

EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE LA ABUNDANCIA NATURAL ^{15}N EN LA ESTIMACIÓN DEL EFECTO DE LA TRANSFERENCIA DE NITRÓGENO DE LA LEGUMINOSA *Canavalia ensiformis* (CANAVALIA) SOBRE LA NUTRICIÓN NITROGENADA DE LA PLANTA ASOCIADA *Musa acuminata* (PLÁTANO)

Natacha Motisi, R. Tournebize y J. Sierra[✉]

ABSTRACT. Legume-based intercropping is an interesting practice to increase nitrogen (N) content in the soil and associated crop, and so to reduce the use of fertilizers. The aim of this study was to test how useful the natural ^{15}N abundance method is for estimating this increment. A greenhouse trial was carried out in pots with canavalia-banana association, in order to evaluate N transfer via exudates and root decomposition after cutting the aboveground parts. Estimations were recorded by a box model including isotopic fractionation in the soil and banana plants. The contribution of the total N taken up by banana was: 5 % from canavalia exudates, 53 % released from root decomposition and 42 % from the soil. Root exudate contribution was relatively low due to a strong competition between canavalia and banana, mainly for the available soil phosphorus. ^{15}N content of the youngest banana half-leaf showed a high correlation with ^{15}N content of the entire plant. This indicated that the youngest leaf may be a useful index to estimate leguminous N transfer. Both, N transfer determination along canavalia growing cycle and the evaluation of the actual N transfer rate need to be calibrated under field conditions for each type of soils.

Key words: exudate, green manures, intercropping, tracer techniques, phosphorus, nitrogen

RESUMEN. La asociación de una leguminosa con un cultivo de cosecha ha demostrado ser una práctica eficaz para aportar nitrógeno (N) al sistema suelo-planta y así reducir el uso de fertilizantes. El objetivo de este estudio fue analizar la utilidad del método de la abundancia natural ^{15}N para evaluar ese aporte. Se realizó un ensayo en macetas bajo condiciones de invernadero con la asociación canavalia-plátano, con el objeto de estimar la contribución de los exudados de la leguminosa y del N producto de la descomposición de sus raíces después del corte de la parte aérea. Las estimaciones fueron realizadas con un modelo de compartimientos que tiene en cuenta la discriminación isotópica en el suelo y en el plátano. Del N total absorbido por el plátano, 5 % provino de los exudados de canavalia, 53 % del N liberado por la descomposición de las raíces y 42 % del N del suelo. La contribución de los exudados fue relativamente baja a causa de una fuerte competición entre canavalia y plátano, principalmente por el fósforo disponible en el suelo. El contenido de ^{15}N de la última media hoja adulta del plátano mostró una alta correlación con el de la planta entera. Esto sugiere que la última hoja podría ser utilizada como indicador de la transferencia de N desde la leguminosa. La determinación de la transferencia de N durante el ciclo de crecimiento de canavalia, así como la evaluación del indicador, necesitan una calibración en condiciones de campo, la cual debería ser desarrollada para cada tipo de suelo.

Palabras clave: exudados, abonos verdes, cultivos asociados, técnicas de trazadores, fósforo, nitrógeno

INTRODUCCIÓN

Uno de los desafíos para lograr una agricultura sostenible reside en reducir la utilización de agroquímicos, sin afectar negativamente los rendimientos y la calidad del producto cosechado. En relación con la nutrición nitrogenada, varias son las alternativas que existen para

disminuir o reemplazar el uso de fertilizantes. Una de las prácticas que mayor interés concitó en los trópicos en la última década es la cobertura viva con leguminosas (1). Por otro lado, la utilización de leguminosas, herbáceas o leñosas, asociada a un cultivo de cosecha o a un forraje, es una práctica tradicional en varias regiones, incluido el Caribe y Latinoamérica en general (2).

