

RESEARCH / INVESTIGACIÓN

Efecto de la aplicación de *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. sobre el crecimiento y productividad de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*)

Effect of the application of *Azospirillum* sp. and *Azotobacter* sp. on the growth and productivity of kikuyo (*Pennisetum clandestinum*)

Oscar Vivanco-Galván*, Danny Carrión, Daniel Capa-Mora

DOI. 10.21931/RB/2021.06.04.4

Resumen: El uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV), es considerada como una alternativa para sustituir los fertilizantes químicos, ya que favorece la productividad de las especies vegetales. El presente estudio evaluó el efecto de BPCV de los géneros *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. en el cultivo del *Pennisetum clandestinum* (kikuyo), sobre altura de la planta, largo máximo de la hoja, largo de raíces, biomasa fresca y proteína total. La aplicación de las bacterias se realizó periódicamente sobre el cultivo, la primera inoculación fue luego del arado del terreno y posterior a ello cada 15 días, hasta el día 45. Los resultados muestran que *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. influyeron sobre el crecimiento y rendimiento de kikuyo. La aplicación de *Azospirillum* sp. mostró un incremento significativo en kikuyo sobre los parámetros altura de la planta y el largo de raíz, mientras *Azotobacter* sp. en la producción de biomasa fresca, largo de raíz y proteína total, por lo cual el uso de estos microorganismos benéficos podría ser de gran importancia en las actividades de producción de pasto para la ganadería, además de ser una alternativa para reducir el uso de productos químicos, con lo que se contribuiría a un mejor manejo de cultivos y al cuidado del medio ambiente.

Palabras clave: Bacterias promotoras de crecimiento vegetal, inoculación bacteriana, crecimiento y productividad de pasto.

Abstract: The use of plant growth-promoting bacteria (PGPR) is considered an alternative to substitute chemical fertilizers since it favors the productivity of plant species. The present study evaluated the effect of PGPR of the genera *Azospirillum* sp. and *Azotobacter* sp. on *Pennisetum clandestinum* (kikuyo) on plant height, maximum leaf length, root length, fresh biomass, and total protein. The bacteria were applied periodically on the crop, the first inoculation was applied after plowing the soil and every 15 days thereafter, until day 45. The results show that *Azospirillum* sp. and *Azotobacter* sp. influenced the growth and yield of kikuyo. The application of *Azospirillum* sp. showed a significant increase in kikuyo on the parameters plant height and root length, while *Azotobacter* sp. in the production of fresh biomass, root length, and total protein, so the use of these beneficial organisms could be of great importance in the activities of pasture production for livestock, besides being an aid to reduce the use of chemicals, which would contribute to better crop management and environmental care.

Key words: Plant growth promotes bacteria, bacterial inoculation, grass growth, and yield.

Introducción

La agricultura intensiva depende de una aplicación importante de fertilizantes nitrogenados, junto con otros nutrientes esenciales para maximizar la productividad de los cultivos¹. Como una alternativa al uso de fertilizantes químicos en la agricultura se ha incrementado el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) como una efectiva herramienta para mejorar la salud de las plantas^{2,3}. Dentro de este grupo importante de BPCV encontramos a especies de *Azotobacter* y *Azospirillum* que son ampliamente asociadas con la fijación de nitrógeno^{4,5}. Por tal razón estas bacterias también estimulan la producción de hormonas de crecimiento como auxinas, citoquininas y giberelinas, mejorando la absorción de otros nutrientes como el fósforo. Por lo tanto, la inoculación con BPCV es una tecnología promisoría para el aumento de la producción agrícola, mientras se reduce los impactos ambientales por el uso inadecuado de fertilizantes⁶.

