

CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS RIZOSFÉRICAS SECRETORAS DE AUXINAS Y SU IMPACTO EN *Panicum Maximum* cv. TANZANIA

Alex Abib Troya Toloza¹, Nicolás Martínez García²

¹ PhD. Ciencias de la educación, Msc. Biotecnología, Docente Universitario de licenciatura en ciencias naturales y educación ambiental, Universidad Popular del Cesar, alexstroya@unicesar.edu.co ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-5480-6901>

²Msc. Ciencias y tecnologías Ambientales; Esp. Química ambiental, Docente Universitario de licenciatura en ciencias naturales y educación ambiental, Universidad Popular del Cesar, nicolasmartinez@unicesar.edu.co ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2213-2808>

RESUMEN

Las bacterias productoras de auxinas participan en el crecimiento de las plantas en el suelo, ante ello, se determinó el potencial del crecimiento del pasto *Panicum maximum* cv. -Tanzania a partir del uso de biofertilizante provenientes de las bacterias diazótrofes y productora de auxina *Azospirillum* sp y *Azotobacter* sp. Se aislaron las bacterias de la rizosfera de cultivos ubicados en el municipio de La Paz, Cesar que fueron sometidas a pruebas bioquímicas, observaciones macroscópica y microscópica. Posteriormente se evaluó la capacidad fijadora de nitrógeno y productora de auxina, evidenciándose que la bacteria *Azotobacter* obtuvo una mayor producción con respecto a la *Azospirillum*. Se ejecutaron pruebas piloto de las bacterias en diferentes concentraciones con el pasto en un modelo experimental de 10 tratamientos 3 repeticiones; tomándose como variables: número de hojas, área foliar, longitud de la planta y raíz, %nitrógeno. Al finalizar, se concluyó que la bacteria *Azospirillum* estimuló el crecimiento del pasto *Panicum maximum* cv. Tanzania.

Palabras clave: *Azotobacter* sp, *Azospirillum* sp, Acido Indoloacético, Diazotrofos, pasto *panicum maximum* cv. Tanzania.

Recibido: 24 de mayo de 2024. Aceptado: 18 de marzo de 2025
Received: May 24, 2024. Accepted: March 18, 2025

CHARACTERIZATION OF AUXIN SECRETING RHIZOSPHERE BACTERIA AND THEIR IMPACT ON *Panicum Maximum* cv. TANZANIA

ABSTRACT

Auxin producing bacteria contributes to plant growth in soil. This study evaluated the growth potential of *Panicum maximum* cv. Tanzania using a biofertilizer from diazotrophic and auxin producing bacteria (*Azospirillum* sp. and *Azotobacter* sp.). Bacteria were isolated from the rhizosphere of crops in La Paz, Cesar, and subjected to biochemical, macroscopic, and microscopic tests. Their nitrogen fixing and auxin producing capacities were analyzed, showing that *Azotobacter* produced more auxin than *Azospirillum*. Pilot tests were conducted with different bacterial concentrations on the grass in an experimental model of 10 treatments and 3 repetitions. Evaluated variables included leaf number, leaf area, plant and root length, and nitrogen percentage. Results showed that *Azospirillum* significantly stimulated *Panicum maximum* cv. Tanzania growth.

Keywords: *Azotobacter* sp, *Azospirillum* sp, Indoloacetic Acid, Diazotrophs grass *panicum maximum* cv. Tanzania.

Cómo citar este artículo: N. Martínez G. y A. Troya T. "Caracterización de bacterias rizosféricas secretoras de auxinas y su impacto en *Panicum Maximum* cv. Tanzania", Revista Politécnica, vol.21, no.41 pp.24-46, 2025. DOI:10.33571/rpolitec.v21n41a2

1. INTRODUCCIÓN

Como bien se ha sabido, el sector agrícola requiere de una serie de características del suelo que determinen la fertilidad del suelo y así obtener una mejor producción de los alimentos necesarios para las sociedades a nivel mundial, pero, según Martínez et. al. 2021, explican que “el incremento de estas necesidades alimenticias a nivel mundial se ha traducido en un abuso de fertilizantes químicos para cubrir esa demanda, conllevando a que el suelo pierda su fertilidad en el suelo y contaminando así los demás recursos naturales [1].

Ante esta situación, se han venido utilizando microorganismos de vida libres en el suelo que puedan proporcionar algunos de los nutrientes vitales para las plantas y que puedan suplir en cierta manera las necesidades de las plantas, entre estos se encuentran los microorganismos fijadores de nitrógeno, las cuales son capaces de secretar hormonas para brindar un desarrollo agroecológico de muchos cultivos como caña de azúcar, arroz, sorgo, y pastos tropicales, según Dobereiner et. al. 1995 dentro los géneros más estudiados se encuentran *Azospirillum* sp, *Azotobacter* sp, *Beijerinckia* sp y *Klebsiella* sp, [2].

Estos microorganismos citados por Dobereiner et. al. 1995 son consideradas bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) debido a su capacidad para estimular directamente el crecimiento de las plantas, a través de diversos mecanismos, como el aporte de nitrógeno por el proceso de fijación biológica de nitrógeno atmosférico [3] [4] [2], producción de sustancias reguladoras del crecimiento [5], solubilización de minerales y nutrimentos [6], incremento en el volumen de la raíz [7], inducción de resistencia sistémica a patógenos [8], inhibición del crecimiento de organismos antagonicos [9] e interacción sinérgica con otros microorganismos del suelo [10].

Por consiguiente, uno de los medios más propicios donde pueden existir la mayoría de estos microorganismos y puedan proporcionar los nutrientes necesarios para las plantas es en la rizosfera (raíces de las plantas), la cual, existe un flujo de compuestos orgánicos producto de la fotosíntesis que son exudados por la raíz [11]. A partir de esta situación, se han realizado estudios y avances en la investigación que, reconocen de alguna manera el papel fundamental que cumplen los microorganismos rizosféricos en el crecimiento de las plantas [7]. La rizosfera es el hábitat ecológico en el cual los microorganismos están en contacto directo con la raíz de las plantas [5] y es el sitio donde se dan diversas interacciones, como: competencia, mutualismo, comensalismo, amensalismo, depredación y parasitismo [11].

Los microorganismos en la rizosfera desempeñan funciones de gran importancia en relación con procesos de edafogénesis; ciclos biogeoquímicos de elementos como el carbono, el nitrógeno, oxígeno, el azufre el fósforo, el hierro, y otros metales; fertilidad de las plantas y protección frente a patógenos; degradación de compuestos xenobióticos y producción de fitohormonas [12].

1.1 Bacterias fijadoras de nitrógeno en la rizosfera: *Azospirillum* sp

Las bacterias del género *Azospirillum* sp pueden encontrarse en la filósfera o en la rizosfera y se caracterizan por adherirse a la superficie de raíz y no formar nódulos, sus células se encuentran en forma de bastón curvo, Gram negativa, tienen respuesta oxidasa positiva y catalasa usualmente positiva [13].

Este género, muestra una distribución geográfica amplia alrededor del mundo, siendo más abundante en las regiones tropicales, aunque también se encuentra en regiones templadas, frías y desérticas [14]. El pH del suelo juega un papel importante en la presencia de las especies, como por ejemplo *A. lipoferum* y *A. brasilense* que son abundantes en suelo con valores de cercanos a la neutralidad. El porcentaje de arcilla, contenido de materia orgánica, la capacidad de retención de agua y el contenido de nitrógeno afectan positivamente la sobrevivencia de *A. brasilense*. Sin embargo, el microorganismo es independiente de la aridez del suelo [10].

Además, estas especies de microorganismos tienen un metabolismo carbonado y nitrogenado muy versátil, lo que le permite adaptarse y establecerse en el entorno rizosférico. Como fuentes nitrogenadas, este género puede utilizar un amplio rango de sustratos, amonio, nitrato, nitritos, aminoácidos y nitrógeno molecular. En condiciones desfavorable, tales como la desecación y carencia de nutrientes, puede enquistarse, recubriéndose

de una capa de polisacáridos produciendo una acumulación de gránulos de β -hidroxibutirato, que sirve a la bacteria de reserva de fuente carbonada [15]

1.1.1. *Azospirillum* sp asociadas a gramíneas

Para la bacteria *Azospirillum* sp poseen un potencial de adaptación y resistencia a lo largo de la rizosfera durante el crecimiento de las plantas; pero, el factor clave para el desarrollo y crecimiento y regulación de las plantas se basan en la precipitación pluvial y la temperatura, especialmente en las zonas templadas y áridas que definen el periodo de crecimiento en el año [16]. La variación de las poblaciones de microorganismos asociadas con estos pastos responde predominantemente a los cambios de humedad del suelo, más que a las fluctuaciones de temperatura [17]. Además, el crecimiento y desarrollo del sistema radical afecta significativamente a las poblaciones bacterianas del suelo por la disponibilidad de una fuente de carbono, derivada de compuestos orgánicos liberados por la raíz [7].

1.2 Bacterias fijadoras de nitrógeno en la rizosfera: *Azotobacter* sp

El nombre de la especie de microorganismos *Azotobacter* sp proviene de la palabra francesa “asoto” que significa nitrógeno y del griego “bacter” que significa bacilo. Son microorganismos de vida libre de suelo que requieren de sustancias orgánicas como fuente de energía, pero si hay abundancia de NO_3^- y NH_4 , lo emplean con facilidad y no fijan nitrógeno [18].

