

FIJACION DE NITROGENO EN ARBOLES DE SOMBRA (ERYTHRINA POEPPIGIANA) EN CACAOTALES DEL NORTE DE VENEZUELA

GLADYS ESCALANTE, R. HERRERA¹ y J. ARANGUREN²

RESUMEM - Se estudió la fijación simbiótica de N en nódulos de *E. poeppigiana*, árbol comunmente utilizado para sombra en plantaciones de cacao en Venezuela. Se seleccionaron dos áreas experimentales, una que tiene aproximadamente 32 años y unos 12 años de abandonada y otra con manejo tradicional y fertilizada. El muestreo se realizó en ambas parcelas durante 10 meses, incluyendo época seca y de lluvia. Se estimó la tasa de actividad fijadora de N₂ por el método de reducción de acetileno. Se observó que estas actividades en ambas parcelas presentan variaciones de acuerdo con la precipitación. En la estación seca decae desde valores intermedios hasta cero y en la estación lluviosa aumenta rápidamente con el inicio de las lluvias. Se determinó el número y el peso de los nódulos por unidad de área y éstos también mostraron variaciones de acuerdo con la precipitación. Se determinó la disposición espacial de los nódulos y se midió la distancia a la cual se encontró la mayor densidad de éstos, tanto en la base del tronco de *T. cacao* como de *E. poeppigiana*. Se observó que en la parcela fertilizada la mayor densidad de los nódulos se encuentra más cerca de la base del tronco de *T. cacao* (0,4 m) que en la parcela no fertilizada (3,8 m). Quizás esto pueda explicarse por las prácticas de fertilización química, donde el fósforo es un elemento muy importante en el proceso de nodulación. El promedio del contenido de N en los nódulos de *Erythrina poeppigiana* fue de 22 kg/ha⁻¹.

Aun cuando se encontraron diferencias en la actividad de fijación de N₂, en el número y peso de los nódulos de ambas parcelas, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre las parcelas. Se estimó que la cantidad de nitrógeno en nódulos en descomposición fue de 57 a 66 kg/ha en las parcelas no fertilizadas y en las fertilizadas, respectivamente.

Estas estimaciones indican que la exportación de nitrógeno por cosecha puede ser compensada por el aporte de los árboles de *Erythrina* en plantaciones tradicionales, a través de la fijación biológica y por el aporte de N en los nódulos de *Erythrina*, que al senescer y descomponerse liberan el nitrógeno, enriqueciendo el suelo superficial, dejándolo disponible a la masa radical del cultivo.

NITROGEN FIXATION IN SHADE TREES (ERYTHRINA POEPPIGIANA) IN CACAO PLANTATIONS IN NORTH VENEZUELA

ABSTRACT - Symbiotic nitrogen fixation in nodules of *Erythrina poeppigiana*, a shade tree used traditionally in Venezuelan cacao plantations, was studied during 10 months in a 32 year old plantation which had been abandoned and in a 12 year old plantation

¹ Centro de Ecología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC. Apdo. 1827 - Caracas, 1010A, Venezuela.

² Departamento de Biología y Química, Instituto Universitario Pedagógico de Caracas, Av. Páez El Paraiso, Caracas - Venezuela.

fertilized regularly. Nitrogenase activity (C_2H_2) in soil squares containing nodules was very low during the dry season when most nodules fell off, and increased rapidly with the beginning rains. The largest nodule density was closer to the cacao trees in the fertilized area (0.4 m), than in the not fertilized area (3.8 m). The mean nitrogen content in nodules was 22 kg/ha of N without significant difference between treatments. Estimates from the loss of nodules mainly during the dry season amounted in 57 and 66 kg/ha of N in the not fertilized and fertilized areas respectively.

These data indicate that the nitrogen exported by the fruits can be easily replaced by nitrogen fixation associated with the *Erythrina* shading trees.

INTRODUCCION

Diversos autores han reportado la importancia potencial de la fijación simbiótica de nitrógeno en árboles utilizados para sombra, tanto en plantaciones de café como de cacao. Sin embargo, las evidencias experimentales son aún escasas (Aranguren et al. 1982a, b, Bornemisza 1982, Roskoski 1982 y Santana & Cabala Rosand 1982).

Roskoski (1982) reporta para *Inga jinicuil*, como sombra, en plantaciones de café fertilizadas en México, tasas de fijación $> 40 \text{ kg/ha}^{-1}/\text{año}^{-1}$ de N.

