

# Nitrógeno edáfico y nodulación de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit en sistemas silvopastoriles

## Edaphic nitrogen and nodulation of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit in silvopastoral systems

Liliana Bueno López\* y Juan Carlos Camargo García

Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de ciencias ambientales, Grupo de Investigación en Gestión de Agroecosistemas Andinos (GATA), Pereira-Risaralda-Colombia. \*Autora para correspondencia: [lilibu@utp.edu.co](mailto:lilibu@utp.edu.co)

Rec.:01.09.2014 Acep.: 29.04.2015

### Resumen

La inclusión de leguminosas en sistemas silvopastoriles genera beneficios en la fertilidad de los suelos y en la calidad del forraje en oferta para los animales. La asociación simbiótica de leguminosas forrajeras ricas en bacterias del género *Rhizobium* mejora el contenido de nitrógeno y el desarrollo de la gramínea asociada. Las bacterias de este género se presentan en condiciones naturales cuando las cepas están presentes en el suelo, no obstante pueden ser inoculadas en las semillas antes de la siembra. El trabajo se realizó con la leguminosa arbustiva *Leucaena leucocephala* que fue establecida en sistemas silvopastoriles de alta densidad (10,000 plantas/ha), en una finca ubicada en el municipio de Balboa, departamento de Risaralda, Colombia. En un diseño de bloques completos al azar con dos tratamientos (con y sin inoculación con *Rhizobium* de semillas de *Leucaena*) 7 meses después del establecimiento de la *Leucaena*, se midieron los contenidos de N amoniacal y total en el suelo y las raíces y se evaluó la presencia de nódulos en estas últimas. No obstante que la inoculación no afectó la producción de biomasa, el aporte de N en el suelo fue equivalente a 250 kg/ha ( $P < 0.05$ ).

**Palabras clave:** Nitrógeno, nodulación, *Rhizobium*, senescencia, nitrógeno del suelo.

### Abstract

In order to reduce the impacts occasioned by cattle farming systems on the environment, strategies focused on the inclusion of legume species within these systems have been promoted because of their potential for improving soils conditions. The symbiotic association between bacteria from genus *Rhizobium* eases the nitrogen undertaking by legume plants and therefore their growth and productivity may be improved. Even though bacteria from this genus naturally occur, they also may be inoculated to plant seeds. Silvopastoral systems (SPS) are an alternative for cattle farming where trees are incorporated to spatial arrangements. In this sense, woody legumes have been used as a possibility of being integrated to SPS. In order to evaluate changes associated with the availability of nitrogen and other nutrients within soils as well as the presence of rhizome nodules, in this work, the woody species *Leucaena leucocephala* was established within silvopastoral systems with high density (over 10,000 trees per ha) in a cattle farm, located in Balboa, Colombia. For assessing changes in soils after the establishment an experiment with a randomized complete block design and two treatments (inoculation and not inoculated) was used. Measurements were carried out during 7 months after the establishing the experiment, being the response variables the total and ammonia nitrogen as well as the amount of active nodules of *Rhizobium* on roots. Under the ecological conditions occurred during the experiment the presence of nodules did not show significant differences between treatments ( $P > 0.05$ ), however a total amount of 249, 31 kg/ha of nitrogen was provided to soils while the experimental period.