Los microorganismos de este género comprenden bacterias con formas bacilar, son Gram negativos, en cultivos viejos como Gram variables, las células son ovoides y miden aproximadamente 2 μm a 4 μm de diámetro, son aerobios, pero algunos pueden vivir en concentraciones bajas de oxígeno y su movilidad se debe a flagelos periticos, además, producen pigmentos solubles en aguas en medio específicos [19]

Bioquímicamente son catalasa y oxidasa positivo, reducen el nitrato, producen el sulfuro de hidrogeno e hidrolizan almidón, producen sustancias promotoras de crecimiento como giberelinas, auxinas y citoquininas [20]; las bacterias de este género fijan simbióticamente nitrógeno y son solubles en fosfato, además realizan proceso de biodegradación de plaguicidas como el endosulfan [21]. Cabe agregar que este microorganismo, fijan al menos 10 mg de N_2 por gramo de carbohidratos consumido [22].

1.2.1 *Azotobacter* sp en el suelo.

La población de *Azotobacter* sp es principalmente influenciada por otros microorganismos presentes en el suelo, existen algunos microorganismos que estimulan el aumento de la especie, permitiendo incrementar la fijación de nitrógeno. Sin embargo, hay otros que limitan la población de estas bacterias y obstaculizan la fijación efectiva del nitrógeno, por consiguiente, no pueden lograr la multiplicación en el suelo. La propagación de estas bacterias está relacionada con la presencia en el medio de suficientes cantidades de fósforo (P) y potasio (K), siendo mayor el efecto del fosforo, cuya escasez o ausencia puede inhibir el desarrollo del cultivo, este elemento estimula el metabolismo del carbono, la multiplicación y la fijación de nitrógeno. Caso contrario pasa con el potasio, ya que si existen altas concentraciones de este elemento en el suelo se inhibe el desarrollo de las bacterias fijadoras [23].

1.3 Las bacterias *Azotobacter* sp. y *Azospirillum* sp. como aporte nutritivo en la agricultura.

Según los estudios realizados por Okon y Labandera, 1994 explican que, las bacterias *Azotobacter* sp. y *Azospirillum* sp. demostraron obtener resultados significativos en cuanto al crecimiento de las plantas, obteniéndose un rendimiento entre el 5% hasta un 30% comparado con el uso de fertilizantes de alto rendimiento de nitrógeno [24].

Uno de los estudios referentes se demuestran los estudios realizados en la Universidad Autónoma de Puebla se inocularon grandes extensiones de suelos agrícolas cultivados con maíz y trigo con diferentes cepas de *Azospirillum* sp obteniéndose incrementos significativos en el rendimiento de la cosecha de ambos granos. Los estudios demostraron que la inoculación en las gramíneas *Triticum aestivum* L. con una cepa de *Azospirillum* brasilense, aislada de la rizosfera de *Brachiaria mutica*, mostró mejores resultados que la inoculación con cepas de colecciones aisladas de otras partes del mundo [24].

Otro estudio demostró que la respuesta de inoculaciones de *Azospirillum* sp es influenciada por fertilizantes a base de N, P y K, ya que estos incrementan la población de esta bacteria, lo cual repercute en una mayor producción de biomasa en las plantas [25] [26] [27].

En Cuba se han utilizado biofertilizantes a base de esta bacteria que permiten la sustitución del 25% del fertilizante nitrogenado en arroz e incrementan el rendimiento entre el 5 y el 15%. En caña de azúcar la aplicación de biopreparados a base de *Azospirillum* sp ha producido incrementos en los rendimientos que varían entre el 17 y el 50%, esto ha permitido ahorrar entre 50 y 100% del fertilizante nitrogenado [28].

Un referente a nivel nacional, se tiene el estudio realizado por Torres et al., (2000) en donde se aislaron 18 cepas del Género *Azotobacter* sp de 20 cultivos de arroz en Tolima (Colombia), las cuales produjeron importantes concentraciones de ácido indol acético (AIA), incluyendo *A. Vinelandii* con 32,22 ppm y *A. chroococcum* con 30,7 ppm de AIA [29]. Por otro lado, Aquilanti et al., (2004), aisló la bacteria diazotrófica asimbiótica de la rizosfera de cultivos de maíz, trigo y hortalizas en Italia, los géneros encontrados fueron de la familia *Azotobacteraceae*, al igual que miembros de los géneros *Beijerinckia* sp, *Azomonas* sp y *Agrobacterium* sp [30].

Por su parte, Galindo et al. 2006, inocularon bacterias diazóticas (*A. vinelandii*) y solubles en fosfato en plántulas de mangle y plantas de *Citrullus vulgaris* en la isla de San Andres (Colombia) incrementando la altura de las plantas, el número de hojas y nudos [31]. Además, estos microorganismos que son bioinoculantes en Colombia se han utilizado el cultivo de crisantemo [20].

Otro autor referente como García et al. 2005, explica el uso de la inoculación de la especie de *Azotobacter beijerinckii* y *Azospirillum* sp. para el incremento de la absorción de la urea y la transformación de los exudados radicales en SPCV, incrementando el peso fresco y seco del trigo inoculado [32].

Entre las bacterias diazóticas asimbióticas utilizada como biofertilizante una de las más utilizada es *Azotobacter* sp; La importancia agronómica radica especialmente en la capacidad producir antibióticos, sustancias estimulantes del crecimiento vegetal (SPCV) del tipo auxinas, giberelinas y citoquininas [33] aminoácidos y otras moléculas con actividad biológica de interés industrial y comercial [34] [35].

La inoculación con cepas de *Azospirillum* sp seleccionadas permite reducir hasta en 50% el uso de los fertilizantes minerales (N, P, K) sin que disminuya el rendimiento del cultivo, e incluso se obtiene 5-10% de aumento respecto a los cultivos fertilizados con el 100% del fertilizante mineral [36].

Por último, la aplicación de *Azospirillum lipoferum* a cultivos de tomate mostraron disminución en el consumo de fertilizante nitrogenado en un 30%, lográndose rendimientos satisfactorios y contribuyendo de esta forma a minimizar las afectaciones al ambiente; un efecto positivo sobre el crecimiento de las plántulas, así como en el estado nutricional del cultivo de tomate con un rendimiento agrícola superior a un 11 % con respecto a las plantas testigo y un alto nivel poblacional en la rizosfera de las plantas inoculadas [37].

1.4 Especie de pastos *Panicum maximun* cv. Tanzania y su importancia para la producción agropecuaria en Colombia.

La especie *Panicum maximun* cv. Tanzania es una gramínea perenne, en donde su desarrollo es erecto, vigoroso y con gran cantidad de macollos y su altura puede llegar a 2m de altura o más, y su producción de hojas es elevada, gracias a su característica tardía para florecer hace que tenga un periodo más extenso de producción de FV lo que lo hace más favorable para el pastoreo y el uso de pasto de corte. [38]

Es una gramínea perenne de origen africano "Tanzania", es de raíces profundas con macollos gruesos, sus hojas son a largadas y decumbente, posee una inflorescencia en forma de panícula, donde su inflorescencia se da en la época de lluvias donde puede llegar a producir hasta 132 kg de semilla por hectárea. El pasto *Panicum máximo* cv. Tanzania, perteneciente a la familia de las poaceas, tiene un mayor desarrollo de lo que va en el tamaño de la planta que pueden alcanzar incluso los 3 m de altura, esta especie es de gran adaptación desde el nivel del mar hasta los 1.800 m.s.n.m., soporta sequias en niveles moderados gracias a su sistema radicular, es usado en sistemas de pastoreos y corte para henificación. [38]

Es una planta perenne perteneciente a la familia de las gramíneas con adaptación a áreas tropicales, utilizada ampliamente por los ganaderos debido a su alto rendimiento de forraje de buena calidad y excelente aceptación por el ganado; además de su resistencia a la sequía y a suelos de mediana fertilidad [39].

En Colombia la producción agropecuaria puede dividirse en cuatro grandes sectores importantes tales como: la producción de cereales, la producción de oleaginosas, la producción de cultivos de alto valor para exportación, y la producción pecuaria; el hombre en su afán de mejorar los cultivos realiza usos indiscriminados de fertilizantes nitrogenados, los cuales, ocasionan daños en la capa de ozono y los mantos acuíferos, como ríos, lagos y lagunas. Como cada día se incrementa más el consumo de estos fertilizantes se hace necesario diseñar alternativas que disminuyan los impactos que genera la fertilización nitrogenada.

En el municipio de La Paz del departamento del Cesar no son ajenas a esta problemática referente al uso de fertilizantes de forma indiscriminada por basarse en una economía productiva del sector agropecuario, esto se demuestra de que, alrededor del 12% de los habitantes de la zona urbana del municipio se dedican a este tipo de actividad (8% a la agricultura y el 4% a la ganadería), mientras que en la zona rural el 70% se dedica a estos trabajos. Con base a lo expuesto, también se incluyen prácticas ineficientes e inadecuadas debido a la implementación de quema y tala de árboles para obtener un mejor rendimiento de la tierra, además del uso excesivo de e indiscriminado de los fertilizantes; lo cual, genera un impacto ambiental a los suelos, agua, aire, etc.

Ante esta situación, el objeto principal de la investigación se basa en el estudio del comportamiento de las cepas nativas de los géneros *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. como microorganismos potenciales para la fijación de nitrógeno y producción de auxina, que puedan fomentar el crecimiento de los pastos *Panicum Maximun* cv. *Tanzania* en un modelo experimental que brindaron un análisis exhaustivo del nivel de ritmo de crecimiento y desarrollo en diferentes ambientes. En este enfoque de investigación, logrará incentivar de manera positiva el uso de biofertilizantes idóneos para el desarrollo agropecuario de las regiones de Colombia, de forma sostenible y con un costo de producción bajo, con un efecto potencial de economía sostenible del campo, con efectos positivos en el ambiente por los niveles bajos de contaminación que representan y su sostenibilidad en materia de fertilidad del suelo.

