

**PROGRAMA DE EDUCACIÓN PARA EL DESARROLLO Y LA  
CONSERVACIÓN  
ESCUELA DE POSGRADO**

**Descomposición de las hojas del cacao y de seis especies arbóreas,  
solas y en mezcla en Alto Beni, Bolivia**

Tesis sometida a consideración de la Escuela de Posgrado, Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza como requisito para optar por el grado de:

*Magister Scientiae* en Agroforestería Tropical

Por

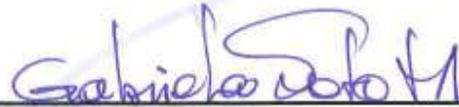
Romina Paola Villegas Cáceres

Turrialba, Costa Rica, 2008

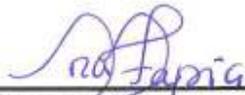
Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma por el Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación y la Escuela de Posgrado del CATIE, y aprobada por el Comité Consejero del estudiante como requisito parcial para optar por el grado de:

**Magister Scientiae en Agroforestería Tropical**

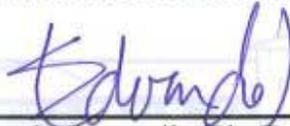
**FIRMANTES:**



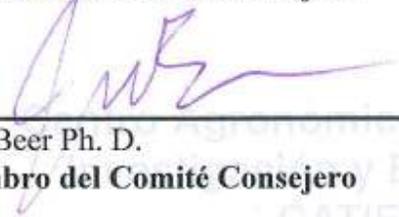
Gabriela Soto M. Sc.  
**Consejero Principal**



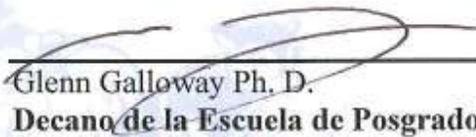
Ana Tapia M. Sc.  
**Miembro del Comité Consejero**



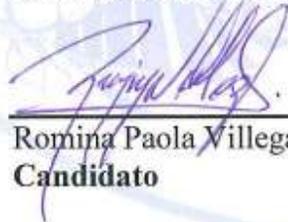
Eduardo Somarriba Ph. D.  
**Miembro del Comité Consejero**



John Beer Ph. D.  
**Miembro del Comité Consejero**



Glenn Galloway Ph. D.  
**Decano de la Escuela de Posgrado**



Romina Paola Villegas Cáceres  
**Candidato**

# DEDICATORIA

*A mis inigualables padres Martha Cáceres y Gonzalo Villegas*

*A mi amada abuela Rosa Cáceres*

*A todos quienes me acompañaron durante los dos últimos años y compartieron alegrías, tristezas y sobre todo retos*

*Con especial cariño y respeto*

## AGRADECIMIENTOS

*Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a:*

- *Gabriela Soto, por sus valiosos aportes brindados durante los dos años de maestría.*
- *Eduardo Somarriba por su apoyo, dedicación y confianza brindadas.*
- *John Beer y Ana Tapia, miembros del comité asesor por sus aportes técnicos y científicos.*
- *Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas (IIFB) de la Facultad de enfermería y Bioquímica perteneciente a la Universidad Mayor de San Andrés, en especial a Teresa Álvarez, Enrique Terrazas y Alberto Jiménez, por todo el apoyo intelectual, moral y económico desinteresado, la confianza brindada y por permitir el desarrollo del presente trabajo de investigación.*
- *Colección Boliviana de Fauna por la colaboración desinteresada en la identificación de especímenes de suelo, en especial a los investigadores María Jose Vacaflor y a Miguel Limachi.*
- *La Unidad de Suelos de la facultad de Ciencias Puras de la UMSA. En especial a Cristina Ruiz, por su colaboración.*
- *Cooperativa de productores de cacao El Ceibo, por el apoyo brindado en sus instalaciones.*
- *A todas las personas que de alguna manera estuvieron presentes y contribuyeron en la realización de la presente investigación.*
- *A mi familia por acompañarme en todo momento.*

*Mil gracias*

## **BIOGRAFIA**

La autora nació en La Paz - Bolivia el año 1978. Culminó sus estudios superiores en Ingeniería Agronómica en la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA) en la ciudad de La Paz, Bolivia el año 2004. A lo largo de los años 2004 y 2005 se dedicó a la extensión en agricultura y certificación orgánica e investigación en la zona de Alto Beni, Bolivia. El año 2006 comenzó estudios en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) y culminó la maestría en ciencias del área de Agroforestería Tropical.

# CONTENIDO

DEDICATORIA .....	III
AGRADECIMIENTOS .....	IV
BIOGRAFIA .....	V
CONTENIDO .....	VI
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	X
ÍNDICE DE CUADROS .....	XII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	XIII
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivos del estudio.....	2
1.1.1 <i>Objetivo General</i> .....	2
1.1.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	2
1.2 Hipótesis del estudio .....	2
2 MARCO CONCEPTUAL .....	3
2.1 El ciclo de la materia orgánica en SAF con cacao .....	3
2.2 Descomposición de material orgánico .....	4
2.2.1 <i>Factores que influyen en la descomposición</i> .....	4
2.2.2 <i>Manejo de la descomposición</i> .....	10
2.2.3 <i>Modelos respuesta en descomposición</i> .....	11
2.3 El cultivo y la sombra del cacao en Alto Beni.....	12
3 BIBLIOGRAFÍA .....	14
4 ARTÍCULO 1: Descomposición de las hojas del cacao y de seis especies arbóreas, solas y en mezclas, en Alto Beni, Bolivia .....	17
4.1 Introducción .....	17
4.2 Materiales y métodos .....	18
4.3 Resultados .....	21
4.3.1 <i>Composición química de tejido foliar</i> .....	21
4.3.2 <i>Humedad de la hojarasca</i> .....	23
4.3.3 <i>Tasas de descomposición de las hojas de las especies en estudio</i> .....	25
4.4 Discusión.....	31
4.5 Conclusiones .....	36
4.6 Recomendaciones.....	37
4.7 Bibliografía .....	37
5 ARTÍCULO 2: Colonización de las hojas del cacao y de seis especies arbóreas por la microflora y macrofauna durante el proceso de descomposición, en Alto Beni, Bolivia.....	40
5.1 Introducción .....	40
5.2 Materiales y métodos .....	41
5.2.1 <i>Ubicación</i> .....	41
5.2.2 <i>Material evaluado</i> .....	43
5.2.3 <i>Conteo de unidades formadoras de colonias de bacterias y hongos</i> .....	44
5.2.4 <i>Actividad enzimática</i> .....	45
5.2.5 <i>Colonización por meso y macrofauna</i> .....	46
5.2.6 <i>Análisis estadístico</i> .....	46

5.3	Resultados .....	47
5.3.1	<i>Unidades formadoras de colonias de bacterias</i> .....	47
5.3.2	<i>Unidades Formadoras de colonias de hongos</i> .....	51
5.3.3	<i>Actividad enzimática celulasa</i> .....	55
5.3.4	<i>Actividad lacasa</i> .....	58
5.3.5	<i>Actividad lignina peroxidasa</i> .....	60
5.4	Meso y macrofauna .....	63
5.5	Correlación de las variables biológicas con las tasas de descomposición .....	65
5.6	Discusión.....	68
5.6.1	<i>Población microbiana</i> .....	68
5.6.2	<i>Actividad enzimática</i> .....	72
5.6.3	<i>Meso y macrofauna</i> .....	75
5.7	Conclusiones .....	77
5.8	Recomendaciones.....	78
5.9	Bibliografía .....	78
ANEXOS		
	81	
Anexo 1.	Características fenológicas de las especies más abundantes encontradas en los sistemas agroforestales con cacao, Alto Beni, Bolivia.....	82

**Villegas, R. 2008.** Descomposición de las hojas del cacao y de seis especies arbóreas, solas y en mezcla en Alto Beni, Bolivia. Tesis Mag. Sc. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 82 p.

**Palabras clave:** tasas de descomposición, mezclas de sustratos, calidad de biomasa, microflora, actividad enzimática, celulasa, lacasa, lignina peroxidasa, macrofauna, *Theobroma cacao*, *Bactris gasipaes*, *Centrolobium ochroxylum*, *Erythrina poeppigiana*, *Inga edulis*, *Myroxylon balsamum*, *Swietenia macrophylla*

## RESUMEN

Con el fin de caracterizar el ciclaje de nutrientes y la intervención de la microflora y macrofauna del suelo en el proceso de descomposición en cacaotales, se estudió la descomposición de hojas de cacao y de las seis especies arbóreas de sombra más abundantes en sistemas agroforestales con cacao, durante las épocas lluviosa y seca, en la zona de Alto Beni, Bolivia. Los tratamientos consistieron en 7 bolsas con 100 % hojas de cada una de las siguientes especies: *Theobroma cacao* (TC), *Bactris gasipaes* (BG), *Centrolobium ochroxylum* (CO), *Erythrina poeppigiana* (EP), *Inga edulis* (IE), *Myroxylon balsamum* (MB) y *Swietenia macrophylla* (SM), más seis bolsas con hojas de cacao en mezcla con estas especies en una proporción de 50:50, siendo un total de 13 tratamientos con 4 repeticiones y 10 evaluaciones en el tiempo (520 bolsas). Las bolsas se colectaron a los 8, 23, 55, 84 y 113 días después de ser colocadas en campo, en dos épocas, una de enero a abril (época lluviosa) y otra de mayo a agosto (época seca). Se analizó las características químicas de las hojas de cada especie, y se determinó a lo largo del tiempo: el peso remanente de las hojas, el contenido de humedad, la colonización por hongos y bacterias, la actividad enzimática, y la abundancia y clasificación taxonómica de macrofauna. Por sus características químicas las especies se clasificaron en: especies lábiles: *E. poeppigiana* y *M. balsamum*; especies recalcitrantes: *S. macrophylla* y *T. cacao*; y especies con un nivel intermedio como *B. gasipaes*, *C. ochroxylum* e *I. edulis*. Por la capacidad de retención de humedad se clasifican en alta (*E. poeppigiana*), intermedia (*M. balsamum* y *C. ochroxylum*); y baja (*I. edulis*, *S. macrophylla* y *T. cacao*). El peso remanente se modeló bajo una ecuación exponencial simple para determinar las tasas de descomposición ( $k$ ) de cada especie. Para la época lluviosa, el orden de las especies de mayor a menor  $k$  fue: EP>BG≥MB>CO≥TC>IE≥SM y para la época seca: MB>BG>EPCTC≥CO>IE≥SM. Se determinó que existe interacción sinérgica sobre la descomposición del cacao cuando se encuentran en mezcla con EP y MB, e interacción

antagónica cuando se encuentra en mezcla con SM e IE. Se observó diferencias en la actividad y población microbiana y de macrofauna solo cuando las características de los sustratos son contrastantes y mayor actividad microbiana a los 23 y 84 días de evaluación. La humedad de las hojas es un factor que presentó alta correlación con las variables biológicas. Las actividades enzimáticas celulasa, lacasa y lignina peroxidasa contribuyen a explicar mejor el proceso de descomposición de los sustratos evaluados.

**Villegas, R. 2008.** Decomposition of cocoa leaves and six arboreal shade species, alone and mixed, in Alto Beni, Bolivia. Thesis Mag. Sc. CATIE- Turrialba, Costa Rica. 82 p.

**Keywords:** decomposition rates, mixed leaves , biomass quality, microflora, enzyme activities (cellulase, laccase, lignin peroxidase), macrofauna, *Theobroma cacao*, *Bactris gasipaes*, *Centrolobium ochroxylum*, *Erythrina poeppigiana*, *Inga edulis*, *Myroxylon balsamum*, *Swietenia macrophylla*

## ABSTRACT

Cocoa leave decomposition and leaf decomposition of the most abundant arboreal shade species in agroforestry systems with cocoa, alone and mixed, during rainy and dry seasons in Alto Beni, Bolivia were studied in order to describe nutrient cycling and microflora and macrofauna intervention during the decomposition process. The trials consisted of 7 bags (litterbags) with 100% leaves of each one of the following species: *Theobroma cacao* (TC), *Bactris gasipaes* (BG), *Centrolobium ochroxylum* (CO), *Erythrina poeppigiana* (EP), *Inga edulis* (IE), *Myroxylon balsamum* (MB) and *Swietenia macrophylla* (SM), 7 more bags with cocoa leaves mixed with these species in a proportion of 50:50, being a total of 13 trials with 4 repetitions and 10 evaluations (a total of 520 bags), along a period of eight months. The bags were collected after 8, 23, 55, 84 and 113 days of being placed in the field, two times, one from January to April (rainy season) and another one from May to August (dry season). The chemical characteristics of the leaves from each species were analyzed, and the leave remaining weights, moisture, fungi and bacteria colonization, enzyme activities, macro fauna abundance and taxonomic classification were determined after each evaluation interval. Based on the chemical characteristics, the species were classified in labile species: *E poeppigiana* and *M. balsamum*, recalcitrant species: *S. macrophylla* and *T. cacao* and species with an intermediate level: *B. gasipaes*, *C. ochroxylum* and *I. edulis*. Considering the capacity of moisture retention, they were classified in high (*E. poeppigiana*), intermediate (*M. balsamum* and *C. ochroxylum*) and low (*I. edulis*, *S. macrophylla* and *T. cacao*). The remaining weight was modelled under a simple exponential equation to determine the decomposition rates (*k*) of each species. During the rainy season, the species order ranging from the highest to the lowest “*k*” was: EP>BG≥MB>CO≥TC>IE≥SM. On the other hand, during the dry season the species order was MB>BG>EPCTC≥CO>IE≥SM. It was determined that synergic interaction exists on cocoa decomposition when cocoa is mixed with EP and MB, and there is an antagonistic

interaction when cocoa is mixed with SM and IE. It was also determined that there are differences in the microflora and macrofauna population activity only when substrate characteristics are contrasting. Highest microbial activity was observed during the 23<sup>rd</sup> and 84<sup>th</sup> days while evaluating. In addition, leave moisture is a factor showing high correlation with the biological variables. Enzymatic activities (cellulase, laccase and lignin peroxidase) contribute to explain better the decomposition process of the evaluated substrates.

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Especies en estudio y proporción de follaje que se puso a descomponer para cada tratamiento .....	20
Cuadro 2. Contenido de N, P y compuestos de carbono presentes en las hojas de las especies en estudio en Alto Beni, Bolivia. ....	22
Cuadro 3. Tasas de descomposición (k) a los 113 días de las hojas de cada especie en estudio en dos épocas de evaluación .....	26
Cuadro 4. Tasas de descomposición (k) de las hojas de las especies de sombra cuando se encuentran en mezcla sobre el cacao a los 113 días en dos épocas de evaluación..	28
Cuadro 5. Tasas de descomposición (k) de las hojas del cacao en combinación con otras especies registradas a los 113 días en dos épocas de evaluación .....	30
Cuadro 6. Especies en estudio y proporción de follaje que se puso a descomponer para cada tratamiento .....	44
Cuadro 7. Ordenes y abundancia de artrópodos encontrados durante la descomposición de diferentes sustratos durante dos épocas.....	63
Cuadro 8. Valores de correlación encontrados entre las tasas de descomposición (k) de las hojas de las especies solas y en mezcla con cacao con las variables de población y actividad microbiológica y abundancia y riqueza de macrofauna.....	65
Cuadro 9. Valores de correlación encontrados entre las tasas de descomposición (k) de las hojas de las especies solas con la población y actividad microbiana y la población de macrofauna.....	66
Cuadro 10. Valores de correlación encontrado entre las tasas de descomposición (k) de las hojas de las especies en mezcla con hojas de cacao con la población y actividad microbiana y la población de macrofauna .....	67

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Condiciones climáticas registradas a lo largo del estudio en comparación a datos de años anteriores, registrados en la estación metereológica de Sapecho-Alto Beni. A: temperatura media; B: humedad relativa y C: precipitación mensual. (Fuente: SENAMHI 2007) .....	19
Figura 2. Contenido de humedad presente en las hojas en descomposición de las especies solas a lo largo del tiempo .....	23
Figura 3. Contenido de humedad presente en las hojas en descomposición de las especies en mezcla con cacao a lo largo del tiempo .....	25
Figura 4. Tasas de descomposición de las hojas de las especies solas en las épocas lluviosa y seca en Alto Beni, Bolivia .....	26
Figura 5. Curvas de descomposición de las hojas de las diferentes especies solas hasta los primeros 113 días. A: Curvas de peso remanente observado durante la época lluviosa. B: Curvas de peso remanente a partir del modelo exponencial para la época lluviosa. C: Curvas de peso remanente durante la época seca. D: Curvas de peso remanente a partir del modelo exponencial para la época seca. Ecuación exponencial: $y$ : peso remanente; $e$ : logaritmo en base natural; $k$ : tasa de descomposición; $t$ : número de días. ....	27
Figura 6. Tasas de descomposición de las hojas de las especies en mezcla sobre el cacao en las épocas lluviosa y seca. ....	28
Figura 7. Comparación en las épocas lluviosa y seca de las tasas de descomposición de las hojas del cacao bajo la interacción de las otras especies.....	29
Figura 8. Curvas de descomposición de hojas de cacao cuando se encuentran en mezcla con hojas las otras especies de sombra para los primeros 113 días. A: Curvas de peso remanente observado durante la época lluviosa. B: Curvas de peso remanente a partir del modelo exponencial para la época lluviosa C: Curvas de peso remanente durante la época seca. D: Curvas de peso remanente a partir del modelo exponencial para la época seca. Ecuación exponencial: $y$ : peso remanente; $e$ : logaritmo en base natural; $k$ : tasa de descomposición; $x$ : número de días.....	30
Figura 9. Temperatura media ambiente, precipitación acumulada para cada fecha de evaluación y humedad de la hojarasca. A: Época lluviosa. B: Época seca (SENAMHI, Estación Experimental Sapecho- Alto Beni 2007) .....	42
Figura 10. Distintos comportamientos (A, B y C ) de colonias de bacterias desarrolladas a lo largo del tiempo durante el proceso de descomposición de hojas para las especies solas durante la época lluviosa.....	48
Figura 11. Diferentes comportamientos (A y B) de colonias de bacterias desarrolladas a lo largo del tiempo durante el proceso de descomposición para mezclas de hojas de las especies con el cacao durante la época lluviosa.....	49
Figura 12. Diferentes comportamientos (A, B y C) de colonias de bacterias desarrolladas a lo largo del tiempo durante el proceso de descomposición de las hojas de las especies solas durante la época seca.....	50
Figura 13. Diferentes comportamientos (A y B) de colonias de bacterias desarrolladas a lo largo del tiempo durante el proceso de descomposición de las hojas de las especies en mezcla con hojas de cacao durante la época seca .....	51

Figura 14. Diferentes comportamientos (A y B) de colonias de hongos desarrolladas durante el proceso de descomposición de hojas de las especies solas durante la época lluviosa .....	52
Figura 15. Diferentes comportamientos (A y B) de colonias de hongos desarrolladas durante el proceso de descomposición de hojas de cacao en mezcla con hojas de las especies de sombra en estudio durante la época lluviosa.....	53
Figura 16. Diferentes comportamientos (A y B) de colonias de hongos desarrolladas durante el proceso de descomposición de hojas de las especies solas durante la época seca.....	54
Figura 17. Comportamiento de colonias de hongos desarrolladas durante el proceso de descomposición de hojas de cacao en mezcla con hojas de las especies de sombra en estudio durante la época seca.....	54
Figura 18. Valores promedio de actividad enzimática celulasa presente en la hojarasca de las especies solas en estudio durante la época lluviosa. Diferentes comportamientos (A, B).....	55
Figura 19. Valores promedio de actividad enzimática celulasa presente en la hojarasca de las especies en estudio durante la época seca. Diferentes comportamientos (A, B y C) .....	56
Figura 20. Valores promedio de actividad enzimática celulasa presente en la hojarasca de las especies en estudio solas y en mezcla durante la época seca. Diferentes comportamientos (A, B).....	57
Figura 21. Valores promedio de actividad enzimática lacasa presente en la hojarasca en descomposición de las especies en estudio solas y en mezcla con cacao durante la época lluviosa. Expresión en base de logaritmo natural. Diferentes comportamientos (A, B).....	58
Figura 22. Valores promedio de actividad enzimática lacasa presente en la hojarasca en descomposición de las especies solas y en mezcla con cacao durante la época seca (Expresión en base de logaritmo natural). Diferentes comportamientos (A, B).....	59
Figura 23. Valores promedio de actividad enzimática lignina peroxidasa presente en la hojarasca en descomposición de las especies solas y en mezcla con cacao durante la época húmeda (Expresión en base de logaritmo natural). Diferentes comportamientos (A, B).....	61
Figura 24. Valores promedio de actividad enzimática lignina peroxidasa presente en la hojarasca en descomposición de las especies en estudio solas y en mezcla con cacao durante la época seca (Expresión en base de logaritmo natural). Diferentes comportamientos (A y B) .....	62
Figura 25. Abundancia relativa de los órdenes de artrópodos encontrados durante la época lluviosa en la descomposición de diferentes sustratos .....	64
Figura 26. Abundancia relativa de los órdenes de artrópodos encontrados durante la época seca en la descomposición de diferentes sustratos .....	64

# 1 INTRODUCCIÓN

Los sistemas agroforestales con cultivos perennes como el cacao (*Theobroma cacao*), donde se combinan especies arbóreas en diferentes estratos verticales que dan sombra al cacao, producen abundante biomasa que contribuye al mantenimiento del ciclaje de nutrientes, estabilización de la estructura del suelo y disminución de la erosión (Nair *et al.* 1995) entre otros beneficios. El ciclaje de nutrientes depende de la descomposición de la biomasa depositada en el suelo por las plantas del cultivo y de las especies arbóreas de sombra. La descomposición de la hojarasca es regulada por la actividad de la micro y macro fauna del suelo, por factores ambientales, por la cantidad y calidad del sustrato (Anderson e Ingram 1993) y por el manejo del sistema. La calidad de la biomasa obedece a la composición química: por ejemplo el contenido de C, N, P, lignina, polifenoles y sus interrelaciones (Palm 1995). Las características particulares de la hojarasca de cada especie influyen en la cantidad y el tiempo en que los nutrientes son liberados al suelo durante el proceso de descomposición. Estos ritmos de deposición, descomposición y liberación de nutrientes al suelo deben sincronizarse con las necesidades nutricionales de los cultivos y el mantenimiento de la actividad y funcionalidad biológica del suelo (Beer *et al.* 1990, Schroth *et al.* 2001, Mendonca y Stott 2003).

En Alto Beni, los cacaotales no reciben fertilizantes ni abonos, por lo que la productividad del cultivo y el mantenimiento de la fertilidad natural del suelo a largo plazo dependen del aporte de biomasa y de su descomposición. Diferentes especies en el dosel de sombra producirán notables diferencias en las condiciones microclimáticas, la composición química, cantidad y distribución mensual de la hojarasca que cae al suelo, en su descomposición, abastecimiento de nutrientes al cultivo y en la funcionalidad de la micro y macro fauna del suelo.

Conocer la colonización y las funciones de los micro y macroorganismos en el proceso de descomposición de sustratos de diferentes especies arbóreas, permitirá tener una idea clara de cómo y cuándo los nutrientes que se encuentran en la hojas de los árboles de sombra son depositados, descompuestos, liberados y recapturados. Información que será de utilidad para el manejo del ciclaje de nutrientes y el mantenimiento de los procesos biológicos del suelo (Beer, *et al.* 1998; Somarriba y Beer 1999, Schroth *et al.* 2001), importantes en la sostenibilidad de los cacaotales.

## **1.1 Objetivos del estudio**

### ***1.1.1 Objetivo General***

- Evaluar las tasas de descomposición y el proceso de colonización por microflora y macrofauna del follaje del cacao y de seis especies de sombra (solas y en mezcla con cacao) a inicio de las épocas lluviosa y seca en cacaotales del Alto Beni, Bolivia.

### ***1.1.2 Objetivos específicos***

- Caracterizar la composición química de las hojas de cacao y de seis especies de sombra.
- Determinar las tasas de descomposición de las hojas de cacao y de seis especies de sombra (solas y en mezclas con cacao) al inicio de las épocas lluviosa y seca.
- Evaluar la colonización de las hojas de cacao y de seis especies de sombra (solas y en mezcla con el cacao) por microflora y macrofauna, al inicio de las épocas lluviosa y seca.
- Determinar la actividad de la micro y macrofauna en la interfase suelo – mantillo, durante la descomposición de la hojarasca.

## **1.2 Hipótesis del estudio**

- H<sub>1</sub>: Las hojas de las seis especies de sombra y del cacao difieren en sus características químicas.
- H<sub>2</sub>: Las tasas de descomposición de las hojas del cacao y de las seis especies de sombra serán diferentes solas y en mezclas.
- H<sub>3</sub>: Las tasas de descomposición de las hojas del cacao y de las seis especies de sombra serán diferentes en las épocas lluviosa y seca.
- H<sub>4</sub>: Se presentarán diferencias en la colonización y actividad de microflora y macrofauna durante el proceso de descomposición, para cada especie de sombra, solas y en mezclas, en las dos épocas.

## 2 MARCO CONCEPTUAL

### 2.1 El ciclo de la materia orgánica en SAF con cacao

Los sistemas agroforestales (SAF), donde se asocian cultivos perennes con especies arbóreas (maderables, frutales y de servicio), producen mayor cantidad de biomasa que los sistemas en monocultivo (Beer *et al.* 1990). La cantidad de biomasa aportada por el dosel de sombra en SAF con cacao, se encuentra entre 7 a 10 ton ha<sup>-1</sup> en relación a la existente en un sistema monocultivo que es de 4 a 5 ton ha<sup>-1</sup> (Beer *et al.* 1990; Jaimez y Franco 1999), siendo los suelos bajo monocultivo de baja fertilidad (Schroth *et al.* 2001) por la poca biomasa encontrada. En SAF la cantidad de biomasa que se incorpora al suelo depende del tipo de especies que conforman el dosel de sombra, edad de la plantación, condiciones del sitio, manejo, etc. La selección de especies arbóreas que produzcan alta cantidad de material orgánico o la implementación de prácticas de manejo como las podas contribuye a mayor producción de biomasa.

Ésta biomasa llega al suelo como hojarasca e incrementa el contenido de materia orgánica (MO) del suelo. La descomposición de la MO en el suelo aumenta la capacidad de intercambio cationico, estabiliza las propiedades físicas, protege el suelo de erosión, almacena y suministra carbono, y beneficia el hábitat donde se desarrollan los organismos responsables de mantener las funciones ecológicas del suelo (Beer *et al.* 1998; Schroth *et al.* 2001), de esta forma contribuye al mantenimiento de la fertilidad del suelo y a la sostenibilidad de los sistemas productivos. El conocimiento sobre la cantidad y tipo de biomasa permite la manipulación del proceso de descomposición y con ello la disponibilidad y ciclaje de nutrientes, además de la conservación de la funcionalidad biológica del suelo (Somarriba y Beer 1999, Ghulam y Hashim 1996).

La selección de especies de sombra en cacaotales habitualmente obedece a la búsqueda de beneficios socioeconómicos y de manejo como: obtención de productos rentables (madera, fruta, leña), baja competencia con el cultivo, fácil manejo, que proporcione poca sombra al cultivo, sin problemas de plagas o enfermedades y que no reseque el suelo (Schroth 2003; Vega 2005; Ortiz 2006). Por tanto, el aporte en biomasa por el dosel de sombra y de la MO son beneficios considerados secundarios en el momento de seleccionar los árboles de sombra, lo que se debe a la falta de conocimiento sobre el manejo de la biomasa dentro del sistema (Ortiz 2006).

