



## Cuantificación de la fijación biológica del nitrógeno en árboles de sombra de dos cafetales de Cuba

### Quantification of biological nitrogen fixation in shadow trees from two coffee plantation in Cuba

<sup>1</sup>Gloria M. Martín-Alonso<sup>1\*</sup>, <sup>1</sup>Carlos Bustamante-González<sup>2</sup>,  
<sup>1</sup>Mario Varela-Nualles<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Alberto Pérez-Díaz<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Rolando Viñals-Núñez<sup>4</sup>,  
<sup>1</sup>Anicel Delgado-Álvarez<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Luis R. Fundora-Sánchez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Agroforestales. UCTB Tercer Frente. Santiago de Cuba, Cuba. CP 92700.

<sup>3</sup>Universidad de Guantánamo, Carretera a Santiago de Cuba, Km 2 ½ Guantánamo, Cuba.

<sup>4</sup>Instituto de Investigaciones Agroforestales. UCTB Velasco. Holguín, Cuba.

**RESUMEN:** En los agroecosistemas de cafetales, es de suma importancia mantener niveles adecuados de nitrógeno para garantizar producciones estables y sostenibles. En este tipo de agricultura, es fundamental considerar la inserción de especies de sombra que realizan la Fijación Biológica del Nitrógeno como forma natural de incorporar este elemento al suelo. En ese sentido, se realizó un experimento en dos zonas cafetaleras (*Coffea canephora* var. Robusta) del Oriente de Cuba, en los macizos montañosos Sagua-Nipe-Baracoa y Sierra Maestra, con el objetivo de cuantificar la producción de biomasa seca y contenido de N de dos leguminosas empleadas como árboles de sombra (*Samanea saman* y *Gliricidia sepium*) y a partir de esas determinaciones, estimar la fijación biológica del nitrógeno por el método de la diferencia de N total. La masa seca y el contenido de N, cuantificados en los árboles de sombra, fueron superiores a la evaluada en el cafeto, debido al diferente porte entre las especies en estudio, la masa seca del cafeto osciló entre 1,23 y 1,75 t ha<sup>-1</sup> y el de los árboles de sombra entre 2 y 3 t ha<sup>-1</sup>. Los contenidos de N foliar de las especies de sombra oscilaron entre 25-40 kg ha<sup>-1</sup> y el cafeto presentó concentraciones foliares del elemento en rangos adecuados. Las especies arbóreas presentan FBN entre un 20 y 55 %, lo cual las convierte en una fuente importante para el aporte y reciclaje del nitrógeno dentro de los ecosistemas cafetaleros.

**Palabras clave:** *Coffea canephora*, *Gliricidia sepium*, masa seca, *Samanea saman*.

**ABSTRACT:** In coffee agroecosystems, it is of much importance to maintain appropriate levels of nitrogen to guarantee stable and sustainable productions. In this agriculture type, it is fundamental to consider the insert of shade species that carry out the Biological Fixation of the Nitrogen like natural form of incorporating this element to the soil. In that sense, it was carried out an experiment in two coffee areas (*Coffea canephora* var. Robusta) of the East of Cuba, in Sagua-Nipe-Baracoa and Sierra Maestra mountains, with the objective of quantifying the production of dry biomass and content of two leguminous used as shade trees (*Samanea saman* and *Gliricidia sepium*) and starting, from those determinations, to estimate the nitrogen biological fixation by the total N difference method. The dry mass and N content quantified in the shade trees were superior to the valued in the coffee, due to the different behavior among the species in study, coffee dry mass oscillated between 1.23 and 1.75 t ha<sup>-1</sup> and the shade trees between 2 and 3 t ha<sup>-1</sup>. The contents of foliate N of the shade species oscillated among 25-40 kg ha<sup>-1</sup> and the coffee presented foliar concentrations of the element in appropriate ranges. The arboreal species present BFN between 20 and 55 %, that which transforms them into an important source for the contribution and recycling of the nitrogen inside the coffee ecosystems.

