

## Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos

Cecilia Lara Mantilla\*, Luis E Oviedo Zumaqué y César A. Betancur Hurtado

GRUBIODEQ. Grupo de Biotecnología, Universidad de Córdoba, Km 3 vía Cereté. Montería, Córdoba, Colombia.

\*Correo electrónico: clara@sinu.unicordoba.edu.co.

---

### RESUMEN

Con la finalidad de encontrar cepas eficientes en la producción de la fitohormona a partir de aislados de los géneros *Azotobacter* sp y *Azospirillum* sp nativos de la zona San Carlos y San Pelayo ubicados en el Valle del Sinu medio, Departamento de Córdoba, Colombia, se aislaron 90 microorganismos a partir de suelos de la rizosfera de cultivos de plátano, maíz, pastos, yuca, algodón y rastrojos (área sin cultivar). Las poblaciones fueron evaluadas en la producción del ácido indolacético (AIA) en presencia de triptófano, obteniéndose concentraciones en el rango de 3,0 a 45, 0 ppm; la determinación se realizó por técnica colorimétrica utilizando el reactivo de Salkowski. La técnica fue modificada, adaptada y estandarizada. Se encontró que un aislado del género *Azotobacter* hallado en zonas de rastrojos produjo la mayor concentración de la auxina: 44,726 ppm. Se realizó un ensayo preliminar inoculando semillas de pastos Angleton (*Dyckanthium aristatum*) con diferentes concentraciones bacterianas:  $10^6$ ,  $10^7$  y  $10^8$  UFC y se comparó con un testigo sin inóculo. Los resultados mostraron un mayor promedio de la longitud del tallo y longitud de hojas de las plantas muestreadas.

*Palabras clave:* *Azotobacter* sp, *Azospirillum* sp, Auxina: AIA, reactivo de Salkowski, pastos Angleton, *Dyckanthium aristatum*.

---

### Strain native with potential in the acetic acid production indol to improve the grass

### ABSTRACT

In order to find efficient strains in the production of phytohormone from genera *Azotobacter* sp and *Azospirillum* sp native to the Zone of the Sinu in the Department of Cordoba, Colombia, 90 microorganisms of the strains were isolated, from grounds of the rizosfera of cultures of banana, maize, grass, yucca, cotton and field of stubble. The populations were evaluated in presence of Tryptophan and the production of indolacético acid (AIA) was obtained a ranging from 3,0 to 45, 0 ppm; the determination was realised by colorimetric technique using Salkowski's reagent. The technique was modified, adapted and standardized. One of the isolates of the *Azotobacter* found in zones of left-overs concentrated the greater ampunt of the auxin: 44,726 ppm. A preliminary test was realized inoculating seeds of Angleton grass (*Dyckanthium aristatum*) with different bacterial concentrations:  $10^6$ ,  $10^7$  y  $10^8$  UFC and were compared with a witness without inoculate. The results showed to a greater average of the length of the stem and length of leaves of the sampled plants.

*Keywords:* *Azotobacter* sp, *Azospirillum* sp, Auxin: AIA, reagent of Salkowski, grass, *Dyckanthium aristatum*.

## INTRODUCCIÓN

El Departamento de Córdoba es considerado una importante zona ganadera de Colombia y la alimentación para los animales se basa principalmente en las especies forrajeras existentes como la gramínea *Dichanthium aristatum* (Angleton). Las áreas de cultivo de estas pasturas, se ven sometidas a un uso irracional de agroquímicos y de alta mecanización, lo cual influye en la desestabilización ecológica del suelo afectando negativamente la fertilidad y limitando los nutrientes disponibles para las plantas.

El uso indiscriminado de productos fertilizantes, ha ocasionado un desequilibrio de la microbiota nativa que cumple con funciones importantes, provocando bajos rendimientos y aumento en los costos para el agricultor y el ganadero. Una alternativa para promover el crecimiento rápido de raíces y tallos es el uso de inoculantes microbianos (biofertilizantes), que contribuyen a la recuperación de las poblaciones existentes en el suelo y con ello a mejorar la fertilidad de los mismos (Sarmiento, 2006; Vessey, 2003).