En Venezuela el cacao se cultiva tradicionalmente bajo sombra. Las prácticas de fertilización química son escasas y los rendimientos moderados, sin embargo la productividad de las plantaciones se mantiene por mucho tiempo.

Los cultivos perennes asociados con leguminosas permiten reducir las necesidades de fertilización con nitrógeno. Havord (1959) encontró que plantaciones de cacao bajo sombra no responden a fertilización con nitrógeno.

Aranguren et al. (1982b) midieron la cantidad de N contenido en la hojarasca en el suelo y hallaron que varía según la estación entre 24 y 50 kg/ha^{-1} . El flujo total de N en la caída de hojarasca fue de 321 $\text{kg/ha}^{-1}/\text{año}^{-1}$, del cual el 52% proviene de las hojas de los árboles de sombra y el 12% de las hojas del cultivo con tasas de descomposición de 7,7 y 9,5, respectivamente. El aporte de N por las hojas de los árboles de sombra es hasta 6 veces mayor que la salida neta de N en la cosecha (25 $\text{kg/ha}^{-1}/\text{año}^{-1}$). La fitomasa de los árboles de sombra contenía 122, 66 y 567 kg/ha^{-1} de N en *Erythrina poeppigiana*, *Artocarpus altilis* y *Castilloa elastica*, respectivamente (Accardi et al. 1983, Aranguren et al. 1983). La fitomasa de los cacaotales contenía 302 kg/ha^{-1} de N y en el suelo hay cantidades altas de N total hasta los 60 cm de profundidad (35 x 10³ kg/ha) (Aranguren 1980). El mantenimiento de estos altos flujos de N en el sistema debe provenir de los ingresos por lluvia y por fijación biológica en plantaciones no fertilizadas.

Con el objeto de estimar el papel que juega en la fijación simbiótica de nitrógeno *Erythrina poeppigiana*, árbol de la familia de las leguminosas, usado para sombra en la plantación de cacao, se realizó un estudio en dos parcelas experimentales, con fertilización y sin fertilización respectivamente. Se cuantificó y comparó la fijación de nitrógeno en las dos áreas experimentales.

MATERIALES Y METODOS

La estación experimental de cacao está ubicada en la "Hacienda Monasterio", en Ocumare de la Costa, al norte de Venezuela, a una altura de 12 msnm. La temperatura media anual es de 25°C y la precipitación es de 759 mm anuales. Con dos períodos de lluvia, uno desde abril hasta septiembre (lluvia abundante), otro desde octubre hasta diciembre (lluvias esporádicas) y una estación seca que corresponde a los meses de enero, febrero y marzo.

Un área experimental de 7.600 m² fue seleccionada en una plantación de 32 años que está aproximadamente 12 años abandonada, sin fertilización, ni uso de biocidas. En esta área se encuentran 720 árboles de *Theobroma cacao*, variedad "Criollo morado", que crecen al azar bajo denso follaje de 430 árboles utilizados para sombra donde predominan tres especies: *Castilloa elastica*, *Erythrina poeppigiana* y *Artocarpus altilis*.

Se seleccionó otra área experimental de 7.540 m² con manejo tradicional, fertilizada con 45 kg de NPK (10:10:15) 2 veces al año. El cacao es cultivado por hileras cada 3 m con variedades locales intercaladas: Ocumare 61, Ocumare 67 y IMC 67. La especie de sombra *E. poeppigiana* es plantada por hileras cada 15 m.

Métodos Experimentales

Las tasas de fijación de N₂ fueron cuantificadas usando la técnica de reducción de acetileno descrita por Hardy et al. (1968, 1973).

En las dos áreas de estudio se tomaron al azar 20 muestras de suelo superficial con una cuadrata de 25 cm² y 2 cm de profundidad, mensualmente durante 10 meses (noviembre 1981-agosto 1982), lo que incluye la época seca y de lluvia. Se determinó el número de nódulos presentes en cada cuadrata y luego de separados de las raíces y del suelo se colocaron en envases de vidrio de 125 ml con tapas de goma. En el campo, a cada recipiente se le inyectó acetileno hasta obtener una atmósfera de 15% de acetileno y se dejaron en el suelo de la plantación para su incubación durante 24 h. Después de este período de incubación se tomaron muestras de gas de cada envase en tubos al vacío, que fueron llevados al laboratorio, donde se determinó el contenido de acetileno-etileno en un cromatógrafo de gases.