**Key words:** *Coffea canephora*, *Gliricidia sepium*, dry mass, *Samanea saman*.

\*Autor para correspondencia: [gloriam@inca.edu.cu](mailto:gloriam@inca.edu.cu)

Recibido: 07/05/2019

Aceptado: 25/02/2021

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



## INTRODUCCIÓN

El nitrógeno (N) es un elemento importante en el desarrollo de todos los organismos ya que forma parte de la estructura de los aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas y componentes celulares (1). Sin embargo, en el suelo es uno de los nutrientes más limitantes. La atmósfera contiene un 78 % de N, pero este se encuentra en formas no disponibles para la mayoría de los seres vivos y solo puede ser utilizado por un grupo de microorganismos altamente especializados, las bacterias fijadoras de N, que se asocian con diferentes especies vegetales, fundamentalmente las leguminosas, para realizar este importante proceso natural (2).

En los agroecosistemas de cafetales, es de suma importancia mantener niveles adecuados de N para garantizar producciones estables y sostenibles. En ese sentido, se han obtenido resultados que optimizan el empleo de fertilizantes minerales nitrogenados para alcanzar rendimientos máximos estables; sin embargo, es necesario tener en cuenta la importancia de otros componentes del agroecosistema para mantener y elevar las entradas y el reciclaje del elemento, de forma aprovechable por el cultivo (3). Los elevados precios de los fertilizantes minerales en el mercado mundial y los efectos negativos al medio ambiente que puede provocar su uso inadecuado, hacen necesario investigar de forma más exhaustiva el aporte de nitrógeno que pueden realizar otras fuentes orgánicas dentro de los cafetales, no solo fuentes externas, sino fundamentalmente, de los componentes de los agroecosistemas cafetaleros.

En ese sentido, los cafetales en sistemas agroforestales con árboles de sombra ejercen un control sobre los recursos hídricos, pues se mitiga el déficit de agua en períodos de sequía, además de ayudar en la fertilidad del suelo, minimizan la erosión, reciclan nutrientes y aportan gran cantidad de materia orgánica (4). En este tipo de agroecosistemas, se prioriza la inclusión de arbóreas de uso múltiple, pero también es fundamental considerar la inserción de especies que realizan la Fijación Biológica del Nitrógeno (FBN) como forma natural de incorporar este elemento al suelo (5).

Entre los árboles utilizados en la sombra de cafetales se encuentran la gliricidia (*Gliricidia sepium* (Jacq) Walp.), el algarrobo (*Samanea saman* (Jacq) Merrill), entre otras especies arbóreas leguminosas (6). Los cafetales establecidos en sistemas asociados con árboles pueden generar ingresos adicionales a los productores, tanto desde el punto de vista de la venta de frutas, maderas, entre otros productos forestales, como por servicios ambientales (7).

Es por estas razones que se hace necesario, en aras de contribuir a una estimación del balance del N en los agroecosistemas de cafetales, cuantificar el aporte de los

árboles de sombra que lo componen, a través de la estimación del proceso de fijación biológica del N (FBN).

En ese sentido, se realizó este experimento en dos zonas cafetaleras del Oriente de Cuba, con el objetivo de cuantificar la producción de masa seca y el contenido de N de dos leguminosas empleadas como árboles de sombra en el ecosistema cafetralero y, a partir de esas determinaciones, estimar la FBN por el método de la diferencia de N total.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló durante un período de cuatro años (2004-2007) en dos localidades de los macizos montañosos Sierra Maestra y Sagua-Nipe-Baracoa. Una fue la localidad Tercer Frente (sitio Cruce de los Baños), situada a los 20°09' latitud N y 76°16' longitud O, a 35 km ONO de la ciudad de Santiago de Cuba, a 150 m s.n.m., en el municipio Tercer Frente, macizo Sierra Maestra, con sombra predominante de *Samanea saman* (Jacq) Merrill.

La segunda localidad fue La Alcarazza, situada en el municipio Sagua de Táñamo, macizo Nipe - Sagua - Baracoa, a los 20°35' latitud N y 75°15' longitud O, a 118 km ESE de la ciudad de Holguín, con una altura de 300 m s.n.m., con sombra predominante de *Gliricidia sepium* (Jacq) Walp. Algunas propiedades de los suelos se presentan en la Tabla 1.