2. MATERIALES Y METODO

2.1 Etapa I zona de muestreo.

2.1.1 Zona de muestreo.

Se realizó esta investigación en el año 2022 específicamente entre los meses de junio a diciembre en el municipio de La Paz, Cesar; que se encuentra ubicado en el departamento del Cesar. Limite por el norte con el departamento de La Guajira, al noroccidente con el municipio de Valledupar, al nororiente con el municipio de Manaure, al oriente con Venezuela, al occidente con el municipio de San Diego y al sur con el municipio de Agustín Codazzi [40].

2.1.2 Recolección de muestras.

Las muestras de suelos se recolectaron en seis fincas localizadas en el municipio, donde su sistema de cultivo estaba representado principalmente por el pastoreo extensivo, donde son utilizados parte de los terrenos de las fincas objeto de estudio para cultivos de maíz, pasto de corte y caña de azúcar.

Se recolectó en cada parcela de los cultivos descritos 15 muestras de suelo a nivel de la rizosfera a una profundidad de 12 a 15 cm, donde el muestreo se realizó en forma de zig-zag a lo largo del cultivo. Al culminar el recorrido en cada cultivo, fueron mezcladas para así realizar un cuarteo que permitieran obtener una muestra representativa de 500g aprox. Se toma un punto de las muestras y se introducen 1g de la muestra en un frasco de vidrio mediano el cual contiene un medio de burk's líquido (caldo libre de nitrógeno), para realizar el aislamiento primario.

2.2 Etapa II. aislamiento e identificación microbiana

Cada una de las muestras que se tomaron en la localidad del muestreo se sembró por agotamiento, en un medio sólido Burk's a una temperatura de 28 °C durante tres días. A las bacterias aisladas se le realizaron la caracterización a nivel de género, basados en los métodos descritos en el manual de Bergey's, [41] [42]:

- Observaciones microscópicas con tinción de Gram, llevadas a cabo en el medio selectivo Burk's en donde se detallaron cambios de color característicos debido a la producción de ácidos, morfología de las colonias, (forma, tamaño, elevación, margen, superficies y opacidad). Además, se realizaron Pruebas bioquímicas empleando diferentes fuentes de carbono. Los ensayos se realizaron por triplicado.

2.3 Etapa III. evaluación de la producción de AIA y amonio

2.3.1 Determinación del Ácido Indol Acético (AIA).

La determinación de la producción del ácido indol acético se llevó a cabo por método colorimétrico utilizando el reactivo de Salkowski.

Procedimiento:

- Se tomó una colonia de cada aislado y se inoculó en 25 ml del medio líquido Burk's.
- Se agregó L-triptófano (100 ppm) para inducir a la producción del AIA.
- Se colocó en un Shaker con agitación constante a 120 rpm y a una temperatura de 30°C, durante 72 horas en la oscuridad.
- Al finalizar este proceso se centrifugaron alícuotas de 10ml a 4000 rpm durante 20 minutos.
- En un tubo de ensayo se tomaron 4 ml de sobrenadante y se adicionó 2.0 ml de reactivo Salkowski (relación 2:1) a cada muestra; el periodo de revelado fue de 30 min.
- Luego se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 11 UV –Vis [43] [44].
- La técnica fue modificada, adaptada y estandarizada según las condiciones del equipo se utilizó una longitud de onda de 527 nm y la ecuación de calibrado $y = 0.02299x - 0.0759$, $R^2 = 0.9996$. Todos los ensayos se hicieron por triplicados [45].

2.3.2 Determinación de la producción de ion amonio.

La actividad fijadora de nitrógeno se llevó a cabo por valoración del ion amonio utilizando el método indirecto colorimétrico de Berthelot (fenol hipoclorito).

Procedimiento:

- Se tomaron 10g de suelo y se le adicionaron 100ml de cloruro de potasio 2M, luego de agitación durante 1 hora se dejó en reposo.
- Después de un tiempo se sacó el sobrenadante para posteriormente evaluar el ion amonio siguiendo el método de Berthelot, modificado por Weatherburn, (1967).
- Se empleó un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 11 UV –Vis a una longitud de 632.9nm se manejó la técnica modificada y estandarizada de acuerdo con las condiciones del equipo; se empleó la ecuación de calibrado $y = 0.177x + 0.0041$ $R^2 = 0.9942$. Todos los ensayos se hicieron por triplicados [45].

2.4 Etapa IV: evaluación de bioinoculantes sobre un cultivo de pasto guinea (*panicum maximum* cv. *tanzania*).

2.4.1 Preparación a pequeña escala.

Para la preparación de los biopreparados se utilizaron los microorganismos *Azotobacter* (F₁h) y *Azospirillum* (3A), posteriormente, se produjeron a pequeña escala en el medio de cultivo burk's, el conteo se realizó usando diluciones seriadas de la muestra y el método de vertido en placa [46].

2.4.2 Semillas usadas y desinfección.

Se emplearon semillas comerciales *Panicum maximum* cv. *Tanzania* con un porcentaje de pureza de 76.4% y germinación 73.0%. Las semillas se lavaron con hipoclorito de sodio al 5% para eliminar los productos químicos de la certificación de la semilla. Posteriormente se pusieron a germinar directamente en las unidades experimentales conformadas por macetas de madera dividida en 10 cm² cada sección, las semillas se sembraron a un 1 cm de profundidad colocando en total 30 semilla en el centro de cada espacio de la cuadrícula. Para este experimento se establecieron 10 tratamiento con 3 repeticiones para cada uno de ellos.

2.4.3 Lugar del ensayo.

El experimento se desarrolló en el municipio de la Paz Cesar en una finca cercana a la localidad, las temperaturas oscilan entre 28.4°C a 40°C. Con respecto al suelo se tuvieron en cuenta los parámetros como porcentaje de humedad, carbono orgánico, materia orgánica, nitrógeno y pH.

2.4.4 Tratamientos.

Para la realización del ensayo preliminar se realizaron los siguientes experimentos. (ver tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos del bioensayo

NOMENCLATURA	TRATAMIENTO
A	Testigo (Sin Inoculación)
B	Inoculo: Azospirillum Concentración 10 ⁶
C	Inoculo: Azospirillum Concentración 10 ⁷
D	Inoculo: Azospirillum Concentración 10 ⁸
E	Inoculo: Consorcio (Azospirillum + Azotobacter) Concentración 10 ⁶
F	Inoculo: Consorcio (Azospirillum + Azotobacter) Concentración 10 ⁶
G	Inoculo: Consorcio (Azospirillum + Azotobacter) Concentración 10 ⁷
H	Fertilización
I	Fertilización + Inoculo Consorcio Concentración 10 ⁸
J	Inoculo: Azotobacter 10 ⁷

Posteriormente se evaluaron los tratamientos teniendo en cuenta tres observaciones cada 7 días. En cada muestreo se recogieron tres plantas al azar de cada unidad experimental y se evaluaron los siguientes parámetros biométricos [47] [48]:

- Número de hojas (N°) Se realizó un conteo de las hojas cotiledonales y verdaderas fotosintéticamente activas en las diferentes plantas.
- Área foliar cm²: Se determinó en cada una de las plantas muestreada, en hojas cotiledonales y verdaderas activas.
- Longitud de la planta (cm): Para determinar este parámetro se tomó en cuenta desde la raíz, hasta la hoja más larga de cada una de las plantas muestreadas.
- Longitud de la raíz cm: En este parámetro como su nombre lo indica se tomó la medición de la raíz principal de cada planta muestreada.
- Evaluación bromatológica del tratamiento uno, con el tratamiento que dé mayores resultados en crecimiento.

2.4.5 Diseño experimental.

Este ensayo se distribuyó en un diseño completamente al azar con diez tratamientos y tres repeticiones y una unidad experimental por repetición. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza y las medias fueron comparadas mediante contrastes ortogonales; considerando $P < 0.05$ y $P < 0.01$ como diferencias significativas y altamente significativas, respectivamente por el método de ANOVA para su evaluación. Las variables evaluadas fueron: longitud de la planta, número de hojas, área foliar, longitud de la raíz y contenido de nitrógeno foliar.

3. RESULTADOS

3.1 Aislamiento e identificación.

Se aislaron un total de 20 bacterias de la rizosfera de plantas de plátano, mango, caña de azúcar y en especial gramíneas y rastrojos, ubicadas en el municipio de La paz del departamento del Cesar.

A estos microorganismos se le hicieron observaciones microscópicas llevadas a cabo en el medio selectivo Burk's en donde se detallaron cambio de color característicos debido a la producción de ácidos, morfología de las colonias, (forma, tamaño elevación, margen, superficies y opacidad) que se evidencian a continuación:

Tabla 2. Observación de las bacterias aisladas a nivel macro y microscópico.

Microorganismo	Observaciones		
	Macroscópicas	Microscópicas	Bioquímicas
<i>Azospirillum</i> (3A)	Colonias pequeñas, irregulares, blancas y opacas planas.	Su forma es de bastón curvo. Gram negativa	SIM: ▪ H₂S (-) ▪ Indol (-) ▪ Movilidad (+).
			CITRATO:(-)
			UREA: (+)
			LIA: Descarboxilación
			TSI: k/k
<i>Azotobacter</i> (F₁h)	Colonias transparentes, brillantes de borde entero, elevadas con apariencia de gotas	Su forma es esférica. Gram negativos	SIM: ▪ H₂S (-) ▪ Indol (-) ▪ Movilidad (-).
			CITRATO (-)
			UREA (+)
			LIA (-)

	de agua sobre el agar.		TSI: k/k
--	---------------------------	--	----------

3.2 Evaluación de la producción de auxina.

Al momento de utilizar el reactivo de Salkoski, se logró evidenciar, que, presenta un alto nivel de detección del compuesto indol, mostrando un indicativo de color rosado a rojo generado principalmente por las bacterias como *Pseudomonas* sp., *Azotobacter* sp., *Erwinia* sp., *Azospirillum* sp., [49] [50] (ver **Figura 1**).

