



Fijación biológica de nitrógeno y producción bovina en ambientes tropicales

Biological Nitrogen Fixation and Cattle Production in Tropical Environments

Julio César Blanco-Rodríguez^{1,3}

Jhon Jairo Romero-Toro²

Maria Antonia Montilla-Rodríguez¹



DOI: <https://doi.org/10.19053/01228420.v20.n3.2023.16684>

RESUMEN: La fijación biológica de nitrógeno (FBN) es un proceso importante para la fertilidad del suelo y su microbiología. En pasturas tropicales influye en el consumo de proteína durante el proceso de pastoreo. Teniendo en cuenta esta condición, se llevó a cabo una revisión de diferentes documentos con el objeto de exponer la importancia de las bacterias fijadoras de nitrógeno como microorganismos valiosos para la producción bovina y presentar información inherente a la relación entre estas, el nitrógeno, la producción vegetal y animal, así como su importancia ecológica. Se consultaron 679 documentos obtenidos de diferentes plataformas de búsqueda, que se adquirieron mediante 12 ecuaciones de exploración o combinaciones de palabras clave, seleccionando 86 documentos, de los cuales 37 fueron artículos de investigación, 26 artículos de revisión, 18 tesis y 5 libros académicos, cuya información se organizó de forma clara con el fin de evidenciar la importancia que tienen las bacterias en el aprovechamiento del nitrógeno en pasturas.

PALABRAS CLAVE: ganadería biológica, rizobacterias, pastizales.

ABSTRACT: Biological nitrogen fixation (BNF) is a critical process for maintaining soil fertility and promoting healthy soil microbiology. In tropical pastures, BNF plays a key role in influencing protein intake during grazing. To understand the importance of nitrogen-fixing bacteria to cattle production, we conducted a thorough review of several documents. Our goal was to explore the relationship between these bacteria, nitrogen, crop and livestock production, and their ecological significance. We consulted 679 documents from different search platforms, using 12 different search equations or keyword combinations. From these, we selected 86 documents, including 37 research articles, 26 review articles, 18 theses, and 5 academic books. We have clearly organized the information to demonstrate the importance of bacteria in nitrogen utilization in pastures.

KEYWORDS: organic livestock, rhizobacteria, grassland.

FECHA DE RADICACIÓN: 16 de octubre de 2023 **FECHA DE ACEPTACIÓN:** 21 de noviembre de 2023 **FECHA DE PUBLICACIÓN:** 14 de diciembre de 2023

- 1 Universidad de la Amazonia, Florencia, Colombia. ORCID: Blanco-Rodríguez, J. C.: <https://orcid.org/0000-0003-0422-8996>; ORCID: Montilla-Rodríguez, M. A.: <https://orcid.org/0000-0001-8092-4390>
- 2 Universidad de la Amazonia, Semillero de Investigación SIEPSA, Florencia, Colombia. ORCID: Romero-Toro, J. J.: <https://orcid.org/0009-0006-6092-5365>
- 3 Autor de correspondencia: ju.blanco@udla.edu.co

INTRODUCCIÓN

El nitrógeno es un elemento importante para el desarrollo vegetal y, a la vez, un factor limitante (Paredes, 2013), ya que las plantas vasculares dependen estrictamente de interacciones microbianas en la fijación biológica de nitrógeno-FBN (Domingues Duarte et al., 2020), a través de la cual las bacterias diazotróficas convierten el nitrógeno atmosférico (N_2) en formas disponibles para su uso, desarrollando nódulos con bacterias asociadas a las raíces (fijación simbiótica) o que se encuentran en vida libre en el suelo (fijación no simbiótica), en ambos casos denominadas rizobacterias (Revillini et al., 2016).

En los sistemas de pastoreo, el desarrollo de bacterias de vida libre o de bacterias simbióticas (López Vázquez, 2017) se origina gracias a la asociación entre gramíneas y leguminosas (Calderón Loor & Rodríguez García, 2016) que estimulan la FBN (Campillo et al., 2003) y el uso eficiente del nitrógeno (Gentzmittel et al., 2015) por parte de la vegetación (Farinango León, 2018), con efectos positivos sobre el ambiente (Blanco Rodríguez et al., 2019).

Es por esto por lo que el objeto de la presente revisión es mostrar la importancia de las rizobacterias en las pasturas (Blanco Valdés, 2016) y la producción bovina (Sánchez, 2013) como parte de la síntesis de aminoácidos (Escaso Santos et al., 2010) a partir de proteína vegetal (Calderón Loor & Rodríguez García, 2016).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo una revisión de información relacionada con microorganismos fijadores de nitrógeno en pasturas y su consumo por parte de los bovinos (Noro & Wittwer, 2012), a través de varias plataformas y buscadores generalizados como Agriweb, Agris, ResearchGate, Chemedica, Agribiz, Google Académico, Redalyc, Scielo, Science Direct, Academic Info, Agronomic links, Agrisuf, Agview y Academic Journals, utilizando palabras clave o sus combinaciones (que se relacionan en la Figura 1), para obtener información inherente al objeto de la investigación desarrollada.

Se inició el proceso de revisión con 679 resultados afines a doce palabras clave, de las cuales “rizobacterias” y “fijación biológica de nitrógeno” presentaron la mayor cantidad de documentos revisados y citados, seguidas de “leguminosas” y “biofertilizantes” en igual proporción. Estas palabras pueden hallarse en el tesoro Agrovoc de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Las demás combinaciones que se observan en la Figura 1 presentaron menor relación entre documentos revisados y citados.