Las medidas de manejo del componente arbóreo en SAF, además de incrementar la MO, deberían considerar el manejo de los factores que influyen en el proceso de descomposición de la hojarasca, así, acelerar y optimizar el ciclaje de nutrientes y contribuir a un mantenimiento adecuado de la actividad de la fauna y microorganismos del suelo (Schroth *et al.* 2001 y Mafongoya *et al.* 1998); de ésta manera los SAF podrían optimizar y potencializar los procesos biológicos del suelo que conllevaría a fomentar la productividad y sostenibilidad de los sistemas productivos (Kershner y Montagnini 1998).

## **2.2 Descomposición de material orgánico**

De manera general, la descomposición es un proceso que se lleva a cabo a través de la función de la micro, meso y macrofauna del suelo, quienes mediante la desintegración física y la acción bioquímica transforman complejos orgánicos a moléculas inorgánicas de forma natural. A través de la descomposición las especies vegetales, por su aporte en biomasa, cumplen la función de transferir nutrientes, agua y energía, además de liberar dióxido de carbono (Vilas 1998; Bot y Benites 2005).

### ***2.2.1 Factores que influyen en la descomposición***

Las condiciones climáticas, composición química del material orgánico, las comunidades de micro y macro fauna del suelo y factores específicos de sitio (microclima) tienen alta influencia sobre la velocidad de la descomposición de la hojarasca (Anderson e Ingram 1993, Schroth 2003, Berg y McClaugherty 2003). Estos factores tendrán menor o mayor influencia, dependiendo de la etapa de descomposición de la hojarasca. Así, durante la descomposición y antes de la formación de humus se distinguen tres etapas: una primera, en la que se pierden las sustancias solubles, celulosas y hemicelulosas (no protegidas por otros compuestos) donde las condiciones climáticas y el contenido de N, P y K tienen alta influencia; una segunda etapa, en la que la influencia del clima disminuye y el contenido de N tiene alto impacto sobre la descomposición de ligninas; y finalmente, una tercera etapa en la que la descomposición alcanza su máximo valor, donde el contenido de ligninas y N tienen un efecto negativo y el clima un efecto nulo (Berg y McClaugherty 2003).

Las condiciones climáticas (temperatura, precipitación, humedad, presencia de épocas secas y lluviosas) determinarán un patrón de descomposición a escala regional (Paul

*et al.* 2004). Sin embargo, cuando se trata de SAF, otro tipo de factores emergen y modifican las condiciones a nivel de microclima, regulan la temperatura y humedad del suelo principalmente, lo que se refleja en un impacto considerable en la primera fase de la descomposición (Berg y McLaugherty 2003) determinando condiciones específicas a nivel de sistema productivo. También, las características propias de cada lugar, como las propiedades del suelo (textura, CIC, pH, MO, disponibilidad de nutrientes), topografía (pendiente), estructura y composición de plantas (cobertura) alteran la dinámica de la descomposición por su efecto en el movimiento del agua, disponibilidad de aire, acumulación y distribución de la hojarasca y de la comunidad microbial; de esta manera alteran algunos procesos químico-biofísicos e incrementan las interacciones entre los distintos componentes de un sistema (Berg y McLaugherty 2003).

La composición y aporte de hojarasca de las plantas que componen un SAF con cacao, genera interacciones en el proceso de descomposición, las que pueden ser de carácter sinérgico o antagónico, dependiendo de las características propias de cada especie como: la composición química de sus hojas, cobertura por el dosel de sombra, entre otras (Berg y McLaugherty 2003), las que están determinadas por del tipo de especie que integra el sistema y su forma de crecimiento. La forma de crecimiento (perennifolia y caducifolia) es una característica propia de cada especie que determina el momento en que la biomasa de los árboles (ramas y hojas) es integrada al sistema. Ésta característica hace referencia a la estrategia de las plantas en relación a la asignación de C y N para su desarrollo, producción y protección (Heal *et al.* 1997), y tiene influencia en la cantidad de nutrientes que son reabsorbidos antes de la caída de las hojas senescentes (Aerts 1996).

Se ha demostrado que las especies de carácter caducifolio tienen en sus hojas senescentes 60 % más nutrientes (N y P) que aquellas siempre verdes (Aerts 1996). Por tanto, la disponibilidad de nutrientes para el desarrollo de microorganismos y descomposición serán diferentes dependiendo de si la hojarasca proviene de uno u otro tipo de especie. Por ejemplo, las especies que se podan tienen más contenido de nutrientes móviles que las deciduas, ya que estas últimas translocan sus nutrientes antes de la abscisión de las hojas (Palm 1995). La concentración de nutrientes en la biomasa también depende del estado fenológico de la especie en estudio (senescencia, fructificación, etc.), del manejo y de las condiciones del sitio (Schroth 2003). Por otra parte, las especies que tienen la capacidad de fijar nitrógeno tendrán mayor contenido de éste elemento en sus

hojas en relación a aquellas que no lo hacen, y su proporción variará ampliamente dependiendo de la especie (Palm 1995).

Las relaciones existentes entre contenido de compuestos que forman parte del tejido vegetal, como carbono (C), nitrógeno (N), fósforo (P), azufre (S), lignina y polifenoles, se han considerado como índices para predecir la descomposición y mineralización de los nutrientes. Así, una relación C:N < 20, C:P < 200, C:S < 300 son consideradas apropiadas para un adecuado ciclaje de nutrientes. Encima de estos valores se da un proceso de inmovilización de nutrientes por la comunidad microbial del suelo (Schroth 2003). Estas relaciones son de utilidad para la estimación de las tasas de degradación; sin embargo, también se debe considerar el contenido de lignina y polifenoles, que son compuestos que le otorgan al sustrato características recalcitrantes (Mafongoya *et al.* 1998) por que vinculan la celulosa de la pared celular con las proteínas, de esta manera se disminuye la accesibilidad a la degradación microbial y se reduce su descomposición. El contenido de ligninas y polifenoles varía ampliamente a nivel inter e intra-específico y se incrementa en el material senescente (Palm y Rowland 1997). Si el contenido de ligninas y taninos es mayor de 25 y 40 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente, se inhibe la síntesis y actividad enzimática determinante para la acción de la microflora (Schroth 2003).

Índices como el contenido de lignina y polifenoles en relación al N mostraron ser mejores indicadores de la descomposición de especies usadas en sistemas agroforestales. También, la relación lignina:N puede ser usada para predecir la etapa inicial de descomposición y la relación lignina:lignina-holocelulosa permite estimar la tasa de descomposición en un largo plazo (Palm y Rowland 1997). La concentración de estos componentes, en especial de polifenoles, varía ampliamente dependiendo de la especie, parte de la planta, fertilidad del suelo y disponibilidad de agua (Schroth 2003) lo que limita su uso como indicador.

El contenido de N, P y C soluble (almidones, aminoácidos, carbohidratos y fenoles) es determinante y limitante en el desarrollo de las comunidades de organismos descomponedores por su efecto en el crecimiento microbial y en la inmovilización y mineralización de nutrientes; el contenido de carbono hidrosoluble puede ser bajo (<15%) o alto (>30%). La presencia de celulosas y hemicelulosas, en materiales de mediana calidad en hojarasca, son fáciles de degradar y sirven de fuente de energía para los microorganismos descomponedores (Palm y Rowland 1997). Todos estos elementos

tendrán efecto en la primera fase de descomposición por ser compuestos fácilmente lixiviados de las plantas (Palm y Rowland 1997). El contenido de estos componentes puede relacionarse con la forma de crecimiento de las especies. Especies deciduas presentan una correlación inversa entre el contenido de N, lignina y polifenoles, mientras que las especies siempre verdes tienen limitaciones de N por la necesidad de retener las hojas con altas concentraciones de lignina y componentes secundarios para su defensa, por lo que tienen baja calidad de hojarasca, pero presentan alta diversidad y variación en la concentración de éstos componentes (Heal *et al.* 1997).

Por lo mencionado, el estudio de las propiedades químicas (contenido de nutrientes, lignina, holocelulosas- celulosas y hemicelulosas, polifenoles, etc.) es de mayor importancia, a diferencia del estudio de otras características como las físicas (dureza, resistencia, consistencia, pubescencia, contenido de ceras y área específica de la hoja ( $\text{g cm}^{-2}$ )), debido a que las características físicas son más subjetivas en su medición y están estrechamente vinculadas a las características químicas (Schroth 2003), siendo las propiedades químicas de mayor utilidad y precisión para describir o predecir el proceso de descomposición. El estudio de la proporción de nutrientes y compuestos de carbono en la hojarasca también permite agrupar a especies en caso de aquellos sistemas diversos, ya que debido al gran número de especies, no es posible estudiarlas a todas.

#### **2.2.1.1 Acción de la fauna del suelo**

Los organismos presentes en el suelo (biota) constituyen la comunidad consumidora del sistema y tienen como principal fuente de energía y nutrientes el alimento generado por productores primarios (plantas, líquenes, bacterias fotosintéticas y algunas algas) (Bot y Benites 2005). Esta parte viva del suelo, por lo general abarca el 5% del total de la materia orgánica. Incluye una amplia diversidad de microorganismos cuya composición depende del tipo de sustrato disponible, además, de un adecuado suministro de espacio, nutrientes y humedad. Además, presentan un patrón estacional y diario de ocurrencia, cuya actividad depende de las características de su medio, no encontrándose todos activos al mismo tiempo (Bot y Benites 2005).

La función de descomposición de la materia orgánica se lleva a cabo por microorganismos saprófitos, hongos, bacterias y actinomicetes; e invertebrados que se alimentan de la hojarasca (detritívoros) principalmente. La comunidad de micro, meso y

macrofauna (collembolas, lombrices y ácaros) está directamente involucrada con la fragmentación, mezcla de la hojarasca con el suelo, transformación en sustancias fecales, e incremento del área superficial de la hojarasca para el uso futuro por la población microbial (Reynolds y Hunter 2001, Paul *et al.* 2004), de esta manera, alteran el proceso de descomposición, se encargan de suministrar nutrientes a las plantas y también desarrollan la estructura del suelo (Bot y Benites 2005).

Una de las funciones más importantes de la fauna del suelo, desde el punto de vista productivo, es que éstos liberan nutrientes en forma en que las plantas puedan tomarlos (mineralización), además contribuyen a la formación de materia orgánica estable, la que por la acumulación de desechos de carbono en forma de humus incrementa la capacidad para reservar agua y nutrientes (Bot y Benites 2005).

#### **2.2.1.2 Microflora**

El patrón de colonización de la hojarasca por la microflora comienza por la invasión de bacterias durante la primera fase, las cuales no producen enzimas que desnaturalizan ligninas, mientras que los hongos si cumplen ésta última función y dominan las etapas tardías de la descomposición (Paul *et al.* 2004). Sin embargo, Berg y McClaugherty (2003) mencionan que en una primera fase de descomposición los hongos son los primeros invasores y penetran las hojas a través de los espacios intracelulares; les sigue en sucesión las bacterias que son menos móviles. Ambos (hongos y bacterias) ejercen diferentes propiedades fisiológicas dependiendo de la etapa de descomposición y de la calidad del sustrato, teniendo ambos la capacidad de degradar celulosas, hemicelulosas, ligninas, fibras; siendo la comunidad fúngica la que no puede degradar ligninas de manera anaeróbica.

Por el rol funcional que cumplen los hongos y bacterias que se desarrollan en diferentes etapas de la descomposición, Berg y McClaugherty (2003) los han clasificado en microorganismos lignolíticos (degradadores de ligninas) y celulíticos (degradadores de celulosas). Otro tipo de clasificación en términos de degradación, se refiere a los microorganismos que actúan en la fase de pudrición blanca, pudrición marrón y pudrición blanda (soft rot). Los degradadores de celulosas y hemicelulosas tienen en común la producción de enzimas hidrolíticas. Los que degradan la lignina (pudrición blanca) requieren de la acción de organismos aeróbicos (hongos y bacterias) y existe un grupo

parcial de degradadores de lignina (pudrición marrón) donde actúan bacterias anaeróbicas las que se encuentran generalmente sobre hongos y bacterias aeróbicas.

El desarrollo de hongos y bacterias está altamente relacionado con la calidad del sustrato que tienen disponible y conforman la comunidad más importante para la actividad biológica del suelo (Wardle y Lavelle 1997). Por tanto, su desarrollo va a limitar o facilitar el proceso de colonización y las funciones del resto de la fauna del suelo. También, las propiedades del sistema suelo-hojarasca, como el nivel de nutrientes y el pH, podrían regular la composición de la comunidad microbial y cambiar algunas propiedades funcionales de algunas poblaciones de microorganismos, como por ejemplo, aquellos que presentan sensibilidad a las concentraciones altas de N en la hojarasca, que podría ser estimulante o de carácter supresivo para su desarrollo (Berg y MaClaugherty 2003).

### **2.2.1.3 Micro y macro fauna**

Existen diferentes interacciones entre la microflora y la fauna del suelo. Estas interacciones ocurren en tres niveles: con la micro y meso fauna (red de microalimentación), con los artrópodos (transformadores de hojarasca) y con los “ingenieros del ecosistema” (lombrices) y pueden ser de diferente carácter: predación (predador-presa), competencia y mutualismo, todas altamente relacionadas con la calidad del sustrato (Wardle y Lavelle 1997).

La interrelación que involucra la micro y meso fauna responde a una relación tipo predador-presa, donde por lo general se encuentra la presencia de nemátodos que se alimentan de bacterias y hongos. Ésta relación es importante en la mineralización de los nutrientes, puesto que una vez que las bacterias son consumidas, su contenido de N y P es liberado a través de las excretas. La segunda interacción que involucra a los artrópodos (colembolas y ácaros) se refiere a relaciones predador – presa (fungívoros) y presencia de saprófagos (consumidores de hojarasca). Por último, la relación que involucra a los llamados “ingenieros del ecosistema”, incluye invertebrados e insectos sociales y tienen una relación mutualística con la microflora, ya que los “ingenieros del ecosistema” se encargan de digerir materiales resistentes a la degradación microbial, tales como taninos y ligninas, pero también tienden a ser inhibidos por la acumulación de éstos componentes en la hojarasca (Wardle y Lavelle 1997)

La clasificación de los microorganismos por la función que cumplen permite explicar cuales son los procesos que están siendo limitados o favorecidos frente a la presencia diferentes compuestos de carbono y nutrientes de la hojarasca, por tanto, el conocimiento de la función de la micro y macro fauna en el proceso de descomposición puede ser considerada en el diseño de prácticas de manejo agroforestales (Paul *et al.* 2004).

La clasificación funcional de la fauna del suelo es bastante compleja, por la infinidad de organismos presentes, pero cuando se hace comparaciones a nivel de un sistema y en intervalos de tiempo ésta puede ser de gran de utilidad para determinar su funcionalidad. Un ejemplo de grupos funcionales es la presentada por Moco *et al.* (2005), quien clasifica los órdenes de fauna de suelo y hojarasca en tres grupos: saprófagos, que se caracterizan por alimentarse de forma directa de la hojarasca y la fragmentan; predadores, que se alimentan de otros organismos y larvas de insectos; y un tercer grupo que cumple las dos funciones al ser saprófagos y predadores.

La fauna del suelo es considerada un indicador sensitivo y potencial del manejo del suelo, por tener la capacidad de integrar las propiedades físicas, químicas y biológicas, cuya participación es esencial en la descomposición y reciclaje de nutrientes. En sistemas agroforestales con cacao existe abundante y diversificada fauna en el suelo que puede contribuir con un rápido reciclaje de nutrientes los que pueden ser reabsorbidos por el cultivo (Moco *et al.* 2005).

### ***2.2.2 Manejo de la descomposición***

Un conocimiento claro sobre los factores que influyen en la descomposición permite el manejo de este proceso para favorecer la liberación de nutrientes y las funciones de la micro y macrofauna del suelo. Esto se puede lograr al conocer con profundidad las características de la biomasa que aportan las especies de sombra, y mediante la manipulación de las especies del dosel de sombra, por ejemplo, incluyendo especies que aporten adecuada cantidad de biomasa y de manera constante (Vohland *et al.* 1999). También se pueden promover las mezclas de materiales orgánicos de baja y alta calidad, de manera que brinden cobertura en forma de mulch y contribuyan en el ciclaje y liberación rápida de nutrientes (Munguía 2003) y aprovechar las interacciones (en cuanto a la descomposición) de las especies asociadas, muchas veces complejas y no muy bien conocidas. Por ejemplo, la incorporación de biomasa de alta calidad puede estimular la

descomposición de hojas recalcitrantes a través de una transferencia de nutrientes por mecanismos físicos y biológicos como la lixiviación o difusión (McTiernan *et al.* 1997), o por simple modificación de las condiciones microclimáticas, tanto por la biomasa que recubre el suelo y también porque las especies de sombra regulan la humedad del suelo y redistribuyen la lluvia a través del dosel particular de cada una (Schroth *et al.* 2001), creando condiciones diferentes para el desarrollo de los organismos cuyo albergue es la hojarasca (Vohland *et al.* 1999).

En el manejo de la materia orgánica del suelo y sus funciones se debe incluir especies con distinto comportamiento con respecto a la forma de crecimiento (especies perennifolias y caducifolias) con tiempos de retorno y requerimiento de nutrientes y agua contrastados, diferentes intensidades de poda, cantidad y calidad de hojarasca y distribución radicular, que determinarán la disponibilidad de nutrientes en el suelo y su disponibilidad para los microorganismos y el cultivo (Vilas 1998). Mafongoya *et al.* (1998) y Palm (1995) han demostrado que los patrones de liberación de nutrientes de mezclas de hojarasca de especies diferentes, tienen un promedio ponderado de los patrones de las dos especies separadas, sin embargo, no se ha mostrado un efecto aditivo. Algunos estudios demostraron que puede existir un efecto negativo en la mezcla de hojarasca de especies las que no favorecen el proceso de mineralización de los nutrientes y sobre todo contribuyen a su inmovilización. En tal sentido, la biomasa tiene que ser manejada de manera estratégica para mejorar las condiciones del suelo a través de la estimulación benéfica de la fauna microbial (Schroth 2003), y considerar el principio propuesto por Vohland (1999) quien señala que se debe manejar una diversidad alta y abundante de medios de hojarasca para favorecer la función y el desarrollo de los organismos.

### ***2.2.3 Modelos respuesta en descomposición***

Varios modelos se han propuesto para explicar las tasas de descomposición (exponencial simple, exponencial doble, asintótico, linear, cuadrático y potencial), siendo los modelos exponenciales los más usados y adecuados porque consideran la pérdida del substrato debido a dos componentes, uno en relación a los compuestos de fácil descomposición y otro en relación a la fracción no voluble o recalcitrante, donde la tasa de descomposición total representa la suma de pérdidas de cada fracción (Wieder y Lang 1982). Sin embargo, este tipo de modelos no considera que ciertos materiales lábiles se

conviertan en recalcitrantes, transformación que podría ocurrir por la síntesis microbiana, por lo que no se demuestra en un comportamiento real de descomposición. Heal *et al.* (1997), mencionan que la mayoría de los índices que se han desarrollado tratan de explicar la descomposición con base en la calidad de la hojarasca, pero ésta característica sólo da lugar a una primera aproximación, ya que existen otras características como la sucesión microbiana que genera cambios de la composición química, además, también se encuentra la micro y macro fauna que interactúa con la microflora en diferentes fases; por tanto, se deben buscar modelos que demuestren el efecto de todos estos factores sobre la descomposición de la biomasa en el tiempo.

### **2.3 El cultivo y la sombra del cacao en Alto Beni**

En Alto Beni, Bolivia, el manejo tanto del cultivo del cacao como del dosel de sombra ha evolucionando a través del tiempo. La mayor parte de los agricultores (provenientes del altiplano boliviano) en un inicio desconocían sobre el manejo del cacao y de la vegetación arbórea nativa del lugar. Adquirieron conocimientos empíricos e influenciados por los programas de asistencia técnica presentes de manera intermitente en la zona durante los últimos 45 años (Somarriba y Trujillo 2005). El manejo del cultivo de cacao en la zona consiste en una poda de mantenimiento (julio y/o agosto), uno o dos deshierbes al año y la cosecha (de abril a julio). La mayoría de los productores no aplica ningún tipo de fertilizante, por ser de escasos recursos y porque producen cacao bajo normas de certificación orgánica. En promedio el rendimiento en la zona se encuentra alrededor de 400 kg de semilla seca ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>.

El componente arbóreo presente en los cacaotales depende principalmente del sistema de habilitación de tierra, de la historia del cultivo de cada cacaotal y de la influencia técnica presente en la zona. Generalmente, la siembra de cacao se realiza bajo poco o ningún tipo de sombra, debido a la utilización de la práctica del *chaqueo* (roza, tumba y quema de la vegetación) para la habilitación de tierras. En un inicio, se recomendó la siembra de especies leguminosas (*Inga edulis*); sin embargo, no se capacitó en el manejo de la sombra (poda y raleo), traduciendo la práctica en perjudicial para la producción de cacao, por lo que ésta especie fue eliminada de las fincas. Más tarde, la cooperativa El Ceibo junto a la Cooperación Alemana, recomendó la siembra de maderables valiosos

(*Swietenia macrophylla*), leguminosas nativas (*Schyzolobium amazonicum*, *Acacia* spp, *Erythrina poeppigiana*) y promovió el cultivo de cacao bajo sistemas agroforestales sucesionales (SAS), prácticas que no fueron ampliamente adoptadas por la intensidad de manejo requerida y por la poca disponibilidad de semilla (Ortiz 2006).

Vega (2005) y Quispe (2006) mencionan que la mayor parte de los cacaotales presentan sombra escasa (42 árboles ha<sup>-1</sup>) con una distribución espacial irregular, especies de bajo valor económico (*Inga* spp., *Schizolubium parahyba*, *Scheelea princeps*, *Cecropia* spp.) y pocas con potencial maderable (*Centrolobium ochroxylum*, *Ficus killipii*). Otros estudios del dosel de sombra de los cacaotales demuestran la existencia de cuatro tipologías de doseles de sombra (Ortiz 2006): cacao con un solo estrato de sombra, < 4 especies, 16-25 árboles ha<sup>-1</sup> y <25% de sombra; cacao multiestratificado, >12 especies, 100 árboles ha<sup>-1</sup> y 35-45% de sombra, cacao adulto con maderables y frutales, 40-100 árboles ha<sup>-1</sup> y 30-40% de sombra, cacao joven con maderables y frutales, 60-250 árboles ha<sup>-1</sup> y 45% de sombra

Según Vega (2005) y Ortiz (2006), los agricultores son conscientes de que sus fincas tienen pocas especies arbóreas de valor y reconocen el incremento en la demanda de madera de calidad (*S. macrophylla*, *Amburaa caerensis*, *Cedrela odorata*, *Centrolobium ochroxylum*, *Piptademia* sp., *Aniba* spp., *Myroxylum balsamum*, *Hymenea courbaril*), y les interesan los árboles medicinales (*Croton* cf. *draconoides*, *Gallesia integrifolia*, *Astronium urundeuva*), para leña (*Inga* spp., *Cassia* spp.) y que mantengan la fertilidad y humedad del suelo (*Gliricidia sepium*, *Leucaena leucocephala*, *E. poeppigiana*, *Chorissia speciosa*).

Si bien existe interés en los agricultores del Alto Beni en el mejoramiento y mantenimiento de la fertilidad del suelo, la mayoría de los cacaocultores no realizan prácticas de manejo que contribuyan a fertilidad del suelo. Pocos productores se dedican a la aplicación de abonos orgánicos debido a que esta práctica requiere de fuentes orgánicas y minerales que no están a su alcance, además, demanda alta inversión en mano de obra. La mayor parte de los productores no consideran los beneficios y funciones de la biomasa que aportan las especies presentes en el dosel de sombra, además, no cuentan con conocimientos ni herramientas para el manejo de la biomasa en prácticas como poda. Por tanto, conocer las características de las especies en cuanto a fenología, deposición y descomposición de las hojas de las diferentes especies arbóreas que se asocian con cacao es de importancia para optimizar el ciclaje de nutrientes y mejorar la producción.

### 3 BIBLIOGRAFÍA

- Aerts, R. 1996. Nutrient resorption from senescing leaves of perennials. Are there general patterns?. *Journal of Ecology*. 84:597-608.
- Anderson, J; Ingram, J. 1993. *Tropical soil biology and fertility*. 2da edición. Oxford UK. CAB International. 221p.
- Beer, J; Bonneman, W; Chavez, H; Fassbender, H; Imbach, A; Martel, I. 1990. Modelling agroforestry systems of cacao (*Theobroma cacao*) with laurel (*Cordia alliodora*) or poro (*Erythrina poeppigiana*) in Costa Rica. V. Productivity indices, organica material models and sustainability over ten years. *Agroforestry Systems* 12:229-249.
- \_\_\_\_\_; Muschler, D; Kass, D; Somarriba, E. 1998. Shade management in coffee and cacao plantations. *Agroforestry Systems* 38: 139-164.
- Berg, B; McClaugherty, C. 2003. *Plant litter. Decomposition, humus formation, carbon sequestration*. Berlin, DE. © Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 286 p.
- Bot, A; Benites, J. 2005. The importance of soil organic matter. Key to drought-resistant soil and sustained food and production. Roma, IT. *Fao Soils Bulletin* 80. 78 p.
- Ghulam, M; Hashim. 1996. Sustainable land management in tropical tree-crop ecosystems (en línea). MY. Malaysian Agricultural Research and Development Institute. Consultado 20 oct. 2006. Disponible en <http://www.agnet.org/library/abstract/eb424.html>.
- Heal, O; Anderson, J; Swift, M. 1997. Plant litter quality and decomposition: an historical overview. In. *Driven by nature: plant litter quality and decomposition*. Eds. Cadisch, G; Giller, K. CAB International. Wallingford, UK. p. 379-392.
- Jaimez, R; Franco; W. 1999. Producción de hojarasca, aporte en nutrientes y descomposición en sistemas agroforestales de cacao y frutales. *Agrotrópica* 11(1): 1-8.
- Kershner, R; Montagnini, F. 1998. Leaf litter decomposition, litterfall and effects of leaf mulches from mixed and monoespecific plantations in Costa Rica. *Journal of Sustainable Forestry* (7)3/4:95-118.
- Mafongoya, P; Giller; K; Palm, C. 1998. Decomposition and nitrogen release patterns of tree prunnings and litter. *Agroforestry Systems* 38: 77-97.
- McTiernan, K; Ineson, P; Coward, P. 1997. Respiration and nutrient release from tree leaf litter mixtures. *Oikos* 78:527-538.
- Mendonca, E; Stott, D. 2003. Characteristics and decomposition rates of prunnings residues from a shaded coffee system in Southeastern Brazil. *Agroforestry Systems* 57:117-125.
- Moco, M; Gama-Rodrigues, E; Gama-Rodrigues, A; Correia, M. 2005. Caracterizacao da fauna edáfica em diferentes coberturas vegetais na Regiao Norte Fluminense. *R. Bras. Ci. Solo* 29:555-564.