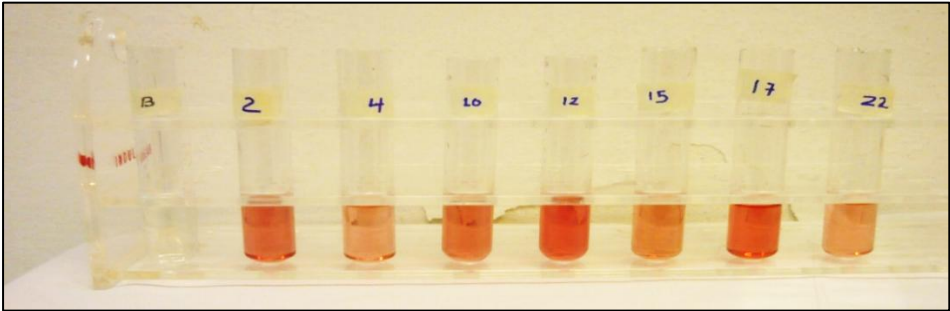


Figura 1. Ácido Indolacético (AIA) producido por bacterias aisladas aplicando el reactivo de Salkoski.

Las bacterias aisladas fueron evaluadas en la producción de AIA y amonio, obteniendo que, las bacterias aisladas presentaron valores de AIA dentro del rango de 3 a 50 ppm (mg/l) para la auxina.

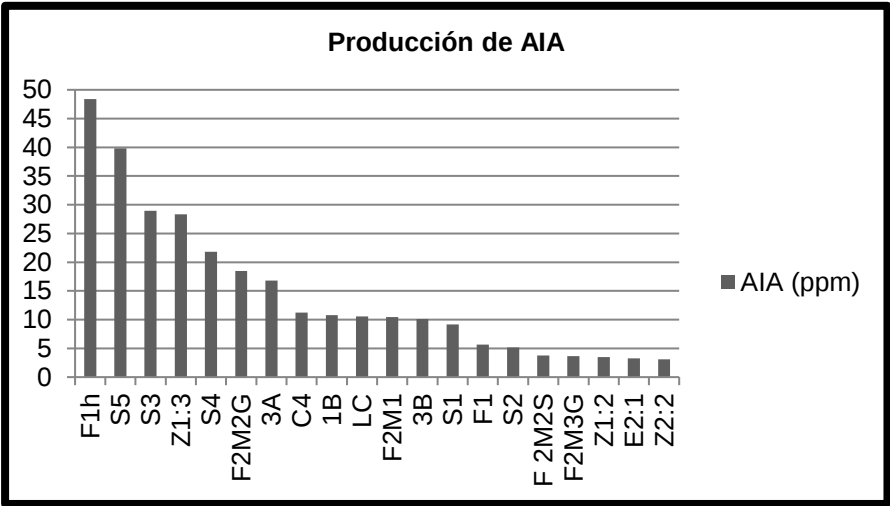


Figura 2. Producción de AIA en las bacterias aisladas.

Tabla 3. Datos de evaluación de contenidos de AIA en las bacterias aisladas.

Microorganismo	AIA (ppm)
F ₁ h	48,38

Microorganismo	AIA (ppm)
S ₅	39,80
S ₃	28,96
Z1:3	28,34
S ₄	21,81
F2M2G	18,47
3A	16.79
C ₄	11,21
1B	10,81
LC	10,59
F ₂ M ₁	10,46
3B	10,11
S ₁	9,18
F ₁	5,68
S ₂	5,15
F ₂ M ₂ S	3,78
F ₂ M ₃ G	3,65
Z ₁ :2	3,47
E ₂ :1	3,25
Z ₂ :2	3,12

Con relación a los resultados evidenciados en la **Figura 2y** **Tabla 3**, se puede evidenciar que; la bacteria que arrojó mayor valor de IAI o auxina fue la Azotobacter (F_{1h}). Esto se debe principalmente a que, en esta se lleva a cabo procesos metabólicos que la bacteria realiza para el crecimiento y desarrollo de las especies de plantas desde la raíz, permitiendo que la planta tenga actividad promotora de crecimiento y desarrollo [51].

3.4 Evaluación de la fijación biológica de nitrógeno.

Para la evaluación de fijación de nitrógeno, se usaron la misma cantidad de bacterias que mostraron un rango determinado de contenido de IAI que fueron en total 20 bacterias. De esta cantidad, solamente 3 de ellas (1B-F1-Z2:2) mostraron niveles bajo de amonio tomando como referencia la muestra en blanco (F1h-3A); pero, las demás muestras evidenciaron rangos de fijación de nitrógeno de 3 a 7ppm.

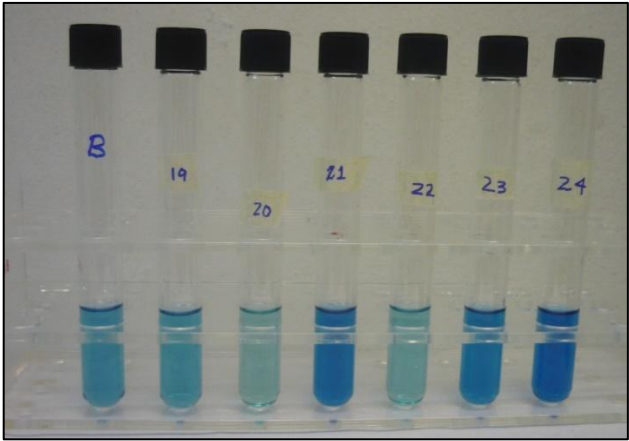


Figura 3. Observación de la presencia de Amonio en las bacterias aisladas.

Con esta información, se demuestra que, estas bacterias tienen altos potenciales de fijación de amonio dando lugar a una posible alternativa de ser un medio fertilizante de nitrógeno orgánico, en donde pueda favorecer el crecimiento y desarrollo de las plantas; además de que juega un papel clave para los sistemas productivos agrícolas que tiene la región de La Paz, que permitan brindar así un efecto positivo a la aplicación de este tipo de microorganismos en los cultivo para incrementar estos niveles de nitrógeno en amonio y que reemplacen el uso de fertilizantes artificiales [45].

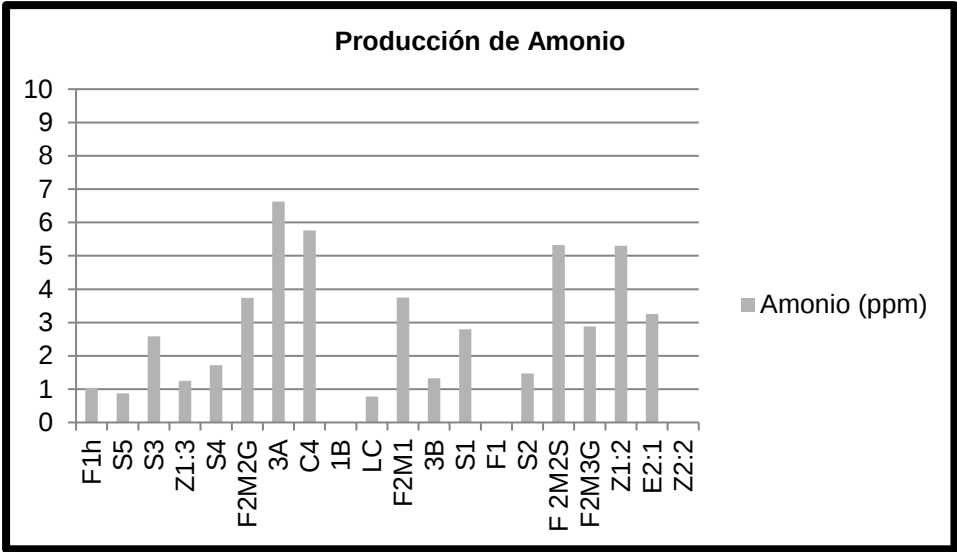


Figura 4. Producción de Amonio.

Tabla 4. Datos de evaluación de Fijación de Nitrógeno en Amonio sobre las bacterias aisladas.

Microorganismo	Amonio (ppm)
F ₁ h	1,04

Microorganismo	Amonio (ppm)
S ₅	0,87
S ₃	2,58
Z1:3	1,25
S ₄	1,72
F2M2G	3,74
3A	6,63
C ₄	5,76
1B	0
LC	0,78
F ₂ M ₁	3,75
3B	1,33
S ₁	2,79
F ₁	0
S ₂	1,47
F ₂ M ₂ S	5,32
F ₂ M ₃ G	2,88
Z ₁ :2	5,30
E ₂ :1	3,26
Z ₂ :2	0

Si se comparan los resultados obtenidos que determinaron los niveles de AIA y amonio, se pudo observar que, el microorganismo *Azotobacter sp* produce muy bien auxina (48,38ppm), pero con un nivel bajo de amonio (1,04ppm). Por su parte, el microorganismo *Azospirillum sp* demostró mayor producción de amonio (6,63ppm), pero con una producción promedio de auxina (16,79ppm). Posteriormente, estas bacterias se le realizaron una serie de diluciones seriadas con concentraciones de 10⁶, 10⁷ y 10⁸ UFC, las cuales se verificaron por el método de células viables.