El *Pennisetum clandestinum* (kikuyo) es un hierba de zonas tropicales capaz de crecer mucho en verano y es usado en la alimentación de ganado vacuno. Sin embargo la producción de leche puede verse limitada por la calidad relativamente baja del kikuyo⁷, por esta razón es importante pensar en mejorar

la calidad del pasto a través de la inoculación de bacterias. Por ejemplo en el caso de *Azospirillum* la inoculación en hierba forrajera puede minimizar la degradación del suelo y mejorar la producción masiva de forraje. Esto es soportado por un reporte de Boddey *et al.*⁸ sobre bacterias fijadoras en la rizósfera de las hierbas forrajeras, lo que sugiere un futuro de menor uso de fertilizantes de N en los pastos forrajeros tropicales⁸. De hecho, la inoculación de la hierba *Brachiaria* spp. con cepas de *Azospirillum brasilense* aumentó la producción media de masa de forraje en un 13%⁹. Asimismo, algunas investigaciones han mostrado que el crecimiento de diferentes plantas, incluidas hierbas anuales y perennes ha incrementado por la aplicación de *Azospirillum* y *Azotobacter*. Las bacterias son capaces de incrementar la germinación de las semillas, crecimiento y rendimiento de diferentes cultivos de plantas¹⁰⁻¹².

Con estos antecedentes y considerando que en Loja existen grandes extensiones de terreno ocupadas por kikuyo usado como alimento del ganado vacuno y como un cultivo importante, el presente trabajo tiene por objetivo evaluar el efecto del *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. sobre el crecimiento y la productividad del kikuyo.

¹ Departamento de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Técnica Particular de Loja, San Cayetano Alto, Loja, Ecuador

Materiales y métodos

Sitio experimental

El estudio se realizó en la Estación Agropecuaria-Universidad Técnica Particular de Loja (EA- UTPL) (Ecuador), situada en el sector de Cajanuma, al sur del cantón Loja, a 9 km desde la ciudad de Loja (X: -4,0886 y Y: -79,2066)¹³. El sitio de estudio esta ubicado a una altura de 2.300 m s.n.m., además, presenta medias anuales de temperatura y precipitación de 15,4°C y 780 mm, respectivamente, según datos de la Estación Meteorológica "La Argelia"¹⁴.

Obtención cepas

Las dos cepas bacterianas fueron aisladas a partir de suelo de la rizósfera de kikuyo y preservadas a -80°C hasta su posterior uso. *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. fueron reactivadas y proveídas en cajas petri por la colección de microorganismos de la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL), para *Azospirillum* sp. en medio Agar Rojo Congo (27°C), mientras que, en agar Ashby la bacteria *Azotobacter* sp. (37°C), ambas permanecieron en incubación y en posición invertida en la oscuridad hasta su uso.

Incremento de biomasa del inoculo bacteriano

El ensayo se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo y Conservación de Microorganismos de la UTPL. Para incrementar la biomasa de *Azospirillum* sp. una colonia de la caja petri fue colocada en medio JMV estéril (20 minutos, 120°C y 1.5 atm) sin nitrógeno, luego incubado (Yamato IC802) a 27°C entre 48 y 72 horas. En cuanto a *Azotobacter* sp. una colonia de la caja petri fue inoculada en medio JMV y mantenida a 37°C durante 48 y 72 horas. Se realizó una evaluación del número de unidades formadoras de colonias (UFC) de cada cepa bacteriana a través del conteo de bacterias por el método de Neubauer. Una concentración final de 1×10^8 g/mL fue ajustada en cada cepa bacteria en un volumen de 1L y mantenida a 4°C hasta su posterior aplicación en campo. Una hora aproximadamente transcurrió desde que las botellas de medio fueron transportadas hasta la EA- UTPL.

Diseño experimental

El experimento fue desarrollado en un área específica de 360 m², dividido en parcelas de 40 m² (9 parcelas experimentales), dejando entre parcela una distancia de 4 m, para minimizar efectos de borde. Los tratamientos evaluados fueron: i) *Azotobacter* sp., ii) *Azospirillum* sp. y iii) testigo (control, sin aplicación de bacterias). Cada tratamiento tuvo tres repeticiones bajo un diseño experimental de bloques al azar.

Aplicación bacteriana

Previo a la realización del ensayo un área geográfica con kikuyo y de características homogéneas del terreno fue preparada a través de arado y cruce por método tradicional a través de un tractor (Pascuali Sinea K5 AR) con el propósito de descompactar y airear el suelo para realizar el ensayo.

