

EFFECTO DE LAS LEGUMINOSAS EN EL CICLO DEL NITRÓGENO DE UN MATORRAL ATLÁNTICO

A. Rodríguez y A. Gallardo

Departamento de Ecología y Biología Animal. Universidade de Vigo. Campus Lagoas-Marcosende. 36200-VIGO (Pontevedra, España). Correo electrónico: xandra@uvigo.es; gallardo@uvigo.es.

Resumen

La fijación biológica de N_2 en ecosistemas terrestres es de gran importancia por la cantidad de nitrógeno que incorpora al ecosistema. La hipótesis principal de nuestro trabajo predice que la presencia de leguminosas en el matorral atlántico determina diferencias en el ciclo del N, influyendo en la disponibilidad de N en suelo e incrementando la heterogeneidad espacial del mismo. Se realizaron comparaciones de N-mineral en suelo, N-Biomasa microbiana, mineralización y nitrificación, y se estudió si estas variables estaban correlacionadas con la toma de N por las plantas y la concentración de N en tejidos vegetales. El estudio se realizó en julio de 2002 en un matorral atlántico con codominancia de especies fijadoras (las leguminosas *Ulex gallii* Planchón y *Genista tridentata* L.) y no fijadoras (*Erica umbellata* L.). Se observó que en presencia de fijadores, los contenidos de N-mineral en suelo, tasas de amonificación y nitrificación fueron diferentes, afectando a la toma y contenido de N en planta. Lo cual corrobora la hipótesis principal demostrando que la presencia de leguminosas determina diferencias en el ciclo del N, provocando heterogeneidad espacial y una aceleración local del ciclo bajo la cobertura vegetal de las leguminosas en esta comunidad vegetal.

Palabras clave: Fijadores biológicos de N_2 , N-Mineral disponible en suelo, Mineralización, Biomasa microbiana, Toma de N, Contenido de N en planta.

INTRODUCCIÓN

El N es el nutriente más limitante de la producción primaria neta en ecosistemas terrestres (VITOUSEK et al., 1982; BORING et al., 1988). Y aunque el 78% de la atmósfera está compuesta de N_2 , éste no puede ser directamente tomado por las plantas (CREWS, 1999), por ello la capacidad de los fijadores biológicos para convertir el N_2 en N orgánico es un mecanismo clave para la disponibilidad de este nutriente, pudiendo favorecer a las especies coexistentes mediante la descomposición y mineralización de su hojarasca (VITOUSEK et al., 2002; SPEHN et al., 2002). De este modo, la fijación biológica de N_2 atmosférico se interpreta como una ventaja competitiva

para las plantas que pueden hacer uso de ella, siendo los más importantes fijadores de N_2 en ecosistemas terrestres la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa.

El objetivo de nuestro trabajo es el estudio del impacto que puede llegar a tener la presencia de leguminosas en el ciclo del N de un matorral atlántico del NO peninsular.

El trabajo analiza la hipótesis de que la presencia de leguminosas en el matorral atlántico determina diferencias en el ciclo del N, influyendo en la disponibilidad de N en suelo e incrementando la heterogeneidad espacial del mismo.

Se realizaron comparaciones de N-mineral disponible en suelo, N-Biomasa microbiana, mineralización y nitrificación, y se estudió si

estas variables estaban correlacionadas con la toma de N por plantas y la concentración de N en tejidos vegetales.

METODOLOGÍA

Área de estudio

La parcela de estudio se localiza en la parte alta de la Sierra de "O Galiñeiro", en la parte suroccidental de la provincia de Pontevedra (42° 08' 12.6"N, 8° 41' 59"W). El suelo es un entisol de poca profundidad, formado a partir de rocas graníticas y con un pH de 4,5. La sierra tiene una altura máxima de 706 m y se encuentra en el dominio climático "Océánico húmedo", con una temperatura media anual de 12,2 °C, humedad relativa de 65,1% y precipitación media anual de 2549,2 l m⁻² (MARTÍNS GARBÍN, 2003). La vegetación predominante en la zona de estudio es un matorral atlántico con codominancia de dos grupos funcionales diferentes de plantas arbustivas: plantas fijadoras de N₂, como las leguminosas *Ulex galli* Planchón y *Genista tridentata* L., y plantas no fijadoras de N₂ como *Erica umbellata* L.