Entre los microorganismos, las bacterias tienen especial importancia en la relación suelo-planta y son responsables del incremento o disminución en el suministro de nutrientes como también en la producción de factores de crecimiento (fitohormonas); las bacterias pertenecientes a los géneros: *Azotobacter* sp, *Azospirillum* sp, *Pseudomonas* sp, *Xantomonas* sp, *Enterobacter* sp, *Arthrobacter* sp, *Bacillus subtilis*, se destacan por su potencial como biofertilizantes e inciden grandemente en el rendimiento y en la calidad de los cultivos (Glick, 1995; Bashan y Holguin, 1997; Dobbelaere *et al.*, 2003).

Los estudios realizados con microorganismos de los géneros *Azospirillum* sp y *Azotobacter* sp han demostrado que estas poblaciones además de fijar nitrógeno en forma asimbiótica, también segregan sustancias promotoras del crecimiento (auxinas, giberelinas, citoquininas), las cuales benefician a la planta de una forma multidimensional (Sarmiento, 2006; Halda-Alija, 2003; Pedraza, 2004).

La auxina: ácido indolacético (AIA), induce la deformación y aumento de pelos radiculares, logrando con esto una mayor captación de nutrientes y promoviendo en consecuencia el crecimiento y rendimiento de los cultivos (Okon y Vanderleyden, 1997). Se ha establecido que las rizobacterias

promotoras del desarrollo vegetal (plant-growth promoting rhizobacteria, PGPR), juegan un papel primordial en los cultivos permitiendo disminuir la utilización de fertilizantes químicos, aumentar el rendimiento, acortar ciclos y por consiguiente, reducir la contaminación ambiental (Park *et al.*, 2005)

Las bacterias representan una alternativa para mejorar el aporte nutricional de las plantas; dentro de los efectos benéficos se destacan, la secreción de reguladores de crecimiento (auxinas), mejorando los procesos de germinación de semillas, nutrición, desarrollo de raíces, entre otros. En este sentido, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la producción AIA a partir de aislados de los géneros *Azotobacter* sp y *Azospirillum* sp nativos de la zona San Carlos y San Pelayo ubicados en el Valle del Sinu medio (Departamento de Córdoba), para hallar cepas eficientes en la producción de la fitohormona.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitios de muestreo

El muestreo se realizó en los municipios San Carlos y San Pelayo, zona agrícola del Valle del Sinu Medio en el Departamento de Córdoba (Colombia); ésta región posee las siguientes características: altura promedio 20 m.s.n.m., temperatura 28°C, precipitación 1200-1300 mm, humedad relativa 80-90% y ecológicamente la zona corresponde a bosque seco tropical. Se escogieron al azar lotes sembrados con cultivos de plátano, maíz, algodón y pastos; además, zonas sin cultivar (rastrajos).

### Toma de la muestra

En cada lote de cultivo y rastrojo se efectuó un recorrido en zig-zag abarcando la máxima extensión; en cada uno de los sitios de muestreo se tomó una cantidad de suelo de los primeros 15 cm de la superficie de la rizósfera. Al finalizar el recorrido se hizo una mezcla de todas las muestras tomadas por lote y se realizó un cuarteo para obtener 1000 g de suelo representativo de cada cultivo y de rastrojo. Las muestras estuvieron constituidas por raíces y suelo adheridas a ellas.

### Aislamiento e identificación de los microorganismos nativos

Una vez colectadas las muestras, se determinó el pH en relación 2:1; luego se pesó un gramo y se

diluyó en 99 mL de agua. Se realizaron diluciones seriadas de 1:10 y las dos últimas fueron sembradas en caja petri con medios apropiados e incubadas a una temperatura de 28°C durante 3 días; se revisaron las cajas petri y se observaron las colonias típicas (Aguilar *et al.*, 1995; Park *et al.*, 2005; Tejera, 2005; Dobereiner *et al.*, 1995). También se realizaron siembras de muestras directas (Aquilanti *et al.*, 2004). Los ensayos se efectuaron por triplicados.

Se utilizaron medios líquidos, sólidos y semisólidos:

-Género *Azotobacter* spp: Medios utilizados: Burk's y Jensen's

-Género *Azospirillum* spp: Medios utilizados: Burk's, NFB -azul de bromo timol y NFB -rojo congo.