Para aplicar las bacterias sobre el kikuyo germinado se diluyó 1L del concentrado bacteriano en 20L de agua, obteniendo una concentración de 1×10^6 células por mL, se usó el proceso mecánico de pulverización¹⁵. Este procedimiento fue aplicado al kikuyo en varios días. La primera aplicación ocurrió al siguiente día (después de arado), luego a los 15 días (germi-

nación) 30 días (crecimiento bajo 10-15 cm), y 45 días (crecimiento medio 25-30 cm). El registro de datos se realizó luego de la primera aplicación bacteriana hasta los 60 días, fecha a partir de la cual el pasto está listo para el consumo animal.

Evaluación de variables

Se evaluaron algunas variables en el kikuyo para determinar el efecto de las cepas bacterianas: i) altura de planta: se colocó una regla graduada perpendicularmente al nivel del suelo y se tomó la altura (cm); ii) largo máximo de la hoja: fue medido una sola vez al final del ensayo (60 días), a partir del peciolo, utilizando la vena central como referencia (cm); iii) largo de raíces: usando una cuadrícula de 20x20 cm se hizo un corte y se obtuvo una muestra que contenía suelo y raíces, se separaron las raíces y se procedió a la obtención de los datos (cm) al final del ensayo; iv) biomasa vegetal fresca: se usó un cuadrante de 1m² para cortar y luego pesar en el momento de la cosecha, los datos se reportaron en kg/ha; v) proteína total a partir de la biomasa cruda: evaluada por el método de Kjeldahl validada por Harris¹⁶.

Análisis estadísticos

Para comparar el resultado del efecto de las bacterias sobre las variables evaluadas en *P. clandestinum* se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVAS) ($p < 0.05$). Cuando se determinó significancia, se aplicó la prueba de Tukey subconjuntos homogéneos ($p < 0,05$). Previo al análisis de los datos y una vez calculados los residuos se verificó el cumplimiento de los supuestos de normalidad, independencia y homogeneidad de varianzas. El software estadístico SPSS v. 23.0¹⁷, fue usado para los análisis. Para obtener datos precisos en todas las variables evaluadas se registró 5 mediciones de cada plántula de cada tratamiento al azar, con tres repeticiones.

Resultados y discusión

La aplicación de las cepas bacterias *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. en kikuyo, ha permitido evaluar a través de la medición de algunas variables los posibles efectos sobre la productividad y el crecimiento.

El uso de bacterias BPCV en la agricultura esta incrementando continuamente, ya que ofrece una herramienta eficaz para sustituir el uso de fertilizantes químicos, pesticidas y otros suplementos dañinos^{2,3}. *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. son consideradas BPCV por la capacidad de mejorar la salud de las plantas¹⁸.

Los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Pseudomonas* son ampliamente utilizados por sus características como fijadores de nitrógeno^{19,20}, la capacidad de producir indoles^{20, 21} y solubilizar fósforo^{22,23}, propiedades que hacen de estos microorganismos potenciales biofertilizantes.

Se registró la altura de la planta de pasto kikuyo y se determinó que el tratamiento con *Azospirillum* sp. presenta una mayor altura de la planta (Figura 1) en relación al tratamiento con *Azotobacter* sp. y al control (testigo). El análisis estadístico realizado evidencia las diferencias significativas entre el tratamiento *Azospirillum* sp. y el testigo.

Sobre la evaluación de la altura de kikuyo, el tratamiento con *Azospirillum* sp. mostró los registros de mayor altura, en relación al trabajo de Guimarães *et al.*²⁴ en un estudio con *Urochloa brizantha* (hierba empalizada) inocularon nueve aislados de *Azospirillum* y determinaron plantas más altas usando la cepa *Azospirillum* (AZ02) cuando se comparó con el control. da

Silva Ramos *et al.*²⁵ evaluó el crecimiento de plantas de maíz inoculadas con *Azospirillum lipoferum* (BR cepa 11084) luego de 30 días de sembradas observaron un incremento en la altura de la planta.

Sobre el largo máximo de la hoja no se evidencia ningún efecto del uso de *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. ya que los valores registrados sobre el largo de la hoja son similares y no son estadísticamente diferentes entre tratamientos (Figura 2).