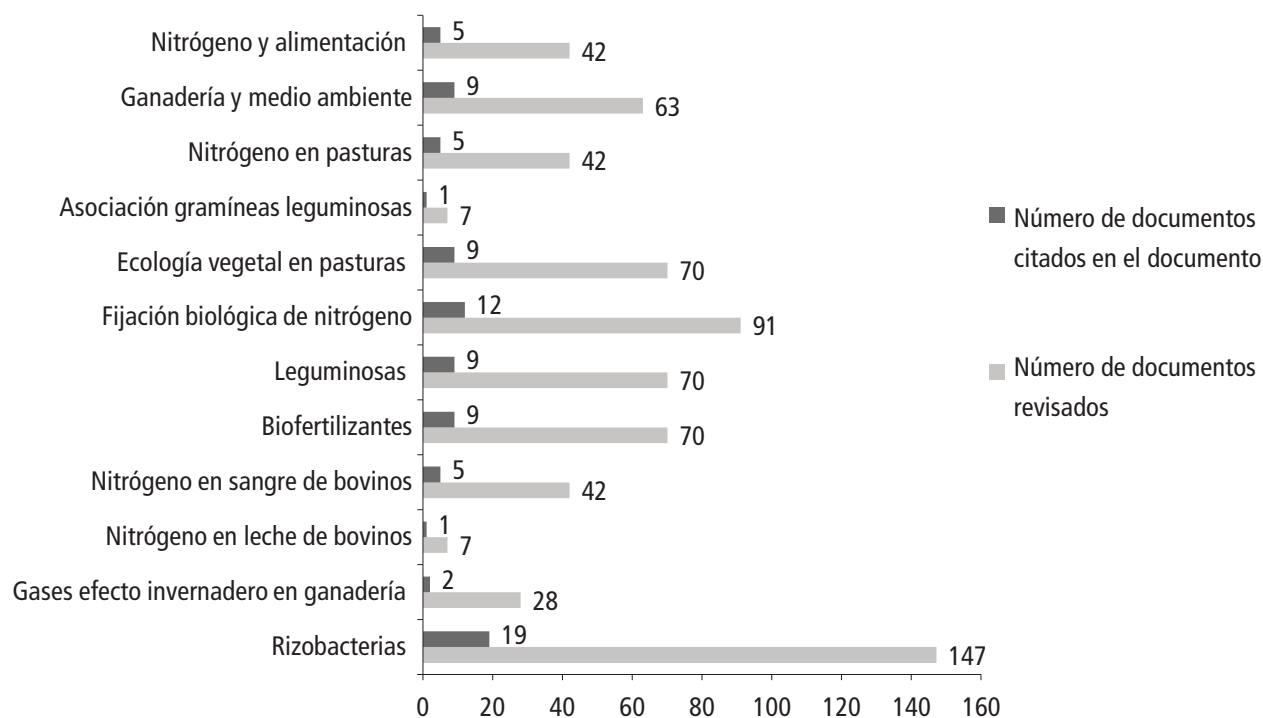


FIGURA 1. Documentos resultantes y seleccionados a partir de palabras clave.

Fuente: elaboración propia.

La selección de los documentos se llevó a cabo a partir de la eliminación de duplicados para contar con 600 registros entre libros, tesis, artículos de revisión y artículos de investigación. Se excluyeron 300 de ellos, que se relacionan con la FBN en cultivos diferentes a pasturas destinadas a la producción bovina. Se examinó la información necesaria para elaborar la revisión, rechazando 214 que perdieron relevancia durante la redacción por información redundante en general entre documentos revisados, hasta obtener un total de 86 instrumentos de redacción en el producto final (Figura 2).

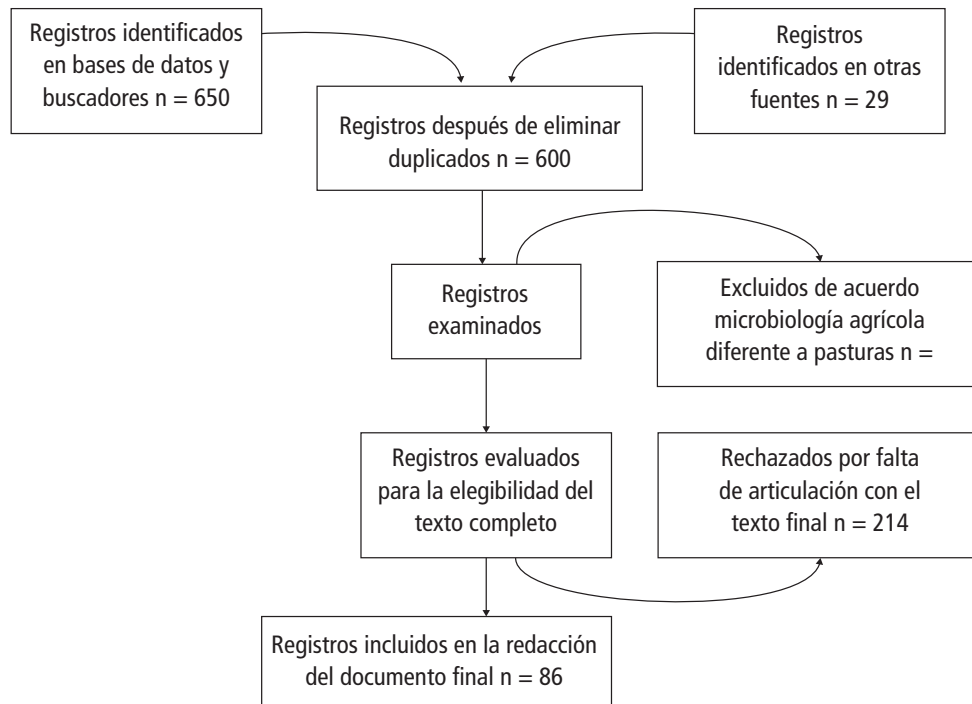


FIGURA 2. Diagrama de flujo de la información a través del proceso de revisión.

Fuente: elaboración propia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tal y como se observa en la Figura 3, de los 86 documentos citados en la presente revisión, se dio prioridad a la literatura indexada, ya que se utilizaron 37 artículos de investigación, seguidos de 26 artículos de revisión y, en menor proporción, 18 de tesis y 5 libros académicos que permitieron la definición de conceptos.

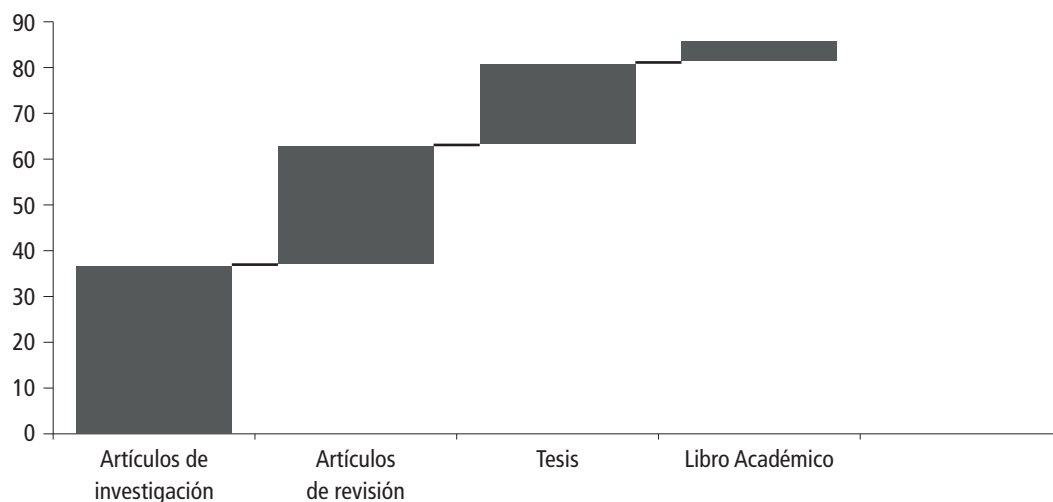


FIGURA 3. Número de documentos resultantes por tipo.