Para el análisis químico del suelo, se emplearon los siguientes métodos (8): pH (H<sub>2</sub>O) por el método potenciométrico, con relación suelo:solución de 1:2,5; materia orgánica (% M.O) por el método de Walkley y Black; P asimilable por extracción con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N con relación suelo:solución 1:2,5; cationes intercambiables (cmolc kg<sup>-1</sup>) por extracción con NH<sub>4</sub>Ac 1 Mol L<sup>-1</sup> a pH 7 y determinación por complejometría (Ca y Mg) y fotometría de llama (K y Na).

La cuantificación de la fitomasa del cafeto (hojas) y de los árboles de sombra (hojas, frutos, flores y raquis) se realizó mensualmente, desde enero a diciembre, en las dos localidades y durante los cuatro años evaluados.

La estimación de la cantidad de hojarasca caída de los árboles de sombra en cada localidad se realizó por medio de mantas de nylon de polietileno de 1m x 1m. Se seleccionaron al azar en cada área experimental, cuatro árboles de sombra y se colocaron ocho mantas por árbol, cuatro en la calle y cuatro en la hilera del cafeto (9). En el caso del cafeto, se recolectó también el aporte de los deshíjos y podas.

En todos los casos se determinó la masa seca (secado de cada órgano a 70 °C hasta obtener masa constante) y se expresó en t ha<sup>-1</sup>, así como el correspondiente análisis químico de N, mediante digestión húmeda con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + Se y determinación colorimétrica con el reactivo de Nessler y expresado en porcentaje de masa seca por órganos (8).

**Tabla 1.** Principales características químicas del horizonte cultivable (0-30 cm) de los suelos bajo estudio al inicio de los experimentos.

| Suelos  | pH  | M.O (%) | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | K <sub>2</sub> O | K <sup>+</sup> | Ca <sup>2+</sup>          | Mg <sup>2+</sup> | Na <sup>+</sup> | CIB  |
|---|-----|---------|-------------------------------|------------------|----------------|---------------------------|------------------|-----------------|------|
|   |     |         | (mg 100 g <sup>-1</sup> )     |                  |                | (cmolc kg <sup>-1</sup> ) |                  |                 |      |
| Pardo ócrico sin carbonatos. Sitio Tercer Frente  | 6,4 | 2,97    | 15,20                         | 22,14            | 0,64           | 31,5                      | 11,8             | 0,4             | 44,3 |
| Pardo gleyzoso sin carbonatos. Sitio La Alcarazza | 5,6 | 3,07    | 16,72                         | 26,0             | 0,75           | 26,8                      | 10,8             | 0,27            | 38,6 |

CIB: Capacidad de Intercambio de Bases =  $\sum$  Bases cambiables

Con estos valores se calcularon las extracciones de N, de cada órgano del cultivo en todos los años evaluados, de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\text{Extracción de } N \text{ por órgano } \left( \text{kg ha}^{-1} \right) = \\ [ \text{Masa seca } \left( \text{kg ha}^{-1} \right) * \% N \text{ en cada órgano} ] / 100$$

A partir de estos datos, se calculó la FBN por el método de la diferencia de N total mediante la fórmula propuesta por Resende y colaboradores (10):

$$\% FBN = [(Contenido N fix - Contenido N ref) / \\ (Contenido N fix)] * 100$$

donde: fix = planta fijadora, Ref = planta no fijadora

Se consideraron como plantas fijadoras a los árboles de sombra de los géneros *Gliricidia* o *Samanea*, según la localidad y como planta no fijadora al cafeto, tomándose las muestras de esta última especie de parcelas que no recibieron aplicaciones de fuentes nitrogenadas.

