

Artículo original

Estudio de la asociación *Gluconacetobacter diazotrophicus*-viandas tropicales. Efecto sobre el rendimiento en condiciones de extensión

Bernardo Leonardo Dibut-Álvarez^{1*} 

Marisel Ortega-García¹ 

Yoania Ríos-Rocafull¹ 

¹Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” (INIFAT), calle 2 y 1, No. 17200, Santiago de Las Vegas, La Habana, Cuba

*Autor para correspondencia: biofertilizantes@inifat.co.cu

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el efecto de la aplicación de *G. diazotrophicus* en el rendimiento de viandas tropicales, en condiciones de extensión, se inoculó la cepa INIFAT Abn-1 del microorganismo en boniato, yuca y malanga, durante dos campañas de producción. Al finalizar el ciclo de los cultivos en las plantas de boniato inoculadas se incrementaron los indicadores de crecimiento entre 30 y 60 %, con un rendimiento de 13 t ha⁻¹ más en las parcelas aplicadas en relación a los controles. En el caso de la yuca los indicadores del crecimiento aumentaron con la aplicación del microorganismo entre 36-48 % y el rendimiento en un 40 %, con la obtención de 17 t ha⁻¹ más en las parcelas aplicadas; mientras que para la malanga, los indicadores del crecimiento aumentaron entre 58 y 94 % en las parcelas inoculadas y el rendimiento se incrementó un 40 y 58 % en cada campaña, respectivamente. La concentración de *G. diazotrophicus* en las hojas de los tres cultivos osciló entre 10³ y 10⁷ UFC por gramo de tejido fresco y fue entre dos y cuatro órdenes menor en las plantas controles que en las inoculadas. El trabajo demostró el efecto estimulador del crecimiento de *G. diazotrophicus* en boniato, yuca y malanga en condiciones de producción, la necesidad de inocular el microorganismo para incrementar su población autóctona en estos cultivos, así como las posibilidades de uso de la bacteria endófito en el manejo agronómico de estas especies vegetales.

Palabras clave: boniato, biofertilización, malanga, yuca

Recibido: 18/04/2019

Aceptado: 29/03/2021

INTRODUCCIÓN

En la biorevolución actual, se presta cada vez más atención a la biología del suelo y a la biofertilización de plantas, vinculado a diferentes esquemas de manejo de la nutrición ^(1,2). En este sentido, se ha avanzado mucho en el diseño de biopreparados para diversos cultivos, con énfasis en las relaciones benéficas asociativas o simbióticas ^(3,4). Los microorganismos endófitos también se utilizan para la obtención de bioproductos de uso agrícola, aunque la mayor parte de las investigaciones sobre la relación planta–endófitos se centran en la taxonomía polifásica e ingeniería genética, ecología y estudios de transformación genética e identificación de genes, en cuanto a la capacidad de fijación biológica del nitrógeno atmosférico ^(5,6).

Un ejemplo de bacteria endófitas es *G. diazotrophicus*, quien ha demostrado su potencial como promotor del crecimiento vegetal, asociado fundamentalmente a gramíneas ^(7,8). Para el caso de Cuba, diferentes investigaciones realizadas con viandas tropicales, frutales y hortalizas, demuestran la estrecha interacción que establecen estos cultivos con la bacteria ^(9,10), aunque la mayor parte de estos estudios se realizaron en condiciones controladas o de pequeñas parcelas.

Para conocer el potencial de la especie endófitas *G. diazotrophicus* como estimulador del crecimiento en viandas tropicales se extendió el estudio en la presente investigación con el objetivo de evaluar el efecto de la aplicación de la bacteria en el rendimiento del boniato (*Ipomoea batatas*, L.), la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) y la malanga (*Xanthosomas* spp.), en producción, bajo las condiciones edafoclimáticas de Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos para determinar el efecto de la inoculación de la bacteria *G. diazotrophicus*, sobre indicadores del crecimiento y el rendimiento agrícola de los cultivos de yuca (*Manihot esculenta* Crantz), boniato (*Ipomoea batatas* L.) y malanga (*Xanthosomas* spp.) se realizaron en áreas agrícolas del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt”, INIFAT, en Santiago de Las Vegas. Se utilizó un suelo Ferralítico Rojo Lixiviado Compactado, Gléyico y Nodular Ferruginoso ⁽¹¹⁾, con pH neutro, contenido medio de materia orgánica, con predominio de calcio y contenidos medios de fósforo y potasio (Tabla 1).