Para la identificación de los microorganismos a nivel de género, se realizaron ensayos por triplicado, mediante observaciones macroscópicas, microscópicas con coloración y pruebas bioquímicas examinados de acuerdo a los métodos descritos en el manual de Bergey's (Buchanan y Gibbons, 1994).

### **Cuantificación química de la auxina: ácido indolacético (AIA)**

Se utilizó el medio de cultivo líquido Burk's libre de nitrógeno, preparado a base de glucosa como fuente de carbono, sales minerales y agua destilada, (Park *et al.*, 2005). El pH fue ajustado a un valor de 6,8 y esterilizado a 121 °C durante 15 minutos.

La determinación de la producción del AIA se llevó a cabo por método colorimétrico utilizando el reactivo de Salkowski preparado a partir de cloruro férrico en ácido sulfúrico (Glickmann y Deessaux, 1995; Mayer, 1958). Se empleó un Espectrofotómetro Lambda 11 y la técnica fue modificada adaptada y estandarizada; luego de múltiples ensayos se escogió como mejor longitud de onda de trabajo 527,9 nm y un rango de 1,9 hasta 45,00 ppm teniendo en cuenta la producción de la auxina por los aislados (Lara *et al.*, 2006). Ensayos por triplicado.

### **Ensayo preliminar en pastos Angleton, (*Dychanthium aristatum*)**

La cepa fue producida a pequeña escala empleando el medio de Burk's y bajo condiciones de temperatura, oxígeno y tiempo de incubación hasta obtener las

concentraciones deseadas:  $1 \times 10^6$ ;  $1 \times 10^7$ ;  $1 \times 10^8$  UFC/mL.

Las semillas de pastos angleton (*Dychanthium aristatum*), fueron previamente lavadas en solución de hipoclorito de sodio al 5% y luego con agua, para ser inoculadas con las diferentes concentraciones de bacteria; se empleó como testigo, semillas sin inocular. Se tomaron datos del crecimiento longitudinal hasta el ápice y largo del tallo a los 21 días de corte. Los datos se sometieron a un análisis estadístico de varianza y de regresión lineal con un intervalo de confianza del 95% (*Analyse – it Microsoft Excel*, 2009); también se utilizó el método de ANOVA y regresión múltiple.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La determinación de la auxina se llevó a cabo utilizando el reactivo de Salkowski, que permite la oxidación de los compuestos indólicos por sales férricas (Mayer, 1958); cuando la respuesta es positiva se obtiene una coloración que va desde el rosa claro a intenso dependiendo de la concentración del AIA presente. Existen numerosas formas de preparar el reactivo de Salkowski, unas utilizan ácido sulfúrico otras ácido perclórico; las relaciones de reactivo-muestra también han sido variadas (1:1; 1:4, 2:1; 1:5; 1:1 y otras), para evaluar la sensibilidad de la prueba (Bernal *et al.*, 2000; Halda-Alija, 2003; Pedraza *et al.*, 2004; Crozier *et al.*, 1998).

En la presente investigación se preparó el reactivo de Salkowski con ácido sulfúrico y se probó a diferentes relaciones reactivo-muestra estableciéndose la 2:1 como la de mejor sensibilidad para la determinación de las concentraciones de AIA producidos por las bacterias aisladas.

Cabe destacar que al medio de cultivo utilizado para determinar la auxina, se le adicionó triptófano que induce a la producción de ésta; numerosos estudios han demostrado que el AIA es sintetizado a partir del triptófano y el proceso es llevado a cabo por microorganismos a través de una conversión oxidativa (Müller y Weiler, 2000).

En la presente investigación se evaluó la producción de AIA a 90 microorganismos aislados, encontrándose que 45 produjeron la auxina en el rango de concentración de 3,0 a 45,0 ppm; sus valores promedios se relacionan en los Cuadros 1 y 2.

Cuadro 1. Concentración promedio de ácido indolacético (AIA) producidos por los géneros *Azotobacter* sp y *Azospirillum* sp. aislados de suelos del municipio de San Carlos.

