

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

## FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

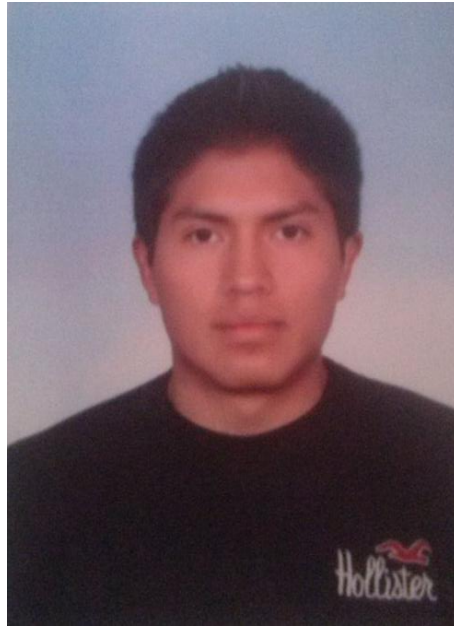
### CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

1. **TÍTULO:** Fijación de nitrógeno en nódulos de raíces de *Alnus nepalensis* D. Don en linderos a diferentes edades en la zona de Intag, Noroccidente del Ecuador
2. **AUTOR:** Fausto Cristóbal Farinango León
3. **DIRECTORA:** Ing. María Isabel Vizcaíno Pantoja, Esp.
4. **COMITÉ LÉCTOR:** Abg. Segundo Feliciano de la Torre Catucumbamba, MSc.  
Ing. Mario José Añazco Romero, PhD.  
Lic. Harold Octavio Ceballos Páez, Mgs
5. **AÑO:** 2018

**LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN:** Laboratorio de Microbiología y de Suelos, Foliare y Aguas de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la calidad del AGRO (AGROCALIDAD), perteneciente al Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), ubicado en la Parroquia Tumbaco, Cantón Quito. Las fincas de los señores Pedro Rodríguez y Carlos Ruíz, sector El Cristal, Parroquia Peñaherrera e Iván Ayala, sector La Magdalena, Parroquia Seis de Julio de Cuellaje, cantón Santa Ana de Cotacachi, provincia de Imbabura.

6. **BENEFICIARIOS:** Agricultores de la zona de Intag

## HOJA DE VIDA DEL INVESTIGADOR



**APELLIDOS:** Farinango León

**NOMBRES:** Fausto Cristóbal

**C. CIUDADANIA:** 1003654280

**TELÉFONO CONVENCIONAL:** (062) 510 – 391

**TELÉFONO CELULAR:** 0980566759

**CORREO ELECTRÓNICO:** [cristo\\_93@hotmail.es](mailto:cristo_93@hotmail.es)

**DIRECCIÓN:** Imbabura – Ibarra – Caranqui – Santa Lucia – Urb. ECOVIDA

**AÑO:** 2018

## REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

**Guía:** FICAYA - UTN

**Fecha:** 22 de febrero del 2018

Farinango León Fausto Cristóbal: **“FIJACIÓN DE NITRÓGENO EN NÓDULOS DE RAÍCES DE *Alnus nepalensis* D. DON EN LINDEROS A DIFERENTES EDADES EN LA ZONA DE INTAG, NOROCCIDENTE DEL ECUADOR”** / Trabajo de titulación. Ingeniero Forestal. Universidad Técnica del Norte. Carrera de Ingeniería Forestal. Ibarra, 22 de febrero del 2018. 14 páginas.

**DIRECTORA:** Ing. María Isabel Vizcaíno Pantoja, Esp.

El objetivo principal de la presente investigación fue: Determinar las características organolépticas y la cantidad de nitrógeno fijado en nódulos de las raíces de *Alnus nepalensis* D. Don en linderos a diferentes edades en la zona de Intag.

**Fecha:** 22 de febrero del 2018

.....  
Ing. María Isabel Vizcaíno Pantoja, Esp.

**Directora de trabajo de titulación**

.....  
Farinango León Fausto Cristóbal

**Autor**

## **Fijación de nitrógeno en nódulos de raíces de *Alnus nepalensis* D. Don en linderos a diferentes edades en la zona de Intag, Noroccidente del Ecuador**

Autor: Fausto Cristóbal Farinango León

Directora del trabajo de titulación: Ing. María Isabel Vizcaíno Pantoja, Esp.

Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales

Carrera de Ingeniería Forestal

Universidad Técnica del Norte

Ibarra – Ecuador

cristo\_93@hotmail.es

Teléfono: (062) 510 – 391/0980566759

### **RESUMEN**

*Alnus nepalensis*, especie forestal introducida al Ecuador en la década de los noventa, registra una extensión de 127.843 hectáreas aproximadamente en el año 2017, en la zona de Intag, en plantaciones, prácticas agroforestales y silvopastoriles; apetecida por su rápido desarrollo a simple vista, registra diámetros (DAP) de 40 cm y alturas de 18 metros a edades de siete años; especie actinorríca, que posee la cualidad de formar nódulos en simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico. Leve conocimiento empírico que poseen agricultores respecto a la especie, crea el interés en analizar la fijación de nitrógeno a diferentes edades y determinar posibles variaciones respecto a condiciones edafológicas en las que se desarrolla, información que contribuye a comprender el aporte de nitrógeno que brinda la especie al suelo y por ende a cultivos que se encuentran en asocio y reducir la incorporación de fertilizantes nitrogenados; se determinó que la especie en los sitios de estudio, realiza la fijación de nitrógeno en dos fases, siendo la primera fase de nodulación en la cual el nitrógeno fijado, es útil únicamente para la especie y en la segunda fase, mediante incorporación de biomasa (hojas, ramas y raíces) al suelo, liberan nutrientes, en el proceso de descomposición, poniéndolo disponible para cultivos en asocio; además se registra concentraciones de nitrógeno en el suelo de 0,31% cerca de la especie y de 0,07 % en áreas sin la especie. Mediante pruebas bioquímicas de laboratorio se determinó que la especie posee una simbiosis con la bacteria filamentosa del género *Frankia*, causante de la fijación biológica de nitrógeno.

**Palabras clave:** *Alnus nepalensis*, DAP, actinorríca, simbiosis, fijación de nitrógeno, *Frankia*.

## ABSTRACT

*Alnus nepalensis*, a forest species introduced to Ecuador in the 1990s, registered an area of 127,843 hectares approximately in the year 2017, in the Intag area, in plantations, agroforestry and silvopastoral practices; desired for its rapid development at a glance, records diameters (DAP) of 40 cm and heights of 18 meters at the age of seven; actinorríca species, which has the quality of forming nodules in symbiosis with bacteria fixing atmospheric nitrogen. Slight empirical knowledge that farmers have regarding the species, creates interest in analyzing nitrogen fixation at different ages and determine possible variations with respect to soil conditions in which it develops, information that helps to understand the contribution of nitrogen provided by the species to the soil and therefore to crops that are in partnership and reduce the incorporation of nitrogen fertilizers; it was determined that the species in the study sites performs nitrogen fixation in two phases, being the first phase of nodulation in which the fixed nitrogen is useful only for the species and in the second phase, by incorporation of biomass (leaves, branches and roots) to the soil, release nutrients, in the process of decomposition, making it available for crops in association; In addition, soil nitrogen concentrations of 0.31% are registered near the species and 0.07% in areas without the species. Through laboratory biochemical tests, it was determined that the species possesses a symbiosis with the filamentous bacterium of the genus *Frankia*, which causes the biological nitrogen fixation.

**Key words:** *Alnus nepalensis*, DAP, actinorríca, symbiosis, nitrogen fixation, *Frankia*

## INTRODUCCIÓN

La fijación biológica nitrógeno (FBN) se comprende como la incorporación de nitrógeno al suelo por agentes biológicos, que aprovechan del 78% de nitrógeno molecular (N<sub>2</sub>) del que está compuesta la atmósfera (Universidad de Jaén, 2015). A nivel global se estima que la FBN puede aportar 140 millones de toneladas al año, por acción simbiótica (Sevillano y Rodríguez-Barrueco, 1987); es de gran relevancia en el ámbito económico como ecológico para los agricultores, al reducir la inversión en fertilizantes nitrogenados.

*Alnus nepalensis*, especie forestal introducida, de la familia Betulaceae, es nativa del Himalaya; posee la cualidad de fijar nitrógeno en simbiosis con bacterias del género *Frankia* y ha incrementado individuos en predios de agricultores en la zona de Intag, desde hace aproximadamente dos décadas, (Añazco, com. pers, 20 de enero 2016); escasa información de la especie, acerca del nitrógeno fijado, agente fijador y características organolépticas, debido a las condiciones mineralógicas existentes en el ecosistema que se desarrolla, impulso la investigación que contribuye al propósito

del buen vivir, para que propietarios de las tierras donde se encuentra la especie, puedan tomar decisiones sobre el manejo silvícola a futuro.

