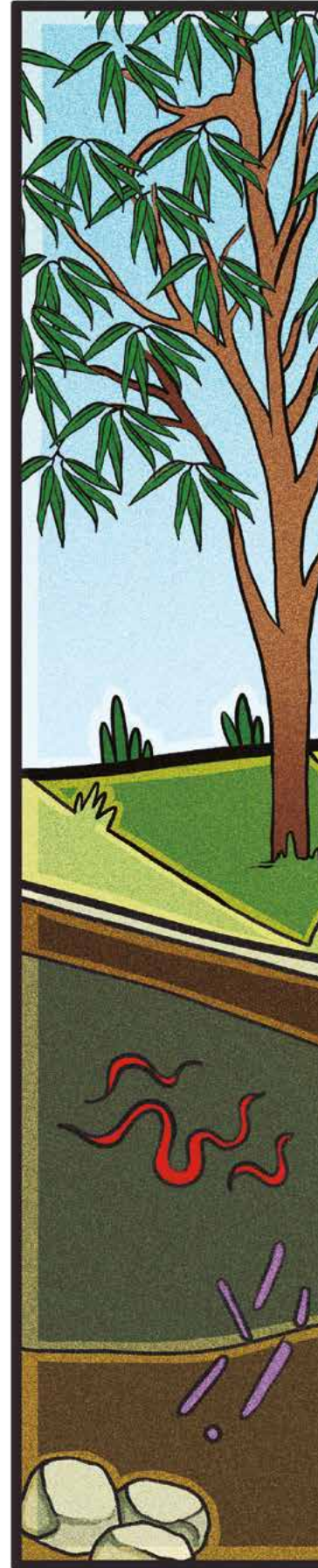


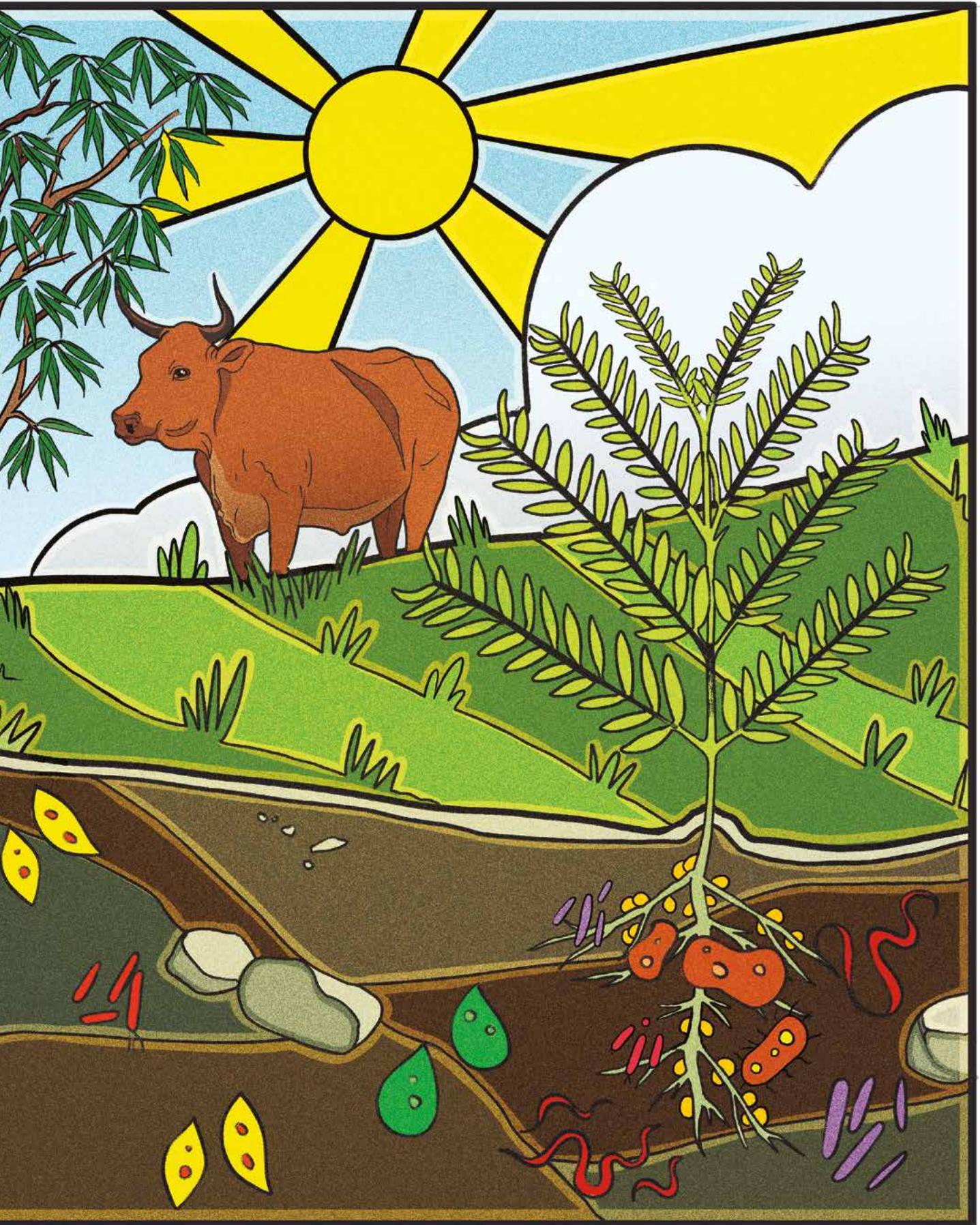
# Experiencia AGROSAVIA en Sistemas Silvopastoriles Trópico Bajo

Uso de biofertilizantes  
como promotores del  
crecimiento vegetal de arreglos  
silvopastoriles para Sistemas  
Ganaderos en Colombia.

Belisario Antonio Roncallo Fandiño<sup>1</sup>  
Paola Jimena Criollo Campos<sup>2</sup>  
Ruth Rebeca Bonilla Buitrago<sup>2</sup>

- 
1. Sistemas Agropecuarios Sostenibles. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA. Centro de Investigación Motilonia. Codazzi. Colombia.
  2. Sistemas Agropecuarios Sostenibles. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA. Centro de Investigación Tibaitatá. Cundinamarca. Colombia.





# Introducción

El inventario bovino nacional dispone de una población de 22.689.420 cabezas, con una producción anual de 910.000 toneladas de carne y de 6.500 millones de litros de leche, con aportes de suma importancia para la seguridad alimentaria del país; además, ocupa el puesto 11.º en el mundo, 5.º en América y 3.º en Suramérica, y genera 810.000 empleos directos. El 35% del hato bovino se dedica a la actividad de doble propósito, el 39% a la cría, el 6% a la producción láctea y el 20% a la ceba, con diversos sistemas de producción en todo el territorio nacional. Los departamentos de Antioquia, Casanare, Córdoba, Meta, Santander y Cesar, en su orden, concentran más del 60% del inventario ganadero (Fedegán, 2018).

Sin embargo, el comportamiento del ganado bovino como subsector se caracteriza por la creciente pérdida de productividad, su alto impacto ambiental y sus conflictos por el uso del suelo (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2018), y los territorios ganaderos se caracterizan por el aumento de la degradación de los suelos por erosión o salinización (Ideam, 2019; Ideam & UDCA, 2015).

Las formas inadecuadas de explotación de los suelos han derivado en su deterioro físico, químico y biológico, con una reducción de su potencial productivo. También han sido afectados de manera negativa la biodiversidad y el recurso hídrico, factores clave en el desarrollo de la actividad agropecuaria; en la ganadería bovina, se ha comprobado una reducción gradual de la productividad de las pasturas, la cual ha sido más intensa en las áreas establecidas a lo largo del tiempo en monocultivos de gramíneas, modelo tecnológico implementado durante décadas en el país, con efectos negativos sobre la producción, la sostenibilidad y la competitividad rural (Chauveau et al., 2015; Zúñiga et al., 2015).

Por otra parte, se registra que la ganadería es responsable, en el mundo, del 14,5% de las emisiones de gases de efecto invernadero: el metano ( $\text{CH}_4$ ) proviene de la fermentación entérica de los bovinos y el manejo deficiente del estiércol, y el  $\text{CO}_2$  se deriva del uso de combustibles fósiles y del cambio en la actividad de la tierra (Villanueva et al., 2018). Esta situación hace pensar en la urgente necesidad de prestar la mayor atención posible al tema de la producción de gases de efecto invernadero y sus efectos nocivos con los cambios climáticos.

Se considera que la conversión de pasturas a sistemas silvopastoriles (SSP) puede reducir las pérdidas de carbono del suelo e incrementar su almacenamiento, debido a la cantidad que los árboles fijan de este elemento. También se ha determinado que los SSP disminuyen la tasa de descomposición, por lo que reducen el impacto causado por este compuesto a la atmósfera; además, el uso de asociaciones de leguminosas y gramíneas se ha corroborado como una alternativa importante en la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero por la actividad ganadera (Villanueva et al., 2018).

*La conversión de pasturas a sistemas silvopastoriles (ssp) puede reducir las pérdidas de carbono del suelo e incrementar su almacenamiento, debido a la cantidad que los árboles fijan de este elemento. También se ha determinado que los SSP disminuyen la tasa de descomposición, por lo que reducen el impacto causado por este compuesto a la atmósfera.*

Las interacciones y sinergias entre los componentes de los SSP (Figura 11.1) y los sistemas agrosilvopastoriles (ASSP) generan bienes y servicios ecosistémicos que tienen efectos diversos en los agroecosistemas ganaderos; así, es de gran importancia la identificación

y valoración de estos servicios asociados a los beneficios productivos, ambientales y sociales, obtenibles en sus interacciones, especialmente en lo que tiene que ver con el cambio climático (Jónsson & Davíðsdóttir, 2016).

■ **Figura 11.1.** Sistema silvopastoril establecido en Agustín Codazzi (Cesar).

Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles



Diversos trabajos de investigación en SSP en condiciones tropicales han demostrado importantes avances en la producción de los rumiantes, siendo relevantes los obtenidos en el incremento de peso vivo en novillos (entre 500 y 900 g día<sup>-1</sup>), producción anual de carne (entre 800 y 1.200 kg ha<sup>-1</sup>) y producción de leche (entre 7 y 10 litros vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>, sin uso de suplementos) (Iglesias et al., 2015; López-Vigo et al., 2017).

En este orden de ideas, las experiencias de investigaciones en condiciones tropicales expuestas demuestran cuánto han contribuido la ciencia y la tecnología en el incremento de la competitividad y sostenibilidad agropecuaria mediante la integración de las actividades agrícola, ganadera y forestal. Sin embargo, lo más importante es conocer cómo se favorece el potencial productivo de los suelos y, en consecuencia, la disponibilidad de forrajes en términos de cantidad y calidad, aspectos que repercuten en mayores producciones de carne y leche, sin desconocer que también se incrementa la diversidad de otros productos, maderables y agrícolas, con notables beneficios económicos, ambientales y sociales para los actores rurales.

Un elemento importante en el presente trabajo fue dilucidar el potencial del uso de microorganismos promotores del crecimiento vegetal como una alternativa para mejorar la producción y sostenibilidad de los sistemas ganaderos en el Caribe seco colombiano.

## Desarrollo de la investigación: sistemas silvopastoriles en el Caribe seco colombiano

El desarrollo de un biofertilizante para la implementación y evaluación de un SSP en el trópico bajo contó con investigaciones en microbiología de suelos consistentes en el aislamiento, la selección y la multiplicación de bacterias efectivas para cada una de las especies vegetales que conformaron el sistema.



Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles

# Aislamiento y caracterización de cepas de *Azospirillum* sp. con potencial biofertilizante en pasto guinea (*Megathyrsus maximus* Jacq. cv. Tanzania) en el Valle del Cesar

## Introducción

*Gran parte de los suelos tropicales se caracterizan por sus bajos contenidos de nitrógeno, que afectan la adecuada producción agrícola, en la que se incluyen los bajos rendimientos de materia seca de los forrajes.*

Es conocido que la fijación biológica de este elemento es posible mediante el uso de microorganismos fijadores de  $N_2$  presentes en la rizósfera de los pastos tropicales y subtropicales. A pesar de ello, en Colombia no existían antecedentes de estos estudios: no se disponía de ningún registro de la evaluación de microorganismos diazótrofos asociados a las pasturas. El presente trabajo tuvo como objetivo iniciar el proceso de investigación sobre cepas nativas de *Azospirillum* asociadas con el pasto guinea (*Megathyrsus maximus* Jacq. cv. Tanzania) en el Valle del Cesar (Figura 11.2).

- **Figura 11.2.** Pastura de pasto guinea establecida en Agustín Codazzi (Cesar).  
Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles



## Desarrollo de la investigación

Se obtuvieron 16 aislamientos de microorganismos correspondientes a *Azospirillum* sp., aislados a partir de suelo rizosférico, raíces y hojas de *M. maximus*, en dos épocas climáticas (lluvia y sequía), en el departamento del Cesar. En la evaluación de invernadero, las cepas seleccionadas fueron inoculadas en *M. maximus* solas y en coinoculación con *Enterobacter agglomerans* (UV1). Para tal efecto, las cepas de *Azospirillum* sp. fueron cultivadas en medio DYGS (Radwan et al., 2004) e incubadas durante 48 horas en agitación a 1.200 xg y a 32 °C. El aislamiento “*E. agglomerans* (UV1)” se multiplicó en medio de cultivo SRSM sin indicador. Los inoculantes fueron ajustados, en su concentración celular, a una densidad óptica  $DO_{600}$  0,5, que corresponde a  $4 \times 10^7$  UFC mL<sup>-1</sup>. Después de 10 días de la siembra de la pastura, se registró el porcentaje de germinación y se raleó, con el fin de dejar 5 plantas por maceta. La fertilización química nitrogenada fue aplicada acorde con el análisis de suelo. Los tratamientos se basaron en las cepas seleccionadas complementadas con la mitad de la fertilización de nitrógeno, y el tratamiento de control fue manejado con la fertilización de síntesis completa. El experimento tuvo una duración de 45 días, y las variables medidas fueron: porcentaje de germinación, peso seco de hojas, porcentaje de proteína bruta y fósforo total en el tejido foliar.

## Resultados relevantes

Los resultados indican que el mayor recuento poblacional de microorganismos (con el método de número más probable) se presentó en la época lluviosa, referente a las poblaciones de *Azospirillum* en los diferentes estratos de la planta. El mayor valor se observó en las hojas para el medio de cultivo NFb, y para el medio LGI (*A. amazonense*) no hubo diferencias significativas en los diferentes estratos evaluados. Marques et al. (2017) encontraron diferencias estadísticas significativas en la colonización de raíces de pastos C4 (*Axonopus affinis*, *Paspalum notatum*, *Andropogon lateralis* y *Aristida laevis*), por parte de *Azospirillum* spp., en un 61 % en relación con el tratamiento de control.

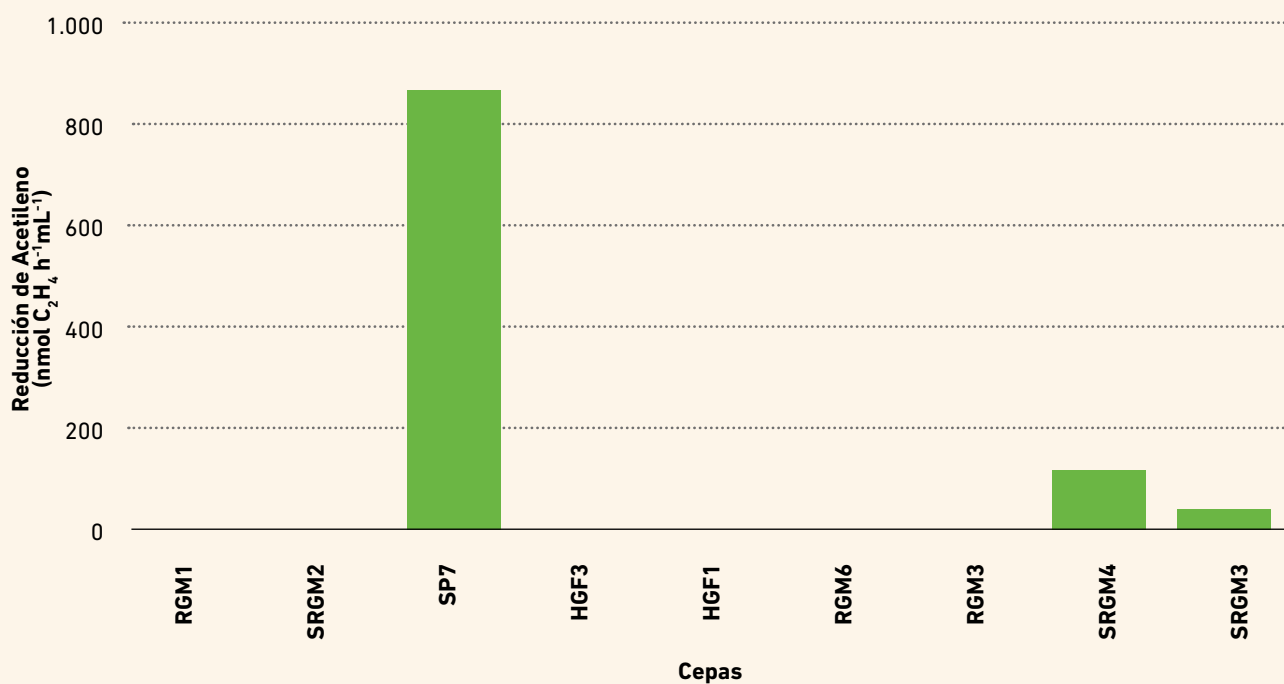
A partir de las caracterizaciones *in vitro* realizadas a las cepas, el método de la reducción de acetileno como indicador



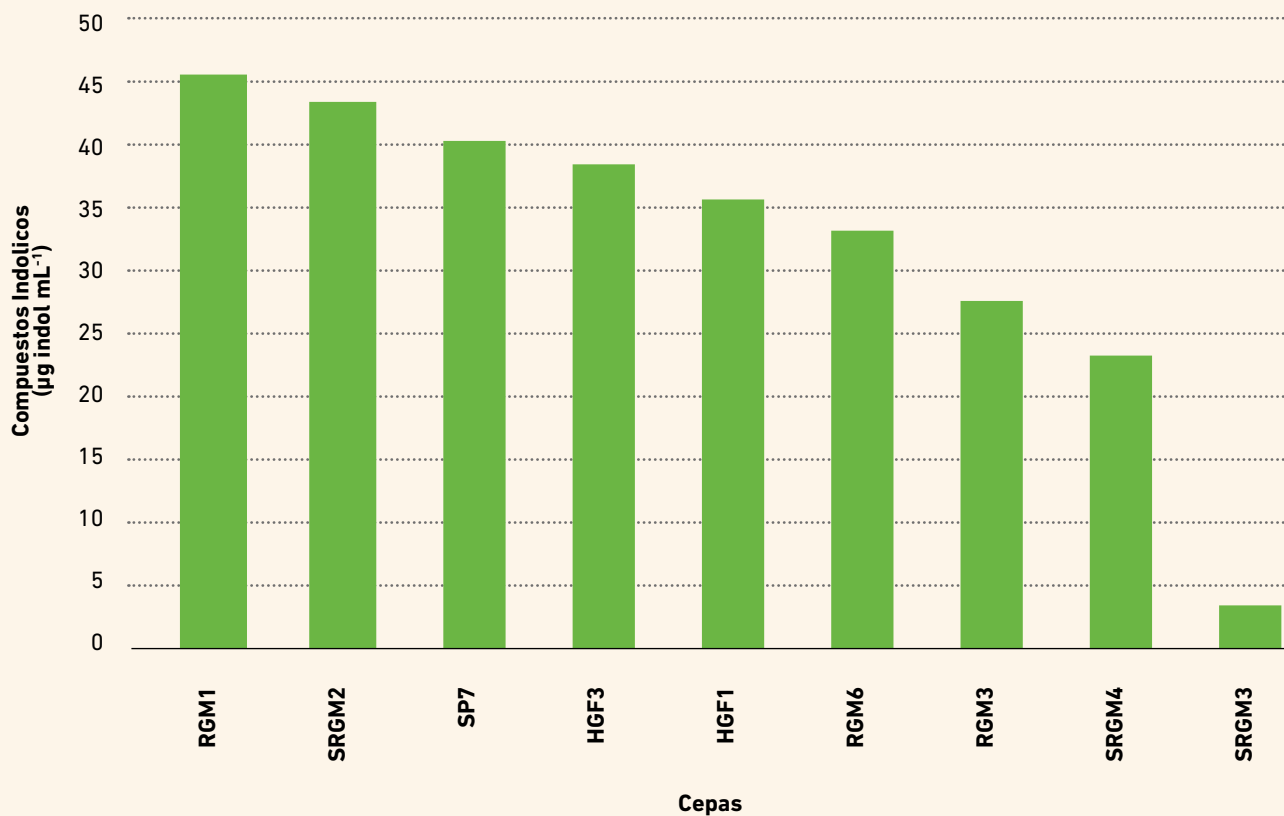
Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles

de la fijación biológica de nitrógeno (FBN) y la producción de compuestos indólicos (AIA), se seleccionaron 3 aislamientos identificados como *Azospirillum lipoferum* y 2 como *Azospirillum brasilense*. La cepa SRGM4 presentó la mayor actividad nitrogenasa, con 123,70 nmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> h<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup> (Figura 11.3), en relación con la producción de compuestos indólicos. *A. brasilense*, cepa SRGM2, presentó uno de los valores más altos, con 43,27 µg de AIA mL<sup>-1</sup> (Cárdenas et al., 2010) (Figura 11.4). López-Reyes et al. (2017) reportaron la actividad de FBN de diferentes cepas de *Azospirillum* spp. aisladas de *Zea mays*, que arrojaron entre 10 y 30 nmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> h<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup>, valores que fueron muy inferiores a los reportados en esta investigación, y una producción de AIA de entre 4 y 35 µg mL<sup>-1</sup>, valores que se encuentran próximos a los encontrados en este estudio. En un estudio llevado a cabo en *Oryza sativa*, Bharathiraja (2019) reportó valores que se encuentran entre 220,10 y 376,31 nmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> mg de proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en 20 diferentes aislamientos de *Azospirillum* spp., estudio que se encuentra relacionado con la misma familia y presenta valores superiores a los obtenidos en este estudio. Adicionalmente, Cortés-Patiño et al. (2016) aislaron cepas de *Azospirillum brasilense* y *Herbaspirillum seropedicae* de raíces de *Cenchrus clandestinus* y reportaron 166 y 44 µmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> h<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup>, respectivamente, y valores de 67 y 37 µg mL de AIA<sup>-1</sup>. Por su parte, la producción de AIA por la cepa SRGM4 fue de 23,15 µg mL de AIA<sup>-1</sup>, valor similar al reportado por Reis Junior et al. (2004): entre 6,13 y 19,27 µg mL de AIA<sup>-1</sup> por cepas de *A. amazonense* aisladas de raíces de *Brachiaria* spp. en Brasil; Radwan et al. (2004), por su parte, reportaron que la principal hormona producida por *Azospirillum* es el ácido indol-3-acético.

■ **Figura 11.3.** Actividad de reducción de acetileno de las cepas aisladas de *Megathyrus maximus*.  
Fuente: Elaboración propia



■ **Figura 11.4.** Producción de indoles de las cepas aisladas de *M. maximus*.  
Fuente: Elaboración propia



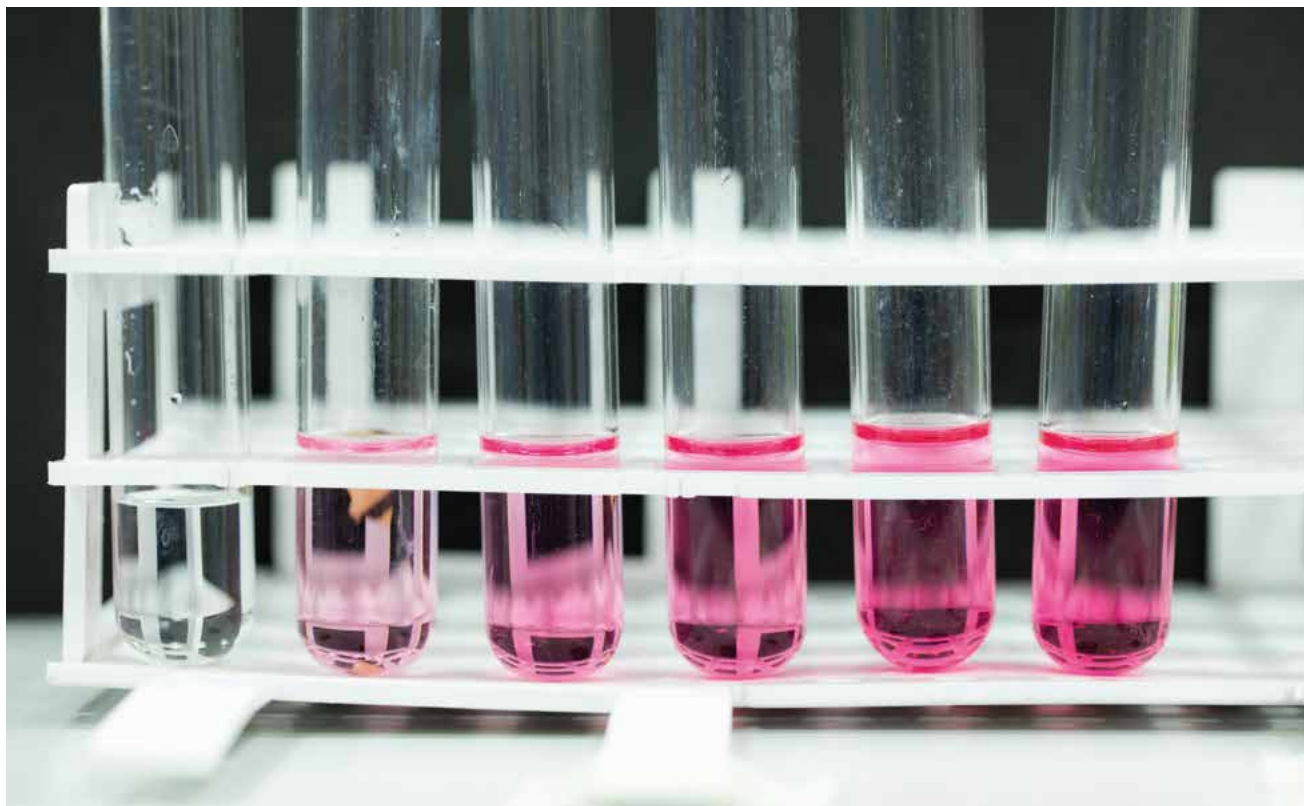


Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles

## Montaje en invernadero

Los resultados demuestran que la inoculación de las semillas de pasto guinea con las cepas seleccionadas incrementa los porcentajes de germinación. En la cepa SRGM3 (C16), el porcentaje reportado fue del 64,44 %, y la cepa SRGM2 (C14), en coinoculación con UV1, logró el mayor peso seco y el mayor porcentaje de proteína cruda, con valores de 1,62 g planta<sup>-1</sup> y 23,24 %, respectivamente, lo cual corrobora que las coinoculaciones son más eficientes (Cárdenas Caro et al., 2014).

Domingues Duarte et al. (2020) mencionan que uno de los principales mecanismos de acción por parte del género *Azospirillum* es la producción de reguladores del crecimiento, los cuales modifican la morfología de las raíces y maximizan el uso de los recursos del suelo, lo que a su vez aumenta la FBN y la reducción del nitrato disponible. Adicionalmente, Hungria et al. (2016) mencionan que las bacterias diazotróficas son las causantes principales de la FBN, proceso que implica la conversión de N<sub>2</sub> en otras sustancias nitrogenadas que luego son asimiladas por las plantas. En consonancia con estos reportes, Leite et al. (2019) reportaron un aumento

del 36 % en la producción de forraje en *M. maximus* con la inoculación con *Azospirillum brasilense*, y Hungria et al. (2016) reportaron un aumento del 22 % en la producción de *Brachiaria* sp. con la inoculación de *A. brasilense* y la adición de 40 kg de N ha<sup>-1</sup>.

El-Komy (2005), al evaluar cepas de *Azospirillum lipoferum* solas o coinoculadas con una cepa fosfato-solubilizadora de *Bacillus megaterium*, obtuvo diferencias significativas en los tratamientos coinoculados con respecto a las plantas no inoculadas en las variables altura (cm), peso seco foliar (g materia<sup>-1</sup>), fósforo foliar (mg g<sup>-1</sup>) y rendimiento de nitrógeno total (mg materia<sup>-1</sup>), al igual que valores superiores de hasta el 38,72 % en aumento de proteína cruda en el tratamiento coinoculado con *A. lipoferum* + *B. megaterium*, con respecto al tratamiento químico.

Los resultados obtenidos muestran que, en condiciones de invernadero, la inoculación de cepas nativas de *Azospirillum* (SRGM2) más una cepa fosfato-solubilizadora (UV1) mejora la producción de pasto guinea en términos de calidad y cantidad de proteína cruda y materia seca en comparación con las plantas del tratamiento con fertilización química.

# Aislamiento y caracterización de bacterias fijadoras de nitrógeno asimbióticas asociadas a *Eucalyptus* sp. en el municipio de Agustín Codazzi (Cesar)

## Introducción

El eucalipto (*Eucalyptus* sp.) es una especie arbórea que alcanza alturas de hasta 60 metros y está adaptada a diferentes tipos de climas, con una gran resistencia a la sequía. Su rápido crecimiento y su capacidad de regeneración hacen que sea muy valiosa para la industria maderera, y también se emplea en las industrias farmacéutica y de limpieza por el aceite que producen algunas de sus especies (Bioenciclopedia, s. f.).