3.5 Bioensayo de evaluación del crecimiento del pasto con las bacterias inoculantes

Los bioensayos se realizaron en el municipio de la Paz Cesar en la finca Corralito cercana a la localidad, a condiciones de temperatura y humedad controladas, presentando las siguientes condiciones en el suelo: (humedad 7,92%, carbono orgánico 1,13%, materia orgánica 1,94%, porcentaje de nitrógeno 0,50% y un pH de 7.0).

Para los bioensayos, se tomaron las concentraciones de diluciones de los microorganismos de esta investigación que fueron posteriormente plantados en la especie de pastos referenciadas anteriormente, además, para verificar la eficiencia, se realizó un bioensayo piloto usando urea (fertilización nitrogenada). Los resultados se evidencian en la tabla:

Tabla 5. Resultados de tratamiento con mayor rendimiento en el crecimiento del pasto usando diferentes concentraciones de microorganismos y fertilizantes.

Muestra	Longitud de la planta "cm" (promedio)	Longitud de la raíz "cm" (promedio)	Numero de hojas	Área foliar "cm ² " (suma total)
Testigo	28,9	8,8	4	56,14
Azospirillum 10 ⁶	42,7	11,6	5	142,38
Azotobacter 10 ⁷	32,4	11,5	5	82,7
Consorcio 10 ⁷	37	9,4	5	98,22
Fertilizantes + consorcio 10 ⁸ (biofertilización)	38,8	9,8	5	131,77
Fertilización	34,3	8,1	5	103,45

Con base en los resultados de los primeros bioensayos, se puede evidenciar que, cantidad de hojas de los ensayos más representativos no evidenciaron una diferencia considerable, ya que, en su mayoría, arrojó resultados entre 4 a 5 hojas respectivamente, siendo menor únicamente el testigo. Es decir, para esta variable dentro de la investigación, todos los tratamientos no representaron significancia alguna.

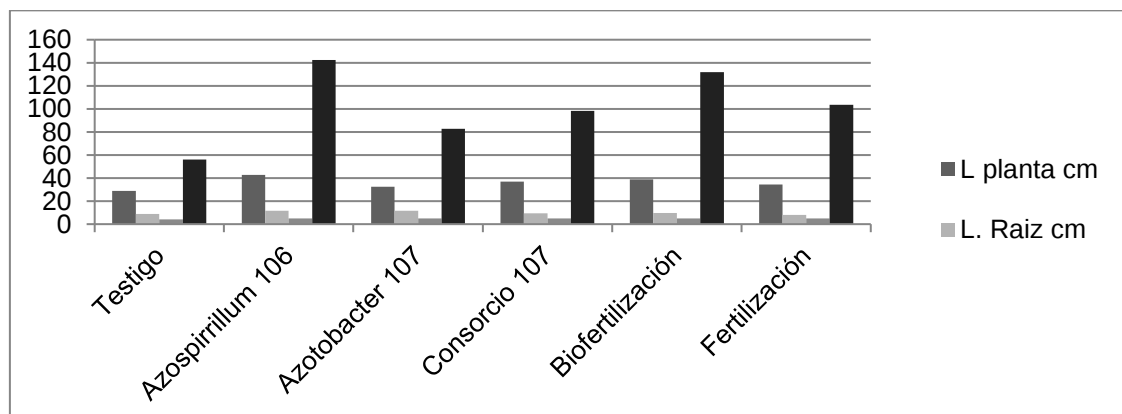
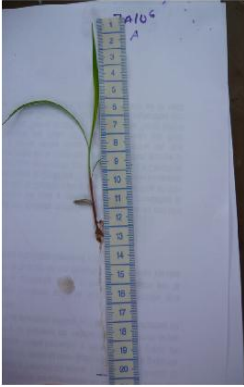
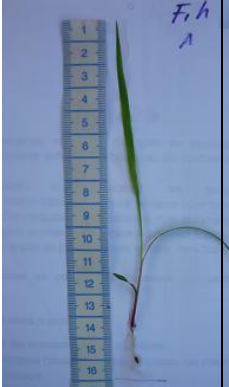


Figura 5. Resultados de los tratamientos según las variables observadas en el bioensayo.

				
Azospirillum 10⁶	Testigo	Azotobacter 10⁷	Biofertilización	Fertilización

Figura 6. Visualización del área foliar de los bioensayos realizados.

Por su parte, si se analiza el área foliar de los experimentos, se logró observar que los tratamientos Azospirillum 10⁶ y biofertilización 10⁸ presentaron valores altos, seguidamente de la fertilización y consorcio con valores intermedios, mientras que el testigo presentó el valor más bajo entre todos los ensayos. Por ello, se predice que, el microorganismo Azospirillum es candidato a ser un biofertilizante, debido a que, no requieren de fertilización nitrogenada ni de consorcio para poder desempeñar su capacidad de fijación biológica de nitrógeno y producción de auxina.

Días	(Testigo)	(Azospirillum) ⁶	(Azotobacter) ⁷	Fertilización	Biofertilización
7	 Planta:14,5 cm Raíz :3,5 cm	 Planta:19,8 cm Raíz :8cm	 Planta:16 Raíz :2,6cm	 Planta:17,5 cm Raíz :3cm	 Planta:18,5 cm Raíz :5cm

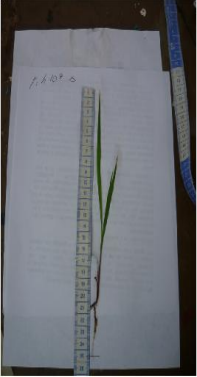
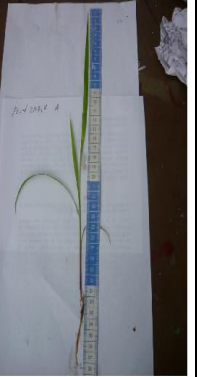
Días	(Testigo)	(<i>Azospirillum</i>) ⁶	(<i>Azotobacter</i>) ⁷	Fertilización	Biofertilización
14	 Planta: 22,5 cm Raíz : 7,5cm	 Planta: 35 cm Raíz : 7,7cm	 Planta: 28 cm Raíz : 4,6cm	 Planta: 32 cm Raíz : 7cm	 Planta: 37,5 cm Raíz : 7,3cm
21	 Planta: 30,8 cm Raíz : 8,4cm	 Planta: 47 cm Raíz : 10,5cm	 Planta: 34,2 cm Raíz : 13cm	 Planta: 27 cm Raíz : 6cm	 Planta: 38,5 cm Raíz : 9cm

Figura 7. Visualización de longitud de planta y raíz de los bioensayos realizados.

Para la variable de la longitud de la planta analizada en los ensayos, se logró visualizar un aumento considerable de esta longitud en todos los tratamientos aplicados, siendo el mayor referente el tratamiento *Azospirillum* 10^6 si se compara con el testigo; el cual resultó ser muy significativo.

En la longitud de la raíz, al igual que la planta presentaron un aumento considerable en todos los tratamientos, evidenciándose el mayor incremento en los tratamientos *Azospirillum* 10^6 y *Azotobacter* 10^7 , con respecto al último microorganismo, este demostró mayor producción de auxina en el momento de la evaluación, motivo por el cual se explica el efecto positivo que se generó en la raíz.

Estos resultados evidenciados en este bioensayo, se debe principalmente a la asociación de las plantas con las rizobacterias, las cuales, según Ziane., Hamza., & Meddad-Hamza (2021) atribuyen este efecto conocido como hipótesis aditivas, es decir, que los microorganismos que se encuentra en la rizosfera operan simultáneamente o en asociación con la planta. Con esto, se confirma que los suelos utilizados en este experimento presentaron una asociación benéfica, brindando así mejores resultados en rendimiento y beneficios a nivel agroecológico [10].

De modo general, la mayor capacidad para promover el crecimiento vegetal fue alcanzada por la cepa de *Azospirillum* (3A), que ocupó los primeros lugares en los parámetros evaluados, destacándose también por alcanzar altos niveles en la producción de amonio y valores intermedios de la producción de auxina.

Según Domínguez *et. al.* 2020 explican que, el aumento del sistema radical es también uno de los mecanismos que puede resultar en una mayor absorción de minerales y agua causado por la producción de sustancias promotoras del crecimiento radical; específicamente por la producción de auxina o el ácido 3-inodolacético (AIA) [14].

Asimismo, la fijación biológica de nitrógeno en microorganismos de vida libre asociados a gramíneas constituye un mecanismo importante de promoción del crecimiento [52], aunque es necesario tener en cuenta, la interacción planta-microorganismo que permitan conocer con mayor exactitud el efecto beneficioso en cada caso particular [53].

3.6 Análisis estadístico.

Se ejecutó el análisis estadístico del diseño experimental aplicado para los tratamientos bioensayo con inoculantes de pasto *Panicum maximum* c.v *Tanzania* (ver **Tabla 1**) por medio de comparación de medias usando el software IBM SPSS Statistics.

Tabla 6. Análisis estadístico de variable de longitud de tallo por comparación de medias para los tratamientos usando el software estadístico.

Contraste	GL	Contraste SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	
Testigo vs B	1	284.2816667	284.2816667	18.39	0.0004	**
Testigo vs D	1	139.2016667	139.2016667	9.01	0.0071	**
Testigo vs F	1	97.6066667	97.6066667	6.32	0.0206	*
Testigo vs H	1	43.7400000	43.7400000	2.83	0.1081	ns
Testigo vs I	1	147.0150000	147.0150000	9.51	0.0058	**
H vs B	1	105.0016667	105.0016667	6.79	0.0169	*
H vs D	1	26.8816667	26.8816667	1.74	0.2021	ns
H vs F	1	10.6666667	10.6666667	0.69	0.4159	ns
I vs H	1	30.3750000	30.3750000	1.97	0.1763	ns
I vs D	1	0.1066667	0.1066667	0.01	0.9346	ns
I vs B	1	22.4266667	22.4266667	1.45	0.2424	ns

Nota. * = Diferencia significativa $p < 0.05$.