Actualmente la especie ocupa 127,843 ha en la zona de Intag y se atribuye ingresos importantes a agricultores por la venta de: semillas, plántulas, madera, leña, etc. (Cevallos, 2017), en función a las propiedades físicas, trabajabilidad y tallado, la madera puede ser utilizada para: contrachapado, desenrollo, tallado, artesanías, muebles, postes para cercas y corrales para animales menores. (Mediavilla, 2016).

Duke (1981), afirma que el aliso se desarrolla en todo el Himalaya, entre 500 – 3000 msnm, de Pakistán a través de Nepal, el norte de la India, Bután y Birmania superior a sudoeste de China e Indochina; la especie es pionera, tolera sombra, lugares húmedos, riberas, sitios rocosos expuestos por deslizamientos o terrenos abandonados después del cultivo, la especie da una estabilidad a suelos que tienden a resbalar y erosionarse. (Orwa *et al.* 2009).

El nitrógeno es un macro nutriente importante para las plantas, al ser parte fundamental de proteínas, aminoácidos y de la clorofila. En la agricultura cultivos de potencial productivo demandan grandes cantidades de nitrógeno, más que el aportado de manera natural, al absorberlo en forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ).

Hernández y Russell (2001), señalan que el nitrógeno fijado biologicamente está disponible primero para la misma planta, mientras crece; es hasta que las raíces, nódulos, tallos y hojas, se descomponen lo hacen disponible para pastos y cultivos aledaños, por lo que hay que tener cuidado con el manejo silvícola, ya que podas frecuentes pueden afectar la fijación de nitrógeno. Olivares (2005), afirma que las bacterias brindan nitrógeno a las plantas a través de sus raíces, donde forman tumoraciones (nódulos), cuyas células están ocupadas por microorganismos; Zhang y Smith (2002), indican que el proceso demanda alta cantidad de energía (16 – 18 moléculas de ATP por molécula de nitrógeno fijado) y carbohidratos, por lo que fertilizantes químicos, pueden inhibir la formación de nódulos como la actividad de los ya formados.

La cantidad de nutrientes liberado a través de la hojarasca es determinado por las características de las especies, su composición química, parte de la que proviene (hoja, rama, fruto, tallo), posición en la que se encuentra, edad del material, condiciones edafoclimáticas, el manejo (podas, fertilizaciones, la intensidad del pastoreo) y la actividad de la flora y fauna edáfica que interviene en el proceso (Fassbender, 1993; Palm, 1995; Crespo y Pérez, 2000 citado por Sandoval, 2006). El incremento de la actividad macrofauna y microorganismos es que la materia orgánica les sirva como alimento, aumentando la velocidad de descomposición y formación de humus además de liberar o movilizar nutrientes, para las plantas (Kass, 1998).

## **METODOLOGÍA**

El estudio se realizó en dos fases: campo y laboratorio. La fase de campo se realizó en tres fincas estando la del Sr. Pedro Rodríguez y Carlos Ruíz, en el sector El Cristal, parroquia Peñaherrera e Iván Ayala, sector La Magdalena, parroquia Seis de Julio de Cuellaje, Cantón Santa Ana de Cotacachi, respectivamente a 117 km y 126 km del Cantón San Miguel de

Ibarra, provincia de Imbabura; la fase de laboratorio se realizó en el laboratorio de Microbiología y de Suelos, Foliare y Aguas de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la calidad del AGRO (AGROCALIDAD), perteneciente al Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), ubicado en la parroquia Tumbaco, Cantón Quito.

La selección de la muestra consistió de una muestra representativa de dos árboles al azar, en linderos con edades, de uno, cinco, siete, doce y veinte años, valorando fenotípicamente sus vigorosidad, fuste recto, libre de plagas y enfermedades; debido al aprovechamiento que se realiza a edades entre cinco y 15 años por su rápido crecimiento.

A las muestras seleccionadas se les realizó la medición del DAP, a un metro treinta centímetros de la superficie del suelo (altura del pecho), la medición de diámetro de copa por proyección desde los puntos más salientes en forma de cruz, alturas de los árboles, área radicular de los árboles determinado al realizar una limpieza superficial y la toma de datos en forma de cruz y se determinó el radio de influencia.

Se extrajo una muestra de 150 gr de raíces manualmente con pico y pala, de la cual se consideró dos muestras a ser transportadas; una muestra de raíces con nódulos de 100 gr y otra muestra solamente de nódulos que fueron extraídos con la ayuda de machete y tijera podadora.