En cuanto al largo máximo de la hoja no se observó una diferencia de la aplicación de *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. sobre el control. En un estudio realizado por Reddy *et al.*²⁶ en la aplicación de *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. sobre tomate (*Lycopersicon esculentum*) donde se evaluó la variación del área de la hoja no se observaron diferencias con el control que no estaba inoculado por ningún microorganismo. Barassi *et al.*²⁷ reportó sobre el mejoramiento en los parámetros fotosintéticos de hojas, incluyendo el incremento en el contenido de clorofila y conductancia estomatal, además, de la producción de biomasa y altura de la planta.

El largo de la raíz que fue medido al día 60 permitió determinar que la presencia de *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. ejercen un efecto en el desarrollo de la raíz. Los resultados de la aplicación de bacterias muestran una clara diferencia estadística con el testigo (Figura 3).

El incremento en el desarrollo de las raíces se observó en los tratamientos con la aplicación de *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp., debido al mejoramiento de la absorción de agua y nutrientes, lo que ha permitido un incremento de la capacidad

de la planta para tolerar estrés ambiental como sequía, salinidad, resultando en plantas más vigorosas y productivas²⁸⁻³⁰. En el 2017 Pérez y Sánchez³¹ determinaron que *Azospirillum* y *Azotobacter* asociadas al cultivo de *Ipomoea batata* tuvo incrementos significativos en la longitud de raíz. En *Azotobacter* se da la producción de la fitohormona auxina que ayuda a la producción de raíces largas e incrementa el número de pelos y raíces laterales que están involucradas en la absorción de nutrientes³².

La biomasa vegetal fresca de kikuyo se determinó por metro cuadrado, se pudo determinar que el tratamiento *Azospirillum* sp. presenta un incremento en la biomasa en relación al testigo (Figura 4).

La biomasa vegetal fresca del kikuyo resulto ser mayor en el tratamiento *Azotobacter* sp. con relación al testigo. En un estudio desarrollado por Mahato y Kafle en el 2018³³ en trigo donde se realizaron varios tratamientos se determinó que la biomasa del tratamiento *Azotobacter* fue mayor solo respecto al control, además, se observó un alto rendimiento de biomasa en aquellos tratamientos en los que *Azotobacter* acompañó al fertilizante químico.

La proteína total evaluada en el tratamiento *Azotobacter* sp. muestra un mayor porcentaje de proteína determinada en relación al tratamiento *Azospirillum* sp. y testigo (Figura 5).

El porcentaje de proteína determinado en el tratamiento *Azotobacter* sp. fue mayor en relación a los otros dos tratamientos. En el caso de la inoculación de *Azotobacter* dentro de condiciones controladas o in vitro, las plantas responden