Santos et al. (2016) reportan que distancias de siembra de 22 m en *Eucalyptus* sp. son ideales para no afectar la productividad de las pasturas en un SSP en el área del Cerrado brasileño, lo que hace que esta especie sea propicia para estos SSP. Con base en esta información, se aislaron y caracterizaron bacterias fijadoras de nitrógeno asimbióticas asociadas a suelo rizosférico, raíces y hojas de eucalipto (Figura 11.5), con el propósito de seleccionar cepas diazotróficas promisorias que contribuyeran con el crecimiento, desarrollo y establecimiento de esta especie forestal en condiciones de vivero.

■ **Figura 11.5.** Eucalipto establecido en el SSP en Agustín Codazzi (Cesar).

Foto: Grupo de investigación Sistemas Agropecuarios Sostenibles



## Desarrollo de la investigación y resultados

De un total de 116 bacterias aisladas de suelo, raíz y hojas de eucalipto en dos épocas climáticas (lluvia y sequía), fueron seleccionadas 44 cepas por presentar características morfológicas propias de los géneros *Azospirillum* sp., *Herbaspirillum* sp., *Burkholderia* sp., *Gluconacetobacter* sp., *Azotobacter* sp., *Beijerinckia* sp. y *Derxia* sp.; estas cepas que fueron seleccionadas con la colaboración de la Dra. Vera Lucia Baldani, de la Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), de Brasil.

## Resultados relevantes

El análisis estadístico realizado no mostró diferencias significativas en la variable de población microbiana, evaluada en los diferentes estratos de la planta mediante la metodología del número más probable, a excepción de los géneros *Herbaspirillum* sp., que presentó una mayor población en la muestra de raíces, y *Azospirillum* sp., que presentó una mayor población en las muestras de raíces y suelo rizosférico. Sin embargo, Miguel et al. (2016) encontraron que la diversidad microbiana

cambia dependiendo del estado de desarrollo de las hojas muestreadas, y reportaron por primera vez las especies *Novosphingobium barchaimii*, *Rhizobium grahamii*, *Stenotrophomonas panacihumi*, *Paenibacillus terrigena*, *Paenibacillus darwinianus* y *Terrabacter lapilli* como endófitas, mientras que Da Silva et al. (2014) reportaron en su estudio que la estación climática influenció las comunidades microbianas del suelo en plantaciones de *Eucalyptus* sp. en Brasil y que los géneros más predominantes fueron *Bradyrhizobium* y *Burkholderia*.

En relación con la actividad de reducción de acetileno, la cepa 27 (*Flavobacterium anhuiense*) presentó el valor promedio más alto (85 nmol de  $C_2H_4$   $h^{-1}$   $mL^{-1}$ ), seguida por las cepas: 45 (cepa no identificada, 76 nmol de  $C_2H_4$   $h^{-1}$   $mL^{-1}$ ) y 25 (*Azotobacter* sp., 74 nmol de  $C_2H_4$   $h^{-1}$   $mL^{-1}$ ) (Figura 11.6). Padda et al. (2018) reportaron diferentes cepas diazotróficas aisladas de pino en Canadá con valores de FBN que varían entre 0,2 y 2,8 nmol de  $C_2H_4$   $h^{-1}$   $mL^{-1}$ , entre las cuales se encuentra una cepa de *Flavobacterium aquidurensense*, siendo valores muy inferiores a los reportados en este trabajo. Asimismo, Romero-Perdomo et al. (2017) reportaron valores que varían entre 45,32 y 68,01 nmol de  $C_2H_4$   $h^{-1}$   $mL^{-1}$  en cepas del género *Azotobacter*, valores cercanos a los reportados en el presente estudio.

■ **Figura 11.6.** Actividad de reducción de acetileno a etileno en diferentes aislamientos bacterianos de *Eucalyptus* sp.

Fuente: Elaboración propia

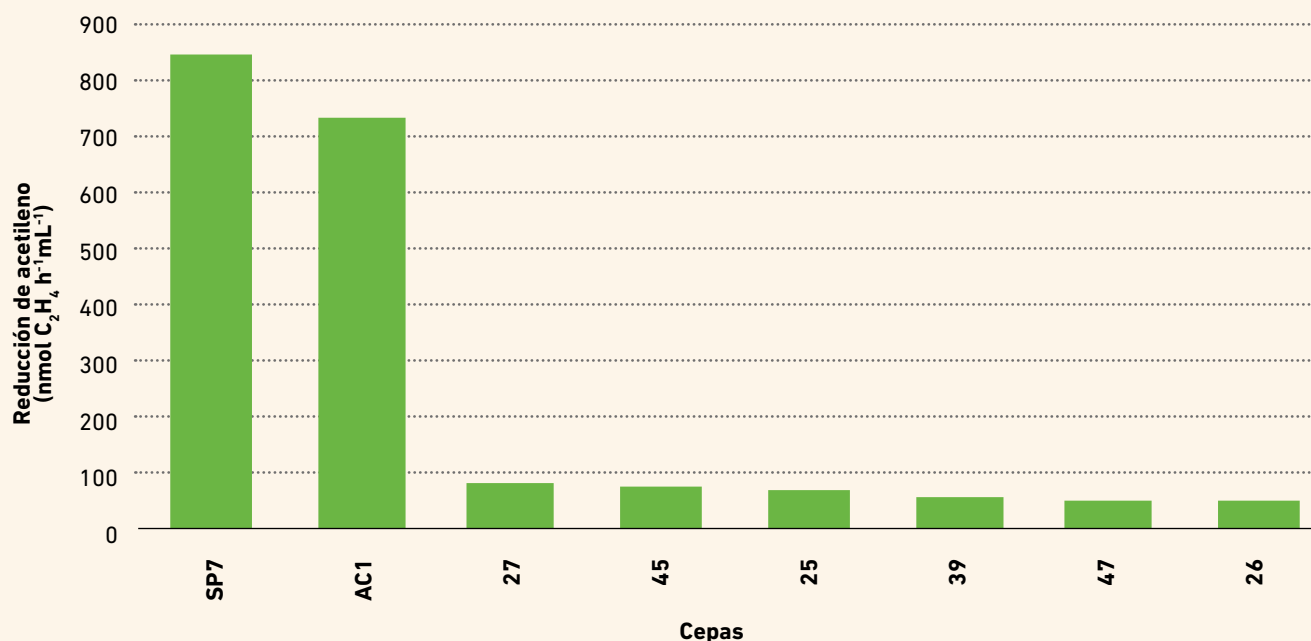




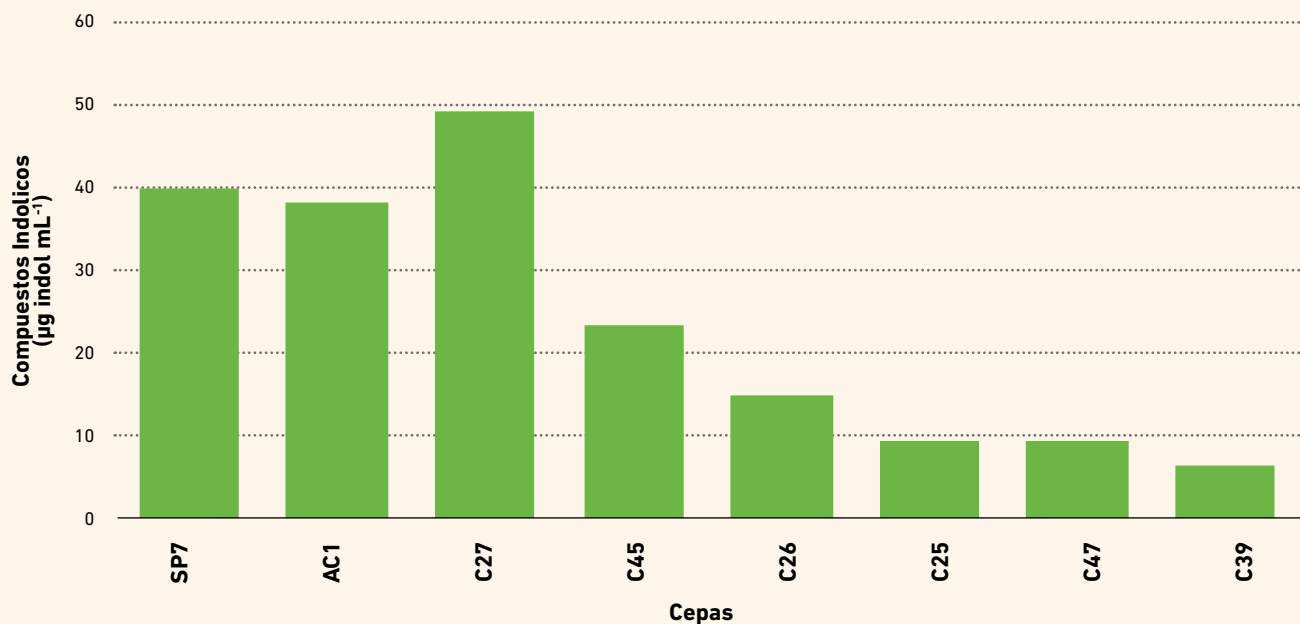
Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles

La característica de producir hormonas se encuentra ampliamente distribuida a lo largo de diferentes géneros de bacterias, como *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Herbaspirillum* y *Rhizobium*, entre otros, los cuales producen diversas fitohormonas como el AIA, giberelinas y citoquininas en medios libres de nitrógeno. En la prueba de producción de compuestos indólicos

(AIA) (Figura 11.7), la cepa C27 produjo  $49,57 \mu\text{g mL}^{-1}$ , seguida por las cepas 45 y 26, con valores de  $23,25$  y  $14,93 \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. Reportes realizados por Đorđević et al. (2017) muestran que el aislamiento de *A. chroococcum* produjo  $7,55 \mu\text{g mL}^{-1}$ , y Romero-Perdomo et al. (2019) reportaron valores de  $53,89 \mu\text{g mL}^{-1}$  de AIA<sup>-1</sup> producido por *Beijerinckia* sp.