Cuando la leguminosa asociada es cultivada con el fin de aportar nitrógeno (N) al sistema suelo-planta, ella es comúnmente utilizada como abono verde (1). Sin embargo, varios trabajos realizados en los últimos años demostraron que cantidades importantes de N pueden ser transferidas desde la leguminosa a la planta asociada

Natacha Motisi, estudiante de Maestría del Institut National Agronomique Paris-Grignon; R. Tournebize, investigador del INRA y Dr. J. Sierra, director de investigaciones del INRA, UR135 Agropédologie de la Zone Caraïbe, Petit-Bourg, F97170, Guadeloupe, France.

✉ jorge.sierra@antilles.inra.fr

durante el ciclo de crecimiento (3). Algunos de los factores implicados en ese proceso son la liberación de exudados radicales, la presencia de micorrizas funcionando como vía de transferencia, y el reciclado en el suelo de raíces y nódulos de la leguminosa (4).

El método más utilizado para cuantificar esta transferencia es el marcado artificial de la leguminosa con ^{15}N (4). Contrariamente, el uso del método de la abundancia natural ^{15}N , frecuentemente empleado para realizar estimaciones de la fijación simbiótica, recibió menos atención (5). Esto es debido a que la discriminación isotópica, en el suelo y la planta, dificulta la obtención de estimaciones fiables. A pesar de este inconveniente, el método es promisorio en esta clase de estudios, al menos por tres razones: i- no necesita el aporte de ^{15}N al sistema, lo cual resulta menos oneroso y evita eventuales cambios en los flujos naturales de ese elemento; ii- permite estudios a largo plazo, lo cual es más problemático con el marcado artificial, a causa de la dilución del marcador con el tiempo; iii- su implementación en condiciones de campo es más sencilla.

Los objetivos de este estudio fueron: i- evaluar la sensibilidad del método de la abundancia natural ^{15}N en la cuantificación de la transferencia de nitrógeno, desde una leguminosa herbácea al plátano asociado, ii- analizar el efecto de dicha transferencia sobre la nutrición nitrogenada del plátano, iii- establecer un indicador vegetal que permita realizar estimaciones de la transferencia a campo, a bajo costo y con mínimo esfuerzo. El ensayo fue conducido en invernadero, con el fin de realizar la evaluación en condiciones en las cuales la discriminación isotópica pueda ser controlada y/o establecida con precisión.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del experimento. El experimento se realizó en Guadalupe (Antillas Francesas), en la Estación Experimental de Duclos (16°12'N 61°40'W, 250 m sobre el nivel del mar) del *Institut National de la Recherche Agronomique* de Francia. El suelo utilizado es de tipo Ferralítico Rojo, que al momento del muestreo se hallaba cultivado con plátano (*Musa acuminata*). Algunas de las características del horizonte A (0-0.25 m) son: arcilla 81 %, pH 5.2, carbono orgánico 21 mg.kg⁻¹, N orgánico 1.7 mg.kg⁻¹, capacidad de intercambio catiónico 10.1 cmol.kg⁻¹, potasio intercambiable 0.3 cmol.kg⁻¹, calcio intercambiable 3.9 cmol.kg⁻¹ y magnesio intercambiable 0.9 cmol.kg⁻¹. El suelo fue colectado sobre una superficie de 10 m² entre dos líneas de plátano a una profundidad de 0.1 m. Las raíces presentes fueron removidas manualmente. El suelo fue tamizado a <1 cm y puesto en 24 macetas de 30 L en invernadero. Todas las macetas fueron fertilizadas con fósforo (P) y potasio (K), en dosis equivalentes a 50 kg.ha⁻¹ P (superfosfato triple) y 50 kg.ha⁻¹ K (sulfato de potasio), los cuales fueron homogeneizados manualmente en los 10 cm superficiales del suelo.

