

Artículo

Aislamiento y caracterización de bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a la rizosfera de *Megathyrsus maximus*

Isolation and Characterization of Plant Growth-Promoting Bacteria Associated with the Rhizosphere of *Megathyrsus maximus*

Juan Pablo Avellaneda Vázquez ¹, Karina Gabriela Martinez Lara ², Karelys Edith Hidalgo Mendoza ³, Ketty Vanessa Arellano Ibarra^{4*} y Carmen Mercedes Ruis Torres ⁵

¹ Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Posgrado, Quevedo, Ecuador 091307; <https://orcid.org/0000-0001-9736-3294>, juan.avellaneda2017@uteq.edu.ec

² Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Posgrado, Quevedo, Ecuador 091307; <https://orcid.org/0009-0001-6750-0750>, karina.martinez2016@uteq.edu.ec

³ Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Posgrado, Quevedo, Ecuador 091307; <https://orcid.org/0009-0006-9786-3380>, karelys.hidalgo2017@uteq.edu.ec

⁴ Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Posgrado, Quevedo, Ecuador 091307; <https://orcid.org/0000-0001-7168-7485>

⁵ Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Posgrado, Quevedo, Ecuador 091307; <https://orcid.org/0009-0006-7300-9243>, carmen.ruis2016@uteq.edu.ec.

Cita: Avellaneda Vázquez, J. P., Martinez Lara, K. G., Hidalgo Mendoza, K. E., Arellano Ibarra, K. V., & Ruis Torres, C. M. (2026). Aislamiento y caracterización de bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a la rizosfera de *Megathyrsus maximus*. *Multidisciplinary Collaborative Journal*, 4(3), 91-110. <https://doi.org/10.70881/mcj/v4/n3/170>.

Recibido: 07/06/2026
Revisado: 15/07/2026
Aceptado: 20/07/2026
Publicado: 24/07/2026



Copyright: © 2026 por los autores. Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la **Licencia Creative Commons, Atribución-NoComercial 4.0 Internacional. (CC BY-NC)**.

(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

* Correspondence: ketty.arellano@iniap.gob.ec

 <https://doi.org/10.70881/mcj/v4/n3/170>

Resumen: *Megathyrsus maximus* (pasto saboya) se destaca como una fuente importante de alimento para el ganado cuyo rendimiento se ha visto afectado por el uso excesivo de fertilizantes químicos. El objetivo de este estudio fue aislar y caracterizar bacterias con capacidad para promover el crecimiento vegetal. Para ello se recolectaron muestras de la rizosfera de *M. maximus*, las cuales fueron procesadas para el aislamiento bacteriano. Posteriormente se realizó una caracterización microbiológica, bioquímica y molecular. Se evaluaron atributos promotores del crecimiento vegetal mediante pruebas de ureasa, solubilización de fósforo, actividad catalasa, actividad amilásica y producción de ácido indolacético. Además, se realizaron ensayos in vitro para evaluar la germinación de semillas, la longitud radicular, la longitud de las hojas, la longitud del tallo y el peso fresco de las plantas. Los resultados evidenciaron que fue posible aislar e identificar bacterias asociadas a la rizosfera del pasto saboya con capacidad para promover el crecimiento vegetal, independientemente de la zona de origen, lo que evidenció una marcada heterogeneidad genética. Las cepas con mejor desempeño fueron identificadas molecularmente como *Azospirillum lipoferum*, *Rhizobium etli*, *Klebsiella oxytoca* y *Serratia marcescens*. Estos hallazgos demuestran el potencial de estas bacterias como biofertilizantes para mejorar el establecimiento, crecimiento y productividad de *M. maximus*, constituyendo una alternativa sostenible para reducir la dependencia de fertilizantes químicos y contribuir al desarrollo de sistemas ganaderos más eficientes y ambientalmente responsables en condiciones de producción tropical.

Palabras clave: biofertilizante; microorganismos; inoculación; biotecnología; forraje.

Abstract: *Megathyrsus maximus* (Guinea grass) is an important forage species for livestock production, whose productivity has been adversely affected by the excessive use of chemical fertilizers. The objective of this study was to isolate and characterize plant growth-promoting bacteria (PGPB) associated with the rhizosphere of *M. maximus*. Rhizosphere samples were collected and processed for bacterial isolation, followed by microbiological, biochemical, and molecular characterization. Plant growth-promoting traits were assessed through urease activity, phosphate solubilization, catalase activity, amylolytic activity, and indole-3-acetic acid (IAA) production. In addition, in vitro assays were conducted to evaluate seed germination, root length, leaf length, stem length, and fresh plant weight. The results demonstrated the successful isolation and identification of rhizosphere-associated bacteria with plant growth-promoting potential, regardless of their geographic origin, revealing considerable genetic diversity among the isolates. The best-performing strains were molecularly identified as *Azospirillum lipoferum*, *Rhizobium etli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Serratia marcescens*. These findings highlight the potential of these bacterial species as biofertilizers to enhance the establishment, growth, and productivity of *M. maximus*, providing a sustainable alternative to reduce dependence on chemical fertilizers and supporting the development of more efficient and environmentally responsible livestock production systems under tropical conditions.

Keywords: biofertilizer; microorganisms; inoculation; biotechnology; forage.

1. INTRODUCCION

Megathyrsus maximus (pasto de saboya), anteriormente conocido como *Panicum maximus*, es un pasto subtropical y se considera una de las mejores especies forrajeras de los países tropicales. Esta planta es más adecuada para ser utilizada como pasto, para corte, acarreo y para producir heno y ensilaje (Udumann et al. 2023). *M. maximus* es originaria de África y la Península Arábiga, pero está naturalizada en todos los trópicos. Esta especie ahora está presente en China, Australia, Nueva Zelanda, el sudeste asiático, India, América del Sur, el Caribe, las islas del Pacífico, Japón, Medio Oriente, México y el sur de Estados Unidos (Rhodes et al. 2021).

En nuestro país, *M. maximus* es uno de los principales pastos, ocupando una extensión considerable de 1.147.091 hectáreas. Su relevancia en la ganadería tropical se debe a su capacidad para adaptarse a diversas condiciones ambientales y su notable productividad (Gómez Villalva et al. 2021).

Sin embargo, *M. maximus* requiere suelos con buena fertilidad, especialmente en relación al nitrógeno. Esta alta demanda impacta negativamente en su cultivo ya que, al mismo tiempo que buscan aumentar la productividad, los productores enfrentan desafíos para lograr una producción sostenible y menos dependiente de insumos químicos (Bounaffaa et al. 2018). La práctica de la fertilización con nitrógeno aumenta considerablemente el costo de producción de pastos ya que su síntesis requiere fuentes de combustibles fósiles y la mayor parte del insumo actualmente es importado (Canto et al. 2016) mencionando también el riesgo existente de contaminación de suelos y aguas por la adición de estos nitratos (Pedreira et al. 2017).

Bajo este contexto, tenemos a los inoculantes microbianos como una alternativa ya que son organismos que se introducen en el medio ambiente para el control biológico y la promoción del crecimiento de plantas, abarcando bacterias, hongos y otros

microorganismos (Kaminsky et al. 2019). Los biofertilizantes, que pueden contener microorganismos vivos o inactivos, desempeñan un papel crucial al fijar el nitrógeno atmosférico, movilizar nutrientes del suelo y liberar compuestos que estimulan el crecimiento vegetal (Kour et al. 2020).