** = altamente significativa $p < 0.01$.

ns = no significativa.

testigo.

B: Azospirillum 10^6 .

C: Azospirillum 10^7

D: Azospirillum 10^8

E: consorcio 10^6

F: consorcio 10^7 .

G: consorcio 10^8 .

H: fertilización.

I: fertilización + consorcio 10^8 .

J: Azotobacter 10^7

Con respecto a la tabla anterior, si se compara las medias se evidencia una significancia alta ($P < 0.01$) entre el tratamiento testigo (Sin inoculación) y los tratamientos B (inoculación con *Azospirillum* en la concentración 10^6), D (inoculación con *Azospirillum* en la concentración 10^8) y el tratamiento I (Fertilizante + consorcio 10^8).

Además, se presentó diferencia significativa ($P < 0.05$) al compararse el tratamiento testigo con el tratamiento F (Inoculación del Consorcio concentración 10^7); también hubo significancia ($P < 0.05$) entre el tratamiento de Fertilización (H) y *Azospirillum* concentración 10^6 (B). Los anteriores resultados señalan que los tratamientos con inoculación microbiana tienen un efecto positivo en la longitud del tallo.

Tabla 7. Análisis estadístico de variable de longitud de raíz por comparación de medias para los tratamientos usando el software estadístico.

Contraste	GL	Contraste SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	
Testigo vs B	1	12.04166667	12.04166667	4.14	0.0555	ns
Testigo vs D	1	0.08166667	0.08166667	0.03	0.8687	ns
Testigo vs F	1	0.66666667	0.66666667	0.23	0.6375	ns
Testigo vs H	1	0.60166667	0.60166667	0.21	0.6543	ns
Testigo vs I	1	1.50000000	1.50000000	0.52	0.4812	ns
H vs B	1	18.37500000	18.37500000	6.31	0.0207	*
H vs D	1	1.21500000	1.21500000	0.42	0.5256	ns
H vs F	1	2.53500000	2.53500000	0.87	0.3619	ns
I vs H	1	4.16666667	4.16666667	1.43	0.2456	ns
I vs D	1	0.88166667	0.88166667	0.30	0.5882	ns
I vs B	1	5.04166667	5.04166667	1.73	0.2031	ns

Nota. * = Diferencia significativa $p < 0.05$.

** = altamente significativa $p < 0.01$.

ns = no significativa.

testigo.

B: *Azospirillum* 10^6 .

C: *Azospirillum* 10^7

D: *Azospirillum* 10^8

E: consorcio 10^6

F: consorcio 10^7 .

G: consorcio 10^8 .

H: fertilización.

I: fertilización + consorcio 10^8 .

J: *Azotobacter* 10^7

Con base en la tabla anterior, si se compara las medias se evidencian una diferencia significativa al 95% de los datos ($P < 0.05$) entre el tratamiento H (Fertilización química) y el tratamiento B (inoculación con *Azospirillum* concentración 10^6). De acuerdo con lo anterior, se demuestra que la inoculación con

Azospirillum 10^6 en pasto *Panicum maximum* c.v Tanzania produce incrementos significativos en la raíz y por consiguiente sustituye la aplicación de fertilizantes nitrogenados. Las demás comparaciones denotan que no existe diferencia significativa entre los tratamientos; por tanto, el crecimiento de la raíz la inoculación no tiene incidencia.

Tabla 8. Análisis estadístico de variable del área foliar por comparación de medias para los tratamientos usando el software estadístico.

Contraste	GL	Contraste SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	
Testigo vs B	1	366.2960016	366.2960016	10.70	0.0016	**
Testigo vs D	1	504.6664500	504.6664500	14.90	0.0002	**
Testigo vs F	1	124.3990222	124.3990222	3.67	0.0593	ns
Testigo vs H	1	98.3736889	98.3736889	2.90	0.0926	ns
Testigo vs I	1	317.7720500	317.7720500	9.28	0.0032	**
H vs B	1	84.1536889	84.1536889	2.48	0.1193	ns
H vs D	1	127.9466722	127.9466722	3.78	0.0558	ns
H vs F	1	1.5254222	1.5254222	0.05	0.8325	ns
I vs H	1	44.5253389	44.5253389	1.30	0.2579	ns
I vs D	1	21.5168000	21.5168000	0.63	0.4305	ns
I vs B	1	6.0713620	6.0713620	0.18	0.6749	ns

Nota. * = Diferencia significativa $p < 0.05$.

** = altamente significativa $p < 0.01$.

ns = no significativa.

testigo.

B: Azospirillum 10^6 .

C: Azospirillum 10^7

D: Azospirillum 10^8

E: consorcio 10^6

F: consorcio 10^7 .

G: consorcio 10^8 .

H: fertilización.

I: fertilización + consorcio 10^8 .

J: Azotobacter 10^7

En la evaluación del área foliar, se observa en la comparación de medias una diferencia significativa del 99% ($P < 0.01$) entre el tratamiento testigo (Sin inoculación) y los tratamientos B (inoculación con *Azospirillum* en la concentración 10^6), D (inoculación con *Azospirillum* en la concentración 10^8) y el tratamiento I (Fertilizante + consorcio 10^8). Las demás comparaciones denotan que no existe diferencia significativa entre los tratamientos.

4. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

Los resultados obtenidos evidencian muestran que el uso de *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. en la inoculación del pasto *Panicum maximum* cv. Tanzania generó un incremento significativo en parámetros como la longitud de la planta, longitud de la raíz y área foliar, siendo más prominente el efecto de *Azospirillum* sp. a la concentración de 106, 107 y 108 UFC. Estos hallazgos son coherentes con lo reportado por Bashan (2010), quienes encontraron que la inoculación con *Azospirillum* en plantas incrementó el crecimiento radicular y la absorción de nutrientes debido a la producción de fitohormonas como auxinas y giberelinas. Este mecanismo, también observado en nuestro estudio, plantea que *Azospirillum* sp. contribuye al crecimiento mediante la estimulación directa del sistema radicular. [54]

En cuanto a la producción de auxinas, el estudio de Souza, Ambrosini, y Passaglia (2015) con bacterias del género *Azospirillum* reporta una producción elevada de ácido indol acético (AIA), lo cual coincide con los resultados obtenidos en esta investigación, donde se observó una alta concentración de auxina en las bacterias *Azotobacter* sp., particularmente en la cepa F1h [55]. La producción de AIA ha sido ampliamente asociada con la promoción del crecimiento de plantas, como indican Pii et al. (2015) y Radhakrishnan, Hashem, y AbdAllah (2017), quienes sostienen que esta fitohormona desempeña un papel crucial en la estimulación de la elongación celular en los brotes y raíces [56] [57].

Diferencias notables surgieron en la fijación de nitrógeno entre *Azospirillum* y *Azotobacter*. En nuestro estudio, *Azospirillum* sp. mostró mayor capacidad de fijación de nitrógeno en comparación con *Azotobacter* sp., resultado que difiere de lo encontrado por Vessey (2003), quien reportó que *Azotobacter* posee una tasa de fijación de nitrógeno superior en condiciones controladas [58]. Esta discrepancia puede deberse a las condiciones ambientales y a las variaciones en el tipo de suelo, como lo sugieren Domínguez et al. (2020) [14], quienes demostraron que la eficacia de la fijación de nitrógeno por *Azotobacter* depende en gran medida de la disponibilidad de fósforo y potasio en el suelo.

Otro aspecto relevante es la comparación de los efectos de bioinoculantes y fertilizantes convencionales. Según Khosro y Yousef (2012) [59], la inoculación con *Azospirillum* puede sustituir hasta un 50% del fertilizante nitrogenado sin comprometer el rendimiento del cultivo. Los resultados de nuestro estudio corroboran esta afirmación, ya que los tratamientos con *Azospirillum* sp. a concentración de 106 y 108 UFC lograron rendimientos comparables a los tratamientos con fertilización química, sugiriendo que la inoculación con *Azospirillum* puede ser una alternativa viable para reducir el uso de fertilizantes sintéticos.

Por otro lado, estudios recientes como los de Terry y Medina (2019) en cultivos de tomate, revelaron que la aplicación de *Azospirillum* sp. contribuyó a una disminución del 30% en el uso de fertilizantes nitrogenados, con un incremento en la eficiencia del cultivo en un 11%. Estos resultados son congruentes con nuestras observaciones en el área foliar y longitud de planta del pasto *Panicum maximum* cv. Tanzania, en donde los tratamientos con *Azospirillum* sp. demostraron rendimientos óptimos sin necesidad de fertilización adicional, confirmando la adaptabilidad de esta bacteria como biofertilizante sostenible en distintos tipos de cultivos. [60].

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación destacan la importancia de las bacterias rizosféricas como herramientas sostenibles en la mejora del crecimiento y calidad nutricional del pasto *Panicum maximum* cv. Tanzania. En particular, las bacterias nativas *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. demostraron un impacto significativo en parámetros biométricos como longitud de planta, longitud de raíz y área foliar. Este hallazgo subraya el potencial de estos microorganismos como biofertilizantes efectivos, capaces de reducir el uso de fertilizantes químicos y, por ende, su impacto ambiental negativo.

