



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE AGRONOMÍA

**Determinación de la presencia de la bacteria fijadora de nitrógeno
Azospirillum spp., en la rizosfera de musáceas y marantáceas presentes en la
Granja Experimental "Santa Inés".**

**NAGUA CAIMINAGUA JOSE ANDRES
INGENIERO AGRONOMO**

**SANCHEZ LOJA CRISTHIAN GEOVANNY
INGENIERO AGRONOMO**

**MACHALA
2025**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE AGRONOMÍA

**Determinación de la presencia de la bacteria fijadora de nitrógeno
Azospirillum spp., en la rizosfera de musáceas y marantáceas
presentes en la Granja Experimental "Santa Inés".**

**NAGUA CAIMINAGUA JOSE ANDRES
INGENIERO AGRONOMO**

**SANCHEZ LOJA CRISTHIAN GEOVANNY
INGENIERO AGRONOMO**

**MACHALA
2025**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE AGRONOMÍA

TRABAJOS EXPERIMENTALES

**Determinación de la presencia de la bacteria fijadora de nitrógeno
Azospirillum spp., en la rizosfera de musáceas y marantáceas
presentes en la Granja Experimental "Santa Inés".**

**NAGUA CAIMINAGUA JOSE ANDRES
INGENIERO AGRONOMO**

**SANCHEZ LOJA CRISTHIAN GEOVANNY
INGENIERO AGRONOMO**

QUEVEDO GUERRERO JOSE NICASIO

**MACHALA
2025**



Nagua Caiminagua Sánchez Loja

4%
Textos
sospechosos



< 1% **Similitudes**
0% similitudes entre comillas
0% entre las fuentes
mencionadas
4% **Idiomas no reconocidos**

Nombre del documento: Nagua Caiminagua Sánchez Loja.docx
ID del documento: 94c0f28d6193bc431807e831717a57c6f1b6d70b
Tamaño del documento original: 1,07 MB

Depositante: JOSE NICASIO QUEVEDO GUERRERO
Fecha de depósito: 31/7/2025
Tipo de carga: interface
fecha de fin de análisis: 31/7/2025

Número de palabras: 9082
Número de caracteres: 60.075

Ubicación de las similitudes en el documento:



Fuentes con similitudes fortuitas

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	dspace.utb.edu.ec Estudio de tresépocas de aplicación de nitrógeno en cuatro ... http://dspace.utb.edu.ec:8080/jspui/bitstream/49000/634/6/T-UTB-FACIAG-AGR-000108.pdf.txt	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (22 palabras)
2	Documento de otro usuario #7631dd Viene de de otro grupo	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (23 palabras)
3	agroguia.info El papel vital del fósforo en el crecimiento de las plantas que deb... https://agroguia.info/funcion-del-fosforo-en-las-plantas/	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (12 palabras)
4	repositorio.utmachala.edu.ec https://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16559/1/TTUACA-2021-IA-DE00025.pdf	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (10 palabras)
5	Documento de otro usuario #72a8ea Viene de de otro grupo	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (11 palabras)

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

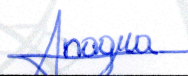
Los que suscriben, NAGUA CAIMINAGUA JOSE ANDRES y SANCHEZ LOJA CRISTHIAN GEOVANNY, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado Determinación de la presencia de la bacteria fijadora de nitrógeno *Azospirillum* spp., en la rizosfera de musáceas y marantáceas presentes en la Granja Experimental "Santa Inés", otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

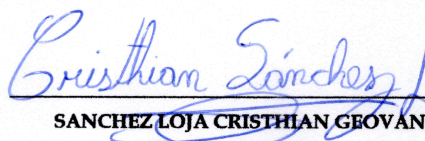
Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.



NAGUA CAIMINAGUA JOSE ANDRES

0705557692



SANCHEZ LOJA CRISTHIAN GEOVANNY

0706481892

Dedicatoria

Dedico este logro con todo mi corazón a mis padres, Francisco Nagua y María Caiminagua. Gracias por su esfuerzo incansable, por cada sacrificio silencioso y por enseñarme que los sueños se construyen con trabajo, humildad y perseverancia. Ustedes han sido mi motor, mi guía y mi fuerza constante. Todo lo que he alcanzado no es solo mío, es también de ustedes, porque cada paso dado ha estado cimentado en los valores que me enseñaron.

A mi hermano Kleiner, que con su ejemplo silencioso me ha enseñado más de lo que las palabras pueden expresar. Su dedicación, su responsabilidad y su disciplina han sido una inspiración constante en mi vida. Este logro académico no solo marca el cierre de una etapa, sino también el reflejo de todo el amor, el apoyo y los valores que me han formado como persona.

José Andrés Nagua Caiminagua

Dedico este logro, a las personas que han sido parte de este proceso y mi motivación. A mis padres, Lorena Loja y Carlos Sánchez, por cada sacrificio silencioso y por enseñarme con su ejemplo el valor del esfuerzo, la responsabilidad y la humildad. A mi hermana, Stefanni Sánchez, tu presencia ha sido una luz en este proceso.

A Nathaly que ha sido mi compañera de vida estos últimos años, por caminar a mi lado con paciencia, comprensión y un amor sincero. Gracias por creer en mí, por impulsarme a seguir adelante incluso en los momentos más difíciles, por celebrar mis logros como tuyos y por brindarme tu apoyo incondicional cuando más lo necesité.

Este trabajo también es de ustedes.

Cristhian Geovanny Sánchez Loja

Agradecimiento

Quiero agradecer, en primer lugar, a Dios, por ser mi guía y fortaleza a lo largo de este camino, dándome la sabiduría y perseverancia para llegar hasta aquí. A mi familia, por su apoyo incondicional, por motivarme en los momentos difíciles y acompañarme durante todo el proceso académico.

Mi gratitud al Dr. Quevedo Guerrero José Nicasio, tutor de esta tesis, por su dedicación, orientación y valiosos consejos. También agradezco a los docentes Dr. Unda Barrezueta Salomón Alejandro y Dr. Chabla Carrillo Julio Enrique, por compartir sus conocimientos y acompañarme en mi formación profesional. Finalmente, a la Ing. Tuz Guncay Ivanna, por su valioso apoyo técnico durante el desarrollo de este trabajo.

José Andrés Nagua Caiminagua

Agradezco sinceramente a la Universidad Técnica de Machala, por brindarme acceso al conocimiento y las herramientas necesarias para mi formación profesional.

Mi gratitud al Dr. Quevedo Guerrero José Nicasio, tutor de esta tesis, por su orientación, dedicación y constante apoyo durante el proceso investigativo. Su experiencia y exigencia académica fueron fundamentales para alcanzar este logro. También agradezco a la Ing. Tuz Guncay Ivanna, por su apoyo técnico en el área de laboratorio, demostrando siempre disposición y profesionalismo.

Extiendo mi agradecimiento a todos los docentes de la carrera de Agronomía de la UTMACH, por su valioso aporte en mi crecimiento académico y personal.

Cristhian Geovanny Sánchez Loja

Determinación de la presencia de la bacteria fijadora de nitrógeno *Azospirillum spp.*, en la rizosfera de musáceas y marantáceas presentes en la Granja Experimental “Santa Inés”.

Autores:

José Andrés Nagua Caiminagua

Cristhian Geovanny Sánchez Loja

Tutor:

Ing Agr. Quevedo Guerrero Jose Nicasio, Phd.

Resumen:

La presente investigación tuvo como propósito determinar la presencia de la bacteria fijadora de nitrógeno *Azospirillum spp.* en la rizosfera de musáceas y marantáceas cultivadas en la Granja Experimental “Santa Inés”, así como evaluar su acción fijadora en el cultivo de banano (*Musa x paradisiaca*) bajo condiciones experimentales controladas. Para ello, se aplicó una metodología experimental con enfoque mixto, que integró observaciones cualitativas y mediciones cuantitativas. En la fase de laboratorio, se recolectaron muestras rizosféricas de diferentes especies vegetales, se realizó el aislamiento de *Azospirillum spp.* utilizando medio Congo rojo específico para su cultivo, se realizó su identificación mediante tinción de Gram y su posterior multiplicación en medios líquidos enriquecidos con glicerol y glucosa. Posteriormente, en la etapa de campo, se establecieron cinco tratamientos experimentales: T0 (testigo), T1 (medio de masificación con glicerol), T2 (medio de masificación con glucosa), T3 (urea) y T4 (urea más medio de masificación con glucosa). A lo largo de 25 días se evaluaron parámetros fisiológicos relacionados con el estado nutricional de las plántulas de banano. Los tratamientos T1, T2 y T0 mostraron una conservación más efectiva del color foliar y mayores niveles de clorofila, en comparación con T3 y T4, los cuales evidenciaron signos de clorosis, menor estabilidad fisiológica y una respuesta más dispersa. El análisis estadístico reveló diferencias significativas entre los tratamientos, confirmando que *Azospirillum spp.* es eficaz como biofertilizante. Se concluye que esta bacteria tiene alto potencial para mejorar la nutrición vegetal, reducir la dependencia de fertilizantes químicos y promover prácticas agrícolas más sostenibles y eficientes en sistemas productivos tropicales.

Palabras clave: *Azospirillum spp.*, rizosfera, musáceas, nitrógeno.

Determination of the Presence of the Nitrogen-Fixing Bacterium *Azospirillum spp.* in the Rhizosphere of Musaceae and Marantaceae Species at the “Santa Inés” Experimental Farm.

Authors:

José Andrés Nagua Caiminagua

Cristhian Geovanny Sánchez Loja

Tutor:

Ing Agr. Quevedo Guerrero Jose Nicasio, Phd.

Abstract:

This research aimed to determine the presence of the nitrogen-fixing bacterium *Azospirillum spp.* in the rhizosphere of musaceae and marantaceae species cultivated at the “Santa Inés” Experimental Farm, as well as to evaluate its nitrogen-fixing activity in banana (*Musa x paradisiaca*) cultivation under controlled experimental conditions. An experimental methodology with a mixed approach was applied, integrating both qualitative observations and quantitative measurements. In the laboratory phase, rhizospheric soil samples were collected from various plant species. *Azospirillum spp.* was isolated using Congo red medium, identified through Gram staining, and subsequently multiplied in liquid media enriched with glycerol and glucose. In the field phase, five experimental treatments were established: T0 (control), T1 (glycerol-based culture medium), T2 (glucose-based medium), T3 (urea), and T4 (urea plus glucose-based medium). Over a 25-day evaluation period, physiological parameters related to the nutritional status of banana seedlings were monitored. Treatments T1, T2, and T0 showed better preservation of leaf color and higher chlorophyll levels, while T3 and T4 exhibited signs of chlorosis, reduced physiological stability, and greater variability in plant response. Statistical analysis revealed significant differences between treatments, confirming the effectiveness of *Azospirillum spp.* as a biofertilizer. It is concluded that this bacterium has high potential to enhance plant nutrition, reduce the reliance on chemical fertilizers, and promote more sustainable and efficient agricultural practices in tropical production systems.