■ **Figura 11.7.** Producción de compuestos indólicos en diferentes bacterias aisladas del cultivo de *Eucalyptus* sp.

Fuente: Elaboración propia



Los resultados anteriormente citados evidencian que las cepas 27, 45 y 25 son candidatas para ser empleadas como

principios activos en la producción de biofertilizantes por su eficiencia en las pruebas *in vitro* realizadas.

# Selección de cepas nativas de bacterias diazotróficas simbióticas asociadas a *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit en el Valle del Cesar y La Guajira

## Introducción

*Leucaena leucocephala*, especie de la familia Fabaceae, subfamilia *Caesalpinioideae*, es una planta caducifolia que alcanza de 3 a 6 metros de altura y es empleada para una variedad de propósitos, como fuente de madera, alimento en forma de forraje para el ganado, abono orgánico y leña (Figura 11.8). Adicionalmente, es una

especie que forma asociación simbiótica con bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico del género *Rhizobium*, con una tasa de fijación anual de  $N_2$  de 249,31 kg ha<sup>-1</sup> en condiciones de campo (Bueno López & Camargo Garcia, 2015). Según Mahecha (2002), esta especie es ampliamente estudiada en Colombia por su alto valor nutritivo y sus servicios multipropósito en SSP.

- **Figura 11.8.** Establecimiento de *Leucaena leucocephala* en el SSP en Agustín Codazzi (Cesar).  
Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles





Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles

## Desarrollo de la investigación y resultados

En total, 52 aislamientos bacterianos fueron obtenidos a partir de nódulos presentes en las raíces de *L. leucocephala*, de los cuales se seleccionaron 12 por sus características fenotípicas correspondientes a los rizobios: 5 del Valle del Cesar (RC01, RC02, RC03, RC04 y RC05) y 7 de La Guajira (RG01, RG02, RG03, RG04, RG05, RG06 y RG07).

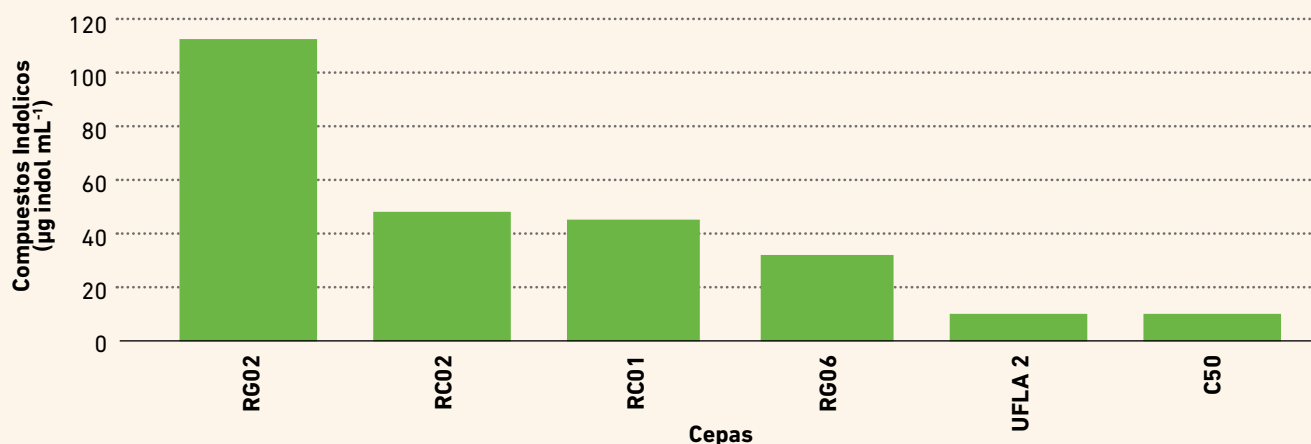
## Resultados relevantes

Los aislamientos seleccionados fueron microscópicamente bacilos cortos, delgados y Gram-negativos, y macroscópicamente fueron de crecimiento rápido, con un diámetro de colonia que osciló entre 0,6 y 6,0 mm, descripción que concuerda con los datos reportados por Bécquer (2004). Las pruebas bioquímicas arrojaron resultados interesantes de asimilación de un amplio rango de mono y disacáridos (D-glucosa, D-manosa, D-manitol, L-arabinosa, D-maltosa y N-acetilglucosamina) por parte de los aislamientos RC04, RG01, RG02, RG03, RG04, RG05 y RG06, y también se evidenció que las cepas RC04, RG02 y RG06 emplearon el nitrato como fuente de nitrógeno.

Las evaluaciones de producción de compuestos indólicos mostraron que varios de los aislamientos tuvieron esta capacidad, en especial las cepas RG02 y RC02, que produjeron 112,59 y 47,9  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente (Figura 11.9), valores mayores a los reportados por Tzec-Gamboa et al. (2020), quienes encontraron valores entre 14 y 27  $\mu\text{g mL}^{-1}$  en cepas de *Sinorhizobium* aisladas de *L. leucocephala* y que son similares a los reportados por Küçük y Cevheri (2016), quienes encontraron una producción de AIA de entre 15 y 165  $\mu\text{g mL}^{-1}$  por cepas de *Rhizobium* sp. aisladas de *Pisum sativum*.

■ **Figura 11.9.** Producción de compuestos indólicos en las cepas aisladas de *L. leucocephala* en los departamentos del Cesar y La Guajira.

Fuente: Elaboración propia

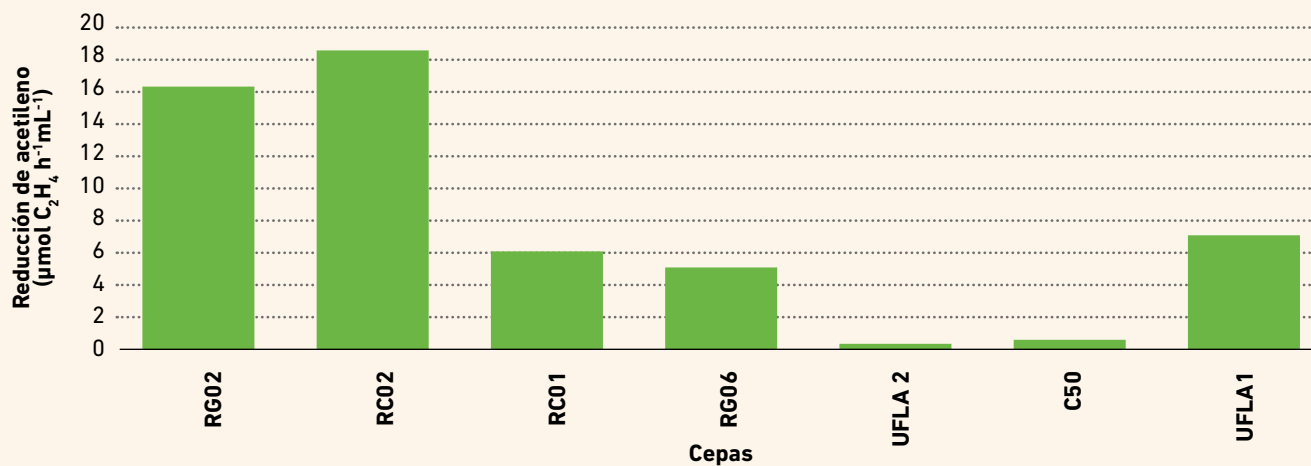


Adicionalmente, se realizaron pruebas de nodulación en plantas de *Leucaena* para determinar su capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico, a través de la metodología de reducción de acetileno. Las cepas que sobresalieron en esta actividad fueron, nuevamente, RC02 y RG02, con valores de 18,56 y 16,25 µmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> nódulo<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup> (Figura 11.10), valores superiores a

los reportados por Kaushal y Kaushal (2015), quienes reportaron valores entre 402,91 y 437,26 nmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> nódulo<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup> en cepas aisladas de *Brassica oleracea*, y a los de Ayala (2005), quien reportó valores de 12,83 y 13,84 µmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> nódulo<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup> en cepas aisladas de *Arachis hipogea* y *Centrosema pubescens*, respectivamente.

■ **Figura 11.10.** Actividad de reducción de acetileno en las cepas aisladas de *L. leucocephala* en los departamentos del Cesar y La Guajira.

Fuente: Elaboración propia



Los aislamientos promisorios RC02 y RG02 fueron identificados molecularmente como *Rhizobium* sp. y *Burkholderia* sp. mediante secuenciación del gen 16S rADN, y el aislamiento RG02 se convirtió en el primer reporte para Colombia de *Burkholderia* sp. como fijador de nitrógeno atmosférico.

Los resultados muestran que *L. leucocephala* es una planta que puede ser nodulada por diferentes tipos de simbioses, que consiguen ser excelentes promotores del crecimiento vegetal, como los aislados en el presente estudio (*Rhizobium* sp. y *Burkholderia* sp.), además de que cuentan con diferentes características bioquímicas que ayudan a su supervivencia y desarrollo.

# Uso de biofertilizantes como facilitadores biológicos en sistemas silvopastoriles en el Caribe seco colombiano

*Los resultados anteriores muestran el potencial de las cepas aisladas de los diferentes componentes del sistema silvopastoril en el trópico bajo, por lo que se decidió probar los diferentes aislamientos en la implementación de un sistema silvopastoril en Agustín Codazzi.*

## Introducción

El proyecto titulado “Producción de un fertilizante biológico mixto con base en bacterias fijadoras de nitrógeno para ssp de la región Caribe colombiana” tuvo como objetivo la implementación y evaluación de un arreglo silvopastoril (Figura 11.11) como alternativa al uso convencional del monocultivo para la alimentación del ganado, además de la evaluación de la aplicación de un inoculante microbiano como facilitador biológico. Un elemento importante en el trabajo fue dilucidar el potencial del uso de microorganismos promotores del crecimiento vegetal como una alternativa para mejorar la producción y sostenibilidad de esta opción productiva.