Tabla 1. Características químicas del suelo utilizado en los ensayos

MO (%)	pH (H ₂ O)	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	Mg
		(mg100g ⁻¹)		cmolc kg ⁻¹	
3,12	7,2	47	60	8,7	3,2

Métodos de análisis: pH (potenciometría); materia orgánica (Walkley y Black); P₂O₅ (Oniani, por extracción con H₂SO₄); K₂O (por cálculo a partir del potasio intercambiable); Ca y Mg (espectrofotometría de absorción atómica)

Los ensayos para las tres especies vegetales se realizaron en dos campañas de producción, la primera entre los años 2009-2010 y la segunda, entre los años 2010 y 2011. En ambas se utilizaron los clones CENSA 78-354 de boniato, CMC-40 de yuca y México 1, de malanga. En todos los ensayos se empleó un diseño experimental en Bloques al Azar con un tamaño de parcela de 50 m². Se incluyeron dos tratamientos: inoculado y control (sin inoculación), con cuatro réplicas en cada caso, en cada uno de los dos ensayos que se realizaron por especie vegetal.

Para la aplicación de *G. diazotrophicus* se multiplicó la cepa INIFAT Abn-1⁽⁹⁾, conservada en el INIFAT, en un proceso de fermentación sumergida en agitación orbital, en el medio de cultivo SG⁽¹²⁾, a 32 °C de temperatura y 180 rpm de agitación, durante 72 horas. Bajo estas condiciones el microorganismo alcanzó una concentración entre 3,0-3,3 x 10¹¹ UFC mL⁻¹. La inoculación de la bacteria se realizó siempre en horas avanzadas de la tarde con ayuda de una mochila fitosanitaria, por aspersión foliar y al suelo al paso de un hombre. Se utilizó el producto final de la fermentación de la cepa, diluido en agua común, a una dosis equivalente a 2 L ha⁻¹, según criterios establecidos previamente para la especie bacteriana⁽⁹⁾.

Una vez finalizado el ciclo de los cultivos se evaluaron los siguientes indicadores: altura de la planta (cm), diámetro del tallo (cm) y diámetro del tubérculo (cm), para el boniato; altura de la planta (cm), número de ramas primarias, diámetro del tallo (cm) y diámetro de la raíz (cm), para la yuca y diámetro y largo del tubérculo (cm), para la malanga. Para los tres cultivos se cuantificó, además, el rendimiento en t ha⁻¹. Para medir la altura de la planta se utilizó una vara de madera graduada en cm y para el diámetro, tanto del tallo como de las raíces y tubérculos, un pie de Rey (0,05 mm de error).

La concentración de *G. diazotrophicus* en las hojas de boniato, yuca y malanga, se determinó como UFC g tejido fresco⁻¹. Para ello se utilizaron, al finalizar el ciclo del cultivo, cinco plantas por cada una de las especies vegetales en estudio. Se tomó 1 g de tejido vegetal fresco, el que se procesó por el método de diluciones seriadas⁽¹³⁾ con la posterior siembra en placas *Petri* con el medio de cultivo LGI. Las placas se incubaron entre 28-30 °C de temperatura durante cinco días. Se consideraron solamente las colonias con coloración amarillo intenso-naranja.

Los datos experimentales se evaluaron estadísticamente mediante la prueba de Newman Keuls al 5 % de significación, utilizando análisis de varianza para datos paramétricos, previa comprobación de la normalidad de las variables. El procesamiento de toda la información se realizó mediante el programa Statgraphics 6.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación de *G. diazotrophicus* estimuló el crecimiento e incrementó el rendimiento del boniato en condiciones de producción, en las dos campañas de siembra. Las plantas inoculadas con la bacteria presentaron un aumento de entre 33-34 % en el largo de las plantas; entre 31-62 % para el número de hojas; entre 38-40 % en el diámetro del tallo y entre 34-45 % en el diámetro del tubérculo, con respecto a las plantas sin aplicación bacteriana. Por su parte, el rendimiento agrícola aumentó en 51 y 48 % para los años 2009 y 2010, respectivamente, equivalente a 13 t ha⁻¹ de tubérculos adicionales (Tabla 2).