Géneros	Código	Concentración AIA ( ppm)
<i>Azotobacter</i> sp.	A14*	<b>44,276</b>
	A15	17,964
	A16	26,987
	A17	29,920
	A18	3,431
	A19	31,520
	A20	31,164
	A21	3,653
	A22	3,387
	A23	3,431
	A24	3,8 31
	A25	3,342
	A26	3,387
	A27	22,187
A28	3,164	
<i>Azospirillum</i> sp.	A1	3,653
	A2	3,609
	A3	2,853
	A4	3,564
	A5	27,120
	A6	26,142
	A7	3,076
	A8	3,520
	A9	3,253
	A10	6,720
	A11	4.987
	A12	6,087

Los resultados mostraron que las bacterias más eficientes fueron aisladas de rastrojo y por género correspondieron a: a) tres bacterias *Azotobacter* sp: cepa A14 de la zona de San Carlos con el mayor valor en la producción de AIA, 44,276 ppm; cepas, S,N1 y S3,2 de la zona de San Pelayo, 39, 342 ppm y 37,209 ppm, respectivamente; b) una bacteria *Azospirillum* spp: cepa S4,1PAM2 de la zona de San Pelayo (29,653 pm). Como se indica, los mejores resultados en la producción de la auxina se obtuvieron a partir de aislados provenientes de rastrojos; dentro de las posibles razones se debe tener en cuenta que la alta fertilización utilizada en la producción de las cosechas en la región de Córdoba, pueden estar afectando negativamente el mecanismo de secreción de la auxina que llevan a cabo los microorganismos aislados de la zona en estudio.

La producción máxima de AIA obtenida (44,276 ppm), fue superior al valor reportado en un trabajo similar (32,200 ppm (mg/L), realizado en la zona de Espinal (Tolima, Colombia) utilizando microorganismos nativos de igual género (Bernal *et al.*, 2000); se observó que los microorganismos de la zona del Valle del Sinu Medio se extienden en un rango mayor en producción de la auxina. En los trabajos realizados sobre la microbiota nativa de la caña de azúcar (Rodríguez *et al.*, 2005 ), se evaluaron aislados provenientes del interior de este cultivo, en la producción del AIA; se obtuvo como resultado que 6 de ellos, produjeron la auxina en el rango de 1,7 a 2,5 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). En este estudio no se reporta evaluación de AIA con los géneros analizados en la presente investigación.

Cuadro 2. Concentración promedio de ácido indolacético producidos por los géneros *Azotobacter* sp y *Azospirillum* sp aislados de suelos del municipio de San Pelayo.

Géneros	Código	Concentración AIA ( ppm)
<i>Azotobacter</i> sp.	S4,1BL	3,342
	S4,1Az	4,453
	S4,2 am	3,920
	S4,2 O	4 ,720
	S4,2	3,431
	S,2az	5,920
	S,1N	<b>39,342</b>
	S3,2	<b>37,209</b>
	S6,2AM	29,787
	S6,0	11,342
	S6,2	17,298
	S7,1	3,564
	S7,1az	6,187
S7,1P	8,587	
<i>Azospirillum</i> sp.	S1,1BL	11,698
	S2,1	23,209
	S4,1PAM2	3,431
	S4,1PAM1	<b>29,653</b>
	S4,1AM	3,787

Es importante anotar, que aunque las investigaciones sobre evaluación de la producción de AIA arrojen valores altos o bajos si se comparan entre si, está demostrado que bajas concentraciones de fitohormona son capaces de estimular el desarrollo vegetal y altas concentraciones inhiben y reducen la zona de alargamiento (Rodríguez *et al.*, 2005; Hernández, 2002); teniendo en cuenta que los microorganismos nativos están adaptados a condiciones y ambientes propios, sólo realizando bioensayos “*in vitro*” se podrá encontrar la dosis adecuada y comprobar el efecto ejercido sobre los cultivos a aplicar.

En éste sentido, se llevó a cabo un ensayo preliminar con la bacteria que mostró la mejor producción de auxina y que correspondió a la *Azotobacter* A14 de la zona de San Carlos (44,276 ppm); se probaron las diferentes concentraciones de inóculo ( $1 \times 10^6$ ;  $1 \times 10^7$ ;  $1 \times 10^8$  UFC/mL) y se midió longitud del tallo y longitud de hojas de las plantas muestreadas. Los resultados se observan en las Figuras 1 y 2.