**Keywords:** Nitrogen, nodulation, *Rhizobium*, senescence, soil nitrogen

## Introducción

En Colombia, la ganadería es un rubro económico importante a nivel nacional, no obstante cuando no se utilizan buenas prácticas de manejo es la causa de graves problemas ambientales, especialmente en la región andina (Cuenca *et al.*, 2008). Como parte de los procesos de reconversión ganadera se han planteado estrategias de manejo tratando de lograr una relación más amigable de los sistemas ganaderos con su entorno. Una de estas estrategias es el establecimiento de sistemas silvopastoriles (SSP) mediante la incorporación de leguminosas arbustivas que generan diferentes beneficios, tanto en la producción animal como en la conservación del suelo (Chará *et al.*, 2015); entre ellas se encuentra *Leucaena leucocephala* (*Leucaena*) un arbusto de la subfamilia Mimosoideae ampliamente adaptado a las condiciones del trópico. De acuerdo con el Plan de reducción de emisiones GEI presentado por el IDEAM, en Colombia, los sistemas silvopastoriles se encuentran entre las opciones de mitigación a escala sectorial propuestas por el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre Cambio Climático -IPCC (Intergovernmental panel on climate change) - (IDEAM, 2015). Por otra parte, existe un reto clave que consiste en el mejoramiento de la disponibilidad de nutrientes en el suelo, lo cual sólo se logra con mejores prácticas agrícolas, tales como cultivos intercalados, inclusión de plantas fijadoras de nitrógeno, sistemas agrosilvicultura y reciclado de nutrientes (Powlson *et al.*, 2011). Es en este contexto, que la implementación de modelos silvopastoriles se considera una oportunidad para conducir la ganadería hacia una producción sostenible, como se establece en el plan estratégico de la ganadería colombiana 2019 (Fedegan, 2006).

Dentro de los sistemas silvopastoriles, en varias zonas tropicales se ha evaluado la siembra de *Leucaena* en altas densidades (10,000 árboles/ha) como una alternativa para mejorar la producción ganadera y el contenido de N en los suelos. Teniendo en cuenta lo anterior, en este trabajo se cuantificó la cantidad de N aportado al suelo por un cultivo de *Leucaena* 7 meses después de haber sido establecida en un SPS de alta densidad.

## Materiales y métodos

### Localización del estudio

El trabajo se realizó en una finca localizada en el municipio de Balboa, departamento de Risaralda, Colombia. Esta zona hace parte de la subcuenca del río Totuí, cuenca hidrográfica del río Risaralda y de la gran cuenca del río Cauca, a 899 m.s.n.m, 27°C de temperatura promedio.

La precipitación promedio es de 1500 mm/año con una distribución bimodal (Carder 2012). El relieve predominante es colinas con suelos de bajo contenido de materia orgánica (1.72%), altos niveles de calcio y magnesio (20.1 y 2.1 meq/100g suelo, respectivamente), contenido medio de potasio (0.77 meq/100 g suelo) y pobre en fósforo (5 ppm) (Carder, 2012).

En la finca existen sistemas silvopastoriles con *Leucaena* establecidos hace 4 años y sistemas ganaderos tradicionales sin árboles. Los suelos en ambos sistemas son manejados con algunas aplicaciones de cenichaza, subproducto resultante de la agroindustria de la caña de azúcar.

### Propagación de plantas de *Leucaena*

La fase de vivero de las plántulas se inició con el establecimiento de un semillero localizado a 1100 m.s.n.m. y una temperatura promedio de 24 °C (Ruiz y Villa, 2007). Las semillas utilizadas fueron de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit certificadas, las cuales fueron colocadas en bolsas negras de plástico con capacidad para 5 kg de suelo previamente analizado para presencia de rizobio en medio Manitol Agar Levadura (MLA) (Pérez *et al.*, 2011). El suelo utilizado presentaba un pH 5.7 y un contenido de materia orgánica de 15.7%. Las semillas recibieron riego cada 2 días, germinaron después de 15 días y permanecieron en vivero hasta que alcanzaron una altura aproximada de 60 cm, antes de trasplantarlas en campo (Solorio y Solorio, 2008).

### Tratamientos y diseño experimental

$$Y_{ijk} = \mu + I_i + T_j + (I * T)_{ij} + \beta_k + \epsilon_{ijk}$$

El diseño experimental fue de bloques completos al azar con dos tratamientos, plantas inoculadas y sin inocular. El modelo matemático del diseño fue:

donde,  $Y_{ij}$  es la variable de respuesta,  $\mu$  es el promedio,  $I$  = factor (inoculación),  $T$  = factor (tiempo),  $I * T$  = interacción inoculación x tiempo,  $\beta$  = bloque (pendiente del terreno),  $\epsilon$  = error,  $i$  = niveles de  $I$ ,  $j$  = niveles de  $T$ ,  $k$  = repetición.