Fuente: elaboración propia.

Generalidades de la fijación biológica de nitrógeno (FBN)

La FBN es un proceso natural a través del cual las bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico hacen disponible este elemento para su uso en el suelo (Revillini et al., 2016). Esto incrementa la fertilidad (Mehnaz, 2015) de diferentes cultivos, entre los cuales se incluyen las pasturas (Chalk & Craswell, 2018), cuya colonización (Zamora Natera et al., 2019) fija cantidades importantes de nitrógeno (Orr et al., 2011) que las plantas no logran aprovechar de forma directa (Ruiz Santiago et al., 2020); adicionalmente, dinamiza el ciclo del nitrógeno, garantizando su desarrollo (Dey et al., 2021) y, por ende, la salud de este ecosistema (Yao et al., 2016). Asimismo, funciona como servicio (Rodríguez et al., 2016), gracias al reciclaje de minerales (Ramos Benítez, 2016; Moreno Forero, 2019) que generalmente se usarían como productos químicos e industriales (Cardoso, 2020) con altos costos económicos y ambientales (Canals & Cáceres, 2020).

Por tal razón, la FBN se convierte en un mecanismo de sostenibilidad del suelo (Diéguez, 2008) que favorece la condición de las pasturas (Calvo García, 2011), con base en la biotransformación del nitrógeno (Pérez López, 2014) reflejada en la capacidad simbiótica (Quiroga et al., 2015) que propicia el desarrollo vegetal (Villarroya Villarroya & Petroche Villa, 2015). Es importante para la conservación (Cano et al., 2017) y el aprovechamiento del nitrógeno del suelo con prevención de la desnitrificación (González Vela, 2018), debido a la presencia de leguminosas (Pérez López, 2014) que suministran materia orgánica (Camacaro et al., 2004) y estimulan el reciclaje de nutrientes (Scheneiter et al., 2020), aprovechando la luz (Naranjo et al., 2012) para desarrollar y recuperar el forraje que consume el ganado, con ayuda de las bacterias diazotróficas (Paredes, 2013).

La necromasa contribuye a la FBN (Torriente, 2010) mejorando las condiciones de las pasturas (Cuasquer Cuasapud, 2017) de forma sostenible e inteligente (Scheneiter et al., 2020), de tal manera que la población procarionta que interactúa con la materia orgánica depositada en el suelo mantiene un equilibrio que no es posible lograr cuando se realiza fertilización con productos químicos, ya que esta práctica genera alto impacto (Farinango León, 2018) en el ecosistema edáfico (Fonseca-López et al., 2019), saturando la bioquímica del suelo y alterando la microfauna presente con efectos negativos sobre los ciclos biogeoquímicos y la fertilidad (Arenas-Julio et al., 2021).

Igualmente, actividades como el pastoreo excesivo y la deforestación (Blanco & Cenzano, 2018) pueden modificar la relación suelo-atmósfera (Blanco Rodríguez et al., 2019) durante la transformación bacteriana del N_2 en NH_4 y NH_3 , y posteriormente en NO_2 y NO_3 (Escaso Santos et al., 2010), por mediación de *Nitrosomas*, *Pseudomonas* y *Nitrobacter*, generando gases residuales (Colina et al., 2017).

Bacterias fijadoras de nitrógeno relacionadas con la actividad ganadera

Las bacterias fijadoras de nitrógeno se encuentran libres o en simbiosis con las plantas (Calvo García, 2011), cuyo comportamiento ecológico determina su clasificación, de tal forma que se les agrupa en bacterias de vida libre que requieren de una fuente energética, ya sea química o lumínica, y bacterias asociativas que establecen relaciones simbióticas con las plantas (Mayz-Figueroa, 2004).

Bacterias de vida libre

Son aquellas que se localizan en la rizosfera, donde el carbono y el oxígeno se encuentran disponibles para que puedan desarrollar actividades de FBN sin estar en relación directa con las plantas (Smercina et al., 2022), puesto que su metabolismo se manifiesta de forma aerobia o anaerobia, dependiendo de factores ambientales como la humedad, oxígeno y materia orgánica (Mayz-Figueroa, 2004). Pero la fijación se soporta por el carbono disuelto de forma variable, de tal manera que el suelo requiere este elemento en cantidades adecuadas para que el proceso se lleve a cabo, debido a la gran demanda de ATP por parte de la enzima nitrogenasa, cuyo resultado es la oferta de compuestos nitrogenados que son aprovechados por los vegetales (Lara Mantilla et al., 2007).

Bacterias asociativas

Este tipo de bacterias se clasifican como simbióticas, pues presentan una relación recíproca en las condiciones que la planta ofrece al microorganismo para que se lleve a cabo la fijación de nitrógeno (Vera Espinoza, 2020). Este proceso se inicia con la formación de nódulos (Olivares Pascual, 2004) en las raíces de las leguminosas, a partir de la liberación de factores *Nod* que favorecen la entrada de rizobios a través de pelos radicales donde se generan divisiones celulares para desarrollar el nódulo, cuya cantidad depende de la presencia de N, P, K Mg, Ca, CO₂, luz y temperatura, definiendo así la fijación de nitrógeno. Sin embargo, la cepa de *Rizobium* y la genética de la planta definen el proceso de nodulación, la nutrición y el desarrollo de especies leguminosas (Ferrari & Wall, 2004), con beneficios para las gramíneas (Rojas, 2009) consumidas durante los procesos de pastoreo. A partir de lo anterior, cabe resaltar que autores como Ruiz Santiago et al. (2020), León et al. (2018) y Luna-Murillo et al. (2019) coinciden al mencionar bacterias fijadoras de nitrógeno tales como *Azotobacter*, *Frankia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Bradleyrhizobium*, asociadas a los sistemas de pasturas.