Los resultados demostraron que el 67,66% de las plantas inoculadas con la cepa nativa, presentaron un mayor promedio de las alturas del tallo, longitud de hojas y un notable desarrollo vegetativo de la planta; el parámetro biométrico, longitud de hoja, fue estadísticamente significativa ( $P < 0,0041$ ) a una concentración bacteriana de  $1 \times 10^8$  UFC (Cuadro 4) y altura del tallo ( $P < 0,0071$ ) a una concentración de  $1 \times 10^6$  UFC (Cuadro 3).

El AIA es la auxina más ampliamente distribuida en las plantas; los efectos demostrados en investigaciones llevadas a cabo, contemplan, entre otras, la elongación, aumento en la respiración celular, promoción del crecimiento en raíces o incremento en la división celular, factores que favorecen el desarrollo vegetal.

Las aplicaciones de inoculantes microbianos (biofertilizantes), en los cultivos cada día van en aumento debido a que sustituya en parte o totalmente la utilización de fertilizantes para disminuir los problemas ambientales y aprovechar los productos que conserven los ecosistemas naturales.

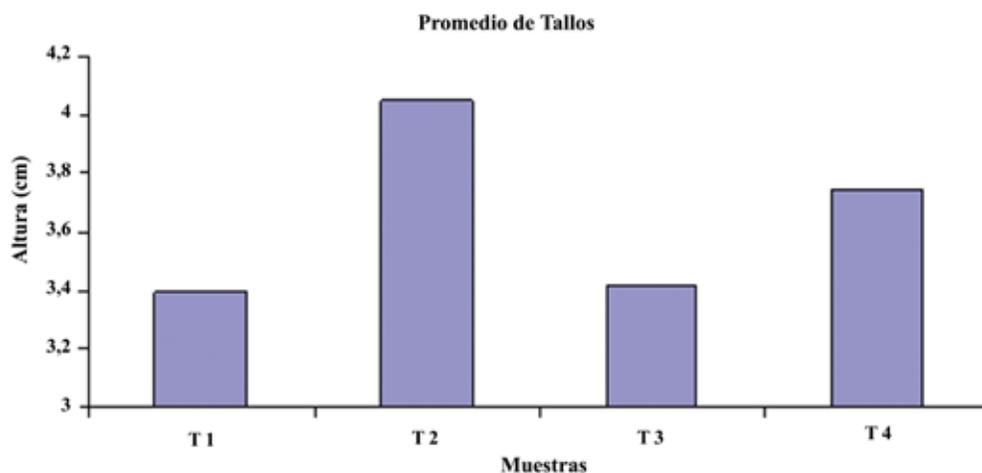


Figura 1. Promedio de Altura de los tallos.

T 1: Tratamiento 1: testigo sin microorganismo.  
 T 2: Tratamiento 2: Inóculo  $1 \times 10^6$  UFC de *Azotobacter* A14  
 T 3: Tratamiento 3: Inóculo  $1 \times 10^7$  UFC de *Azotobacter* A14  
 T 4: Tratamiento 4: Inóculo  $1 \times 10^8$  UFC de *Azotobacter* A14.

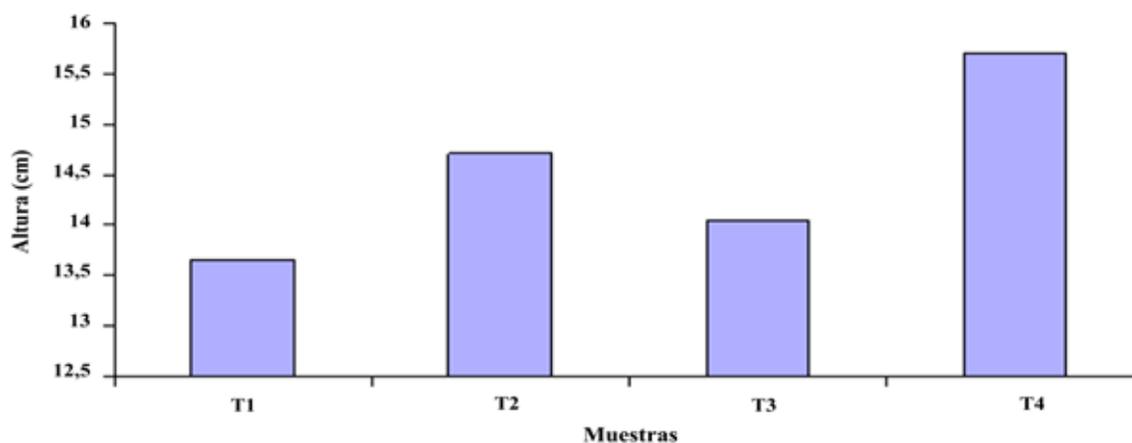


Figura 2. Promedio de Longitud de Hoja.