- Munguía, R. 2003. Tasas de descomposición y liberación de nutrientes de la hojarasca de *Eucalyptus deglupta*, *Coffea arabica* y de las hojas de *Erythrina poeppigiana* solas y en mezclas. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. CATIE. 76 p.
- Nair, P; Kang, B; Kass, D. 1995. Nutrient Cycling and Soil-Erosion Control in Agroforestry Systems. *In* Agriculture and environment: Bridging food production and environmental protection in developing countries. Madison, US. ASA Special Publication No. 60. p. 117-137.
- Ortiz, M. 2006. Conocimiento local y decisiones de los productores de Alto Beni, Bolivia, sobre el diseño y manejo de la sombra en sus cacaotales. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. CATIE. 76 p.
- Quispe, J. 2006. Estudio de la diversidad de componentes del dosel de sombra en el cultivo de cacao en Alto Beni. Tesis Ing. Agrónomo. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.
- Palm, C. 1995. Contribution of agroforestry trees to nutrient requirements of intercropped plants. *Agroforestry Systems* 30:105-124.
- \_\_\_\_\_; Rowland, A. 1997. A minimum dataset for characterization of plant quality for decomposition. *In* Driven by nature: plant litter quality and decomposition. Eds. Cadisch, G; Giller, K. CAB International. Wallingford, UK. p. 379-392.
- Paul, K; Polglase, P; Bauhus, J; Raison, J; Khanna, P. 2004. Modelling change in litter and soil carbon following afforestation or reforestation: calibration of the Fullcam 'Beta' model (en línea). Goettingen, Germany. National Carbon Accounting System Technical Report No. 40. Consultado 17, may, 2006. Disponible en <http://www.greenhouse.gov.au/ncas>.
- Schroth, G; Lehman, J; Rodriguez, M; Barros, E; Macedo, J. 2001. Plant-soil interactions in multiestrata agroforestry in the humid tropics. *Agroforestry Systems* 53:85-102.
- Schroth, G. 2003. Decomposition and nutrient supply from biomass. *In* Trees, crops and soil fertility: concepts and research methods. Schroth, G; Sinclair, F. (Eds). CAB International. Wallingford, UK. 437 p.
- Somarriba; E; Beer, J. 1999. Sistemas agroforestales con cacao en Costa Rica y Panamá. *Agroforestería en las Américas* (6) 22:7-11.
- \_\_\_\_\_; E; Trujillo, L. 2005. El proyecto "Modernización de la cacaocultura orgánica del Alto Beni, Bolivia". *Agroforestería en las Américas* 43-44.
- Reynolds, B; Hunter, M. 2001. Responses of soil respiration, soil nutrients, and litter decomposition to inputs from canopy herbivores. *Soil Biology and Biochemistry* 33:1641-1652.
- Vega, M. 2005. Planificación agroforestal participativa para el enriquecimiento de fincas cacaoteras orgánicas con especies leñosas perennes útiles en Alto Beni, Bolivia. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. CATIE. 108 p.
- Vilas, M. 1998. Efectos de la diversidad de especies en el funcionamiento de los ecosistemas. *Orsis* 13:105-117.

- Vohland, K; Schroth, G. 1999. Distribution patterns of the litter macrofauna in agroforestry and monoculture plantations in central Amazonia as affected by plant species and management. *Applied Soil Ecology* 13: 57-68
- Wardle, D; Lavelle, P. 1997. Linkages between soil biota, plant litter quality and decomposition. In. *Driven by nature: plant litter quality and decomposition*. Eds. Cadisch, G; Giller, K. CAB International. Wallingford, UK. p. 379-392.
- Wieder, R; Lang, G. 1982. A critique of the analytical methods used in examining decomposition data obtained from litter bags. *Ecology* (63)6:1636-1642.

## **4 ARTÍCULO 1: DESCOMPOSICIÓN DE LAS HOJAS DEL CACAO Y DE SEIS ESPECIES ARBÓREAS, SOLAS Y EN MEZCLAS, EN ALTO BENI, BOLIVIA**

### **4.1 Introducción**

La sostenibilidad productiva y de la fertilidad del suelo de los sistemas agroforestales (SAF) con cacao en Alto Beni, Bolivia, dependen de un eficiente ciclaje de nutrientes. La biomasa que se incorpora al suelo debe ser de calidad y en cantidad suficiente de manera que los nutrientes que se encuentran presentes en las hojas sean liberados al suelo de acuerdo con las demandas del cultivo y se minimice su pérdida, además se mantenga las funciones de la materia orgánica (MO) en el suelo (Mafongoya *et al.* 1998; Beer *et al.* 1998).

La eficiencia del ciclaje de nutrientes en SAF de cacao es baja debido a que la hojarasca esta dominada por fuentes de carbono de baja calidad que requiere de 11 a 12 meses para su total descomposición (Jaimez y Franco 1999; Frimpong *et al.* 2007) resultando en una lenta disponibilidad e inmovilización de nutrientes. Las especies arbóreas en los SAF aportan biomasa que puede manejarse para mantener la fertilidad del suelo, en un corto, mediano y largo plazo, sobre todo si se considera a las especies arbóreas que aportan con biomasa de alta calidad.

La mezcla de biomasa de diferente calidad da lugar a dos tipos de interacciones favorables para el proceso de descomposición. La primera resulta en un flujo por lixiviación de nutrientes y otros constituyentes solubles (carbohidratos, compuestos fenólicos), los que estarán disponibles para la comunidad microbiológica, macrofauna y a su vez para el cultivo (Mafongoya *et al.* 1998; Lavelle 2005). La segunda interacción se refiere a la modificación del medioambiente físico, que resulta en un incremento o mantenimiento de la humedad, importante para la actividad de la biota del suelo sobre todo en lugares donde existen periodos secos definidos (Mafongoya *et al.* 1998).

Varios estudios se han realizado con el fin de examinar la descomposición de mezclas de hojarasca, considerando sobre todo el ciclaje de N. En muchos de los estudios se ha encontrado que no hay diferencias en la descomposición al mezclar hojarasca de

diferente calidad, lo que ha llevado a concluir que durante el proceso de descomposición ocurren interacciones positivas y negativas a lo largo del tiempo (Gardner y Cardon 2004). El hecho de que una interacción sea considerada positiva o negativa dependerá del fin con que se realice la mezcla, como favorecer el ciclaje de nutrientes, beneficiar a la comunidad descomponedora, cambios a nivel microclimático o cambios en la calidad de la hojarasca (Gardner y Cardon 2004).

Si se conociera con profundidad las interacciones que ocurren cuando se añaden residuos de diferente calidad sobre otros recalcitrantes, se podría desarrollar estrategias sobre la forma, el tiempo de aplicación y el tipo de mezclas de sustratos (Palm 1995, Mafongoya *et al.* 1998, Schroth 2003), y de esta manera regular una oportuna utilización de los nutrientes liberados. Por tanto, conocer el proceso de descomposición de las hojas del cacao y de diferentes especies arbóreas que se combinan frecuentemente con el cultivo de cacao en Alto Beni permite caracterizar el ciclaje de nutrientes bajo las condiciones de la zona. El objetivo del presente estudio fue analizar la composición química y el proceso de descomposición del follaje de cacao y seis especies arbóreas así como la interacción de la mezcla de hojas de seis especies con las del cacao, durante las épocas lluviosa y seca, en la zona de Alto Beni, Bolivia.

## **4.2 Materiales y métodos**

El estudio se realizó en Alto Beni, Departamento de La Paz, Bolivia, en la zona de vida de Bosque Húmedo Subtropical. La precipitación anual es de 1300 mm; periodo lluvioso de octubre a marzo y periodo seco de abril a agosto. Temperatura entre 16 y 26 °C, humedad relativa entre 70 a 80 % y brillo solar de 4,7 horas día<sup>-1</sup> (Somarriba y Trujillo 2005). El área seleccionada pertenece a la unidad fisiográfica clasificada como llanuras de origen aluvial, que corresponde a superficies con micro relieve plano a ondulado suave, cuyos sedimentos provienen de las partes más elevadas y de los causes del río Alto Beni. Presenta suelos profundos, de textura fina a media, con predominancia de limos y arcillas, libres de pedregosidad, drenaje interno excesivo a imperfecto, fertilidad moderada a alta, erosión nula a ligera y peligro de anegamiento moderado (CUMAT 1987).

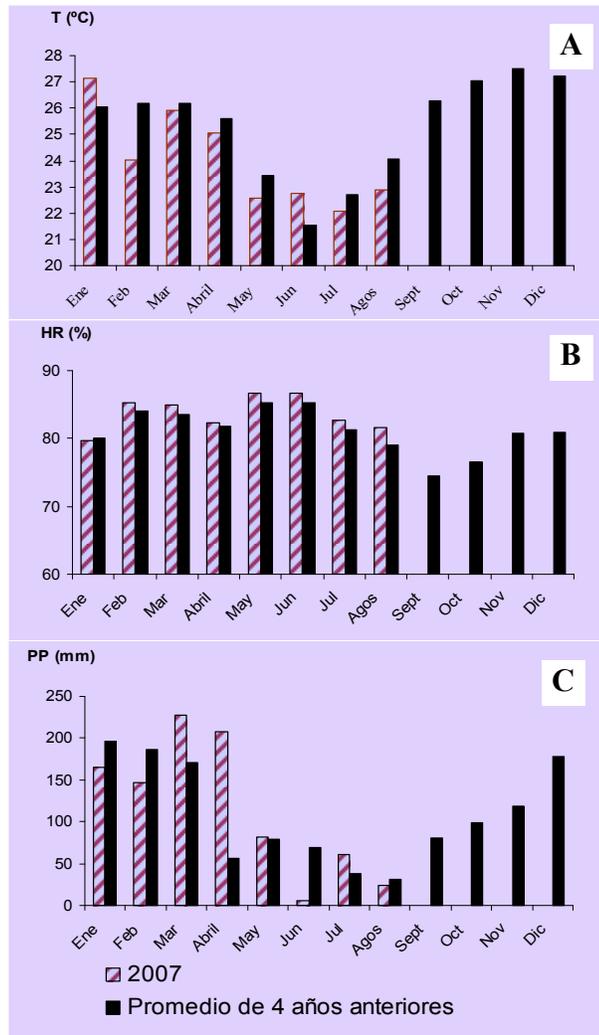


Figura 1. Condiciones climáticas registradas a lo largo del estudio en comparación a datos de años anteriores, registrados en la estación meteorológica de Sapecho-Alto Beni. A: temperatura media; B: humedad relativa y C: precipitación mensual. (Fuente: SENAMHI 2007)

Los datos mensuales de temperatura y humedad relativa registrados durante la evaluación presentaron un comportamiento bastante similar al registrado en años anteriores; sin embargo, los datos de precipitación muestran un marcado incremento en los meses de marzo y abril en relación a años pasados. La temperatura media durante los meses de enero a mayo fue de 25,5 °C, entre abril y agosto descendió a un promedio de 22,5 °C. La humedad relativa se incrementó a partir del mes de mayo hasta el mes de agosto con un promedio de 84,4 %. La precipitación mensual de enero a abril tuvo un promedio de 187 mm y descendió drásticamente en los siguientes meses con un promedio de 43 mm (Figura 1).

Se seleccionaron seis especies arbóreas (Cuadro 1) considerando sus características fenológicas (Anexo 1), abundancia y frecuencia de asociación con el cultivo de cacao en la zona (Ortiz 2006). De cada especie se colectaron hojas frescas, las que se secaron bajo sombra durante siete días. Las hojas secas pesadas fueron colocadas en bolsas de descomposición en las cantidades necesarias según la proporción de cada tratamiento. En el caso de las mezclas, las hojas de cada especie arbórea se pusieron sobre las hojas de cacao en una proporción de 50% de cada una (Cuadro 1).

*Cuadro 1. Especies en estudio y proporción de follaje que se puso a descomponer para cada tratamiento*

<b>Especies arbóreas:</b>	<b>Proporción de follaje (%)</b>	<b>Nombre del tratamiento</b>
<i>Bactris gasipaes</i>	100	BG
<i>Centrolobium ochroxylum</i>	100	CO
<i>Erythrina poeppigiana</i>	100	EP
<i>Inga edulis</i>	100	IE
<i>Myroxylon balsamum</i>	100	MB
<i>Swietenia macrophylla</i>	100	SM
<i>Theobroma cacao</i>	100	TC
<i>Theobroma cacao</i> + <i>Bactris gasipaes</i>	50+50	TC+BG
<i>Theobroma cacao</i> + <i>Centrolobium ochroxylum</i>	50+50	TC+CO
<i>Theobroma cacao</i> + <i>Erythrina poeppigiana</i>	50+50	TC+EP
<i>Theobroma cacao</i> + <i>Inga edulis</i>	50+50	TC+IE
<i>Theobroma cacao</i> + <i>Myroxylon balsamum</i>	50+50	TC+MB
<i>Theobroma cacao</i> + <i>Swietenia macrophylla</i>	50+50	TC+SM

Las bolsas fueron trasladadas e instaladas bajo un diseño de parcelas divididas con estructura de parcelas en bloques a manera de repeticiones, en cuatro cacaotales cercanos a la Estación Experimental meteorológica de Sapecho (EES). Los cacaotales se seleccionaron bajo cuatro diferentes coberturas de sombra. El nivel de sombra es considerado dentro del efecto de bloque, considerando que presenten condiciones similares de suelo, manejo y edad del cultivo. En cada cacaotal se definió una parcela temporal con un área de 1000 m<sup>2</sup> donde se colocaron 169 bolsas de hojas ubicadas aleatoriamente dentro de los límites de la parcela, tratando de que tengan similares condiciones microclimáticas. La evaluación de la época húmeda comenzó en el mes de enero y de la época seca en mayo. Se hicieron evaluaciones a los 8, 23, 55, 84 y 113 días después de ubicar las bolsas en campo. Un total de 52 bolsas de descomposición pertenecientes a los 13 tratamientos multiplicados por los 4 cacaotales eran colectadas en cada evaluación. La hojarasca residual encontrada en cada bolsa fue pesada en cada fecha de evaluación. En el caso de las mezclas se pesó de forma separada el follaje de ambas especies hasta donde era posible su distinción. Para determinar

el contenido de humedad se secó una muestra húmeda de 10 g en horno a una temperatura de 65 °C (Anderson e Ingram 1993) hasta obtener peso constante.

Para determinar la composición química de cada follaje evaluado, una muestra representativa de hojas sin descomponer fue analizada en los laboratorios del CATIE y se determinó el contenido inicial de N, P, carbohidratos solubles, celulosa, lignina y polifenoles totales, según las metodologías propuestas por Schroth (2003). Para el análisis estadístico la variable peso remanente se ajustó a modelos lineales y exponenciales, los que se correlacionaron con el peso remanente real (Coeficiente de Pearson). Las variable tasa de descomposición fue sometida a análisis de varianza y pruebas de significancia (LSD de Fisher) utilizando el programa estadístico INFOSTAT versión 2007p.

## 4.3 Resultados

### 4.3.1 Composición química de tejido foliar

La biomasa aportada por las especies en estudio difiere en sus características químicas (Cuadro 2). Todas las especies a excepción de *Swietenia macrophylla* presentan contenido de N superiores al umbral de 2 % propuesto por Palm y Rowland (1997) y Mafongoya *et al.* (1998), siendo la especie *Erythrina poeppigiana* la de mayor contenido (3,8 %). El contenido de P en la mayoría de las especies fue inferior al umbral establecido por Mafongoya *et al.* (1998) a excepción de *Myroxylon balsamum* que presenta 0,3 %. La especie *S. macrophylla* presenta los valores más bajos de N (1,7 %) y de P (0,1 %). Todas las especies a excepción de *S. macrophylla* presentaron contenido de carbohidratos solubles inferior al umbral del 20% establecido por Palm y Rowland (1997).

Alto contenido en lignina y polifenoles le otorgan carácter de baja calidad o recalitrante a los sustratos (Mafongoya *et al.* 1998). Los valores más altos de lignina lo presentan *Theobroma cacao* (6,5 %) y *M. balsamum* (6,3 %); siendo la especie *I. edulis* la de menor contenido (3,8 %). Para polifenoles totales, *C. ochroxylum* presenta el contenido más alto (3,4%) y *E. poeppigiana* presenta 8,5 veces menos polifenoles en relación a la de mayor contenido siendo su valor relativamente inferior en cuanto al umbral que es de 2 a 3 % (Palm *et. al* 2001; Palm 1995).

Cuadro 2. Contenido de N, P y compuestos de carbono presentes en las hojas de las especies en estudio en Alto Beni, Bolivia.

Parámetro /Especie	<i>Bactris gasipaes</i> (BG)	<i>Centrolobium ochroxylum</i> (CO)	<i>Erythrina poeppigiana</i> (EP)	<i>Inga edulis</i> (IE)	<i>Myroxylon balsamum</i> (MB)	<i>Swietenia macrophylla</i> (SM)	<i>Theobroma cacao</i> (TC)	Umbral/ Índice*
Nitrógeno (%N)	2,6	3,1	3,8	2,8	2,5	1,7	2,2	>2 <sup>4,5</sup>
Fósforo (%P)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,1	0,2	>0,25 <sup>4</sup>
Lignina (%L)	5,1	4,5	4,7	3,8	6,3	4,9	6,5	<15 <sup>5</sup> ; 5 a 15 <sup>3</sup>
Polifenoles totales (%PT)	2	3,4	0,4	1,9	2,1	2,7	2,6	<2 a 10 <sup>5</sup> ; <3 <sup>6</sup>
Carbohidratos solubles (%CS)	15,6	16	5,1	17,2	19,7	21,1	19,7	20 a 30 <sup>5</sup>
Celulosa (%Cel)	14,2	14,3	17,6	16	19,3	16,7	16,2	30 a 70 <sup>4</sup>
Carbono Total (%C)	45,6	49,7	45,8	49,9	48	48	47,7	.....
Relación C:N	17,7	16	12,1	17,4	19,6	27	21,3	<20 a 30 <sup>2</sup>
Relación C:P	239,9	261,6	199,1	370	146	479	324	<200 <sup>2</sup>
Relación Lig+PT:N	2,8	2,5	1,4	2	3,5	4,3	4,2	<10 <sup>3</sup>
Relación Lignina:N	2	1,5	1,2	1,4	2,5	2,9	3	<23 a 25 <sup>1</sup>
Relación Lignina:P	25,5	22,5	23,5	25,3	21	49	43,3	500-620 <sup>1</sup>

\* Valores usados para clasificar un material orgánico en recalcitrante o lábil. <sup>1</sup>:Osono y Takeda 2004; <sup>2</sup>: Schroth 2003; <sup>3</sup>:Palm, *et al.* 2001; <sup>4</sup>:Mafongoya *et al.* 1998; <sup>5</sup>:Palm y Rowland 1997; <sup>6</sup>:Palm, *et al.* 1995.

En cuanto a la relación C:N y C:P, valores superiores a 20 y 200 respectivamente, son considerados restrictivos para la descomposición (Schroth 2003). *E. poeppigiana* y *M. balsamum* presentan valores adecuados para ambos parámetros. *S. macrophylla* presenta una relación C:N de 27 y C:P de 479, siendo éstos los valores más altos encontrados para ambos índices. Las especies restantes presentan valores por encima del umbral en la relación C:P, debido al bajo contenido de P que presentan la mayoría. Para C:N la mayoría se encuentra por debajo del umbral (Cuadro 2).

Los índices de lignina:N, lignina:P y lignina+polifenoles:N, permiten clasificar las especies en dos grupos. Un primer grupo que comprende a *S. macrophylla* y *T. cacao* que presentan valores superiores a 2,9; 43,3 y 4,2 respectivamente. *Bactris gasipaes*, *C. ochroxylum* y *E. poeppigiana* presentan valores inferiores a 1,5; 25,3 y 2,5 para los mismos índices y pueden agruparse en un segundo grupo como especies de mejor calidad (Cuadro 2). Las especies *Myroxylon balsamum*, *Centrolobium ochroxylum* e *Inga edulis* presentan valores extremos y medios solo para algunos parámetros, lo que no permite su clasificación en lábiles o recalcitrantes.

### 4.3.2 Humedad de la hojarasca

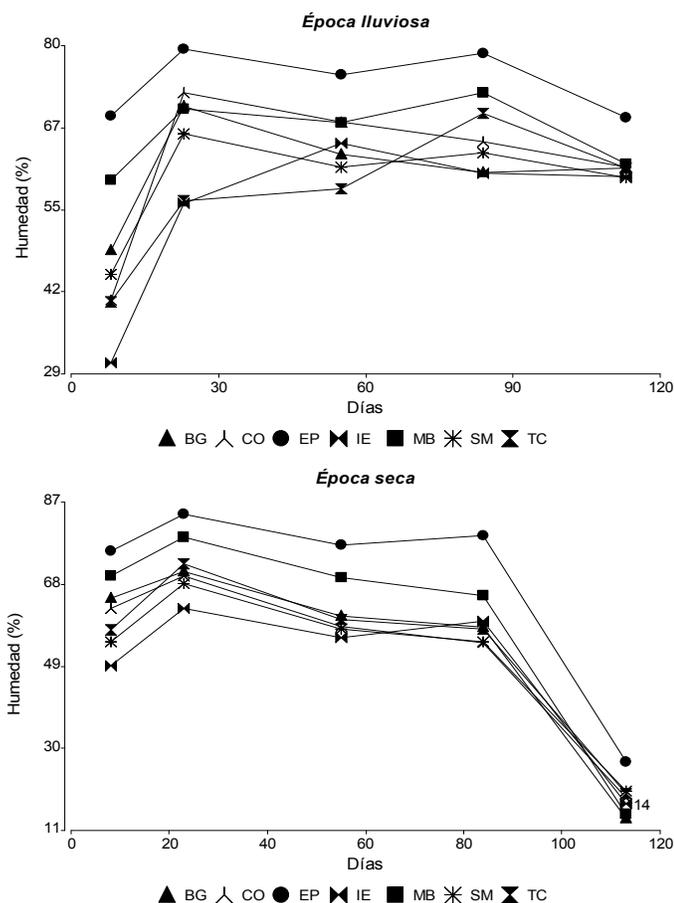


Figura 2. Contenido de humedad presente en las hojas en descomposición de las especies solas a lo largo del tiempo

Durante el periodo lluvioso, la humedad presente en la hojarasca se incrementa a lo largo del tiempo con valores entre 55 a 80 % (Figura 2). Para cada especie en estudio, el contenido de humedad es alto a los 23, 55 y 84 días y difiere a los otros tiempos de evaluación, siendo el tiempo de 8 días el de menor humedad ( $p < 0,001$ ). Las hojas de EP y MB presentan alta humedad y difiere de las especies BG, CO, SM, IE y TC que tienen todas un menor contenido de humedad ( $p < 0,001$ ). Durante la fase seca, el contenido de humedad se mantiene entre 48 % a 85 % hasta los 84 días y posteriormente se reduce hasta llegar a 12 % y 28 % a los 113 días ( $p < 0,001$ ) (Figura 2). A los 23 días de evaluación se presentó alto contenido de humedad en relación a los días 8, 55 y 84 días que presentan igual contenido y que difiere de la humedad presente a los 113 días que es baja ( $p < 0,001$ ). La humedad de EP es superior a la de BG y TC que presentan el contenido más bajo

( $p=0,0142$ ). Entre las especies CO, IE, MB y SM no existen diferencias y presentan valores intermedios en relación a las otras especies (Figura 2).

La humedad de las especies arbóreas solas y en mezcla con cacao es similar. A los 84 y 55 días durante la época lluviosa el contenido de humedad fue mayor a 55 % y se presentó el menor contenido a los 8 días de evaluación ( $p<0,001$ ). Cacao con EP presenta el contenido más alto en humedad con un promedio de 61 % y es diferente a cuando el cacao se combina con SM e IE y a cuando se encuentra solo que es inferior a 53 % ( $p=0,0476$ ). Las mezcla de cacao con CO, MB y BG son iguales en contenido de humedad con un promedio de 56 % ( $p=0,0476$ ) (Figura 3).

Durante la época seca, a los 23 días de evaluación se presenta el contenido más alto de humedad, superior al 60 % y difiere de los otros tiempos de evaluación, sobre todo con el registrado a los 113 días donde la humedad desciende hasta un 19% ( $p<0,001$ ). El cacao con EP presenta el contenido más alto de humedad en todas las evaluaciones y es diferente a la mezcla con BG, SM e IE que presentan menor humedad ( $p=0,0493$ ). Cuando el cacao se encuentra solo el contenido de humedad es similar a cuando se encuentra combinado con MB y CO (Figura 3).

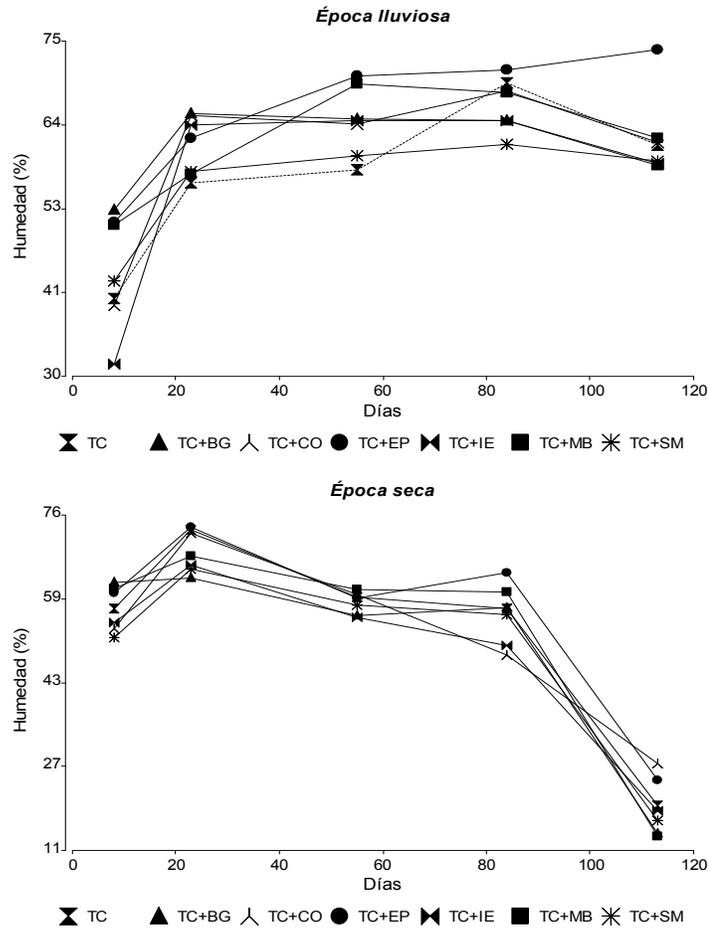


Figura 3. Contenido de humedad presente en las hojas en descomposición de las especies en mezcla con cacao a lo largo del tiempo

### 4.3.3 Tasas de descomposición de las hojas de las especies en estudio

Para todas las especies en estudio, el modelo exponencial simple fue el de mejor ajuste al comportamiento de la variable pérdida de peso de las hojas a lo largo del tiempo, lo que se comprueba por la alta correlación encontrada entre el peso real observado y el peso remanente estimado bajo el modelo a un tiempo de 113 días ( $R^2 > 0,95$ ;  $p < 0,001$ ).

#### 4.3.3.1 Descomposición de las hojas de cada especie sola

Al comparar las tasas de descomposición de las hojas entre las épocas lluviosa y seca (Figura 4), se puede observar diferencias para cada especie en estudio. Así, la especies BG, EP y MB presentan tasas de descomposición más altas durante la época húmeda que para la seca ( $p < 0,001$ ). Mientras que las especies CO, IE, TC y SM no presentan tasas de descomposición significativamente diferentes en ambas épocas ( $p < 0,001$ ).

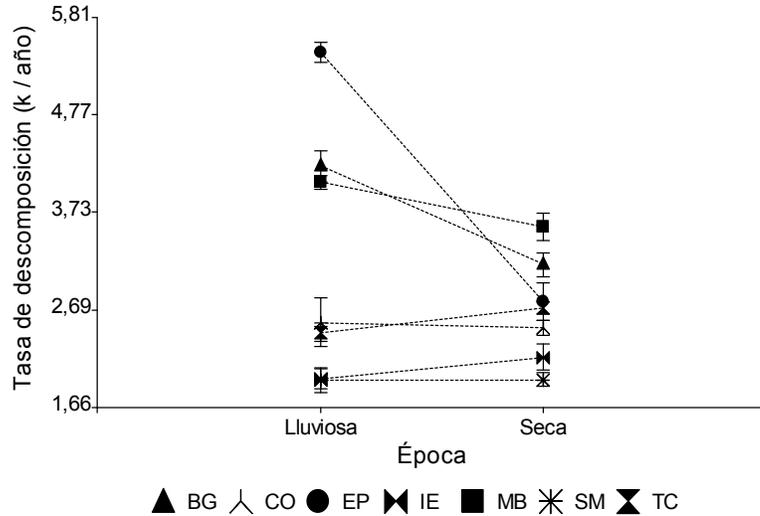


Figura 4. Tasas de descomposición de las hojas de las especies solas en las épocas lluviosa y seca en Alto Beni, Bolivia.

