

**FIJACION DE NITROGENO EN SISTEMAS
AGROFORESTALES VIA ARBOLES DE USO
MULTIPLE**

Ricardo O. Russo ✓

**Trabajo presentado en el Curso Corto sobre Metodologías
de Investigación Agroforestal en el Trópico Humedo
UNU/CATIE-IICATROP.COS-CONIF
Cali, Colombia
25 de noviembre al 7 de diciembre de 1983**

**La publicación y distribución de este trabajo fue patroci-
nado por el Programa Suizo de Cooperación para el Desarrollo,
DDA, por medio de INFORAT: Información y Documenta-
ción Forestal para América Tropical**

**CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA, CATIE
Departamento de Recursos Naturales Renovables
Turrialba, Costa Rica, 1983**

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
1. INTRODUCCION.....	1
2. EL PAPEL DE LAS LEGUMINOSAS ARBOREAS EN LOS SISTEMAS AGROFORESTALES (SAF).....	1
2.1. La fijación simbiótica de nitrógeno.....	1
2.2. El aporte de materia orgánica con alto contenido de nitrógeno al suelo.....	3
2.3. Arboles leguminosos de uso múltiple.....	4
3. ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA FIJACION SIMBIOTICA EN LOS SAF.....	5
3.1. Uso de leguminosas arbóreas.....	5
3.2. Inoculación con <u>Rhizobium</u>	5
3.3. Preparación y uso de inoculantes.....	6
3.4. Métodos para evaluar la fijación de nitrógeno.....	7
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	8
5. BIBLIOGRAFIA.....	9

1. INTRODUCCION

La fijación simbiótica de nitrógeno atmosférico es un aspecto muy importante a considerar en los sistemas agroforestales, dado que en general es el nutriente que con mayor frecuencia limita los rendimientos en los trópicos (Sánchez, 1981).

Mucho se ha investigado sobre este aspecto en especies forrajeras y productoras de granos (Gibson y Newton, 1981) pero sólo en la última década se ha comenzado a trabajar con especies arbóreas fijadoras de nitrógeno (Halliday y Nakao, 1983).

Asociando el concepto de sistemas agroforestales, como un conjunto de técnicas de uso de la tierra, en las que se combina el uso de árboles con cultivos o con ganadería (Combe y Budowski, 1979), con el concepto de utilización de árboles leguminosos es indudable que se podrían obtener resultados positivos desde el punto de vista de la economía del nitrógeno.

2. EL PAPEL DE LAS LEGUMINOSAS ARBOREAS EN LOS S.A.F.

Las leguminosas arbóreas tienen una serie de características que las hacen particularmente atractivas para ser usadas en S.A.F. especialmente en lo referente a: a) la fijación simbiótica de nitrógeno y b) el aporte de materia orgánica con alto contenido de nitrógeno al suelo. (Vergara, 1982).

- 2.1. La fijación simbiótica de nitrógeno: Sin entrar en detalles del proceso de fijación, es importante destacar la diferencia que existe entre el proceso de nodulación y la fijación propiamente dicha; el primero es una respuesta hiperplásica del tejido radical ante la infección intratisular de bacterias del género Rhizobium (Dazzo, 1980), mientras que la fijación es una reacción de reducción del N_2 que ocurre en presencia de la enzima nitrogenasa que se encuentra dentro de los bacteroides de Rhizobium existentes en el seno del nódulo. Además, los bacteroides de los nódulos de los árboles leguminosos en etapa de crecimiento vigoroso pueden fijar más N_2 del que necesitan. Gran parte de ese nitrógeno fijado en exceso se torna disponible para el propio hospedante y para otras plantas.

Los factores que afectan la nodulación y la fijación son muchos y entre ellos pueden mencionarse, la disponibilidad de fuentes de energía, la cantidad de nitrógeno disponible en el suelo, la presencia o ausencia de oxígeno en el suelo y en los nódulos, la acidez, temperatura y humedad del suelo y por supuesto la cantidad y disponibilidad de macro y micro nutrimentos en el suelo (Alexander, 1977). Por otra parte una gran cantidad de nódulos se desprenden continuamente de las raicillas en crecimiento. Este fenómeno se incrementa considerablemente cuando el árbol es podado y hay muerte de raicillas (Russo, 1983). Los nódulos desprendidos y las raicillas que mueren se descomponen en el suelo y los compuestos nitrogenados que contienen quedan disponibles para la propia planta y los cultivos asociados una vez que se mineralizan.