Análisis estadístico: a todas las variables evaluadas se les determinó la media aritmética y el intervalo de confianza de las medias. Esta última mediante la fórmula:

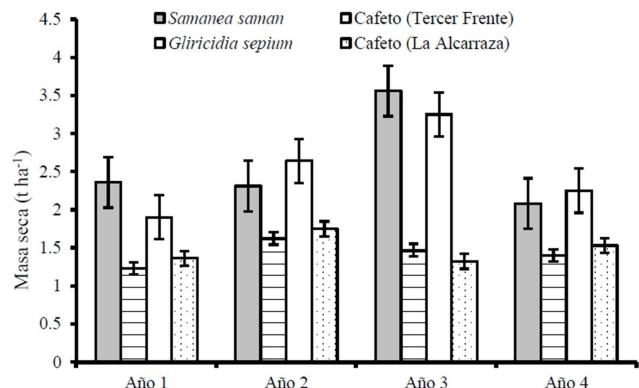
$$IC = \bar{X} \pm t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{S}{\sqrt{n}}$$

donde: IC=intervalo de confianza  $\bar{X}$  = media aritmética, S=desviación estándar. n=número de observaciones, t=estadígrafo t de student de la prueba de hipótesis,  $\alpha=0,05$  para un nivel de confianza del 95 %. Se empleó el programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XV versión 15.2.14.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El comportamiento de la masa seca del cafeto y los árboles de sombra durante los cuatro años evaluados se presentan en la Figura 1. Los valores de masa seca del cafeto oscilaron entre 1,23 y 1,75 t  $\text{ha}^{-1}$ , en correspondencia con los reportados para la especie *C. canephora* en Cuba (11) y que, a su vez, son superiores a los obtenidos en diferentes sistemas agroforestales con *C. arabica* bajo sombra, donde se obtuvieron entre 1,19 y 1,35 t  $\text{ha}^{-1}$  año $^{-1}$  de masa seca (12). Es de destacar que en los dos sitios experimentales, las cantidades de masa seca del cafeto fueron semejantes, al igual que la masa seca de las dos especies de árboles de sombra y estas, a su vez, fueron superiores a los valores de masa seca del cafeto en todos los años de realizadas las evaluaciones, esto se debe al diferente porte entre las especies estudiadas.

Los aportes de masa seca de los árboles de sombra tuvieron poca variación de un año a otro, oscilando entre 2 a 3 t  $\text{ha}^{-1}$ , excepto en el tercer año evaluado, que alcanzaron valores superiores a las 3 t  $\text{ha}^{-1}$ . Esto se debe a que los árboles de sombra están en equilibrio y anualmente pueden esperarse, dependiendo del régimen de precipitaciones, un comportamiento homogéneo en las dos zonas, pero variando entre especies (13).



Barras verticales: intervalo de confianza de las medias

*Samanea saman* en el sitio Tercer Frente y *Gliricidia sepium* en el sitio La Alcaraz

**Figura 1.** Comportamiento de la masa seca del cafeto y los árboles de sombra durante los cuatro años evaluados.

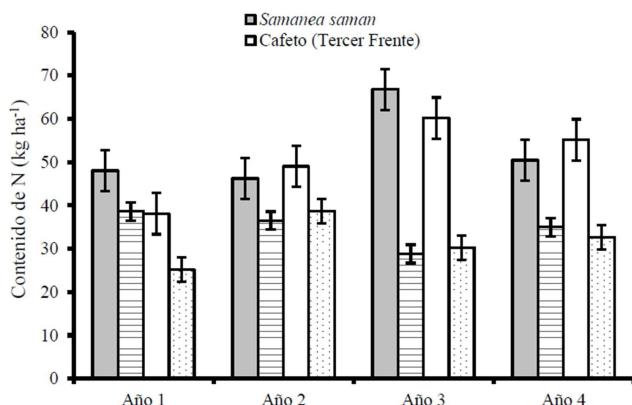
Así, la hojarasca de *Gliricidia sepium* puede aportar como media de los años evaluados 2,51 t  $\text{ha}^{-1}$  de masa seca, mientras que *Samanea saman* lo hace anualmente (media de los años evaluados) para 2,58 t  $\text{ha}^{-1}$  de masa seca de las hojas.

El aporte al agroecosistema cafetalero por *Samanea samán* puede llegar a 2,3 t  $\text{ha}^{-1}$  de masa seca (14), valores semejantes a los encontrados en este estudio y para el caso de *Gliricidia sepium*, se reportan valores desde 1,5 hasta 6 t  $\text{ha}^{-1}$  año $^{-1}$  en dependencia de la cantidad de árboles presentes en el sistema (4,15).