Durante la época lluviosa, el orden de las especies de mayor a menor tasa es el siguiente: EP>BG≥MB>CO≥TC>IE≥SM. Las tasas de descomposición difieren significativamente entre las especies estudiadas, EP presenta la tasa más alta (5,44 año<sup>-1</sup>), le sigue las especies BG y MB que presentan tasas similares estadísticamente (p<0,001). Las especies CO y TC tienen igual tasa de descomposición y ésta es superior a la de las especies IE y SM que presentan las tasas más bajas de las especies en estudio (Cuadro 3, Figura 5 A y B).

Cuadro 3. Tasas de descomposición (k) a los 113 días de las hojas de cada especie en estudio en dos épocas de evaluación

Tratamiento	Tasa de descomposición [k año <sup>-1</sup> ] (Modelo exponencial)	
	Época lluviosa	Época seca
<i>Erythrina poeppigiana</i> (EP)	5,44 A	2,78 C
<i>Bactris gasipaes</i> (BG)	4,22 B	3,18 B
<i>Myroxylon balsamum</i> (MB)	4,05 B	3,58 A
<i>Centrolobium ochroxylum</i> (CO)	2,56 C	2,50 C
<i>Theobroma cacao</i> (TC)	2,45 C	2,72 C
<i>Inga edulis</i> (IE)	1,96 D	2,19 D
<i>Swietenia macrophylla</i> (SM)	1,94 D	1,95 D

Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (p<0,001)

Para la época seca la especie MB presenta la tasa más alta de descomposición (3,58 año<sup>-1</sup>) y difiere significativamente entre si de las otras especies (p<0,001), le sigue la

especie BG. Las especies CO, EP y TC no presentan diferencias entre ellas, al igual que las especies SM e IE que presentan las tasas más bajas (Cuadro 3, Figura 5 A y B).

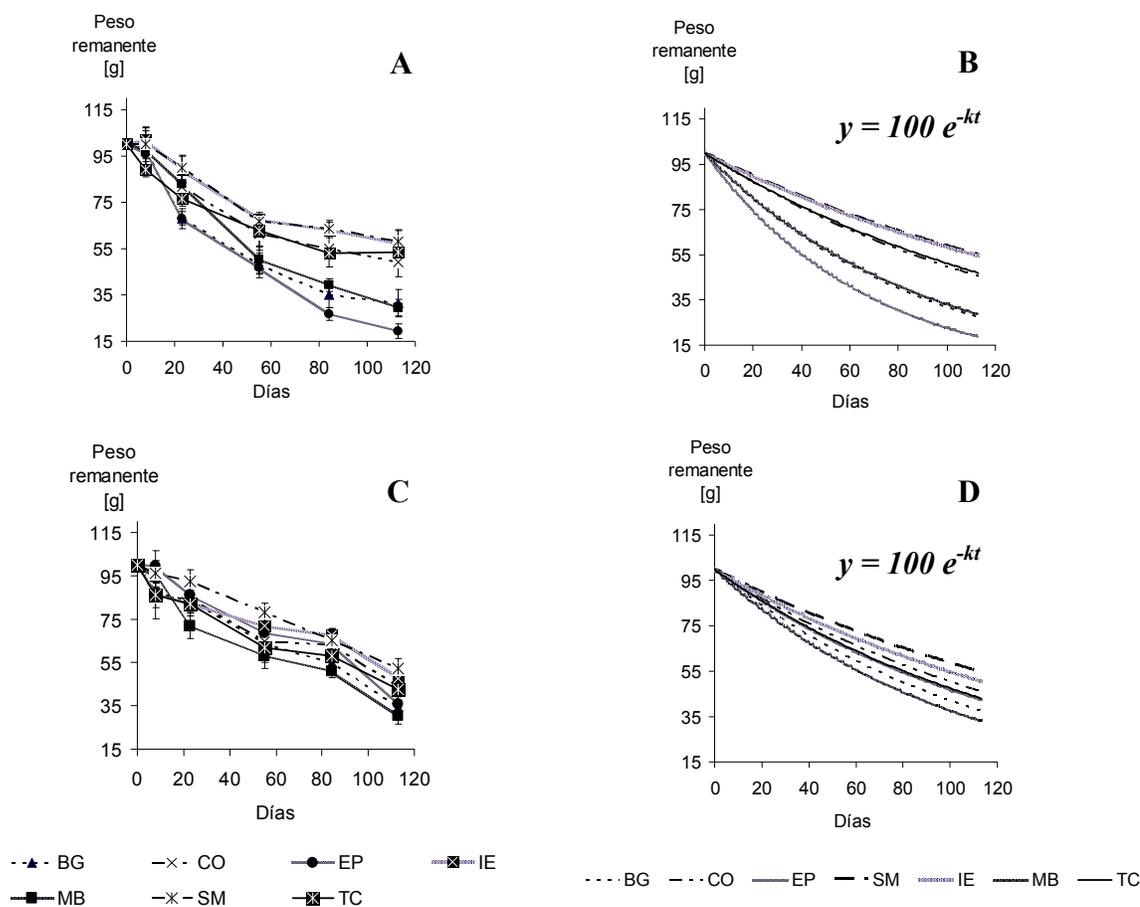


Figura 5. Curvas de descomposición de las hojas de las diferentes especies solas hasta los primeros 113 días. A: Curvas de peso remanente observado durante la época lluviosa. B: Curvas de peso remanente a partir del modelo exponencial para la época lluviosa. C: Curvas de peso remanente durante la época seca. D: Curvas de peso remanente a partir del modelo exponencial para la época seca. Ecuación exponencial:  $y$ : peso remanente;  $e$ : logaritmo en base natural;  $k$ : tasa de descomposición;  $t$ : número de días.

#### 4.3.3.2 Descomposición de las especies de sombra cuando se encuentran en mezcla sobre el cacao

Cuando las hojas de las especies de sombra se encuentran en mezcla sobre el cacao las tasas de descomposición también difieren entre épocas dependiendo de la especie. EP y SM presentan tasas más altas durante la época lluviosa, y MB es la única especie que presenta alta tasa para la época seca ( $p < 0,001$ ). Las especies CO, BG e IE no presentan diferencias entre épocas (Figura 6).

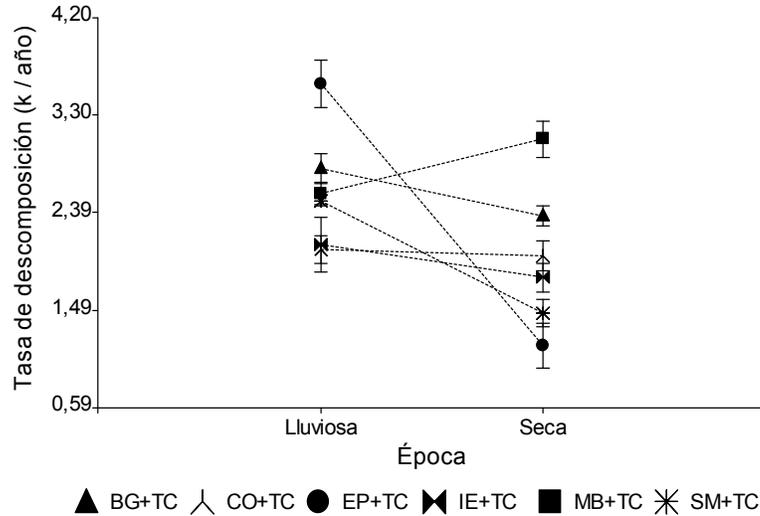


Figura 6. Tasas de descomposición de las hojas de las especies en mezcla sobre el cacao en las épocas lluviosa y seca.

En la época lluviosa, cuando las hojas de las especies de sombra se encuentran sobre las hojas de cacao, la tasa de descomposición de EP es la más alta y difiere de las otras especies. A diferencia de cuando las hojas se encuentran solas, en mezcla con cacao, SM presenta similar tasa a BG y MB y no difiere de IE, y las especies IE y CO presentan las tasas más bajas de descomposición ( $p < 0,001$ ). Durante la época seca, las tasas de descomposición son diferentes de las encontradas durante la época lluviosa. La especie MB presenta la tasa más alta de descomposición, BG y CO presentan tasas similares y las especies EP y SM presentan tasas más bajas en relación a las otras especies ( $p < 0,001$ ) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Tasas de descomposición ( $k$ ) de las hojas de las especies de sombra cuando se encuentran en mezcla sobre el cacao a los 113 días en dos épocas de evaluación

Tratamiento	Tasa de descomposición [ $k$ año <sup>-1</sup> ] (Modelo exponencial)	
	Época lluviosa	Época seca
<b>Especies en mezcla con <i>Theobroma cacao</i>:</b>		
• <i>Erythrina poeppigiana</i> (EP)	3,59 A	1,17 E
• <i>Bactris gasipaes</i> (BG)	2,80 B	2,36 B
• <i>Myroxylon balsamum</i> (MB)	2,57 B	3,08 A
• <i>Swietenia macrophylla</i> (SM)	2,51 BC	1,47 DE
• <i>Inga edulis</i> (IE)	2,10 CD	1,80 CD
• <i>Centrolobium ochroxylum</i> (CO)	2,05 D	2,00 BC

Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,001$ )

### 4.3.3.3 Descomposición de las hojas de cacao cuando se encuentra en mezcla con las hojas de las especies de sombra

La tasa de descomposición del cacao bajo la interacción de las hojas de las otras especies difiere significativamente entre épocas cuando se encuentra en mezcla con MB, CO e IE; y cuando las hojas de cacao se encuentran en mezcla con MB la tasa es mayor en la época lluviosa y para las otras mayor en la época seca (Figura 7). Durante la época lluviosa, la tasa de descomposición ( $k$ ) del cacao solo resultó ser de  $2,45 \text{ año}^{-1}$  y no difiere significativamente cuando se combina con las especies BG y CO. Cuando se encuentra bajo la interacción de MB y EP la tasa de descomposición del cacao es mayor a  $3,22 \text{ año}^{-1}$  ( $p < 0,001$ ). En el caso de la combinación de cacao con SM e IE, el cacao presenta una tasa de descomposición baja menor a  $1,78 \text{ año}^{-1}$  (Cuadro 5, Figura 8 A y B).

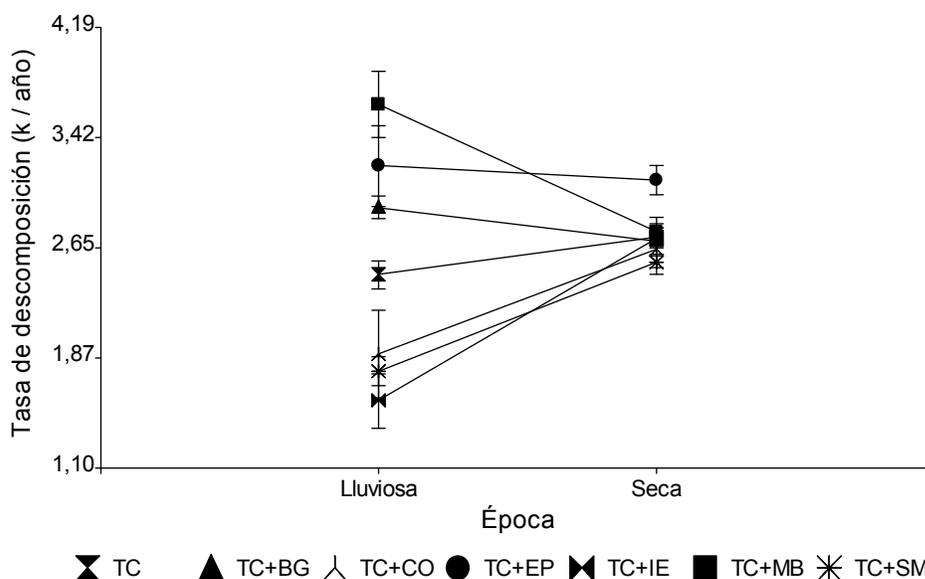


Figura 7. Comparación en las épocas lluviosa y seca de las tasas de descomposición de las hojas del cacao bajo la interacción de las otras especies

Para la época seca, sólo la combinación de cacao con EP resulta en una tasa de descomposición más alta del cacao ( $3,12 \text{ año}^{-1}$ ), mientras que el cacao presenta una tasa de descomposición similar en mezcla con las otras especies a cuando se encuentra solo ( $p < 0,001$ ) (Cuadro 5, Figura 8 C y D).

Cuadro 5. Tasas de descomposición ( $k$ ) de las hojas del cacao en combinación con otras especies registradas a los 113 días en dos épocas de evaluación

Tratamiento	Tasa de descomposición [ $k$ año <sup>-1</sup> ] (Modelo exponencial)	
	Época lluviosa	Época seca
	• <i>Theobroma cacao</i> (TC)	2,45 CD
<i>Theobroma cacao</i> en mezcla con:		
• <i>Myroxylon balsamum</i> (TC+MB)	3,65 A	2,76 B
• <i>Erythrina poeppigiana</i> (TC+EP)	3,22 AB	3,12 A
• <i>Bactris gasipaes</i> (TC+BG)	2,93 BC	2,69 B
• <i>Centrolobium ochroxylum</i> (TC+CO)	1,90 DE	2,64 B
• <i>Swietenia macrophylla</i> (TC+SM)	1,78 E	2,55 B
• <i>Inga edulis</i> (TC+IE)	1,57 E	2,71 B

Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ).

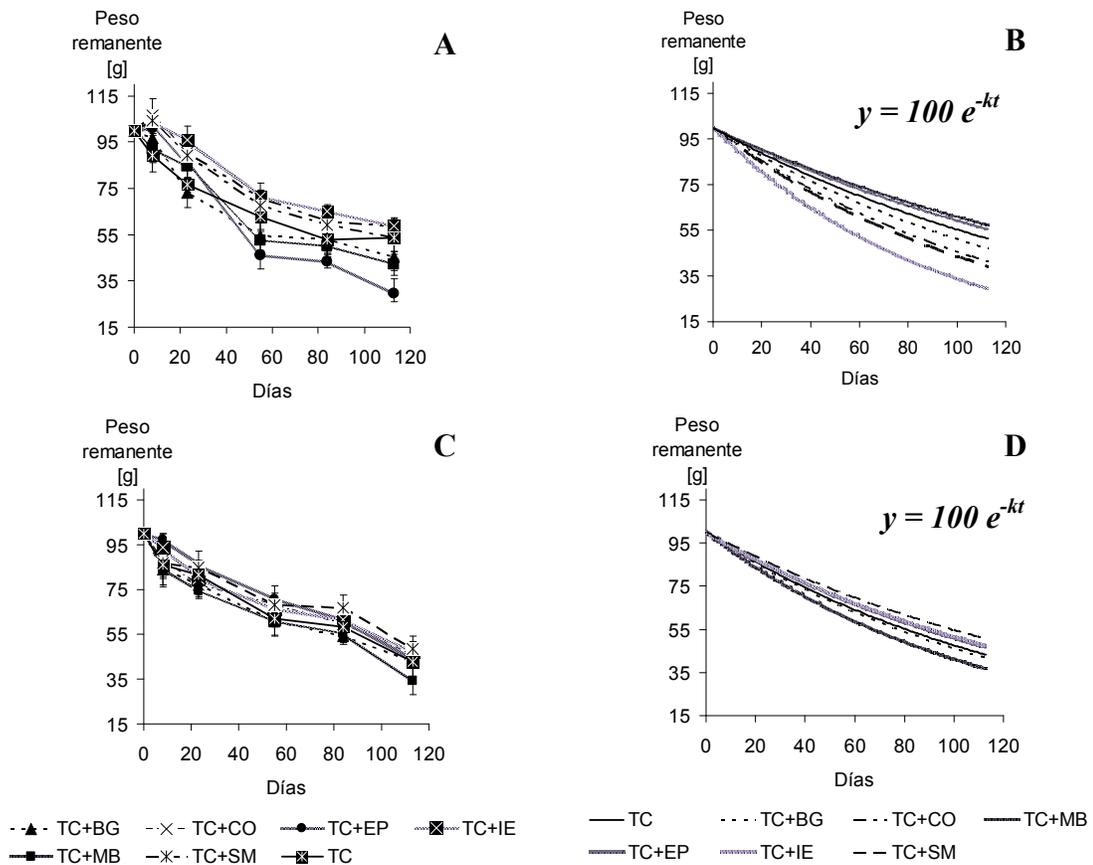


Figura 8. Curvas de descomposición de hojas de cacao cuando se encuentran en mezcla con hojas las otras especies de sombra para los primeros 113 días. A: Curvas de peso remanente observado durante la época lluviosa. B: Curvas de peso remanente a partir del modelo exponencial para la época lluviosa. C: Curvas de peso remanente durante la época seca. D: Curvas de peso remanente a partir del modelo exponencial para la época seca. Ecuación exponencial:  $y$ : peso remanente;  $e$ : logaritmo en base natural;  $k$ : tasa de descomposición;  $x$ : número de días.

#### 4.4 Discusión

Si bien la descomposición está en función de varios factores, las características químicas (compuestos de C, N y P) contribuyen en gran medida para entender y explicar este proceso, dado que las condiciones climáticas fueron similares al evaluar la descomposición de las diferentes hojas (Palm 1995, Mafongoya *et al.* 1998). Los índices de calidad de material orgánico integran las relaciones existentes entre los compuestos de C (ligninas, polifenoles totales) con el contenido de N y P; y dan una primera aproximación para explicar las tasas descomposición y mineralización de nutrientes de un determinado material (Mafongoya *et al.* 1998). Especies con alto contenido en N y P, y bajo en ligninas y polifenoles totales, generalmente se las clasifica como lábiles y su inversa como recalcitrantes (Mafongoya *et al.* 1998). La clasificación por sus características químicas no es precisa, porque algunas especies muestran niveles definidos para determinados parámetros, pero para otros no. Dentro del grupo de especies estudiadas, se puede discriminar como especies lábiles a *E. poeppigiana* y *M. balsamum*; especies recalcitrantes a *S. macrophylla* y *T. cacao*; y especies con un nivel intermedio entre lábiles y recalcitrantes a *B. gasipaes*, *C. ochroxylum* e *I. edulis*.

La discriminación de un sustrato por su calidad en: alta, intermedia o baja, responde a las necesidades presentes en el sistema. En el caso de los SAF con cacao, se debería dar prioridad a las especies lábiles, tanto por su aporte en nutrientes y porque el sistema está gobernado por fuentes de carbono de carácter recalcitrante (cacao). Además, debería considerarse otras características de las hojas, como la consistencia, tamaño y dureza, área específica, entre otras. Estas características influyen sobre la capacidad de retención de humedad de las hojas que es determinante en el proceso de descomposición, puesto que favorece el desarrollo de la población microbiana y su actividad, además promueve la descomposición. Por tanto, el contenido de humedad y su retención en el tejido foliar, son características que permiten clasificar las especies en estudio en: especies de alta capacidad de absorción y retención de humedad como *E. poeppigiana*, de capacidad intermedia: *M. balsamum* y *C. ochroxylum*; y de baja capacidad: *I. edulis*, *S. macrophylla* y *T. cacao*.

Bajo las condiciones contrastantes de periodos lluviosos y secos definidos, como las encontradas en el presente estudio, se debería dar mayor importancia a las especies que tienen capacidad de retener humedad en condiciones secas o con menor precipitación, las

que presentan tasas de descomposición altas. También, se puede diferenciar la biomasa de algunas especies, que si bien no retienen humedad, al estar en mezcla con otras especies, sobre todo cuando se encuentran por encima, logran conservar la humedad a nivel del suelo, lo que favorece a la descomposición de las hojas de las especies que se encuentran por debajo como el cacao en el caso del sistema en estudio.

La presencia de especies con características recalcitrantes dentro de un sistema agroforestal con cacao, limita la rápida disponibilidad de nutrientes para el cultivo, porque provoca la inmovilización de nutrientes por la comunidad biológica (Berg y McLaugherty 2003). Si se requiere acelerar el ciclaje de nutrientes a partir de la biomasa aportada por las especies de sombra se debería combinar especies que presenten rápida descomposición y alto contenido en N y P (Munguía 2003). Beer *et al.* (1998) menciona que es necesario mantener una relación C:N entre 9 y 11 para lograr una adecuada mineralización de nutrientes en el sistema, lo que se puede conseguir con el aporte continuo de hojarasca de calidad.

La especie *E. poeppigiana* presenta el valor más alto en cuanto a N, el más bajo contenido de lignina y polifenoles, es por eso que las relaciones C:N y Lig+PT:N se encuentran dentro de las más adecuadas para considerarla como una especie de calidad y de rápida descomposición (Payan 2005). El efecto de *E. poeppigiana* sobre el cacao se considera sinérgico debido a que el cacao presentó una tasa de descomposición más alta en presencia de esta especie a diferencia de cuando se encontró solo. Este efecto sinérgico en la mezcla de un material lábil sobre otro recalcitrante se puede deber a la transferencia de nutrientes por mecanismos físicos y biológicos como la lixiviación o difusión (McTiernan *et al.* 1997), que puede alterar la dinámica de N, P y otros elementos a través de cambios en la disponibilidad de alimento para la micro y macrofauna y alteraciones a nivel del microhábitat (Hattenschwiler 2005).

Una situación contraria al efecto de *E. poeppigiana*, fue la observada en la interacción de cacao con *I. edulis*, donde el cacao presentó una tasa de descomposición menor a cuando se encuentra solo, lo que involucra que la mineralización y ciclaje de nutrientes se vean restringidos. Esta situación considerada antagónica, puede deberse a que, pese al alto contenido de N de *I. edulis*, se trata de un sustrato de calidad intermedia por presentar una relación C:P alta, además de presentar baja retención de humedad, lo que no

favorece las condiciones nutricionales y microclimáticas para la acción de las microflora y macrofauna. La calificación de una interacción como antagónica depende de los requerimientos del sistema, puesto que los sustratos de baja calidad pueden funcionar como cubierta mejorando las condiciones microclimáticas (Berg y McLaugherty 2003, Palm 1995), que si bien no mantienen la humedad del mantillo en si, pero mejoran la humedad del suelo especialmente durante la época seca. Situación que se puede demostrar por las tasas de descomposición encontradas durante la época seca cuando el cacao se encuentra combinado con IE y CO que presenta tasas más altas que las encontradas durante la época lluviosa.

Las interacciones que se dan al mezclar sustratos de alta y baja calidad no solo se ven reflejadas en la pérdida de peso, sino, en la dinámica de nutrientes, en la abundancia y actividad de la biota del suelo principalmente (Gartner y Cardon 2004). Por tanto, la calificación de una interacción como sinérgica o antagónica requiere de estudios meticulosos en cuanto a procesos específicos en el suelo, como la mineralización e inmovilización de nutrientes, fracciones de carbono, etc., que afectan las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo (Payan 2005).

La tasa de descomposición se puede considerar un parámetro más consistente que el peso remanente a un tiempo dado, porque permite integrar en un solo valor el efecto del tiempo sobre el proceso de descomposición e inferir de forma precisa sobre la descomposición de un determinado sustrato y la comparación entre tratamientos. Además, las tasas de descomposición eliminan errores de contaminación de muestras que pueden existir por las condiciones microclimáticas de sitio, suelo adherido, etc; que influye en el peso remanente observado, errores que son nivelados con las curvas de descomposición modeladas bajo un modelo lineal y exponencial. Las tasas de descomposición encontradas bajo el modelo exponencial para las diferentes especies concuerdan con los valores encontradas por otros autores tanto para cacao (Isaac *et al.* 2005) como para otras especies en condiciones de trópico húmedo (Palm 1990).

Las tasas de descomposición difieren entre las épocas húmeda y seca dependiendo de la especie. Bajo un ambiente seco, algunas especies se descomponen más rápido que bajo condiciones húmedas. Esta variación esta ligada a la capacidad de retención de humedad de las hojas, así como a la consistencia física de las hojas más que sus

características químicas, por tanto, existe otro tipo de interacciones relevantes que se deben conocer para un mejor entendimiento del proceso de descomposición. El hecho de que las tasas de descomposición sean diferentes cuando las especies se encuentran encima de las hojas de cacao a cuando se encuentran solas, se puede deber a que el cacao modifica las condiciones microclimáticas, además, al tratarse de una especie recalcitrante, no permite el desarrollo de la flora microbial e impide el acceso de la macrofauna sobre las hojas de las otras especies. Por tanto, cuando se añaden sustratos de calidad, puede existir una mejor compensación entre ambos sustratos y con ello obtener una liberación gradual de nutrientes (Beer *et al.* 1998).

Dado que las tasas de descomposición difieren entre las épocas lluviosa y seca, el momento en que un determinado sustrato es añadido al sistema es importante para acelerar el ciclaje de nutrientes. Al comparar las gráficas del peso remanente entre la época húmeda y seca, se puede observar que para la época seca existe una disminución acentuada en el peso a partir del día 84, llegando el peso a los 113 días a ser igual o inferior que el de la época húmeda. Esto se puede deber a que, para la descomposición de un determinado material no es necesario que la precipitación sea abundante como en la época húmeda, sino que, la conservación de la humedad a través del tiempo mantiene la actividad de la biota del suelo y su contribución en el proceso de descomposición. Además, abundante precipitación puede crear condiciones anaerobias que pueden restringir el desarrollo de la flora del suelo y por tanto también influir en la macrofauna y su acción.

La forma de crecimiento (perennifolia y caducifolia) es una característica propia de cada especie que interfiere en el momento en que la biomasa de los árboles (ramas y hojas) retorna al suelo y se hace disponible más que en términos de calidad de hojarasca y su descomposición (Wedderburn y Carter 1999). Dentro de las especies estudiadas, *C. ochroxylum*, *B. gasipaes* y *M. balsamum* son especies de carácter siempre verde, mientras que *I. edulis*, *E. poeppigiana* y *S. macrophylla* son caducifolias. Ambos grupos presentan especies con tasas de descomposición contrastantes, por lo que la forma de crecimiento de las especies es una clasificación muy amplia para poder caracterizar el ciclaje de nutrientes en sistemas diversos. Más que una clasificación por sus características químicas y de descomposición, se debería ver la forma en que la biomasa contribuya a un ciclaje de nutrientes más eficiente, lo que se puede lograr a través del manejo.

Una forma de manejar el aporte de la biomasa puede ser a través de las podas. La práctica de poda puede variar y estar de acuerdo con las necesidades del cultivo para lograr sincronización entre la liberación de nutrientes y las demandas del cultivo (Mafongoya *et al.* 1998) y también sincronía en la distribución de los residuos de la biomasa en lugares donde existe abundante sistema radicular para una mejor absorción de nutrientes (Schroth 2003) y con ello lograr mayor eficiencia en el ciclaje de nutrientes, además de regular la entrada de luz que es determinante para la productividad del cultivo (Beer *et al.* 1998)

Los sistemas agroforestales con cacao en Alto Beni, están dominados por especies que si bien aportan biomasa, no son especies ricas en nutrientes. Las características por las cuales se seleccionan las especies de sombra influyen de manera relevante sobre las interacciones entre los árboles y el cultivo, en el ciclaje de nutrientes. Así, los árboles que pueden podarse permiten alterar la interacción (Beer *et al.* 1998), pero por lo general, la selección de especies que se asocian al cultivo de cacao responde a otras necesidades. Todavía no se manejan criterios de poda y sus implicaciones en la fertilidad del suelo, cuando uno de los criterios relevantes para la selección de especies debería estar en función del aporte de biomasa rica en nutrientes (Schroth 2003), sobre todo en sistemas en los que no es común la aplicación de fertilizantes ni abonos.