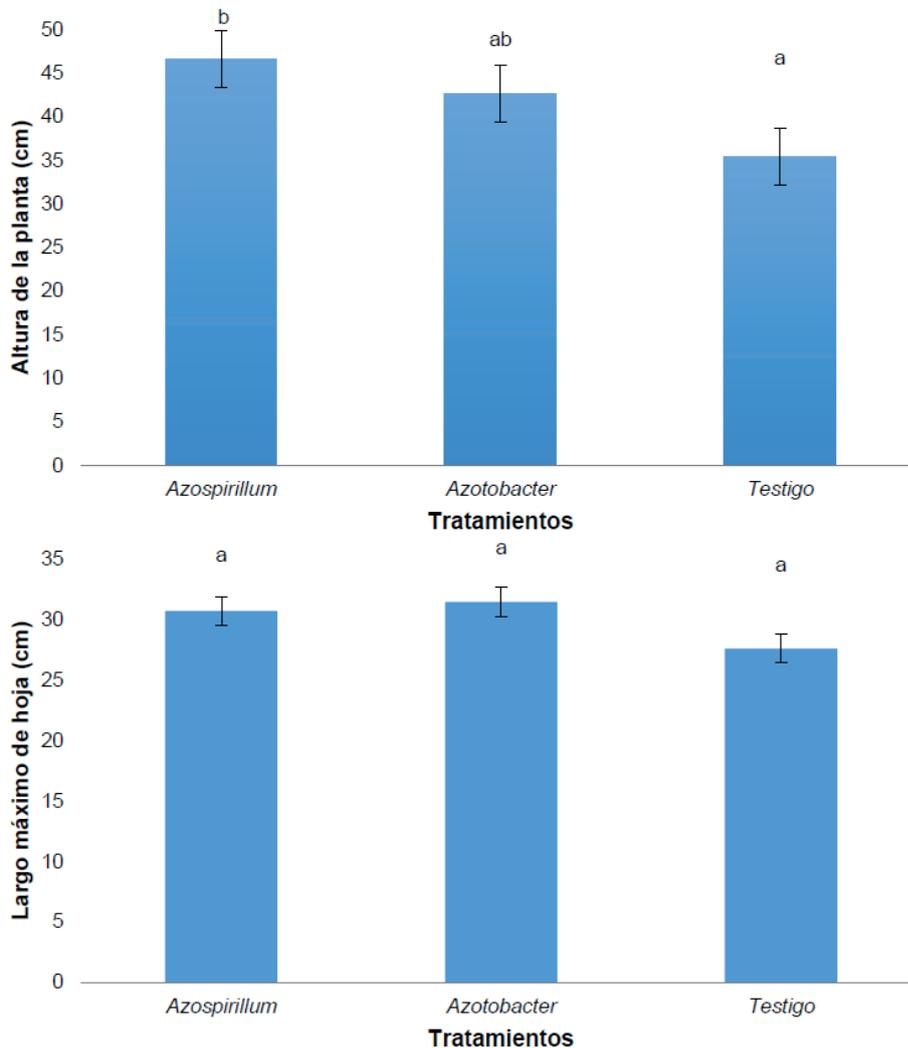


Figura 1. Altura de *Pennisetum clandestinum* inoculado con tratamiento 1 (*Azospirillum* sp.), tratamiento 2 (*Azotobacter* sp.) y tratamiento 3 (Testigo).

Figura 2. Largo máximo de hoja de *Pennisetum clandestinum* inoculado con tratamiento 1 (*Azospirillum* sp.), tratamiento 2 (*Azotobacter* sp.) y tratamiento 3 (Testigo).

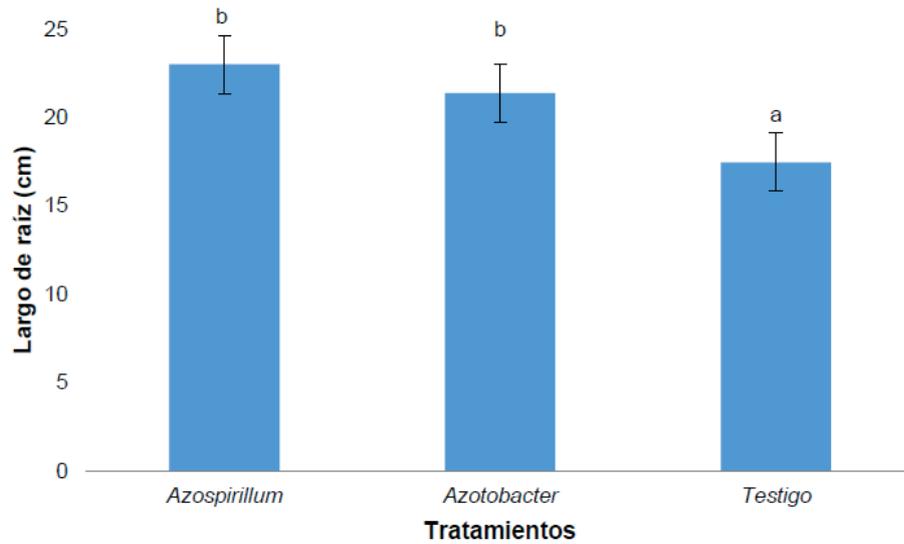


Figura 3. Largo de la raíz de *Pennisetum clandestinum* inoculado con tratamiento 1 (*Azospirillum* sp.), tratamiento 2 (*Azotobacter* sp.) y tratamiento 3 (Testigo).