- ***Azotobacter***. Es un género de bacteria Gram positiva, que se encuentra en la rizosfera (Santana-Aragone et al., 2017) y participa activamente en el sostenimiento del suelo en propiedades físicas como la porosidad y el

volumen de oxígeno (Zavala et al., 2020). Ha sido evaluada en el campo, en el establecimiento de pasturas (Luna-Murillo et al., 2019) para el consumo del ganado desde una perspectiva de conservación edáfica (Ramos Benítez, 2016) mediante protocolos de inoculación de este microorganismo (Pincay-Ganchozo et al., 2020).

Estas bacterias diazotróficas participan activamente en los procesos de transformación de compuestos nitrogenados con alta capacidad biofertilizante, mejorando la nutrición vegetal y contribuyendo positivamente a la producción sostenible (Aasfar et al., 2021) de las pasturas, debido a que posibilitan una germinación adecuada gracias a la absorción de nutrientes y fijación radicular del nitrógeno disponible en el suelo y la rizosfera (Viamonte Garcés et al., 2017).

- **Frankia.** Son bacterias (Buitrago Guillén et al., 2018) que presentan simbiosis con plantas a nivel radicular sin depender de condiciones de fertilidad del sustrato (Escobar et al., 2020) y grandes poblaciones (Moreno Forero, 2019). Por tal razón, es posible hallarlas en suelos que se encuentran degradados o en proceso de recuperación (Olivares Pascual, 2004), afectados por desastres naturales o factores antropogénicos (Torriente, 2010).

La presencia de *Frankia* favorece la actividad enzimática de la nitrogenasa (Calderón Llor & Rodríguez García, 2016) al participar como un indicador en la calidad de suelos y pasturas para la alimentación bovina (Rojas Hernández et al., 2005) a partir de la conversión del nitrógeno atmosférico en amonio. Por este motivo, es necesario suspender la aplicación de productos químicos que saturan los componentes nitrogenados del suelo y sus propios procesos bioquímicos y biológicos para un desarrollo escalonado que permita el desarrollo y la recuperación de las pasturas durante un plan rotacional con intervalos de recuperación estable y desarrollos óptimos para la nutrición del ganado bovino (Montejo Martínez et al., 2018).

- **Pseudomonas.** Son reconocidas como agentes de control biológico (Agrawal et al., 2015) y promotores de crecimiento vegetal (Cano, 2011). Conservan las propiedades físicas y la oxigenación del suelo, transportadas a la rizosfera por medio de los canales de irrigación subterránea que se filtran con la lluvia y entran en contacto con la raíz de la planta (Quispe Pantoja, 2014). Su aplicación en la práctica agropecuaria se torna cada vez más tecnificada, debido a sus tratamientos genéticos (Fox et al., 2016), lo cual explica el desarrollo aplicativo en las pasturas con beneficios en el metabolismo bovino (Sangoquiza Caiza et al., 2017).

La presencia de las *Pseudomonas* en las pasturas se evidencia en la sanidad del sustrato (Naranjo et al., 2012), por lo que participa en la colonización activa del suelo para retención de desechos generados por los bovinos y su

debida biotransformación (Diéguez, 2008). Lo anterior mantiene la integridad bioquímica del suelo y el equilibrio de la microfauna, con efectos sobre la amortiguación del impacto del pastoreo y las variables climáticas, manteniendo el estado edáfico a un ritmo sostenido en sus propiedades químicas (Pérez López, 2014).

- ***Rhizobium y Bradyrhizobium***. Poseen la particular facultad de formar nódulos en las estructuras radiculares de su simbiote para el aprovechamiento del nitrógeno y sus propios derivados (Ortiz-Villajos, 2017). Se encuentran asociadas a especies de leguminosas y gramíneas de ámbito silvestre (Clúa, 2018), en cuyos sustratos ofrecen una adecuada fertilidad (Chipana et al., 2017). Son especies representativas en el ciclo del nitrógeno, debido a que reconocen su hospedante (Calvo García, 2011), aportan nutrientes (Pérez López, 2014) que generan beneficios a los animales en pastoreo o a través de ensilajes (Olivares Pascual, 2004) que suministran el nitrógeno fijado por la planta, y la urea retorna al sustrato reciclándose una y otra vez este elemento (López Vázquez, 2017).

Importancia de la FBN en pasturas y sus efectos en la producción bovina

La FBN mejora los indicadores productivos (Ruiz Santiago et al., 2020) a través de una mayor disponibilidad de forraje para los bovinos (Ochoa Marín & Ochoa Marín, 2018) procedente de gramíneas (Arrambide et al., 2019) y leguminosas (Espinoza et al., 2017; Domingues Duarte et al., 2020) que los bovinos consumen (Bautista Pampa, 2017), absorbiendo proteína cruda (Rojas Hernández et al., 2005) procedente de la fibra de ambas especies vegetales (López Vázquez, 2017). Funciona como probiótico en la fermentación ruminal (Gutiérrez-González et al., 2018) enriqueciendo los valores de nitrógeno (Vera Espinoza, 2020) y favoreciendo el metabolismo (Zamora Natera et al., 2019) a través de diferentes fases (Arias-Islas et al., 2020), como la digestión fermentativa mediada por microorganismos que desdoblan las proteínas (Vera Espinoza, 2020) de la fibra vegetal (Valente et al., 2016), cuyo resultado es NH_3 , que posteriormente se sintetiza en urea por parte del hígado (Rostom & Shine, 2018) y su componente nitrogenado es aprovechado en la nutrición estructural del animal (Martín-Alonso et al., 2021).

Consecutivamente, la absorción posruminal que se genera a partir del alimento no fermentado por medio de una segunda masticación (Ireijo Mitsuta, 2020) cuyo producto desemboca en el abomaso —siendo este su estómago glandular dotado de enzimas como pepsina y ácido clorhídrico (Hristov et al., 2019)— facilita la absorción de nutrientes de forma proporcional al porcentaje de materia seca consumido, de tal manera que la urea transportada al torrente sanguíneo será excretada por medio de la orina; sin embargo, un porcentaje de esta y del amoníaco es reciclado por la microbiota ubicada

en el rumen (Sánchez et al., 2020) como un sistema imperativo de reciclaje proteico por parte del animal (Viamonte Garcés et al., 2017).