Con referencia a la cantidad de nitrógeno que fijan los árboles leguminosos no existe mucha información. Sin embargo, recientemente Roskoski (1981) informa valores de 40 kg/ha/año para Inga jinicuil, usada como sombra en un cafetal de Veracruz, México. Este hecho es relevante en los trópicos, porque la expansión de la agricultura en pequeña escala a menudo está restringida por la falta de niveles adecuados de nitrógeno en el suelo.

2.2. El aporte de materia orgánica con alto contenido de nitrógeno al suelo

La cantidad de material depositado sobre el suelo proveniente de los árboles leguminosos asociados con cultivos alcanza cifras considerables. Dicho aporte puede tener orígenes: a) las hojas caídas naturalmente y b) la biomasa de las podas.

a) Las hojas caídas naturalmente.

Suárez de Castro y Rodríguez (1955) reportaron que en cafetales de Colombia el mantillo producido por el sistema café-árboles de sombra es de 4 000 a 13 000 kg/ha/año, sin embargo, no desglosan cual es la fracción aportada por los árboles. Wiersum y Ramlam (1982) en una plantación de Acacia auriculiformis, en Java, Indonesia, plantada con una densidad de 1010 árboles/ha y con precipitaciones de 2 700 mm/año midieron 4 800 kg de materia seca/ha/año de hojas caídas. Aranguren et al (1982) reportan para un cafetal sombreado con Inga sp., Erythrina sp. y otros árboles, 11 200 kg de materia seca/ha/año de hojarasca. En CATIE, Turrialba, Costa Rica Alpizar et al (1983) informan que la producción de residuos vegetales en un sistema café con poró plantado a 6 m x 6 m alcanzó 7 598 kg/ha/año mientras que un sistema cacao con poró alcanzó 6 435 kg/ha/año. También en CATIE, Russo (1983) en un cafetal sombreado con Erythrina poeppigiana plantado a 6 x 6 m (280 árboles/ha) informó que las hojas caídas alcanzan 4 280 kg/ha, en árboles con 1 poda al año y 1 914 kg/ha en árboles podados 2 veces al año.

b) La biomasa de las podas.

La poda de los árboles asociados con cultivos es un factor dinamizante del sistema desde el punto de vista de la recirculación de nutrientes. La práctica, corriente en Costa Rica, de podar los árboles de sombra produce importantes cantidades de biomasa que se depositan en el suelo, se descompone y recircula. Molleapaza (1979), en Turrialba, Costa Rica encontró que una poda de ramas de 6 meses de Erythrina poeppigiana, plantada a 6 x 6 m, produjo 2 892 kg/ha de

materia seca/ha; unos años más tarde Russo (1983) encontró que árboles de la misma especie, plantados a distancia similar, pero de diferente edad y en diferente suelo produjeron valores, que sumados a las hojas caídas naturalmente, alcanzan 22.7 toneladas/ha en los árboles con 2 podas/año (Cuadro 1).

También, la biomasa proveniente de los árboles leguminosos sirve como fuente de nitrógeno para cultivos anuales (Kass, Russo y Quinlan, 1983).

Cuadro 1: Producción de biomasa de las podas de Erythrina poeppigiana con 1, 2 y 3 podas al año, realizados cada 12, 6 y 4 meses respectivamente.

	<u>1 poda/año</u>	<u>2 podas/año</u>	<u>3 podas/año</u>
Biomasa/poda kg MS/ha	18 474 ^{1/}	5 900 ^{2/}	2 615 ^{3/}
C. V.	26%	32%	34%
Biomasa anual, kg MS/ha/año	18 474	11 800	7 845
Hojas, kg MS/ha	3 330	3 900	4 500
Proporción de hojas de material podado	18%	33%	58%

1/ Valores de 24 árboles

2/ Valores de 48 árboles

3/ Valores de 12 árboles

2.3. Arboles leguminosos de uso múltiple

Si a los efectos mencionados anteriormente (fijación biológica de nitrógeno y aporte de materia orgánica al suelo) se le suman los usos múltiples de las leguminosas arbóreas, tales como: frutos para consumo humano, follaje y frutos para forraje, flores para apicultura, producción de leña, postes y madera, uso como postes vivos para cercas, sombra en pastizales, etc. (Budowski, 1981), puede observarse

que los mismos satisfacen un amplio espectro de posibilidades además de su utilidad en la recuperación de suelos degradados o de baja fertilidad donde otras especies no podrían desarrollarse. (Budowski, Kass y Russo, 1983).

3. ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA FIJACION SIMBIOTICA EN LOS S. A. F.

Dado que los SAF por definición son la combinación de árboles con cultivos (Combe y Budowski, 1979), si se tiene como objetivo mejorar la fijación simbiótica se debería en primer término usar árboles leguminosos y en segundo mejorar la simbiosis mediante el uso de inoculantes bacterianos. (La Rue, 1978).

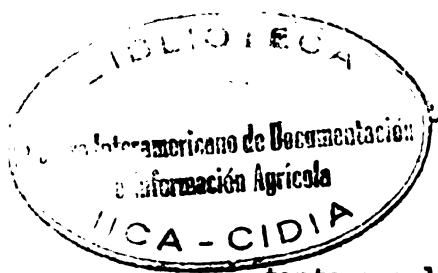
3.1. Uso de leguminosas arbóreas

La estrategia sería usar las leguminosas arbóreas mejor adaptadas a las condiciones locales de clima y suelo. En este campo hay mucho por investigar, sobre todo en lo relativo a la capacidad y fijación de los árboles leguminosos. También amerita investigación las características de crecimiento, diseño y distribución radical y el mejoramiento de las especies más promisorias para el trópico, tales como los géneros Acacia spp., Albizia spp., Calliandra spp., Erythrina spp., Inga spp., Leucaena spp., Lonchocarpus spp., Prosopis spp., y algunas no leguminosas como Alnus spp. y Casuarina spp.

3.2. Inoculación con Rhizobium

La estrategia es la inoculación o mezcla del Rhizobium con la semilla de la leguminosa antes de la siembra. Generalmente el inóculo bacteriano se obtiene en cultivos puros, en condiciones estériles y se combina con algún tipo de sustancia inerte para facilitar su manejo y aplicación.

Si bien es cierto que la mayoría de las leguminosas tropicales nodulan con las especies nativas de Rhizobium del suelo, ello no asegura efectividad en la fijación (Date, 1970). Por eso es impor-



tante que la inoculación sea efectuada con una cepa de Rhizobium que haya sido aislada, caracterizada y aprobada, en un proceso de selección entre muchas cepas.

Las leguminosas se han clasificado en grupos de inoculación cruzada en base a la eficiencia de las diferentes especies y razas de Rhizobium de formar nódulos con ellas (Meisner y Gross, 1980). Las especies hospedantes dentro de cada grupo generalmente nodulan bien con las mismas cepas de bacteria. Esas mismas cepas no nodulan en las leguminosas de otros grupos. Los principales grupos son: del trébol, del frijol, de la arveja, de la alfalfa, del lupino, del loto, de la soja y del caupí (Alexander, 1977). La mayoría de las leguminosas tropicales pertenece al grupo del caupí. Las cepas adaptadas a suelos ácidos a menudo con bajos contenidos de Ca y P.

3.3. Preparación y uso de inoculantes

En todo lo relativo a preparación y uso de inoculantes se recomienda la consulta de los trabajos de Date (1970), Roughley (1970) y Vincent (1970).

Los pasos a seguir en este proceso son los siguientes:

- a) Colección de nódulos en el campo y aislamiento del Rhizobium.
- b) Estudios del crecimiento y morfología de Rhizobium.
- c) Cuantificación del crecimiento de Rhizobium.
- d) Reconocimiento de cepas de Rhizobium.
- e) Selección de cepas de Rhizobium.
- f) Pruebas de compatibilidad genética entre bacteria y planta.
- g) Selección de cepas por su potencial de fijación.
- h) Pruebas de respuesta de campo a la inoculación.
- i) Producción del inoculante:
 - inoculante de cultivos primarios
 - montaje de fermentadores en lotes
 - inoculación de los fermentadores

- preparación de soportes para el inoculante
 - introducción de cultivos líquidos a los soportes
 - determinación de la calidad del inoculante por el método de cuenta en placa.
- j) Inoculación de las semillas:
- preparación de adherentes
 - revestimiento de las semillas
- k) Inoculación del suelo:
- aplicación en banda del inóculo líquido debajo de las semillas
 - empleo de inoculantes granulares cerca de la semilla
- La práctica de la inoculación es relativamente sencilla y de bajo costo y puede aumentar considerablemente la nodulación y fijación de nitrógeno.