Keywords: *Azospirillum spp.*, Rhizosphere, Musaceae, Nitrogen.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1	Introducción.....	11
1.1	Planteamiento del problema.....	11
1.2	Objetivos	12
1.3	Hipótesis.....	12
1.4	Justificación.....	12
1.5	Delimitación del estudio.....	13
2	Marco Teórico	14
2.1	Generalidades del <i>Azospirillum</i> especie.....	14
2.1.1	Conceptualización	14
2.1.2	Clasificación y descripción taxonómica.....	15
2.1.3	Características del <i>Azospirillum</i> especie y su papel en la fijación de nitrógeno	15
2.1.4	Efecto del <i>Azospirillum</i> en la fijación de nitrógeno y absorción de nutrientes	15
2.1.5	Perspectivas genéticas y moleculares.....	16
2.2	Efecto del <i>Azospirillum</i> en la fijación de nitrógeno y absorción de nutrientes ...	16
2.3	Condiciones morfológicas de la raíz del banano y su interrelación con el medio biológico y ambiental.....	20
2.3.1	Papel de los exudados de las raíces.....	20

2.3.2	Comunidad y funciones microbianas	20
2.3.3	Procesos biológicos en la rizosfera	21
2.3.4	Interacciones ambientales y biológicas	21
2.4	Hipótesis o supuestos teóricos.....	21
3	Metodología.....	23
3.1	Ubicación del área de estudio.....	23
3.2	Material vegetal.....	23
3.3	Características edafoclimáticas del área de estudio	23
3.4	Materiales.....	24
3.4.1	Materiales para laboratorio.....	24
3.4.1.1	Equipos de laboratorio	24
3.4.1.2	Reactivos	25
3.4.1.3	Materiales de campo.....	25
3.5	Diseño de la investigación.....	25
3.5.1	Tipo de investigación	25
3.6	Procedimiento y análisis de los datos.....	26
3.6.1	Etapa de laboratorio	26
3.6.2	Etapa de campo	29
3.6.3	Variables del estudio	31
3.6.4	Diseño experimental.....	31

3.6.4.1	Características del diseño experimental	32
3.6.5	Análisis estadístico	32
4	Resultados y Discusiones	34
4.1	Color de las hojas según la tabla de Munsell	34
4.2	Nivel de clorofila.....	35
4.3	Nivel de clorofila en función a los días de evaluación.....	40
5	Conclusiones y Recomendaciones.....	46
5.1	Conclusiones	46
5.2	Recomendaciones.....	47
6	Referencias bibliográficas	48
7	Anexos	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Tratamientos, dosis y frecuencias de aplicación.</i>	32
Tabla 2. <i>Evolución del color foliar según atributos Munsell en función del tratamiento y días de evaluación.</i>	35
Tabla 3. <i>Análisis de varianza del nivel de clorofila.</i>	36
Tabla 4. <i>Pruebas de comparación de medias para el nivel de clorofila.</i>	37
Tabla 5. <i>Análisis de varianza de los tratamientos y los días de muestreo.</i>	41
Tabla 6. <i>Pruebas de comparación de medias por días de muestreo.</i>	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Ubicación del área experimental.</i>	23
Figura 2. <i>Reactivos usados en la elaboración del medio de aislamiento.</i>	27
Figura 3. <i>a) Aislamiento de Azospirillum spp. b) Purificación en medio de cultivo Congo Rojo.</i>	27
Figura 4. <i>Azospirillum spp. identificado como Gram negativo al microscopio (x4).</i>	28
Figura 5. <i>Preparación de medios para masificación.</i>	28
Figura 6. <i>Masificación de Azospirillum sp. en dos medios de cultivo mediante sistema de aireación continua.</i>	29
Figura 7. <i>Plántulas usadas para el experimento.</i>	30
Figura 8. <i>Tratamientos empleados en el experimento.</i>	30
Figura 9. <i>Instrumentos empleados para la medición de las variables.</i>	30
Figura 10. <i>Gráfico de barras de los tratamientos por la clorofila.</i>	38
Figura 11. <i>Gráfico de cajas del contenido de clorofila en función de los tratamientos y días después de la aplicación.</i>	44

1 Introducción

1.1 Planteamiento del problema

La necesidad de optimizar la fertilidad de los suelos agrícolas de manera sostenible ha llevado a un creciente interés por el uso de microorganismos benéficos, entre ellos las bacterias fijadoras de nitrógeno del género *Azospirillum spp.* (Saballos et al., 2022). Estas bacterias promueven el crecimiento vegetal al fijar nitrógeno atmosférico y producir fitohormonas, lo que reduce la dependencia de fertilizantes químicos (Licea-Herrera et al., 2020). Sin embargo, su presencia y comportamiento varían significativamente dependiendo del tipo de cultivo, las condiciones edafoclimáticas y la interacción rizosférica (Reyna et al., 2019).

En este contexto, las musáceas (banano y plátano) y las marantáceas (bijao), especies de importancia agrícola y ecológica en la región, han sido escasamente estudiadas en relación con su microbiota rizosférica (Rodrigues et al., 2022). La Granja Experimental “Santa Inés”, ubicada en la provincia de El Oro, Ecuador, posee un entorno agrícola diverso donde estas especies conviven, pero hasta el momento no se cuenta con estudios locales que determinen si existe una asociación significativa entre ellas y *Azospirillum spp.* (Fernandes et al., 2020).

La falta de información científica sobre la presencia y distribución de *Azospirillum spp.* en la rizosfera de musáceas y marantáceas limita el aprovechamiento de estos microorganismos como biofertilizantes, y con ello, las estrategias de manejo agroecológico sostenibles en sistemas tropicales (Rojas Aparicio et al., 2017). Por lo tanto, es necesario realizar una caracterización microbiológica que permita determinar su existencia, frecuencia y potencial de aplicación en estos cultivos, como base para futuras prácticas de biofertilización y mejora del rendimiento agrícola (Veloz Romo, 2024).

1.2 Objetivos

Objetivo general:

Determinar la presencia de la bacteria fijadora de nitrógeno *Azospirillum spp.* en la rizosfera de musáceas y marantáceas presentes en la Granja Experimental “Santa Inés”.

Objetivo específico:

- Identificar la presencia de la bacteria fijadora de nitrógeno *Azospirillum spp.* en la rizosfera de musáceas y marantáceas.
- Evaluar la acción fijadora de nitrógeno de la bacteria *Azospirillum spp.* en el cultivo de banano en fase de vivero.

1.3 Hipótesis

Azospirillum spp. está presente en la rizosfera de musáceas y marantáceas cultivadas en la Granja Experimental “Santa Inés”, y presenta actividad fijadora de nitrógeno que contribuye al desarrollo del cultivo de banano.

1.4 Justificación

El estudio de microorganismos benéficos asociados a las raíces de plantas agrícolas es fundamental para avanzar hacia modelos de producción más sostenibles (Pascutti et al., 2024). Dentro de este grupo, las bacterias del género *Azospirillum spp.* destacan por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y promover el crecimiento vegetal mediante la producción de fitohormonas, lo cual permite reducir significativamente el uso de fertilizantes químicos sintéticos (Fukami et al., 2018). Esta función es especialmente relevante en cultivos como las musáceas y marantáceas, presentes en sistemas tropicales como los de la región sur del Ecuador (Lara-García et al., 2021).

La Granja Experimental “Santa Inés”, ubicada en la provincia de El Oro, constituye un entorno agrícola de relevancia académica y científica, pero carece de investigaciones previas que

evalúen la microbiota rizosférica de estos cultivos (Hinsu et al., 2021). Determinar la presencia y actividad fijadora de nitrógeno de *Azospirillum spp.* en dicha zona permitirá sentar las bases para futuras aplicaciones en biofertilización, con beneficios tanto para la productividad agrícola como para la salud del suelo y el ambiente (Rabara et al., 2023).

Se espera que los resultados de esta investigación aporten información clave al conocimiento local sobre microorganismos edáficos y fortalecerán las estrategias agroecológicas impulsadas por instituciones académicas, comunidades rurales y programas de extensión agronómica (Chen, 2024). De este modo, se contribuye al desarrollo científico y al fortalecimiento de prácticas agrícolas sostenibles alineadas con los principios de la seguridad alimentaria y la conservación ambiental (Saikanth et al., 2023).

1.5 Delimitación del estudio

Este estudio se realizó entre abril y julio de 2025, en la Granja Experimental “Santa Inés” de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, provincia de El Oro, Ecuador. Se enfoca exclusivamente en determinar la presencia de la bacteria fijadora de nitrógeno *Azospirillum spp.* en la rizosfera de musáceas y marantáceas, y evaluar su actividad fijadora en el cultivo de banano.

2 Marco Teórico

2.1 Generalidades del *Azospirillum* especie

2.1.1 Conceptualización

Los *Azospirillum spp.* son bastones móviles gramnegativos, curvos o ligeramente curvados, equipados con flagelos polares y laterales. Son microaerófilos y diazotróficos, capaces de fijar el nitrógeno atmosférico y producir compuestos beneficiosos para las plantas. Este género ha sido reconocido por su capacidad para promover el crecimiento vegetal, particularmente debido a su asociación con cultivos de importancia económica (Dos Santos Ferreira et al., 2020; Elmerich et al., 1985).

Una de sus características más relevantes es la producción de fitohormonas, especialmente auxinas, que estimulan el desarrollo del sistema radicular y la absorción de nutrientes (Fernandes et al., 2020; Ma et al., 2024). Al establecer asociaciones con las raíces, estas bacterias contribuyen al desarrollo de la parte aérea y radicular, incrementando la producción y rendimiento del cultivo (Fernandes et al., 2020).

El género *Azospirillum* fue descrito formalmente por Tarrand, Krieg y Döbereiner en 1979, con *Azospirillum lipoferum* como especie tipo. Pertenece al dominio Bacteria, filo Pseudomonadota, clase Alphaproteobacteria, orden Rhodospirillales y familia Azospirillaceae (Elmerich et al., 1985; Steenhoudt & Vanderleyden, 2000). Estas bacterias, conocidas como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), se asocian principalmente con raíces de gramíneas, donde fijan nitrógeno y producen ácido indol-3-acético (IAA) (Steenhoudt & Vanderleyden, 2000).

2.1.2 Clasificación y descripción taxonómica

El género *Azospirillum* pertenece al dominio Bacteria, filo Pseudomonadota, clase Alphaproteobacteria, orden Rhodospirillales y familia Azospirillaceae, y fue descrito formalmente por Tarrand, Krieg y Döbereiner en 1979, designándose *Azospirillum lipoferum* como especie tipo. Originalmente descrito como *Spirillum lipoferum* por Beijerinck en 1922, fue reclasificado como *Azospirillum* por Tarrand et al. en 1978, incluyendo a *A. brasilense* y *A. lipoferum* (Elmerich et al., 1985).

Este género agrupa bacterias de vida libre o asociativa con plantas, destacadas por su capacidad de fijar nitrógeno en la rizosfera. Entre las especies más conocidas se encuentran *A. brasilense*, *A. oryzae*, *A. amazonense* y *A. halopraeferens*, ampliamente estudiadas por su potencial en agricultura sostenible (Musheer et al., 2023).

2.1.3 Características del *Azospirillum* especie y su papel en la fijación de nitrógeno

Las especies de *Azospirillum* son diazótrofos de vida libre que fijan el nitrógeno atmosférico y lo ponen a disposición de las plantas, lo que es particularmente beneficioso en suelos pobres en nitrógeno (Steenhoudt & Vanderleyden, 2000).

Estas bacterias producen hormonas de crecimiento de las plantas, incluida la IAA, que mejora el desarrollo de las raíces y el crecimiento general de las plantas. Por ejemplo, se ha demostrado que las cepas de *Azospirillum* producen niveles significativos de IAA, lo que contribuye a su función como PGPR (Cabello et al., 2018; Ogunniyi et al., 2024).

2.1.4 Efecto del *Azospirillum* en la fijación de nitrógeno y absorción de nutrientes

Las especies de *Azospirillum* colonizan predominantemente la superficie radicular de las plantas, mediante un proceso de adhesión en dos etapas en el que participan flagelos polares y polisacáridos de superficie (Steenhoudt & Vanderleyden, 2000).

En la agricultura, se emplean para mejorar el rendimiento de cultivos, al favorecer la absorción de nutrientes y disminuir la dependencia de fertilizantes químicos. Ensayos en cultivos como trigo y maíz han demostrado que la inoculación con *Azospirillum* aumenta la biomasa y el crecimiento vegetal (Ogunniyi et al., 2024; Saatovich, 2006).