La inoculación de las semillas se realizó durante la fase de vivero. Una parte de esta semilla fue inoculada con el producto Ferbiol (registro ICA 6214) que contenía microorganismos *Rhizobium loti* en solución. Para el establecimiento del experimento en campo se seleccionó un lote de 450 m<sup>2</sup> el cual se dividió en tres bloques de acuerdo con la pendiente, así: bloque 1 con 20%, bloque 2 con 10% y bloque 3 plano (sin pendiente). Cada

bloque fue dividido en dos parcelas de 71.5 m<sup>2</sup> cada una, en las que se plantaron 48 plantas de *Leucaena* a distancias 1 m x 1 m y una densidad equivalente de 10,000 plantas/ha. Previo al establecimiento de las plantas se realizaron análisis de suelo (pH, M.O., K, Ca, Mg, P y textura).

### Análisis de tejido y suelo

Quince semanas después del establecimiento en campo se determinaron el número de nódulos de rizobio en raíces y de N foliar total y amoniacal, para ello de cada parcela se tomaron muestras compuestas de suelo de 0 a 25 cm y de 25 a 50 cm de profundidad y plantas completas de *Leucaena*, incluyendo las raíces para realizar el conteo de nódulos (Figura 1). La primera muestra se tomó



Figura 1. Muestreo de raíces de árboles de *Leucaena leucocephala*

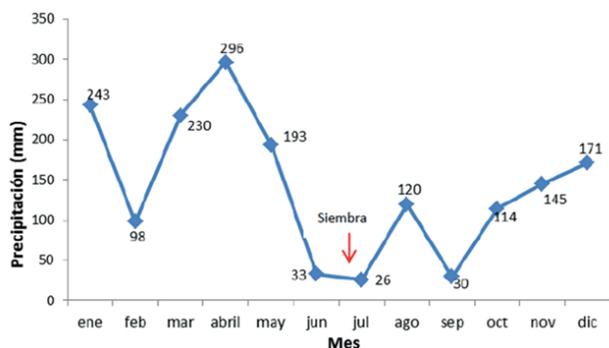


Figura 2. Precipitación anual-2012. La flecha indica época de siembra

8 semanas después del establecimiento y luego cada 5 semanas hasta 7 meses, según la recomendación de Bueno (2009), correspondientes a la época de menor precipitación (Figura 2).

La determinación de N total y amoniacal se realizó por el método de Kjeldahl. Para los nódulos se determinaron el color interno y externo, la forma, turgencia y ubicación en la raíz. El conteo de estos se llevó a cabo en el Laboratorio de Análisis Químico de Suelos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

### Análisis de datos

En todas las variables de respuesta se verificó la normalidad mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk (SPSS 20) y análisis de varianza (Anova). Las variables que no se ajustaron a distribución normal se compararon entre tratamientos mediante la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis (SPSS 20) Todos los análisis fueron realizados con el software SPSS 20.

### Resultados y discusión

#### Nodulación

Durante la fase en vivero no se observaron nódulos en las raíces. Después de 8 semanas de establecimiento, se observaron nódulos tanto en raíces de plantas inoculadas como no inoculadas (Figura 3). Esta variable mostró diferencias significativas entre tratamientos y entre bloques ( $P < 0.05$ ); el mayor número de nódulos se presentó

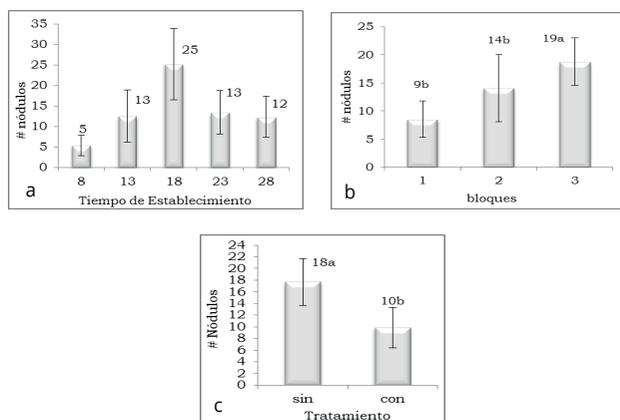


Figura 3. Número promedio de nódulos: a. tiempo establecimiento; b. bloques, c. tratamiento.

Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Las líneas indican el error estándar.

en el tratamiento sin inoculo ( $18 \pm 4$ ). Durante el experimento no se encontraron diferencias por efecto del tiempo experimental y el valor promedio más alto ( $25 \pm 8.7$ ) se presentó 18 semanas después del establecimiento.

Los nódulos en las raíces de *Leucaena* presentaron diferentes formas y tamaños (Figura4) con dimensiones variables entre 1 y 10mm, con coloración externa café claro e interna variaba de rosado a rojo (Figura 4). Los nódulos de mayor tamaño fueron observadas principalmente en la raíz principal.

Después del quinto mes de establecimiento se encontraron nódulos con cambios notorios en

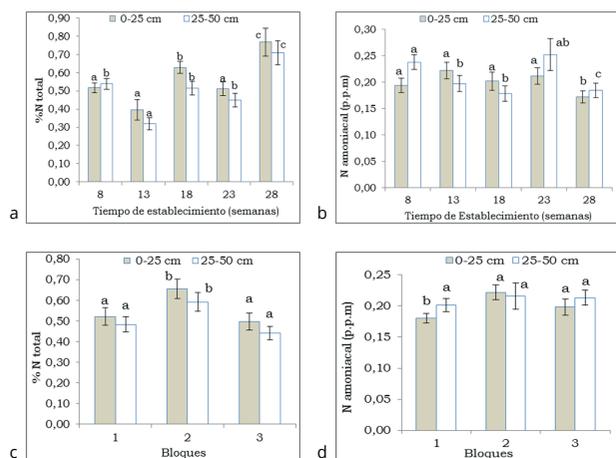


**Figura 4.** Nódulos de rizobios recolectados en raíces de leucaena. Arriba, nódulos activos. Abajo, nódulos senescentes.

estructura (Figura 4), probablemente no activos, que variaban desde secos o deshidratados con color más oscuro que la raíz y casi confundidos con el suelo. Los nódulos que aún se encuentran activos, mostraban coloraciones externas claras y un tejido interior con turgencia definida.

### Nitrógeno total y amoniacal en el suelo

Tanto los valores del N total como amoniacal mostraron diferencias ( $P < 0.05$ ) en relación con el tiempo de establecimiento, pero no por efecto de los tratamientos (Figura 5). El N total no mostró



**Figura 5.** Variación del nitrógeno total y amoniacal en suelos: a y b, tiempo de establecimiento; c y d, bloques.

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas, las líneas sobre las barras muestran desviación estándar.

una tendencia definida a variar con el tiempo, mientras que el N amoniacal mostró una clara tendencia a disminuir. El mayor porcentaje de N total se encontró en la semana 28 en la muestra tomada a 25 cm de profundidad. En este muestreo encontró el menor valor de N amoniacal ( $0.17 \pm 0.05$  ppm).

Las plántulas en la etapa de semillero de 13 semanas no mostraron nódulos en las raíces. Según Rincón *et al.* (2004) el desarrollo de cotiledones 30 días después de la germinación limita la acción de los rizobios en la formación de nódulos. Es necesario anotar que el suelo contenía altos niveles de M.O. (15.7%) y una relación carbono/nitrógeno de 15.97 lo que afecta la formación de nódulos en la raíz (Esquivel, 1963).

