entre sí para $p \leq 0.05$.

Nota: Trasplante con cepellón.

Se puede apreciar la respuesta positiva de la inoculación bacteriana en el momento de la siembra, al aplicar el bioproducto por aspersión a la semilla y al sustrato; no se observaron diferencias significativas en el índice de infección al comparar los tratamientos aplicados y no aplicados, con respecto al testigo. Este comportamiento puede deberse a que el hongo fitopatógeno *Alternaria solani* se transmite, fundamentalmente a través de la semilla, lo cual ha sido confirmado por (Pérez, 2003) al estudiar los mecanismos de transmisión de la enfermedad (Tizón temprano) en diferentes variedades de este cultivo.

Las dosis evaluadas demostraron un efecto positivo en cuanto a la reducción del índice de infección con respecto a la variable testigo, sin diferencias significativas entre los tratamientos donde se aplicó el BIOBAC® en el momento de la siembra, estas variantes lograron una reducción promedio de la enfermedad del 59 %.

Todos los tratamientos con aplicación del BIOBAC® mostraron incrementos en el rendimiento del cultivo, con diferencias significativas, respecto al testigo, por encima de las potencialidades productivas de esta variedad y los mejores resultados se evidencian en las variantes 4 y 6 (0,4 mL/ alveolo + 0,5 mL/m² y 0,5 mL/ alveolo + 0,5 mL/m²), obteniéndose rendimientos de 42 y 45,3 %, respectivamente. Este comportamiento se corresponde con los obtenidos en las variables peso y diámetro del fruto, principalmente en la mayor dosis evaluada. Se han reportado efectos similares al aplicar bacterias del género *Bacillus* como promotoras del crecimiento vegetal que garantizan un mejoramiento en la nutrición de las plantas. (Ying, et al. 2004 y Schallmey, et al. 2004). Varios autores han demostrado la efectividad del uso de bioproductos microbianos como estimuladores del crecimiento vegetal, en condiciones de Organopónicos que además logran incrementar los rendimientos (Lorente, et al. 2003; Villa et al. 2003 y Milanés, 2003). Aún cuando el trasplante se realizó en el mes de julio, la planta no sufrió estrés ya que el mismo se realizó con la técnica de cepellón (Peña, et al. 2004).

Teniendo en consideración los resultados obtenidos en el cultivo de tomate, se demuestra el efecto positivo de la aplicación del BIOBAC® en dos ocasiones durante el ciclo del cultivo (0.4 mL/ alveolo en el momento de la siembra y 0.5 mL/m² en el momento del trasplante), evidencia la potencialidad de este bioproducto como antagonista y estimulador del crecimiento vegetal.

V- CONCLUSIONES

- La producción de posturas de tomate en condiciones no controladas con la dosis de 0.37 mL/ alveolo mostró los mejores resultados.
- El tratamiento que mostró los mejores resultados en condiciones de organopónico en cuanto a la estimulación del crecimiento y el control de enfermedades fue la aplicación de 0.5 mL/alveolo en el momento de la siembra y 0.5 mL/m² en el momento del trasplante.

VI- RECOMENDACIONES

- Evaluar el efecto de dosis y momento de aplicación para el cultivo de tomate en otros sistemas productivos de la Agricultura Urbana.
- Evaluar la compatibilidad de este bioproducto con otros productos biológicos, que se aplican en los organopónicos.

VII- BIBLIOGRAFÍA.

Chitarra, G.; Breeuwer, P., Nout M.; Van Aldest, A., Rombouts, F.; y Abee, T. (2003): An antifungal compound produced by *Bacillus subtilis* YM 10-20 inhibits germination of *Penicillium roqueforti* conidiospores. *Journal Applied Microbiology*. 94, 159 -166 p.

Companioni, N. y Rodríguez, A.; (2006): Situación actual, perspectivas y retos e la Agricultura Urbana en Cuba. *Agricultura Orgánica 20 años después*. 12 (2) ISSN 10 -28 - 2130.

Companioni, N.; Rodríguez, A. y Ramírez, M.; (2007): La actividad organopónica y sus influencias en el desarrollo de la Agricultura Urbana. *Agricultura Orgánica 20 años después*. 13 (3). ISSN 10 - 28 – 2130.

Dibut, B. A. (2000): Obtención de un bioestimulador del crecimiento y el rendimiento vegetal para el beneficio de la cebolla (*Allium cepa* L.). Tesis de Doctor en Ciencias Agrícolas, Ministerio de la Agricultura, La Habana. 104 p.

Hernández, A.; Pérez, J. M. Rivero, L. (1999): Nueva versión de clasificación de los suelos de Cuba. Ministerio de la Agricultura. Ciudad de La Habana, Cuba. 64 p.