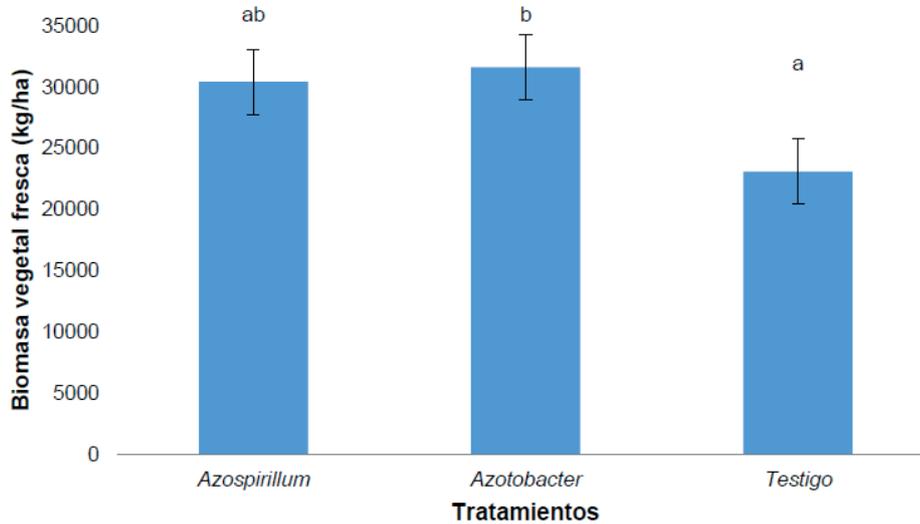


Figura 4. Biomasa vegetal fresca en Kg/ha de *Pennisetum clandestinum* inoculado con tratamiento 1 (*Azospirillum* sp.), tratamiento 2 (*Azotobacter* sp.) y tratamiento 3 (Testigo).

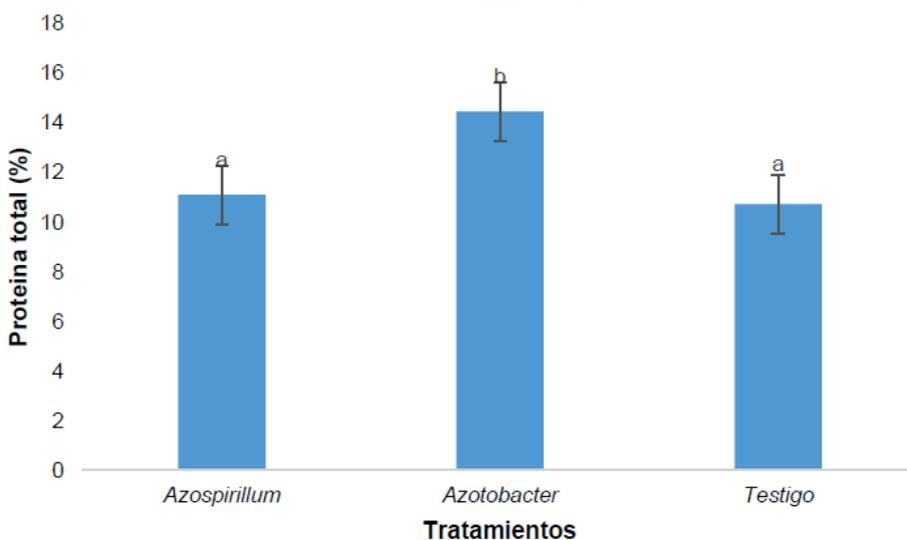


Figura 5. Proteína total en porcentaje de *Pennisetum clandestinum* inoculado con tratamiento 1 (*Azospirillum* sp.), tratamiento 2 (*Azotobacter* sp.) y tratamiento 3 (Testigo).

al estímulo bacteriano, entre ellos podemos destacar varios atributos como el contenido de proteína después de haber sido cosechado³⁴.

Como una perspectiva futura es importante evaluar el efecto de las dos bacterias fijadoras de nitrógeno como parte de un mismo tratamiento ya que se ha reportado en otros estudios que el uso de la especie *Azotobacter* como biofertilizador o en combinación con otras especies benéficas como

Azospirillum, mejora el rendimiento y la calidad de diferentes cultivos³⁴. Asimismo, las bacterias asociadas con la producción de gramíneas que se han estudiado más, son las de los géneros: *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Beijerinckia*, *Pseudomonas* y *Bacillus*. Algunas de ellas forman estructuras de resistencia para favorecer su supervivencia en condiciones de estrés, en especial sequía, la cual es común en los pastizales de zonas áridas³⁵.