- **Figura 11.11.** Arreglo silvopastoril. *a.* Plantas de pasto guinea asociadas a *L. leucocephala*; *b.* Plantas de pasto guinea asociadas a *Eucalyptus tereticornis*.  
Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles



## Metodología

La implementación del ssp se realizó en el Centro de Investigación Motilonia de AGROSAVIA, ubicado en el municipio de Agustín Codazzi, Cesar, Colombia. El sistema estuvo conformado por tres especies vegetales: una especie arbórea (*E. tereticornis*), una especie leguminosa (*L. leucocephala*) y una gramínea (*M. maximus* [Jacq.] B. K. Simon & S. W. L. Jacobs). Cuatro tratamientos fueron implementados: 1) testigo absoluto, constituido por un monocultivo de kikuyina (*Bothriochloa pertusa* [L.] A. Camus), el cual es el sistema modal de la región; 2) testigo de pasto guinea (*M. maximus*), consistente en monocultivo de guinea, que fue implementado para determinar las diferencias debido a



Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles

la introducción de las especies arbórea y leguminosa; 3) ssp no inoculado, conformado por las tres especies vegetales y sin la adición de los inoculantes biológicos, y 4) SSP inoculado, conformado por las tres especies vegetales inoculadas. Las plantas de *Leucaena* fueron inoculadas con bacterias del género *Rhizobium*; el pasto guinea, con *Azospirillum brasilense* y *Azotobacter chroococcum*, y el eucalipto, con *A. chroococcum*.

La especie forestal fue establecida en doble fila a una distancia de 4 m × 4 m; a 8 m de la doble fila de eucalipto se sembró *Leucaena* en tres filas a una distancia de 1 m × 1 m, y en los espacios libres entre las dobles filas de eucalipto y las de *Leucaena* se estableció pasto guinea. La densidad de siembra empleada fue de 6 kg de semilla ha<sup>-1</sup>. Las variables evaluadas fueron medidas tres veces con intervalos de un mes y medio.

## Resultados relevantes

La producción de forraje disminuyó a través del tiempo. Sin importar el tipo de sistema de producción evaluado, la disminución en la oferta de forraje fue significativa a través de los ciclos de evaluación ( $p < 0,05$ ). Tomando como parámetro la producción de materia seca (MS), se observó que en el SSP inoculado, en el SSP no inoculado y en los monocultivos de *B. pertusa* y *M. maximus* hubo disminución en la producción durante el segundo y tercer ciclo, respectivamente. Los resultados demuestran que, a medida que la época de sequía se amplía, la producción de forraje disminuye (tabla 11.1).

Portela Pérez y Brito Martínez (2018) registraron reducción en los rendimientos de MS con *B. pertusa* entre septiembre (1.230,0 kg de MS ha<sup>-1</sup>) y febrero (428,4 kg de MS ha<sup>-1</sup>), con una caída, en el periodo poco lluvioso, de entre el 30 % y el 50 % en su producción de forraje; entre tanto, en *M. maximus*, a diferencia de otras gramíneas cultivadas en la región Caribe de Colombia, se exhibió un crecimiento vegetativo intenso con incremento de su calidad nutricional en el periodo lluvioso, y provisto de una tolerancia moderada a la baja humedad en periodos poco lluviosos (Torregroza et al., 2015).

■ **Tabla 11.1.** Rendimiento de materia seca por hectárea en tres ciclos de evaluación

Nota: Las letras indican subgrupos homogéneos obtenidos con la prueba HSD de Tukey.

Fuente: Elaboración propia

---

<p><b>1</b> <b>Monocultivo de <i>B. pertusa</i></b>  <b>Ciclo 1:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 1089,4 d</li> </ul> <p><b>Ciclo 2:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 892,0 c</li> </ul> <p><b>Ciclo 3:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 449,3 c</li> </ul>	<p><b>3</b> <b>SSP no inoculado</b>  <b>Ciclo 1:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 2.319,8 b</li> </ul> <p><b>Ciclo 2:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 1.801,5 a</li> </ul> <p><b>Ciclo 3:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 1.327,5 a</li> </ul>
<p><b>2</b> <b>Monocultivo de <i>M. maximus</i></b>  <b>Ciclo 1:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 1.688,0 c</li> </ul> <p><b>Ciclo 2:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 1.627,5 b</li> </ul> <p><b>Ciclo 3:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 827,9 b</li> </ul>	<p><b>4</b> <b>SSP inoculado</b>  <b>Ciclo 1:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 4.068,7 a</li> </ul> <p><b>Ciclo 2:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 1.880,7 a</li> </ul> <p><b>Ciclo 3:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 1.430,1 a</li> </ul>

---

Los SSP generaron una mayor oferta de forraje que los monocultivos. Los resultados obtenidos permitieron evidenciar que el uso del SSP incrementa el rendimiento de MS en comparación con los monocultivos. Durante el primer ciclo se observaron aumentos del 37% y el 112% en la producción de MS, correspondientes al SSP no inoculado y al SSP inoculado, respectivamente. En el segundo ciclo, la producción de forraje de MS se incrementó en el SSP con respecto a los monocultivos de *M. maximus* y *B. pertusa*, y en el tercer ciclo se observó la misma tendencia (tabla 11.1).

Sanches Santos et al. (2019) consideran que, cuando las pasturas en los monocultivos están en proceso de degradación, proveen insuficientes nutrientes para alimentar a los animales; en estas circunstancias, se desmantelan nuevas áreas, lo que causa un aumento de la deforestación y daños ambientales. La introducción de los árboles en las pasturas y el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) surge como una estrategia viable que deriva en el incremento de la producción de forraje, en más calidad nutricional de la dieta, en una mayor carga animal por hectárea y en la obtención de ganancias superiores de peso en los bovinos respecto a los valores que se alcanzan en otros sistemas forrajeros tropicales (Rivera-Herrera et al., 2017).

Así, una de las alternativas para mejorar la capacidad de resiliencia en los sistemas ganaderos en épocas críticas es la implementación de SSP, que se consideran una de las soluciones más innovadoras para dar respuesta al reto ganadero de producción sustentable (Murgueitio et al., 2019).



Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles

La inoculación con PGPB aumentó la producción del SSP: en el primer ciclo, la respuesta en términos de MS incrementó en comparación con el sistema no inoculado ( $p < 0,05$ ), ya que su rendimiento aumentó en un 30%. En los siguientes ciclos, en los que no se realizó reinoculación, no se presentó un aumento significativo en la producción de forraje, lo que indicaría que los periodos de extrema sequía

tuvieron efecto sobre la abundancia o efectividad de las especies microbianas empleadas (tabla 11.2).

Estudios realizados por Pérez-Cordero et al. (2018) señalaron la presencia de bacterias endófitas asociadas al pasto colosoana, las cuales muestran un potencial importante para la nutrición vegetal, ya que promueven el crecimiento de las plantas.

■ **Tabla 11.2.** Producción de forraje de los componentes del sistema silvopastoril

Nota: Las letras indican subgrupos homogéneos obtenidos con la prueba hsd de Tukey.

Fuente: Elaboración propia

1

*L. leucocephala no inoculada*

Ciclo 1:

- Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 711,3 b

Ciclo 2:

- Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 153,4 b

Ciclo 3:

- Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 140,1 b

3

*M. maximus no inoculado*

Ciclo 1:

- Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 1.598,7 b

Ciclo 2:

- Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 1.604,1 a

Ciclo 3:

- Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 1.177,5 a

2

*L. leucocephala inoculada*

Ciclo 1:

- Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 879,8 a

Ciclo 2:

- Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 329,9 a

Ciclo 3:

- Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 176,8 a

4

*M. maximus inoculado*

Ciclo 1:

- Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 2.884,5 a

Ciclo 2:

- Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 1.655,5 a

Ciclo 3:

- Promedio (kg de ms ha<sup>-1</sup>): 1.201,8 a

La simbiosis rizobios-leguminosas es una fuente importante de fijación de nitrógeno (amonio) en la biósfera, por lo que el potencial de este proceso para aumentar el rendimiento agrícola ha generado interés en comprender y manipular de manera exitosa estos desarrollos (DiCenzo et al., 2018).

El efecto de los biofertilizantes fue constante a través del tiempo en *L. leucocephala*, pero no en *M. maximus*. Los fertilizantes biológicos a base de bacterias promotoras son destinados a promover el crecimiento de las plantas a través de diferentes mecanismos relacionados con el

aumento en la disponibilidad de nutrientes, la síntesis de moléculas bioactivas y la protección de la planta ante estreses de tipo biótico y abiótico. Estas bacterias suelen clasificarse de acuerdo con su grado de asociación con la planta. Las bacterias con las cuales se inocularon las plantas de *L. leucocephala* pertenecen al grupo de los rizobios, los cuales tienen la capacidad de formar una estructura especializada, denominada *nódulo*, con leguminosas (Figura 11.12), y por lo tanto son endófitos. Las bacterias diazotróficas empleadas sobre pasto guinea fueron endófitas no simbióticas, en el caso de *Azospirillum*, y de vida libre, en el caso de *Azotobacter*.

■ **Figura 11.12.** Nódulos en plantas de *L. leucocephala*.

Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles



Los datos de producción de forraje evidenciaron que el efecto de promoción de crecimiento se mantuvo sobre las plantas de *L. leucocephala* (tabla 11.2). Durante los tres ciclos de evaluación existieron diferencias significativas entre el tratamiento no inoculado y el inoculado ( $p < 0,05$ ), lo que sugiere que las condiciones climáticas influyeron sobre la actividad de las bacterias simbióticas. En contraste, el efecto de los microorganismos sobre las plantas de *M. maximus* solo fue visible en la primera fase del cultivo, lo que sugiere que la actividad microbiana

se vio afectada por las condiciones edafoclimáticas asociadas al SSP. Después del segundo ciclo no existieron diferencias entre las plantas de guinea inoculadas y las no inoculadas ( $p > 0,05$ ) (tabla 11.2), lo que indica que el aislamiento de bacterias xerófilas podría tener un efecto importante bajo las condiciones de sequía imperantes en esta región durante este periodo del año; de igual manera, este resultado abre la posibilidad de evaluar si el uso de la reinoculación podría generar un efecto positivo sobre el cultivo a través del tiempo sobre este tipo de plantas.