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal son microorganismos del suelo que habitan en la zona cercana a las raíces, llamada rizosfera. A través de la emisión de distintas moléculas reguladoras, contribuyen activamente al estímulo del crecimiento y desarrollo de las plantas. Se pueden encontrar asociados a las raíces, a las hojas o dentro de la planta (Vocciante et al. 2022). El uso de fertilizantes puede sustituirse por bacterias promotoras de crecimiento vegetal ya que la mayoría de estas no sólo colonizan de manera rápida la rizosfera, sino que mejoran la capacidad de absorción de nutrientes de las plantas siendo así, una alternativa viable para mejorar la productividad agrícola sin depender en exceso de fertilizantes químicos (Mehmood et al. 2018). Algunos autores han demostrado la eficacia del uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en diversos tipos de pasto tal como la *Urochloa* spp., *Brachypodium distachyon* y *Pennisetum purpureum* (Hungria et al. 2021, do Amaral et al. 2016, Sumranwanich et al. 2022).

El presente estudio tiene como objetivo principal explorar la diversidad bacteriana asociada a la rizosfera del pasto saboya, aislando y caracterizando las cepas bacterianas con potencial como promotoras del crecimiento vegetal. Para ello, se emplearán técnicas de aislamiento, identificación molecular y ensayos *in vitro*. Los resultados de esta investigación proporcionarán información valiosa para el desarrollo de estrategias de manejo agronómico que promuevan la productividad y la sostenibilidad de los sistemas de producción ganadera basados en el pasto saboya.

2. METODOLOGÍA

2.1. Lugar de la investigación y recolección de muestras

La investigación se desarrolló en los laboratorios de Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicados en el campus universitario La María, km 7 de la vía Quevedo–El Empalme, Ecuador.

Las muestras de suelo rizosférico asociado a *Megathyrus maximus* se recolectaron en cuatro localidades: Estación Experimental Tropical Pichilingue del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias —INIAP—, campus La María, Guasaganda y La Maná. En cada localidad se seleccionaron plantas aparentemente sanas y se recolectó el suelo adherido a las raíces, aproximadamente a 5 cm de profundidad. Las muestras se colocaron en recipientes estériles, se identificaron según su localidad de origen y se trasladaron al laboratorio para su procesamiento.

2.2. Diseño de la investigación

La investigación comprendió dos componentes. El primero fue descriptivo y exploratorio, destinado al aislamiento, caracterización morfológica, bioquímica y molecular de las bacterias rizosféricas. El segundo fue experimental y estuvo orientado a evaluar el efecto de las cepas seleccionadas sobre la germinación y el crecimiento inicial de *M. maximus*.

El ensayo *in vitro* se estableció bajo un diseño completamente al azar, con cinco tratamientos: cuatro cepas bacterianas seleccionadas —IN210, GA-20, LM034 y

LMA45— y un control sin inoculación. Cada tratamiento estuvo conformado por cuatro repeticiones.

2.3. Aislamiento de bacterias rizosféricas

Para cada muestra se pesaron 10 g de suelo rizosférico y se suspendieron en 100 mL de agua destilada estéril, contenidos en matraces Erlenmeyer de 250 mL. Las suspensiones se agitaron a 150 rpm y 30 °C durante 30 min.

Posteriormente, se realizaron diluciones decimales seriadas cuando la concentración microbiana lo requirió. Se sembraron 100 µL de la suspensión o de las diluciones seleccionadas sobre placas con agar Luria–Bertani —LB—, distribuyendo el inóculo uniformemente sobre la superficie. Las placas se incubaron a 28 ± 2 °C hasta observar crecimiento bacteriano.

Las colonias con características morfológicas diferenciadas fueron seleccionadas y purificadas mediante estrías sucesivas en agar LB. Los cultivos puros se codificaron de acuerdo con su localidad de procedencia y se conservaron para los análisis posteriores. El procedimiento original utilizó 10 g de suelo, 100 mL de agua y siembra de 0,1 mL en agar LB.

2.4. Recuento de bacterias viables

El número de bacterias viables se determinó mediante el método de recuento en placa. Después de la incubación se seleccionaron las placas que presentaron un número contable de colonias y la concentración bacteriana se calculó mediante la siguiente expresión:

$$\text{UFC mL}^{-1} = \frac{N \times FD}{V}$$

donde N corresponde al número de colonias contabilizadas, FD al factor de dilución y V al volumen sembrado, expresado en mililitros.

Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por mililitro UFC mL⁻¹.

2.5. Caracterización morfológica

Los aislados bacterianos se cultivaron en agar LB y se incubaron a 28 °C durante 48 h. La caracterización macroscópica se realizó mediante observación directa de colonias aisladas. Se registraron las siguientes características:

- Forma: puntiforme, circular o filamentosa.
- Elevación: plana, elevada o convexa.
- Borde: entero, ondulado o lobulado.
- Pigmentación y apariencia superficial de la colonia.

Las características fueron registradas a partir de cultivos puros y bajo las mismas condiciones de incubación para todos los aislados.

2.6. Caracterización bioquímica

2.6.1. Tinción de Gram

Se prepararon frotis bacterianos sobre portaobjetos limpios, los cuales se dejaron secar y se fijaron con metanol. Posteriormente, se aplicó cristal violeta durante 1 min, seguido de solución de Lugol. Las preparaciones se decoloraron durante algunos segundos con una mezcla de alcohol y acetona y se contratiñeron con safranina.

Las células que conservaron la coloración violeta se clasificaron como Gram positivas, mientras que aquellas que presentaron una coloración rosada o rojiza se clasificaron como Gram negativas.

2.6.2. Actividad catalasa

La actividad catalasa se determinó colocando 20 µL de peróxido de hidrógeno al 3 % sobre un portaobjetos. A continuación, se incorporó una pequeña porción de una colonia bacteriana fresca de 24 h.

La formación inmediata de burbujas, en un tiempo igual o menor a 10 s, se consideró una reacción positiva. La respuesta se clasificó como fuertemente positiva ++ cuando se produjo una efervescencia intensa, positiva + cuando la efervescencia fue leve y negativa – cuando no se observaron burbujas. Se realizaron cuatro repeticiones por aislado.

2.6.3. Actividad ureasa

La actividad ureasa se evaluó en un medio basal compuesto por tripteína, 1 g L⁻¹; glucosa, 1 g L⁻¹; cloruro de sodio, 5 g L⁻¹; fosfato monopotásico, 2 g L⁻¹; rojo de fenol, 0,0012 g L⁻¹; agar, 15 g L⁻¹; y pH 7,0 ± 0,2.

Después de esterilizar el medio basal, se incorporó asépticamente una solución de urea esterilizada por filtración hasta alcanzar una concentración final de 2 %. Los aislados fueron inoculados e incubados a 28 °C durante 48 h.

El cambio de coloración del medio de amarillo-anaranjado a rosado o fucsia se interpretó como una reacción positiva, debido al incremento del pH generado por la hidrólisis de la urea. La composición original del medio se encontraba descrita en el informe, aunque debía incorporarse explícitamente la urea para que el ensayo fuera funcional y reproducible.