2.1.5 Perspectivas genéticas y moleculares

La capacidad de fijación de nitrógeno en *Azospirillum* está basada en los genes *nif*, altamente conservados, donde el activador transcripcional *nifA* cumple un rol esencial en la expresión génica ante estímulos ambientales. Asimismo, estudios moleculares han identificado diversas vías de biosíntesis del IAA, tanto dependientes como independientes del triptófano, lo cual evidencia la diversidad genética y la capacidad de adaptación de estas bacterias (Steenhoudt & Vanderleyden, 2000).

2.2 Efecto del *Azospirillum* en la fijación de nitrógeno y absorción de nutrientes

De acuerdo al estudio de Mia et al. (2013) el nitrógeno es un nutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas. El nitrógeno atmosférico no está disponible directamente para la mayoría de los cultivos, por lo tanto, la agricultura moderna depende en gran medida del uso de fertilizantes nitrogenados industriales, cuyo uso excesivo ha generado graves impactos ecológicos a nivel global. En respuesta, se han desarrollado nuevas líneas de investigación enfocadas en aprovechar bacterias diazotróficas, como *Azospirillum spp.*, capaces de fijar nitrógeno en asociación con cultivos no leguminosos como el arroz y el banano. Estas bacterias, al establecerse en la rizosfera o como endófitas, contribuyen a la nutrición nitrogenada, mejoran el crecimiento radicular y aéreo, aumentan el rendimiento y la calidad del fruto, y representan una alternativa sostenible frente a los fertilizantes sintéticos.

Diversos estudios han demostrado el potencial de *Azospirillum spp.* en la mejora nutricional de cultivos. Además, *Azospirillum spp.* tuvo un efecto significativo sobre el contenido de potasio en las hojas, y mejoró notablemente los niveles de calcio, sodio y hierro en los tallos. La falta de efectos marcados en otras variables se atribuye a la concentración del inoculante utilizado; no obstante, los contenidos nutrimentales superaron a los reportados en investigaciones previas, lo que sugiere que *Azospirillum spp.* tiene un efecto positivo en la absorción de nutrientes, incluso cuando no se traduce directamente en biomasa (Hernández-Chontal et al., 2020).

Existe un inventario detallado de las características genómicas de *Azospirillum humicireducens* SGZ-5t, destacando su alto potencial biotecnológico como rizobacteria promotora del crecimiento vegetal (PGPR). Dentro de los elementos genéticos clave, se identificó en su genoma un conjunto completo de genes relacionados con la fijación de nitrógeno y su regulación, incluyendo *nifDK* y *nifH*, esenciales para la actividad de la nitrogenasa, así como *nifnX* y *nifusVw*. La organización de este clúster génico es coherente con la observada en otras especies del mismo género, como *Azospirillum brasilense* y *Azospirillum lipoferum*. En cuanto a la producción de fitohormonas, el análisis genómico reveló numerosos genes implicados en esta función, incluyendo aquellos relacionados con la biosíntesis de triptófano (precursor de la auxina IAA) como *trpE*, *trpG*, *trpD* y *trpC*. Además, halló un clúster de genes de terpenos de 24,0 kb involucrado en la producción de metabolitos secundarios, como los carotenoides, que son precursores de fitohormonas como las giberelinas y el ácido abscísico. El conocimiento obtenido del genoma de la cepa SGZ-5t permitirá comprender mejor los mecanismos mediante los cuales *Azospirillum* estimula el crecimiento vegetal, y facilitará comparaciones genómicas con otras cepas del mismo género. Así, la combinación de su capacidad para fijar nitrógeno y sintetizar fitohormonas posiciona a *Azospirillum humicireducens* SGZ-5t como una herramienta

prometedora en la agricultura sostenible. En resumen, el estudio ha caracterizado exhaustivamente el genoma de esta cepa, revelando su arsenal genético funcional como biofertilizante y agente potenciador del crecimiento vegetal (Yu et al., 2018).

Rabara et al. (2023) se enfocaron en el aislamiento y la caracterización bioquímica de bacterias fijadoras de nitrógeno del género *Azospirillum* provenientes de la región de Saurashtra, identificando hallazgos clave con importantes implicaciones agrícolas. Se aislaron un total de 50 cepas desde la superficie y el interior de las raíces de diversas plantas, de las cuales 15 mostraron ser bioquímicamente positivas y capaces de producir ácido indolacético (AIA), una fitohormona fundamental para el crecimiento vegetal. Entre ellas, las cepas S-27 y S-46 destacaron por presentar los niveles más altos de producción de AIA, lo que las convierte en candidatas prometedoras para estudios posteriores. El trabajo sugiere que las cepas de *Azospirillum* identificadas, especialmente aquellas productoras de AIA, poseen un alto potencial como biofertilizantes, contribuyendo así al aumento del rendimiento de los cultivos y promoviendo prácticas agrícolas más sostenibles como alternativa a los fertilizantes químicos convencionales. En cuanto a investigaciones futuras, se planea realizar la secuenciación del ARN ribosómico 16S en las cepas S-27 y S-46 para una identificación taxonómica más precisa, así como su evaluación en condiciones controladas mediante ensayos en maceta. Además, se resalta el potencial de la región de Saurashtra como fuente de nuevas especies de *Azospirillum* que podrían mejorar diversos parámetros de crecimiento vegetal, incluyendo la absorción de minerales y agua. En resumen, este estudio ha identificado varias cepas de *Azospirillum* con capacidad de producir AIA, subrayando su potencial como biofertilizantes y marcando una base sólida para investigaciones futuras orientadas a su aplicación agrícola.

La investigación de Rodrigues et al. (2021) sobre *Azospirillum spp.* UENF-412522 ha caracterizado a esta cepa como una nueva especie promotora del crecimiento vegetal, con un notable potencial biotecnológico para aplicaciones en agricultura sostenible. Entre sus capacidades destacadas se encuentran la fijación de nitrógeno atmosférico y la producción de ácido indolacético (IAA), una hormona vegetal clave para el desarrollo de las plantas. Además, esta cepa demostró habilidad para solubilizar fosfato mineral y colonizar eficientemente superficies de raíces y semillas. En condiciones experimentales, las plantas inoculadas con *Azospirillum spp.* UENF-412522 mostraron un aumento significativo en la materia fresca del tallo y la raíz, así como en la materia seca de la raíz, lo que refuerza su valor como herramienta biotecnológica. A nivel genómico, se identificaron genes implicados en funciones esenciales como la fijación biológica de nitrógeno (BNF), la solubilización de fosfato, el catabolismo de etileno, la promoción del desarrollo radicular y la resistencia a antibióticos en la rizosfera. Además, se propuso un mecanismo funcional mediante el cual el nitrógeno fijado se distribuye entre la respiración de nitrato y la absorción por la planta, optimizando su disponibilidad en condiciones microaeróbicas o anóxicas. Estas características respaldan el uso potencial de esta cepa en formulaciones de bioinoculantes destinados a fomentar el crecimiento vegetal en sistemas agrícolas sostenibles. Finalmente, el estudio subraya la importancia de combinar enfoques genómicos, microscópicos, microbiológicos y bioquímicos para caracterizar nuevas especies de *Azospirillum* más allá del clado de *A. brasilense*, abriendo así nuevas posibilidades dentro de la diversidad del género y sus aplicaciones agrícolas.

2.3 Condiciones morfológicas de la raíz del banano y su interrelación con el medio biológico y ambiental

2.3.1 *Papel de los exudados de las raíces*

Los exudados radiculares son una mezcla compleja de compuestos orgánicos liberados por las raíces de las plantas, que sirven como fuentes de energía y señales de comunicación para el microbioma de la rizosfera (Bais et al., 2008; Yetgin, 2023).

Estos exudados incluyen compuestos de bajo peso molecular, como aminoácidos, ácidos orgánicos, azúcares y compuestos fenólicos, así como compuestos de alto peso molecular, como el mucílago (Bais et al., 2008).

La composición y cantidad de los exudados de las raíces dependen del genotipo de la planta, el tipo de suelo, la disponibilidad de nutrientes y la estructura de la comunidad microbiana (Chen & Liu, 2024; Yetgin, 2023).

2.3.2 *Comunidad y funciones microbianas*

La rizosfera alberga una comunidad microbiana diversa, que incluye bacterias, hongos y otros microorganismos, que intervienen en el crecimiento de las plantas mediante el control biológico, la secreción de fitohormonas y la solubilización de nutrientes (Poria et al., 2021; Vyas et al., 2022).

En las rizosferas del banano, los filos bacterianos dominantes incluyen proteobacterias, cloroflexis y acidobacterias, mientras que prevalecen hongos como *Ascomycota* y *Basidiomycota* (Ye et al., 2022).

Se han identificado rizobacterias beneficiosas, como las de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus*, en las rizosferas del banano y son conocidas por su fijación de nitrógeno y solubilización de fosfatos (Gechemba et al., 2016).

2.3.3 Procesos biológicos en la rizosfera

La fijación del nitrógeno y la solubilización del fósforo son procesos críticos facilitados por los microorganismos de la rizosfera, que mejoran la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Gechemba et al., 2016; Vyas et al., 2022).

La producción de fitohormonas por parte de las rizobacterias favorece el crecimiento de las plantas y la resiliencia al estrés (Vyas et al., 2022).

Las interacciones entre los exudados de las raíces y los microbios de la rizosfera son necesarios para estos procesos, ya que modulan la colonización y la actividad microbiana (Chen & Liu, 2024; Yang et al., 2024).

2.3.4 Interacciones ambientales y biológicas

La rizosfera está influenciada por varios factores bióticos y abióticos, incluidas las condiciones ambientales, las propiedades del suelo y las etapas de desarrollo de las plantas (Haldar & Sengupta, 2015; Yang et al., 2024).

Estos factores afectan a la composición y función del microbioma de la rizosfera, lo que repercute en la salud y el crecimiento de las plantas (Haldar & Sengupta, 2015).

Comprender estas interacciones es esencial para desarrollar estrategias que mejoren la simbiosis planta-microbio y la agricultura sostenible (Haldar & Sengupta, 2015; Yetgin, 2023).

2.4 Hipótesis o supuestos teóricos

Las bacterias del género *Azospirillum spp.* son microorganismos promotores del crecimiento vegetal, capaces de fijar nitrógeno atmosférico y mejorar la absorción de nutrientes en diversas especies agrícolas, incluyendo cultivos no leguminosos como el banano (*Musa x paradisiaca*, Lim) (Valmayor, 2020). Su acción benéfica está vinculada principalmente a la producción de fitohormonas como las auxinas, a la mejora del desarrollo radicular y al aumento

en la disponibilidad de nutrientes como nitrógeno, potasio, calcio y hierro (Ahmad et al., 2023; Fukami et al., 2018).