Las muestras de 100 gr entre raíces y nódulos se ubicaron en fundas ziploc siendo transportados a los laboratorios de suelos, foliars y aguas; mientras que muestras de 20 gr exclusivas de nódulos fueron colocados en envases estériles para ser transportados al laboratorio de microbiología. Las muestras colectadas fueron etiquetadas respectivamente y colocadas herméticamente en un cooler con bolsas de gel refrigerante para evitar la alteración de las muestras.

### **Determinación de características físicas y organolépticas de nódulos de raíces**

Las características físicas y organolépticas de todos los nódulos fueron evaluadas para todas las edades por separado en el laboratorio de Agrocalidad en la ciudad de Quito, en donde se analizaron:



- **Color:** Se determinó de forma visual mediante las tablas de Munsell (Munsell, 1906).
- **Olor:** Mediante el sentido del olfato, se procedió a olfatear y se describió.
- **Forma:** Se determinó la forma que poseen mediante el tacto y vista.
- **Textura:** Se determinó mediante el tacto.
- **Peso:** Se determinó su peso en estado fresco y seco.
- **Tamaño:** Se determinó mediante un calibrador de pie de rey el tamaño de los nódulos.

### **Determinación de la cantidad de nitrógeno fijado por árbol**

Siguiendo la metodología señalada por Dumas (1826, citado por Gerhardt, 2015):

- a) Se procedió a secar las muestras de raíces y nódulos a una temperatura de 37 °C por 48 horas.
- b) Se tomó una muestra de 10gr de nódulos para las edades mencionadas las cuales se realizó la molienda y tamización a fin de dejar a muestra homogénea.
- c) Se encendió el equipo dos horas antes del análisis, y se verificó que cumpla con los parámetros, que nos garantiza su correcto funcionamiento.

- d) Se procedió a realizar el pesaje y elaboración de capsulas de 100mg con láminas de cobalto.
- e) Se analizó las muestras con una repetición cada cinco muestras a fin de verificar el correcto análisis.

### **Análisis estadístico**

Se aplicó la prueba de “t” de Student al 0,05 de probabilidad estadística, para determinar posibles diferencias entre cada una de las edades en los dos sitios de investigación.

Análisis de Regresión: para la especie forestal con una correlación significativa, se aplicó modelos de regresión lineal para analizar tendencias y comportamientos, usando el modelo estadístico siguiente:

$$\text{Lineal: } \hat{Y}_i = b_0 + b_1 X_i$$

**Fuente:** Aguirre y Vizcaíno (2010)

$\hat{Y}_i$  = Variable dependiente

$X_i$  = Variable independiente

$b_0$  = Intercepto

$b_1$  = Pendiente lineal, tasa de crecimiento

### **Análisis de características fisicoquímicas del suelo**

Se realizó un análisis de suelo, de muestras extraídas de área sin presencia y de áreas con presencia de *Alnus nepalensis* para las edades consideradas; para cada muestra se procedió con extracción de tres submuestras, las cuales fueron mezcladas y se tomó una muestra de 500 g, las muestras con presencia de la especie fueron tomadas en los extremos del área de copa y junto al fuste del árbol, por cada edad considerada, a los cuales se les realizó los respectivos análisis de pH, materia orgánica, nitrógeno, fósforo, contenido de humedad, textura y porosidad.

#### **Determinación del agente fijador de nitrógeno**

Se procedió con la limpieza de impurezas con agua destilada; posteriormente se realizó un lavado con hipoclorito de sodio a una concentración de 5%; para proceder a machacar en un mortero de porcelana, hasta obtener el material completamente triturado y colocado en tubos de ensayo en un caldo de enriquecimiento para incubar el material en una estufa a una temperatura de 28 °C durante 48 horas.

Se diluyó la concentración de 10 ml a un exponente de  $10 \times 10^3$  ml para cultivarlos en un medio sólido en cajas petri, la cantidad

de 100 µl considerando tres repeticiones por cada muestra ingresada al laboratorio; una vez cultivadas las cajas petri se procedió a incubar por un lapso de 15 días realizando una revisión cada cinco días. Las bacterias cultivadas fueron sometidas a análisis bioquímicos en los cuales se sometió a análisis de tolerancia a tetraciclina y cloranfenicol, a la tinción de Gram y posteriormente a la observación en el microscopio.