3.4. Métodos para evaluar la fijación de nitrógeno

Para entrar en detalles sobre los métodos de evaluación de la fijación biológica se recomienda el libro editado por Bergensen (1980). Haciendo una síntesis de los diferentes métodos evaluativos pueden clasificarse en 5 grupos:

- a) Evaluación de biomasa nodular.
Esta es una evaluación cualitativa y considera el número y peso seco de los nódulos. También, su morfología, ubicación y coloración interna.
- b) Contenido de N total en la biomasa.
Consiste en la determinación de N total por el método Kjeldahl. Si bien con esta metodología no puede evaluarse con precisión es un índice adecuado de la fijación acumulativa durante un período determinado. Por otra parte es útil en condiciones de campo.
- c) Uso de isótopos marcados.
Generalmente se usa N^{15} . Requiere equipo específico y personal entrenado en el uso de materiales radiactivos.
- d) Actividad de la nitrogenasa.
La nitrogenasa no solo tiene capacidad de reducir N_2 sino tam-

bién acetileno (C_2H_2) al que reduce a etileno C_2H_4 . Esta es una técnica cromatográfica relativamente simple.

Conociendo la actividad reductora sobre el acetileno se conoce indirectamente la capacidad reductora de N_2 dado que por cada mol de N_2 se reducen 3 moles de acetileno.

La reducción del acetileno mide actividad puntual y hay que considerar que la actividad de la nitrogenasa varía en el transcurso del día.

También puede hacerse por colorimetría (La Rue y Kurtz, 1973).

- e) Nuevas técnicas: determinación de la concentración de ureidos. (Mc Clure *et al.*, 1980).

Son técnicas colorimétricas relativamente sencillas en condiciones de laboratorio. Se basan en la determinación de productos primarios de la fijación. Generalmente alantoina y ácido alantóico, muy frecuentes en especies tropicales.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La relación simbiótica entre las leguminosas arbóreas y bacterias del género Rhizobium es muy importante en la nutrición nitrogenada y en la economía del N en los SAF. Con una adecuada elección y manejo de los árboles que integren los sistemas agroforestales puede mejorarse la fijación simbiótica y así reducir la fertilización mineral. El manejo de una técnica sencilla y barata como la inoculación puede incrementar considerablemente la nodulación y fijación de nitrógeno en los SAF.

Los árboles leguminosos de uso múltiple además de su papel en la fijación de N y aporte de materia orgánica al suelo producen bienes y servicios tales como leña, frutos, sombra, conservación, etc.