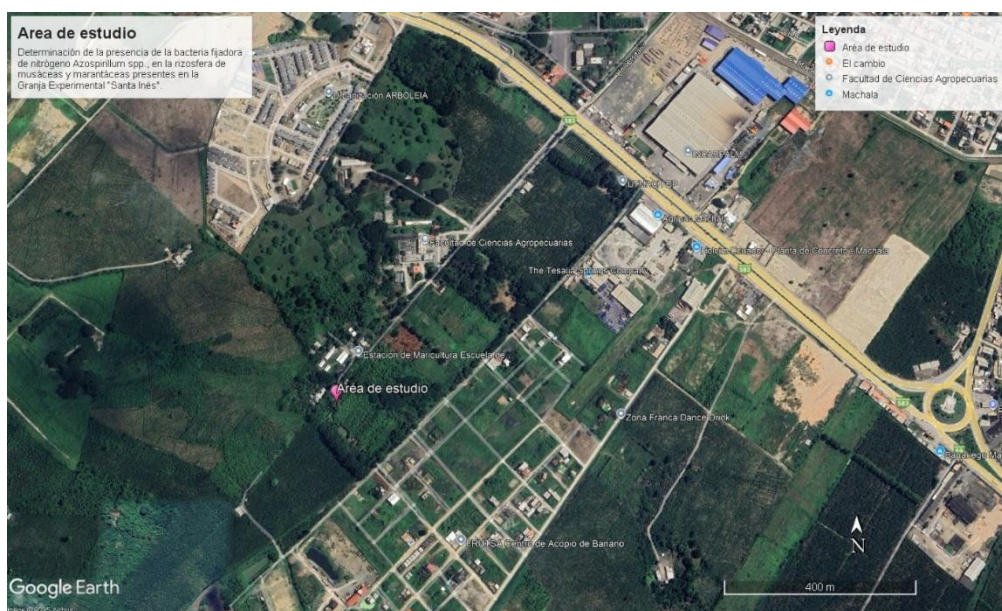
3 Metodología

3.1 Ubicación del área de estudio

El presente estudio se realizó en la granja experimental “Santa Inés” perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, provincia de El Oro, Ecuador. Las coordenadas geográficas del área de estudio corresponden a S 3° 17' 29.098"; W 79° 54' 49.965".

Figura 1. *Ubicación del área experimental.*

Fuente: Google Earth Pro.



3.2 Material vegetal

Se utilizó como material vegetal 25 plantas del clon Williams, subgrupo Cavendish, que tenían una edad de 2 meses.

3.3 Características edafoclimáticas del área de estudio

Los suelos del área de estudio son de origen aluvial y de acuerdo con el mapa de suelo del Ecuador corresponden a suelos insectisoles. El área de estudio se encuentra a una altitud de 11 msnm, con temperaturas promedio que oscilan entre 25 y 27 °C y una precipitación pluvial anual

de 800 y 1.200 mm, que de acuerdo con la clasificación de h se considera una zona tropical húmeda. El clima es cálido, con una marcada estación lluviosa, propia de las zonas costeras tropicales (Romero & García, 2021).

3.4 Materiales

3.4.1 *Materiales para laboratorio*

- Espátula.
- Matraces Erlenmeyer (2000 y 250 ml).
- Vasos de precipitados (1000 y 250 ml).
- Tubos de ensayo.
- Agua destilada.
- Pipeta graduada.
- Pera de succión.
- Gradilla.
- Asa de Drigalsky.
- Mechero.
- Hisopos estériles.
- Cajas petri.
- Micropipeta.
- Bomba de aire.
- Tubos de plástico.

3.4.1.1 *Equipos de laboratorio*

- Balanza gramera.
- Microscopio.

- Cámara de flujo laminar.
- Autoclave.
- Hornilla eléctrica.

3.4.1.2 Reactivos

- Glicerol.
- Glucosa.
- Agua destilada.
- Congo rojo.
- Agar base.
- Aceite de inmersión.

3.4.1.3 Materiales de campo

- Fundas de polietileno para vivero.
- Tamo de arroz esterilizado.
- Plántulas de banano.
- Equipo digital medidor de clorofila atleaf chl std.
- Tabla de Munsell.
- Urea.

3.5 Diseño de la investigación

3.5.1 Tipo de investigación

La investigación es de tipo experimental, se analiza el comportamiento de la bacteria *Azospirillum spp.* en condiciones controladas y su relación con la rizosfera del cultivo de banano. Se utiliza un enfoque mixto, con variables cualitativas, como la presencia o ausencia de

Azospirillum spp. en las raíces, y variables cuantitativas, como los niveles de nutrientes en el tejido vegetal y los datos obtenidos en los análisis microbiológicos.

3.6 Procedimiento y análisis de los datos

3.6.1 Etapa de laboratorio

Se tomaron muestras de suelo de aproximadamente 100 g en los primeros 10 cm de profundidad de la rizosfera de las siguientes especies: Pasto (*Eragrostis plana* Nees), Plátano maqueño, Banano silvestre (*Musa balbisiana*) y Vijao (*Calathea lutea*). Para ello, se utilizó una espátula de laboratorio y fundas plásticas.

En laboratorio, se preparó una solución de sacarosa al 10 % para cada muestra. Se pesaron 10 g de suelo por muestra previamente homogenizada y se colocaron en la solución. A partir de esta mezcla, se realizaron dos diluciones seriadas en tubos de ensayo previamente esterilizados, se tomó 1 ml de la mezcla y se agregó a un tubo con 9 ml de agua destilada; luego, se agitó y se tomó nuevamente 1 ml para una segunda dilución en otro tubo con 9 ml de agua destilada.

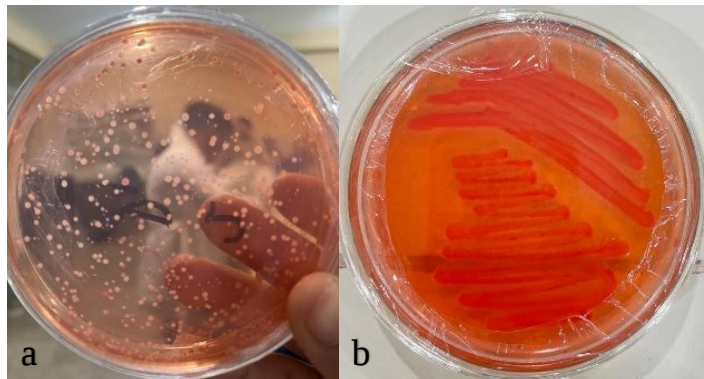
Para el aislamiento de *Azospirillum spp.*, se preparó un medio de cultivo específico con los siguientes componentes: manitol 10%, extracto de levadura 0.5%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2%, NaCl 0.2%, agar 15%, Congo rojo TM Media 0.025–0.1% y 1 l de agua destilada. El pH se ajustó entre 6.8 y 7 con NaOH o HCl, utilizando el medidor digital Bante A120 Laboratory pH Meter. Posteriormente, el medio fue esterilizado en autoclave a 121 °C por 15 minutos.

Figura 2. Reactivos usados en la elaboración del medio de aislamiento.



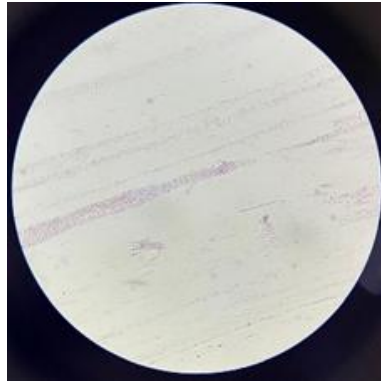
Para la siembra, se vertieron aproximadamente 10 ml del medio específico preparado con antelación en cajas petri estériles. Luego, se colocó 0.1 ml de la solución de la sacarosa en las placas utilizando una jeringa de un 1ml, y se homogenizó con un asa de Drigalsky por toda la superficie del medio. Las cajas se incubaron a 28 °C durante 24 horas. Para asegurar la pureza del aislamiento, se realizó una resiembra en medio Congo rojo utilizando cotonetes estériles, realizando un frotis en nuevas placas, que fueron nuevamente incubadas a 28 °C por 24 horas.

Figura 3. a) Aislamiento de *Azospirillum* spp. b) Purificación en medio de cultivo Congo Rojo.



Luego de ese periodo se realizó la tinción de Gram según Rodríguez y Arenas (2018).

Figura 4. *Azospirillum* spp. identificado como Gram negativo al microscopio (x4).



Posteriormente se seleccionaron las placas con mayor número de colonias para continuar con el proceso de masificación.

Para la masificación, se utilizaron dos medios líquidos:

- Medio con triptona al 10%, extracto de levadura al 5%, y glicerol al 8%.
- Medio con triptona al 10%, extracto de levadura al 5%, y glucosa al 5%.

Figura 5. Preparación de medios para masificación.



Cada medio fue preparado en un matraz de 2 litros, con pH ajustado entre 6.8 y 7 y esterilizado en autoclave a 121 °C por 15 minutos.

En una cámara de flujo laminar, se extrajeron 3 ml de cada medio líquido y se transfirieron a las placas petri. Con un asa de Drigalsky se realizó la separación de colonias de *Azospirillum* spp. del medio de cultivo y se inoculó en el líquido con el uso de jeringas estériles (3 ml por

matraz). Luego, se insertó un tubo de aireación transparente (1 mm de grosor) en cada matraz, sellando la abertura con film plástico y cubriéndolo con papel aluminio para evitar el ingreso de luz. Los tubos fueron conectados a un aireador para mantener la oxigenación y promover el crecimiento bacteriano, se dejó en incubación entre 24 y 72 horas para su aplicación en campo.

Figura 6. *Masificación de Azospirillum spp. en dos medios de cultivo mediante sistema de aireación continua.*



3.6.2 Etapa de campo

Se utilizaron 25 fundas plásticas negras para vivero, las cuales fueron llenadas con tamo de arroz previamente esterilizado en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Antes de la siembra, se procedió a la desinfección de las raíces de las plántulas de banano. Para ello, se preparó una solución en un balde con 10 litros de agua destilada, añadiendo 8 ml de cloro al 4 % por cada litro de agua. Las plántulas fueron retiradas cuidadosamente de las fundas originales de vivero y sumergidas en esta solución durante un minuto para asegurar la desinfección radicular. Luego, se enjuagaron con agua destilada para eliminar los residuos de cloro y se procedió a su siembra en las fundas preparadas con el sustrato estéril.

Figura 7. *Plántulas usadas para el experimento.*



Una vez establecidas las plantas, se aplicaron los tratamientos experimentales en campo, según el diseño establecido. A partir de la siembra, se tomaron datos cada cinco días, registrando las variables seleccionadas hasta completar 25 días de evaluación, el riego se realizó cada 2 días con 20 ml de agua destilada a todas las plantas por igual.

Figura 8. *Tratamientos empleados en el experimento.*



Figura 9. *Instrumentos empleados para la medición de las variables.*



3.6.3 Variables del estudio

En este estudio se trabajó con variables cualitativas y cuantitativas, diferenciadas por la etapa en que fueron evaluadas: laboratorio y campo.

Durante la etapa de laboratorio, se evaluó la siguiente variable cualitativa:

- **Presencia o ausencia de *Azospirillum spp.*:** se determinó a partir del crecimiento bacteriano en medio de cultivo Congo Rojo, inoculado con diluciones de suelo rizosférico. La evaluación se realizó por cada muestra correspondiente a las diferentes especies vegetales analizadas: *Eragrostis plana* Nees, plátano maqueño (*Musa × paradisiaca*), *Musa balbisiana* y *Calathea lutea*. La variable se categorizó como “presente” o “ausente” según la visualización de colonias características.

En la etapa de campo, se midieron las siguientes variables cuantitativas:

- **Nivel de clorofila en hojas:** se midió utilizando el equipo atLEAF CHL STD, aplicando el sensor directamente sobre la tercera hoja de cada plántula. El valor se obtuvo en unidades relativas de clorofila, proporcionadas digitalmente por el equipo.
- **Color de las hojas:** se evaluó visualmente en la tercera hoja de cada planta, utilizando la tabla de Munsell para hojas. Se registraron los parámetros de tono (hue), valor (value) y croma (chroma) que mejor coincidían con el color observado, conforme al sistema estandarizado Munsell.