Conclusiones

La aplicación de bacterias fijadoras del nitrógeno como *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. permiten mejorar los indicadores de crecimiento y rendimiento de kikuyo. La bacteria *Azotobacter* sp. presenta un efecto sobre la producción de biomasa fresca, largo de raíz y proteína total y la bacteria *Azospirillum* sp. sobre la altura de la planta y el largo de raíz favoreciendo los indicadores de crecimiento y calidad del kikuyo (*P. clandestinum*).

Agradecimientos

A la Estación Agropecuaria-Universidad Técnica Particular de Loja, por habernos brindado el área para la implementación de los ensayos.

Referencias bibliográficas

1. Bindraban, P. S., Dimkpa, C., Nagarajan, L., Roy, A., & Rabbinge, R. (2015). Revisiting fertilisers and fertilisation strategies for improved nutrient uptake by plants. *Biology and Fertility of Soils*, 51(8), 897-911.
2. Ansari, R. A., Rizvi, R., Sumbul, A., & Mahmood, I. (2017). PGPR: current vogue in sustainable crop production. In *Probiotics and plant health* (pp. 455-472). Springer, Singapore.
3. Ansari, R. A., & Mahmood, I. (Eds.). (2019 a). *Plant health under biotic stress: volume 1: organic strategies*. Springer.
4. Lakshminarayana, K. (1993). Influence of *Azotobacter* on nitrogen nutrition of plants and crop productivity. *Proceedings of the Indian National Science Academy. Part B Biological sciences*, 59(3-4), 303-307.
5. de Souza Moreira, F. M., Da Silva, K., Nóbrega, R. S. A., & De Carvalho, F. (2010). Bactérias diazotróficas asociativas: diversidad, ecología e potencial de aplicaciones. *Comunicata Scientiae*, 1(2), 74-74.
6. Domingues Duarte, C. F., Cecato, U., Trento Biserra, T., Mamédio, D., & Galbeiro, S. (2020). *Azospirillum* spp. in grasses and forages. *Review. Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 11(1), 223-240.
7. Fulkerson, B., Griffiths, N., Sinclair, K., & Beale, P. (2010). Milk production from kikuyu grass-based pastures. *Primefacts*, 1068, 1-13.
8. Boddey, R. M., Xavier, D. F., Alves, B. J., & Urquiaga, S. (2003). Brazilian agriculture: the transition to sustainability. *Journal of Crop Production*, 9(1-2), 593-621.
9. Hungria, M., Nogueira, M. A., & Araujo, R. S. (2016). Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* brasilense: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 221, 125-131.
10. Döbereiner, J., & Day, J. M. (1975). Nitrogen fixation in rhizosphere of grasses. *Nitrogen Fixation by Free-Living*.
11. Bloemberg, G. V., & Lugtenberg, B. J. (2001). Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current opinion in plant biology*, 4(4), 343-350.
12. Basak, B. B., & Biswas, D. R. (2010). Co-inoculation of potassium solubilizing and nitrogen fixing bacteria on solubilization of waste mica and their effect on growth promotion and nutrient acquisition by a forage crop. *Biology and Fertility of Soils*, 46(6), 641-648.
13. Google. (2020). Mapa de Loja, Ecuador en google maps. Recuperado 5 de marzo de 2020, de <https://www.google.com/maps/place/4°05'18.7%22S+79°12'24.2%22W/@-4.0885363,-79.2078093,18z/data=!4m2!1m14!4m13!1m6!1m2!1s0x91cb312b7b1dcb03:0x1e829107f2cfe281!2sEstación+agropecuaria+%22UTPL%22!2m2!1d-79.2066924!2d-4.0884491!1m5!1m1!1s0x91>
14. TuTiempo.net. (2017). Estación meteorológica «La Argelia». Recuperado 5 de marzo de 2020 de https://www.tutiempo.net/clima/12-2017/ws-8427_00.html
15. Riquelme, J., & Bustos, C. (2016). Sistema de aplicación innovativo en tomates bajo invernadero. Operación, mantención y calibre del equipo.
16. Harris, L. E. (1970). Métodos para el análisis químico y la evaluación biológica de alimentos para animales (No. SF97 H2).