Terra et al. (2019) consideran que las leguminosas forrajeras han ganado importancia como alternativa sostenible para la alimentación animal por su capacidad de establecer relaciones simbióticas y asociativas con bacterias fijadoras de nitrógeno y promotoras del crecimiento vegetal, las cuales consiguen suplir total o parcialmente el nitrógeno utilizado por los cultivos. Así, se pueden aplicar microorganismos fijadores de nitrógeno de vida libre o asociados en simbiosis con las leguminosas, para que ejerzan un papel importante en el crecimiento de estas (Alcaraz, 2016).

La inoculación presentó un efecto positivo sobre el crecimiento de *E. tereticornis*. Los valores obtenidos en las variables de incremento en altura, diámetro basal y diámetro a la altura del pecho (DAP) (1,3 m) de *E. tereticornis* fueron mayores en el tratamiento inoculado que en el no inoculado, en los ocho meses evaluados, lo cual indica un efecto positivo del biofertilizante sobre el

crecimiento de los árboles (tabla 11.3). Los incrementos en altura de la planta, diámetro basal y DAP de *E. tereticornis* fueron, en su orden, del 41,2%, el 44,2% y el 46,7% en relación con el tratamiento no inoculado.

En investigaciones del efecto de los biofertilizantes sobre el crecimiento y la producción de *Eucalyptus grandis*, la mayor dosis aplicada demostró un significativo efecto sobre el más alto desarrollo de las plantas en vivero, una estimulación importante de las raíces y el mayor aumento en número de hojas; por lo tanto, esta se considera una alternativa sostenible para el manejo del suelo en el sector forestal (González-Díaz et al., 2019).

Además, según Laclau et al. (2018), se presentan ventajas competitivas de *Eucalyptus* sobre otras especies arbóreas en términos de productividad, tolerancia al estrés biótico y abiótico, calidad de la madera para una amplia variedad de usos y habilidad en el manejo de campo.

■ **Tabla 11.3.** Altura, diámetro basal y diámetro a la altura del pecho (DAP) de *Eucalyptus tereticornis* inoculado y no inoculado

Fuente: Elaboración propia

1 <b>Altura (cm)</b>	2 <b>Diámetro basal (cm)</b>	3 <b>DAP (cm)</b>
<b>Respuesta:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Inoculado:</b> 3,29</li> <li>• <b>No inoculado:</b> 2,33</li> <li>• <b>Diferencia:</b> +0,96</li> </ul>	<b>Respuesta:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Inoculado:</b> 6,20</li> <li>• <b>No inoculado:</b> 4,30</li> <li>• <b>Diferencia:</b> +1,90</li> </ul>	<b>Respuesta:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Inoculado:</b> 4,40</li> <li>• <b>No inoculado:</b> 3,00</li> <li>• <b>Diferencia:</b> +1,40</li> </ul>

La aplicación del biofertilizante sobre el arreglo silvopastoril tuvo un efecto positivo sobre los diferentes componentes, expresado en el mayor incremento en la altura, el diámetro en la base del tallo y el DAP de los árboles de *E. tereticornis* en el arreglo silvopastoril inoculado, en comparación con el arreglo silvopastoril no inoculado. La producción de MS de *L. leucocephala* inoculada superó en los tres ciclos evaluados a la no inoculada entre un 26,1% y un 87,0%, y la producción de MS de la gramínea guinea fue mayor en el arreglo silvopastoril inoculado (96,2%) que en el no inoculado.

Los resultados revelaron que existe una amplia diversidad de microorganismos con potencial para promover el crecimiento de las plantas, los cuales están asociados a la rizósfera de las especies vegetales que componen el sistema: *Leucaena* (*L. leucocephala*), pasto guinea (*M. maximus*) y eucalipto (*E. tereticornis*). Se observó que el uso de SSP representa una alternativa eficiente frente a los monocultivos tradicionales, puesto que la oferta de forraje se incrementa en comparación, por ejemplo, con los monocultivos de kikuyina (*B. pertusa*) y pasto guinea (*M. maximus*).

# Referencias

- Alcaraz, M. L. (2016). *Liberación/mineralización de nitrógeno y fósforo en hojarasca de Eucalyptus grandis y leguminosas herbáceas en distintos suelos: relación con la calidad física y química del residuo, y efecto sobre el crecimiento de plantas jóvenes de eucalipto* [tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata]. [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/51559/Documento\\_completo\\_.pdf?sequence=5&isAllowed=y](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/51559/Documento_completo_.pdf?sequence=5&isAllowed=y)
- Andriulo, A. E., & Irizar, A. B. (2017). La materia orgánica como indicador base de calidad del suelo. En M. G. Wilson (ed.), *Manual de indicadores de calidad del suelo para las ecorregiones de Argentina* (1.ª ed., pp. 65-69). INTA. [https://inta.gob.ar/sites/default/files/manual\\_ics\\_final.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/manual_ics_final.pdf)
- Ayala, L. (2005). Estudio de algunos aspectos de la fijación biológica de nitrógeno por el maní (*Arachis hypogaea*): evaluación bioquímica de la fijación y factores relacionados en la asociación maní-*Rhizobium* sp. *Agronomía Tropical*, 27(4), 427-449.
- Bécquer, C. J. (2004). Descripción y clasificación de rizobios: enfoque histórico, métodos y tendencias actuales. *Biología*, 18(1), 9-29.
- Bharathiraja, S. (2019). Selection of efficient *Azospirillum* isolates from rhizosphere and root samples of paddy using acetylene reduction assay (ARA). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(2s), 128-130.
- Bioenciclopedia. (s. f.). Eucalipto. <https://www.bioenciclopedia.com/eucalipto/>
- Bueno López, L., & Camargo Garcia, J. C. (2015). Nitrógeno edáfico y nodulación de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit en sistemas silvopastoriles. *Acta Agronómica*, 64(4), 349-354. <https://doi.org/10.15446/acag.v64n4.45362>
- Cárdenas, D. M., Garrido, M. F., Bonilla, R. R., & Baldani, V. L. (2010). Aislamiento e identificación de cepas de *Azospirillum* sp. en pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.) del Valle del Cesar. *Pastos y Forrajes*, 33(3). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942010000300005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942010000300005)
- Cárdenas Caro, D. M., Garrido Rubiano, M. F., Roncallo Fandiño, B. A., & Bonilla Buitrago, R. R. (2014). Inoculación con *Azospirillum* spp y *Enterobacter agglomerans* en pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.) en el departamento de Cesar (Colombia). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 67(2), 7.271-7.280. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v67n2.44168>
- Chauveau, M., Gastó, J., López, I., Clunes, J., & Dörner, J. (2015). Efecto del cambio de manejo de una pradera degradada sobre la resiliencia física de un suelo en la precordillera andina de la Araucanía. *Agro Sur*, 43(2), 19-28. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2015.v43n2-04>
- Comisión Económica para América Latina y el Caribe (Cepal), Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), & Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). (2017). *Perspectivas de la agricultura y del desarrollo rural en las Américas: una mirada hacia América Latina y el Caribe 2017-2018*. [https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/42281/1/PerspAgricultura2017-2018\\_es.pdf](https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/42281/1/PerspAgricultura2017-2018_es.pdf)
- Cortés-Patiño, S., Avellaneda, L., Moreno-Galvan, A., & Bonilla, R. (2016). Bacterias diazotróficas con potencial para promover el crecimiento de las pasturas en condiciones de salinidad [ponencia en congreso]. XVIII Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo, Villa de Leyva, Boyacá, Colombia.
- Da Silva, M. de C. S., Paula, T. de A., Moreira, B. C., Carolino, M., Cruz, C., Bazzolli, D. M. S., Silva, C. C., & Kasuya, M. C. M. (2014). Nitrogen-fixing bacteria in *Eucalyptus globulus* plantations. *PLoS ONE*, 9(10), artículo e111313. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111313>
- DiCenzo, G. C., Zamani, M., Checcucci, A., Fondi, M., Griffiths, J. S., Finan, T. M., & Mengoni, A. (2018). Multidisciplinary approaches for studying rhizobium-legume symbioses. *Canadian Journal of Microbiology*, 65(1), 1-33. <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0377>
- Domingues Duarte, C. F., Cecato, U., Biserra, T. T., Mamédio, D., & Galbeiro, S. (2020). *Azospirillum* spp. en gramíneas y forrajeras. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarías*, 11(1), 223-240. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i1.4951>
- Dorđević, S., Stanojević, D., Vidović, M., Mandić, V., & Trajković, I. (2017). The use of bacterial indol-3-acetic acid (IAA) for reduce of chemical fertilizers doses. *Hemijska Industrija*, 71(3), 195-200. <https://doi.org/10.2298/hemind160317029d>
- El-Komy, H. M. A. (2005). Coimmobilization of *Azospirillum lipoferum* and *Bacillus megaterium* for successful phosphorus and nitrogen nutrition of wheat plants. *Food Technology and Biotechnology*, 43(1), 19-27. [https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak\\_jezik=162597](https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=162597)
- Fedegán. (2018). Fichas de caracterización departamental. <http://www.fedegan.org.co/estadisticas/documentos-de-estadistica>
- González-Díaz, A., Ojeda-Morales, M. E., Hernández-Rivera, M. A., Córdova-Bautista, Y., Díaz-Flores, L. L., López-Lázaro, J. de los S., & Álvarez-Ramírez, J. G. (2019). Effect of biofertilizers application on the growth of *Eucalyptus grandis* seedlings under greenhouse conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 42(19), 2.560-2.576. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1655040>
- Hungria, M., Nogueira, M. A., & Araujo, R. S. (2016). Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 221, 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.01.024>
- Ideam. (2019). *Estudio nacional de la degradación de suelos por salinización en Colombia*.