2.6.4. Solubilización de fósforo

La capacidad de solubilización de fósforo se evaluó en un medio sólido compuesto por sulfato de amonio, 0,5 g L⁻¹; cloruro de potasio, 0,2 g L⁻¹; sulfato de magnesio, 0,1 g L⁻¹; sulfato de manganeso, 0,004 g L⁻¹; cloruro de sodio, 0,2 g L⁻¹; D-glucosa, 10 g L⁻¹; sulfato de hierro, 0,002 g L⁻¹; extracto de levadura, 0,5 g L⁻¹; fosfato de calcio, 0,5 g L⁻¹; fosfato férrico, 0,5 g L⁻¹; y agar, 15 g L⁻¹.

Los aislados se inocularon por punteo y se incubaron a 28 ± 2 °C durante 48–72 h. La formación de un halo transparente alrededor de la colonia se consideró indicativa de solubilización de fósforo. Cuando fue posible, la actividad se expresó mediante el índice de solubilización:

$$IS = \frac{D_c + D_h}{D_c}$$

donde D_c representa el diámetro de la colonia y D_h el diámetro del halo de solubilización.

2.6.5. Actividad amilásica

Los aislados se inocularon por punteo, utilizando 3 µL de suspensión bacteriana, sobre agar nutriente suplementado con 1 % de almidón soluble. Las placas se incubaron a 30 ± 2 °C durante 48 h.

Finalizada la incubación, la superficie del medio se cubrió con solución de yodo-yoduro de potasio durante 2 min. La aparición de una zona clara alrededor de la colonia se interpretó como actividad amilásica positiva.

El índice de hidrólisis se calculó mediante:

$$IH = \frac{D_h - D_c}{D_c}$$

donde D_h corresponde al diámetro total del halo y D_c al diámetro de la colonia. La actividad se clasificó como negativa -, positiva + o fuertemente positiva ++.

2.7. Susceptibilidad antimicrobiana

La susceptibilidad antimicrobiana de los aislados se evaluó frente a amoxicilina, ciprofloxacina, azitromicina, doxiciclina y cloranfenicol. Para ello, se prepararon suspensiones bacterianas a partir de cultivos frescos y se ajustaron a una turbidez equivalente al patrón 0,5 de McFarland.

Las suspensiones se distribuyeron uniformemente sobre agar Mueller–Hinton y se colocaron discos comerciales de los antibióticos evaluados. Las placas se incubaron en posición invertida durante 18 h. Posteriormente, se midió el diámetro de los halos de inhibición en milímetros.

Los aislados se clasificaron como resistentes -, susceptibles + o altamente susceptibles ++ de acuerdo con los intervalos de diámetro establecidos para el estudio.

Debe incorporarse en la versión final: la concentración en microgramos de cada disco, la temperatura exacta de incubación y los intervalos de diámetro utilizados para asignar -, + y ++. El documento original presenta los resultados del antibiograma, pero no describe estos parámetros metodológicos.

2.8. Selección de cepas bacterianas

La selección de los aislados con potencial promotor del crecimiento vegetal se realizó considerando su desempeño en las pruebas bioquímicas y fisiológicas. Se priorizaron los aislados que presentaron actividad catalasa positiva y, al menos, dos respuestas positivas en las pruebas de ureasa, actividad amilásica y solubilización de fósforo.

También se consideraron la estabilidad del comportamiento bioquímico y los perfiles diferenciales de susceptibilidad antimicrobiana. Con base en estos criterios se seleccionaron las cepas IN210, GA-20, LM034 y LMA45 para los ensayos de producción de AIA, tolerancia al pH, cinética de crecimiento, identificación molecular y evaluación in vitro.

2.9. Producción de ácido indol-3-acético

La producción de ácido indol-3-acético AIA se evaluó en las cuatro cepas seleccionadas. Cada cepa se inoculó en 50 mL de caldo LB suplementado con 0,1 % de DL-triptófano.

Se emplearon 500 μL de cultivo bacteriano como inóculo y los matraces se incubaron a 30 °C y 180 rpm durante 48 h.

Después de la incubación, los cultivos se centrifugaron a 4 °C durante 10 min. Se tomaron 2 mL del sobrenadante y se añadieron de dos a tres gotas de ácido ortofosfórico y 4 mL de reactivo de Salkowski, preparado con 50 mL de ácido perclórico al 35 % y 1 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,5 M. La mezcla se incubó en oscuridad durante 30 min.

La absorbancia se determinó espectrofotométricamente a 530 nm. La concentración de AIA se calculó mediante una curva de calibración elaborada con concentraciones conocidas de AIA comercial y los resultados se expresaron en mg L^{-1} .

Se incluyó un blanco constituido por caldo LB suplementado con triptófano, sin inoculación bacteriana. El ensayo se realizó con repeticiones independientes y los resultados se expresaron como media $\pm$ error estándar.

2.10. Tolerancia a diferentes niveles de pH

La tolerancia al pH se evaluó en las cepas IN210, GA-20, LM034 y LMA45. Las cepas se cultivaron previamente en caldo LB a 28 °C durante 24 h y se ajustaron a una concentración inicial homogénea.

El caldo LB se ajustó a pH 4, 5, 6 y 7 utilizando HCl 1 M o NaOH 1 M, según correspondiera. Los medios se esterilizaron a 121 °C durante 15 min y, una vez enfriados, fueron inoculados con las suspensiones bacterianas.

Los cultivos se incubaron a 28 °C durante 24 h. Finalizada la incubación, se prepararon diluciones decimales y se realizó el recuento en agar LB. Los resultados se expresaron como UFC mL^{-1} . Se emplearon tres repeticiones independientes por combinación de cepa y nivel de pH.

La metodología fue ajustada a pH 4, 5, 6 y 7 porque estos son los niveles representados en la figura y analizados en los resultados del artículo. El informe original mencionaba pH 4, 7 y 10, lo cual no coincidía con los datos presentados.

2.11. Cinética de crecimiento bacteriano

Las cepas seleccionadas se cultivaron individualmente en caldo LB. Los cultivos se incubaron a 28 °C, bajo agitación constante, durante 24 h.

Se tomaron alícuotas cada 2 h, desde las 2 hasta las 24 h de incubación. Para cada tiempo se realizaron diluciones decimales seriadas y se sembraron alícuotas sobre agar LB. Después de la incubación, se contabilizaron las colonias y el crecimiento se expresó como UFC mL^{-1} .

De manera complementaria, la densidad óptica de los cultivos pudo registrarse a 600 nm; sin embargo, las curvas presentadas en el artículo corresponden a recuentos viables en UFC mL^{-1} . Las curvas se utilizaron para describir las fases de adaptación, crecimiento exponencial, máxima densidad y declive de cada cepa. El informe original menciona lecturas de OD_{600} , mientras que la figura del artículo presenta mediciones cada 2 h expresadas en UFC mL^{-1} .

2.12. Identificación molecular

El ADN genómico de las cepas seleccionadas se extrajo mediante el kit comercial PureLink Genomic DNA —Invitrogen—, siguiendo las instrucciones del fabricante.

El gen del ARNr 16S se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa —PCR—. Cada reacción se preparó en un volumen final de 25 µL, compuesto por 12,5 µL de Master Mix, cebadores universales para el gen 16S, aproximadamente 50 ng de ADN genómico y agua libre de nucleasas hasta completar el volumen.