## 4.5 Conclusiones

- Las características químicas del tejido foliar y las relaciones entre el contenido de N, P con la concentración de C, ligninas y polifenoles totales, permiten clasificar las especies en tres grupos: especies lábiles como *E. poeppigiana* y *M. balsamum*; especies recalcitrantes a *S. macrophylla* y *Theobroma cacao*; y especies con un nivel intermedio entre lábiles y recalcitrantes como *B. gasipaes*, *C. ochroxylum* e *I. edulis*.
- En la época lluviosa el orden de mayor a menor tasa es: EP>BG≥MB>CO≥TC>IE≥SM. *E. poeppigiana* presenta la tasa más alta ( $k=5,44 \text{ año}^{-1}$ ) y la más baja las especies *S. macrophylla* e *I. edulis* ( $k \approx 1,94 \text{ año}^{-1}$ ). Para las época seca el orden es el siguiente: MB>BG>EP>TC≥CO>IE≥SM. La más lábil es *M. balsamum* ( $k=3,58 \text{ año}^{-1}$ ) y la más recalcitrante *S. macrophylla* ( $k=1,95 \text{ año}^{-1}$ ). Las hojas de cacao se consideran recalcitrantes por su alto contenido en ligninas y polifenoles totales, pero, por su tasa de descomposición se la puede considerar intermedia.
- La tasa de descomposición del cacao es más alta cuando se encuentra en mezcla con MB ( $k = 3,65 \text{ año}^{-1}$ ) y EP ( $k = 3,22 \text{ año}^{-1}$ ) durante la época lluviosa, y sólo es más rápida durante la época seca cuando esta combinada con EP ( $k = 3,12 \text{ año}^{-1}$ ) y es más lenta cuando se encuentra en mezcla con *I. edulis* ( $k=1,57 \text{ año}^{-1}$ ) y con *S. macrophylla* ( $k=1,78 \text{ año}^{-1}$ ).
- Al estudiar la mezcla de biomasa de diferente calidad sobre la del cacao, se conoce con mayor precisión el comportamiento del ciclaje de nutrientes en este tipo de sistemas, que se diferencia de cuando se estudia las especies solas.

## 4.6 Recomendaciones

- Facilitar información concerniente a la descomposición puede convertirse en una herramienta complementaria que el agricultor debería conocer en el momento de seleccionar las especies que pueden ser asociadas en los SAF de cacao.
- Se debería estudiar la interacción de las características físicas de las hojas en el proceso de descomposición y su relación con el contenido de nutrientes, como una herramienta al alcance del productor que contribuya a explicar si una especie es de alta o baja calidad, para promover otro tipo de especies que presenten similares características a las de *E. poeppigiana*.
- El manejo de la biomasa involucra el desarrollo de técnicas a nivel de campo sobre el manejo de las especies, como épocas de poda, conocimiento sobre la capacidad de rebrote de las especies y contar con las herramientas necesarias para esta práctica.
- Para acelerar el proceso de descomposición y con ello optimizar el ciclaje de nutrientes dentro de los SAF de cacao, se debe incorporar biomasa fresca de calidad (alto contenido en N y P, bajo contenido en polifenoles y ligninas) como la que presenta *E. poeppigiana* (N=3,8%; y relación Lignina+polifenoles:N=1,4)
- El estudio de otras variables como la capacidad y tiempo de retención de humedad de un sustrato y las condiciones microclimáticas dentro del sistema, son variables que pueden contribuir a explicar las interacciones que ocurren en la mezcla de dos especies y determinar si su efecto es sinérgico o antagónico en el proceso de descomposición. La retención de humedad puede ser considerada como una característica que otorga calidad a un sustrato sobre todo en lugares donde existen periodos secos definidos.

## 4.7 Bibliografía

- Anderson, J; Ingram, J. 1993. Tropical soil biology and fertility. 2da edición. Oxford UK. CAB Internacional. 221p.
- Beer, J; Muschler, D; Kass, D; Somarriba, E. 1998. Shade management in coffee and cacao plantations. Agroforestry Systems 38: 139-164.
- Berg, B; McClaugherty, C. 2003. Plant litter. Decomposition, humus formation, carbon sequestration. Berlin, DE. © Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 286 p.

- CUMAT, 1987. Capacidad de uso mayor de la tierra, proyecto Alto Beni. La Paz, BO, Centro de investigaciones de la Capacidad de Uso Mayor de la Tierra (CUMAT). 146p.
- Frimpong, O; Asase, A; Mason, J y Danku, L. 2007. Shaded versus un-shaded cocoa: implications on litter fall, decomposition, soil fertility and cocoa pod development. Segundo simposio internacional: Sistemas Agroforestales Multiestratos con cultivos perennes.
- Gartner, T; Cardon, Z. 2004. Decomposition dynamics in mixed-species leaf litter. Mini-review. *Oikos* 104. 230-246 p.
- Hattenschwiler, S; Tiunow, A; Scheu, S. 2005. Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Annual Review Ecology Evolution System* 36:191-218.
- Heal, O; Anderson, J; Swift, M. 1997. Plant litter quality and decomposition: an historical overview. In. *Driven by nature: plant litter quality and decomposition*. Eds. Cadisch, G; Giller, K. CAB International. Wallingford, UK. p. 379-392.
- Isaac, M; Gordon, M; Thevathasan, N; Oppong, S; Quashie-Sam; J. 2005. Temporal changes in soil, carbon and nitrogen in west African multiestrata agroforestry systems: a chronosequense of pools and fluxes. *Agroforestry Systems* 65:23-31.
- Infostat, 2007. Software estadístico. Grupo infostat. FCA. Versión 2007p. Universidad Nacional de Córdoba, AR.
- Jaimez, R; Franco; W. 1999. Producción de hojarasca, aporte en nutrientes y descomposición en sistemas agroforestales de cacao y frutales. *Agrotropica* 11(1): 1-8.
- Lavelle, P, Spain, A. 2005. *Soil ecology*. Dordrecht, (Países Bajos). Springer. 2. ed.. 654 p.
- Mafongoya, P; Giller; K; Palm, C. 1998. Decomposition and nitrogen release patterns of tree prunnings and litter. *Agroforestry Systems* 38: 77-97.
- McTiernan, K; Ineson, P; Coward, P. 1997. Respiration and nutrient release from tree leaf litter mixtures. *Oikos* 78:527-538.
- Munguía, R. 2003. Tasas de descomposición y liberación de nutrientes de la hojarasca de *Eucalyptus deglupta*, *Coffea arabica* y de las hojas de *Erythrina poeppigiana* solas y en mezclas. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. CATIE. 76 p.
- Ortiz, M. 2006. Conocimiento local y decisiones de los productores de Alto Beni, Bolivia, sobre el diseño y manejo de la sombra en sus cacaotales. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. CATIE. 76 p.
- Palm, C; Sanchez, P. 1990. Decomposition and nutrient release patterns of the leaves of three tropical legumes. *Biotropica* 22(4):330-338
- \_\_\_\_\_. 1995. Contribution of agroforestry trees to nutrient requirements of intercropped plants. *Agroforestry Systems* 30:105-124.
- \_\_\_\_\_; Rowland, A. 1997. A minimum dataset for characterization of plant quality for decomposition. In. *Driven by nature: plant litter quality and decomposition*. Eds. Cadisch, G; Giller, K. CAB International. Wallingford, UK. p. 379-392.

- \_\_\_\_\_; Gachengo, C; Delve, R; Cadish, G; Giller, K. 2001. Organic inputs for soil fertility management in tropical agroecosystems: application of an organic resource database. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 83: 27-42.
- Payan, F. 2005. Effects of *Erythrina poeppigiana* pruning residues on soil organic matter in organic coffee plantations. Thesis Doctor of Philosophy. Turrialba, CR. CATIE. 272p.
- Schroth, G. 2003. Decomposition and nutrient supply from biomass. *In* Trees, crops and soil fertility: concepts and research methods. Schroth, G; Sinclair, F. (Eds). CAB International. Wallingford, UK. 437 p.
- SENAMHI (Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología) 2007. Datos meteorológicos de la Estación Experimental Sapecho, Alto Beni, Bolivia. BO. sp.
- Somarriba, E; Trujillo, L. 2005. El proyecto “Modernización de la cacaocultura orgánica del Alto Beni, Bolivia”. *Agroforestería en las Américas* 43-44.
- Wedderburn, M; Carter, J. 1999. Litter decomposition by four functional tree types for use in silvopastoral systems. *Soil Biology and Biochemistry* 31:455-461.

## **5 ARTÍCULO 2: COLONIZACIÓN DE LAS HOJAS DEL CACAO Y DE SEIS ESPECIES ARBÓREAS POR LA MICROFLORA Y MACROFAUNA DURANTE EL PROCESO DE DESCOMPOSICIÓN, EN ALTO BENI, BOLIVIA**

### **5.1 Introducción**

La biomasa que aportan los árboles y el cultivo en los sistemas agroforestales con cacao es de gran importancia para regular el ciclaje de nutrientes y carbono dentro del sistema, además de mantener las funciones biológicas del suelo (Beer *et al.* 1990, Schroth *et al.* 2001, Mendonca y Stott 2003). La biomasa (hojas y ramas) está compuesta en su mayor parte por celulosas y ligninas (80%). Las interacciones que se generan entre la biomasa y el suelo dependen de la descomposición, siendo este un proceso clave en el mantenimiento de la fertilidad del suelo porque regula la mineralización de los nutrientes y la formación de la materia orgánica.

La microflora y macrofauna del suelo tienen un rol preponderante en el proceso de descomposición porque son el vínculo entre la biomasa y las funciones del suelo (Zak *et al.* 2003). El rol que desempeña la comunidad microbiana es importante por su capacidad en degradar estos compuestos a través de la producción de enzimas. El desarrollo y actividad de la comunidad microbiana se encuentran altamente relacionados con la calidad del sustrato que tienen disponible (Wardle y Lavelle 1997), lo que facilita el proceso de colonización y las funciones del resto de la fauna del suelo, proceso que interviene de forma directa en el ciclaje de nutrientes como nitrógeno y fósforo. Favorecer las interacciones entre las poblaciones microbianas y la mesofauna en el suelo a través del manejo de la biomasa puede contribuir a una mejor eficiencia en el ciclaje de nutrientes de la materia orgánica (Schroth 2003).

Conocer el proceso de colonización y las funciones de la micro y macrofauna durante la descomposición de hojas de diferentes especies arbóreas, permitirá tener una idea de cómo y cuándo los nutrientes que se encuentran en las hojas de los árboles de sombra son reciclados y devueltos al sistema, además, permite conocer las funciones biológicas que se favorecen al añadir un determinado sustrato. Información que será de utilidad para el

manejo del ciclaje de nutrientes y el mantenimiento de los procesos biológicos del suelo (Beer, *et al.* 1998; Somarriba y Beer 1999, Schroth et al. 2001), importante en la sostenibilidad de los sistemas productivos.

La biomasa de las especies más abundantes y frecuentes que se asocian al cultivo de cacao en Alto Beni se caracteriza en función de sus propiedades químicas y de su tasa de descomposición. A partir de ello se considera tres tipos<sup>1</sup>: especies lábiles (*Erythrina poeppigiana*, *Myroxylon balsamum*), especies de carácter recalcitrante (*Swietenia macrophylla*, *Theobroma cacao*) y especies de calidad intermedia (*Bactris gasipaes*, *Centrolobium ochroxylum* e *Inga edulis*).

Los objetivos de la presente investigación fueron:

- Conocer la intervención y acción de la microflora durante del proceso de descomposición de hojas de cacao y de seis especies arbóreas y las mezclas de las seis especies con cacao
- Determinar las población y acción de la meso y macrofauna que intervienen en el proceso de descomposición
- Determinar la relación entre las poblaciones de la biota del suelo y su actividad con las tasas de descomposición encontradas para cada especie en estudio

## **5.2 Materiales y métodos**

### **5.2.1 Ubicación**

El experimento se realizó en Alto Beni- Bolivia, que pertenece a la zona de vida de Bosque Húmedo Subtropical. Se encuentra a 250 km dirección NE de La Paz, con una precipitación anual de 1300 mm; periodo lluvioso de octubre a marzo y periodo seco de abril a agosto. Tiene una temperatura entre 16 y 26 °C, humedad relativa entre 70 a 80 % y brillo solar de 4,7 horas día<sup>-1</sup> (Somarriba y Trujillo 2005). El estudio se realizó en dos épocas cada una con 5 evaluaciones: la fase lluviosa, comprendida entre los meses de enero a abril y la fase seca de mayo a agosto. La precipitación acumulada durante la época

---

<sup>1</sup> Clasificación de las especies en estudio en función de su composición química (Artículo 1<sup>o</sup> del presente documento).

lluviosa fue alta para la segunda y tercera evaluación y fue disminuyendo en las posteriores al igual que la temperatura ambiente. La humedad en la hojarasca se mantuvo por encima del 40% para todas las evaluaciones (Figura 9A).

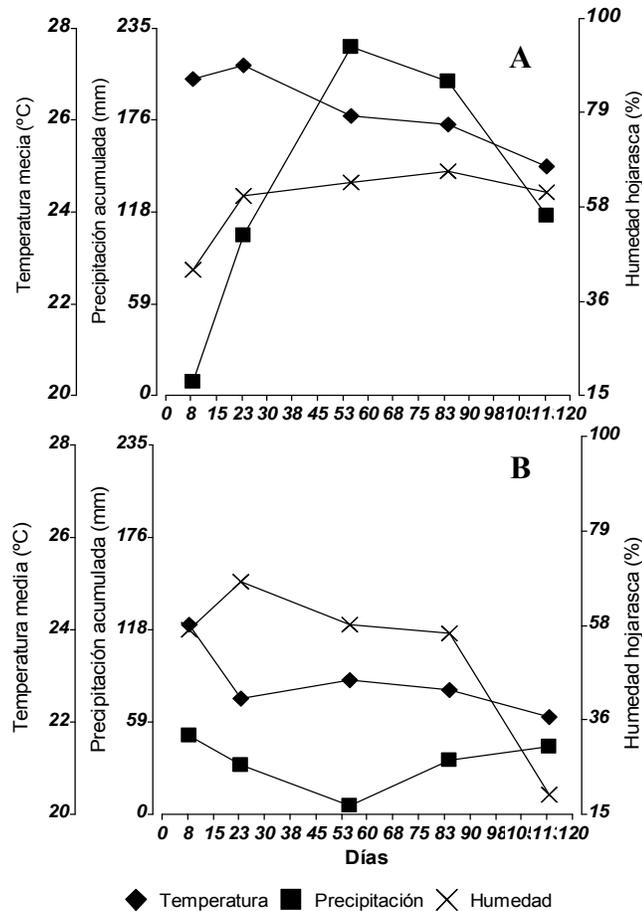


Figura 9. Temperatura media ambiente, precipitación acumulada para cada fecha de evaluación y humedad de la hojarasca. A: Época lluviosa. B: Época seca (SENAMHI, Estación Experimental Sapecho- Alto Beni 2007)

En contraste, durante la época seca la precipitación acumulada disminuyó considerablemente llegando a su menor valor entre los 23 y 55 días y no sobrepasó a los 60 mm en ninguna de las evaluaciones (Figura 9B). La temperatura también fue decayendo debido a la presencia de vientos fríos del sur conocidos como “surazos” característicos durante esta época. Pese a que la precipitación disminuyó drásticamente durante esta época, la humedad de la hojarasca se mantuvo por encima del 50 % hasta los 84 días y solo se observó una disminución para la última evaluación que llegó a 20 %.

El área seleccionada pertenece a la unidad fisiográfica clasificada como llanuras de origen aluvial, que corresponde a superficies con micro relieve plano a ondulado suave,

cuyos sedimentos provienen de las partes más elevadas y de los bordes del río Alto Beni. Presenta suelos profundos, de textura fina a media, con predominancia de limos y arcillas, libres de pedregosidad, drenaje interno excesivo a imperfecto, fertilidad moderada a alta, erosión nula a ligera y peligro de anegamiento moderado (CUMAT 1987).

Para evaluar la interacción de la microflora y macrofauna del suelo durante el proceso de descomposición, se utilizaron bolsas de hojarasca las que se dispusieron en cuatro cacaotales cercanos a la Estación Experimental meteorológica de Sapecho (EES), bajo un diseño de parcelas divididas con estructura de parcelas en bloques a manera de repeticiones.

### ***5.2.2 Material evaluado***

Se evaluó la descomposición de hojas de seis especies de árboles de sombra y de cacao, con tratamientos de 100% las especies puras y en mezcla de 50% hojas de las especies de sombra más 50% de hojas de cacao (Cuadro 6). Para ello se colectó hojas frescas de cada especie de interés presentes en las cercanías a los cacaotales. El follaje se dispuso en bolsas de descomposición hechas de cedazo plástico de 30 x 40 cm. Se dispuso 100 g de materia seca (MS) en caso de los tratamientos puros, para los tratamientos en mezcla se puso 50 + 50 g MS de hojas de cacao y de cada especie arbórea (Cuadro 6).

Las bolsas de hojarasca fueron ubicadas aleatoriamente dentro de los cacaotales de manera que tengan similares condiciones microclimáticas. La evaluación de la época lluviosa comenzó en el mes de enero y en la época seca en el mes de mayo con evaluaciones a los 8, 23, 55, 84, 113 días después de ser ubicadas en campo. Para cada fecha de evaluación se colectó una bolsa de hojarasca que fue trasladada en bolsas plásticas individuales a laboratorio para su respectivo pesaje, toma de muestra microbiológica y captura de macrofauna. El contenido de humedad se determinó mediante el secado en horno a temperatura de 65 °C (Anderson e Ingram 1993) hasta obtener el peso seco constante de 10 g de muestra húmeda.

Cuadro 6. Especies en estudio y proporción de follaje que se puso a descomponer para cada tratamiento

Especie 1	Proporción (%)	Especie 2	Proporción (%)	Nombre del tratamiento
<i>Bactris gasipaes</i>	100	-	-	BG
<i>Centrolobium ochroxylum</i>	100	-	-	CO
<i>Erythrina poeppigiana</i>	100	-	-	EP
<i>Inga edulis</i>	100	-	-	IE
<i>Myroxylon balsamum</i>	100	-	-	MB
<i>Swietenia macrophylla</i>	100	-	-	SM
<i>Theobroma cacao</i>	100	-	-	TC
<i>Theobroma cacao</i>	50	<i>Bactris gasipaes</i>	50	TC+BG
<i>Theobroma cacao</i>	50	<i>Centrolobium ochroxylum</i>	50	TC+CO
<i>Theobroma cacao</i>	50	<i>Erythrina poeppigiana</i>	50	TC+EP
<i>Theobroma cacao</i>	50	<i>Inga edulis</i>	50	TC+IE
<i>Theobroma cacao</i>	50	<i>Myroxylon balsamum</i>	50	TC+MB
<i>Theobroma cacao</i>	50	<i>Swietenia macrophylla</i>	50	TC+SM

### 5.2.3 Conteo de unidades formadoras de colonias de bacterias y hongos

De cada bolsa se tomó una muestra de 5 g de hojarasca residual que fue trasladada en recipientes de vidrio estériles al laboratorio del Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas (IIFB) perteneciente a la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA) en la ciudad de La Paz. Las colonias de microorganismos mesófilos aerobios cultivables (hongos y bacterias) se determinó mediante la siembra de diluciones sucesivas que contienen los microorganismos en medios de cultivo específicos para su desarrollo.

A un gramo de hojarasca fraccionada se añadió 20 ml de solución fisiológica estéril (NaCl 0,9 %) y se agitó la mezcla a 100 rpm por un lapso de 30 minutos. Posteriormente, 50  $\mu$ l de la solución se disolvió en 5 ml de solución fisiológica estéril (NaCl 0,9 %) correspondiendo a la dilución  $10^{-2}$  y se hicieron diluciones sucesivas hasta llegar a las diluciones  $10^{-4}$  y  $10^{-6}$ . Una muestra de 50  $\mu$ l de la dilución  $10^{-2}$  se sembró en placas petri con medio Sabouraud Dextrosa Agar para el cultivo de hongos, al que se añadió 50 mg ml<sup>-1</sup> de cloranfenicol para inhibir el desarrollo de bacterias. Para el cultivo de bacterias se tomó 50  $\mu$ l de las diluciones  $10^{-4}$  y  $10^{-6}$  y fueron sembradas en cajas petri con medio Agar Nutritivo. Posteriormente, las placas fueron selladas e incubadas en estufas a 25 °C y 33°C para hongos y bacterias respectivamente. El conteo se hizo después de la siembra a las 24 y 48 horas para bacterias y a 48 y 120 horas para hongos.

### **5.2.4 Actividad enzimática**

La producción enzimática extracelular de los microorganismos presentes (hongos y bacterias) fue determinada “*in situ*” sobre 4 g de hojarasca en sus diferentes estados de descomposición. Se determinó enzimas celulasas producidas para la degradación de celulosas por hidrólisis y enzimas lignolíticas que funcionan como catalizadores de la degradación de ligninas a través de procesos de oxidación.

#### **5.2.4.1 Enzimas celulasas**

Se utilizó el método “Ácido Dinitrosalicílico” (DNS) modificado por Álvares *et al.* (2005); que consiste en la medición de la cantidad de azúcares reductores producidos por la hidrólisis de los diferentes tipos de sustratos pertenecientes a los tratamientos en estudio, siendo mayor la actividad a medida que la cantidad de azúcares reductores se incrementa. El procedimiento se detalla a continuación: un gramo de hojarasca, para cada uno de los tratamientos, fue diluido en 20 ml de solución Carboximetil Celulosa (CMC) al 0,2 % e incubadas durante un periodo de 18 horas en movimiento (100 rpm) a una temperatura de 30 °C. A una muestra centrifugada de 50 µl de la solución de hojarasca se añadió 450 µl de 50 mM buffer citrato, pH 4,8; y se dejó incubar durante 60 minutos a una temperatura de 50 °C. Se agregó 750 µl del reactivo DNS y se sumergió en baño a temperatura de ebullición durante 5 minutos. Una vez enfriada la muestra se observó la absorbancia de la mezcla a una longitud de onda de 550 nm, con respecto a un control, que ha pasado por el mismo procedimiento exceptuando el proceso de incubación de la muestra; y un blanco que sirve de ajuste para la determinación de la absorbancia inicial (0 de absorbancia).

#### **5.2.4.2 Enzimas lignolíticas**

La actividad lignolítica se expresa a través de la medición de la presencia de enzimas oxidoreductasas como lacasas, lignina peroxidasas y manganeso peroxidasas. Para cada tratamiento y sus respectivas repeticiones se tomó 4g de hojarasca disuelta en 5 ml de solución fisiológica (NaCl 0,9 %) y se centrifugó a 1000 rpm por un lapso de 10 minutos (Método modificado - Terrazas *et al.* 2005)

**Lacasas:** se determinó a través de la medición espectrofotométrica a una longitud de onda de 420nm, de la oxidación del compuesto 2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)- sal diamónica (ABTS) a pH 3. 100 µl de muestra era analizada en 1 ml de

reacción con agua deionizada bajo la mezcla de 400 µl de buffer acetato y 100 µl de 10 mM ABTS.

**Lignina peroxidasas:** actividad que también se determinó por la oxidación del ABTS pero en presencia de peróxido de hidrógeno. Para ello 100 µl de muestra fueron analizados en una mezcla de 1 ml de agua desionizada a pH 3 que contiene 400 µl de buffer acetato, 100 µl de 10 mM ABTS y 100 µl de 0,5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Se utilizó un coeficiente de extinción molar  $\epsilon=36000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Las lecturas se hicieron a 420 nm, por un lapso de 1 minuto en espectrofotómetro (Programa CINTRA 5).

### ***5.2.5 Colonización por meso y macrofauna***

La hojarasca remanente en sus diferentes fases de descomposición fue colocada durante 5 días en trampas con embudos de Berlese-Tullgren que presentan en la base un recipiente con una solución de alcohol (70 %) y encima una lámpara de 25 Watts. La identificación de la fauna encontrada, hasta un nivel taxonómico de *Orden* y el conteo de individuos se realizaron con el uso de claves y la colaboración de especialistas en fauna de suelo de la Colección Boliviana de Fauna, perteneciente a la UMSA en la ciudad de La Paz.

### ***5.2.6 Análisis estadístico***

El experimento fue desarrollado bajo el diseño de parcelas divididas con estructura de parcelas en bloques. Los bloques corresponden a cuatro cacaotales con una superficie de 1000 m<sup>2</sup> a manera de repeticiones. Las parcelas principales corresponden a los tratamientos conformados por los diferentes sustratos, distribuidos de forma aleatoria dentro de cada bloque. Las subparcelas están conformadas por las mediciones en el tiempo. Ocho y cinco evaluaciones para las dos fases que tuvieron inicio en las épocas lluviosa y seca, respectivamente.

Los valores para cada variable en estudio fueron previamente transformados en base logarítmica (ln). Se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA) para un modelo de medidas repetidas en el tiempo con estructura bifactorial con interacción, dada por la combinación del factor tratamiento correspondiente a las especies en estudio (Cuadro 1) y el factor tiempo con cinco niveles para encontrar diferencias en las variables en estudio. Debido a que los datos están correlacionados en el tiempo, se modeló la estructura de

correlación usando el programa estadístico SAS Versión 9.1 (2003) (PROC MIX). Se probaron tres estructuras y la selección del mejor modelo se realizó a partir del criterio de Akaike y Bic, dejando como mejor modelo la estructura de Spatial Power.

El modelo experimental bajo el cual se realizó el correspondiente análisis estadístico es el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + B_i + S_j + T_k + ST_{jk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = respuesta del i-ésimo tratamiento en el j-ésimo bloque

$\mu$  = media general

$B_i$  = i-esimo efecto del bloque

$S_j$  = k-esimo efecto del tipo de sustrato

$T_k$  = k-esimo efecto del tiempo

$ST_{jk}$  = efecto de la interacción del sustrato por el tiempo

$\varepsilon_{ijk}$  = error asociado a cada observación, con distribución normal y no independientemente distribuido (esperanza cero y varianza común  $\sigma^2$ )

También se realizó correlaciones bajo el coeficiente de Pearson de las distintas variables con las tasas de descomposición encontradas y el contenido de humedad para cada tratamiento.

## 5.3 Resultados

A continuación se presenta el comportamiento de las distintas variables evaluadas durante el proceso de descomposición a lo largo del tiempo para las épocas lluviosa y seca, para las especies solas y en mezcla con cacao. Las gráficas presentadas corresponden al comportamiento de las especies solas y en mezcla con cacao correspondientes a los tratamientos (Cuadro 6).

### 5.3.1 Unidades formadoras de colonias de bacterias

Se encontró correlación positiva entre la humedad de la hojarasca con el número de colonias de bacterias, en las épocas húmeda y seca, cuando las hojas se encuentran solas y en mezcla con hojas de cacao ( $p < 0,0377$ ). Durante la época lluviosa, las colonias de bacterias en BG, EP, MB y TC presentan similar comportamiento a lo largo del tiempo, que

corresponde a poblaciones abundantes a los 8 y 55 días con una disminución considerable a los 23 y 113 días ( $p < 0,001$ ) (Figura 10A). Similar comportamiento presenta las mezclas de cacao con EP y MB (Figura 11B). Para CO e IE el número de colonias no varió mucho en el tiempo, observándose solo un incremento en una evaluación (Figura 10B). Para SM las poblaciones bacterianas presentan un comportamiento diferente puesto que solo presentan un ligero incremento a los 55 días (Figura 10C). En el caso de las mezclas de cacao con BG, CO, IE y SM, las poblaciones tienden a decrecer en el tiempo (Figura 11A).