Las muestras de nódulos fueron secadas en una estufa por 48 h a 80°C para determinar el peso seco y realizar análisis de nitrógeno total por el método de Kjeldahl; también se tomaron muestras de nódulos del suelo circundante para análisis de nitrógeno total.

Para los cálculos de fijación de nitrógeno, los valores individuales de reducción de acetileno fueron promediados por mes y convertidos a μ moles de N₂ fijado/gramo de peso seco de nódulo/día, usando el factor teórico de conversión 3:1 (C₂H₂:N₂). Tomando en cuenta las tasas de reducción de acetileno mensual, así como el número y peso de los nódulos y el área, se calcularon los μ moles N₂ fijados/cm². Para estos cálculos sólo se consideraron las cuadratas donde hubo actividad fijadora de N₂ medible. El valor obtenido fue corregido al multiplicar por la proporción del total de cuadratas donde hubo actividad fijadora de N₂.

Se determinó la disposición espacial de los nódulos en el suelo y se midió la distancia a la cual se encontraban los nódulos en las raíces de *Erythrina poeppigiana*, tanto en la base del tronco de la misma *Erythrina* como de la base del tronco de las plantas de cultivo.

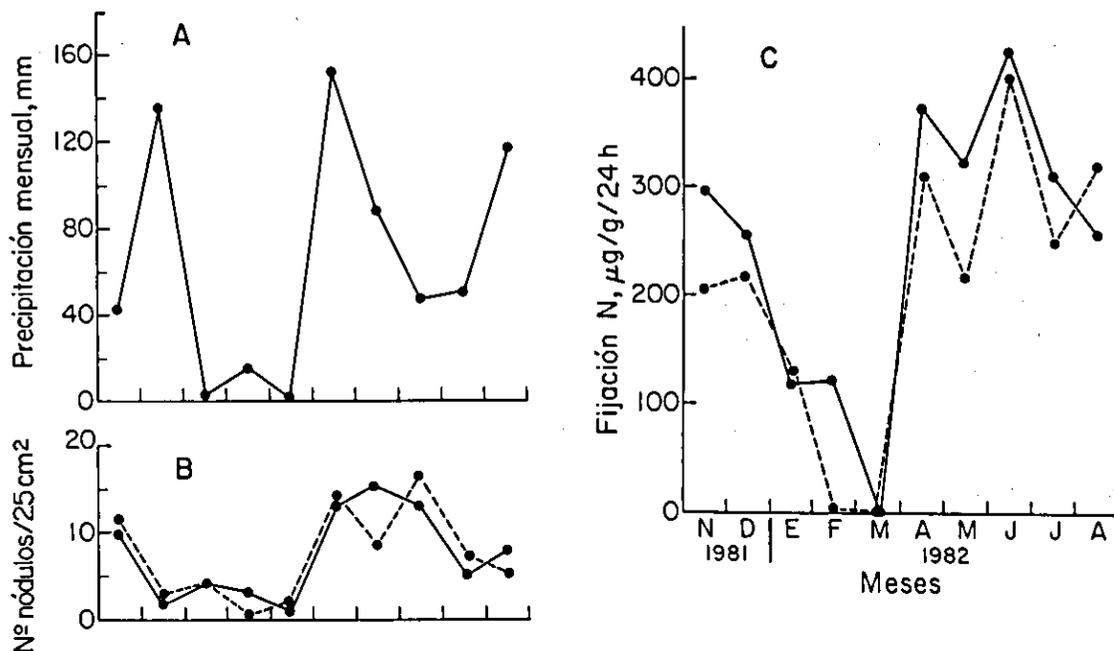


FIG. 1. A. Precipitación mensual en la Estación Experimental de Cacao, Ocumare de la Costa, Venezuela.

- B. Número promedio de nódulos en las cuadratas (25 cm²). Línea continua: parcela no fertilizada; línea de trazos: parcela fertilizada.
- C. Tasa promedio de reducción de acetileno en *Erythrina poeppigiana* expresada en µgN/g peso seco/24 h. Línea continua: parcela no fertilizada; línea de trazos: parcela fertilizada.

RESULTADOS Y DISCUSION

El número de nódulos por unidad de área muestreados (Fig. 1B) presenta una variación de acuerdo a la precipitación, con un máximo para ambas parcelas entre abril y junio. La actividad enzimática decae de valores intermedios a cero a medida que progresa la época de sequía. Al iniciarse las lluvias hay un rápido aumento hasta llegar a actividades de 428 µgN/g de nódulo/día en la parcela no fertilizada. Las actividades en la parcela fertilizada fueron en general ligeramente menores que en la parcela no fertilizada, con *Erythrina* maduras (Fig. 1A).