En Brasil se han realizado estudios en cafetales orgánicos y se ha encontrado que el aporte de *Gliricidia sepium* como sombra del cafeto puede llegar a alcanzar 3,5 t  $\text{ha}^{-1}$  año $^{-1}$ , aportando una biomasa compuesta por hojas, ramas y flores, siendo las hojas la principal fuente de aporte y reciclaje de nutrientes. En esas condiciones, *Gliricidia sepium* es una especie que aporta más hojas al suelo que otras especies de sombra, como *Erythrina* sp., que aportan mayor cantidad de ramas (16).

En México se emplean varias especies forestales como sombra en cafetales, sean o no leguminosas, con varias funciones dentro del ecosistema, como productores de alimentos, leña, madera, entre otros y llegan a realizar aportes anuales de biomasa de hasta 14 t  $\text{ha}^{-1}$  año $^{-1}$ , cumpliendo de esa forma con varios de los requisitos de una especie para ser empleada como árbol de sombra, entre ellos, ser de rápido crecimiento y con una alta producción de biomasa y hojarasca (17).

En la Figura 2 se presentan los contenidos de N total de las especies en estudio: *Gliricidia sepium*, *Samanea saman* y *C. canephora*. En los sitios y años evaluados (2004-2007), el contenido de N total de las leguminosas fue superior al del cafeto, excepto en el primer año evaluado y en el sitio Tercer Frente, en los que los valores de contenido de N total del cafeto fueron semejantes a los encontrados en los árboles de sombra. En el cafeto, el contenido de N total osciló entre 25 y 40 kg  $\text{ha}^{-1}$ . Es importante señalar que las concentraciones de N del cafeto estuvieron en los rangos adecuados para la especie *C. canephora*, que oscilan entre 2,91 a 3,09 % de N total (18).



Barras verticales: intervalo de confianza de las medias  
*Samanea saman* en el sitio Tercer Frente y *Gliricidia sepium* en el sitio La Alcarraza

**Figura 2.** Comportamiento del contenido de N en el cafeto y los árboles de sombra durante los cuatro años evaluados.

El contenido de N total de los árboles de sombra fue muy similar entre ambas especies (**Figura 2**), *Samanea saman* contenía entre 46,26 a 66,80 kg ha<sup>-1</sup> y como media de las evaluaciones 52,89 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>. Las hojas de *Gliricidia sepium* contenían de 38,1 a 60,18 kg ha<sup>-1</sup>, con un aporte promedio anual de 50,61 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>.

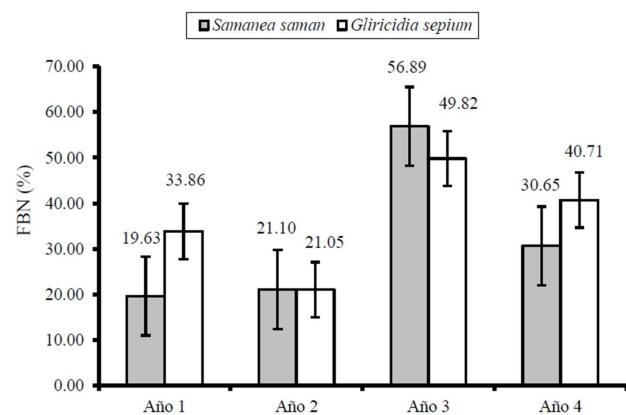
Esta contribución por el cafeto y los árboles de sombra, fue semejante a lo reportado en el Valle del Cauca, Colombia, donde la hojarasca de *Gliricidia sepium* contribuyó con 51,4 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, aporte que resulta importante dentro de la contribución de esta especie por fijación biológica del N (19).

En México se reporta que las especies leguminosas como *Inga* sp. realizan aportes cercanos a los 60 kg N ha<sup>-1</sup> y estos niveles se deben a que la nodulación en las raíces ocurre de forma espontánea y no se acostumbra a inocular con especies eficientes de rizobios a las leguminosas arbustivas (17).

En la **Figura 3** se presentan los porcentajes de FBN de las leguminosas arbóreas componentes de los cafetales en estudio, mediante el método de la diferencia de N total y tomando como planta de referencia al cafeto.