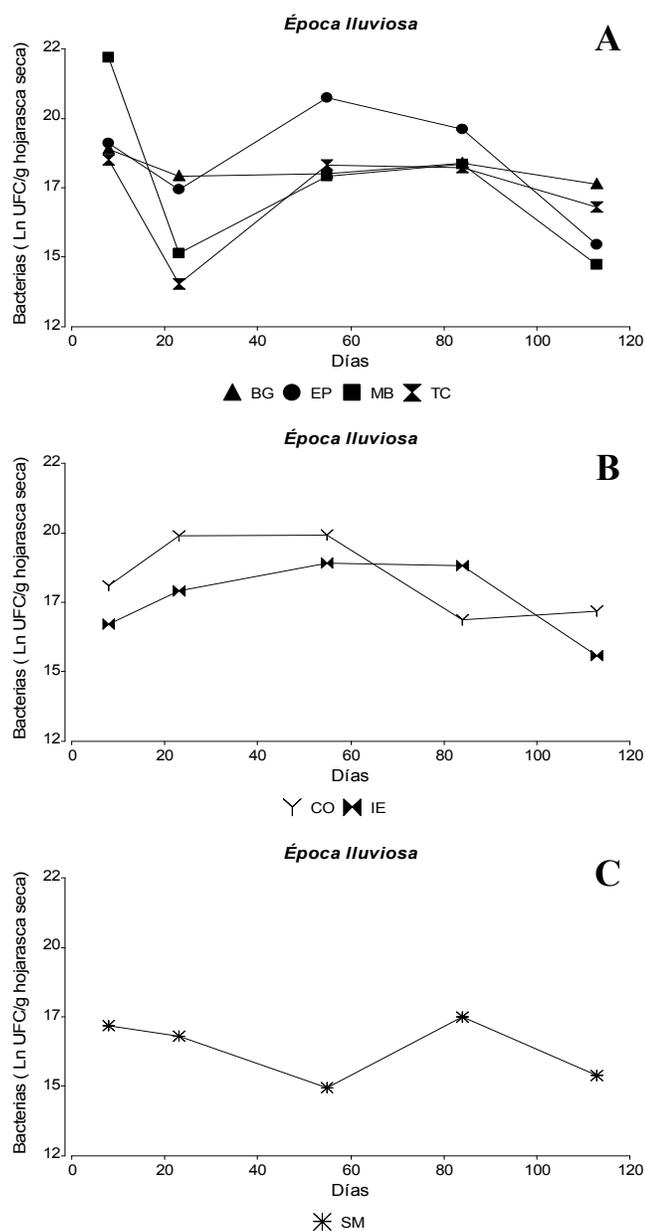


Figura 10. Distintos comportamientos (A, B y C) de colonias de bacterias desarrolladas a lo largo del tiempo durante el proceso de descomposición de hojas para las especies solas durante la época lluviosa

Las poblaciones de bacterias son abundantes para la especie IE y difieren de SM y MB significativamente ( $p=0,0349$ ), siendo estas dos últimas especies las que presentan menor número de bacterias a lo largo de todas las evaluaciones.

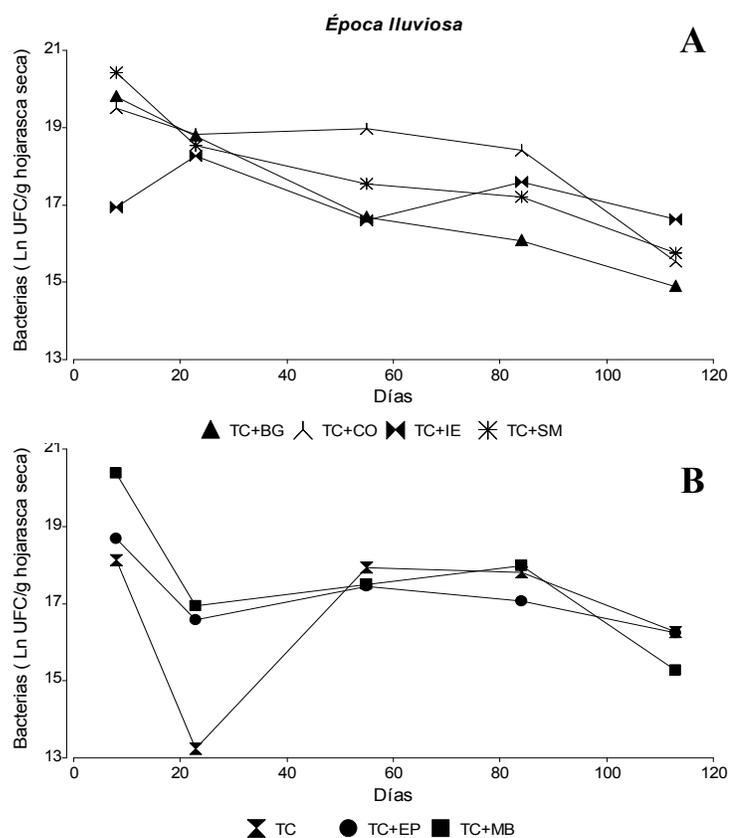


Figura 11. Diferentes comportamientos (A y B) de colonias de bacterias desarrolladas a lo largo del tiempo durante el proceso de descomposición para mezclas de hojas de las especies con el cacao durante la época lluviosa

En la época seca, nuevamente se observa tres comportamientos diferenciados de acuerdo con la especie, aunque el contenido de humedad en la hojarasca disminuye a lo largo del tiempo. BG y MB presentan abundante población de bacterias a los 8 y 55 días con una tendencia a disminuir al final del proceso (Figura 12A). Para TC al igual que la mezcla de cacao con BG el número de colonias disminuye a lo largo del proceso de descomposición (Figura 13B).

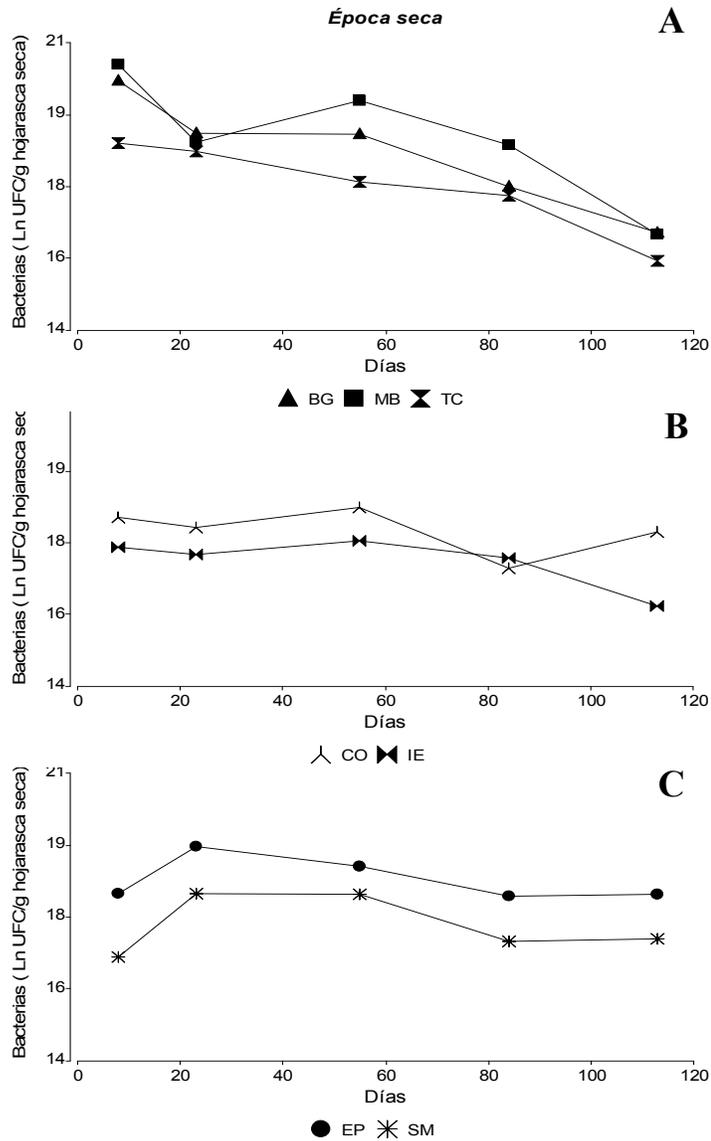


Figura 12. Diferentes comportamientos (A, B y C) de colonias de bacterias desarrolladas a lo largo del tiempo durante el proceso de descomposición de las hojas de las especies solas durante la época seca

En contraste, las especies EP y SM solas y en mezcla con cacao presentan solamente alta población a los 23 días al igual que CO y MB en mezcla (Figura 12 y 13). Para CO e IE solo a los 55 días las poblaciones se incrementan (Figura 12). La población bacteriana desarrollada en las especies MB y BG fue superior a las encontradas en las especies TC, SM e IE que presentan los conteos más bajos; y en las especies EP y CO el número de colonias de bacterias es intermedio en relación a las otras especies ( $p=0,0211$ ).

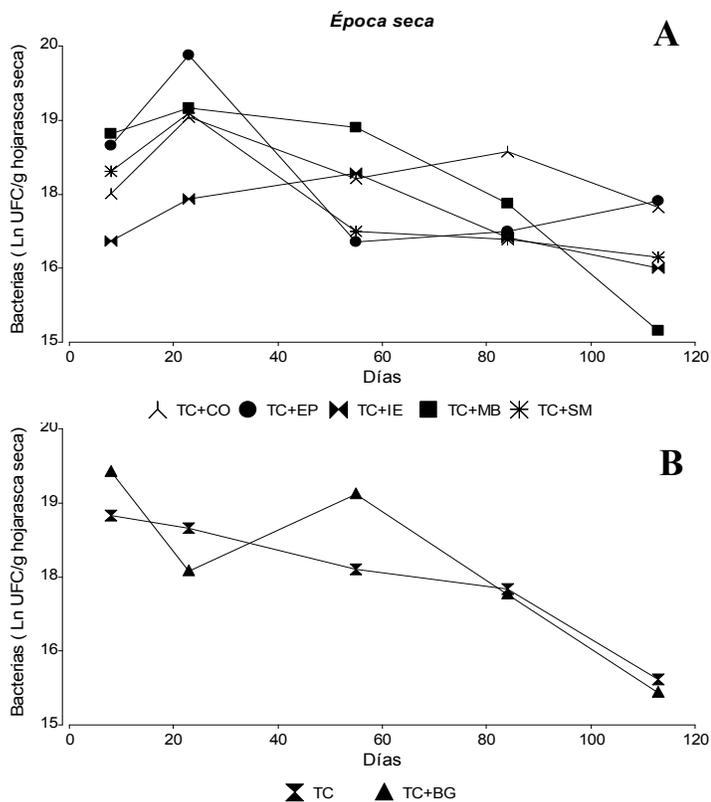


Figura 13. Diferentes comportamientos (A y B) de colonias de bacterias desarrolladas a lo largo del tiempo durante el proceso de descomposición de las hojas de las especies en mezcla con hojas de cacao durante la época seca

### 5.3.2 Unidades Formadoras de colonias de hongos

Esta variable se encuentra positivamente correlacionada con el contenido de humedad de las hojas ( $p < 0,001$ ). Las colonias de hongos que se desarrollaron sobre el tejido foliar remanente presentan un comportamiento similar para los distintos tratamientos a lo largo del tiempo. Existen diferencias en las poblaciones para cada fecha tanto para las especies solas como en mezclas ( $p < 0,001$ ). A los 55 días, la población de hongos es abundante y superior a la que se presenta a los 23 días y en las restantes evaluaciones, siendo a los 113 días significativamente menor ( $p < 0,001$ ) (Figuras 14, 15, 16 y 17).

En la época lluviosa se puede distinguir dos tendencias. Una primera que la comparten las especies CO, IE, MB, SM y TC que consiste en un incremento de las poblaciones en los días 23 y 55 ( $p < 0,001$ ) donde se presenta abundante población de hongos y que disminuye en evaluaciones posteriores (Figura 14A). Similar comportamiento presenta las poblaciones cuando el cacao se encuentra asociado a EP y MB (Figura 15B).

Otra tendencia consiste en abundante población de hongos a los 8 y 55 días con una significativa disminución a los 23 días; comportamiento que comparten las especies BG y EP (Figura 15B) y también se presenta cuando el cacao se encuentra en mezcla con BG, CO, IE, y SM (Figura 15A).

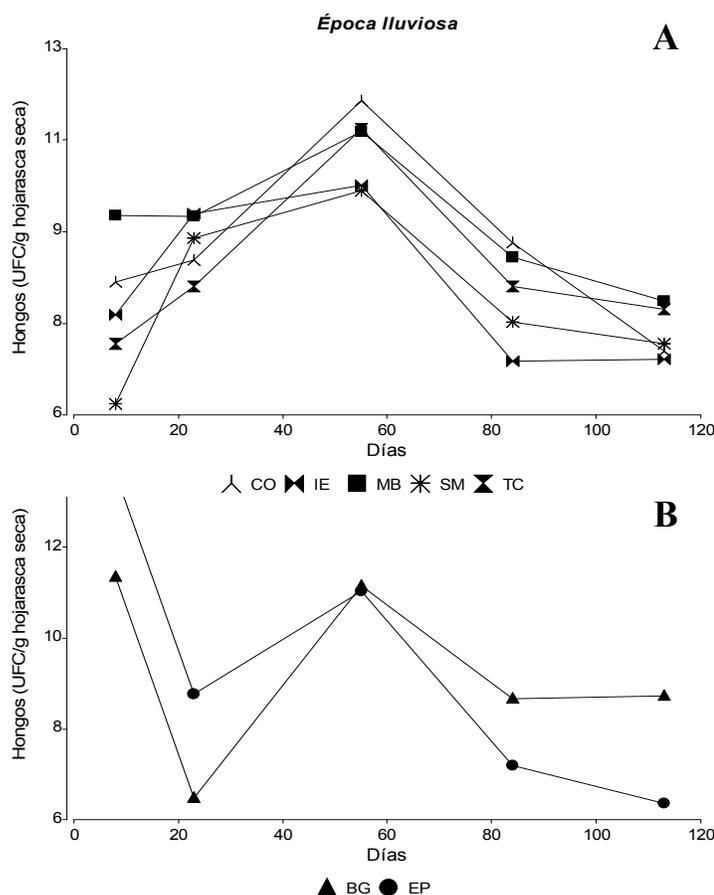


Figura 14. Diferentes comportamientos (A y B) de colonias de hongos desarrolladas durante el proceso de descomposición de hojas de las especies solas durante la época lluviosa

Durante la época seca, cuando las especies se encuentran solas se observan dos condiciones (Figuras 16 A y B): en BG, EP y SM las colonias de hongos se incrementan a los 55 días disminuyendo en las siguientes evaluaciones (Figura 16A). La segunda condición se presenta para las especies CO, IE, MB y TC, donde las poblaciones presentan un máximo número de colonias a los 23 días que disminuye en las evaluaciones posteriores (Figura 16B).

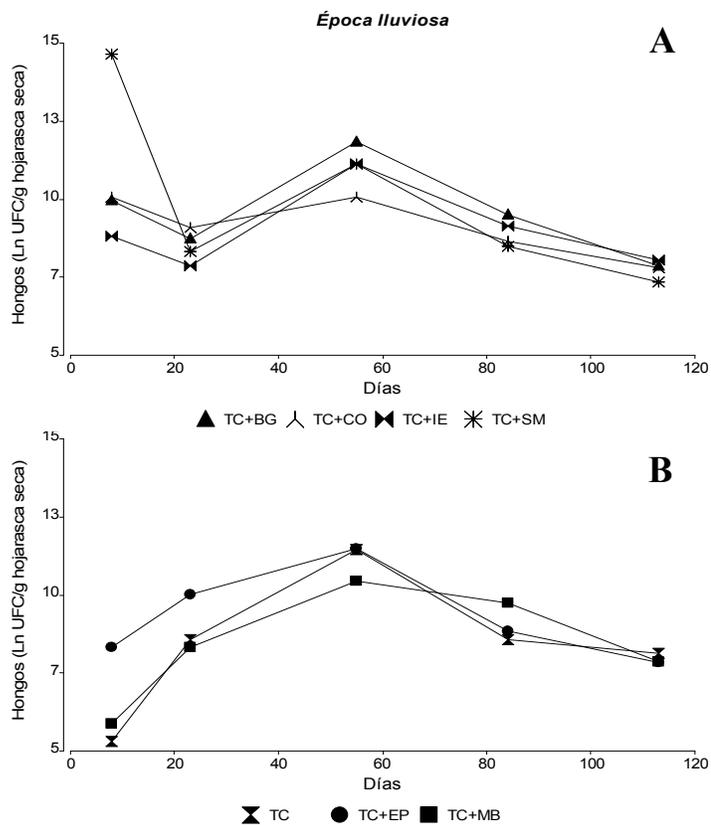


Figura 15. Diferentes comportamientos (A y B) de colonias de hongos desarrolladas durante el proceso de descomposición de hojas de cacao en mezcla con hojas de las especies de sombra en estudio durante la época lluviosa

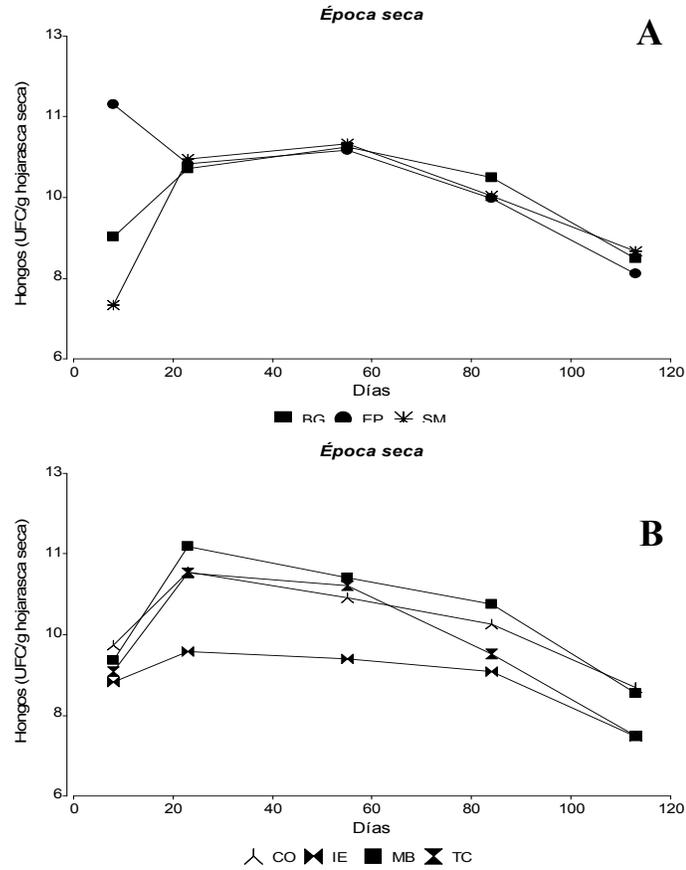


Figura 16. Diferentes comportamientos (A y B) de colonias de hongos desarrolladas durante el proceso de descomposición de hojas de las especies solas durante la época seca

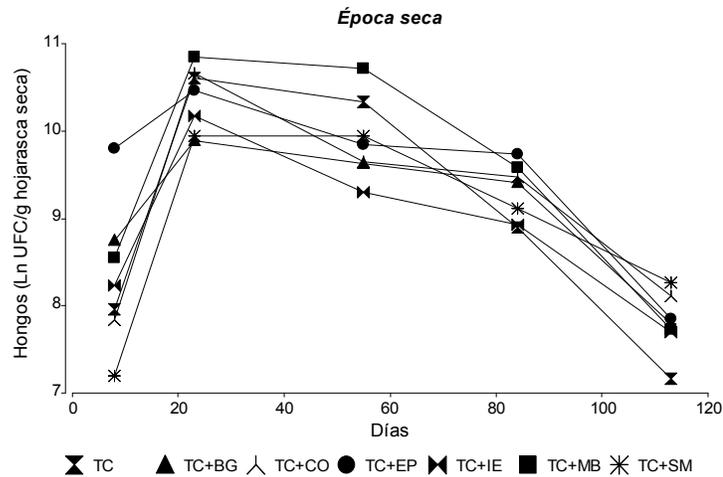


Figura 17. Comportamiento de colonias de hongos desarrolladas durante el proceso de descomposición de hojas de cacao en mezcla con hojas de las especies de sombra en estudio durante la época seca

Cuando las hojas de cacao se encuentran combinadas con las hojas de las otras especies, las colonias de hongos presentan un comportamiento similar al encontrado en las especies solas bajo la segunda condición (Figura 17). El número de colonias de hongos que se desarrolló a los 55 días es estadísticamente similar al encontrado a los 23 días, siendo para estas dos evaluaciones superior al encontrado en las posteriores ( $p < 0,001$ ).

### 5.3.3 Actividad enzimática celulasa

La actividad celulasa presentó alta correlación con la humedad presente en la hojarasca para cada época de evaluación y durante el tiempo evaluado ( $p < 0,001$ ). También existe correlación positiva con las unidades formadoras de colonias de hongos y bacterias para las distintas épocas ( $p < 0,001$ ).

Durante la época lluviosa, las especies BG, CO y SM presentaron la mayor actividad a los 23 días (Figura 18A), al igual que la mezcla de cacao con CO e IE (Figura 18B). Para EP, MB, TC y la mezcla de cacao con BG se incrementa en cada evaluación y llega a un máximo a los 84 días (Figuras 18B y 19C). La especie IE y las mezclas de cacao con EP, MB y SM presentaron alto valor de actividad celulasa a los 55 días (Figuras 18A y 19A).

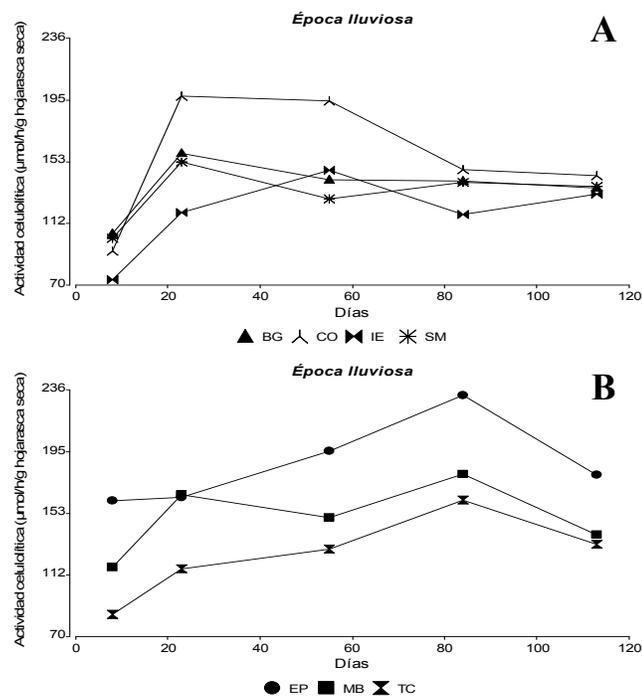


Figura 18. Valores promedio de actividad enzimática celulasa presente en la hojarasca de las especies solas en estudio durante la época lluviosa. Diferentes comportamientos (A, B)

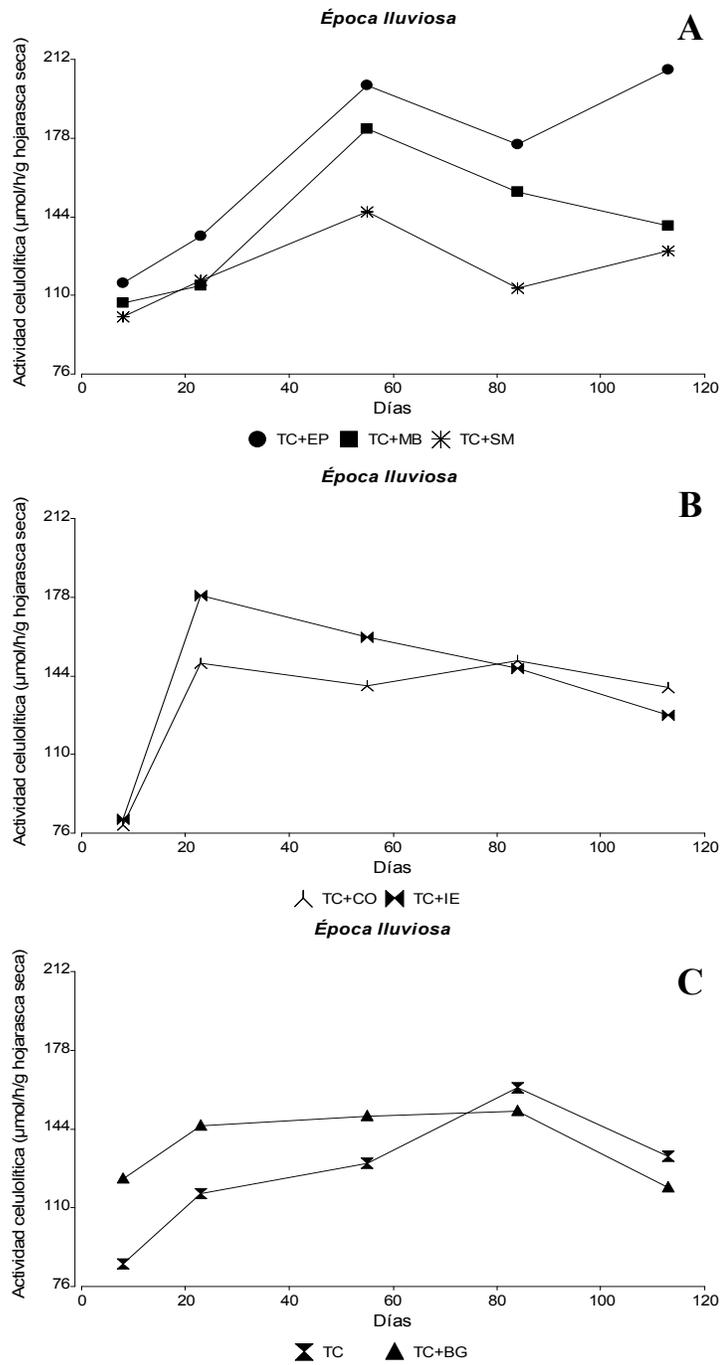
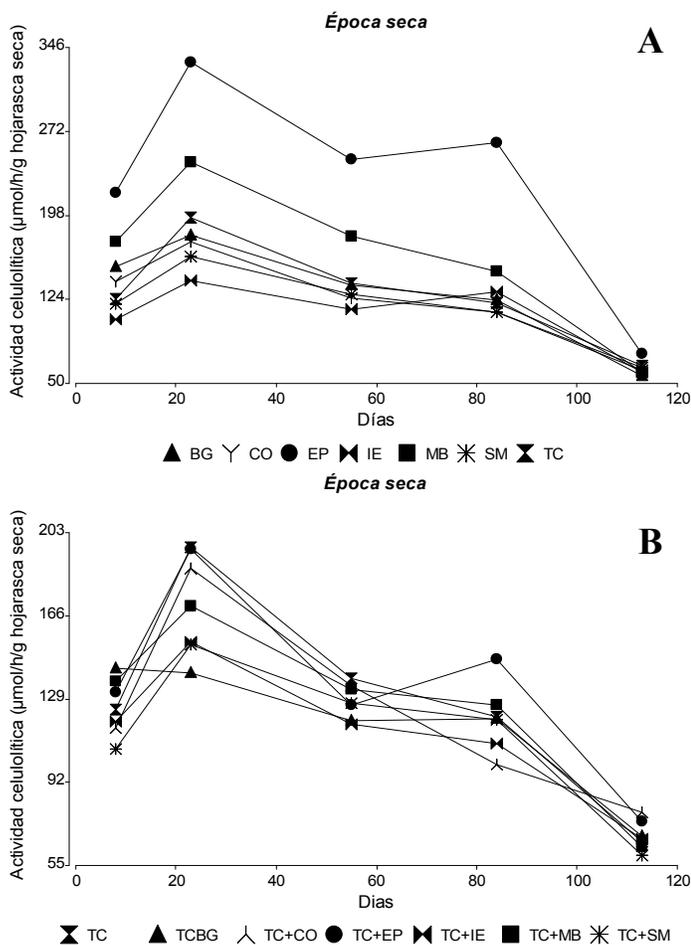


Figura 19. Valores promedio de actividad enzimática celulasa presente en la hojarasca de las especies en estudio durante la época seca. Diferentes comportamientos (A, B y C)

Para la época seca, indistintamente de la especie sola o en mezcla con cacao, la actividad enzimática fue elevada a los 23 días y posteriormente disminuyó hasta llegar a una mínima actividad registrada a los 113 días (Figura 20A). La mezcla de BG con cacao presenta alta actividad en un inicio, la que disminuye en las siguientes evaluaciones (Figura 21B). La actividad celulasa presente en la especie EP es superior a todas las especies ( $p=0,0501$ ) en los distintos tiempos de descomposición.