3.6.4 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con cinco tratamientos, distribuidos en unidades experimentales de forma aleatoria. Los tratamientos incluyeron dos aplicaciones

biológicas (basadas en medios de masificación con *Azospirillum spp.*), una aplicación química (urea), una combinación de ambos, y un testigo sin aplicación, como se detalla a continuación:

Tabla 1. *Tratamientos, dosis y frecuencias de aplicación.*

Tratamiento	Detalle	Dosis	Frecuencia
T0 = Testigo	-	-	Cada 15 días
T1 = Tratamiento 1	Medio de masificación a base de glicerol (MMa)	10 ml MMa/90 ml agua destilada	Cada 15 días
T2 = Tratamiento 2	Medio de masificación a base de glucosa (MMb)	10 ml MMb/90 ml agua destilada	Cada 15 días
T3 = Tratamiento 3	Urea	10 gr Urea/90 ml agua destilada	Cada 15 días
T3 = Tratamiento 4	Urea + Medio de masificación a base de glucosa (MMb)	10gr Urea + 10 ml MMb/90 ml agua destilada	Cada 15 días

3.6.4.1 Características del diseño experimental

Las unidades experimentales fueron asignadas de forma aleatoria a los tratamientos, con el fin de minimizar la influencia de factores externos no controlados. Las principales características del diseño fueron las siguientes:

- Número de tratamientos: 5.
- Número de repeticiones por tratamiento: 5.
- Número total de unidades experimentales: 25.
- Tipo de unidad experimental: Plántula de banano.
- Criterio de aleatorización: Distribución aleatoria simple.
- Frecuencia de evaluación: Cada 5 días, durante un período de 25 días.

3.6.5 Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron organizados en hojas de cálculo utilizando Microsoft Excel y posteriormente procesados estadísticamente mediante el software SPSS. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, considerando un nivel de significancia de $p < 0.05$. En caso de encontrarse

diferencias significativas, se aplicaron las pruebas de comparación de medias de Tukey y Duncan al 5 % de probabilidad, con el objetivo de identificar cuáles tratamientos presentaron diferencias entre sí.

Dado que las variables fueron medidas en distintos momentos del tiempo, se aplicó un análisis de varianza para medidas repetidas, con el fin de evaluar el efecto del tratamiento, del tiempo y la posible interacción entre ambos factores sobre las variables dependientes.

4 Resultados y Discusiones

4.1 Color de las hojas según la tabla de Munsell

La tabla muestra la variación del color foliar en plántulas de banano a lo largo del tiempo, en función de los tratamientos aplicados, utilizando la escala Munsell como referencia. Este sistema permite interpretar cambios fisiológicos asociados a la pérdida de clorofila y al inicio de la senescencia foliar.

Los tratamientos T0 (testigo), T1 (MMa) y T2 (MMb) mantuvieron un Hue constante de 7.5 GY (verde), con ligeros descensos en Value (brillo) de 5 a 4 y en Chroma (intensidad del color) de 8 a 6. Esto indica que las hojas conservaron un color verde intenso y saludable durante todo el período de evaluación, aunque se observó una leve atenuación del color a partir del día 15. Estos cambios son fisiológicamente esperados con el paso del tiempo, pero su magnitud fue mínima, lo que sugiere que tanto el testigo como los tratamientos biológicos lograron preservar la integridad de la clorofila foliar, sin signos visibles de clorosis ni envejecimiento prematuro.

En contraste, los tratamientos T3 (urea) y T4 (urea + MMb) mostraron una transición progresiva en el matiz, pasando de 7.5 GY (verde) a 2.5 Y (amarillo) y finalmente a 7.5 YR (marrón rojizo), lo que constituye un indicador visual claro de degradación de clorofila. Este cambio fue acompañado por una reducción notoria en Value (de 5 a 4) y, más marcadamente, en Chroma, que descendió de 8 a 2, reflejando una pérdida significativa en la intensidad del color verde de las hojas.

Este comportamiento indica que las plantas tratadas con urea, tanto sola como combinada con el biofertilizante, experimentaron un proceso acelerado de clorosis y senescencia, evidenciado en el cambio de color hacia tonos amarillos y marrones. Esta respuesta fisiológica negativa podría

estar asociada a estrés metabólico causado por una sobrecarga de nitrógeno o a una asimilación ineficiente del fertilizante químico, afectando la estabilidad de la clorofila en las hojas.

Tabla 2. *Evolución del color foliar según atributos Munsell en función del tratamiento y días de evaluación.*

Tratamientos	Atributos Munsell	Intervalos de evaluación					
		0 Días	5 Días	10 Días	15 Días	20 Días	25 Días
T0	Hue (Matiz)	7.5 GY	7.5 GY	7.5 GY	5 GY	7.5 GY	7.5 GY
	Value	5	5	5	4	4	4
	Chroma	6	8	8	8	6	6
	Color						
T1	Hue (Matiz)	5 GY	7.5 GY	7.5 GY	7.5 GY	7.5 GY	7.5 GY
	Value	5	5	5	5	4	4
	Chroma	8	8	8	8	6	6
	Color						
T2	Hue (Matiz)	7.5 GY	7.5 GY	7.5 GY	7.5 GY	7.5 GY	7.5 GY
	Value	5	5	4	4	4	4
	Chroma	8	8	6	6	6	6
	Color						
T3	Hue (Matiz)	7.5 GY	5 Y	2.5 Y	2.5 Y	7.5 YR	7.5 YR
	Value	5	6	5	5	4	4
	Chroma	6	8	6	2	4	4
	Color						
T4	Hue (Matiz)	7.5 GY	5 Y	2.5 Y	2.5 Y	7.5 YR	7.5 YR
	Value	5	6	5	5	4	4
	Chroma	8	8	4	2	4	4
	Color						

4.2 Nivel de clorofila

El análisis de varianza (ANOVA) reveló diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos aplicados, con un valor de $F = 26.549$ y un nivel de significancia de $p < 0.001$, lo que indica que al menos uno de los tratamientos produjo un efecto distinto sobre la variable evaluada. La suma de cuadrados del modelo corregido fue de 6776.123, representando la variabilidad explicada por los tratamientos, mientras que la media cuadrática del error fue de 63.808, correspondiente a la variación no explicada por el modelo. Estos resultados permiten

rechazar la hipótesis nula, que plantea que todos los tratamientos tienen el mismo efecto, y justifican la aplicación de una prueba de comparación de medias, como la prueba de Tukey, para determinar con precisión entre qué tratamientos existen diferencias significativas.

Tabla 3. *Análisis de varianza del nivel de clorofila.*

Origen	SC	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	6776.123 ^a	4	1694.031	26.549	<.001
Intersección	332271.840	1	332271.840	5207.394	<.001
Tratamientos	6776.123	4	1694.031	26.549	<.001
Error	9252.117	145	63.808		
Total	348300.080	150			
Total corregido	16028.240	149			

R al cuadrado = .423 (R al cuadrado ajustada = .407)

Los resultados de las pruebas de comparación de medias mediante Tukey y Duncan evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos en relación con el contenido de clorofila en las hojas. La prueba de Tukey mostró que el tratamiento T3 (urea) registró el valor promedio de clorofila más bajo (37.573 unidades relativas), ubicándose de forma aislada en el primer subconjunto homogéneo, lo que indica una diferencia estadística significativa respecto a los demás tratamientos. El tratamiento T4 (urea + MMb) también se situó en ese primer subconjunto (40.970 unidades), aunque con valores cercanos al límite de significancia frente a T1 (MMa). En contraste, los tratamientos T1, T0 (testigo) y T2 (MMb) se agruparon en los subconjuntos superiores, con promedios de 48.833, 53.917 y 54.033 unidades, respectivamente, siendo estos dos últimos los que alcanzaron los niveles más altos y sin diferencias significativas entre ellos. La prueba de Duncan respaldó esta tendencia, al formar tres subconjuntos homogéneos donde T2 y T0 compartieron el grupo superior, diferenciándose claramente de T3 y T4. En conjunto, estos resultados indican que los tratamientos con biofertilizantes, en especial MMb (T2), contribuyeron a un mayor contenido de clorofila, mientras que la aplicación exclusiva de urea (T3) mostró una respuesta significativamente inferior.

Tabla 4. Pruebas de comparación de medias para el nivel de clorofila.

	Tratamientos	N	Subconjunto		
			1	2	3
HSD Tukey^{a,b}	T3= Urea	30	37.573		
	T4= Urea + MM a base de glucosa	30	40.970		
	T1= MM a base de glicerol	30		48.833	
	T0= Testigo	30		53.917	
	T2= MM a base de glucosa	30		54.033	
	Sig.		.470	.092	
Duncan^{a,b}	T3= Urea	30	37.573		
	T4= Urea + MM a base de glucosa	30	40.970		
	T1= MM a base de glicerol	30		48.833	
	T0= Testigo	30			53.917
	T2= MM a base de glucosa	30			54.033
	Sig.		.102	1.000	.955

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

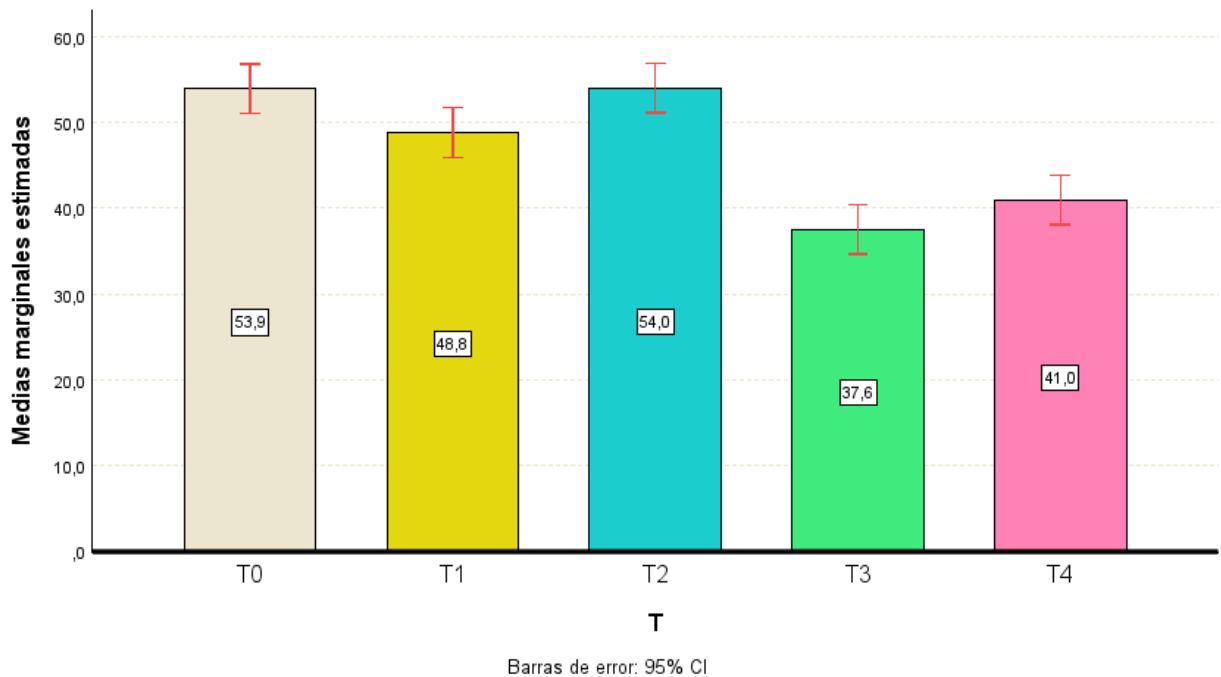
El término de error es la media cuadrática (Error) = 63.808.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 30.000.

b. Alfa = 0.05.