A continuación, el nitrógeno es llevado a nivel sistémico rumen-hígado músculos (Diéguez, 2008) y en materia fecal acumulada de forma líquida, desencadenando un proceso de descomposición anaerobia que libera a la atmósfera gases relacionados con la metanogénesis; sin embargo, si el estiércol se deposita directamente en las pasturas, sufre una descomposición aerobia mediada, generando poco o nada de metano (Buitrago Guillén et al., 2018), aspecto que se relaciona con prácticas antiguas de biofertilización (Andreu et al., 2006).

Estos indicadores productivos se mantienen a partir de una adecuada gestión de pastoreo que previene procesos de degradación (Dias-Filho, 2015) y evita acumulaciones de nitrógeno por sobrepastoreo o fertilizaciones inadecuadas (Buitrago Guillén et al., 2018).

CONCLUSIONES

El ciclo del nitrógeno se encuentra mediado por bacterias cuya interacción con las pasturas en la rizosfera ocasiona impactos sobre la producción.

El aprovechamiento de los recursos obtenidos del suelo de manera sustentable, gracias al reciclaje de nitrógeno atmosférico, se traduce en servicios ecosistémicos y bajo costo de inversión en la producción.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de la Amazonia, por el apoyo en los diferentes procesos de investigación, debido a que la presente revisión es parte de las actividades desarrolladas por el proyecto *Evaluación de nodulación por interacción entre rizobacterias y leguminosas en pasturas presentes en el Centro de Investigaciones Macagual*, aprobado mediante resolución n.º 0510 de 2016, apoyado por la Vicerrectoría de Investigaciones en cabeza del Doctor Alberto Fajardo Oliveros Q.E.P.D (†18 de agosto de 2020).

Conflicto de intereses: el autor declara no tener algún conflicto de interés que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

REFERENCIAS

Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., & Kadmiri, I. M. (2021). Nitrogen fixing *Azotobacter* species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. *Frontiers in Microbiology*, 12, Artículo 628379. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628379>

- Agrawal, T., Kotasthane, A. S., & Kushwah, R. (2015). Genotypic and phenotypic diversity of polyhydroxybutyrate (PHB) producing *Pseudomonas putida* isolates of Chhattisgarh region and assessment of its phosphate solubilizing ability. *3 Biotech*, 5(1), 45–60. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0198-9>
- Andreu, J., Betrán, J., Delgado, I., Espada, J. L., Gil, M., Gutierrez, M., Iguácel, F., Isla, R., Muñoz, F., Orús, F., Pérez, M., Quílez, D., Sin, E., & Yague, M. R. (2006). Fertilización nitrogenada. Guía de actualización. Informaciones Técnicas. Gobierno de Aragón. https://citarea.cita-aragon.es/citarea/bitstream/10532/868/1/10532-105_11.pdf
- Arenas-Julio, Y. R., Escalante-Estrada, J. A. S., Aguilar-Carpio, C., Rodríguez-González, M. T., & Sosa-Montes, E. (2021). Rentabilidad y rendimiento de girasol en función del tipo de suelo, nitrógeno y biofertilizante. *Biotecnia*, 23(1), 45–51. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i1.1284>
- Arias-Islas, E., Morales-Barrera, J., Prado-Rebolledo, O. & García-Casillas, A. (2020). Metabolismo en rumiantes y su asociación con analitos bioquímicos sanguíneos. *Abanico Veterinario*, 10, 1–24. <https://doi.org/10.21929/abavet2020.15>
- Arrambide, M., Vita, F., & García, M. (2019). *Biofertilizantes y fertilización tradicional de cebada cervecera; alternativas con implicancias sobre el margen bruto*. En 50 años, de la Economía Agraria a la Bioeconomía. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
- Bautista Pampa, J. L. (2017). *Determinación de nitrógeno endógeno: metabólico fecal, endógeno urinario y dérmico en alpacas (Vicugna pacos) cría machos*. *Caxamarca*, 16(2), 125–133. <https://shorturl.at/epxU2>
- Bianco, L. & Cenzano, A. M. (2018). Leguminosas nativas: estrategias adaptativas y capacidad para la fijación biológica de nitrógeno. Implicancia ecológica. *Idesia (Arica)*, 36(4), 71–80. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292018005002601>
- Blanco Valdés, Y. (2016). The role of weeds as a component of biodiversity in agroecosystems. *Cultivos Tropicales*, 37(4), 34–56. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.10964.19844>
- Blanco Rodríguez, J. C., Montilla Rodríguez, M. A., & Roncedo, C. S. (2019). Consecuencias de la degradación de pasturas sobre la fijación de nitrógeno. *Revista Facultad Ciencias Agropecuarias*, 11(1), 54–63. <https://doi.org/10.47847/fagropec.v11n1a5>
- Buitrago Guillén, M. E., Ospina Daza, L. A., & Narváez Solarte, W. (2018). Sistemas silvopastoriles: alternativa en la mitigación y adaptación de la producción bovina al cambio climático. *Boletín Científico Centro de Museos Museo de Historia Natural*, 22(1), 31–42. <https://doi.org/10.17151/bccm.2018.22.1.2>
- Calderón Loo, M. A. & Rodríguez García, C. E. (2016). *Efecto de la utilización con las asociaciones de gramíneas – leguminosas en (UDIVI) pasto y forraje, hato bovino de la ESPAM “MFL”*. [Tesis de grado. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López]. <https://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/278>
- Calvo García, S. (2011). Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. *Cuadernos del Tomás*, (3), 173–186. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3761553>
- Camacaro, S., Garrido, J. C., & Machado, W. (2004). Fijación de nitrógeno por *Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium* y *Albizia lebeck* y su transferencia a las gramíneas asociadas. *Zootecnia Tropical*, 22(1), 49–70.