Cuando las condiciones de humedad se encuentran dentro de un nivel adecuado para el desarrollo de las poblaciones microbiales, la actividad celulasa presenta un promedio de  $142,4 \pm 3,87 \mu\text{mol}$  de glucosa hidrolizados  $\text{h}^{-1}\text{g}^{-1}$  de hojarasca seca.

### 5.3.4 Actividad lacasa

La actividad lacasa tuvo comportamiento similar a lo largo del tiempo durante la descomposición de las hojas de las especies solas y en mezcla con el cacao, para cada época, lluviosa y seca (Figura 21 A y B; Figura 22 A y B). El análisis de correlación demuestra que la actividad lacasa sólo está correlacionada positivamente con la población de hongos que se desarrolló durante la época seca ( $p < 0,001$ ), cuando se encuentran las hojas puras y en mezcla con hojas de cacao. Durante la época lluviosa, se presentan valores elevados a los 23 y 84 días de evaluación (Figura 21); pero, en la época seca sólo se presenta alta actividad a los 23 días, la que disminuye a lo largo del tiempo (Figura 22). La actividad lacasa encontrada presenta una media de  $5,44 \pm 1,02$  y  $3,3 \pm 0,7$   $\mu\text{mol}$  de ABTS oxidados  $\text{h}^{-1}\text{g}^{-1}$  de hojarasca seca para las épocas lluviosa y seca respectivamente.

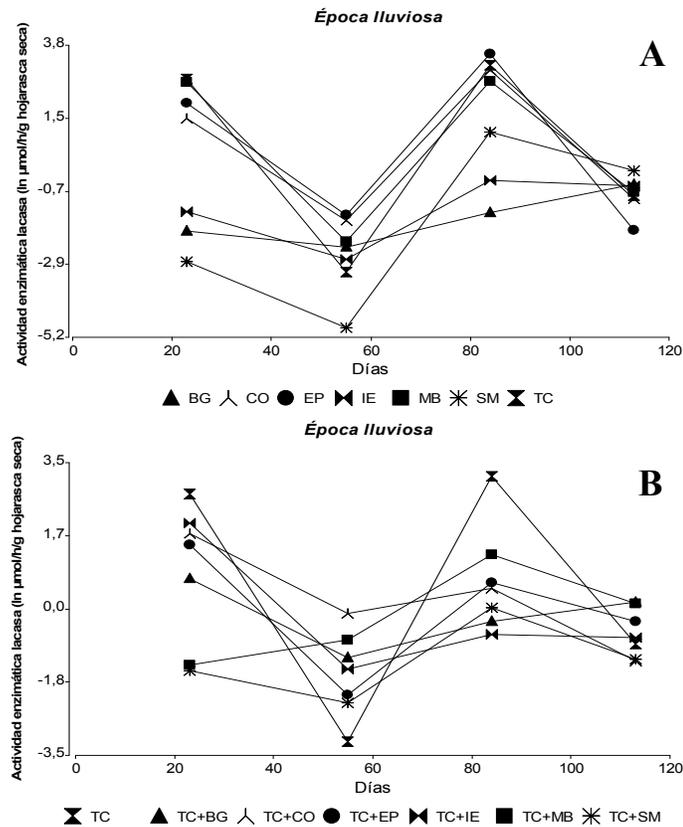


Figura 21. Valores promedio de actividad enzimática lacasa presente en la hojarasca en descomposición de las especies en estudio solas y en mezcla con cacao durante la época lluviosa. Expresión en base de logaritmo natural. Diferentes comportamientos (A, B)

En el periodo lluvioso, para la mayoría de las evaluaciones, las especies CO, EP, MB, TC y las mezclas de cacao con CO y EP presentan alta actividad a los 23 y 84 días de

evaluación (Figura 21) que difiere de la que se presenta a los 55 y 113 días ( $p < 0,001$ ). Las especies IE, BG y SM presentan alta actividad solo a los 55 días al igual que las mezclas de cacao con SM y MB. La más baja actividad lacasa la presentan las especies IE, BG y SM ( $p < 0,001$ ), al igual que la mezcla de cacao con SM ( $p = 0,0524$ ).

Para la época seca, la mayor actividad lacasa se presenta a los 23 días tanto para las especies solas como para las mezclas con cacao ( $p < 0,001$ ); esta actividad disminuye en las siguientes evaluaciones y se presenta la menor actividad a los 84 días ( $p < 0,001$ ) (Figura 22). Especies como MB, BG, EP e IE presentan alta actividad lacasa en la mayoría de las evaluaciones y difiere de TC que presenta actividad intermedia y de CO y SM que tienen menor actividad ( $p < 0,001$ ). Cuando el cacao se encuentra asociado a IE y SM se presenta la actividad lacasa baja, diferente a las combinaciones con las otras especies y con cacao solo ( $p < 0,001$ ).

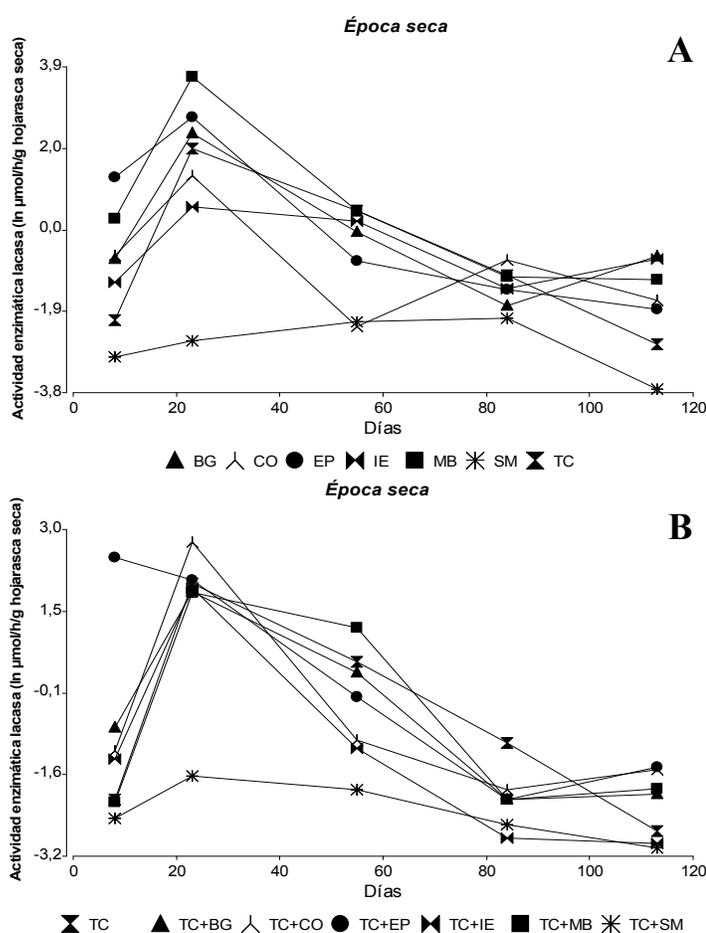


Figura 22. Valores promedio de actividad enzimática lacasa presente en la hojarasca en descomposición de las especies solas y en mezcla con cacao durante la época seca (Expresión en base de logaritmo natural). Diferentes comportamientos (A, B)

### 5.3.5 *Actividad lignina peroxidasa*

La actividad lignolítica presenta un comportamiento similar cuando las especies se encuentran puras y en mezcla con cacao, pero difieren en la época lluviosa y seca. Se encontró correlación positiva entre la población fúngica y la actividad lignolítica durante la época seca cuando las especies se encuentran en mezcla con el cacao ( $p \leq 0,0345$ ). La actividad lignina peroxidasa tuvo una media de  $2,6 \pm 0,45$  y  $2,78 \pm 0,52$   $\mu\text{mol}$  de ABTS oxidados bajo la reacción de  $\text{H}_2\text{O}_2$   $\text{h}^{-1}\text{g}^{-1}$  de hojarasca seca, para las épocas lluviosa y seca respectivamente.

En la fase lluviosa se presenta alta actividad a los 23 y 84 días tanto para las especies solas como cuando se encuentran en mezcla con el cacao (Figura 23), que se diferencian de la actividad encontrada en las otras evaluaciones ( $p < 0,001$ ). Las especies MB, EP y CO son las que presentan mayor actividad a los 23 y 84 días, a diferencia de las especies BG, IE y SM que presentan la menor actividad y de TC que presentó actividad con valores intermedios ( $p < 0,001$ ).

A los 23 días, cuando el cacao se encuentra en mezcla con EP, la actividad es mayor que cuando está en mezcla con CO, BG, IE y cuando se encuentra solo. En las mezclas de cacao con MB y SM la actividad es menor ( $p < 0,001$ ). El cacao solo y la combinación de cacao con MB, EP presentan alta actividad enzimática a los 84 días, y la menor actividad ( $p < 0,001$ ) se dio cuando el cacao se encuentra combinado con SM e IE (Figura 23).

Durante la época seca, la mayoría de las especies presenta alta actividad lignolítica a los 23 días, cuando se encuentran solas y en mezcla con cacao. Las especies SM, IE y la mezcla de cacao con BG presentan diferente comportamiento con mayor actividad a los 55 y 84 días (Figura 24).

Se encontró mayor actividad lignolítica sobre la especie BG que difiere de las especies MB, IE y TC que presentan mayor actividad que CO, EP y SM, siendo ésta última la que presentó menor actividad ( $p < 0,001$ ) durante todas las evaluaciones y también cuando esta en mezcla con el cacao (Figura 24).

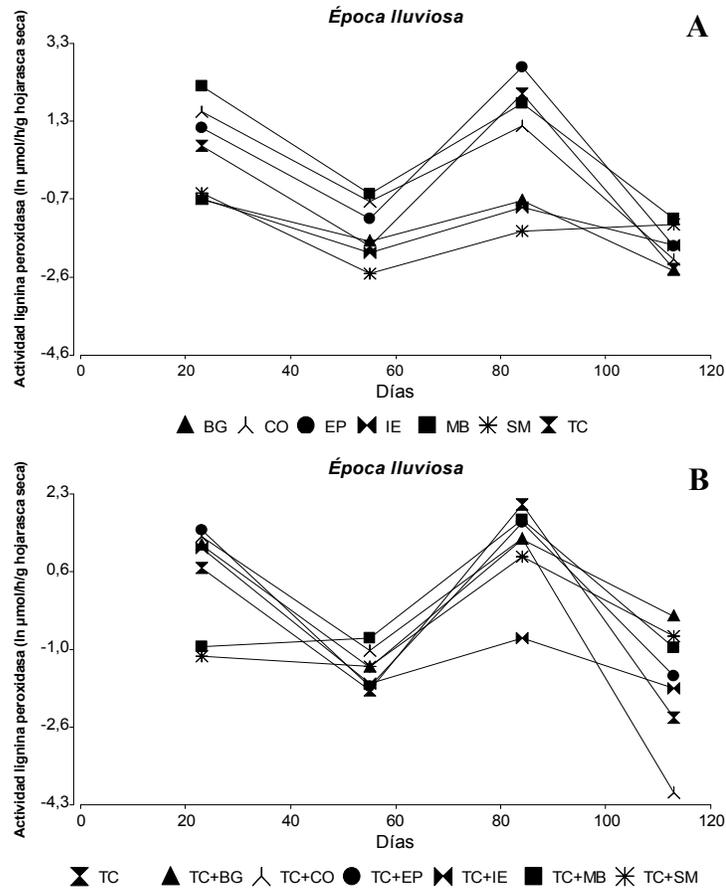


Figura 23. Valores promedio de actividad enzimática lignina peroxidasa presente en la hojarasca en descomposición de las especies solas y en mezcla con cacao durante la época húmeda (Expresión en base de logaritmo natural). Diferentes comportamientos (A, B)

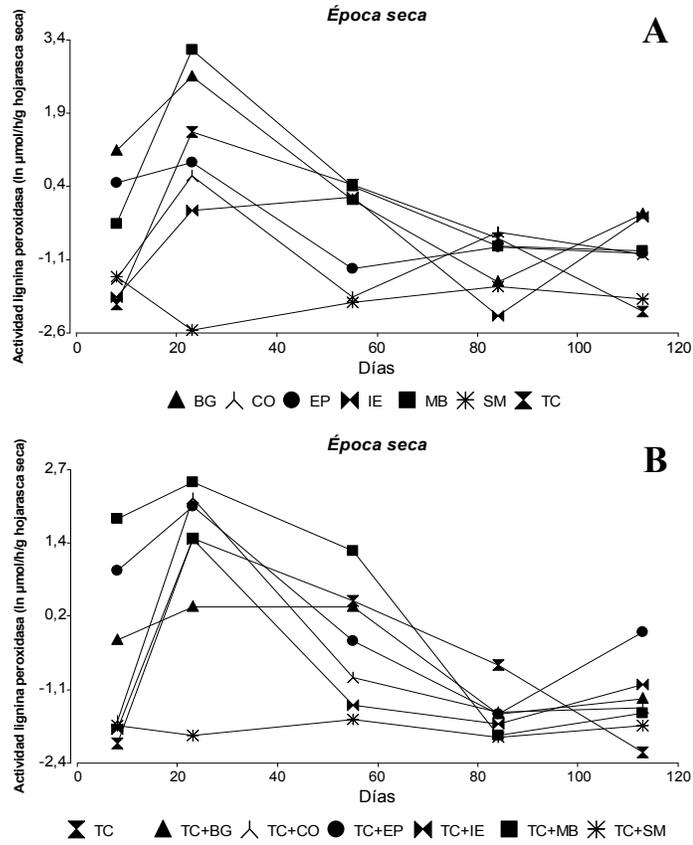


Figura 24. Valores promedio de actividad enzimática lignina peroxidasa presente en la hojarasca en descomposición de las especies en estudio solas y en mezcla con cacao durante la época seca (Expresión en base de logaritmo natural). Diferentes comportamientos (A y B)

## 5.4 Meso y macrofauna

Los órdenes de artrópodos encontrados durante el proceso de descomposición de las especies en estudio a lo largo de las distintas evaluaciones son 21 (Cuadro 7). Para la época húmeda y seca el orden Hymenoptera fue el más abundante, seguido por los órdenes Collembola, Acarina y Coleoptera (Cuadro 7, Figuras 25 y 26)

Los órdenes Syphomoptera, Isópoda, Lumbriculidae, Gastropoda, Opilionidae y Neuroptera solo se presentaron durante la época lluviosa, aunque su población es baja en relación a otros órdenes. Para el orden Psocoptera la abundancia de individuos se incrementa durante la época seca, al igual que los órdenes Acarina, Dytiscoptera, Isoptera, Collembola y Pseudoescorpionidae. Sin embargo, para otros órdenes la población disminuye considerablemente en la época seca, como son los órdenes Coleoptera, Diplopoda e Hymenoptera (Cuadro 7, Figuras 25 y 26).

*Cuadro 7. Ordenes y abundancia de artrópodos encontrados durante la descomposición de diferentes sustratos durante dos épocas*

Clasificación taxonómica	Abundancia de artrópodos	
	Época lluviosa	Época seca
Acarina	6733	8948
Araneae	127	94
Chilopoda	222	104
Coleoptera	5991	2873
Collembola	7207	10567
Dermaptera	147	247
Dictyoptera	1	52
Diplopoda	3382	2214
Diplura	484	392
Diptera	347	226
Gastropoda	1599	-
Hymenoptera	16561	13628
Isopoda	967	-
Isoptera	286	543
Lumbriculidae	2	-
Neuroptera	1	-
Opilionida	1	-
Protura	-	2
Pseudoescorpionidae	1805	2423
Psocoptera	105	4438
Syphomoptera	163	-

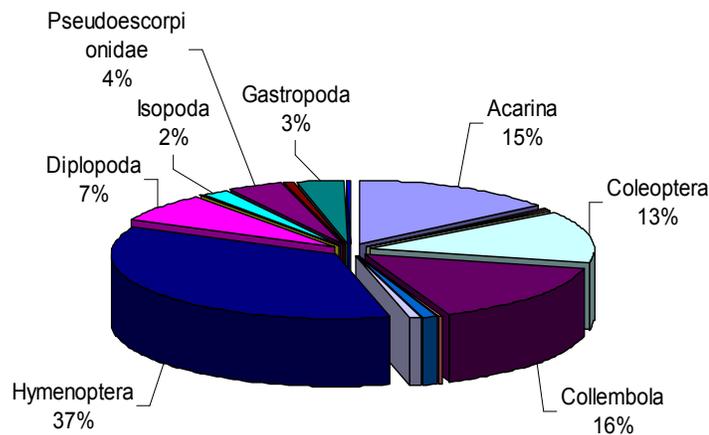


Figura 25. Abundancia relativa de los órdenes de artrópodos encontrados durante la época lluviosa en la descomposición de diferentes sustratos

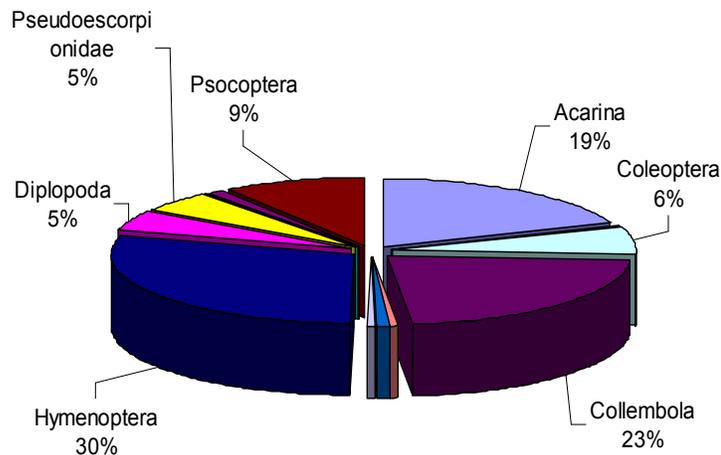


Figura 26. Abundancia relativa de los órdenes de artrópodos encontrados durante la época seca en la descomposición de diferentes sustratos

El análisis de la abundancia y riqueza taxonómica de artrópodos, encontrada durante la descomposición de las hojas, no mostró diferencias entre tratamientos para cuando las especies se encuentran solas o en mezcla con cacao, en las épocas lluviosa y seca. Solo se encontraron diferencias a lo largo del tiempo. La abundancia de individuos fue alta a los 23 y 55 días y la menor se presentó a los 8 días ( $p < 0,001$ ). La abundancia presenta diferencias en la época seca cuando las especies se encuentran solas en la que se presenta alta población a los 55 y 84 días ( $p = 0,0002$ ).

Durante la época seca, la abundancia de individuos cambia en el tiempo y se presenta las poblaciones altas a los 55 y 84 días ( $p < 0,0002$ ). Se encontró correlación positiva entre la humedad, la abundancia y riqueza de individuos para las épocas lluviosa y seca ( $p < 0,001$ ).

## 5.5 Correlación de las variables biológicas con las tasas de descomposición

Para determinar la importancia de las variables población microbiana (hongos y bacterias) y actividad enzimática y su contribución para describir el proceso de descomposición, se correlacionó los valores estimados de las variables microbiológicas con las tasas de descomposición encontradas para las especies en estudio (Cuadro 8).

Cuando las especies se encuentran solas, las variables UFC de bacterias, actividad enzimática celulasa, lacasa y lignina peroxidasa, presentan correlación positiva con las tasas de descomposición, solo cuando las especies se encuentran solas, pero no así cuando las especies se encuentran en mezcla con el cacao, donde se encontró correlación negativa con las actividades enzimáticas celulasa y lacasa. En ambos casos no se presentó correlación con la población fúngica, abundancia y riqueza de macrofauna. Las variables que presentaron mayor correlación con las tasas de descomposición fueron actividad enzimática celulasa y lacasa, pero solo cuando las especies se encuentran solas ( $p < 0,0023$ ) (Cuadro 8).

*Cuadro 8. Valores de correlación encontrados entre las tasas de descomposición (k) de las hojas de las especies solas y en mezcla con cacao con las variables de población y actividad microbiológica y abundancia y riqueza de macrofauna*

Variable	Especies solas			Especies en mezcla con cacao		
	Coefficiente de correlación	Valor P	Efecto sobre la tasa de descomposición	Coefficiente de correlación	Valor P	Efecto sobre la tasa de descomposición
UFC bacterias	0,17	<0,001	Positiva	-0,18	0,1853	Ninguna
UFC hongos	0,16	0,2089	Ninguna	0,03	0,8297	Ninguna
Actividad enzimática celulasa	0,50	0,001	Positiva	-0,29	0,0304	Negativa
Actividad enzimática lacasa	0,46	0,0023	Positiva	-0,27	0,0449	Negativa
Actividad enzimática lignolítica	0,14	<0,001	Positiva	-0,09	0,5204	Ninguna
Abundancia meso y macrofauna	-0,16	0,2537	Ninguna	-0,16	0,2755	Ninguna
Riqueza meso y macrofauna	-0,23	0,0843	Ninguna	-0,14	0,3101	Ninguna

Por las tasas de descomposición ( $k$ ) encontradas para las hojas de las especies en estudio, las especies que tienen una tasa de descomposición más rápida que el cacao son consideradas como hojas lábiles; y otras junto al cacao, con lenta descomposición son consideradas como recalcitrantes. Al correlacionar los valores estimados de las variables microbiológicas y de macrofauna con las tasas de descomposición de los grupos de especies con hojas lábiles y recalcitrantes, se puede observar que existe correlación positiva con la actividad enzimática celulasa y lacasa cuando las especies lábiles se encuentran solas. También existe correlación positiva con las actividades enzimáticas lacasa y lignina peroxidasa cuando las especies recalcitrantes se encuentran solas (Cuadro 9). Se encontró correlación negativa con abundancia de meso y macrofauna en el caso de las especies lábiles y con la riqueza de meso y macrofauna en caso de las especies recalcitrantes solas (Cuadro 9). No se encontró correlación con ninguna de las variables cuando las especies se encuentran en mezcla con el cacao (Cuadro 10).

*Cuadro 9. Valores de correlación encontrados entre las tasas de descomposición ( $k$ ) de las hojas de las especies solas con la población y actividad microbiana y la población de macrofauna*

Variable	Especies lábiles			Especies recalcitrantes		
	Coefficiente de correlación	Valor P	Efecto sobre la tasa de descomposición	Coefficiente de correlación	Valor P	Efecto sobre la tasa de descomposición
UFC bacterias	0,2284	0,4993	Ninguna	0,4365	0,0910	Ninguna
UFC hongos	-0,3199	0,3376	Ninguna	0,0970	0,7208	Ninguna
Actividad enzimática celulasa	0,7571	0,0044	Positiva	0,3684	0,1603	Ninguna
Actividad enzimática lacasa	0,5797	0,0487	Positiva	0,6566	0,0057	Positiva
Actividad enzimática lignolítica	0,5236	0,0806	Ninguna	0,7474	0,0009	Positiva
Abundancia meso y macrofauna	-0,6222	0,0012	Negativa	0,1069	0,5603	Ninguna
Riqueza meso y macrofauna	0,1504	0,4829	Ninguna	-0,3469	0,0517	Negativa

Especies lábiles: *Bactris gasipaes*, *Erythrina poeppigiana*, *Myroxylum balsamum*

Especies recalcitrantes: *Centrolobium ochroxylum*, *Inga edulis*, *Swietenia macrophylla*, *Theobroma cacao*

Cuadro 10. Valores de correlación encontrado entre las tasas de descomposición (*k*) de las hojas de las especies en mezcla con hojas de cacao con la población y actividad microbiana y la población de macrofauna

Variable	Especies lábiles			Especies recalcitrantes		
	Coefficiente de correlación	Valor P	Efecto sobre la tasa de descomposición	Coefficiente de correlación	Valor P	Efecto sobre la tasa de descomposición
UFC bacterias	-0,3897	0,0598	Ninguna	-0,2197	0,2270	Ninguna
UFC hongos	0,0241	0,9111	Ninguna	-0,0069	0,9699	Ninguna
Actividad enzimática celulasa	-0,1919	0,3691	Ninguna	-0,5169	0,0025	Negativa
Actividad enzimática lacasa	0,0414	0,8478	Ninguna	-0,1929	0,2902	Ninguna
Actividad enzimática lignolítica	-0,005	0,9816	Ninguna	-0,1481	0,4185	Ninguna
Abundancia meso y macrofauna	-0,1128	0,5996	Ninguna	-0,278	0,1715	Ninguna
Riqueza meso y macrofauna	-0,369	0,076	Ninguna	-0,2644	0,1437	Ninguna

Mezcla de *Theobroma cacao* con:

- especies lábiles: *Bactris gasipaes*, *Erythrina poeppigiana*, *Myroxylum balsamum*
- especies recalcitrantes: *Centrolobium ochroxylum*, *Inga edulis*, *Swietenia macrophylla*

## 5.6 Discusión

A pesar de que la precipitación fue cuatro veces más abundante en la época lluviosa que en la época seca, la humedad presente en la hojarasca hasta los 84 días de evaluación se mantuvo constante en las dos épocas favoreciendo el proceso de descomposición. El mantenimiento de la humedad se debe a las condiciones creadas dentro del sistema de cacao, el que presenta un dosel cerrado con una oclusión por encima del 80 %, creando un microclima dentro de la plantación, que protege a las poblaciones microbianas del estrés por factores abióticos como radiación solar y variación de altas y bajas temperaturas (Kurzatkowski *et al.* 2003). Esta condición favorece el desarrollo y actividad de la población microbiana lo que queda demostrado por la correlación positiva encontrada entre la humedad del mantillo, las poblaciones de hongos y bacterias y la actividad enzimática.

### 5.6.1 Población microbiana

Explicar el proceso de descomposición a partir de la caracterización de las poblaciones microbianas que se desarrollan e interactúan en un determinado sustrato es bastante complejo. Un gran número de factores como las condiciones abióticas (humedad, temperatura), disponibilidad de recursos (fuentes energéticas y de nutrientes), cambios en las condiciones de pH y O<sub>2</sub> en el medio, características físicas de las hojas, entre otros, promueven o inhiben el desarrollo y comportamiento de la comunidad microbiana disponible en un determinado sistema (Zak *et al.* 2003). Sin embargo, es necesario comprender la dinámica de colonización e interacción de los microorganismos sobre la descomposición, puesto que es un proceso totalmente dependiente de la población microbiana, y esta población vincula la biomasa de las especies que conforman un sistema y el funcionamiento del suelo, porque intervienen en el proceso y control del ciclaje de carbono, nutrientes (liberación e inmovilización) y la formación de la materia orgánica (Zak *et al.* 2003).