En la Fig. 1B, C, se observa que los valores mínimos de número de nódulos y actividad enzimática se presentan en la época seca. Esto corresponde con el máximo valor de caída de hojarasca en la plantación de cacao, que ocurre a finales de la estación seca (Aranguren 1980) y podría relacionarse al régimen de escasez hídrica a que fueron sometidas las plantas durante los meses de sequía. Al iniciarse las lluvias en el mes de abril, se produce una disminución muy marcada en la caída de hojarasca, esto es probablemente debido a que el agua deja de ser un factor limitante. También se encontró la mayor densidad de nódulos y la mayor actividad enzimática.

Kesse et al. (1981) señalan que los procesos de nodulación y fijación de nitrógeno requieren de grandes cantidades de fotosintetasa. Es razonable entonces suponer que la mayor densidad de nódulos y la mayor actividad de fijación ocurrirá cuando las hojas son jóvenes y tienen mayor potencial de fotosíntesis.

Se estimó la cantidad de N_2 fijada por unidad de área en los distintos meses, y en 304 días la parcela fertilizada mostró actividad de reducción de acetileno equivalente a $98 \mu\text{gN}/\text{cm}^2$, mientras que en la parcela no fertilizada llegó a $169 \mu\text{gN}/\text{cm}^2$.

La mayor densidad de nódulos se encontró en la interfase entre el suelo y la hojarasca disminuyendo en número con la profundidad de tal modo que sólo ocasionalmente se encontraron por debajo de 2 cm y en ningún caso a profundidades mayores de 10 cm.

La distancia promedio a la cual se encontró la mayor densidad de nódulos en raíces de *E. poeppigiana*, medida desde la base del tronco de *T. cacao* y *E. poeppigiana* (Fig. 2), en la parcela no fertilizada, fue de 3,8 m de la base del tronco de *T. cacao*, y 6,4 m de la base del tronco de *E. poeppigiana*, y en la parcela fertilizada se encontró a una distancia de 0,4 m de *T. cacao* y 3,9 m de *E. poeppigiana*. Hay que señalar que en este esquema están representadas a escala tanto la distribución de la parte aérea como la radical de las especies de sombra y del cultivo (Aranguren 1980, Accardi et al. 1983).