La formación de nódulos efectivos y activos en plantas testigo sin inocular confirma la existencia de cepas de *Rhizobium* en los suelos de la zona de estudio. Esto fue confirmado con el análisis microbiológico específico del suelo, donde se observaron colonias de la bacteria. Igualmente se debe destacar la alta especificidad de *Leucaena* por rizobio, ya que pocas cepas producen nodulación en esta especie (Tang, 1994; Hernández, 2012). Rincón *et al.* (2004) encontraron que *Leucaena* nodula con cepas auto aisladas, lo que explica por qué plantas sin inocular muestren mayor nodulación. Matus *et al.* (1990) sugieren que el éxito de la inoculación de las leguminosas depende de la capacidad competitiva del *Rhizobium* introducido para invadir la rizósfera y competir con cepas homologas en la formación de nódulos.

La presencia de nódulos con coloración rojiza en su interior indica que la nodulación es efectiva y eficiente (Marquina, 2011). A partir de la semana 23 se inició el proceso de senescencia de nódulos ya que entre sus nódulos se encontraban muchos que presentaban diferencias en su morfología (Figura 4e, f, g). Según Fernández-Luqueño y Espinosa-Victoria (2008) el retardo de la senescencia de nódulos tiene efectos benéficos sobre la fijación de N, mientras que si comienza en forma temprana la fijación de N es pobre (Fernández-Luqueño y Espinosa-Victoria, 2008). Para estos investigadores la senescencia se relaciona con el color y la pérdida de turgencia de los nódulos, síntomas que se pudieron apreciar claramente en los nódulos de las raíces de *Leucaena* en este trabajo. Los cambios anteriores estuvieron acompañados por cambios de la coloración interna de los nódulos de rosado claro a oscuro lo cual, algunas veces, coincide con el proceso de floración y llenado de vainas de la leguminosa o situaciones de déficit de agua.

En este trabajo se observó un ataque constante de insectos defoliadores sobre las plantas de *Leucaena* lo que sumado al periodo experimental seco, afectó el desarrollo de éstas y consecuentemente la nodulación (Sánchez, 2007).

### Nitrógeno total y amoniacal en el suelo

La cantidad inicial de N total en el suelo antes de establecer *Leucaena* era de 0.39% equivalentes

a 88.86 kg/ha entre 0 y 50 cm de profundidad. Al finalizar el experimento, en la semana 28 después de la siembra, los promedios de N en el suelo eran de 0.77% hasta 25cm y de 0.71% entre 25 y 50 cm de profundidad en el suelo; valores que equivalen a 175 kg/ha y 162 kg/ha, respectivamente, para un total de 338.17 kg/ha.

Los resultados anteriores indican un aporte de 249.31 kg/ha de N para este suelo, si se considera la diferencia entre los contenidos inicial y el final; lo que indica los beneficios de la *Leucaena* en sistemas silvopastoriles. Estos valores son consistentes con los hallados por Bruning y Rozema (2013) quienes estiman que el uso de leguminosas como abono verde puede contribuir con 30 a 80 kg/ha por año de N.

El N se encuentra en distintas formas en el suelo, aunque es absorbido por las plantas y microorganismos como nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) o amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). En este ensayo fue posible observar una amplia variación en los promedios, tanto de N total como amoniacal, ya que este elemento varía más en cantidad en el suelo que otros elementos esenciales para el desarrollo vegetal, también absorbidos del suelo (Navarro y Navarro, 2003). Se debe resaltar, que mientras el N amoniacal en suelos disminuyó en cantidades de 9.37 g/ha, en el tejido vegetal aumentó, posiblemente por la etapa fenológica en se encontraba planta.

En las condiciones del estudio *Leucaena* aportó un equivalente de 250 kg/ha por año de N, lo cual indica las ventajas de esta forrajera cuando se incluye en sistemas silvopastoriles.

## Agradecimientos

Al proyecto “Nuevas Metodologías para la Evaluación y Monitoreo de Carbono e Indicadores de Biodiversidad en Sistemas Silvopastoriles y Bosques de Guadua en paisajes de la zona cafetera de Colombia”, financiado por Colciencias, la Universidad Tecnológica de Pereira y el DAAD en el marco del programa PROCOL.