T 1: Tratamiento 1: testigo sin microorganismo.  
 T 2: Tratamiento 2: Inóculo  $1 \times 10^6$  UFC de *Azotobacter* A14.  
 T 3: Tratamiento 3: Inóculo  $1 \times 10^7$  UFC de *Azotobacter* A14.  
 T 4: Tratamiento 4: Inóculo  $1 \times 10^8$  UFC de *Azotobacter* A14.

Cuadro 3. Datos estadísticos de promedio de altura de los tallos.

Concentración	T1 (blanco)	T2 ( $1 \times 10^6$ UFC)	T3 ( $1 \times 10^7$ UFC)	T4 ( $1 \times 10^8$ UFC)	P
	altura de tallo	altura de tallo	altura de tallo	altura de tallo	
Promedio	3,4b	4,05a	3,425b	3,74b	0,0071
Desviación Estándar	1,158	1,396	0,912	1,132	
Varianza	1,505	2,175	1,079	1,530	

$P < 0,05$  diferencias significativa.

Letras iguales no presentan diferencias significativas.

Cuadro 4. Datos estadísticos de Promedio de Longitud de Hoja.

Concentración	T1 (blanco)	T2 (1x10 <sup>6</sup> UFC)	T3 (1x10 <sup>7</sup> UFC)	T4 (1x10 <sup>8</sup> UFC)	P
	Longitud de hoja	Longitud de hoja	Longitud de hoja	Longitud de hoja	
Promedio	13,65b	14,7b	14,065b	15,695a	0,0041
Desviación Estándar	3,439	4,088	3,423	3,706	
Varianza	16,003	21,033	16,305	19,611	

P<0,05 diferencias significativa.

Letras iguales no presentan diferencias significativas.

La utilización de microorganismos con potencial biofertilizante productores de AIA ha demostrado ser eficientes gracias a que pueden aumentar los rendimientos y la calidad de las cosechas; así lo han demostrado los trabajos en campo realizado en Colombia (Moreno *et al.*, 2006; Montoya, 2004), en los cuales se reporta rendimientos en pastos de un 80% con respecto al testigo, aplicando biofertilizantes a partir de microorganismos nativos y a las condiciones propias de la zona.

Los resultados de esta investigación contribuyen al conocimiento de microorganismos autóctonos, con potencial en la producción de la fitohormona, AIA; se espera que a futuro, éstas bacterias pueden ser utilizados en la preparación de productos biofertilizantes, para mejorar la productividad de los cultivos, especialmente pasturas, acorde con las necesidades del sector agropecuario de Córdoba, sustituyendo ó minimizando la utilización de productos químicos. El uso de bacterias productoras de AIA traería como beneficio un mejoramiento en la economía regional contribuyendo a recuperar la fertilidad del suelo y conservando el ambiente.

### CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en la presente investigación permitieron identificar microorganismos nativos de la zona agrícola del Valle del Sinu medio en el departamento de Córdoba, que presentan un gran potencial en la secreción de ácido indolacético; la actividad y eficiencia de los microorganismos de vida libre de los géneros: *Azotobacter* sp y *Azospirillum* sp, que tienen la capacidad de producir sustancias promotoras de crecimiento (auxinas), es de gran interés para la explotación agrícola y ganadera de la región.

### AGRADECIMIENTO

A la Universidad de Córdoba por financiar el presente proyecto de investigación.