El gráfico de barras respalda que el tratamiento T3 (urea) fue el menos efectivo para mantener niveles adecuados de clorofila en las hojas, presentando una mediana más baja y una mayor dispersión en los datos. En contraste, los tratamientos T0 (testigo), T1 (MMa) y T2 (MMb) mostraron resultados más favorables y consistentes, reflejando una respuesta fisiológica más estable. Esta homogeneidad en el comportamiento del testigo y los tratamientos biológicos podría deberse al efecto del sustrato (tamo de arroz) o a las condiciones ambientales controladas durante el experimento, que pueden haber atenuado las diferencias entre los tratamientos. Estos patrones coinciden con los resultados obtenidos en el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey, donde T3 se diferenció estadísticamente del resto, confirmando su menor eficacia en comparación con los demás tratamientos.

Figura 10. Gráfico de barras de los tratamientos por la clorofila.



Con base en los resultados obtenidos y el análisis estadístico realizado, se observa que los tratamientos T0 (testigo), T1 (MMA) y T2 (MMb) presentaron valores similares en el contenido de clorofila, lo cual puede atribuirse a diversos factores experimentales. Uno de ellos es el posible efecto nutricional residual del sustrato. El tamo de arroz esterilizado, al humedecerse, pudo haber liberado trazas de nutrientes y compuestos orgánicos solubles, beneficiando el desarrollo inicial de las plántulas, incluso en ausencia de tratamientos activos (Wabi et al., 2016).

Otro factor relevante es la viabilidad del inóculo biológico. Es posible que la concentración de *Azospirillum spp.* en los medios MMA y MMb no haya sido suficiente para generar un efecto fisiológico claro, debido a limitaciones como la aireación, el estrés térmico o la formulación empleada. Según Pallo (2011), la formulación del inoculante influye directamente en la viabilidad bacteriana, y una formulación inadecuada puede comprometer la eficacia del biofertilizante. Una

formulación adecuada no solo preserva la viabilidad, sino que también optimiza su actividad al momento de la aplicación.

Asimismo, es importante considerar la capacidad fisiológica intrínseca de las plántulas de banano, que pueden mantener niveles estables de clorofila durante sus primeras semanas de desarrollo sin la necesidad de suplementación externa. He et al. (2022) destacan que esta capacidad puede mantenerse siempre que existan nutrientes esenciales disponibles, especialmente magnesio, un elemento fundamental para la síntesis de clorofila. Su deficiencia puede reducir su contenido y afectar negativamente la fotosíntesis, aunque en esta etapa temprana es probable que las reservas internas de las plántulas hayan sido suficientes.

Además, la duración del experimento, limitada a 25 días, pudo haber sido insuficiente para que *Azospirillum spp.* colonice plenamente la rizósfera y manifieste su efecto promotor del crecimiento. Estudios como el de Caixeta Da Silva et al. (2020) en *Coffea arabica* evidenciaron que los efectos de *Azospirillum brasilense* sobre el desarrollo radicular fueron visibles recién a los 150 días de aplicación. Sin embargo, también se han reportado efectos tempranos. Cardozo (2017), por ejemplo, observó en *Zea mays* un aumento significativo en el peso fresco de raíces y brotes a partir de los 7 días después de la inoculación, con mejoras adicionales a los 14 y 21 días.

En el caso del banano, los efectos del biofertilizante también parecen manifestarse en el mediano a largo plazo. Villareal et al. (2012) encontraron mejoras significativas en el crecimiento de plántulas micropropagadas a los 98 días tras dos aplicaciones de *Azospirillum*. De forma similar, Thangaselvabai et al. (2009) reportaron que el uso conjunto de *Azospirillum* y fertilizantes nitrogenados en plátano mostró efectos sobre rendimiento y calidad solo tras 272 días, lo que refuerza la idea de que los efectos en este cultivo pueden ser tardíos.

En conjunto, estos antecedentes respaldan la hipótesis de que la similitud entre el testigo y los tratamientos biológicos en esta investigación se debe probablemente a una acción limitada o lenta del biofertilizante en las etapas iniciales del desarrollo vegetal, influida tanto por aspectos del diseño experimental como por características propias del cultivo y de la cepa bacteriana utilizada.

4.3 Nivel de clorofila en función a los días de evaluación

El análisis de varianza (ANOVA) evidenció diferencias altamente significativas en las variables evaluadas, con un valor de $F = 23.825$ y un nivel de significancia de $p < 0.001$ para el modelo corregido, lo que indica que los factores considerados explican una proporción significativa de la variabilidad total observada. La suma de cuadrados del modelo corregido fue de 9696.966, representando la variabilidad explicada por los tratamientos aplicados y las fechas de evaluación (DDA1). En particular, el factor "Tratamientos" presentó una $F = 37.459$ con $p < 0.001$, lo que confirma la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Asimismo, el factor "DDA1" también mostró un efecto significativo ($F = 12.917$, $p < 0.001$), lo que demuestra que el momento de evaluación influyó directamente sobre la variable dependiente. La media cuadrática del error fue de 45.223, correspondiente a la variabilidad no explicada por el modelo. En conjunto, estos resultados permiten rechazar la hipótesis nula tanto para los tratamientos como para el efecto del tiempo, y justifican la aplicación de pruebas de comparación de medias con el fin de identificar entre qué tratamientos y en qué días se presentan diferencias significativas.

Tabla 5. *Análisis de varianza de los tratamientos y los días de muestreo.*

Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	9696.966 ^a	9	1077.441	23.825	<.001
Intersección	332271.840	1	332271.840	7347.346	<.001
Tratamientos	6776.123	4	1694.031	37.459	<.001
DDA¹	2920.843	5	584.169	12.917	<.001
Error	6331.274	140	45.223		
Total	348300.080	150			
Total corregido	16028.240	149			

DDA¹= Días de intervalo de evaluación

R al cuadrado = .605 (R al cuadrado ajustada = .580)

La prueba de comparación de medias para el factor DDA¹ evidenció diferencias significativas en el contenido de clorofila en función del intervalo de días después de la aplicación del tratamiento. Según los resultados de Tukey, los días 20, 10, 25 y 15 se agrupan en un primer subconjunto homogéneo, con valores promedio de clorofila que oscilan entre 43.796 y 44.992 unidades relativas, indicando que no existen diferencias estadísticas significativas entre ellos. El día 5 se ubicó en una posición intermedia con un valor de 47.644, mientras que el día 0, correspondiente al inicio del experimento, presentó el valor más alto (56.564) y se situó en un subconjunto aparte, lo cual indica una diferencia significativa respecto a los días posteriores. La prueba de Duncan confirmó esta tendencia, separando también al día 0 como el único en el subconjunto superior, mientras que los demás días se agruparon en niveles inferiores. Estos resultados reflejan que el contenido de clorofila fue máximo al inicio del experimento y disminuyó significativamente a partir del día 5, manteniéndose luego en niveles estables entre los días 10 y 25. Esta tendencia sugiere un efecto temporal marcado en la respuesta fisiológica de las plántulas, posiblemente asociado al agotamiento de reservas internas, a la eficacia limitada de los tratamientos aplicados en los primeros días, o a la falta de nutrientes esenciales que afectaron progresivamente la síntesis de clorofila.

Tabla 6. Pruebas de comparación de medias por días de muestreo.

	DDA ¹	N	Subconjunto	
			1	2
HSD Tukey^{a,b}	20 días	25	43.796	
	10 días	25	44.500	
	25 días	25	44.896	
	15 días	25	44.992	
	5 días	25	47.644	
	0 días	25		56.564
	Sig.		.335	1.000
Duncan^{a,b}	20 días	25	43.796	
	10 días	25	44.500	
	25 días	25	44.896	
	15 días	25	44.992	
	5 días	25	47.644	
	0 días	25		56.564
	Sig.		.073	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 45.223.

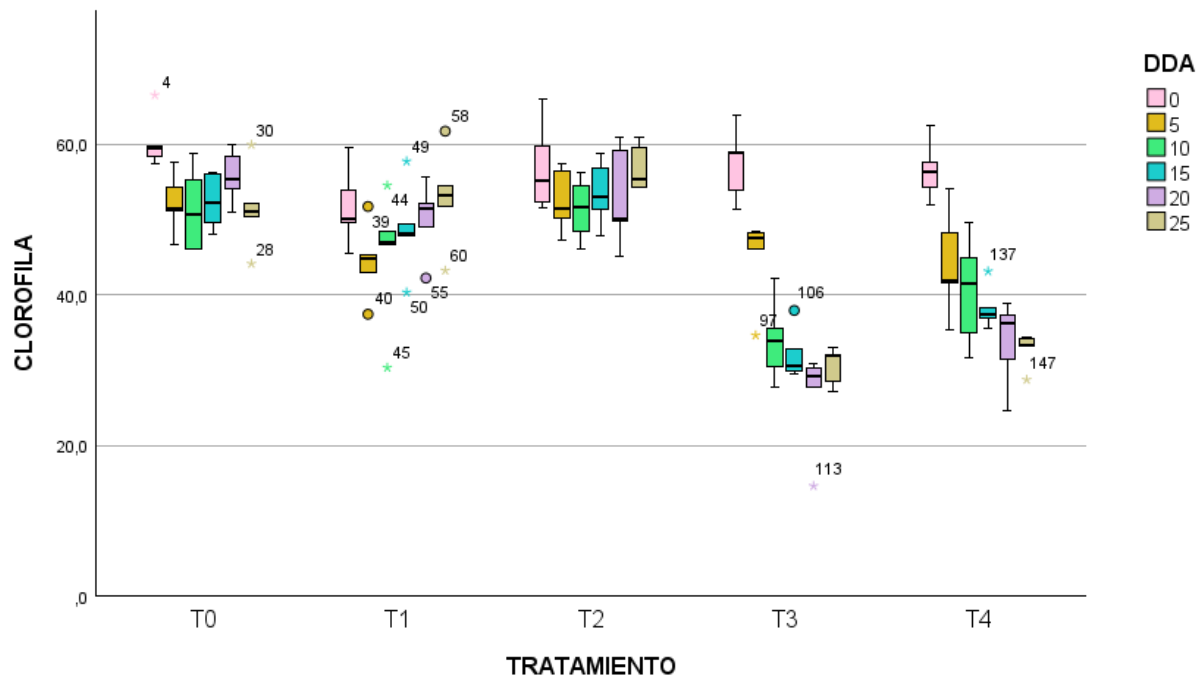
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 25.000.

b. Alfa = 0.05.

El gráfico de cajas revela diferencias notables en la evolución del contenido de clorofila a lo largo del tiempo entre los distintos tratamientos aplicados. En términos generales, se observa que el valor inicial de clorofila (DDA1 = 0) fue el más alto en todos los tratamientos, especialmente en T0 (testigo), T1 (MMA) y T2 (MMb), lo cual coincide con los resultados estadísticos previos que evidencian diferencias significativas entre los días evaluados. A partir del día 5, el contenido de clorofila comenzó a disminuir progresivamente, y esta tendencia se mantuvo hasta el día 25; dicha caída fue particularmente evidente en los tratamientos T3 (urea) y T4 (urea + MMb), donde se registraron tanto los valores más bajos como una mayor dispersión en los datos, lo que indica una respuesta fisiológica más débil e inestable en las plantas tratadas con fertilización química. Por el contrario, los tratamientos T0, T1 y T2 presentaron una disminución más moderada, manteniendo niveles de clorofila relativamente estables a lo largo del periodo de evaluación, lo que sugiere una mayor capacidad de las plantas bajo estos tratamientos para conservar su actividad

fotosintética. Esta respuesta más favorable podría atribuirse al efecto residual del sustrato (tamo de arroz), que aportó nutrientes de forma pasiva, o a una acción inicial más eficiente del tratamiento biológico. Asimismo, la presencia de valores atípicos (outliers) en tratamientos como T1 y T3 puede explicarse por variaciones individuales entre plántulas o por condiciones puntuales al momento de la medición. En conjunto, estos patrones respaldan que los tratamientos biológicos y el testigo fueron más efectivos en mantener el contenido de clorofila en el tiempo, mientras que los tratamientos con urea, especialmente T3, mostraron una caída más abrupta. Esta observación resulta coherente con los resultados del análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey, los cuales confirmaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos y momentos de evaluación. Finalmente, es importante señalar que, en ausencia de una nutrición sostenida o condiciones fisiológicas óptimas, es común que las plantas experimenten una disminución progresiva del contenido de clorofila; por tanto, la caída general observada desde el día 0 hasta el día 25 puede estar asociada al agotamiento de reservas internas, junto con la falta de estimulación biológica o nutricional suficiente en algunos tratamientos. En particular, en los casos de T3 y T4, esta reducción podría deberse a un efecto limitado del fertilizante químico o a una interacción no favorable con el medio biológico, afectando negativamente la estabilidad fisiológica de las plántulas.