Tabla 2. Respuesta del cultivo del boniato clon CENSA 78-354 a la inoculación con *G. diazotrophicus*, cepa INIFAT Abn1. Campaña 2009 y Campaña 2010

Variantes	Altura de la planta (cm)		Diámetro tallo (cm)		Diámetro del tubérculo (cm)		Rendimiento (t ha ⁻¹)	
	2009	2010	2009	2010	2009	2010	2009	2010
Control	21,35 b	23,48 b	3,59 b	3,51 b	5,10 b	6,01 b	27,81 b	29,32 b
Inoculado	27,59 a	31,10 a	4,83 a	4,90 a	7,46 a	8,16 a	41,75 a	43,96 a
Esx	0,34	0,10	0,21	0,30	0,11	0,17	0,72	0,60

Medias con letras no comunes difieren significativamente entre sí por prueba de Anova y Test de Newman Keuls con $p < 5\%$

Trabajos realizados en Brasil con la interacción *G. diazotrophicus*–*Ipomoea batatas* Lam, aunque en extensiones menores, coinciden en el efecto positivo que ocasiona la bacteria sobre esta especie vegetal ⁽¹⁰⁾.

Un aspecto a destacar es el aumento en el número de hojas en las plantas inoculadas con el microorganismo, con respecto a las plantas testigo, con un promedio entre 5-7 hojas más por planta en el momento de la cosecha. Este incremento se explica por la producción de sustancias fisiológicamente activas, fundamentalmente ácido indol acético y citoquininas, que puede liberar *G. diazotrophicus* ⁽⁵⁾, sustancias que estimulan la división celular y el alargamiento de células y tejidos, efecto que se traduce en el mayor desarrollo de los órganos ⁽¹⁴⁾. El que una planta posea más de dos hojas activas, le confiere ventajas, desde el punto de vista de producción de sustancias de reserva y otras biomoléculas, a través de los procesos fotosintéticos, los cuales se ven favorecidos a expensas de una mayor superficie fotosintéticamente activa y de translocación de nutrientes. En otros estudios se ha informado el aumento de la superficie foliar de plantas gramíneas inoculadas con *G. diazotrophicus* ⁽¹⁵⁾, lo que sugiere que la bacteria, en interacción con diferentes cultivos induce modificaciones fisiológicas que derivan en el incremento en indicadores del crecimiento y, finalmente, del rendimiento de las especies vegetales, de ahí que constituya un microorganismo promisorio para utilizar como principio activo de bioproductos de uso agrícola. Las hojas de las plantas de boniato inoculadas con *G. diazotrophicus* mostraron en ambas campañas un incremento en dos órdenes de la concentración de la bacteria endófito, con respecto

a las plantas no inoculadas. En la primera campaña (2009), la concentración del microorganismo promedió $5,1 \times 10^5$ UFC gramo de tejido fresco⁻¹, en las plantas testigo y $2,4 \times 10^7$ UFC gramo de tejido fresco⁻¹, en las plantas inoculadas; mientras que en el segundo ensayo (campaña 2010), la concentración del microorganismo fue de $4,3 \times 10^5$ UFC gramo de tejido fresco⁻¹, en las hojas de las plantas testigos y de $3,5 \times 10^7$ UFC gramo de tejido fresco⁻¹, en las plantas inoculadas.

La presencia de *G. diazotrophicus* en las plantas testigo demuestra que el boniato es un hospedero natural de la bacteria, aspecto discutido previamente por otros autores⁽¹⁶⁾. Sin embargo, el aumento en el valor de este indicador en las hojas de las plantas inoculadas indica que el microorganismo coloniza la especie vegetal una vez que se inocula en la misma, aspecto importante para su uso en la práctica como estimulador del crecimiento vegetal, como parte del manejo agronómico de especies vegetales como el propio boniato.

Para el cultivo de la yuca también se obtuvieron resultados positivos con la aplicación de *G. diazotrophicus*. En este caso, la altura de la planta se incrementó entre 22-31 %, el número de ramas primarias en un 96 %, el diámetro del tallo entre 50 y 87 % y el diámetro promedio de las raíces cosechadas por planta en un 50 % en las plantas inoculadas, en relación con las plantaciones controles sin tratar. En estas pruebas el rendimiento por cantidad de superficie evaluada aumentó en 40 % con la aplicación del microorganismo, con la obtención de 17 t ha⁻¹ adicionales en comparación con las áreas controles (Tabla 3).