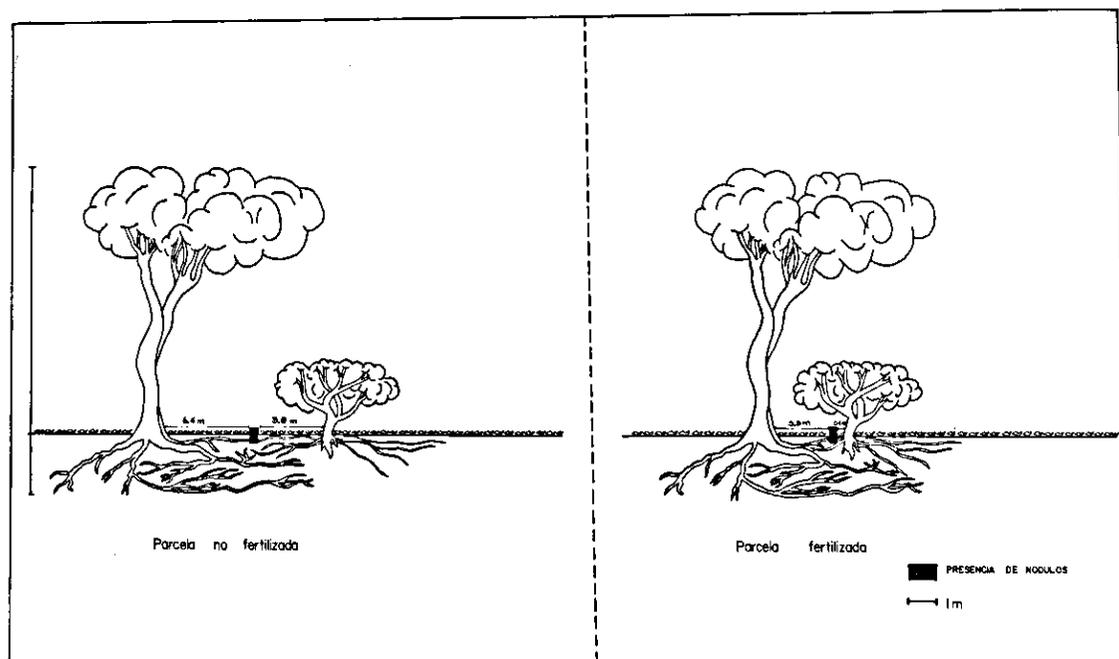


FIG. 2. Distancia promedio de la cual se encontró la mayor densidad de nódulos en raíces de *Erythrina poeppigiana*, medida desde la base del tronco de *T. cacao* y de *E. poeppigiana*.

Se observa que en la parcela no fertilizada es mayor la distancia promedio a la cual se encontró la mayor densidad de nódulos con respecto a las plantas de cacao que en la parcela fertilizada. Quizás esto pueda explicarse por la forma en que crecen las plantas de cacao en ambas parcelas y a la no fertilización.

El hecho de que en la parcela fertilizada se haya encontrado la mayor densidad de nódulos a 0,4 m de *T. cacao* puede ser debido a las prácticas de fertilización química con NPK por el método de surcos circulares de aproximadamente 1 m de diámetro alrededor de los cacaoteros. Esto corrobora los hallazgos de Roskoski (1982), en trabajos realizados con la especie de sombra *I. jinicuil*, en plantaciones de café fertilizadas en México, donde reporta que los nódulos requieren altos niveles de fósforo para su crecimiento y fijación de nitrógeno, y la adición de fósforo durante la fertilización al cultivo debe conducir a un nivel alto pero temporal de fósforo cercano a estas plantas, el cual puede estimular la nodulación.

En la Tabla 1 podemos notar que aun cuando las concentraciones de N son similares en ambas parcelas, se observan diferencias mensuales en cuanto al número y peso de los nódulos. Los valores de concentración de N obtenidos están en un rango de 3,6 - 5,1%, los cuales son similares a los reportados por Santana & Cabala (1982) para nódulos de *Erythrina* sp., en una plantación de cacao en Brasil (3,4 - 4,8).

En la Tabla 2 también se pueden observar las variaciones mensuales del contenido de nitrógeno en los nódulos, sin embargo, a los 10 meses el contenido promedio de N es de 22,3 y 22,5 kg/ha⁻¹ en la parcela no fertilizada y en la fertilizada, respectivamente, lo que nos indicaría que independientemente de que la parcela sea o no fertilizada el aporte de N por los nódulos al suelo puede ser semejante. Estos nódulos son una fuente importante de N, ya que al senescer y descomponerse liberan nitrógeno al suelo enriqueciéndolo (Santana & Cabala 1982).

Mediante la prueba U de Mann - Whitney, tanto las diferencias mensuales de la actividad entre parcelas, como las diferencias entre parcelas fertilizadas y no fertilizadas para los 10 meses resultaron ser no significativas a niveles de 0,025 y 0,01.

TABLA 1. Promedio de peso y concentración de nitrógeno en nódulos de *Erythrina poeppigiana*.

	Peso nódulos (g/m ²)		Concentración N (%)	
	PNF	PF	PNF	PF
Nov.	56	96	4,3	4,4
Dic.	16	24	4,0	4,0
Ene.	36	12	4,0	4,1
Feb.	12	0	4,1	0
Mar.	0	0	0	0
Abr.	36	52	4,9	5,1
May.	148	52	3,9	3,9
Jun.	120	88	4,0	3,8
Jul.	48	56	3,9	4,3
Ago.	72	48	3,6	4,1

PNF = Parcela no fertilizada

PF = Parcela fertilizada.

TABLA 2. Promedio mensual del contenido de nitrógeno en nódulos de *Erythrina poeppigiana* kg/ha⁻¹.

Meses	Parcela no fertilizada	Diferencias negativas *	Parcela fertilizada	Diferencias negativas
Nov.	24,0		42,2	
Dic.	6,4	17,4	9,7	32,5
Ene.	14,4		4,9	4,8
Feb.	4,9	9,5	0	
Mar.	0		0	
Abr.	17,5		26,4	
May.	58,2		20,1	6,3
Jun.	47,9	10,3	33,1	
Jul.	18,6	29,3	23,8	9,3
Ago.	26,1		19,9	3,9
Total		66,5		56,8
\bar{X}	22,3		22,5	
s	18,9		12,0	

* Ver texto.