Figura 11. Gráfico de cajas del contenido de clorofila en función de los tratamientos y días después de la aplicación.



Es probable que los tratamientos aplicados, especialmente los biológicos, no hayan tenido el tiempo suficiente para ejercer su efecto sobre el metabolismo vegetal de las plántulas. *Azospirillum spp.* requiere un período determinado para colonizar la rizosfera y activar sus mecanismos fisiológicos beneficiosos. Esto explicaría la rápida disminución del contenido de clorofila entre los días 0 y 5, seguida de una fase de estabilización desde el día 10 en adelante, con valores que oscilan entre 43 y 45 unidades relativas. Este patrón sugiere que las plantas entraron en una fase de equilibrio fisiológico, donde no se observaron incrementos ni reducciones drásticas, posiblemente por adaptación al entorno experimental. Según el estudio de Nieves et al. (2023), la colonización por *Azospirillum* ocurre en dos etapas: una primera reversible mediada por el flagelo, y una segunda irreversible, asociada a la producción de exopolisacáridos y formación de agregados

celulares. Este proceso implica que el efecto fisiológico de la bacteria no es inmediato, y su duración puede variar dependiendo de la cepa y de las condiciones ambientales.

Al inicio del experimento (DDA 0), las plántulas aún contaban con reservas nutricionales internas o provenientes del sustrato (tamo de arroz), lo que justifica los altos niveles iniciales de clorofila. Sin embargo, conforme transcurrieron los días y se agotaron estos recursos, la falta de una absorción suplementaria efectiva habría provocado una reducción en los niveles de clorofila. Turner y Barkus (1983) señalan que la absorción y distribución de nutrientes como magnesio (Mg) y nitrógeno (N) está directamente influenciada por su disponibilidad en el sustrato, y que su adecuada provisión es clave para sostener la actividad fotosintética y el crecimiento vegetal.

La disponibilidad de agua es otro factor relevante en el mantenimiento del contenido de clorofila. Santos et al. (2021), en un estudio con plántulas de *Campomanesia xanthocarpa*, demostraron que el estrés hídrico reduce la síntesis de clorofila, aunque este efecto puede mitigarse mediante el uso de hidrogeles, lo que destaca la importancia de un suministro hídrico constante y adecuado para preservar la estabilidad de los pigmentos fotosintéticos.

El magnesio, por su parte, es un componente central de la molécula de clorofila, y su deficiencia progresiva en el sustrato, sumada a la ausencia de refuerzo externo en los tratamientos, puede haber sido un factor determinante en la disminución sostenida de clorofila desde el día 5. Kan et al. (2022) demostraron que el agotamiento de nutrientes, en particular elementos esenciales como el magnesio, provoca la degradación de la clorofila y reduce la eficiencia fotosintética.

5 Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Conclusiones

- Los tratamientos T0 (testigo), T1 (MMA) y T2 (MMb) conservaron el color verde característico de las hojas a lo largo del experimento, según lo evaluado mediante la escala Munsell, lo que evidencia una preservación efectiva de la clorofila foliar. En contraste, los tratamientos T3 (urea) y T4 (urea + MMb) presentaron un cambio progresivo hacia tonalidades amarillas y marrones, reflejando un proceso acelerado de clorosis y senescencia, posiblemente asociado a estrés fisiológico o a una sobrecarga de nitrógeno mal asimilado por las plantas.
- El contenido de clorofila mostró diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos, siendo T2 (MMb) y T0 (testigo) los que alcanzaron los niveles más altos, seguidos por T1 (MMA). Por el contrario, T3 (urea) registró los valores más bajos, lo que evidencia su menor efectividad en mantener la capacidad fotosintética, tal como lo respaldan los resultados obtenidos en las pruebas de Tukey y Duncan.
- El análisis temporal reveló que el contenido de clorofila fue máximo al inicio del experimento ($DDA1 = 0$) y disminuyó significativamente a partir del día 5, manteniéndose luego en niveles más bajos pero estables entre los días 10 y 25. Esta tendencia sugiere un efecto fisiológico marcado por el tiempo, posiblemente vinculado al agotamiento de reservas internas de las plántulas y a una absorción limitada de nutrientes por parte de los tratamientos aplicados en las primeras etapas.
- La evaluación gráfica del comportamiento de los tratamientos a lo largo del tiempo evidenció que los tratamientos biológicos (T1 y T2), junto con el testigo (T0),

promovieron una respuesta fisiológica más estable, con menor variabilidad en los niveles de clorofila. En contraste, T3 y T4 presentaron mayor dispersión y un descenso más abrupto, lo que sugiere que los tratamientos con urea generaron una respuesta menos consistente y fisiológicamente desfavorable en las plántulas de banano bajo las condiciones del experimento.

5.2 Recomendaciones

Ampliar el período de evaluación para observar efectos fisiológicos sostenidos de *Azospirillum spp.*: Dado que *Azospirillum spp.* requiere un proceso progresivo de colonización en la rizósfera y que sus efectos fisiológicos se manifiestan con mayor claridad en el mediano plazo, se recomienda extender el período de evaluación más allá de los 30 días en futuros estudios. Esto permitirá obtener una visión más completa de su impacto sobre variables como el contenido de clorofila, el color foliar y otros indicadores de vigor y salud vegetal, especialmente en cultivos perennes como el banano, donde los efectos biológicos pueden desarrollarse de forma gradual.

Ajustar la formulación y concentración del inoculante biológico para mejorar su eficacia: Si bien los tratamientos biológicos presentaron resultados aceptables, no lograron superar consistentemente al testigo, lo que podría atribuirse a una concentración limitada o a una formulación inestable del inoculante. Se recomienda estandarizar la viabilidad del medio de masificación (MMA o MMb), utilizar cepas de *Azospirillum* con mayor compatibilidad con el cultivo de banano, y considerar aplicaciones repetidas o sincronizadas con fases fenológicas clave, a fin de potenciar la eficacia del biofertilizante en condiciones reales de campo o vivero.

6 Referencias bibliográficas

- Ahmad, N., Jiang, Z., Zhang, L., Hussain, I., & Yang, X. (2023). Insights on Phytohormonal Crosstalk in Plant Response to Nitrogen Stress: A Focus on Plant Root Growth and Development. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3631. <https://doi.org/10.3390/ijms24043631>
- Bais, H. P., Broeckling, C. D., & Vivanco, J. M. (2008). Root Exudates Modulate Plant—Microbe Interactions in the Rhizosphere. En P. Karlovsky (Ed.), *Secondary Metabolites in Soil Ecology* (Vol. 14, pp. 241-252). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-74543-3_11
- Cabello, R., Gamarra, M., & Ventocilla, D. G. (2018). *CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE Azospirillum sp., Azotobacter sp. Y Pseudomonas sp. PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL DE CULTIVOS DE Solanum tuberosum y Zea mays*. 2(2), 145-156.
- Caixeta Da Silva, L., Karen Reis Barbosa, C., & Silva Franco Junior, K. (2020). Evaluation of the effect of Azospirillum brasilense inoculation on arabic coffee seedlings. *Coffee Science*, 15(e151678), 1-3. <https://doi.org/10.25186/v15i.1678>
- Cardozo, A. M. (2017). *Inoculação de Azospirillum brasilense: Efeito sobre crescimento de Zea mays em solo não estéril e quantificação de DNA bacteriano* [Trabajo de investigacion]. Universidade Federal de Santa Catarina.
- Chen, L. (2024). New Perspective on Land Pollution Control- -Soil Microbiology Abstract. *Highlights in Science, Engineering and Technology*, 99, 269-276. <https://doi.org/10.54097/cc63cz02>

- Chen, L., & Liu, Y. (2024). The Function of Root Exudates in the Root Colonization by Beneficial Soil Rhizobacteria. *Biology*. <https://doi.org/10.3390/biology13020095>
- Dos Santos Ferreira, N., Hayashi Sant' Anna, F., Massena Reis, V., Ambrosini, A., Gazolla Volpiano, C., Rothballer, M., Schwab, S., Baura, V. A., Balsanelli, E., Pedrosa, F. D. O., Pereira Passaglia, L. M., Maltempi De Souza, E., Hartmann, A., Cassan, F., & Zilli, J. E. (2020). Genome-based reclassification of *Azospirillum brasilense* Sp245 as the type strain of *Azospirillum baldaniorum* sp. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(12), 6203-6212. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004517>
- Elmerich, C., Fogher, C., Bozouklian, H., Perroud, B., & Dusha, I. (1985). *Advances in the Genetics of Azospirillum* (pp. 477-483). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-009-5175-4_65
- Fernandes, C., Cecato, U., Biserra, T. T., Mamédio, D., & Galbeiro, S. (2020). *Azospirillum* spp. En gramíneas y forrajeras. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11(1), 223-240. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i1.4951>
- Fukami, J., Cerezini, P., & Hungria, M. (2018). *Azospirillum*: Benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Express*, 8(1), 73. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>
- Gechemba, O. R., Julius, M., Makonde, H. M., Bubambula, N. L. M., & Matiru, N. (2016). *Potentially beneficial rhizobacteria associated with banana plants in Juja Kenya*. 5(1).
- Haldar, S., & Sengupta, S. (2015). Plant-microbe Cross-talk in the Rhizosphere: Insight and Biotechnological Potential. *The Open Microbiology Journal*, 9(1), 1-7. <https://doi.org/10.2174/1874285801509010001>

- He, H., Khan, S., Deng, Y., Hu, H., Yin, L., & Huang, J. (2022). Supplemental Foliar-Applied Magnesium Reverted Photosynthetic Inhibition and Improved Biomass Partitioning in Magnesium-Deficient Banana. *Horticulturae*, 8(11), 1050. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8111050>
- Hernández-Chontal, M. A., Vazquez-Luna, D., Linares-Gabriel, A., De Dios-León, G. E., Guerrero-Peña, A., & Rodríguez-Orozco, N. (2020). Efecto de la inoculación de Azospirillum spp. Sobre el contenido nutrimental de moringa (Moringa oleifera Lam.). *Terra Latinoamericana*, 38(1), 29. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.542>
- Hinsu, A. T., Panchal, K. J., Pandit, R. J., Koringa, P. G., & Kothari, R. K. (2021). Characterizing rhizosphere microbiota of peanut (Arachis hypogaea L.) from pre-sowing to post-harvest of crop under field conditions. *Scientific Reports*, 11(1), 17457. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97071-3>
- Kan, B., Yang, Y., Du, P., Li, X., Lai, W., & Hu, H. (2022). Chlorophyll decomposition is accelerated in banana leaves after the long-term magnesium deficiency according to transcriptome analysis. *PLOS ONE*, 17(6), 15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270610>
- Lara-García, S., Vera-Aviles, D., Cabanilla-Lamulle, M., & González-Osorio, B. (2021). Desarrollo comunitario: Producción de Musácea en dos zonas de la costa ecuatoriana. *Revista de Ciencias Sociales (RCS)*, 27(3), 340-354.
- Licea-Herrera, J. I., Quiroz-Velásquez, J. D. C., & Hernández-Mendoza, J. L. (2020). Impacto de azospirillum brasilense, una rizobacteria que estimula la producción del ácido indol-3-acético como el mecanismo de mejora del crecimiento de las plantas en los cultivos agrícolas. *Revista Boliviana de Química*, 37(1). <https://doi.org/10.34098/2078-3949.37.1.5>