## **RESULTADOS**

#### **Determinar características dasométricas a diferentes edades**

La especie presenta un IMA en DAP de 0,341 cm en la Magdalena y 0,305 cm en el Cristal. Imbaquingo y Naranjo, (2010), afirman que obtuvieron un IMA de DAP de 0,314 cm. El IMA en altura es de 0,167 m en el sector la Magdalena y de 0,179 m en el sector el Cristal. Según Barakoti, (2001), en Dhankuta – Nepal, *Alnus nepalensis* tuvo un IMA de 0,019 m; Imbaquingo y Naranjo, (2010), a nivel de sitios presentan un IMA de 0,151 m. Para el diámetro de copa presenta un IMA de 0,049 m en el sector la Magdalena y de 0,056 m en el sector el Cristal; Imbaquingo y Naranjo, (2010), al año de edad a nivel

de los sitios obtuvo un diámetro de copa promedio de 0,062 m respectivamente. El área radicular presenta un crecimiento lineal, en comparación a la edad, apreciando una desaceleración de crecimiento a los 12 años en el sector el Cristal, el sistema radical superficial y extendido, con una profundidad de entre 10 a 60 cm de profundidad.

#### Determinación de características físicas y organolépticas de nódulos de raíces

- **Color:** Presenta una coloración de café color 2,5YR5/6 mediante las tablas de Munsell, (1980).

- **Olor:** No se determinó aroma característico.
- **Forma:** Se determinó una forma de estructuras coraloides, debido a que se observa muchos lóbulos ramificados y agrupados.
- **Textura:** Los lóbulos de Frankia poseen una textura lisa y siendo de textura rugosa la agrupación.
- **Peso:** El peso se obtuvo en fresco y seco.
- **Tamaño:** Se determina lóbulos de 0,07 cm de ancho por 0,54 cm de largo, con una única diferencia de tamaño en el largo de los lóbulos a la edad de un año con un largo de 0,27cm.

#### Determinación de la cantidad de nitrógeno fijado por árbol

**Tabla 1.** Concentración de nitrógeno

| LOCALIDAD        | EDAD | Fijación biológica         |  | LOCALIDAD      | EDAD | Fijación biológica         |  |
|------------------|------|----------------------------|--|----------------|------|----------------------------|--|
|                  |      | de nitrógeno<br>(gr/árbol) |  |                |      | de nitrógeno<br>(gr/árbol) |  |
|                  | 1    | 0,936                      |  |                | 1    | 0,980                      |  |
|                  | 5    | 0,968                      |  |                | 5    | 0,752                      |  |
| <b>MAGDALENA</b> | 7    | 0,736                      |  | <b>CRISTAL</b> | 7    | 0,688                      |  |
|                  | 12   | 0,664                      |  |                | 12   | 0,756                      |  |
|                  | 20   | 1,004                      |  |                | 20   | -                          |  |

**Elaborado por:** Farinango León Fausto Cristóbal

El nitrógeno fijado biológicamente por la especie a varias edades presenta una cantidad mínima de 0,664 gr para la edad

de 12 años y una máxima de 1,004 gr para la edad de 20 años; Sharma y Ambasht, (1984), mencionan que la mayor fijación

de nitrógeno presentan en edades de 7 y 46 años, la menor en edades de 7 y 56 años obteniendo un máximo de 100 kg ha<sup>-1</sup> y un mínimo de 3,96 kg ha<sup>-1</sup>.

### **Prueba de *t* de Student**

Al comparar el porcentaje de Nitrógeno presente en los nódulos a diferentes edades, se registro valores significativos y altamente significativos, a excepción de las comparaciones entre las edades de 1 vs 20 años y 7 vs 12 años, donde se determinó diferencias no significativas al nivel de 5% de probabilidad estadística.

### **Análisis de correlación**

Se obtuvo para 19 comparaciones relaciones altamente significativas, en comparación a sus coeficientes tabulares, es preciso mencionar que nueve variables analizadas presentaron una correlación inversamente proporcional a sus variables; es decir que, a mayores valores de la una, presenta menores valores de la otra.

### **Regresión lineal**

Al realizar el análisis de regresión lineal se observa que, a pesar de haber presentado

proporcionalidad en el análisis de correlación, únicamente siete variables presentan un coeficiente de determinación R<sup>2</sup> superior al 80% con un ajuste bastante aceptable a la recta de regresión.

### **Análisis de suelo**

El sector La Magdalena presenta un pH ácido; mientras que El Cristal posee suelos pesados, mismos que pueden ser producto del apisonamiento, factores que limitan el crecimiento y la óptima fijación de nitrógeno de la especie; cabe recalcar que las altas concentraciones de nitrógeno presentes en el suelo pueden ser producto de la biomasa depositada al suelo, que mediante el proceso de descomposición aportan nutrientes al suelo.