La amplificación se realizó en un termociclador Bio-Rad C1000 bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 min; 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 30 s, alineamiento a la temperatura correspondiente a los cebadores y extensión a 72 °C durante 1 min; y una extensión final a 72 °C durante 10 min.

Los productos de PCR se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5 %, preparado en tampón TAE 1X. Se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb. Los productos amplificados se purificaron con el kit PureLink y se enviaron para secuenciación por el método de Sanger.

Las secuencias obtenidas se depuraron y se compararon con las secuencias disponibles en la base de datos NCBI/GenBank mediante BLASTn. La asignación taxonómica se realizó considerando el porcentaje de identidad, la cobertura de consulta y el valor E.

2.13. Ensayo de germinación y crecimiento in vitro

2.13.1. Desinfección de semillas

Se seleccionaron semillas de *M. maximus* de tamaño y apariencia homogéneos. Las semillas se desinfectaron superficialmente mediante inmersión en hipoclorito de sodio al 0,5–1,0 % durante 10 min. Posteriormente, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril para retirar los residuos del desinfectante.

2.13.2. Preparación de los inóculos bacterianos

Las cepas IN210, GA-20, LM034 y LMA45 se cultivaron en caldo LB hasta alcanzar la fase exponencial. Las suspensiones bacterianas se ajustaron a una concentración aproximada de 1×10^8 UFC mL⁻¹.

Las semillas se sumergieron individualmente en las suspensiones bacterianas durante 20–30 min para favorecer la adhesión de las células bacterianas. Las semillas del tratamiento control se sumergieron durante el mismo tiempo en agua destilada estéril o caldo LB estéril, según el vehículo utilizado para preparar los inóculos.

2.13.3. Condiciones de incubación

Las semillas inoculadas se colocaron en placas de Petri con medio de germinación agarizado, basado en medio Murashige y Skoog modificado. Las placas se mantuvieron a 28 °C, bajo un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad, durante un periodo de 7–14 días. Cada repetición estuvo conformada por el mismo número de semillas y una placa de Petri constituyó la unidad experimental.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Morfología bacteriana

Los resultados obtenidos en la caracterización morfológica de las bacterias aisladas de la rizosfera, a través de la observación de la forma, elevación y borde de las colonias, muestran variabilidad entre las muestras de las diferentes zonas de recolección (INIAP, La María, Guasaganda y La Maná). Los resultados se

presentan según los tres parámetros evaluados: forma, elevación y borde, tal como se observa en la Tabla 1.

En cuanto a la forma, la mayoría de las muestras fueron clasificadas como circulares, destacando las muestras IN210, IN278, LM034, LM001, LM002, GA087, LMA45, LMA211, LMA007 y LMA343, que presentaron esta característica. Las muestras IN032, IN144, GA-20, GA024 fueron clasificadas como filamentosas, mientras que la muestra GA722 presentó una forma puntiforme.

Respecto a la elevación, se observó que varias muestras presentaron colonias convexas, especialmente en IN032, IN210, IN278, IN004, LM166, LM408, LM001, LM002, GA-20, GA024, GA722, GA087, LMA45 y LMA007. La muestra IN144 fue la única que presentó colonias planas, mientras que otras como LMA211, LMA343 y LMA182 exhibieron colonias elevadas.

Finalmente, en relación con el borde de las colonias, la mayoría de las muestras fueron clasificadas como onduladas, incluyendo IN032, IN144, IN278, IN004, LM408, LM001, LM002, GA024, GA-20, GA087, LMA343 y LMA182. Solo algunas muestras como IN210, LM034, LM166, GA322, LMA45 y LMA211 mostraron bordes enteros y dos muestras como GA722 y LMA007 presentaron un borde lobulado.

En la rizosfera, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) es común, ya que las raíces liberan exudados y los microorganismos compiten intensamente (Wang *et al.* 2025). La alta frecuencia de catalasa positiva refleja una adaptación basal de la mayoría de bacterias rizosféricas para sobrevivir al estrés oxidativo (Jiang *et al.* 2023). La variabilidad observada en la actividad ureasa refleja una adaptación más dependiente de la disponibilidad de nitrógeno en el suelo (Feng *et al.* 2025).

Tabla 1. Morfología de las bacterias aisladas de la rizosfera en diversas zonas de recolección (INIAP, La María, Guasaganda y La Maná). Se evaluaron tres características morfológicas: forma, elevación y borde de las colonias.

Código	Forma			Elevación			Borde		
	Puntiforme	Circular	Filamentosa	Plana	Elevada	Convexa	Entero	Ondulado	Lobulado
IN210	-	+	-	-	-	+	+	-	-
IN032	-	-	+	-	-	+	-	+	-
IN144	-	-	+	+	-	-	-	+	-

IN278	-	+	-	-	-	+	-	+	-
IN004	-	+	-	-	-	+	-	+	-
LM034	-	+	-	-	-	-	+	-	-
LM166	-	+	-	-	-	+	+	-	-
LM408	-	+	-	-	-	+	-	+	-
LM001	-	+	-	-	-	+	-	+	-
LM002	-	+	-	-	-	+	-	+	-
GA-20	-	-	+	-	-	+	-	+	-
GA024	-	-	+	-	-	+	-	+	-
GA722	+	-	-	-	-	+	-	-	+
GA087	-	+	-	-	-	+	-	+	-
GA322	-	+	-	-	-	-	+	-	-
LMA45	-	+	-	-	-	+	+	-	-
LMA211	-	+	-	-	+	-	+	-	-
LMA007	-	+	-	-	-	+	-	-	+
LMA343	-	+	-	-	+	-	-	+	-
LMA182	-	+	-	-	+	-	-	+	-

Leyenda. Los resultados de la forma se agruparon en puntiforme, circular y filamentosos. En cuanto a la elevación, se clasificaron las colonias como plana, elevada, convexa, entero u ondulado. Finalmente, los bordes fueron observados como enteros, lobulados u ondulados. Los signos (+) indican la presencia de la característica observada en cada muestra, mientras que los signos (-) indican su ausencia.

3.2. Susceptibilidad antimicrobiana de los aislados bacterianos

Los aislados bacterianos obtenidos de la rizosfera en las zonas INIAP, La María, Guasaganda y La Maná mostraron patrones variables de susceptibilidad frente a amoxicilina, ciprofloxacina, azitromicina, doxiciclina y cloranfenicol. En términos generales, se observó una mayor susceptibilidad a ciprofloxacina, azitromicina y doxiciclina, mientras que la resistencia a amoxicilina y cloranfenicol fue más frecuente (Tabla 2).

Los aislados IN210, procedente del INIAP, y LMA182, de La Maná, presentaron resistencia a todos los antibióticos evaluados. En contraste, LM408 y LM001, provenientes de La María, así como LMA211 y LMA343, de La Maná, fueron susceptibles a los cinco antibióticos. Los demás aislados mostraron perfiles intermedios, caracterizados principalmente por resistencia a amoxicilina y cloranfenicol y susceptibilidad a ciprofloxacina, azitromicina y doxiciclina. Estos

resultados evidencian una marcada variabilidad en los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de las bacterias rizosféricas entre las zonas evaluadas.