## Referencias

- Bruning, B. y Rozema, J. 2013. Symbiotic nitrogen fixation in legumes: Perspectives for saline agriculture. *Env. Exp. Bot.* 92(2013)134 - 143.
- Bueno, L. 2009. Dinámica del N foliar y del suelo durante las primeras etapas de desarrollo de la *Leucaena* (*Leucaena leucocephala* (Lam) de wit). Universidad del Quindío. Trabajo de grado para obtener el título de Licenciada en Biología y educación ambiental.
- Bueno, L y Camargo, J.C. 2012. Cambios del N durante etapas de desarrollo temprano de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit). *Liv. Res. Rural Dev.* 24(2)2012. En: <http://www.lrrd.org/lrrd24/2/buen24033.htm>
- Carder, 2012. Corporación Autónoma Regional de Risaralda. Plan de ordenación y manejo de la cuenca hidrográfica del río Totuí. Consultado en: <http://www.carder.gov.co/intradocuments/webDownload/pomch-r-o-totui>
- Cuenca, N. J.; Chavarro, F.; y Díaz, O. H. 2008. El sector de ganadería bovina en Colombia. Aplicación de modelos de series de tiempo al inventario ganadero. *Rev. Fac. Cien. Econ.* 16(1):165 - 177 Consultado en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfce/v16n1/v16n1a12>
- Chará, J.; Camargo, J. C.; Calle, Z.; Bueno, L.; Murgueitio, E.; Arias, L.; Dossman, M. A.; y Molina, E. J. 2015. Servicios ambientales de sistemas silvopastoriles intensivos: mejoramiento del suelo y restauración ecológica. En: *Sistemas Agroforestales. Funciones productiva, socioeconómica y ambiental*. Cap.15. ISBN 978-958-9386-74-3.
- Esquivel, C. 1963. Algunos factores que afectan la nodulación y crecimiento de leguminosas en los trópicos. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA (IICA). Turrialba-Costa Rica. Tesis, Magister en Agricultura.
- Fedegan (Federación Nacional de Ganaderos). 2006. Plan estratégico de la ganadería colombiana. Fedegan-FNG (Fondo Nacional del Ganado).
- Fernández- Luqueño, F. y Espinosa-Victoria, D. 2008. Bioquímica, fisiología y morfología de la senescencia nodular. Una revisión crítica. *Terra Latinoamericana* 6(2):133 - 144
- Hernández, J. L.; Cubillos-Hinojosa, J. G.; y Milian, P. E. 2012. Aislamiento de cepas de *Rhizobium* spp., asociadas a dos leguminosas forrajeras en el Centro Biotecnológico del Caribe. *Rev. Col. Microb. Trop.* Vol. 2. Pag 84-89
- IDEAM (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales). 2015. Cambio Climático. En: <http://institucional.ideam.gov.co/jsp/index.jsf>
- Kass, D.; Sylvester-Bradley, R. y Nygren, P. 1997. The role of nitrogen fixation and nutrient supply in some agroforestry systems of the Americas. *International Symposium- Sustainable Agriculture for the Tropics: The Role of Biological Nitrogen Fixation. Issues 5-6, May-June 1997, vol. 29(775 - 785).*
- Fernández- Luqueño F y Espinosa-Victoria D. 2008. Bioquímica, Fisiología y Morfología de la Senescencia Nodular. *Una Revisión Crítica. Terra Latinoamericana Vol 6 Número 2 pp. 133-144*
- Marquina, M. E.; González, N. E.; y Castro, Y. 2011. Caracterización fenotípica y genotípica de doce rizobios aislados de diversas regiones geográficas de Venezuela. *Rev. Biol. Trop [online].* 59(3):1017 - 1036.
- Matus, J. M; Valdés, M.; y Aguirre-Medina, J. F. 1990. Capacidad competitiva de cepas de rizobio en la formación de nódulos en *Leucaena leucocephala*. *Pasturas Tropicales* 12(3): En: [http://ciat-library.ciat.cgiar.org/articulos\\_ciat/Vol12\\_rev3\\_a%C3%B1o90\\_art6.pdf](http://ciat-library.ciat.cgiar.org/articulos_ciat/Vol12_rev3_a%C3%B1o90_art6.pdf)
- Medina, M. G; García, D. E.; Moratinos, P.; y Cova, L. J. 2011. Comparación de tres leguminosas arbóreas sembradas en un sustrato alcalino durante el periodo de aviveramiento. I. Variables morfoestructurales. *Pastos y Forrajes [online].* 34(1) [citado 2013-09-24], pp. 37-51. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pi](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pi)