- Campillo, R., Urquiaga, S., Pino, I., & Montenegro, A. (2003). Estimación de la fijación biológica de nitrógeno en leguminosas forrajeras mediante la metodología del ^{15}N . *Agricultura Técnica*, 63(2), 169–179. <https://doi.org/10.4067/S0365-28072003000200006>
- Canals, M., & Cáceres, D. (2020). Una salud: conectando la salud humana, animal y ambiental. *Cuadernos Médico-Sociales*, 60(1), 9–21.
- Cano, M. A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: micorizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revisión. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 15–31. <https://doi.org/10.31910/rudca.v14.n2.2011.771>
- Cano, P. B., Portela, S. I., & Cabrini, S. M. (2017). Costo ambiental asociado a los balances de nitrógeno y fósforo en empresas agrícolas de Pergamino. *Revista de Tecnología Agropecuaria*, 10(34), 42–45. <https://shorturl.at/lzRUX>
- Cardoso, J. A. (2020). Efecto de especies mixtas en la productividad ganadera y los servicios ecosistémicos [Presentación. Conversatorios sobre Ganadería Sostenible]. Alianza Bioversity; CIAT. <https://hdl.handle.net/10568/111062>
- Chalk, P. M., & Craswell, E. T. (2018). An overview of the role and significance of ^{15}N methodologies in quantifying biological N_2 fixation (BNF) and BNF dynamics in agro-ecosystems. *Symbiosis*, 75(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s13199-017-0526-z>
- Chipana, V., Clavijo, C., Medina, P., & Castillo, D. (2017). Inoculación de vainita (*Phaseolus vulgaris* L.) con diferentes concentraciones de *Rhizobium etli* y su influencia sobre el rendimiento del cultivo. *Ecología Aplicada*, 16(2), 91–98. <http://doi.org/10.21704/rea.v16i2.1012>
- Clúa, J. (2018). *Bases moleculares de la interacción simbiótica eficiente entre Phaseolus vulgaris y Rhizobium etli* [Tesis de doctorado, Universidad Nacional de La Plata]. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/65934>
- Colina, E., Castro, C., Sánchez, H., & Troya, G. (2017). Evaluación de fertilizantes de liberación controlada con fertilización convencional, sobre el rendimiento de maíz duro (*Zea mays*) en la zona de Febres-Cordero, Provincia de los Ríos. *Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias*, 1(3), 88–97. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v1i3.30>
- Cuasquer Cuasapud, C. H. (2017). Evaluación del crecimiento de acacia (*Acacia melanoxydon* r.br.) en asocio con tres variedades de pastos, en la parroquia el Carmelo, provincia del Carchi [Tesis de grado. Universidad Técnica del Norte]. <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/6081>
- Dey, S., Awata, T., Mitsushita, J., Zhang, D., Kasai, T., Matsuura, N., & Katayama, A. (2021). Promotion of biological nitrogen fixation activity of an anaerobic consortium using humin as an extracellular electron mediator. *Scientific Reports*, 11(1), Artículo 6567. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85955-3>
- Dias-Filho, M. (2015). *Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação* (4a Ed.). Moacyr B. Dias-Filho.
- Diéguez, F. (2008). Balance y eficiencia del uso del nitrógeno y su relación con la extensificación de la producción ganadera en Europa. *Plan Agropecuario*, (128), 42–47. https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R128/R_128_42.pdf

- 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 Pecuarias*, 11(1), 223–240. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i1.4951>
- Escaso Santos, F., Martínez Guitarte, J. L., & Planelló Carro, M. R. (2010). *Fundamentos básicos de fisiología vegetal y animal*. Pearson Educación; Universidad Nacional de Educación a Distancia.
- Escobar, M. I., Navas Panadero, A., Medina, C. A., Corrales Álvarez, J. D., Tenjo, A. I., & Borrás Sandoval, L. M. (2020). Efecto de prácticas agroecológicas sobre características del suelo en un sistema de lechería especializada del trópico alto colombiano. *Livestock Research for Rural Development*, 32, Artículo 58. <http://www.lrrd.org/lrrd32/4/maria.es32058.html>
- Espinoza, F. M., Gil, J. L., Rey, J. C., Lugo, M. E., Molina, F., Ron, J., Vergara, J., Maldonado, R., Marín, C., & Herrera, P. (2017). Establecimiento de tres cultivares y cuatro híbridos de gramíneas forrajeras en cuatro localidades de Venezuela. *Revista Facultad de Agronomía UCV*, 43(1), 25–35. http://caelum.ucv.ve/ojs/index.php/rev_agro/article/view/16248
- Farinango León, F. C. (2018). *Fijación de nitrógeno en nódulos de raíces de *Alnus nepalensis* D. Don en linderos a diferentes edades en la zona de Intag, Noroccidente del Ecuador* [Tesis de pregrado. Universidad Técnica del Norte]. <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/8076>
- Ferrari, A. E. & Wall, L. G. (2004). Utilización de árboles fijadores de nitrógeno para la revegetación de suelos degradados. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, 105(2), 63–87.
- Fonseca-López, D., Vivas-Quila, N. J., & H. E. Balaguera-López. (2019). Técnicas aplicadas en la investigación agrícola para cuantificar la fijación de nitrógeno: una revisión sistemática. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 21(1), Artículo e1342. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num1_art:1342
- Fox, A. R., Frare, R., Pagano, E., Ayub, N., & Soto, G. (2016). Mejoramiento del rinde en forrajeras inoculadas con *Pseudomonas protegens* recombinante fijadora de nitrógeno. En *37º Congreso de la Asociación Argentina de Producción Animal 2014 (Vol. 10, Supl. 1)*. RAPA
- Gentzmittel, L., Andersen, S. U., Ben, C., Rickauer, M., Stougaard, J., & Young, N. D. (2015). Naturally occurring diversity helps to reveal genes of adaptive importance in legumes. *Frontiers in Plant Science*, 6, Artículo 269. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00269>
- González Vela, H. L. (2018). *Respuesta a la fertilización nitrogenada en cinco variedades de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) con potencial de fijación biológica de nitrógeno, Finca Manglares, La Gomera, Escuintla, Guatemala, C. A.* [Tesis de doctorado. Universidad de San Carlos de Guatemala]. <https://shorturl.at/divCS>
- Gutiérrez-González, D., González-González, N. N., Elías-Iglesias, A., García-López, R., & Tuero-Martínez, O. R. (2018). Efecto de diferentes proporciones de *Moringa oleifera*: *Cenchrus purpureus* sobre el consumo voluntario y el balance de nitrógeno. *Pastos y Forrajes*, 41(3), 227–232.
- Hristov, A. N., Bannink, A., Crompton, L. A., Huhtanen, P., Kreuzer, M., McGee, M., Nozière, P., Reynolds, C. K., Bayat, A. R., Yáñez-Ruiz, D. R., Dijkstra, J., Kebreab, E., Schwarm, A., Shingfield, K. J., & Yu, Z. (2019). Nitrogen in ruminant nutrition: a review of measurement techniques. *Journal of Dairy Science*, 102(7), 5811–5852. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15829>