En tres de los cuatro años estudiados (años 1, 2 y 4), no se detectaron diferencias entre las especies y años evaluados en cuanto a esta variable, encontrándose en las dos especies en rangos entre 19 y 40 %; el tercer año sí marcó la diferencia, con valores muy superiores a los encontrados en el resto de los años, entre 49 y 56 % del N derivado de la FBN; sin embargo, *Gliricidia sepium* no presentó diferencias en los valores de FBN entre el tercer y el cuarto año evaluados.

En algunos países de Latinoamérica (México, Brasil, Guadalupe, Venezuela, Cuba) se reporta que *Gliricidia* es capaz de aportar más del 50 % de N por vía de la FBN (15). En Brasil, en cafetales orgánicos bajo sombra de *Gliricidia sepium*, se ha cuantificado hasta un 66 % del N en el sistema proveniente de la fijación biológica del N, aunque hay especies como *Erythrina poeppigiana* que aporta hasta 78 % de N derivado de la FBN (16).



Barras verticales: intervalo de confianza de las medias  
*Samanea saman* en el sitio Tercer Frente y *Gliricidia sepium* en el sitio La Alcarraza. Planta de referencia: cafeto

**Figura 3.** Cuantificación de la fijación biológica del N de los árboles de sombra durante los cuatro años evaluados.

Este comportamiento parece estar en correspondencia con los valores de masa seca y contenido de N total, donde los mayores valores se encontraron al tercer año de evaluación. De manera general, este resultado parece estar relacionado con la incidencia de las precipitaciones que fueron superiores en el tercer año (datos no mostrados) y esta mayor humedad provocó una estimulación del crecimiento de los árboles de sombra.

Respecto a la importancia de la inclusión de árboles de sombra fijadores de N dentro de los cafetales, se plantea que *Gliricidia sepium* y *Samanea saman* son dos especies forestales fijadoras de N de gran importancia y son ampliamente empleados en el mundo como barreras vivas para prevenir la erosión del suelo y enriquecer al mismo de N proveniente del proceso de FBN, que es muy activo en estas especies (6).

*Samanea saman* es una leguminosa promisoria para fomentar la sombra en cafetales, debido a que se destaca por el elevado número y peso seco de los nódulos de *Rhizobium*, indicativos de la presencia de un proceso eficiente de FBN. En cuanto al crecimiento, es de crecimiento rápido, con más de 100 cm de altura en seis meses, mientras que *G. sepium* es de crecimiento medio, con alturas entre 50 a 100 cm en seis meses e inferior cuantificación de nódulos efectivos de *Rhizobium* (20). También se afirma que *Samanea saman* aumenta la altura de las plantas asociadas en los agroecosistemas, tanto como árbol de sombra en cafetales, en sistemas agrosilvopastoriles y como cercas vivas (5,21).

*Gliricidia sepium* es una leguminosa arbustiva que beneficia la calidad del suelo porque incrementa la captura de carbono (C) y presenta elevada capacidad de fijación biológica del N (15). Las leguminosas son plantas que presentan una relación C:N menor de 30 en el follaje, por lo que su descomposición en el suelo suele ser muy rápida, sobre todo en presencia de altas humedades y temperaturas (22).

Las leguminosas arbustivas elevan el tenor de C en los suelos, lo que permite la elevación de la capacidad de intercambio catiónico, favoreciendo la retención de cationes y la consecuente disminución de su lavado o lixiviación, así también el aumento de la reserva de N y la mejoría de la estructura del suelo (23). De ese modo, la presencia de los restos de leguminosas arbóreas en los cafetales, correlaciona de forma positiva con la abundancia de las poblaciones de lombrices de tierra en el suelo, y la gran cantidad de hojarasca que liberan, propicia la presencia en cantidad y variedad de fauna edáfica, todo lo cual las convierten en especies de amplia preferencia en sistemas agrosilvoforestales (15).

Al respecto, la campaña de campo del Programa Mexicano del Carbono permitió cuantificar aportaciones a la biodiversidad que provocan los sistemas agroforestales de café bajo sombra diversificada, que les protege de las precipitaciones, conserva los suelos mientras los nutre con la caída de las hojas, el fomento de microorganismos y la FBN en el caso de las leguminosas (24).