Tabla 2. Resultados de las pruebas bioquímicas realizadas a las bacterias aisladas de la rizosfera en distintas zonas de recolección: INIAP, La María, Guasaganda y La Maná.

Zona de recolección	Número Muestra	Código	Tinción	Solubilización			
				Catalasa	Ureasa	Amilasa	Fosfatasa
INIAP	1	IN210	-	+	+	+	++
INIAP	2	IN032	-	++	+	+	+
INIAP	3	IN144	-	++	+	+	++
INIAP	4	IN278	-	+	+	+	+
INIAP	5	IN004	-	-	+	+	+
La María	1	LM034	+	+	-	-	++
La María	2	LM166	-	+	+	-	+
La María	3	LM408	-	++	+	+	+
La María	4	LM001	-	++	+	+	+
La María	5	LM002	-	+	+	-	-
Guasaganda	1	GA-20	-	++	+	+	++
Guasaganda	2	GA024	-	++	+	+	-
Guasaganda	3	GA722	-	+	+	+	+
Guasaganda	4	GA087	-	++	+	+	-
Guasaganda	5	GA322	-	++	-	+	-
La Maná	1	LMA45	-	++	+	+	++
La Maná	2	LMA211	+	+	-	+	+
La Maná	3	LMA007	+	+	+	+	++
La Maná	4	LMA343	-	++	-	+	+
La Maná	5	LMA182	-	+	-	+	-

Leyenda: Las pruebas bioquímicas evaluaron la capacidad de tinción, actividad de catalasa, solubilización de urea y actividad amilasica y solubilización de fosforo. Los resultados de las pruebas se indican con signos (+) para reacciones positivas y (-) para reacciones negativas. Las zonas de recolección y los códigos de muestra se detallan en las columnas correspondientes, reflejando las respuestas bioquímicas observadas para cada una de las muestras analizadas.

3.3. Producción de ácido indolacético

Las bacterias del suelo, en particular las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), producen ácido indol-3-acético (AIA) principalmente a partir del aminoácido triptófano, que suele estar presente en los exudados de las raíces (Chen y Liu 2024). Existen varias rutas metabólicas que permiten esta síntesis, siendo la del ácido indol-3-pirúvico (IPA) la más común (Tang *et al.*

2023). En este caso, el triptófano es transformado en indol-3-piruvato mediante una aminotransferasa, luego convertido en indol-3-acetaldehído y finalmente en AIA (Huang *et al.* 2025). Otras rutas alternativas incluyen la del indol-3-acetamida (IAM) o la del ácido indol-3-acetonitrilo (IAN), que también culminan en la producción de AIA, aunque son menos frecuentes y dependen tanto de la especie bacteriana como de las condiciones del suelo (Rocha *et al.* 2024).

Las cepas bacterianas presentaron diferencias significativas en la producción de ácido 3-indolacético (AIA). La cepa IN210 registró la mayor concentración, con aproximadamente 40 mg L⁻¹, y fue estadísticamente superior a las demás. Las cepas GA-20, LM034 y LMA45 produjeron alrededor de 30, 25 y 20 mg L⁻¹, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas. Estos resultados destacan a IN210 como la cepa con mayor capacidad de síntesis de AIA y potencial para promover el crecimiento vegetal.

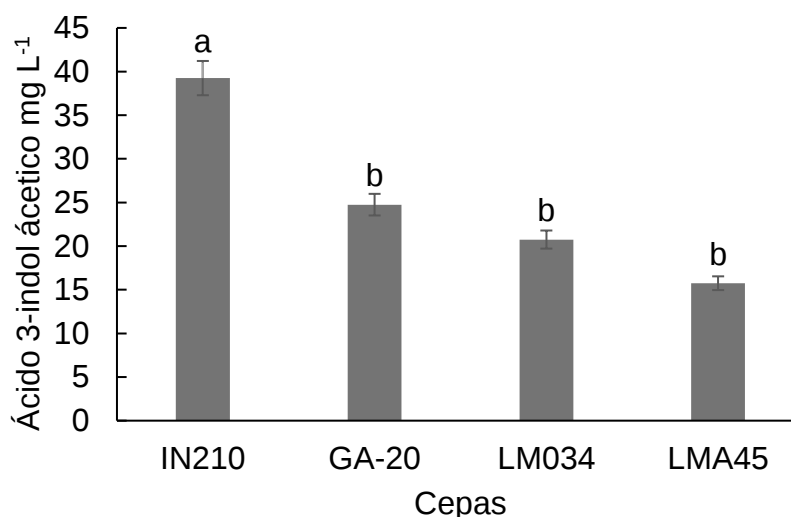


Figura 1. Gráfico que muestra la producción de ácido 3-indolacético (AIA) en diferentes cepas bacterianas aisladas de la rizosfera.

Leyenda. Las barras representan la concentración de AIA en mg L⁻¹ producida por cada cepa, con sus respectivos errores estándar. Las letras (a y b) indican diferencias estadísticas significativas entre las cepas, determinadas mediante el test de Tukey. La letra (a) corresponde a la cepa con la mayor producción de AIA, mientras que las letras (b) indican las cepas con menores concentraciones de AIA.

3.4. Tolerancia a diferentes niveles de pH

Las cepas bacterianas mostraron una disminución progresiva del crecimiento conforme se redujo el pH. La cepa IN210 presentó los mayores recuentos a pH 7, 6 y 5, con aproximadamente $3,0 \times 10^4$, $2,3 \times 10^4$ y $2,1 \times 10^4$ UFC mL⁻¹, respectivamente, diferenciándose significativamente de las demás cepas. GA-20, LM034 y LMA45 registraron menores valores, especialmente bajo

condiciones ácidas. A pH 4, todas las cepas mostraron un crecimiento prácticamente nulo y sin diferencias estadísticas, lo que evidencia una limitada tolerancia a condiciones de alta acidez.

Las bacterias rizosféricas que producen AIA no solo influyen en el crecimiento de las plántulas, sino que también cuentan con diversos mecanismos fisiológicos y bioquímicos que les permiten tolerar condiciones adversas del suelo, como las fluctuaciones en el pH (Q. Saeed *et al.* 2021). Esta resiliencia es clave para su supervivencia en entornos variables y para mantener su papel como promotoras del crecimiento vegetal (Ansabayeva *et al.* 2025).

En primer lugar, muchas de estas bacterias poseen sistemas enzimáticos reguladores del pH, como la ureasa y las descarboxilasas de aminoácidos, que generan compuestos alcalinos (amonio, aminas, CO₂) capaces de neutralizar ambientes ácidos (Gao *et al.* 2021). De esta manera, no solo protegen su propio metabolismo, sino que también modifican la microzona de la rizosfera, creando un entorno más favorable para la planta (Sharma *et al.* 2021).