### **Determinación del agente fijador de nitrógeno**

Al aislar un grupo de bacterias dominantes, mismas que fueron sometidas a pruebas bioquímicas; que presentó una tolerancia a los antibióticos tetraciclina y cloranfenicol, con circunferencias de resistencia menores a 2 cm de diámetro, además se obtuvo una tinción Gram negativa respectivamente en dos

repeticiones, y al ser observado al microscopio se observó filamentos, considerando que la especie posiblemente presente sea *Frankia sp.*

## **Conclusiones**

*Alnus nepalensis*, presenta un crecimiento lineal en cuanto a las variables dasométricas, para la Magdalena, mientras que para el Cristal se aprecia una desaceleración en el crecimiento a la edad de 12 años, debido probablemente a las condiciones edafológicas que presenta el sector.

El nitrógeno fijado biológicamente por la especie a varias edades presenta variaciones en cuanto a la cantidad de nitrógeno capturado; se presenta el rango de 0,664 gr a 1,004 gr para la Magdalena y de 0,688 gr a 0,980 para el Cristal.

Según los análisis de suelo el sector de la Magdalena, presenta suelos franco arenosos con alto contenido de materia orgánica, alta concentración de fósforo, bajas concentraciones de potasio, una concentración media en nitrógeno, con un suelo ligeramente ácido; mientras que para el Cristal se determinó suelos franco con

altas concentraciones de materia orgánica, bajas concentraciones de fósforo, bajas concentraciones de potasio, altas concentraciones de nitrógeno, con un suelo prácticamente neutro.

Los nódulos nitrificantes de las raíces en la especie presentan una coloración de café sin aroma característico, de estructuras coraloides, formado por muchos lóbulos ramificados y agrupados, de textura lisa y siendo de textura rugosa la agrupación, con un tamaño determinado para los lóbulos de 0,07 cm de ancho por 0,54 cm de largo.

El agente que se encuentra en la especie se determina que es *Frankia sp.*, que es una bacteria filamentosas, causante de la nodulación y del proceso de fijación biológica de nitrógeno, se caracteriza debido a la simbiosis que se presenta entre estas especies.

## **Recomendaciones**

Continuar la evaluación de la fijación biológica de nitrógeno, considerando la toma de muestras en varias épocas estacionales del año.

En próximas investigaciones realizar el estudio de reacción en cadena de polimerasa que determine el epíteto específico de la especie del género *Frankia* registrada en el estudio.

Promover estudios que consideren los requerimientos nutricionales y edafológicos de la especie, a fin de determinar los aportes de la especie.

Difundir las ventajas y desventajas de los sistemas agroforestales ya que fomentan pequeños corredores biológicos, generando información y metodologías locales para la conservación de los recursos naturales.

## BIBLIOGRAFÍA

Cevallos, J. (2017). *Determinación de la ubicación geográfica de *Alnus nepalensis* D;Don en la zona de Intag noroccidente del Ecuador.* Intag – Ecuador. Recuperado: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/7001>

Gerhardt, C. GMBH., & CO. KG. (2015). *Análisis de Nitrógeno el Método de Jean Dumas.* Alemania. Recuperado

[http://www.gerhardt.de/fileadmin/Redaktion/downloads/Stickstoffanalyse\\_-\\_Die\\_Methode\\_von\\_Jean\\_Dumas\\_gekuerzt\\_f\\_Homepage-spas-ES.pdf](http://www.gerhardt.de/fileadmin/Redaktion/downloads/Stickstoffanalyse_-_Die_Methode_von_Jean_Dumas_gekuerzt_f_Homepage-spas-ES.pdf)

Imbaquingo, E., & Naranjo, D. (2010) *Comportamiento inicial de aliso (*Alnus nepalensis* D. Don) y cedro tropical (*Acrocarpus fraxinifolius* Wight y Arn), asociados con *brachiaria* (*Brachiaria decumbens* Staff.) y pasto miel (*Setaria sphacelata* (Schumach) Staff y C. E. Hubb).* Pág. 15-60.

Munsell, A. (1906). *Atlas of the Munsell color system.* Recuperado <http://munsell.com/wp-content/uploads/2014/03/atlas-munsell-color.pdf>

Orwa, C. A., Mutua, K. R., & Jamnadass, R. S. A. (2009). *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0.* Recuperado <http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>