La estimación de estas tasas de fijación por el método de reducción de acetileno está limitada por cuan correcto es aplicar el factor teórico de conversión 3:1 para $C_2H_2:N_2$; adicionalmente la frecuencia de las mediciones no permite evaluar la variación interdiaria de esta actividad y la perturbación de los nódulos que al cortarse las raíces puede inducir cambios en la actividad. El problema más difícil quizás sea el de la disposición espacial de los nódulos que tiende a ser contagiosa al azar, lo cual dificulta el muestreo.

CONCLUSIONES

La estimación preliminar de la fijación de nitrógeno, evidenciada por los valores de reducción de acetileno, parece indicar que la relativamente pequeña exportación de nitrógeno por cosecha (25 kg N/ha⁻¹) podría ser compensada en ausencia de fertilización por el aporte de los árboles de *Erythrina* en plantaciones tradicionales. Por una parte los árboles de sombra retornan parte del nitrógeno fijado, más el nitrógeno absorbido por las raíces originado de la mineralización del N orgánico de la hojarasca (166 kg N/ha⁻¹/año⁻¹) y por otra parte las variaciones en el contenido de N de los nódulos (Tabla 2) de un mes a otro, indican que del N acumulado por fijación en los nódulos, una parte considerable de alrededor de 67 kg N/ha⁻¹ es retornada al suelo por senescencia y descomposición.

La estación seca coincide con la mayor caída de hojarasca y la senescencia de los nódulos, los cuales al descomponerse y liberar el nitrógeno al inicio de las lluvias, éste quedaría disponible para ser utilizado por los árboles del cultivo, que en esta época producen sus frutos.

REFERENCIAS

- ACCARDI, A.; ARANGUREN, J.; ESCALANTE, G. & HERRERA, R. Determinación de la biomasa aérea y contenido de nutrientes en un agroecosistema de cacao. In: CONGRESO VENEZOLANO DE BOTANICA, 7, Caracas, 1983. Memoria del ... p.49.

- ARANGUREN, J. Contribución de la caída de hojarasca al ciclo de nutrientes en cultivos bajo árboles de sombra (café y cacao). Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, 1980. Tese Mestrado.
- ARANGUREN, J.; ACCARDI, A.; ESCALANTE, G. & HERRERA, R. Determinación de la biomasa radicular, distribución y contenido de nutrientes en un agroecosistema de cacao. In: CONGRESO VENEZOLANO DE BOTANICA, 7, Caracas, 1983. Memoria del . . . p.50.
- ARANGUREN, J.; ESCALANTE, G. & HERRERA, R. Nitrogen cycle of tropical perennial crops under shade trees. I. Coffee. *Plant and Soil*, 67:247-58, 1982a.
- ARANGUREN, J.; ESCALANTE, G. & HERRERA, R. Nitrogen cycle of tropical perennial crops under shade trees. II. Cacao. *Plant and Soil*, 67:259-69, 1982b.
- BORNEMISZA, E. Nitrogen cycling in coffee plantations. *Plant and Soil*, 67:241-6, 1982.
- HARDY, R.W.F.; BURNS, R.C. & HOLSTEN, R.D. Applications of the acetylene - ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil Biol. Bioch.*, 5:47-81, 1973.
- HARDY, R.W.F.; HOLSTEN, R.D.; JACKSON, E.K. & BURNS, R.C. The acetylene - ethylene assay for N₂ fixation: Laboratory and field evaluation. *Pl. Physiol.*, 43:1185-1207, 1968.
- HAVORD, G. The nutrition and shade requirements of cacao. *Turrialba*, 9:138-48, 1959.
- KESSE, C. van & ROSKOSKI, J.P. Nodulation and N₂ fixation by *Inga jinicuil*, a wood legume in coffee plantations. II. Effect of soil nutrients on nodulation and N₂ fixation. *Plant and Soil*, 59:207-15, 1981.
- ROSKOSKI, J.P. Nitrogen fixation in a Mexican coffee plantation. *Plant and Soil*, 67:283-91, 1982.
- SANTANA, M.B.M. & CABALA ROSAND, P. Dynamics of nitrogen in a shade cacao plantation. *Plant and Soil*, 67: 271-81, 1982.
- SIEGEL, S. Estadística no paramétrica aplicada a la ciencia de la conducta. Méjico, Ed. Trillas, 1976. p.143-55.