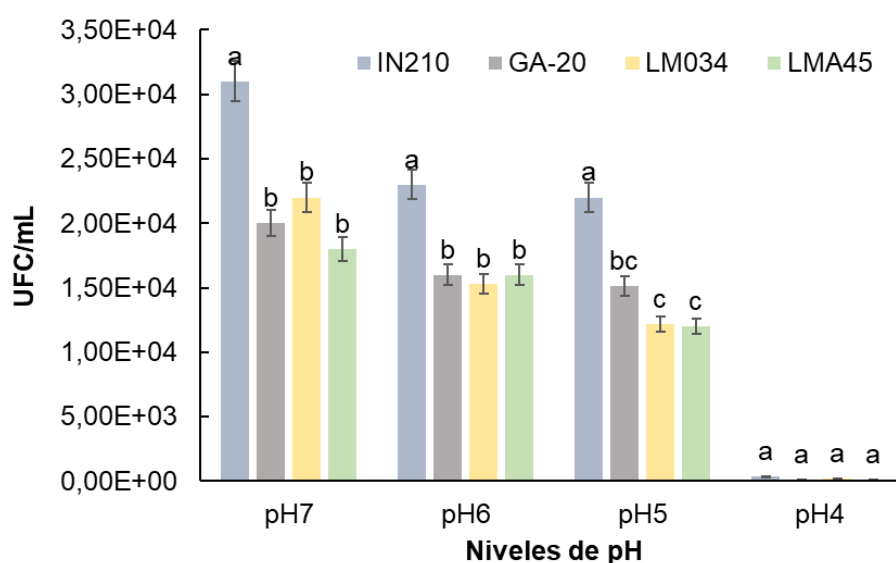


Figura 2. Crecimiento de diferentes cepas bacterianas (IN210, GA-20, LM034 y LMA45) expresado como unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) en distintos niveles de pH (7, 6, 5 y 4).

Leyenda. Las barras representan la media $\pm$ error estándar de tres repeticiones independientes. Letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada nivel de pH según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Cinética de crecimiento bacteriano

Las cepas evaluadas presentaron una fase de crecimiento exponencial principalmente entre las 2 y 12–14 h, seguida de una disminución progresiva de los recuentos. IN210 alcanzó el mayor crecimiento, con un máximo aproximado de $6,5 \times 10^4$ UFC mL⁻¹, y mantuvo los valores más altos al finalizar la evaluación. GA-20 alcanzó cerca de $6,0 \times 10^4$ UFC mL⁻¹ a las 12 h, mientras que LMA45 y LM034 registraron máximos aproximados de $5,5 \times 10^4$ y $5,0 \times 10^4$ UFC mL⁻¹, respectivamente. Después del máximo crecimiento, LM034 presentó la reducción más marcada, mientras que IN210 mostró mayor estabilidad durante la fase final.

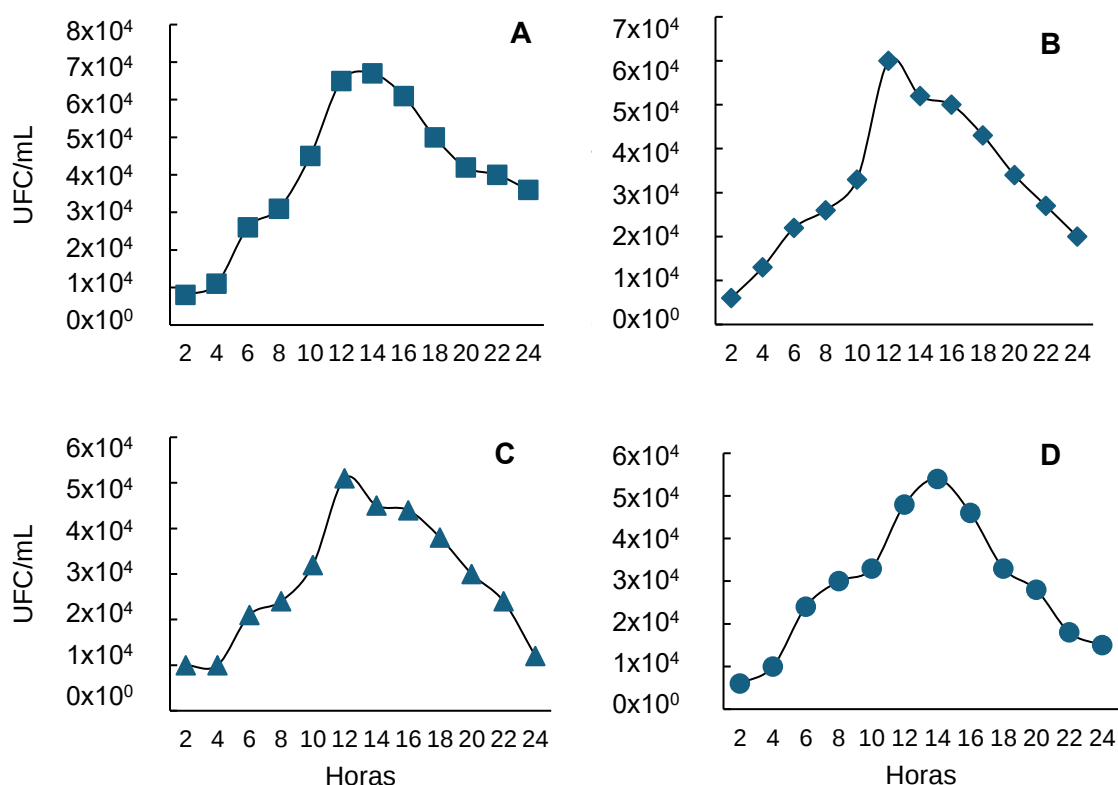


Figura 3. Cinética de crecimiento bacteriano de cuatro cepas evaluadas durante 24 h, expresada como unidades formadoras de colonias (UFC/mL).

Leyenda. (A) Cepa IN210, (B) Cepa GA-20, (C) Cepa LM034 y (D) Cepa LMA45.

Identificación molecular de las cepas bacterianas

La caracterización molecular permitió identificar las cepas IN210, LM034, GA-20 y LMA45 como *Azospirillum lipoferum*, *Rhizobium etli*, *Klebsiella oxytoca* y *Serratia marcescens*, respectivamente (Tabla 3). Todas las secuencias presentaron 100 % de cobertura y 100 % de identidad con los registros de referencia disponibles en GenBank. Los números de acceso correspondientes fueron MT742664.1,

JQ670251.2, NR_119277.1 y CP090028.1, lo que respalda la asignación taxonómica de las cepas evaluadas.

Tabla 3. Resultados de la caracterización molecular de las cepas bacterianas aisladas de la rizosfera, identificadas mediante la consulta en las bases de datos NCBI/GenBank.

AISLADO			Identidad (Base de datos NCBI / GenBank)			
Código	Nomenclatura	Gen	Cepa	Cobertura de consulta (%)	Identidad (%)	Número de acceso
IN210	<i>Azospirillum lipoferum</i>	16S	NA02	100	100	MT742664.1
LM034	<i>Rhizobium etli</i>		1002	100	100	JQ670251.2
GA-20	<i>Klebsiella oxytoca</i>		ATCC 13182	100	100	NR_119277.1
LMA45	<i>Serratia marcescens</i>		W051	100	100	CP090028.1

Leyenda. Se incluye el código de la cepa, la nomenclatura y el gen utilizado para la identificación, así como la cobertura de consulta y el porcentaje de identidad obtenido en la comparación con las secuencias de referencia. También se proporciona el número de acceso en GenBank para cada secuencia.