### LITERATURA CITADA

- Aguilar, S., J. Tofino y M. Sánchez. 1995. Caracterización de dos cepas de *Azotobacter* spp y evaluación de su efectividad en semillas de tomates. ASCOLFI INFORMA 22(2): 30-34.
- Aquilanti, L., F. Favilla and F. Clementi. 2004. Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples. Soil Biology & Biochemistry 36 : 1475-1483.
- Bashan, Y. and G. Holguin. 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiology advances (1990-1996). Can.J. Microbiol 43:103-121.
- Bernal, J., P. Valencia and S. Guineth. 2000. Isolation of Enterobacteria, *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp., Producers of Indole-3-Acetic Acid and Siderophores, from Colombian Rice Rhizosphere. Revista Latinoamericana de Microbiología 42:171-176
- Buchanan, R. E., and N. E. Gibbons. 1994. "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed Baltimore: Williams and Wilkins Company, pp 135-136.
- Crozier, A., P. Arruda, J. M. Jasmim and A. M. Monteiro. 1998 Analysis of indole-3-acetic and related indoles in culture media from *Azospirillum lipoferum* and *zospirillum brasilense*. Applied Environmental Microbiology 54:2833-2837.

- Dobbelaere, S., J. Vanderleyden and Y. Okon. 2003. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *Critical Reviews Plant Sciences*, 22(2):107–149.
- Dobereiner, J., V. Baldani e J. I. Baldani. 1995. Como isolar e identificar bacterias diazotróficas de plantas não-leguminosas, Brasília-DF: EMBRAPA-SPI.
- Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can J Microbiol* 41:109-117.
- Glickmann, E and Y. Deessaux. 1995. A critical examination of the specificity of the Salkosky reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria". *Soil Biology and Biochemistry* 45:631-640.
- Halda-Alija, L. 2003. Identification of indole-3-acetic acid producing freshwater wetland rhizosphere bacteria associated with *Juncus effusus* L. *Canadian Journal Microbiology* 49(12): 781-787.
- Lara, C., L. Oviedo y A. Aleman. 2006. 2006, Evaluación Química de la auxina: Ácido Indolacético a partir de aislados microbianos nativos con potencial Biofertilizante para una alternativa de Agricultura limpia en el Valle del Sinu Medio. (Departamento de Córdoba). Ponencia Oral: VII Simposio Latinoamericano de Química Analítica Ambiental y Sanitaria. Memorias. Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia.
- Mayer, A. M. 1958. Determination of indole acetic acid by the Salkowsky reaction. *Nature* 162 : 1670-1671
- Montoya, D. 2004. Biotecnología y Bionegocios. II Congreso Colombiano de Biotecnología. Memorias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. pp 3-6.
- Moreno, F. L., D. Malgón, C. Rodríguez y J. Vanegas. 2006. Introducción prácticas de laboratorio y Planta Piloto. Evaluación de la producción de AIA. Curso internacional. Producción de Biofertilizantes desde el laboratorio al campo. Memorias. Universidad Nacional de Colombia, COLCIENCIAS- CABBIO-BIOCULTIVOS. Instituto de Biotecnología (IBUN). Santa fé de Bogotá.
- Müller, A. and E. W. Weiler. 2000. IAA-synthase, an enzyme complex from *Arabidopsis thaliana* catalyzing the formation of indole-3-acetic acid from (S)-tryptophan. *Biology and Chemistry* 381: 679–686.
- Okon, Y. and J. Vanderleyden. 1997. Root associated *Azospirillum* species can stimulate plants. *ASM New* 63:366-370.
- Park, M., K. Chungwoo, J. Yanga, L. Hyungseok, S. Wansik, K. Seunghwan and S. Tongmin. 2005. Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea" *Microbiological Research* 160 : 127-133.
- Pedraza, R. O., A. Ramirez-Mata, M. L. Xiqui and B.E. Baca. 2004, Aromatic amino acid aminotransferase activity and indole-3-acetic acid production by associative nitrogen-fixing bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 233(1):15-21.
- Sarmiento, G. 2006 . Biocultivos. Curso internacional. "Producción de Biofertilizantes desde el laboratorio al campo", Universidad Nacional de Colombia, COLCIENCIAS- CABBIO-BIOCULTIVOS , Instituto de Biotecnología ( IBUN), Santanfé de Bogotá, Junio 19-25. Memorias.
- Tejera, N. 2005. Isolation and characterization of *Azotobacter* and *Azospirillum* strains from the sugarcane rhizosphere. *Plant and Soil* 270:233-232.
- Vessey, J. K. 2003. Plant grown promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255: 571-586.