- Ireijo Mitsuta, P. (2020). *Comparación entre las digestibilidades en alpacas obtenidas mediante las técnicas in situ e in vitro con adición de nitrógeno en la saliva artificial* [Tesis de grado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/14103>
- Lara Mantilla, C., Villalba Anaya, M., & Oviedo Zumaqué, L. E. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos, Córdoba, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 9(2), 6–14.
- León, R., Bonifaz, N., & Gutierrez, F. (2018). *Pastos y forrajes del Ecuador: siembra y producción de pasturas*. Abya-Yala. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/19019>
- López Vázquez, C. M. (2017). *Efecto de los ureidos y de la fijación simbiótica de nitrógeno en la tolerancia a la sequía en plantas de judía* [Tesis de maestría. Universidad de Córdoba]. <https://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/18573>
- Luna-Murillo, R., Espinoza-Coronel, A., Morales-Torres, M., Espinoza-Cunuhay, K., Franco-Ochoa, D., & Zambrano-Montes, S. A. (2019). Rizósfera de las asociaciones de gramíneas y leguminosas de interés ganadero. *Revista Multidisciplinaria de Desarrollo Agropecuario, Tecnológico, Empresarial y Humanista*, 1(1), 1–6.
- Martín-Alonso, G. M., Bustamante-González, C., Varela-Nualles, M., Pérez-Díaz, A., Viñals-Núñez, R., Delgado-Álvarez, A., & Fundora-Sánchez, L. R. (2021). Cuantificación de la fijación biológica del nitrógeno en árboles de sombra de dos cafetales de Cuba. *Cultivos Tropicales*, 42(2), Artículo e05.
- Mayz-Figueroa, J., (2004). Fijacion biologica de nitrogeno. *Revista ODU Agrícola*, 4(1), 1–20.
- Mehnaz, S. (2015). *Azospirillum: a biofertilizer for every crop*. En N. Arora (Ed.), *Plant microbes symbiosis: applied facets* (pp. 297–314). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2068-8>
- Montejo Martínez, D., Casanova Lugo, F., García Gómez, M., Oros Ortega, I., Díaz-Echeverría, V., & Morales Maldonado, E. R. (2018). Respuesta foliar y radical del maíz a la fertilización biológica-química en un suelo Luvisol. *Agronomía Mesoamericana*, 29(2), 325–341. <https://doi.org/10.15517/ma.v29i2.29511>
- Moreno Forero, L. G. (2019) *Determinación de la salud ecosistémica del humedal El Resbalón con base en la identificación de los servicios ecosistémicos*. [Trabajo de grado. Universidad Santo Tomás]. <https://repository.usta.edu.co/bitstream/handle/11634/16858/2019lauramoreno.pdf?sequence=1> <https://doi.org/10.15332/tg.pre.2019.00273>
- Naranjo, J. F., Cuartas, C. A., Murgueitio, E, Chará, J., & Barahona, R. (2012). Balance de gases de efecto invernadero en sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala* en Colombia. *Livestock Research for Rural Development*, 24(8), Artículo 150. <http://www.lrrd.org/lrrd24/8/nara24150.htm>
- Noro, M., & Wittwer, F. (2012). Interrelaciones entre ureagénesis y gluconeogénesis hepática en rumiantes alimentados con elevado contenido de nitrógeno. *Veterinaria México*, 43(2), 143–154. <https://www.scielo.org.mx/pdf/vetmex/v43n2/v43n2a6.pdf>
- Ochoa Marín, R. D., & Ochoa Marín, V. H. (2018). *Aplicación de microorganismos y sus beneficios en suelos para la producción agrícola* [Tesis de grado. Universidad Nacional Abierta y a Distancia]. <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/25714>

- Olivares Pascual, J. (2004). *Fijación biológica del nitrógeno. Estación Experimental del Zaidín, CSIC.*
- Orr, C. H., James, A., Leifert, C., Cooper, J. M., & Cummings, S. P. (2011). Diversity and activity of free-living nitrogen-fixing bacteria and total bacteria in organic and conventionally managed soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(3), 911–919. <https://doi.org/10.1128/AEM.01250-10>
- Ortiz-Villajos Cano, S. P. (2017). *Puesta a punto de un método de aislamiento de los Rhizobium simbioses radiculares en una leguminosa de la Flora Valenciana* [Tesis de grado. Universidad Politécnica de Valencia]. <https://riunet.upv.es/handle/10251/89037>
- Paredes, M. C. (2013). *Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas* [Tesis de grado. Universidad Católica Argentina]. <https://repositorio.uca.edu.ar/bitstream/123456789/393/1/doc.pdf>
- Pérez López, O. (2014). *Eficiencia de uso de nitrógeno en pasturas de Panicum maximum y Brachiaria sp. Solas y asociadas con Pueraria phaseoloides en la altillanura colombiana* [Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia]. <https://tinyurl.com/yrlch8v7>
- Pincay-Ganchozo, R. A., Luna-Murillo, R. A., Espinoza-Coronel, A. L., & Medina Villacis, M. L. (2020). Inoculantes bacterianos del género *Azotobacter* en la asociación del pasto *Andropogon gayanus* con *Clitoria ternatea* y kudzu (*Pueraria phaseoloides*). *Nexo Agropecuario*, 8(2), 27–35. <https://tinyurl.com/yffa4j7>
- Quiroga, M., Agüero, D., Zapata, R., Busilacchi, H., & Bueno, M. (2015). Activadores de crecimiento y biofertilizantes como alternativa al uso de fertilizantes químicos en cultivo de chía (*Salvia hispanica* L.). *Energías Renovables y Medio Ambiente*, 35, 31–40. http://eprints.natura.unsa.edu.ar/847/1/Quiroga_M_5.pdf
- Quspe Pantoja, A. J. (2014). *Uso de bacterias fijadoras de nitrógeno con diferentes niveles de abonamiento orgánico en el cultivo de quinua (Chenopodium quinoa Willd.), Comunidad Villa Patarani, altiplano central* [Tesis de grado. Universidad Mayor de San Andrés]. <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/5574>
- Ramos Benítez, J. L. (2016). *Análisis de escenarios del clima causados por la pérdida de bosque y la actividad ganadera con visión ecosistémica salud-ambiente en el cantón San Miguel de los Bancos* [Tesis de grado. Universidad Central del Ecuador]. http://mail.upagu.edu.pe/files_ojs/journals/27/articles/436/submission/436-133-1553-1-2-20170228.pdf
- Revillini, D., Gehring, C. A., Johnson, N. C. (2016). The role of locally adapted mycorrhizas and rhizobacteria in plant-soil feedback systems. *Functional Ecology*, 30(7), 1086–1098. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12668>
- Rodríguez, R., Arciniegas, S., & Ramos, J. (2016). Escenarios del clima causados por pérdida de bosque y actividad ganadera con visión ecosistémica salud-ambiente en cantón San Miguel de los Bancos. *Revista Perspectiva*, 17(4), 5–19. https://www.upagu.edu.pe/files_ojs/journals/27/articles/436/submission/436-133-1553-1-2-20170228.pdf
- Rojas Hernández, S., Olivares Pérez, J., Jiménez Guillén, R., & Hernández Castro, E. (2005). Manejo de praderas asociadas de gramíneas y leguminosas para pastoreo en el trópico. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 6(5).