El plátano se plantó en 22 macetas en julio del 2004, a razón de una vitroplanta por maceta. Canavalia se sembró 52 días después de la plantación del plátano (DDP) en 10 macetas conteniendo una planta de plátano (tratamiento plátano-canavalia asociados, ASO) y en dos macetas de suelo desnudo. Estas últimas se utilizaron para la determinación del contenido de ^{15}N en los exudados de canavalia. Se sembraron cuatro semillas de canavalia por maceta. Las 12 macetas restantes fueron mantenidas con el plátano solo (tratamiento plátano en monocultivo, MON). El tratamiento MON se utilizó para determinar el contenido de ^{15}N del plátano cuando la única fuente de N fue el suelo. Las macetas se distribuyeron en el invernadero bajo un diseño completamente aleatorizado. El riego de las macetas se realizó cada uno o dos días, para mantener la humedad del suelo entre 60 y 80 % de la capacidad de campo. El control del agua perdida por evapotranspiración se realizó por pesada. La temperatura diaria media del aire en el invernadero fluctuó entre 29 y 25°C entre el principio y el fin de las experimentaciones.

El muestreo y análisis de N, ^{15}N y P de las plantas se realizó sobre las vitroplantas y luego a los 52, 109, 150, 227, 259 y 298 DDP en el tratamiento MON, y a los 52, 109, 150, 200, 237 y 264 DDP en el tratamiento ASO. Las plantas muestreadas a los 52 DDP (momento de la siembra de canavalia) fueron las mismas para los tratamientos MON y ASO. El experimento MON fue más prolongado y con muestreos más espaciados a partir de los 150 DDP, para poder asegurar la estabilización del valor de ^{15}N en el tiempo. Esto fue necesario para obtener una estimación fiable del valor de ^{15}N , cuando la única fuente de N es el suelo (5). Las hojas senescentes de canavalia fueron muestreadas regularmente para evitar su descomposición en el suelo. Estas hojas fueron analizadas conjuntamente con el material de la planta de canavalia correspondiente. A los 200 DDP en ASO, la parte aérea de canavalia se cortó al ras del suelo y se retiró de las macetas. En cada fecha de muestreo se tomaron las plantas de dos macetas y se separaron las raíces y parte aérea de cada especie. La mitad superior de la última hoja adulta del plátano se muestreó separadamente para ser analizada como indicador del contenido de ^{15}N de la planta entera. Las muestras fueron secadas a 70°C durante cinco días, molidas y tamizadas a <0.2 mm para análisis. El N total y el ^{15}N se determinaron utilizando un analizador elemental conectado con un espectrómetro de masa (5) en el *Laboratoire Central d'Analyses del Conseil National de la Recherche Scientifique* (Vernaison, Francia). El fósforo de la planta se analizó utilizando el método de Novozamsky (5).

Un muestreo de nódulos se realizó en ASO a los 109 DDP. Los nódulos fueron separados de las raíces inmediatamente después del muestreo y su biomasa se determinó luego del secado a 70°C durante cinco días. *Medición de los exudados de canavalia.* La medición se realizó a los 109 DDP (57 días después de la siembra de canavalia). Las plantas de las dos macetas destinadas a

este tratamiento fueron retiradas cuidadosamente, con el fin de no dañar las raíces, que fueron lavadas con agua común. Las cuatro plantas de cada maceta se introdujeron entonces en un recipiente de 15 L conteniendo 10 L de agua desmineralizada, permaneciendo en exudación durante cuatro días. Los recipientes se cubrieron con una lámina plástica para evitar contaminaciones. La oxigenación del agua y las raíces se aseguró con un sistema de aireación accionado por una bomba peristáltica instalado en cada recipiente.

Al cabo del período de exudación, la solución fue recuperada, filtrada con papel Whatman N° 1 y secada a 50°C durante cinco días. El pH de la solución se controló diariamente y se mantuvo a un valor de <4.5 para evitar eventuales pérdidas de N por volatilización. El residuo sólido final fue recuperado, homogeneizado y tamizado a <0.2 mm para el análisis de N y ^{15}N .