Recogida de muestras

La recogida de muestras tanto de suelo como vegetales se realizó en la época de crecimiento, en julio de 2002. Se seleccionaron al azar 10 individuos de cada especie en un área aproximada de 2 ha, 30 individuos en total, y bajo la cobertura vegetal de cada uno de ellos se cogieron tres muestras adyacentes de suelo (muestras A, B y C) con ayuda de corers metálicos.

El muestreo se llevó a cabo en dos días. En el primer día se recogieron las muestras A y B, y se cubrió una pequeña parcela de suelo con una bolsa de polietileno, evitándose con ella el lavado de nutrientes. Las muestras A fueron guardadas en una cámara fría a 4°C hasta su procesamiento, mientras que las muestras B se incubaron en bolsas de polietileno en el campo durante 20 días, siguiendo el método de la bolsa enterrada para la determinación de N mineralizado "in situ" y la estima de la toma de N por plantas (ENO, 1960).

En el segundo día de muestreo, tras los veinte días de incubación, se recogieron las muestras que habían quedado incubando "in situ" y se sacó bajo cada individuo una tercera muestra de

suelo (muestra C) en la zona que había quedado cubierta por una bolsa. Estas muestras también fueron guardadas en una cámara fría a 4°C hasta su procesamiento. En este mismo día, se recogieron también muestras de tejido fotosintético y senescente de la parte aérea de todos los individuos excepto en el caso de *E. umbellata* donde fue imposible la recogida de tejido senescente. Una vez en el laboratorio, se obtuvieron muestras de tejido radicular a partir de las muestras A de suelo. El estudio contó con un total de 90 muestras de suelo y 80 muestras vegetales.

Análisis químicos

El N-mineral en el suelo se midió mediante la extracción de submuestras frescas con KCl 2M, filtrado (filtros Millipore 0.45 µm) y análisis de NH₄⁺-N y NO₃⁻-N por el método colorimétrico de azul de indofenol con ayuda de microplacas y un lector de microplacas (SIMS et al., 1995).

Se calculó la mineralización potencial neta de N por diferencia en la concentración de N-mineral entre submuestras tamizadas de las muestras A de suelo incubadas durante 20 días a 30°C y submuestras tamizadas no incubadas (ALLEN et al., 1986). Estas tasas se consideran potenciales porque la incubación se lleva a cabo bajo condiciones estandarizadas de T^a y humedad.

Del mismo modo, se calculó la mineralización real neta de N como la diferencia en la concentración de N-mineral entre submuestras de las muestras B, incubadas "in situ", y de las muestras A, no incubadas.

La biomasa microbiana (N-BM) se estimó mediante el método de fumigación-extracción descrito por BROOKES et al. (1985), seguido de la determinación del N total mediante el método de oxidación con K₂S₂O₈ (CABRERA et al., 1993).

Se calculó la toma de N-mineral por la planta por el método de balance de masas, como la diferencia entre la toma bruta (diferencia de N-mineral entre las muestras B y C de suelo) y la inmovilización microbiana de N-mineral (diferencia entre el N-BM de las muestras C y B, SCHLESINGER, 2000).

Las muestras vegetales recogidas fueron introducidas en una estufa a 50°C durante una semana, se molieron y el contenido de N en submuestras se analizó mediante una digestión Kjeldahl (WALINGA et al., 1995).

Análisis de los datos

Se realizaron ANOVA de una vía para la comparación entre especies de las diferentes variables edáficas y vegetales medidas. Antes del análisis, se comprobó que los datos seguían una distribución normal (test de Shapiro-Wilk) y presentaban homogeneidad de varianzas (test de Levene). Se realizaron comparaciones entre especies mediante el Test de Tuckey para ver entre cuales existían diferencias significativas y se hicieron correlaciones de Pearson entre las diferentes variables. El tratamiento estadístico de los datos se realizó con los programas STATISTICA 5.0 (STATSOFT, Inc., 1995) y R 1.8.0 para Windows (R Development Core Team, 2003).

RESULTADOS

No se encontraron diferencias significativas entre especies en el N-BM pero sí en el N-mineral del suelo. La no leguminosa *E. umbellata* presentó un valor medio 3 veces inferior a las otras dos especies (Tabla 1, figura 1).

Se obtuvieron diferencias significativas entre especies en las tasas de nitrificación y amonificación neta tanto potenciales como reales. *U. gallii* presentó los mayores valores de amonificación y *G. tridentata* los de nitrificación, sin embargo no se encontraron diferencias significativas en la mineralización neta real ni potencial (Tabla 1).

La toma de N fue mayor en las dos leguminosas pero sólo se encontraron diferencias significativas entre *U. gallii* y *E. umbellata* (Tabla 1).