Germinación *in vitro*

La inoculación bacteriana influyó significativamente en la germinación de las semillas de pasto. *Serratia marcescens* LMA45 presentó el mayor porcentaje de germinación, con aproximadamente 85 %, seguida de *Klebsiella oxytoca* GA-20 con 78 % y *Azospirillum lipoferum* IN210 con 72 %. En contraste, *Rhizobium etli* LM034 y el control registraron los valores más bajos, con cerca de 68 % y 65 %, respectivamente. Estos resultados destacan el potencial de LMA45 y GA-20 para favorecer la germinación de las semillas.

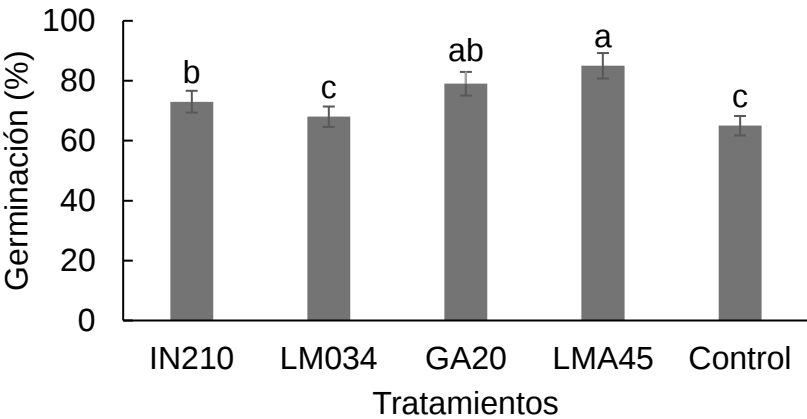


Figura 4. Efecto de la inoculación con diferentes cepas bacterianas sobre el porcentaje de germinación (%) en semillas de pasto pre-germinado.

Leyenda. Las barras representan la media $\pm$ error estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Peso fresco

El peso fresco de plántulas de pasto pre-germinado mostró diferencias notables entre los tratamientos con cepas bacterianas y el control sin inoculación (Figura 8). Los tratamientos *K. oxytoca* GA-20, *A. lipoferum* IN210, *R. etli* LM034 y *S. marcescens* LMA45 presentaron los valores más altos de peso fresco, con promedios comprendidos entre 5,8 y 6,5 g, sin diferencias estadísticas significativas entre sí ($p > 0,05$). El grupo control, en contraste, registró un valor promedio de peso fresco promedio de 3,0 g, significativamente inferior al de los tratamientos inoculados ($p < 0,05$).

Las raíces secretan exudados que tamponan el microambiente y proporcionan nutrientes que ayudan a las bacterias a resistir condiciones limitantes (Adeniji *et al.* 2024). En otras palabras, las bacterias no enfrentan las variaciones de pH de manera aislada, sino en el contexto de un ecosistema donde la planta también regula la rizosfera (Santoyo *et al.* 2021).

En conjunto, estos mecanismos permiten que las bacterias productoras de AIA no solo sobrevivan, sino que mantengan su actividad promotora en suelos con condiciones químicas fluctuantes, lo que las convierte en aliadas robustas para la agricultura sostenible (Futa *et al.* 2024).

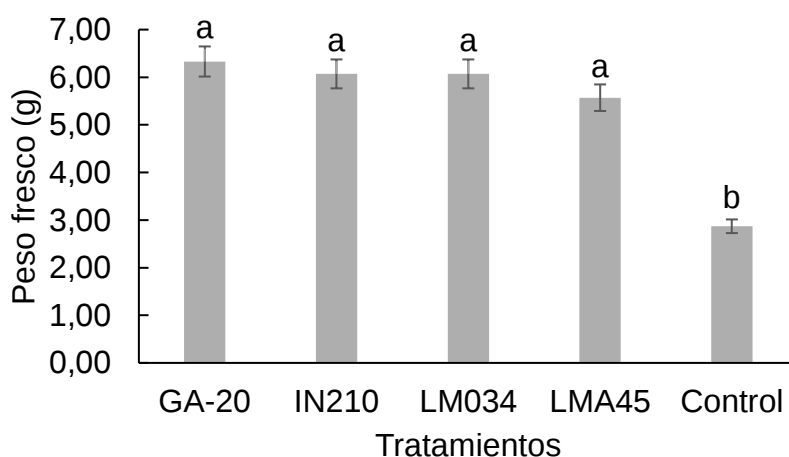


Figura 5. Efecto de la inoculación con diferentes cepas bacterianas sobre el peso fresco (g) en plántulas de pasto pre-germinado.

Leyenda. Las barras representan la media $\pm$ error estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

4. Conclusiones

Se logró aislar bacterias de la rizosfera de *Megathyrsus maximus* y su tamizaje bioquímico evidenció un núcleo funcional consistente y heterogeneidad entre cepas, identificándose candidatas con rasgos compatibles con PGPR. Este cribado permite priorizar aislamientos con mejores perfiles enzimáticos para etapas posteriores.

La identificación por marcadores genéticos permitió asignar taxonomía a los aislamientos priorizados, confirmando su pertenencia a géneros con potencial PGPR y aportando trazabilidad para su manejo en colecciones y su futura transferencia tecnológica. Esta identificación respalda la validez biológica de los rasgos observados en el tamizaje.

Contribuciones de los autores: JPAV: conceptualización, investigación, recopilación de datos y redacción del borrador original. KGML: procesamiento y depuración de datos, análisis formal, elaboración de tablas y figuras e interpretación de resultados. KEHM: desarrollo metodológico, ejecución de los ensayos de laboratorio, caracterización microbiológica y registro de resultados. KVAL: supervisión, validación metodológica, administración del proyecto y revisión crítica del manuscrito. CMRT: investigación bibliográfica, apoyo en el análisis e interpretación de los resultados, revisión y edición del manuscrito.

Financiación: La presente investigación fue financiada con recursos propios de los autores y no recibió financiamiento externo.

Agradecimientos: Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ) por el apoyo institucional brindado y al Ministerio de Educación del Ecuador por las becas otorgadas, las cuales contribuyeron a la formación académica de los autores y al desarrollo de esta investigación.

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no existen conflictos de intereses relacionados con la realización, interpretación o publicación de esta investigación.

Referencias bibliograficas

- Adeniji, A., Huang, J., Li, S., Lu, X., & Guo, R. (2024). Hot viewpoint on how soil texture, soil nutrient availability, and root exudates interact to shape microbial dynamics and plant health. *Plant and Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-024-07020-y>
- Ansabayeva, A., Makhambetov, M., Rebouh, N. Y., Abdelkader, M., Saudy, H. S., Hassan, K. M., Nasser, M. A., Ali, M. A. A., & Ebrahim, M. (2025). Plant growth-promoting microbes for resilient farming systems: Mitigating environmental stressors and boosting crops productivity—A review. *Horticulturae*, 11(3), 260. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11030260>