Los resultados muestran que las poblaciones de bacterias y hongos responden a dos factores. El primero, se refiere a las condiciones abióticas, principalmente la humedad. Esto se puede observar por el cambio en las poblaciones a través del tiempo y la correlación positiva encontrada entre la humedad y el número de colonias. Para Lavelle 2005, las bacterias son más sensibles a cambios en la humedad, mientras que los hongos se adaptan fácilmente a los cambios drásticos de humedad y temperatura. El segundo factor se refiere a

que la microflora responde a las características intrínsecas que presenta cada tipo de sustrato. Las diferencias encontradas en la abundancia de las poblaciones microbianas entre especies, además que algunas especies presentan alta población de bacterias y hongos a lo largo del tiempo independientemente de la humedad, responde a la interacción del tipo de sustrato sobre la población microbiológica.

Se observó diferencia en abundancia de colonias de bacterias sobre todo cuando las especies se encuentran solas. *Inga edulis* mostró alta población a diferencia de *Swietenia macrophylla* y *Myroxylon balsamum*, lo que se puede deber a su bajo contenido en ligninas<sup>2</sup> (3,8 %), y también a que presenta valores aceptables para los índices carbono:N (19,6) y carbono:P (146), por lo que se puede considerar como un sustrato de calidad al favorecer el desarrollo de la población bacteriana. El hecho de que el desarrollo de las poblaciones bacterianas sea mayor en las hojas de *I. edulis* no necesariamente favorece su descomposición, puesto que esta fue una especie que presentó lenta descomposición, en este sentido, las condiciones de humedad creadas por el tipo de hojarasca puede ser un factor más relevante que las características químicas del sustrato.

También, el hecho de que la población bacteriana se desarrolle en abundancia a diferentes tiempos para algunas especies y para otras no, se puede deber a la disponibilidad de recursos que se presenta en algunos sustratos en una fase inicial y que favorecen este comportamiento. Mientras que, otros sustratos requieren de la actividad de los microorganismos para poder acceder a nutrientes y fuentes energéticas, por lo que un incremento en su población se verá en una fase posterior. También es posible que algunas especies presenten compuestos que restringen el desarrollo microbial, sobre todo en la fase inicial, como la presencia de polifenoles que inhiben a los microorganismos (Hammel 1997) o a la presencia de complejos tanino-proteicos que son extremadamente recalcitrantes (Lavelle *et al.* 1993).

Cuando se trata de poblaciones fúngicas, no se encontró diferencias al añadir uno u otro tipo de sustrato. Se encontró diferencias en el desarrollo de colonias a través del tiempo. Para la mayoría de las especies solas y en mezcla se presentó alta abundancia de hongos a los 55 días. Esto puede ser debido a que los hongos tardan más tiempo en

---

<sup>2</sup> Cuadro 2. del Artículo 1ro del presente documento Contenido de N, P y compuestos de carbono presentes en las especies en estudio y sus respectivas relaciones.

establecerse, además de que estos deben producir actividad enzimática para poder acceder a los recursos del sustrato, o que en una primera etapa entran en un proceso de competencia con las bacterias por fuentes de nutrientes y energía (Hammel 1997). Donnison *et al.* 2000, encontraron que la población de hongos presenta escaso cambio en función del tipo de hojarasca, o fue en muy poca proporción en relación a otros factores que tienen mayor influencia, como la disponibilidad de nutrientes en el sistema. Esto también se puede atribuir al método utilizado, ya que el conteo de unidades formadoras de colonias en placa deja de lado gran diversidad de hongos no cultivables que pueden mostrar las diferencias entre la población activa para un determinado sustrato.

En el caso de las mezclas de hojas de cacao con las de diferentes especies en estudio, no se puede diferenciar un cambio en poblaciones microbianas, esto podría deberse a que la interacción de ambos sustratos da lugar a un equilibrio en la población microbiana, puesto que, se pudo detectar diferencias de la población en los sustratos cuando se encuentran solos. Gardner y Cardon (2004) encontraron que estos parámetros son muy difíciles de identificar, puesto que las mezclas producen diversidad química y complejidad microambiental.

Al respecto Zak *et al.* 2003 plantean la hipótesis de que cuando existe diversidad de plantas, también difieren sus características bioquímicas y al ser parte del suelo cambian la disponibilidad de recursos que podrían favorecer o restringir el desarrollo y función de las poblaciones microbiales. Lo que no concuerda con lo señalado por Powlson *et al.* 2001, que sostienen que la descomposición de un residuo orgánico es realizada por una amplia gama de microorganismos, por lo que cualquier tipo de intervención no tendrá un efecto directo sobre la población microbiana.

Zak *et al.* 2003, encontró que los cambios que se dan en la comunidad microbiana responden a un incremento en la producción de recursos disponibles, es decir, un aumento en la biomasa más que un cambio en la diversidad de especies o una especie en particular, además señala que un cambio en la comunidad microbiana no puede atribuirse al tipo de follaje y sus características bioquímicas. Esta situación puede predominar en sistemas donde existe biomasa abundante de un material recalcitrante como el cacao, donde no se apreció un cambio en la composición microbiana al añadir la biomasa de una especie, al menos que se añada en forma abundante y así se pueda encontrar diferencias como las

encontradas cuando las especies se encuentran puras a diferencia de cuando se encuentran en mezcla con cacao.

Al comparar las características químicas de las especies en estudio, se diferencian tres grupos: uno que comprende las especies de carácter lábil donde se encuentran EP y MB; otras de carácter recalcitrante como son TC y SM; y un tercer grupo intermedio donde se encuentran BG, IE y CO. Se podría esperar que el desarrollo de las poblaciones microbiales y su actividad también permita clasificar las especies de forma similar. Sin embargo, el comportamiento de la comunidad microbiana es exclusivo para algunas especies y difiere entre evaluaciones. Esto puede deberse a que además de la composición química de las especies, intervienen otros factores como el cambio del pH, actividad de los microorganismos, disponibilidad de recursos, que determinan la población microbiana que se desarrolla en un sustrato. También, las propiedades del sistema suelo-hojarasca como el contenido de N y materia orgánica son factores que alteran la composición y función de la comunidad microbiana, por tanto, la incorporación de residuos que logren cambiar estos parámetros sobre todo en aquellos sistemas que presenten bajo contenido de nutrientes tendrán efecto sobre la comunidad microbiana y las tasas de descomposición (Zak *et al.* 2003, Berg y MacLaugherty 2003).

De igual manera, cuando se considera la clasificación de especies a partir de las tasas de descomposición<sup>3</sup>, el desarrollo microbiano presenta diferente comportamiento para las especies agrupadas, por tanto, no se puede establecer una relación directa que permita explicar las tasas de descomposición, las características químicas y su efecto en la comunidad microbiana. Para Smith 2004; las especies que presentan biomasa de calidad pueden favorecer el desarrollo y acción de los microorganismos, frente a otras especies que por ser de baja calidad o de carácter recalcitrante pueden inhibir el desarrollo de la comunidad microbiana. Así, un sustrato de calidad se refiere a aquel material orgánico que posee fuentes de energía disponibles para el desarrollo de la comunidad descomponedora, esto es, alta cantidad en carbono soluble que promueva el crecimiento microbiano y su actividad. Mientras que un sustrato de baja calidad, con alto contenido de celulosas, ligninas y polifenoles provee menor cantidad de energía para los microorganismos e inhiben el crecimiento o actividad de estos. La disminución de la actividad de los

---

<sup>3</sup> Artículo 1<sup>o</sup> del presente documento

microorganismos influirá completa o parcialmente en la inhibición de las tasas de descomposición (Lavelle *et al.* 1993). El desarrollo de hongos y bacterias está altamente relacionado con la calidad del sustrato que tienen disponible y conforman la comunidad más importante para la actividad biológica del suelo (Wardle y Lavelle 1997). Por tanto, su desarrollo va a limitar o facilitar el proceso de colonización y las funciones del resto de la fauna del suelo.

### **5.6.2 *Actividad enzimática***

La producción extracelular de enzimas depende del desarrollo y condiciones en que se desenvuelvan los microorganismos. La actividad enzimática celulasa, producida por bacterias y hongos, muestra variaciones en el tiempo y para las distintas especies, que por lo general presentan mayor actividad a los 23 y 84 días de evaluación.

La mayoría de los sustratos que por sus tasas de descomposición son clasificados como recalcitrantes, a excepción del cacao, presentaron mayor actividad en las primeras evaluaciones durante la fase lluviosa, que se puede deber a que las condiciones del sustrato favorecen el desarrollo de bacterias en una primera etapa. Generalmente, en hojas de especies recalcitrantes los microorganismos producen enzimas celulasas desde un inicio; mientras que, para especies que son lábiles los microorganismos producen esta enzima en mayores cantidades en las fases posteriores (Hammel 1997). Esto se puede deber a que la producción de esta enzima y la actividad de los microorganismos responde a sus necesidades para acceder al sustrato y a fuentes energéticas, las que se encuentran disponibles en las especies lábiles en un inicio y no así en las recalcitrantes. Puesto que, la capacidad celulasa de las bacterias y hongos dependen de sus requerimientos de energía (Lavelle 2005).

El cacao que se caracteriza como una especie con hojas de calidad intermedia por su tasa de descomposición, a pesar de presentar alto contenido de ligninas. La actividad enzimática presente en este tipo de sustrato presenta similar comportamiento a las especies lábiles. Cuando las especies se encuentran en mezcla con cacao se presentan comportamientos parecidos a cuando se encuentran solas pero los microorganismos desarrollan mayor cantidad de enzimas para poder acceder al sustrato. Gardner y Carton 2004, mencionan que una mezcla de especies tiende a mostrar respuestas sinérgicas en la

actividad de los microorganismos cuando las especies y tipos de hojarasca son muy diferentes en calidad.

Cuando las condiciones de humedad son suficientes pero no óptimas para el desarrollo microbial, como se da en la época seca, la actividad celulasa media es de  $132,9 \pm 4.63 \mu\text{mol de glucosa h}^{-1}\text{g}^{-1}$  de hojarasca seca. Para las distintas especies, no se puede diferenciar un cambio en la actividad para los sustratos. Se dio mayor actividad cuando las condiciones de humedad lo permitieron y que fue a los 23 días, fecha para la cual el incremento en humedad fue considerable. Bajo esta situación, el hecho de que una especie pueda retener humedad en el tiempo favorece a que la actividad de la comunidad microbial se manifieste, como es el caso de EP que se diferencia de las otras especies en todos los puntos de evaluación por tener alta actividad enzimática.

El hecho de que el cacao presente actividad similar a la de las especies lábiles puede deberse a que en el sistema agroforestal de cacao, donde predomina la biomasa aportada por el cultivo, la población de microorganismos está habituada y especializada a este tipo de sustrato y por tal razón la comunidad microbiana produce actividad enzimática incluso superior a la de las otras especies tal es el caso de las actividades lacasa y lignina peroxidasa. Otro comportamiento que se presenta es que por lo general la actividad que se produce en *B. gasipaes* es similar a la de las especies recalcitrantes, cuando esta especie por su tasa de descomposición está considerada como lábil.

Las actividades lacasa y ligninasa responden a la producción enzimática extracelular de hongos para acceder a fuentes de carbono recalcitrantes como la lignina, por lo que, la actividad debería incrementar a medida que las poblaciones de hongos aumenta. Ambas actividades presentaron similar comportamiento a lo largo del tiempo para las especies solas y la mezcla con cacao. Una disminución drástica en ambas actividades enzimáticas se dio durante la época lluviosa a los 55 días, que se puede deber a que la precipitación acumulada fue elevada y se presentaron condiciones anaerobias en el sustrato; para Hammel 1997, la disponibilidad de oxígeno es importante en la actividad enzimática, ya que cuando existe excesiva precipitación se pueden crear condiciones en la que las poblaciones aeróbicas vean limitada su actividad dado la elevada humedad en su medio, sin embargo no se observó una disminución en el número de colonias de hongos.

Durante la fase seca, se presentó alta actividad enzimática en un inicio debido posiblemente a que la humedad en la hojarasca desciende a partir de la tercera evaluación,

creando condiciones limitantes para el desarrollo microbial, pero, a diferencia de la época húmeda esta limitación se debe a escasez de humedad. Resultados concordantes con los encontrados son presentados por Nardo *et al.* 2004, que registró baja actividad enzimática en las primeras fases de descomposición y atribuyó este comportamiento a la restricción de la actividad lignolítica por baja temperaturas y humedad.

La actividad de las enzimas lacasas y lignina peroxidasa son bajas en las especies de carácter recalcitrante como IE y SM durante las distintas evaluaciones. Esto se puede deber a que las poblaciones microbiales no se desarrollan lo suficiente como para presentar actividad y tener acceso a ese tipo de sustrato. También, las hojas pueden presentar ciertos compuestos químicos y características físicas que inhiben el desarrollo microbial y que pueden limitar su funcionalidad. La actividad de las enzimas peroxidazas puede ser inactivada por la presencia de polifenoles (Hammel 1997). La actividad enzimática encontrada, contribuye en cierta medida a explicar el efecto de la calidad del recurso sobre las poblaciones microbiales, sin embargo, se presentan casos de especies como BG y TC que no necesariamente muestran una relación entendible entre la actividad enzimática y que sea concordante con las tasas de descomposición encontradas.

Allison y Vitousek 2004, encontraron que por lo general la actividad enzimática presenta variaciones estacionales que son correlacionadas con condiciones climáticas favorables y no necesariamente tienen correlación con el contenido de celulosa del sustrato, debido a la presencia de otros factores que interfieren en el proceso de descomposición. Donde existen compuestos de carbono fácilmente asimilables, éstos son sencillamente utilizados por la comunidad microbial, antes de que esta acceda a compuestos más complejos como las celulosas o ligninas. Por tanto, una vez que los compuestos fácilmente asimilables han sido utilizados recién se producen enzimas celulasas y lignolíticas para acceder a fuentes de nutrientes y energía. También la disponibilidad de N tiene influencia sobre esta actividad (Allison y Vitousek 2004), sobre todo cuando existen poblaciones de hongos y bacterias en estado de competencia por acceso a recursos.

También se encontró que los niveles de actividad enzimática están relacionados con la etapa de descomposición en el tiempo y afectados por factores de sitio. Se ha encontrado que varias enzimas se incrementan en su actividad con una progresiva descomposición, pero otras no han mostrado relación, como las endocelulasas y las peroxidazas (Mooread y Sinsabaugh 2000).

Las tasas de descomposición pueden ser modeladas basadas en la actividad enzimática extracelular porque los microorganismos producen enzimas para catalizar la degradación de sustratos presentes en su medioambiente inmediato (Allison y Vitousek 2004). Las tasas de descomposición encontradas para los sustratos estudiados presentan correlación positiva para algunas variables microbiológicas pero no así para todas, y menos cuando se estudia las mezclas de especies. Esto se puede deber a que las propiedades físicas y químicas de las hojas pueden obstaculizar la relación entre las tasas de descomposición y actividad enzimática, alterando la efectividad y estabilidad de las enzimas o limitando el acceso de la comunidad microbial (Allison y Vitousek 2004). Por otra parte, la abundancia de compuestos solubles puede incrementar las tasas de descomposición independientemente de la actividad enzimática y la presencia de polifenoles puede reducir la actividad. Es decir muchos factores pueden alterar la actividad enzimática después de que las enzimas son producidas, por lo que no necesariamente existe una relación directa en la actividad enzimática y la tasa de descomposición (Allison y Vitousek 2004). Cuando un componente como el carbono está presente en exceso el N y P son factores más limitantes para el crecimiento de la biomasa microbial. La síntesis de actividad enzimática extracelular es regulada por un mecanismo de inducción y represión, vinculados a la disponibilidad de nutrientes en el medio (Shackle *et al.* 2000).

### **5.6.3 Meso y macrofauna**

Para Wardle y Lavelle 1997 y Lavelle 2005, la función que cumple la macrofauna es de gran importancia en la descomposición porque ejerce interacción con las poblaciones microbianas. Se alimentan de hojarasca y de la microflora y otros que se encargan de transformar la hojarasca a través de degradación de los fenoles, mezcla de material mineral y orgánico y la producción de estructuras fecales.

Existen diferentes interacciones entre la microflora y la fauna del suelo. Estas ocurren en tres niveles: con la micro y meso fauna (red de microalimentación), con los artrópodos (transformadores de hojarasca) y con los “ingenieros del ecosistema” y pueden ser de diferente carácter: predación (predador-presa), competencia y mutualismo, todas altamente relacionadas con la calidad del sustrato (Wardle y Lavelle 1997).

El hecho de que no se haya encontrado diferencias entre la abundancia y riqueza de artrópodos al añadir sustratos de diferente calidad, se puede deber a que la macrofauna

presente en el suelo y sus relaciones tróficas son generales más que especializadas a un tipo de sustrato (Hattenschwiler *et al.* 2005). Por tanto, independientemente del tipo o calidad de sustrato estos llegan a interactuar en el proceso de descomposición. Un cambio en los órdenes encontrados a través del tiempo y entre épocas, nos da a entender que posiblemente también se estén modificando las funciones que ejercen sobre la hojarasca. Sin embargo, este cambio en el tiempo se puede deber más al efecto de las condiciones climáticas que a las condiciones de la hojarasca.

## 5.7 Conclusiones

- Se pueden observar cambios en el desarrollo y actividad enzimática de la población microbiana cuando se trata de sustratos que presentan características altamente contrastantes, como por ejemplo cuando se trata de especies de alta calidad como *Erythrina poeppigiana*, o de baja calidad como *Swietenia macrophylla*. Mientras que aquellas especies que tienen características intermedias no ejercen impacto notable sobre la población microbiana a lo largo de la descomposición.
- El desarrollo de la población microbiana y su actividad responde en una primera instancia a factores abióticos como humedad, más que a la calidad del sustrato. Si las condiciones climáticas pueden favorecer el desarrollo de la población microbiana, se puede diferenciar el impacto del sustrato sobre la población microbiana durante el proceso de descomposición.
- El hecho de que un sustrato presente cambios en la población microbiológica en un determinado tiempo a diferencia de otro puede tener implicaciones sobre la comunidad de artrópodos que se desarrolla y se alimenta de las comunidades microbianas, o la actividad enzimática puede favorecer al acceso de fuentes de nutrientes y energía para otras poblaciones sobre todo la mesofauna del suelo, lo que se vería reflejado en un cambio en el ciclaje de nutrientes y carbono dentro del sistema.
- Las actividades enzimáticas celulasa, lacasa y lignina peroxidasa son parámetros que contribuyen a explicar las tasas de descomposición de las especies en estudio, por lo que son de gran utilidad para caracterizar el ciclaje de nutrientes.
- Lograr un cambio en la descomposición para lograr mayor eficiencia en el ciclaje de nutrientes a través del desarrollo de las poblaciones microbianas, su actividad e interacción con la fauna del suelo, requiere de la integración de especies de calidad tanto por su composición química como también por su capacidad de modificar las condiciones microclimáticas dentro del sistema.

## 5.8 Recomendaciones

- Por las condiciones en que fue realizado el estudio, en las que varios factores como temperatura, humedad, ph y otras características no son controlados durante la descomposición, se presentan fuentes de variación elevadas que no permiten la diferenciación adecuada entre tratamientos sobre las poblaciones microbianas, de macrofauna y su actividad. Por tanto, en futuras investigaciones se debería trabajar en condiciones más controladas y considerando los parámetros en estudio.

## 5.9 Bibliografía

- Álvarez, MT; Quillaguamán, J; Mattiasson, B. 2005. *Clostridium boliviense* sp. nov. and *Clostridium algarum* sp. nov., xylamolytic, thiosulphate and sulphite-reducing bacteria isolated from the Bolivian Andean region. In: Microbial treatment of heavy metal leachates. Department of biotechnology. Lund University. 51p.
- Anderson, J; Ingram, J. 1993. Tropical soil biology and fertility. 2da edición. Oxford UK. CAB Internacional. 221p.
- Allison, S; Vitousek, P. 2004. Extravellular enzyme activities and carbon chemistry as drivers of tropica plant litter decomposition. *Biotropica* 36(3):285-296.
- Beer, J; Bonneman, W; Chavez, H; Fassbender, H; Imbach, A; Martel, I. 1990. Modelling agroforestry systems of cacao (*Theobroma cacao*) with laurel (*Cordia alliodora*) or poro (*Erythrina poeppigiana*) in Costa Rica. V. Productivity indices, organica material models and sustainability over ten years. *Agroforestry Systems* 12:229-249.
- \_\_\_\_\_; Muschler, D; Kass, D; Somarriba, E. 1998. Shade management in coffee and cacao plantations. *Agroforestry Systems* 38: 139-164.
- Berg, B; McLaugherty, C. 2003. Plant litter. Decomposition, humus formation, carbon secuestration. Berlin, DE. © Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 286 p.
- CUMAT, 1987. Capacidad de uso mayor de la tierra, proyecto Alto Beni. La Paz, BO, Centro de investigaciones de la Capacidad de Uso Mayor de la Tierra (CUMAT). 146p.
- Donnison, L; Griffith, G; Bardgett, R. 2000. Determinants of fungal growth and activity in botanically diverse haymeadows: effects of litter type and fertilizer additions. *Soil biology and biochemistry* 32:289-294.
- Gartner, B; Cardon, G. 2004. Decomposition dynamics in mixed species leaf litter-a review. *Oikos* 104: 230-246.
- Hammel, K. 1997. Fungal degradation of lignin. In. Driven by nature: Plant litter quality and decomposition. Cadish, G; Giller, K. (Eds). CAB International. 33-45 .

- Hattenschwiler, S; Tiunow, A; Scheu, S. 2005. Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Annual Review Ecology Evolution System* 36:191-218.
- Kurzatkowski, D; Martius, C; Hofer, H; García, M; Forster, B; Ludwig, B; Vlek, P. 2004. Litter decomposition, microbial biomass and activity of soil organisms in three agroforestry sites in central Amazonia. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 69: 257-267.
- Lavelle, P; Blnachart, E; Martin, A; Martin, S; Spain, A; Toutain, F; Barois, I; Schaefer, R. 1993. A hierarchical model for decomposition in terrestrial ecosystems. *Appications to soils in the humid tropics. Biotropica* 25(2): 130-150.
- Lavelle, P, Spain, A. 2005. *Soil ecology*. Dordrecht, (Países Bajos). Springer. 2. ed.. 654 p.
- Mendonca, E; Stott, D. 2003. Characteristics and decomposition rates of prunnigs residues from a shaded coffee system in Southeastern Brazil. *Agroforestry Systems* 57:117-125.
- Moorhead, D; Sinsabaugh; R. 2000. Simulated patterns of litters decay predict patterns of extracellular enzyme activities. *Applied soil ecology* 14:71-79 .
- Nardo, C; Papa, C; Fuggi, A; Fioretto, A. 2004. Laccase and peroxidase isenzymes during leaf litter decomposition of *Quercus ilex* in a Mediterranean ecosystem. *Soil biology and biochemistry*. 36:1539-1544.
- Powlson, D; Hirsch, P; Brookes, P. 2001. The role of soil microorganisms in soil organic matter conservation in the tropics. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 61: 41-51
- Schroth, G; Lehman; J; Rodriguez, M; Barros, E; Macedo, J. 2001. Plant-soil interactions in multiestrata agroforestry in the humid tropics. *Agroforestry Systems* 53:85-102.
- Schroth, G. 2003. Decomposition and nutrient supply from biomass. *In Trees, crops and soil fertility: concepts and research methods*. Schroth, G; Sinclair, F. (Eds). CAB International. Wallingford, UK. 437 p.
- SAS (Statistical Analysis System). 2003. *Basic and Statistics*. SAS Institute Inc. SAS Campus Drive Cary. North Caroline, US.
- SENAMHI (Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología) 2003. *Datos metereológicos de la Estación Experimental Sapecho, Alto Beni, Bolivia*. BO. sp.
- Shackle, V; Freeman, C; Reynolds, B. 2000. Carbon supply and the regulation of enzyme activity un constructed wetlands. *Soil Biology anf Biochemistry* 32: 1935-1940.
- Somarriba; E; Beer, J. 1999. *Sistemas agroforestales con cacao en Costa Rica y Panamá. Agroforestería en las Américas* (6)22:7-11.
- \_\_\_\_\_; E; Trujillo, L. 2005. El proyecto “Modernización de la cacaocultura orgánica del Alto Beni, Bolivia”. *Agroforestería en las Américas* 43-44.
- Terrazas, E; Alvarez, MT; Guieysse, B; Mattiasson, B. 2005. Isolation and characterization of a white rot fungus *Bjerkandera* sp. Strain capable of oxidizing phenanthrene. *Biotechnology Letters* 27: 845- 851

- Wardle, D; Lavelle, P. 1997. Linkages between soil biota, plant litter quality and decomposition. In. Driven by nature: plant litter quality and decomposition. Eds. Cadisch, G; Giller, K. CAB International. Wallingford, UK. p. 379-392.
- Zak, D; Holmes, W, White, D; Peacock, A; Tilman, D. 2003. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links?. Ecology 84 (8):2042-2050 p.

## **ANEXOS**

*Anexo 1. Características fenológicas de las especies más abundantes encontradas en los sistemas agroforestales con cacao, Alto Beni, Bolivia.*

Nombre Científico	Familia	Velocidad de crecimiento	Densidad de la copa	Sombrea- miento	Tamaño de las hojas	Caducifolia	Meses que derrama hojas	Cantidad de meses sin hojas	Descompo- sición de las hojas	Autopoda
<i>Scheelea princeps</i>	Palmae	rápido	densa	mucho	grandes	no	NA	NA	lenta	no
<i>Swietenia macrophylla</i>	Meliaceae	lento	densa	Alto	menudas	si	jun, jul, sept, oct	4	lenta	si
<i>Schizolubium parahyba</i>	Leguminosae (Caesalpinaceae)	rápido	rala	poco	menudas	si	jun, jul	4	NS	si
<i>Inga edulis</i>	Leguminosae (Mimosoideae)	rápido	densa	mucho	grandes	no	jun-sept	NA	rápida	si
<i>Persea americana</i>	Laureceae	rápido	densa	poco	grandes	NA	NA	NA	NS	no
<i>Acacia</i> spp.	Leguminosae (Mimosoideae)	lento	rala	poco	menudas	no	NA	NA	lenta	no
<i>Bactris gasipaes</i>	Palmae	rápido	rala	poco	grandes	no	NA	NA	lenta	no
<i>Erythrina poeppigiana</i>	Leguminosae (Papilionoideae)	rápido	rala-densa	medio	grandes	si	jul, agost, sept	3	rápida	no
<i>Amburana cearensis</i>	Leguminosae (Papilionoideae)	lento	rala	medio	menudas	si	jun, sept, oct	4	rápida	si
<i>Cedrela odorata</i>	Meliaceae	rápido	rala-densa	mucho	medianas	si	NS	NS	lenta	no
<i>Centrolobium ochroxylum</i>	Leguminosae (Mimosoideae)	rápido	rala	medio	menudas	no	jun, jul, agost	3	lenta	si
<i>Myroxylon balsmum</i>	Leguminosae (Papilionoideae)	lento	densa	poco	menudas	no	jul, jun	NA	rápida	si
<i>Citrus sinensis</i>	Rutaceae	NA	Densa	poco	menudas	NA	NA	NA	NS	NA