Considerando conjuntamente las especies, las tasas potenciales de amonificación, nitrificación y mineralización fueron significativamente mayores que las tasas reales (Figura 2).

Se encontraron diferencias significativas entre *E. umbellata* y las leguminosas tanto para la concentración de N en tejido fotosintético como radicular, siendo mayor el contenido de N en las especies leguminosas (Tabla 1, figura 1).

El N-mineral estuvo positivamente correlacionado con la amonificación ($p < 0.001$, $r = 0.731$), mineralización potencial ($p < 0.05$, $r = 0.436$) y toma de N ($p < 0.05$, $r = 0.501$). El N-BM presentó relación positiva tanto con la amonificación como mineralización neta real ($p < 0.05$ en ambos casos, $r = 0.451$ y 0.428 respectivamente). Las tasas de mineralización y amonificación potenciales y reales se correlacionaron con la toma de N ($p < 0.05$ y $r = 0.446$, $p < 0.01$ y $r = 0.654$, $p < 0.001$ y $r = 0.816$, $p < 0.001$ y $r = 0.720$ respectivamente). La concentración de N-mineral en el suelo estuvo positivamente correlacionada con la concentración de N en tejido fotosintético y radicular y la relación N/P en tejido fotosintético ($p < 0.001$ en todos los casos, $r = 0.647$, 0.618 y 0.695 respectivamente) y la amonificación potencial y nitrificación real con la concentración de N en tejido fotosintético ($p < 0.01$ en ambos casos, $r = 0.485$ y 0.495 respectivamente).

	<i>E. umbellata</i>			<i>G. tridentata</i>		<i>U. gallii</i>		
	N	p	Media	E. E.	Media	E. E.	Media	E. E.
N-BM (mg/ kg)	30	N.S.	161.23	24.77	121.38	24.10	97.15	11.35
N-mineral (mg/ kg)	26	<0.001	11.04 a	2.13	33.84 b	3.13	29.69 b	1.51
NNP (mg/ kg · día)	29	<0.05	0.560 ab	0.190	0.127 a	0.13	0.655 b	0.077
ANP (mg/ kg · día)	29	<0.05	1.026 a	0.191	1.832 b	0.175	1.358 ab	0.158
MNP (mg/ kg · día)	30	N.S.	1.797	0.220	2.173	0.307	2.013	0.201
NNR (mg/ kg · día)	27	<0.01	0.016 a	0.070	0.202 ab	0.071	0.382 b	0.070
ANR (mg/ kg · día)	29	<0.05	0.411 ab	0.203	0.959 a	0.244	0.118 b	0.165
MNR (mg/ kg · día)	29	N.S.	0.427	0.264	1.298	0.342	0.422	0.212
Toma de N (mg/ kg)	22	<0.05	13.04 a	1.98	33.61 b	6.16	21.75 ab	4.48
N tej. Fotosintético (g/ kg)	30	<0.001	9.75 a	0.55	13.42 b	0.42	15.37 b	0.36
N tej. Radicular (g/ kg)	29	<0.001	7.69 a	0.61	10.58 b	0.54	12.28 b	0.34
N tej. Senescente (g/ kg)	20	N. S.	-	-	14.51	0.50	14.87	0.59

Tabla 1. Medias y errores estándar (E. E.) de las variables edáficas y vegetales medidas. MN= mineralización neta, NN= nitrificación neta, AN= amonificación neta, P= potencial, R= real. N= tamaño muestral, p= probabilidad de cometer un error de tipo I en la ANOVA N.S= $p > 0.05$. Letras diferentes indican diferencias significativas entre especies

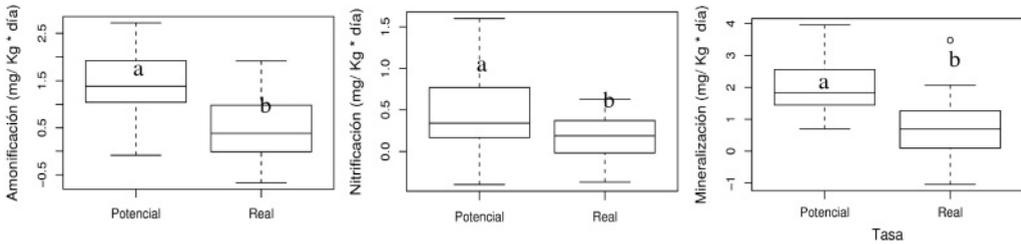


Figura 1. Diferencias entre tasas potenciales y reales de amonificación ($p < 0.001$), nitrificación ($p < 0.05$) y mineralización ($p < 0.001$). Las barras representan el rango máximo y mínimo de no outlier, la caja los percentiles del 75% y 25% y la línea del interior de la caja la mediana. (°) = outlier