Estimación de la fijación simbiótica de N de canavalia. La fracción de N derivada de la fijación simbiótica ($\% \text{N}_{\text{fix}}$) se estimó de la siguiente forma (6):

$$\% \text{N}_{\text{fix}} = [(\delta^{15}\text{N}_{\text{nf}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{can}}) / (\delta^{15}\text{N}_{\text{nf}} - B)] \times 100 \quad (1)$$

donde $\delta^{15}\text{N}$ es el enriquecimiento en ^{15}N expresado en ‰ en relación con el N atmosférico (0.3663%) (7); $\delta^{15}\text{N}_{\text{nf}}$ es el $\delta^{15}\text{N}$ de la planta no fijadora, teniendo al N del suelo como única fuente nitrogenada; $\delta^{15}\text{N}_{\text{can}}$ es el $\delta^{15}\text{N}$ de canavalia en el tratamiento ASO (parte aérea y raíces ponderadas); B es el $\delta^{15}\text{N}$ de canavalia teniendo al N_2 atmosférico como única fuente de N. El valor de B de canavalia no fue determinado en este trabajo ni en otros realizados sobre la misma especie. Por este motivo, la estimación de la fijación se hizo tomando dos valores extremos de leguminosas citados en la bibliografía: -2.07 citado para *Gliricidia sepium* (8) y -1.41 citado para *Trifolium repens* (9). El valor utilizado de $\delta^{15}\text{N}_{\text{nf}}$ correspondió al $\delta^{15}\text{N}$ del plátano en el tratamiento MON, cuando la planta alcanzó el equilibrio con el valor isotópico del N disponible del suelo (valor estable en el tiempo). La validez de esta última aproximación es discutida en la próxima sección.

Estimación de la transferencia de N. La transferencia de N se estimó utilizando el modelo propuesto por Sierra y Nygren (5). El modelo considera cinco compartimientos nitrogenados: i-N de la materia orgánica, ii-N mineral del suelo producto de la mineralización, la cual es afectada por una discriminación isotópica (fuente de N para el plátano), iii-N en las raíces del plátano, iv-N en la parte aérea del plátano, y v-N en los exudados (antes del corte de la parte aérea) o en las raíces (después del corte) de canavalia (fuente de N para el plátano). El N absorbido por el plátano se dividió en tres componentes: i-N translocado en el xilema, ii-N metabolizado y retenido en las raíces, y iii-N metabolizado en las raíces y retranslocado a la parte aérea. Este último puede ser afectado por una discriminación isotópica. La discriminación diferencial amonificación-nitrificación no fue considerada en este estudio. Esto se justifica por el hecho que más

del 95 % del N disponible del suelo utilizado correspondió a nitratos. Los coeficientes de discriminación (β) se estimaron de la manera siguiente (10):

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{pro}} = \delta^{15}\text{N}_{\text{sub}} \times \beta + 1000 \times (\beta - 1) \quad (2)$$

donde los subíndices pro y sub hacen referencia al producto y substrato de la reacción. En el caso de la mineralización, pro y sub se refieren al N mineral y al N de la materia orgánica, respectivamente. En el caso de la retranslocación del N en la planta, pro y sub se refieren al N retranslocado a la parte aérea y al N de las raíces, respectivamente. Los dos coeficientes β fueron estimados en el tratamiento MON.

Los cálculos fueron realizados a intervalos semanales. La transferencia de N desde la leguminosa se estimó por ajuste estadístico de los $\delta^{15}\text{N}$ observados. El modelo fue corrido con el programa ModelMaker 3.0 (11) y los ajustes fueron realizados utilizando el método de Marquardt incluido en el mismo programa. Las diferencias entre tratamientos fueron analizadas utilizando los ensayos estadísticos incluidos en SAS v. 8.02 (12).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nutrición mineral del plátano asociado y en monocultivo. En el período de siembra-corte de canavalia, la biomasa nitrogenada y fosforada en la planta entera fue mayor en el tratamiento MON ($P < 0.05$) (Figura 1). Esto se invirtió luego del corte de canavalia; en este período, la tasa de crecimiento de la biomasa de los dos nutrientes fue mayor en ASO ($P < 0.05$). En este tratamiento, el contenido de P aumentó tres veces y el de N 2.5 veces en relación con el momento del corte de la leguminosa; las diferencias relativas entre N y P fueron significativas ($P < 0.05$). Asimismo, el aumento de la biomasa nitrogenada en ASO fue mayor en la parte aérea que en las raíces; lo contrario se observó para P, donde fueron las raíces las que mostraron el mayor incremento (datos no presentados).