5. BIBLIOGRAFIA

- ALEXANDER, M. 1977. Introduction to soil microbiology. 2 ed. New York, John Willey, pp. 305-322.
- ALPIZAR, L., H.W. FASSBENDER y J. HEUVELDOP. 1983. Estudio de sistemas agroforestales en el experimento central del CATIE, Turrialba. III. Producción de residuos vegetales. Turrialba, Costa Rica, CATIE, 14 p. (Mimeografiado).
- ARANGUREN, J., G. ESCALANTE and R. HERRERA. 1982. Nitrogen cycle of tropical perennial crops under shade trees. I. Coffee. *Plant and Soil* 67:247-258.
- BERGENSEN, F.J. ed. 1980. Methods for evaluating biological nitrogen fixation. New York, John Willey, 687 p.
- BUDOWSKI, G. 1981. Cuantificación de las prácticas agroforestales tradicionales y de las parcelas de investigación controlada en Costa Rica. Trad. por E. Somarriba. Trabajo presentado a la Reunión Consultiva sobre Investigación en plantas y Agroforestería. ICRAF, Kenia, 8-15 abril, 1981. Turrialba, Costa Rica, CATIE, 1981. 26 p.
- BUDOWSKI, G., D.C.L. KASS and R.O. Russo. 1983. Leguminous trees for shade. Paper presented at Symposium on Nitrogen Fixing Trees for the Tropics, Rio de Janeiro, Brazil, 19-24 September 1983. 33 p.
- COMBE, J. y G. BUDOWSKI. 1979. Clasificación de las técnicas agroforestales; una revisión de literatura. In G. de las Salas. ed. Taller de Sistemas Agro-Forestales en América Latina, ACTAS. Turrialba, Costa Rica, CATIE, pp. 17-48.
- DATE, R. A. 1970. Microbiological problems in the inoculation and nodulation of legumes. *Plant and Soil* 32:703-725.
- DAZZO, F. B. 1980. Infection processes in the Rhizobium-legume symbiosis. In Summerfield, R. J. y A. Bunting eds. *Advances in legume science*. Kew, Royal Botany Garden, pp. 49-59.
- HALLIDAY, J. and P.L. NAKAO. 1982. The symbiotic affinities of woody species under consideration as nitrogen-fixing trees-a resource document. Paia, Hawaii, Niftal Project-USAID-NAS, 76 p.
- KASS, D.C.L., R. RUSSO and M.M. QUINLAN. 1983. Leguminous trees as a nitrogen source for annual crops. *Agronomy Abstracts*, p. 45.
- LA RUE, T. A. y W.C.W. KURTZ. 1973. Estimation of nitrogenase using a colorimetric determination for ethylene. *Plant Physiology* 51:1074-1075.

- LA RUE, T. A. ed. 1978. Selecting and breeding legumes for enhanced nitrogen fixation. Proceeding of a Workshop held at the Boyce Thompson Institute at Cornell. October 23-24, 1978. 18 p.
- Mc CLURE, P. M., D.W. ISRAEL y R.J. VOLK. Evaluation of the relative ureide content of xylem sap as an indicator of N_2 fixation in soybeans. *Plant Physiology* 66:720-725.
- MEINSNER, C. A. y D. GROSS. 1980. Some guidelines for the evaluation of the need and response to inoculation of tropical legumes. North Carolina Agricultural Research Service, 59 p. (Tech. Bull. no. 265).
- MOLLEAPAZA, J. E. 1979. Producción de biomasa de poró (*Erythrina poeppigiana* (Walpers) O. F. Cook) y del laurel (*Cordia alliodora* (Ruiz & Pavon) Oken) asociado con café (*Coffea arabica* L.) Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE, s.p. (En borrador).
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. 1979. Tropical legumes: resources for the future. Washington, D. C., N.A.S., 331 p.
- ROSKOSKI, J. 1981. Nodulation and N_2 fixation by *Inga jinicuil*, a woody legume in coffee plantations. *Plant and Soil* 59:201-206.
- ROUGHLEY, R. J. 1970. The preparation and use of legume seed inoculants. *Plant and Soil* 32:675-701.
- RUSSO, R. O. 1983. Efecto de la poda de *Erythrina poeppigiana* (Walpers) O. F. Cook (poró), sobre la nodulación, producción de biomasa y contenido de nitrógeno en el suelo de un sistema agroforestal "café-poró". Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE, 108 p.
- RUSSO, R. O. ed. 1983. Informe de progreso Proyecto *Erythrina* CATIE-CIID. Setiembre 1982-Agosto 1983. Turrialba, Costa Rica, CATIE, 33 p. (mecanografiado).
- SANCHEZ, P. A. 1981. Los suelos del trópico. Características y manejo. Trad. del inglés por E. Camacho. San José, Costa Rica, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 634 p.
- SUAREZ DE CASTRO, F. y A. RODRIGUEZ. 1955. Equilibrio materia orgánica en plantaciones de café. Boletín técnico, Federación Nacional de Cafeteros de Colombia 2(15):5-28.

VERGARA, N. T. ed. 1982. New directions in agroforestry: the potential of tropical legume trees. Improving agroforestry in the Asia-Pacific Tropics. Honolulu, Hawaii, East-West Center-United Nations University 52 p.

VINCENT, J. M. 1970. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. Oxford, Blackwell, 164 p. (IBP Handbook, 15).

WIERSUM, K. F. y A. RAMLAM. 1982. Cultivation of Acacia auriculiformis on Java, Indonesia, Commonwealth Forestry Review 61(2):135-144.