Tabla 3. Respuesta del cultivo de la yuca clon CMC-40 a la inoculación con *G. diazotrophicus*, cepa INIFAT Abn1

Variantes	Altura planta (cm)		No de ramas primarias		Diámetro tallo (cm)		Diámetro raíz (cm)		Rendimiento (t ha ⁻¹)	
	2009-2010	2010-2011	2009-2010	2010-2011	2009-2010	2010-2011	2009-2010	2010-2011	2009-2010	2010-2011
Control	2,10 b	2,35 b	2,65 b	2,70 b	2,71 b	2,81 b	3,84 b	4,06 b	31,19 b	42,71 b
Inoculado	2,76 a	2,80 a	5,15 a	5,35 a	5,10 a	6,05 a	5,85 a	7,15 a	52,64 a	59,47 a
Esx	0,12	0,20	0,90	0,83	0,19	0,18	0,12	0,21	1,06	0,87

Medias con letras no comunes difieren significativamente entre si por prueba de Anova y Test de Newman Keuls con p<5 %

La estimulación en el número de ramas y el diámetro del tallo, producto de la aplicación de los microorganismos, favorece la translocación de nutrientes y agua para la formación de raíces en las plantas. Este efecto producido por las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, está muy relacionado con el potencial de síntesis de sustancias activas, de las cuales, particularmente para *G. diazotrophicus*, existen referencias de la liberación de auxinas, giberelinas y citoquininas⁽⁵⁾. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que a partir de nuevos estudios fisiológicos-

bioquímicos se identifiquen nuevos compuestos o cepas que produzcan altas cantidades de las fitohormonas anteriormente mencionadas y que, debido a ello, induzcan un mayor efecto estimulador en los indicadores del crecimiento y el rendimiento de los cultivos. El aumento sobre la productividad de las plantas que se alcanzó en el presente estudio, fue superior al que se obtuvo para la yuca en investigaciones previas realizadas en las condiciones de Cuba, pero en pequeñas parcelas ⁽⁹⁾ y demuestra el potencial que tiene la bacteria endófitas para ser utilizada como estimulador del crecimiento en esta especie vegetal, en diferentes modalidades de producción.

La concentración de *G. diazotrophicus* en las hojas de las plantas de yuca fue tres órdenes mayor cuando se aplicó el microorganismo. En la primera campaña (2009-2010) se obtuvo un valor de $4,2 \times 10^4$ UFC gramo de tejido fresco⁻¹ en hojas provenientes de plantas controles y de $3,1 \times 10^7$ UFC gramo de tejido fresco⁻¹, en hojas muestreadas a partir de plantas biofertilizadas; mientras que en el segundo ensayo (campaña 2010-2011), la concentración de la bacteria en las hojas de las plantas controles fue de $2,1 \times 10^4$ UFC gramo de tejido fresco⁻¹ y en las hojas de las plantas inoculadas de $5,3 \times 10^7$ UFC gramo de tejido fresco⁻¹. La presencia de 1000 veces más UFC en las plantas inoculadas, indica que la bacteria endófitas coloniza la especie vegetal después de su aplicación en este cultivo, lo que conduce a la obtención de un efecto estimulador del crecimiento y del rendimiento. Se puede deducir, además, que la yuca es más sensible a la colonización de *G. diazotrophicus* que el boniato, teniendo en cuenta que en el primer caso se obtuvo una menor concentración de la bacteria.

La aplicación de *G. diazotrophicus* en plantas de malanga también provocó un efecto positivo sobre el desarrollo y el rendimiento de la especie vegetal. En este cultivo, el rendimiento agrícola se incrementó entre 40 y 58 % en cada campaña, respectivamente, con la obtención de un promedio de 13 t ha^{-1} adicionales después de la aplicación de la bacteria endófitas. El largo y el diámetro de los tubérculos aumentó en 94 y 58 %, respectivamente, en la primera campaña; mientras que en la segunda se incrementó en más del doble y 48 %, con relación a los tubérculos provenientes de plantas controles sin tratar (Tabla 4).