- d=S086403942011000100004&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0864-0394.
- Montenegro, J. y Abarca, S. 2002. Los sistemas silvopastoriles y el calentamiento global: un balance de emisiones. *Agron. Costarricense* 26(1):17 - 24.
- Murgueitio, E.; Calle, Z.; Uribe, F.; Calle, A.; y Solorio, B. 2011. Native trees and shrubs for the productive rehabilitation of tropical cattle ranching lands. *Forest Ecol. Manag.* 261:1654 - 1663.
- Navarro B y Navarro G. 2003. *Química Agrícola. El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid-Barcelona-Méico. Segunda Edición ISBN: 84-8476-155-X
- Pérez, A.; Grisales, T.; y Fuentes. J. 2011. Determinación de morfotipos nativos de *Rhizobium* asociados a la leguminosa *Teramnus volubilis* Sw. en fincas ganaderas del municipio de Tolú en el departamento de Sucre. *Rev. Col. Cien. Anim.* 3(1). En: [http://www.recia.edu.co/documentos-recia/vol3num1/originales/REC\\_03\\_01\\_ORIG\\_05\\_Rhizobium\\_Morfotipos\\_Alex.pdf](http://www.recia.edu.co/documentos-recia/vol3num1/originales/REC_03_01_ORIG_05_Rhizobium_Morfotipos_Alex.pdf)
- Powlson, D. S; Gregory, P. J; Whalley, W. R.; Quinton J. N.; Hopkins, D. W.; Whitmore, A. P.; Hirsch, P. R., y Goulding, K. W. 2011. Soil management in relation to sustainable agriculture and ecosystem services. *Food Policy* 36:S72 - S87
- Rincón, J. J; Gallardo, Y; leal, M.; y Rojas, Y. 2004. Efectos de diferentes relaciones de calcio y fósforo en el suelo sobre la nodulación de *Acacia mangium* (Willd) y *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit., en condiciones de vivero. *Zoot. Trop. [Online]*. 2004, 22(2). [Citado 2013-09-29], pp. 167-174. Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S079872692004000200006&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S079872692004000200006&lng=es&nrm=iso). ISSN 0798-7269.
- Ruiz, G. y Villa, P. 2007. Propuesta para la conformación de red de proyectos ambientales escolares (Redeprae) en los corregimientos de Altagracia, Arabia, Estrella-La Palmilla y Morelia. Trabajo de grado para optar al título de Administrador del Medio Ambiente. Universidad Tecnológica de Pereira. Pág 21
- Sánchez, J. M. 2007. Utilización eficiente de las pasturas tropicales en la alimentación del ganado lechero. En: XI Seminario de Pastos y Forrajes en Sistemas de Producción Animal. Barquisimeto, Venezuela. Consultado en: <http://www.feednet.ucr.ac.cr/bromatologia/forrajes.pdf>
- Stehfest, E. y Bouwman, L. 2006. N<sub>2</sub>O and NO emission from agricultural fields and soils under natural vegetation: summarizing available measurement data and modeling of global annual emissions. *Nut. Cycl. Agroec.* 74:207 - 228.
- Solorio, F. J. y Solorio, B. 2008. Manual de manejo agronómico de *Leucaena leucocephala*. En: *Leucaena leucocephala* (Guaje), una opción forrajera en los sistemas de producción animal en el trópico. Morelia, Michoacan. Consultado en: [354](http://201.120.157.239/archi-</a></p></div><div data-bbox=)