- Ideam, & UDCA. (2015). *Síntesis. Estudio nacional de la degradación de suelos por erosión en Colombia*. <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/023646/Sintesis.pdf>
- Iglesias, J. M., García, L., & Toral, O. C. (2015). Comportamiento productivo de diferentes genotipos bovinos en una finca comercial. Ceba final. *Pastos y Forrajes*, 38(2), 185-193. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942015000200006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942015000200006)
- Jónsson, J. Ö. G., & Davíðsdóttir, B. (2016). Classification and valuation of soil ecosystem services. *Agricultural Systems*, 145, 24-38. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2016.02.010>
- Kaushal, M., & Kaushal, R. (2015). Acetylene reductase activity and molecular characterization of plant growth promoting rhizobacteria to know efficacy in integrated nutrient management system. *Indian Journal of Biotechnology*, 14, 221-227. [http://oar.icrisat.org/9122/1/1JB\\_14\\_221-227\\_2015.pdf](http://oar.icrisat.org/9122/1/1JB_14_221-227_2015.pdf)
- Küçük, C., & Cevheri, C. (2016). Indole acetic acid production by *Rhizobium* sp. isolated from pea (*Pisum sativum* L. ssp. *arvense*). *Turkish Journal of Life Sciences*, 1.
- Laclau, J. P., Mignard, E. J., Bouvet, J. M., & Mareschal, L. (eds.). (2018). *Eucalyptus 2018: Managing Eucalyptus plantation under global changes. Abstracts book*. Cirad.
- Leite, R. da C., dos Santos, A. C., dos Santos, J. G. D., Leite, R. da C., de Oliveira, L. B. T., & Hungria, M. (2019). Mitigation of Mombasa grass (*Megathyrus maximus*) dependence on nitrogen fertilization as a function of inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 43, artículo e0180234. <https://doi.org/10.1590/18069657rbcS20180234>
- López-Reyes, L., Carcaño-Montiel, M. G., Tapia-López, L., Medina-de la Rosa, G., & Tapia-Hernández, R. A. (2017). Antifungal and growth-promoting activity of *Azospirillum brasilense* in *Zea mays* L. ssp. *mexicana*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 50(13-14), 727-743. <https://doi.org/10.1080/03235408.2017.1372247>
- López-Vigoa, O., Sánchez-Santana, T., Iglesias-Gómez, J. M., Lamela-López, L., Soca-Pérez, M., Arece-García, J., & Milera-Rodríguez, M. de la C. (2017). Los sistemas silvopastoriles como alternativa para la producción animal sostenible en el contexto actual de la ganadería tropical. *Pastos y Forrajes*, 40(2), 83-95. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942017000200001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942017000200001)
- Mahecha, L. (2002). El silvopastoreo: una alternativa de producción que disminuye el impacto ambiental de la ganadería bovina. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 15(2), 226-231. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/rccp/article/view/323817>
- Marques, A. C. R., de Oliveira, L. B., Nicoloso, F. T., Jacques, R. J. S., Giacomini, S. J., & de Quadros, F. L. F. (2017). Biological nitrogen fixation in C<sub>4</sub> grasses of different growth strategies of South America natural grasslands. *Applied Soil Ecology*, 113, 54-62. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.01.011>
- Martín, G. M., Rivera-Espinosa, R., Fundora, L. R., Cabrera, A., Martín, N., & Alonso, C. (2018). Evolución de algunas propiedades químicas de un suelo después de 20 años de explotación agrícola. *Cultivos Tropicales*, 39(4), 21-26. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362018000400003&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362018000400003&lng=es&nrm=iso)
- Miguel, P. S. B., de Oliveira, M. N. V., Delvaux, J. C., de Jesus, G. L., Borges, A. C., Tótola, M. R., Neves, J. C. L., & Costa, M. D. (2016). Diversity and distribution of the endophytic bacterial community at different stages of *Eucalyptus* growth. *Antonie van Leeuwenhoek*, 109(6), 755-771. <https://doi.org/10.1007/s10482-016-0676-7>
- Murgueitio, E., Chará, J., Barahona, R., & Rivera, J. E. (2019). Development of sustainable cattle rearing in silvopastoral systems in Latin America. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 53(1), 65-71. [https://www.researchgate.net/publication/331332787\\_Development\\_of\\_sustainable\\_cattle\\_rearing\\_in\\_silvopastoral\\_systems\\_in\\_Latin\\_America](https://www.researchgate.net/publication/331332787_Development_of_sustainable_cattle_rearing_in_silvopastoral_systems_in_Latin_America)
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2018). *Cambio climático y seguridad alimentaria y nutricional América Latina y el Caribe (gestión del riesgo de desastres en el sector agrícola)*. <http://www.fao.org/3/I8014ES/i8014es.pdf>
- Padda, K. P., Puri, A., & Chanway, C. P. (2018). Isolation and identification of endophytic diazotrophs from lodgepole pine trees growing at unreclaimed gravel mining pits in central interior British Columbia, Canada. *Canadian Journal of Forest Research*, 48(12), 1.601-1.606. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2018-0347>
- Pérez-Cordero, A., Chamorro-Anaya, L., & Doncel-Mestra, A. (2018). Bacterias endófitas promotoras de crecimiento aisladas de pasto colosoana, departamento de Sucre, Colombia. *Revista mvz Córdoba*, 23(2), 6.696-6.709. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1347>
- Portela Pérez, V. D., & Brito Martínez, A. (2018). *Respuesta agronómica, productiva y calidad nutricional del pasto colosuana (Bothriochloa pertusa) bajo diferentes fuentes de fertilización* [tesis de pregrado, Universidad del Tolima]. <http://repository.ut.edu.co/bitstream/001/2412/1/T%200101%20916%20CD5926%20APROBADO%20VIVIAN%20DAYANNA%20PORTELA%20PEREZ.pdf>
- Radwan, T. E.-S. E.-D., Mohamed, Z. K., & Reis, V. M. (2004). Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(10), 987-994. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2004001000006>
- Reis Junior, F. B., Silva, M. F., Teixeira, K. R. S., Urquiaga, S., & Reis, V. M. (2004). Identificação de isolados de *Azospirillum amazonense* associados a *Brachiaria* spp., em diferentes épocas e condições de cultivo e produção de fitormônio pela bactéria. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 28(1), 103-113. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832004000100011>
- Rivera-Herrera, J. E., Molina-Botero, I., Chará-Orozco, J., Murgueitio-Restrepo, E., & Barahona-Rosales, R. (2017). Sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit: alternativa productiva en el trópico ante el cambio climático. *Pastos y Forrajes*, 40(3), 171-183. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942017000300001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942017000300001)
- Romero-Perdomo, F., Abril, J., Camelo, M., Moreno-Galván, A., Pastrana, I., Rojas-Tapias, D., & Bonilla, R. (2017). *Azotobacter chroococcum* as a potentially useful bacterial biofertilizer for cotton (*Gossypium*

*hirsutum*): Effect in reducing N fertilization. *Revista Argentina de Microbiología*, 49(4), 377-383. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.04.006>

Romero-Perdomo, F., Ocampo-Gallego, J., Camelo-Rusinque, M., & Bonila, R. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria and their potential as bioinoculants on *Pennisetum clandestinum* (Poaceae). *Revista de Biología Tropical*, 67(4). <https://doi.org/10.15517/RBT.V67I4.34029>

Sanches Santos, M., Nogueira, M. A., & Hungria, M. (2019). Microbial inoculants: Reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. *AMB Express*, 9(1), artículo 205. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0932-0>

Santos, D. de C., Guimaraes Júnior, R., Vilela, L., Pulrolnik, K., Bufon, V. B., & França, A. F. de S. (2016). Forage dry mass accumulation and structural characteristics of Piatã grass in silvopastoral systems in the Brazilian savannah. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 233, 16-24. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.08.026>

Terra, A. B. C., Florentino, L. A., de Rezende, A. V., & Silva, N. C. D. (2019). Leguminosas forrageiras na recuperação de pastagens no Brasil. *Revista de Ciências Agrárias*, 42(2), 11-20. <https://doi.org/10.19084/rca.16016>

Torregroza, L., Reza, S., Suárez, E., Espinosa, M., Cuadrado, H., Pastrana, I., Mejía, S., Jiménez, N., & Abuabara, Y. (2015). Producción de carne en pasturas irrigadas y fertilizadas de *Brachiaria híbrido* cv. Mulato II en el valle del Sinú. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 16(1), 131-138. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol16\\_num1\\_art:391](https://doi.org/10.21930/rcta.vol16_num1_art:391)

Tzec-Gamboa, M., Solorio-Sánchez, F., Fiebrig, I., Torres-Calzada, C., Peña-Cabriales, J. J., & Ortiz-Vázquez, E. (2020). Biochemical and molecular characterization of native rhizobia nodulating *Leucaena leucocephala* with potential use as bioinoculants in Yucatan, Mexico. *Chiang Mai Journal of Science*, 47(1), 1-15. <https://www.thaiscience.info/Journals/Article/CMJS/10990738.pdf>

Videla, C., & Picone, L. (2017). Indicadores biológicos de calidad de suelo. En M. G. Wilson (ed.), *Manual de indicadores de calidad del suelo para las ecorregiones de Argentina* (1.ª ed., pp. 83-87). INTA. [https://inta.gob.ar/sites/default/files/manual\\_ics\\_final.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/manual_ics_final.pdf)

Villanueva, C., Casasola, F., & Detlefsen, G. (2018). *Potencial de los sistemas silvopastoriles en la mitigación al cambio climático y en la generación de múltiples beneficios en fincas ganaderas de Costa Rica* [serie técnica, boletín técnico n.º 87]. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (Catie). [http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/8729/Potencial\\_de\\_los\\_sistemas\\_silvopastoriles.pdf?sequence=7&isAllowed=y](http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/8729/Potencial_de_los_sistemas_silvopastoriles.pdf?sequence=7&isAllowed=y)

Zúñiga, F., Ivelic-Sáez, J., López, I., Huygens, D., & Dörner, F. J. (2015). Temporal dynamics of the physical quality of an Andisol under a grazing system subjected to different pasture improvement strategies. *Soil and Tillage Research*, 145, 233-241. <https://doi.org/10.1016/j.still.2014.09.014>



Foto: Sistemas Agropecuarios Sostenibles