Por otra parte, la presencia de especies fijadoras de N atmosférico en el sistema agroforestal permite mejorar el balance de este elemento en el suelo. Los métodos empleados para la cuantificación han sido varios, cada cual con ventajas y desventajas y se han obtenido valores que varían en función de la especie evaluada, la metodología empleada y las condiciones edafoclimáticas presentes en el sitio de crecimiento de las plantas (25); sin embargo, no quedan dudas de la importancia de este proceso en los sistemas agroforestales con presencia de cafeto y su relación con el establecimiento de sistemas óptimos de suministro de este nutriente.

Asociar al cafeto con sombra de leguminosas proporciona un tenor de N foliar de este cultivo cercano al indicado por la literatura como óptimo, evidenciando así la importancia de esta práctica en sistemas agrícolas donde el aporte de nitrógeno es más limitante (16).

## CONCLUSIONES

- La masa seca y el contenido de N cuantificados en los árboles de sombra fueron superiores a la evaluada en el cafeto, debido al diferente porte entre las especies en estudio, la masa seca del cafeto osciló entre 1,23 y 1,75 t ha<sup>-1</sup> y el de los árboles de sombra entre 2 y 3 t ha<sup>-1</sup>.
- Los contenidos de N foliar de las especies de sombra oscilaron entre 25-40 kg ha<sup>-1</sup> y el cafeto presentó concentraciones foliares del elemento en rangos adecuados.
- Las especies arbóreas *Gliricidia sepium* y *Samanea saman* presentan FBN entre un 20 y 40 %, que puede ascender hasta 50-55 % en los años de mayor crecimiento vegetativo de los árboles, lo cual las convierte en una fuente importante para el aporte y reciclaje del nitrógeno, dentro de los ecosistemas cafetaleros.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Sosa-Rodrígues BA, Sánchez-de Prager M, Sanclemente-Reyes OE. Influencia de abonos verdes sobre la dinámica de nitrógeno en un Typic Haplustert del Valle del Cauca, Colombia. Acta Agronómica. 2014;63(4):343-51.
2. Moreno-Conn LM, Pérez A, Ramírez M, Franco M. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la viabilidad de bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno utilizadas en la elaboración de inoculantes biológicos para arveja *Pisum sativum* y soya *Glycine max*. Revista colombiana de biotecnología. 2014;16(2):45-56.
3. Perez-Diaz A, Bustamante-Gonzalez C, Martín-Alonso G, Rivera- Espinosa R. Efecto de la fertilización nitrogenada en el cafeto conilon sobre el rendimiento y algunos indicadores de calidad de suelos cambisoles de cuba. Holos Environment. 2014;14(1):49-61.
4. Gutiérrez YL, Lozano HL, Jimenez DAC. Ventajas y desventajas de cultivos de *Coffea arabica* L. y *Theobroma cacao* L. bajo sistemas agroforestales. Ingenierías & Amazonia. 2015;8(1):48-58.
5. Román Miranda ML, Mora Santacruz A, González Cueva GA. Sistemas agroforestales con especies de importancia maderable y no maderable, en el trópico seco de México. Avances en Investigación Agropecuaria. 2016;20(2):53-72.
6. Ferrari AE, Wall LG. Utilización de árboles fijadores de nitrógeno para la revegetación de suelos degradados. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata. 2004;105(2):63-87.
7. Vega GO, Ordoñez CME, Suarez JCS, Lopez CFP. Almacenamiento de carbono en arreglos agroforestales asociados con café *Coffea arabica* en el sur de Colombia. RIAA. 2014;5(1):213-21.
8. Panque-Pérez VM. Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos. La Habana: Ediciones INCA; 2010. 157 p.
9. Anderson JM, Ingram JSI. Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods. Vols. 36-40. Wallingford, Oxon, UK: CAB International; 1996.
10. Martín-Alonso GM, Tamayo-Aguilar Y, Hernández-Forte I, Varela-Nualles M, da Silva- Araujo E. Cuantificación de la fijación biológica de nitrógeno en *Canavalia ensiformis* crecida en un suelo pardo mullido carbonatado mediante los métodos de abundancia natural de <sup>15</sup>N y diferencia de N total. Cultivos Tropicales. 2017;38(1):122-30.
11. Bustamante González C, Pérez Díaz A, Viñals R, Martín Alonso GM, Rivera R, Rodríguez MI. Producción de fitomasa por *Coffea canephora* Pierre ex Froehner en dos ciclos productivos. Cultivos Tropicales. 2015;36(1):29-35.
12. Jiménez E, Martínez P. Estudios ecológicos del agroecosistema cafetalero: II. Producción de materia orgánica en diferentes tipos de estructura. 1979 p. 109-26.
13. Triana-González D, Loyola-Hernández O, Curbelo-Rodríguez LM, Guevara-Viera RV. Evaluación del aporte de hojarasca y la fauna edáfica asociada a *Gliricidia sepium* (Jacq) Kunth ex Walp como cercas vivas en sabanas ultramáficas. Revista de Producción Animal. 2013;25(2):14-9.