Tabla 4. Respuesta del cultivo de la malanga clon México 1, a la inoculación con *G. diazotrophicus*, cepa INIFAT Abn1

Variante	Diámetro del tubérculo (cm)		Largo del tubérculo (cm)		Rendimiento (t ha ⁻¹)	
	2009-2010	2010-2011	2009-2010	2010-2011	2009-2010	2010-2011
Testigo	3,89 b	3,66 b	6,75 b	6,40 b	28,95 b	25,06 b
Inoculado	6,15 a	5,47 a	13,10 a	12,90 a	40,70 a	39,84 a
Esx	0,96	0,40	0,617	0,31	1,04	0,82

Medias con letras no comunes difieren significativamente entre si por prueba de Anova y Test de Newman Keuls con $p < 5 \%$

Se debe destacar que en el caso del presente estudio, los valores de rendimiento obtenidos son superiores a los alcanzados en ensayos realizados con la especie vegetal y *G. diazotrophicus* en pequeñas parcelas ⁽⁹⁾, aspecto que demuestra las perspectivas de uso del microorganismo, como parte del manejo agronómico de la malanga.

La inoculación con *G. diazotrophicus*, puede contribuir de forma significativa a las ganancias de nitrógeno en las plantas, por su condición de fijador de dinitrógeno ⁽⁵⁾. Como ventaja de esta asociación planta-bacteria, se destaca el efecto continuado del microorganismo durante todo el desarrollo del cultivo, que, a diferencia de los fertilizantes químicos, permite se incremente la disponibilidad del nutriente (nitrógeno) para la planta, según sus necesidades y en dependencia de su estadio fisiológico. Sin embargo, teniendo en cuenta los pocos estudios realizados sobre la interacción de *G. diazotrophicus* y viandas tropicales, sería conveniente demostrar el porcentaje de nitrógeno que el microorganismo pone a disposición de la planta.

La concentración de *G. diazotrophicus* en hojas jóvenes de malanga se incrementaron en cuatro órdenes (10 000) en las plantas inoculadas con respecto a las plantas testigos. En la primera campaña (2009-2010), los valores alcanzados para este indicador fueron de $4,1 \times 10^3$ UFC por gramo de tejido fresco⁻¹ en plantas controles y de $2,4 \times 10^7$ UFC por gramo de tejido fresco⁻¹ para las plantas que se inocularon de forma artificial con la cepa INIFAT Abn1 de *Gluconacetobacter diazotrophicus*. En la segunda campaña (2010-2011) se obtuvo un comportamiento similar. Así, las plantas controles promediaron un valor poblacional de $5,2 \times 10^3$ UFC gramo de tejido fresco⁻¹, mientras que las inoculadas mostraron una población del endófito de $3,1 \times 10^7$ UFC g de tejido fresco⁻¹.

A partir del incremento de la concentración de la bacteria en las plantas inoculadas se puede deducir, al igual que en la yuca y en el boniato, que es necesario aumentar el número de células del microorganismo en el interior de las plantas a través de la inoculación, ya que las poblaciones naturales de la bacteria no permiten que se manifieste el efecto estimulador del crecimiento de *G. diazotrophicus* sobre estos cultivos, tal y como se aprecia en las diferencias discutidas en los indicadores del crecimiento entre las plantas testigo e inoculadas. Sin embargo, a diferencia de otras viandas, en malanga, se puede sugerir la inoculación de vitroplantas en los CRAS (Centro Reproductor de Semilla Agámica), de forma tal que la plántula, una vez liberada por esta unidad, presente una concentración de *G. diazotrophicus* adecuada para su posterior establecimiento y desarrollo en campo. En este sentido, se han realizado inoculaciones con diferentes especies promotoras del crecimiento, incluida *G. diazotrophicus*, en yuca durante la fase de aclimatación con resultados positivos ⁽¹⁷⁾, pero es un tema de investigación que se deberá abordar en otros trabajos investigativos.

El estudio demostró el efecto beneficioso en el crecimiento y el rendimiento del boniato, la yuca y la malanga que se alcanza mediante la aplicación del endófito *G. diazotrophicus*.

CONCLUSIONES

La aplicación de la cepa INIFAT Abn-1 de *Gluconacetobacter diazotrophicus* permite mejorar el crecimiento, el desarrollo y el rendimiento de los cultivos de boniato, yuca y malanga, en condiciones de producción.