- Ma, Y., Zhang, Y., Xu, J., Qi, J., Liu, X., Guo, L., & Zhang, H. (2024). Research on the Mechanisms of Phytohormone Signaling in Regulating Root Development. *Plants*, 13(21), 3051. <https://doi.org/10.3390/plants13213051>
- Mia, Md. A. B., Hossain, Md. M., Shamsuddin, Z. H., & Islam, M. T. (2013). Plant-Associated Bacteria in Nitrogen Nutrition in Crops, with Special Reference to Rice and Banana. En D. K. Maheshwari, M. Saraf, & A. Aeron (Eds.), *Bacteria in Agrobiolology: Crop Productivity* (pp. 97-126). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-37241-4_5
- Musheer, N., Gulfishan, M., Ahmad, B., & Kumar, G. (2023). *Unravelling the potential: Plant growth-promoting rhizobacteria in sustainable agriculture*. KAAV PUBLICATIONS. <https://doi.org/10.52458/9789388996815.2023.eb.ch-03>
- Nievas, S., Coniglio, A., Takahashi, W. Y., López, G. A., Larama, G., Torres, D., Rosas, S., Etto, R. M., Galvão, C. W., Mora, V., & Cassán, F. (2023). Unraveling Azospirillum's colonization ability through microbiological and molecular evidence. *Journal of Applied Microbiology*, 134(4). <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad071>
- Ogunniyi, D., Onukogu, S. C., Jaiyeola, T. O., & Ogunyemi, A. D. (2024). Isolation of Azospirillum spp and Evaluation of its Plant Growth Promoting Abilities. *BIOMED natural and applied science*, 04(01), 01-09. <https://doi.org/10.53858/bnas04010109>
- Pallo, Y. (2011). *Evaluación de soportes sólidos y líquidos, para la producción de un biofertilizante a base de azospirillum spp. Aplicable al cultivo de maíz (zea mays l.)* [Trabajo de Investigación]. Universidad Técnica de Ambato.
- Pascutti, M. C. D., Silvestre, R. da S. F., & Ortiz, T. A. (2024). *The role of microorganisms in sustainable agriculture: A review*. <https://doi.org/10.55905/rdelosv17.n52-001>

- Poria, V., Singh, S., Nain, L., Singh, B., & Saini, J. K. (2021). *Rhizospheric Microbial Communities: Occurrence, Distribution, and Functions* (pp. 239-271). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-9758-9_12
- Rabara, S., Vishwakarma, N. P., & Patel, S. (2023). Isolation and Biochemical Identification of N₂ Fixing Bacteria (*Azospirillum* Sp.) From Saurashtra Region. *Current Agriculture Research Journal*, 11(1), 277-286. <https://doi.org/10.12944/CARJ.11.1.24>
- Reyna, W., Tapia, C., Ocampo, C., & Rodríguez, M. (2019). Comportamiento asociado a patología sin la presencia de enfermedad: Un estudio de caso. *Interacciones: Revista de Avances en Psicología*, 5(3), e198. <https://doi.org/10.24016/2019.v5n3.198>
- Rodrigues, G. L., Matteoli, F. P., Gazara, R. K., Rodrigues, P. S. L., Dos Santos, S. T., Alves, A. F., Pedrosa-Silva, F., Oliveira-Pinheiro, I., Canedo-Alvarenga, D., Olivares, F. L., & Venancio, T. M. (2021). *Characterization of cellular, biochemical and genomic features of the diazotrophic plant growth-promoting bacterium Azospirillum sp. UENF-412522, a novel member of the Azospirillum genus*. Microbiology. <https://doi.org/10.1101/2021.05.06.442973>
- Rodrigues, L., Espínola, L., Yoya, F., Gaspari, F., Mazzucchelli, G., & Kruse, E. (2022). Bases para estudiar las alteraciones del régimen hidrológico y su importancia ecológica en la Argentina. *Ecología Austral*, 32(1bis), 273-296. <https://doi.org/10.25260/EA.22.32.1.1.1219>
- Rodríguez, P. A., & Arenas, R. (2018). *Hans Christian Gram y su tinción*. <https://dcmq.com.mx/ediciones-anteriores/136-revistas/659-edicion-abril-junio-2018-volumen-16-n%C3%BAmero-2.html>

- Rojas Aparicio, A., Vázquez Jacinto, J. M., Romero Gomezcaña, N., Rodríguez Barrera, M. Á., Toribio Jimenez, J., & Romero Ramírez, Y. (2017). Evaluación de compost con presencia de metales pesados en el crecimiento de *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(8), 2047-2054. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i8.137>
- Romero, I. N., & García, R. M. (2021). Diagnóstico de los predios agropecuarios que conforman la granja Santa Inés de la UTMACH. *Revista Científica Agroecosistemas*, 3(9), 191-200.
- Saatovich, S. Z. (2006). *Azospirilli of Uzbekistan Soils and their Influence on Growth and Development of Wheat Plants. Plant and Soil*, 283(1-2), 137-145. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-5690-x>
- Saballos, N. J., Angulo, K. O., Amador López, M. S., Sobalvarro Centeno, O. A., Villalta Castillo, E. J., & González Reyes, R. (2022). Mapeo de la fertilidad de los suelos en el municipio de El Rama. *Wani*, 77. <https://doi.org/10.5377/wani.v38i77.14984>
- Saikanth, D. R. K., Supriya, Singh, B. V., Rai, A. K., Bana, S. R., Sachan, D. S., & Singh, B. (2023). Advancing Sustainable Agriculture: A Comprehensive Review for Optimizing Food Production and Environmental Conservation. *International Journal of Plant & Soil Science*, 35(16), 417-425. <https://doi.org/10.9734/ijpss/2023/v35i163169>
- Santos, C. C., Silverio, J. M., Scalon, S. D. P. Q., & Vieira, M. D. C. (2021). Hydrogel and water regimes in the chlorophyll-a fluorescence and growth of *Campomanesia xanthocarpa* seedlings. *Engenharia Agrícola*, 41(3), 330-337. <https://doi.org/10.1590/1809-4430-eng.agric.v41n3p330-337/2021>

- Steenhoudt, O., & Vanderleyden, J. (2000). Azospirillum, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: Genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiology Reviews*, 487-506.
- Thangaselvabai, T., Justin, C. G. L., Johnson, S. B. N., & Jayasekhar, M. (2009). Influence of nutrients on the quantitative and qualitative traits of banana. *Indian journal of agricultural research*, 43(4), 274-278.
- Turner, D. W., & Barkus, B. (1983). The uptake and distribution of mineral nutrients in the banana in response to supply of K, Mg and Mn. *Fertilizer Research*, 4(1), 89-99.
<https://doi.org/10.1007/bf01049669>
- Valmayor, R. (2020). Bananos de cocción: Clasificación, producción y utilizaciones en el Sudeste de Asia. *INIBAP*, 9(1), 40.
- Veloz Romo, M. Á. (2024). El concepto de reparación integral del daño como base para determinar una indemnización por responsabilidad patrimonial del estado en México. *ANUARIO DEDERECHO, COMERCIO INTERNACIONAL, SEGURIDAD Y POLÍTICAS PÚBLICAS*, 3, 47-58. <https://doi.org/10.20983/anuariocicj.2024.05>
- Villarreal, T. C., Medina, M. E., & Ulloa, S. (2012). Efecto de Hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y Azospirillum sobre el crecimiento y nutrición de plántulas de banano micropropagadas durante su fase de aclimatación. *Centro de Investigaciones Científicas, Escuela Politécnica del Ejército*.
- Villaseñor, D., Chabla, J., & Luna, E. (2015). Caracterización física y clasificación taxonómica de algunos suelos dedicados a la actividad agrícola de la provincia de El Oro. *CUMBRES, Revista Científica*, 1(2), 28-34.

- Vyas, P., Rana, A., & Kaur, M. (2022). *Rhizospheric bacteria as soil health engineer promoting plant growth* (pp. 45-64). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-89973-4.00017-x>
- Wabi, M. A., Verzelen, K., Houngnandan, P., Vanhove, W., Kakai, R. G., & Damme, P. V. (2016). *Sesbania rostrata* (Bremek and Oberm.) as biological nitrogen fixator for sustainable lowland rice production. <https://biblio.ugent.be/publication/8084081>
- Yang, L., Qian, X., Zhao, Z., Wang, Y., Ding, G., & Xing, X. (2024). Mechanisms of rhizosphere plant-microbe interactions: Molecular insights into microbial colonization. *Frontiers in Plant Science*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1491495>
- Ye, L., Wang, X., Wei, S., Zhu, Q., He, S., & Zhou, L. (2022). Dynamic analysis of the microbial communities and metabolome of healthy banana rhizosphere soil during one growth cycle. *PeerJ*, 10, e14404. <https://doi.org/10.7717/peerj.14404>
- Yetgin, A. (2023). The dynamic interplay of root exudates and rhizosphere microbiome. *Soil Studies*. <https://doi.org/10.21657/soilst.1408089>
- Yu, Z., Yang, G., Liu, X., Wang, Y., Zhuang, L., & Zhou, S. (2018). Complete genome sequence of the nitrogen-fixing bacterium *Azospirillum humicireducens* type strain SgZ-5T. *Standards in Genomic Sciences*, 13(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s40793-018-0322-2>

7 Anexos

Recolección de muestras en material vegetal.



Elaboración de diluciones seriadas de las muestras



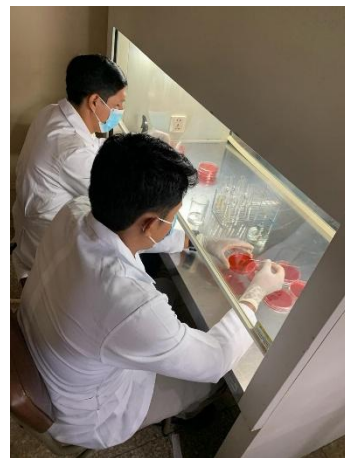


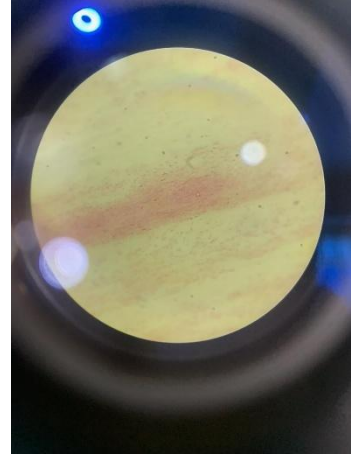
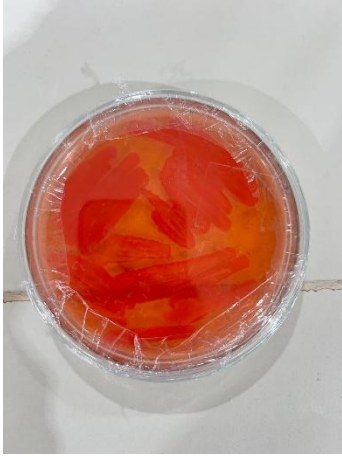
Elaboración del medio de aislamiento Congo Rojo y del medio de masificación.





Siembra de la bacteria en el medio de aislamiento.





Inoculación y masificación de la bacteria.



Adecuación del área experimental.



Aplicación de los tratamientos utilizados.



Instrumentos empleados en la medición de las variables.