- Rojas, D. F., Garrido, M. F., Bonilla, R. R. (2009). *Estandarización de un medio de cultivo complejo para la multiplicación de la cepa C50 de Rhizobium sp.* *Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, 10(1), 70–80. https://doi.org/10.21930/rcta.vol10_num1_art:131
- Rostom, H., & Shine, B. (2018). Basic metabolism: proteins. *Basic Science*, 36(4), 153–158. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2018.01.009>
- Ruiz Santiago, R. R., Ballina Gómez, H. S., Ruiz Sánchez, E., & Cristóbal Alejo, J. (2020). Effect of the association of *Rhizobium etli* - *Phaseolus vulgaris* L. on the plant growth and the preference of *Bemisia tabaci*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23(1), Artículo 20. <https://doi.org/10.56369/tsaes.2915>
- Sánchez, J. M. (2013). Utilización eficiente de las pasturas tropicales en la alimentación del ganado lechero. En *XI Seminario Manejo de Pastos y Forrajes en Sistemas de Producción Animal* (pp. 14–30) AVPA, Universidad de Los Andes. http://www.avpa.ula.ve/eventos/xi_seminario/Conferencias/Articulo-2.pdf
- Sánchez, A., Perea, J., Montenegro, L., Espinoza, I., Avellaneda, J., & Barba, C. (2020). Cinética de degradación ruminal *in situ* de ensilado de rastrojo de maíz (*Zea mays*) con niveles crecientes de urea. *Archivos de Zootecnia*, 69(267), 320-326. <https://doi.org/10.21071/az.v69i267.5351>
- Sangoquiza Caiza, C. A., Yáñez G., C., & Gómez, E. (2017). Evaluación de un biofertilizante a base de cepas fijadoras de nitrógeno (*Azospirillum*) y solubilizadoras de fósforo (*Pseudomonas*) en el cultivo de maíz de la Sierra del Ecuador. En *II Simposio Internacional de Suelos y Nutrición de Cultivos* (Ponencia). INIAP. <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/4332>
- Santana-Aragone, D., Colina-Navarrete, E., Castro-Arteaga, C., Cadena-Poedrahitá, D., Sotomayor-Morán, A., Galarza-Centeno, E., & López-Villacrés, M. (2017). Microorganismos fijadores de nitrógeno y su acción complementaria a la fertilización química en el cultivo de *Coffea arabica* L. *European Scientific Journal*, 13(3). <http://doi.org/10.19044/esj.2016.v13n3p211>
- Scheneiter, J. O., Camarasa, J. N., Mattera, J., & Pacente, E. M. (2020). Fertilización de pasturas y pastizales naturales en otoño: posibilidades y limitaciones en el norte de la provincia de Buenos Aires. *EEA Pergamino; INTA*. <https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/handle/20.500.12123/7087?locale-attribute=en>
- Smercina, D. N., Kim, Y.-M., Lipton, M. S., Velickovic, D., & Hofmockel, K. S. (2022). Bulk and spatially resolved extracellular metabolome of free-living nitrogen fixation. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(12), e00505-22. <https://doi.org/10.1128/aem.00505-22>
- Torriente, D. (2010). Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar. Perspectivas de su uso en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 31(1), 19–26. <https://shorturl.at/npT67>
- Valente, T. N. P., Lima, E. S., Santos, W. B. R., Cesário, A. S., Tavares, C. J., Fernandes, I. L., & Freitas, M. A. M. (2016). Ruminant microorganism consideration and protein used in the metabolism of the ruminants: a review. *African Journal of Microbiology Research*, 10(14), 456–564. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.7627>
- Vera Espinoza, V. A. (2020). *Efecto del estiércol bovino en el rendimiento y composición nutricional de Megathyrus maximus y Cynodon nlemfluensis en la ESPAM MFL*. [Tesis de maestría. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López]. <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1350/1/TTMZ02D.pdf>

- Viamonte Garcés, M. I., Ramírez Sánchez, A., Vargas Burgos, J. C., Soria Re, S., & Moyano, J. C. (2017). Perfil de algunos metabolitos sanguíneos en hembras bovina criolla macabea en peligro de extinción en la amazonía ecuatoriana. *RED-VET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(9), 1–7.
- Villaruel Villaruel, E. G., & Petroche Villa, A. I. (2015). *Modelización de problemas ambientales en entornos ganaderos a partir del estudio de las interacciones entre las dimensiones sociales, ambientales y salud, mediante el uso de sistemas de información geográfica y teledetección, en el cantón San Miguel de los Bancos* [Tesis de grado. Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/5136>
- Yao, Z., Zhao, C., Yang, K., Liu, W., Li, Y., You, J., & Xiao, J. (2016). Alpine grassland degradation in the Qilian Mountains, China – A case study in Damaying Grassland. *Catena*, 137, 494–500. <http://doi.org/10.1016/j.catena.2015.09.021>
- Zamora Natera, J. F., Zapata Hernández, & Villalvazo Hernández, A. (2019). Fijación biológica del nitrógeno en tres especies silvestres del género *Lupinus* (Leguminosae, Papilionoideae) en México. *Acta Botanica Mexicana*, (126), Artículo e1543. <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1543>
- Zavala, J., Alcarraz, M., & Julian, J. (2020). Evaluación para la producción de *Azotobacter* sp. promotor de crecimiento para cultivos de *Coffea arabica*. *Ciencia e Investigación*, 23(1), 45–50. <https://doi.org/10.15381/ci.v23i1.18751>