17. Arbuckle, J. L. (2014). Amos (version 23.0) [computer program]. Chicago: IBM SpSS.
18. Sumbul, A., Ansari, R. A., Rizvi, R., & Mahmood, I. (2020). Azotobacter: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3634.
19. Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological research*, 163(2), 173-181.
20. Yasmin, F., Othman, R., Sijam, K., & Saad, M. S. (2009). Characterization of beneficial properties of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from sweet potato rhizosphere. *African Journal of Microbiology Research*, 3(11), 815-821.
21. Dawwam, G. E., Elbeltagy, A., Emara, H. M., Abbas, I. H., & Hassan, M. M. (2013). Beneficial effect of plant growth promoting bacteria isolated from the roots of potato plant. *Annals of Agricultural Sciences*, 58(2), 195-201.
22. Khan, A. A., Jilani, G., Akhtar, M. S., Naqvi, S. M. S., & Rasheed, M. (2009). Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J agric biol sci*, 1(1), 48-58.
23. Sashidhar, B., & Podile, A. R. (2009). Transgenic expression of glucose dehydrogenase in *Azotobacter vinelandii* enhances mineral phosphate solubilization and growth of sorghum seedlings. *Microbial biotechnology*, 2(4), 521-529.
24. Guimarães, S., Bonfim-Silva, E. M., Polizel, A., & Campos, D. (2011). Produção de capim-marandu inoculado com *Azospirillum* spp. *Enciclopédia Biosfera*, 7(13).
25. da Silva Ramos, A., dos Santos, T. M. C., de Santana, T. M., Guedes, E. L. F., & Montaldo, Y. C. (2010). Ação do *Azospirillum lipoferum* no desenvolvimento de plantas de milho. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 5(4), 18.
26. Reddy, S., Singh, A. K., Masih, H., Benjamin, J. C., Ojha, S. K., Ramteke, P. W., & Singla, A. (2018). Effect of *Azotobacter* sp. and *Azospirillum* sp. on vegetative growth of Tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(4), 2130-2137.
27. Barassi, C. A., Sueldo, R. J., Creus, C. M., Carrozzi, L. E., Casanovas, W. M., & Pereyra, M. A. (2008). Potencialidad de *Azospirillum* en optimizar el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. *Argentina: Asociación Argentina de Microbiología*, 1, 49-59.
28. Bashan, Y., & Holguin, G. (1997). *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology*, 43(2), 103-121.
29. Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Vanderleyden, J., Dutto, P., & Okon, Y. (2001). Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Functional Plant Biology*, 28(9), 871-879.
30. Bashan, Y., Holguin, G., & De-Bashan, L. E. (2004). *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian journal of microbiology*, 50(8), 521-577.
31. Pérez-Pazos, J. V., & Sánchez-López, D. B. (2017). Caracterización y efecto de *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Pseudomonas* asociadas a *Ipomoea batata* del Caribe Colombiano. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 35-46.
32. Datta, C., & Basu, P. S. (2000). Indole acetic acid production by a *Rhizobium* species from root nodules of a leguminous shrub, *Cajanus cajan*. *Microbiological research*, 155(2), 123-127.
33. Mahato, S., & Kafle, A. (2018). Comparative study of *Azotobacter* with or without other fertilizers on growth and yield of wheat in Western hills of Nepal. *Annals of Agrarian Science*, 16(3), 250-256.
34. Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., & Meftah Kadmiri, I. (2021). Nitrogen Fixing *Azotobacter* Species as Potential Soil Biological Enhancers for Crop Nutrition and Yield Stability. *Frontiers in Microbiology*, 12, 354.
35. Loredó-Ostí, C., López-Reyes, L., & Espinosa-Victoria, D. (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana*, 22(2), 225-239.

Received: 3 Agosto 2021

Accepted: 10 Octubre 2021