El análisis comparativo evidenció que *Azospirillum* sp. en concentraciones de 106 UFC tuvo el desempeño más destacado en términos de fijación de nitrógeno y producción de auxinas, superando incluso a los tratamientos con fertilización química tradicional. Estos resultados son consistentes con estudios previos que señalan a las rizobacterias como promotoras del crecimiento vegetal, debido a su capacidad para producir fitohormonas como el ácido indolacético (AIA) y facilitar la absorción de nutrientes esenciales. Además, la implementación de estas bacterias en prácticas agropecuarias ofrece una solución ecológica al problema del uso excesivo de fertilizantes nitrogenados, contribuyendo a la sostenibilidad de los sistemas agrícolas en la región de La Paz, Cesar. Este abordaje no solo reduce los costos de producción para los agricultores, sino

que también minimiza los riesgos asociados a la contaminación del suelo y los recursos hídricos, favoreciendo un modelo de agricultura regenerativa.

Sin embargo, aunque los resultados obtenidos son prometedores, se recomienda realizar estudios adicionales bajo condiciones de campo a gran escala para validar la eficiencia de estos biofertilizantes en diferentes escenarios agroecológicos según el clima y tipo de suelo. También es fundamental evaluar la interacción a largo plazo entre las bacterias inoculadas y otros microorganismos del suelo, así como su efecto en cultivos distintos al pasto *Panicum maximum* cv. *Tanzania*.

6. AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su más profunda gratitud a la Universidad Popular del Cesar por medio del departamento de Ciencias naturales y Medio Ambiente por facilitar el acceso a los recursos de laboratorios, espacios fundamentales para el desarrollo integral de esta investigación. Asimismo, agradecemos el empoderamiento brindado a nosotros como docentes investigadores mediante el acceso a una sofisticada biblioteca virtual y a destacadas bases de datos científicas, herramientas esenciales para la estructuración y análisis del estudio realizado. Extendemos nuestro especial reconocimiento al Grupo de Investigaciones GRESBIOCA por permitirnos ser parte activa del mismo y contribuir así al avance científico y académico en esta región de Colombia.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] B. Martínez, V. Vejar, J. Bello-Martínez, F. Palemón, Y. Romero, D. Orbe y J. Toribio, «Bacterias promotoras de crecimiento vegetal para incrementar la producción de Lactuca sativa L. en campo,» *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, vol. 11, nº 2, pp. 449-452, 31 marzo 2021.
- [2] Romero-Perdomo, F., Criollo Campos, P. J., Rodríguez, A. J., Rusinque, M. C., & Bonilla Buitrago, R. R., «Efecto de fertilizantes y herbicidas sobre el crecimiento in vitro de *Azospirillum brasilense* C16,» *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, vol. 35, nº 2, pp. 117-120, 2015.
- [3] Lara Mantilla, C., Oviedo Zumaqué, L. E., & Betancur Hurtado, C. A., «Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos,» *Zootecnia tropical*, vol. 29, nº 2, pp. 187-194, 2011.
- [4] Abdel-Latef, A. A. H., Abu-Alhmad, M. F., Kordrostami, M., Abo-Baker, A. B. A. E., & Zakir, A., «Inoculation with *Azospirillum lipoferum* or *Azotobacter chroococcum* reinforces maize growth by improving physiological activities under saline conditions,» *Journal of Plant Growth Regulation*, vol. 39, pp. 1293-1306, 2020.
- [5] Becquer, C., Puentes, A., Cabrera, A., Hernández, M., & Sánchez, A., «Effect of inoculation with beneficial microorganisms on agroproductive variables of *Morus alba*,» *Cuban Journal of Agricultural Science*, vol. 52, nº 2, pp. 1-15, 2021.
- [6] Abraham-Juárez, M., Espitia-Vázquez, I., Guzmán-Mendoza, R., OlaldePortugal, V., Ruiz-Aguilar, G. M., García-Hernández, J. L., ... Núñez-Palanius, H. G., «Development, yield, and quality of melon fruit (*Cucumis melo* L.) inoculated with mexican native strains of *Bacillus subtilis*,» *Agrociencia*, vol. 52, nº 1, pp. 91-102, 2018.
- [7] Fernández-Delgado, J., Hernández-Díaz, M. I., & Salgado-Pulido J. M., «Sistemas de biofertilización en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.),» *Avances*, vol. 23, nº 4, pp. 383-392, 2021.
- [8] Hernández-Valladares, N. L., Palemón-Alberto, F., Damián-Nava, A., Cruz-Lagunas, B., Herrera-Castro, N. D., Ortega-Acosta, S., ... A., Reyes-García, G., «Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento y su efecto en ecotipos de tomate,» *Revista Fitotecnica Mexicana*, vol. 44, nº 4, pp. 581-581., 2021.
- [9] Kumar, A., Maurya, B. R., & Raghuwanshi, R., «The microbial consortium of indigenous rhizobacteria improving plant health, yield and nutrient content in wheat (*Triticum aestivum*),» *Journal of Plant Nutrition*, vol. 44, nº 12, pp. 1942-1956, 2021.
- [10] Ziane, H., Hamza, N., & Meddad-Hamza, A., «Arbuscular mycorrhizal fungi and fertilization rates optimize tomato (*Solanum lycopersicum* L.) growth and yield in a Mediterranean agroecosystem,» *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, vol. 20, nº 7, pp. 454-458, 2021.

- [11] Zulueta-Rodríguez, R., Gómez-Merino, F. C., Alemán-Chávez, I., Núñez-Camargo M. C., & Lara-Capistrán, L., «Respuesta del cultivo de maíz a la bio-inoculación y fertilización química reducida en campo,» *Terra Latinoamericana*, vol. 38, nº 3, pp. 597-612, 2020.
- [12] Kamal, S., Kumar, M., Rajkumar., & Raghav, M., «Effect of Biofertilizers on Growth and Yield of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill),» *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, vol. 7, nº 2, pp. 7542-7545, mayo 2018.
- [13] Tripathi, J., A.K. Singh, P. Tiwari y M. Menaka, «Comparative effectiveness of different isolates of Azospirillum on nitrogen fixation and yield and yield attributing characters of tomato in Chhattisgarh,» *African Journal of Microbiology Research*, vol. 7, nº 28, pp. 3615-3620, 2013.
- [14] Domingues, Camila; Cecato, Ulyses; Trento, Thiago; Mamédio, Divaney; Galbeiro, Sandra, «Azospirillum spp. en gramíneas y forrajeras. Revisión,» *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, vol. 11, nº 1, pp. 223 - 240, 2020.
- [15] Attia, M. F., M. F. M. Shahin, M. A. Merwad, S. El-Hady Eman, and L. F. Haggag, «Effect of mineral, organic and bio-fertilization on productivity of moringa plant under saline conditions at north Sinai,» *Middle East J. Appl. Sci*, vol. 4, pp. 825-832, 2014.
- [16] Cárdenas Caro, D. M., M. F. Garrido Rubiano, B. A. Roncallo Fandiño y R. R. Bonilla Buitrago, «Inoculación con Azospirillum spp. y enterobacter aglomerans en pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.) en el departamento de Cesar (Colombia),» *Rev. Fac. Nac. Agron.-Medellín*, vol. 67, pp. 7271-7280, 2014.
- [17] R. B. A. B. S. a. Y. Y. Khademian, «Plant beneficial rhizospheric microorganisms (pbrms) mitigate deleterious effects of salinity in sesame (*Sesamum indicum* L.): Physio-biochemical properties, fatty acids composition and secondary metabolites content,» *Industr. Crops Prod*, vol. 136, pp. 129-139, 01 abril 2019.
- [18] Borišev, M.; Pajevi, S.; Nikolić, N.; Pilipovi, A.; Arsenov, D. y Župunski, M., «Mine site restoration using silvicultural approach,» *Bio-Geotechnologies for Mine Site Rehabilitation*, vol. 7, nº 1, pp. 115-130, 2018.
- [19] G. Saribay, *Growth and nitrogen fixation dynamic of azotobacter chroococcum in nitrogen-free and omw containing medium*, Estocolomo: MIDDLE EAST TECHNICAL UNIVERSITY, 2003.
- [20] M. Santana, C. Vásquez, M. Martínez y M. Franco, *Evaluación de cepas de Azotobacter spp. Y de bacterias solubilizadoras de fosfato (BFS), como biofertilizante mixto en cultivo crisantemo (Chrysanthemum morifolium var. Regal Suerte)*, Bogotá D.C., Cundinamarca: Pontificia Universidad Javeriana., 2002, p. 24.
- [21] J. Castillo, J. Casas y M. Martínez, *Evaluación de la degradación de endosulfan por Azotobacter chroococcum y determinación del efecto plaguicida sobre la fijación biológica de nitrógeno y sobre la producción de auxinas.*, Bogotá D.C., Cundinamarca: Pontificia Universidad Javeriana., 2005.
- [22] Alberto-Casas, M.; Pérez, J.; Jerez, F.; Fajardo-Molina, S.; Morcillo-Blanco, C. y Fernández-Pascual, M., «Respuesta de soya (*Glycine max* [L] Merr) a la inoculación con Azospirillum y Bradyrhizobium,» *Cultivos Tropicales*, vol. 40, nº 1, 2019.
- [23] L. Lozada y C. Rivas, *Evaluación del efecto de la inoculación con Evaluación del efecto de la inoculación con*, Trujillo, Trujillo: Universidad de Los Andes núcleo Rafael Rangel, 2010.
- [24] Álvarez-Berrios, N.; Campos-Cerqueira, M.; Hernández-Serna, A.; Delgado, C. J. A.; Román-Dañobeytia, F. y Aide, T. M., «Impacts of small-scale gold mining on birds and anurans near the Tambopata Natural Reserve, Peru, assessed using passive acoustic monitoring,» *Tropical Conservation Science*, vol. 9, nº 2, pp. 832-851, 2016.
- [25] Gupta, G.; Parihar, S. S.; Ahirwar, N. K.; Snehi, S. K. e Singh, V. , «Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for development of sustainable agriculture,» *Microbial & Biochemical Technology*, vol. 7, nº 2, pp. 96-102, 2015.
- [26] M. Negi, M. Sachdev y K. Tilak, «Nitrogen uptake by Azospirillum brasilense inoculated Barely (*Hordeum vulgare* L.) as influenced by N and P fertilization. J.,» *Nuclear Agric. Biology*, vol. 20, nº 1, pp. 25-32, 1991.
- [27] S. Nahidh y A. Gomah, «esponse of wheat to dual inoculation with VA-mycorrhiza and azospirillum, fertilized with NPK and irrigated with sewage effluent.,» *Arid Soil Research and Rehabilitation*, vol. 5, nº 2, pp. 83-96, 1991.
- [28] W. Hernández, *Aislamiento e identificación de cepas de Azospirillum, y evaluación de su capacidad para suplir las necesidades de nitrógeno en plantas Oryza Sativa (arroz)*, Cartago: Instituto Tecnológico de Costa Rica, 2003.