DISCUSIÓN

Los valores de N-BM superaron el valor medio anual descrito por WARDLE (1992) de 93 mg N kg⁻¹ suelo para ecosistemas forestales templados, pero hay que tener en cuenta que nuestros valores se tomaron en verano, y con bajas temperaturas éstos podrían ser netamente inferiores. Además, el efecto de heterogeneidad espacial creado por la planta contribuye a que existan mayores cantidades de N-BM bajo su cobertura vegetal.

La mayor concentración de N-mineral bajo las leguminosas podría ser consecuencia de la capacidad fijadora de N₂ por parte de éstas, incorporando al suelo, mediante la descomposición y mineralización de la necromasa de la planta, este N₂ fijado y almacenado orgánicamente en ella. Estos resultados coinciden con mayores contenidos de N en planta, ya que el N en el tejido fotosintético y radicular de las leguminosas resultó ser entre un 33% y un 50% más alto que en la no leguminosa, coincidiendo con los resultados obtenidos por TORTRAS (2002). La facilidad de estas plantas para conseguir N y la probable falta de limitación se reflejaron en el contenido de N en el tejido senescente, similar al fotosintético (COVELO & GALLARDO, 2002).

Es posible que el tamaño muestral ($n=10$) fuese insuficiente para separar valores de mineralización real tres veces mayores bajo la leguminosa *U. gallii*. Los mayores valores de amonificación bajo *U. gallii* coinciden con el mayor contenido de materia orgánica en suelo encontrado bajo esta especie en un estudio más amplio realizado sobre esta comunidad (RODRÍGUEZ, 2004). Las menores tasas de amonificación potencial y nitrificación real en las muestras de

suelo recogidas bajo *E. umbellata* vienen explicadas por la menor calidad de la materia orgánica bajo esta especie. Además, la mayor relación C/N existente en los tejidos de *E. umbellata* frente a las leguminosas podría favorecer a diferentes microorganismos heterotrófos con menos requerimientos de N que las bacterias nitrificantes (SCHLESINGER, 2000).

Las diferencias encontradas entre las tasas potenciales y reales vienen explicadas por las diferencias entre las muestras incubadas en laboratorio y en campo en cuanto a la humedad, condiciones de aireación y temperatura y efecto del tamizado en el caso de las muestras incubadas en el laboratorio.

La toma de N mayor en leguminosas, y significativamente mayor en el caso de *U. gallii* frente a *E. umbellata*, demuestra que el alto requerimiento de N de nuestras dos especies leguminosas no se satisface exclusivamente vía fijación atmosférica de N₂ (MCKEY, 1994), pudiendo regular la cantidad de N que fijan frente al que toman del suelo según el coste energético que éste les suponga (PEOPLES & CRASWELL, 1992).

La relación positiva del N-BM con la amonificación y mineralización neta real refleja el efecto de la biomasa microbiana en la mineralización del N. Las relaciones entre el N-mineral, la amonificación potencial, la toma de N, la tasa de mineralización y el N en tejido fotosintético sugieren que mayores tasas de mineralización conllevan a mayor disponibilidad de nutrientes y por tanto a mayor toma de N por parte de las plantas, la cual termina traducándose en un mayor contenido de N en planta.

Nuestros datos corroboran la hipótesis principal demostrando que la presencia de leguminosas en el matorral atlántico determina diferen-

cias en el ciclo del N, provocando cierta heterogeneidad espacial con respecto a la disponibilidad y una aceleración local del ciclo en esta comunidad vegetal.

CONCLUSIONES

- 1.- La presencia de fijadores de N₂ en el matorral atlántico provoca cambios en los contenidos de N-mineral en el suelo circundante.
- 2.- En contra de lo previsto no existen mayores cantidades de N-Biomasa microbiana ni mayores tasas significativas de mineralización bajo leguminosas que bajo *E. umbellata*, aunque sí se aprecian diferencias en las tasas de amonificación y nitrificación.
- 3.- A pesar de que *U. gallii* y *G. tridentata* tienen la capacidad de fijar N₂, en nuestro periodo de estudio extrajeron del suelo cantidades mayores de N que la no leguminosa *E. umbellata*.
- 4.- Las leguminosas presentaron valores significativamente mayores de N tanto en tejido fotosintético como radicular.