- Bounaffaa, M., Florio, A., Le Roux, X., & Jayet, P. A. (2018). Economic and environmental analysis of maize inoculation by plant growth promoting rhizobacteria in the French Rhône-Alpes Region. *Ecological Economics*, 146, 334–346. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2017.11.009>
- Canto, M. W. do, Almeida, G. M. de, Costa, A. C. S. da, Neto, A. B., Scaliante, J. R., & Orlandini, C. F. (2016). Produção de sementes de capim-mombaça submetido a diferentes datas de rebaixamento e doses de nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51(6), 766–775. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000600009>
- Chen, L., & Liu, Y. (2024). The function of root exudates in the root colonization by beneficial soil rhizobacteria. *Biology*, 13(2), 95. <https://doi.org/10.3390/biology13020095>
- do Amaral, F. P., Pankiewicz, V. C. S., Arisi, A. C. M., de Souza, E. M., Pedrosa, F., & Stacey, G. (2016). Differential growth responses of *Brachypodium distachyon* genotypes to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria. *Plant Molecular Biology*, 90(6), 689–697. <https://doi.org/10.1007/s11103-016-0449-8>
- Feng, T., Miao, P., Zheng, B., Li, W., Sukkaew, E., Chen, Y., Wang, J., Peng, Y., Zheng, W., & Zhai, B. (2025). Soil urease activity is mediated more by ureC microbial diversity in wet regions than dry regions: Key roles of generalist-abundant and -rare species. *Functional Ecology*, 39(8), 2015–2028. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.70093>
- Futa, B., Gmitrowicz-Iwan, J., Skersienė, A., Šlepetienė, A., & Parašotas, I. (2024). Innovative soil management strategies for sustainable agriculture. *Sustainability*, 16(21), 9481. <https://doi.org/10.3390/su16219481>
- Gao, X., Xu, K., Ahmad, N., Qin, L., & Li, C. (2021). Recent advances in engineering of microbial cell factories for intelligent pH regulation and tolerance. *Biotechnology Journal*, 16(9). <https://doi.org/10.1002/biot.202100151>
- Gómez Villalva, J. C., Váscquez Galarza, G., Torres Pérez, J., & Moran Salazar, C. I. (2021). Rendimiento de biomasa del pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) con relación a dos frecuencias de corte. *Magazine de las Ciencias: Revista de Investigación e Innovación*, 6(2), 55–63. <https://doi.org/10.33262/rmc.v6i2.1251>
- Huang, X., Jiang, P., Yang, X., Dong, J., Liang, T., Ling, J., & Chen, H. (2025). Genomic insights into the mangrove-associated cultivable bacteria and their ecological function. *iScience*, 113523. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2025.113523>
- Hungria, M., Rondina, A. B. L., Nunes, A. L. P., Araujo, R. S., & Nogueira, M. A. (2021). Seed and leaf-spray inoculation of PGPR in brachiarias (*Urochloa* spp.) as an economic and environmental opportunity to improve plant growth, forage yield and nutrient status. *Plant and Soil*, 463(1–2), 171–186. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-04908-x>
- Jiang, Z., Mou, T., Sun, Y., Su, J., Yu, L., & Zhang, Y. (2023). Environmental distribution and genomic characteristics of *Solirubrobacter*, with proposal of two novel species. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1267771>
- Kaminsky, L. M., Trexler, R. V., Malik, R. J., Hockett, K. L., & Bell, T. H. (2019). The inherent conflicts in developing soil microbial inoculants. *Trends in Biotechnology*, 37, 140–151. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.11.011>
- Kour, D., Rana, K. L., Yadav, A. N., Yadav, N., Kumar, M., Kumar, V., Vyas, P., Dhaliwal, H. S., & Saxena, A. K. (2020). Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability. *Biocatalysis*

- and Agricultural Biotechnology, 23, 101487. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101487>
- Mehmood, U., Inam-ul-Haq, M., Saeed, M., Altaf, A., Azam, F., & Hayat, S. (2018). A brief review on plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A key role in plant growth promotion. *Plant Protection*. <http://esciencepress.net/journals/PP>
- Pedreira, B. C., Barbosa, P. L., Pereira, L. E. T., Mombach, M. A., Domiciano, L. F., Pereira, D. H., & Ferreira, A. (2017). Tiller density and tillering on *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 69(4), 1039–1046. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9034>
- Rhodes, A. C., Plowes, R. M., Goolsby, J. A., Gaskin, J. F., Musyoka, B., Calatayud, P. A., Cristofaro, M., Grahmann, E. D., Martins, D. J., & Gilbert, L. E. (2021). The dilemma of Guinea grass (*Megathyrus maximus*): A valued pasture grass and a highly invasive species. *Biological Invasions*, 23, 3653–3669. <https://doi.org/10.1007/s10530-021-02607-3>
- Rocha, T. M., Marcelino, P. R. F., Da Costa, R. A. M., Rubio-Ribeaux, D., Barbosa, F. G., & Da Silva, S. S. (2024). Agricultural bioinputs obtained by solid-state fermentation: From production in biorefineries to sustainable agriculture. *Sustainability*, 16(3), 1076. <https://doi.org/10.3390/su16031076>
- Saeed, Q., Xiukang, W., Haider, F. U., Kučerik, J., Mumtaz, M. Z., Holatko, J., Naseem, M., Kintl, A., Ejaz, M., Naveed, M., Brtnicky, M., & Mustafa, A. (2021). Rhizosphere bacteria in plant growth promotion, biocontrol, and bioremediation of contaminated sites: A comprehensive review of effects and mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), 10529. <https://doi.org/10.3390/ijms221910529>
- Santoyo, G., Urtis-Flores, C. A., Loeza-Lara, P. D., Del Carmen Orozco-Mosqueda, M., & Glick, B. R. (2021). Rhizosphere colonization determinants by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Biology*, 10(6), 475. <https://doi.org/10.3390/biology10060475>
- Sharma, P., Sharma, M. M. M., Malik, A., Vashisth, M., Singh, D., Kumar, R., Singh, B., Patra, A., Mehta, S., & Pandey, V. (2021). Rhizosphere, rhizosphere biology, and rhizospheric engineering. *En Springer eBooks* (pp. 577–624). https://doi.org/10.1007/978-3-030-66587-6_21
- Sumranwanich, T., Leartsiwawinyu, W., & Chayapan, P. (2022). Application of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) associated with energy plant, *Pennisetum purpureum*, in cadmium and zinc contaminated soil. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1401400/v1>
- Tang, J., Li, Y., Zhang, L., Mu, J., Jiang, Y., Fu, H., Zhang, Y., Cui, H., Yu, X., & Ye, Z. (2023). Biosynthetic pathways and functions of indole-3-acetic acid in microorganisms. *Microorganisms*, 11(8), 2077. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11082077>
- Udumann, S. S., Dissanayaka, D. M. N. S., Nuwarapaksha, T. D., Dissanayake, D. K. R. P. L., & Atapattu, A. J. (2023). *Megathyrus maximus* as a raw material for organic fertilizer production: A feasibility study. *Technology in Horticulture*, 3(1). <https://doi.org/10.48130/tih-2023-0009>
- Vocciante, M., Grifoni, M., Fusini, D., Petruzzelli, G., & Franchi, E. (2022). The role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in mitigating plant's environmental stresses. *Applied Sciences*, 12, 1231. <https://doi.org/10.3390/app12031231>

Wang, X., Liu, Y., Tian, X., Guo, J., Luan, Y., & Wang, D. (2025). Root exudates mediate the production of reactive oxygen species in rhizosphere soil: Formation mechanisms and ecological effects. *Plants*, 14(9), 1395. <https://doi.org/10.3390/plants14091395>