RECOMENDACIONES

- Implementar el uso de *G. diazotrophicus* dentro de las prácticas agronómicas para el manejo agrícola de los cultivos de boniato, yuca y malanga.
- Demostrar el posible potencial como nitrógeno fijador de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, en interacción con boniato, yuca y malanga, mediante técnicas isotópicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Moreno Reséndez A, Carda Mendoza V, Reyes Carrillo JL, Vásquez Arroyo J, Cano Ríos P. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 2018;20(1):68–83.
2. Gouda S, Kerry RG, Das G, Paramithiotis S, Shin H-S, Patra JK. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological research*. 2018;206:131–140.
3. Odoh CK. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A bioprotectant bioinoculant for sustainable agrobiological. *A review*. *Int J Adv Res Biol Sci*. 2017;4(5):123–142.
4. Lambert T, Santiesteban R, Ceiro WG, Fernández ME, López G de las M, Corrales WC. Effect of bioproducts in the production of *Phaseolus vulgaris* L. and *Arachis hypogaea* L. *Revista de Ciencias Agrícolas*. 2019;36(1):59–66.
5. Eskin N, Vessey K, Tian L. Research progress and perspectives of nitrogen fixing bacterium, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, in monocot plants. *International journal of agronomy*. 2014;2014:13.
6. Dent D, Cocking E. Establishing symbiotic nitrogen fixation in cereals and other non-legume crops: The Greener Nitrogen Revolution. *Agriculture & Food Security*. 2017;6(1):1–9.
7. Da Silva SF, Olivares FL, Canellas LP. The biostimulant manufactured using diazotrophic endophytic bacteria and humates is effective to increase sugarcane yield. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2017;4(1):1–6.

8. Lovaisa NC, Guevara EE, Delaporte Quintana PAG, Elías J, Arroyo J, Salazar SM. Efecto de la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal en plantas de maíz (*Zea mays* L.). *Revista de Agronomía Noroeste Argentina*. 2018;38(1):33–8.
9. Álvarez BD, Rocafull YR, García MO. Estudio de la asociación *Gluconacetobacter diazotrophicus*-viandas tropicales establecidas sobre suelo Ferralítico Rojo. II. Determinación del método de inoculación más eficiente para la incorporación de *G. diazotrophicus* en los cultivos de boniato, yuca y malanga. *Cultivos Tropicales*. 2011;32(4):20–26.
10. Ríos Rocafull Y, Dibut Álvarez B, Rojas Badía M, Ortega García M, Arozarena Daza N, Rodríguez Sánchez J. Interacción de la bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* y hortalizas de raíz. *Cultivos tropicales*. 2016;37:28–32.
11. Jiménez AH, Jiménez JMP, Infante DB. Clasificación de los suelos de Cuba. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas: Mayabeque, Cuba; 2015. 92 p.
12. Döbereiner J, Reis VM, Paula MA, Olivares F de. Endophytic diazotrophs in sugar cane, cereals and tuber plants. In: *New horizons in nitrogen fixation*. Springer; 1993. p. 671–676.
13. Madigan M, Bender K, Buckley D, Sattley W, Stahl D. *Brock Biology of Microorganisms* [Internet]. Fifteenth Edition. Global Edition. 2019 [cited 27/04/2021]. 1058 p. Available from: <https://www.amazon.com/-/es/Michael-Madigan/dp/0134261925>
14. Olanrewaju OS, Glick BR, Babalola OO. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017;33(11):1–16.
15. Marquez-Benavidez L, Morales PG, Balderas-León I, Villegas Moreno J, Sánchez-Yáñez JM. Inoculation of *Hordeum vulgare* var. Armida (barley) with *Burkholderia cepacia*. and *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Investigación Agraria*. 2016;18(2):87–94.
16. Dent D. Non-nodular endophytic bacterial symbiosis and the nitrogen fixation of *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Symbiosis*. 2018;4:53–81.
17. Lopes EAP, Brayner FA, Alves LC, Antunes JEL, Oliveira JP. Acclimatization of *Manihot esculenta* Crantz Seedlings Inoculated in vitro with Plant Growth-Promoting Bacteria. *Adv Plants Agric Res*. 2017;7(5):377–386.