14. Bustamante González C, Rodríguez MI, Viñals R, Pérez A. Contribución al estudio del ciclo de nutrientes en el agroecosistema cafetalero: biomasa y aporte de nutrientes al suelo. Café Cacao,Cuba. 2007;8(2):29-35.
15. Canul-Solis J, Alvarado-Canché C, Castillo-Sánchez L, Sandoval-Gío J, Alayón-Gamboa J, Piñeiro-Vázquez A, et al. *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. una especie arborea multipropósito para la sustentabilidad de los agroecosistemas tropicales. AGROProductividad. 2018;11(10):195-201.
16. Ricci M, da Silva-Araujo E, Alves B, de Almeida FFD, Rouws J, Junior D. Contribuição da adubação verde anual e do cultivo de espécies arbóreas para a ciclagem de nutrientes em cultivo orgânico do cafeiro. Embrapa Agrobiologia-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E). 2017;31.
17. López M, Salazar G, García M. Crecimiento de árboles de sombreado y producción de café en un sistema agroforestal: resultados experimentales. In: Diagnóstico, productividad y ambiente en cafetales: estudios regionales y de caso. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP); 2020. p. 200-30.
18. Pérez- Díaz A, Castañeda- Hidalgo E, Lozano- Trejo S, Bustamante-González CA, Rivera- Espinosa RA, Rodríguez GO, et al. Foliar Analysis as an Estimate on the Nutritional State of Conilon Coffee Plantations on Cambisols. Journal of Life Sciences. 2014;8(2):181-7.
19. Gómez M, Preston TR. Ciclaje de nutrientes en un banco de proteína de matarratón *Gliricidia sepium*. Livestock Research for Rural Development. 1996;8(1):1-8.
20. Andújar F. Evaluación de leguminosas arbóreas en un Ultisol enmendado con cal y nutrientes. Revista Agropecuaria y Forestal APF. 2012;1(1):1-8.
21. Borges JA, Barrios M, Sánchez D, Quiróz Y, Dávila L. Evaluación del estrato herbáceo y aporte forrajero en una asociación natural entre *Cynodon plectostachyus* y *Erythrina poeppigiana* . Revista Agroforestería Neotropical. 2015;1(5):15-26.
22. Martín GM, Rivera R. Influencia de la inoculación micorrízica en los abonos verdes. Efecto sobre el cultivo principal. Estudio de caso: el maíz. Cultivos Tropicales. 2015;36(Especial):36-52.
23. Barreto AC, Fernandes MF. Cultivo de *Gliricidia sepium* e *Leucaena leucocephala* em alamedas visando a melhoria dos solos dos tabuleiros costeiros. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 2001;36(10):1287-93. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2001001000011>
24. Libert-Amico A. Paisajes bioculturales ante el cambio climático: carbono y agrobiodiversidad en cafetales bajo sombra en Chiapas. In: Estado actual del conocimiento del ciclo del carbono y sus interacciones en México: síntesis a 2017. Mexico; 2017. p. 94-9.
25. Rapidel B, Allinne C, Cerdán C, Meylan L, Virginio-Filho E, Avelino J. Efectos ecológicos y productivos del asocio de árboles de sombra con café en sistemas agroforestales. Sistemas agroforestales: funciones productivas, socioeconómicas y ambientales. Serie técnica. Informe técnico. 2015;(42):5-20.