- [29] M. Torres-Rubio, S. Valencia-Plata, J. Bernal-Castillo y P. Martínez-Nieto, «Isolation of Enterobacteria, Azotobacter sp. and Pseudomonas sp., Producers of Indole-3-Acetic Acid and Siderophores, from Colombian Rice Rhizosphere,» *Revista Latinoamericana de Microbiología*, vol. 42, nº 1, pp. 171-176, 2000.
- [30] L. Aquilani, F. Favilli y F. Clementi, «Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of Azotobacter from soil samples,» *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 36, nº 9, pp. 1475-1483, 2004.
- [31] T. Galindo, J. Polanía, J. Sánchez, N. Moreno, J. Vanegas y G. Holguín, «Microbial Inoculantes Effects on Growth Promotion of Mangrove and Citrullus vulgaris San Andrés Isla, Colombia.,» *Acta Biológica Colombiana*, vol. 11, nº 1, pp. 83-97, 2006.
- [32] Ariza Rodríguez, S., González Murillo, O., & López Sánchez, J., «Ariza Rodríguez, S., González Murillo, O., & López Sánchez, J., Evaluación de fijadores biológicos de nitrógeno libres sobre el crecimiento de gramíneas en suelo degradado,» *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 22, nº 1, pp. 87-97, 2020.
- [33] Pilatuña Quishpe, M. F., González-Parra, M. M., Mero García, M. E., & Risco Arias, D., «Pilatuña Quishpe, M. F., González-Parra, M. M., Mero García, M. E., & Risco Arias, D., Evaluación agronómica de bacterias fijadoras de nitrógeno aisladas de suelos andinos en plántulas de lechuga y tomate.,» *Investigación agraria*, vol. 23, nº 1, pp. 47-52., 2021.
- [34] W. Sabra, A. Zeng y W. Deckwer, «Bacterial alginate: physiology, product quality and process aspects.,» *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 56, nº 1, pp. 315-325, 2001.
- [35] A. Cuesta, J. Monsalve, M. Mesa, A. Zapata y M. Trujillo, «Estrategias de cultivo en la producción de alginatos por Azotobacter vinelandii,» *Universidad Nacional de Colombia*, vol. 1, nº 1, pp. 1-8, 2006.
- [36] J. Caballero-Mellado, J. Onofre-Lemus, P. Estrada-de Los Santos y L. Martínez-Aguilar, «The tomato rhizosphere, an environment rich in nitrogen-fixing Burkholderia species with capabilities of interest for agriculture and bioremediation.,» *Appl Environ Microbiol.*, vol. 73, nº 16, pp. 5308 - 5319, 2007.
- [37] Padron, L., Torres Rodriguez, D. G., Contreras Olmos, J., López, M., & Colmenares, C., «Padron, L., Torres Rodriguez, D. G., Contreras Olmos, J., López, M., & Colmenares, C. (2012). Aislamiento de cepas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fósforo en un suelo alfisol venezolano.,» *Padron, L., Torres Rodriguez, D. G., Contreras Olmos, J., López, M., & Colmenares, C. (2012). Aislamiento de cepas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fósforo en un suelo alfisol venezolano.,» Revista mexicana de ciencias agrícolas*, vol. 3, nº 2, pp. 285-297., 2012.
- [38] A. Alay, *Comportamiento agronómico del pasto Panicum Maximum cv. Tanzania, en diferentes edades de corte en la comuna San Rafael Providencia de Santa Elena*, La Libertad, Santa Elena: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2022.
- [39] B. Joaquín, M. Moreno, S. Joaquín, A. Hernández, J. Pérez y A. Gómez, «Rendimiento y calidad de semilla de pasto guinea (Panicum maximum Jacq.) cv. Tanzania usando la fitohormona esteroide cidef-4.,» *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, vol. 1, nº 3, pp. 237-249, 2010.
- [40] Alcaldía de La Paz, *Plan de desarrollo municipal "La Paz somos todos 2020 -2023"*, La Paz, Cesar: Alcaldía de La Paz, 2020.
- [41] J. Holt, N. Krieg, P. Sneath, J. Staley y S. Williams, «Manual of Determinative Bacteriology,» W. & Wilkins, Ed., Baltimore, Williams & Wilkins, 1994, p. 56.
- [42] R. Buchanan y N. Gibbons, «Manual of Determinative Bacteriology,» W. a. W. Company, Ed., Baltimore, Williams and Wilkins Company, 1994, pp. 135-136.
- [43] E. Glickmann y Y. Dessaux, «A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria.,» *Applied and environmental microbiology*, vol. 61, nº 2, pp. 793-796, 01 febrero 1995.
- [44] B. Mohite, «Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth.,» *Journal of soil science and plant nutrition*, vol. 13, nº 3, pp. 638-649, 27 agosto 2013.
- [45] C. Lara Mantilla, M. Villalba Anaya y L. E. O. Oviedo Zumaqué, «Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba, Colombia.,» *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 9, nº 2, pp. 6-14, diciembre 2007.
- [46] M. Madigan, J. Martino y J. Parker, «Brock. Biología de los microorganismos,» de *Capítulo 6*, M. Martín-Romo, Ed., Madrid, Pearson, 2003, p. 147.

- [47] A. Hernández, *Obtención de un biopreparado a partir de rizobacterias asociadas al cultivo del maíz (Zea Mays L.)*. La Habana., U. d. L. Habana, Ed., La Habana: Universidad de La Habana, 2002.
- [48] R. Ramírez Pisco y M. I. Pérez Arenas, «Evaluación del potencial de los biosólidos procedentes del tratamiento de aguas residuales para uso agrícola y su efecto sobre el cultivo de rabano rojo (*Raphanus sativus* L.).», *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, vol. 59, nº 2, pp. 3543-3556, 2006.
- [49] Cabello, R., Gamarra, M., & Ventocilla, D. G., «Caracterización molecular de *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp. y *Pseudomonas* sp. promotoras del crecimiento vegetal de cultivos de *Solanum tuberosum* y *Zea mays*.», *Sagasteguiana*, vol. 2, nº 2, pp. 145-156, 2014.
- [50] Lara, C., Oviedo, L., & Aleman, A., «Aislados nativos con potencial en la producción de ácido indol acético para mejorar la agricultura.», *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, vol. 9, nº 1, pp. 17-23, 2011.
- [51] Y. Acebo, N. Rives, M. Heydrich y A. Hernández, «Efecto promotor del crecimiento vegetal de cepas de *Azospirillum* sp. en el cultivo de arroz.», *Cultivos tropicales*, vol. 28, nº 3, pp. 29-32, 2007.
- [52] D. G. & T. J. M. Duchén, «Interacción de bacterias y plantas en la fijación del nitrógeno.», *Revista de investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, vol. 8, nº 2, pp. 87-101, 2021.
- [53] García, S. C., «Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno.», *Cuadernos del Tomás*, vol. 3, nº 1, pp. 173-186, 2011.
- [54] Bashan, Y., & De-Bashan, L. E. , «How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment.», *Advances in agronomy*, vol. 108, nº 1, pp. 77-136., 2010.
- [55] Souza, R. D., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M., « Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils.», *Genetics and molecular biology*, vol. 38, nº 1, pp. 401-419, 2015.
- [56] Pii, Y., Mimmo, T., Tomasi, N., Terzano, R., Cesco, S., & Crecchio, C., «Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process.», *A review. Biology and fertility of*, vol. 51, nº 1, pp. 403-415., 2015.
- [57] Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd_Allah, E. F., «*Bacillus*: A biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments.», *Frontiers in physiology*, vol. 8, nº 1, p. 667, 2017.
- [58] Vessey, J. K. , «Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers.», *Plant and soil*, vol. 255, nº 1, pp. 571-586., 2003.
- [59] Khosro, M., & Yousef, S. , «Bacterial biofertilizers for sustainable crop production: A review.», *ARP Journal of Agricultural and Biological Science*, vol. 7, nº 5, pp. 307-316., 2012.
- [60] Terry, E., & Medina, N. , «Effectiveness of agronomic biofertilizers in tomato cultivation (*Lycopersicon esculentum*, Mill.», *National Institute of Agricultural Sciences*, vol. 3, nº 7, pp. 530-538., 2019.