BIBLIOGRAFÍA

- ALLEN, S.E.; GRIMSHAW, H.M. & ROWLAND, A.P.; 1986. Chemical Analysis. In: P. D., More & S. B., Chapman (eds). *Methods in plant ecology*: 285-345. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- BORING, L.R.; SWANK, W.T.; WAIDE, J.B. & HENDERSON, G.S.; 1988. Sources, fates and impacts of nitrogen inputs to terrestrial ecosystems: review and synthesis. *Biogeochemistry* 6: 119-159.
- BROOKES, P.C.; LANDMAN, A.; PRUDEN, G. & JENKINSON, D.S.; 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen; a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol. Biochem.* 17: 837-842.
- CABRERA, M.L. & BEARE, M.H.; 1993. Alkaline Persulfate Oxidation for Determining Total Nitrogen in Microbial Biomass Extracts. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57: 1007-1012.
- COVELO, F. & GALLARDO, A.; 2002. Effect of pine harvesting on leaf nutrient dynamics in young oak trees at NW Spain. *Forest Ecol. Manag.* 167: 161-172.
- CREWS, T.E.; 1999. The presence of nitrogen fixing legumes in terrestrial communities: Evolutionary vs ecological considerations. *Biogeochemistry* 46: 233-246.
- ENO, C.F.; 1960. Nitrate production in the field by incubating the soil in polyethylene bags. *Soil. Sci. Soc. Am. J. Proc.* 24: 277-279.
- MARTÍN GARBÍN, P.; 2003. *Proyecto de mejora de las infraestructuras para la prevención de incendios en la sierra de "O Galiñeiro"*. Tesis. Universidade de Vigo. Vigo
- MCKEY, D.; 1994. Legumes and nitrogen: The evolutionary ecology of a nitrogen-demanding lifestyle. In: J. I., Sprent y D., McKey (eds.), *Advances in Legume Systematics 5: The nitrogen factor*: 211-228. Royal Botanic Gardens. Kew.
- PEOPLES, M.B. & CRASWELL, E.T.; 1992. Biological nitrogen fixation: investments, expectations and actual contributions to agriculture. *Plant Soil* 141:13-39.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM; 2003. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>.
- RODRIGUEZ, A.; 2004. *Heterogeneidad en el ciclo del nitrógeno en un matorral atlántico*. Tesis de licenciatura. Universidad de Vigo.
- SCHLESINGER, W.H.; 2000. *Biogeoquímica. Un análisis del cambio global*. Editorial Ariel, S. A. Barcelona.
- SIMS, G.K.; ELLSWORTH, T.R. & MULVANEY, R.L.; 1995. Microscale determination of inorganic nitrogen in water and soil extracts. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 26: 303-316.
- SPEHN, E.M.; SCHERER-LORENZEN, M.; SCHMID, B.; HECTOR, A.; CALDEIRA, M.C.; DIMITRAKOPOULOS, P.; FINN, J.A.; JUMPPONEN, A.; O'DONOVAN, G.; PEREIRA, J.S., SCHULZE, E.D.; TROUMBIS, A.Y. & KÖRNER, C.; 2002. The role of legumes as a component of biodiversity in a cross-European study of grassland biomass nitrogen. *Oikos* 98: 205-218.
- STATSOFT, INC.; 1995. *STATISTICA for Windows* [Computer program manual]. StatSoft, Inc. Tulsa. OK.
- TORTRAS, P.C.; 2002. *Estratègies de la vegetació mediterrània en l'us del Nitrogen després del*

- loc.* Tesis. Universidad de Barcelona. Barcelona
- VITOUSEK, P.M.; 1982. Nutrient cycling and nutrient use efficiency. *Am. Nat.* 119: 553-572.
- VITOUSEK, P.M.; CASSMAN, K.; CLEVELAND, C.; CREWS, T.; FIELD, C.B.; GRIMM, N.B.; HOWARTH, R.W.; MARINO, R.; MARTINELLI, L.; RASTETTER, E.B. & SPRENT, J.I.; 2002. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. *Biogeochemistry* 57/58: 1-45.
- WALINGA, L.; VAN DER LEE, J.J.; HOUBA, V.J.G.; VAN VARK, W. & NOVOZAMSKY, I.; 1995. *Plant Analysis Manual*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- WARDLE, D.A.; 1992. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biol. Rev.* 67: 321-358.