Jonh, G.; Noel, R.; Peter, H.A.; Smeath, James, T. Staley, Sanley T. Williams (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams & Wilkins Company, 9th edition. vol. 2 1105-1139 p.

Kilian, M., Steiner, U., Krebs, B., Junge, H., Schmiedeknecht, G. y Hain, R. (2002): FZB24 *Bacillus subtilis* mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 1/00, 1: 72 - 93 p.

Lazzarete, E., Menten, J. O. y Bettio, W. I. (1994): *Bacillus subtilis* antagónicos aos principaes patógenos asociados a sementes de Feijao e trigo. *Fitopatología Venezolana* (7) 42 - 46 p.

Lewis, A.;Guilarte, A.(2006): Manual de preparación para la defensa para los estudiantes de las carreras Ciencias Agropecuarias. La Habana 177p.

Lorente, E.; Vázquez, R.; Quintana, E. y Boado, I., (2003): Rizbel, biopreparado en la producción de hortalizas en organopónicos. *Memorias V Encuentro de Agricultura Orgánica*. Palacio de Convenciones. La Habana, Cuba. 68 p.

Milanés, F. (2003): Contribución de la Agricultura Urbana al desarrollo humano sostenible. *Memorias del V Encuentro de Agricultura Orgánica*. Palacio de Convenciones. La Habana, Cuba. 281 p.

Orad, S., Rush, M. C. y Oard, J. H. (2004): Characterization of antimicrobial peptides against a US strain of the rice pathogen *Rhizoctonia solani*. *Journal of Applied Microbiology*, 97:169 - 180 p.

Pal, H.; Fall, R. y Vivanco, J. (2004): Biocontrol of *Bacillus subtilis* against Infection of Arabidopsis Roots by *Pseudomonas syringae* Is Facilitated by Biofilm Formation and Surfactin Production. *Plant Physiology* 134 (1): 307 - 319 p.

Peña, E.; Companioni, N., Carrión, M.; García, M. Díaz, M.; Mantorel, A.; Navarro, A. (2004): El humus de Lombriz: Su impacto en la producción de posturas de cepellón. *Memorias del V Encuentro de Agricultura Orgánica*. Palacio de Convenciones. La Habana, Cuba. 106 p.

Pérez, M. S., (2003). Variabilidad cultural, patogénica y genética del agente causal del tizón temprano (*Alternaria solani* sor) del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Cuba. Tesis en opción al Grado de Doctor en Ciencias Agrícolas, UNAH-CENSA, La Habana, 94 p.

Schallmeyer, M.; Singh, A. y Ward, O. P. (2004): Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production *Canadian Journal of Microbiology*, 50 (1): AGRICOLA®. 150 p.

Sosa, A.; Carrera, B.; Fernández, O. y Torres, D. (2006): Aislados promisorios de *Bacillus spp.* para el control de hongos fitopatógenos. En *Fitosanidad* 10 (2). ISSN 1818 -1686.145p.

Souto, G. I., Correa, O. S., Montecchia, M. S., Kerber, N. L., Pucheu, N. L., Bachur, M. y García A. F. (2004): Genetic and functional characterization of a *Bacillus* sp. Strain excreting surfactin and antifungal metabolites partially identified as iturin like compounds. *Journal Applied Microbiology*. 97, 1247 - 1256 p.

Stein, T. (2005): *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Molecular Microbiology*. 56(4), 845 - 857 p.

Townsend y Heuberguer, (1944): Methods for estimating losses caused by disease with fungicides experiments. *Plant. Dis. Rep.* 27: 340 - 345 p.

Villa, P.; Stefanova, M.; Gutiérrez, I.; Alfonso, I.; Fría, A. y Castellanos, L. (2003): Gluticid: una alternativa para el control de hongos fitopatógenos en la Agricultura Orgánica. V Encuentro de Agricultura Orgánica. Palacio de Convenciones. La Habana, Cuba. 52 p.

Wulff, E. G.; Mguni, C .M., Mansfeld-Giese, K.; Fels, J.; Lübeck, M. y Hockenhull, J. (2002): Biochemical and molecular characterization of *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis* and *B. pumilus* isolates with distinct antagonistic potential against *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*. *Plant Pathology*. 51, 574 - 584 p.

Ying Chen Chao; Huei Wang Yi; y Jui Huang Chien (2004): Enhancement of the antifungal activity of *Bacillus subtilis* F29-3 by the chitinase encode by *Bacillus circulans* chia gene. *Canadian Journal of Microbiology*; 50: 6; AGRICOLA® 451-454 p.