Estos resultados indican la presencia de una fuerte competición ejercida por canavalia, la cual fue más intensa en el caso del fósforo que en el nitrógeno. El aumento observado después del corte corresponde al efecto de abono verde de canavalia, remarcándose que solo representa el efecto de las raíces en descomposición, ya que la parte aérea no fue incorporada al suelo. Las diferencias entre los tratamientos MON y ASO después del corte de canavalia, pueden considerarse como un indicador de la cantidad de N y P liberada por las raíces en descomposición. Tomando esos valores, la absorción diferencial de N por el plátano en ese período representó el 32 % del N contenido en las raíces de canavalia en el momento del corte. En el caso de P, el valor fue de 44 %. Estos resultados concuerdan con las mediciones realizadas sobre la velocidad de descomposición de las raíces de canavalia en un experimento en laboratorio (13). En esa experiencia, un tercio del N contenido en las raíces fue mineralizado en dos meses de incubación.

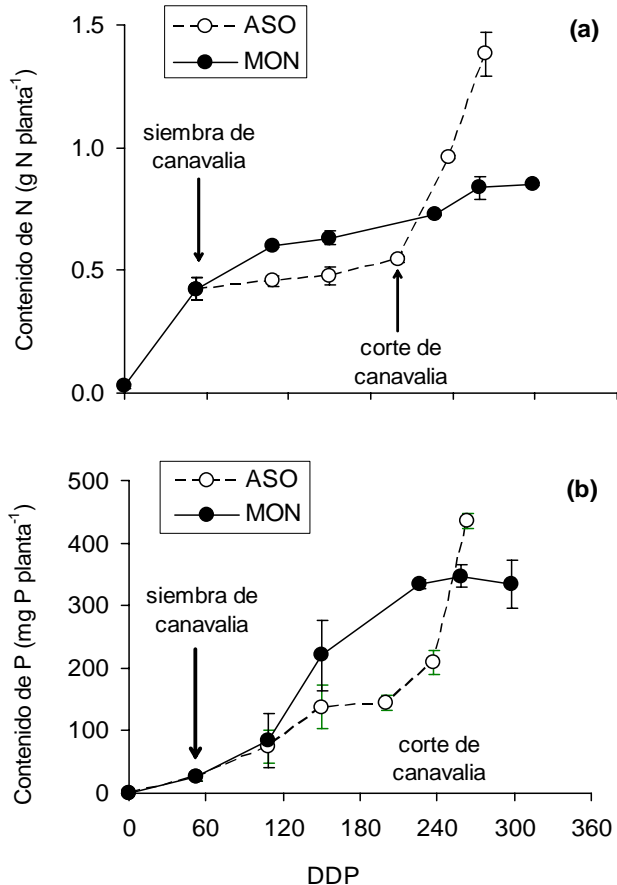


Figura 1. Contenido de nitrógeno (a) y fósforo (b) en el plátano asociado a canavalia (ASO) o creciendo solo (MON). DDP, días después de la plantación del plátano. Las barras verticales indican la desviación estándar (n=2)

El efecto del abono verde sobre la disponibilidad de P en el suelo y absorción de la planta asociada ya fue observado previamente (14) y demuestra que en algunas situaciones este efecto puede ser superior al del N. Esto pudo ser debido a la fertilización fosforada inicial, la cual pudo haber favorecido prioritariamente a la leguminosa. **Fijación simbiótica de canavalia.** La Figura 2a muestra el cambio de $\delta^{15}\text{N}$ de la planta entera de canavalia (parte aérea y raíces ponderadas). El valor de $\delta^{15}\text{N}$ de la semilla fue 0.27 ± 0.03 , y el valor más bajo de la planta fue -0.79 ± 0.30 a los 150 DDP. La disminución del valor $\delta^{15}\text{N}$ en el tiempo refleja el aumento progresivo de la cantidad de N fijado, lo cual es debido al hecho que el N de la fijación simbiótica tiene un $\delta^{15}\text{N}$ inferior al del suelo, o sea, $B < \delta^{15}\text{N}_{\text{nf}}$ en la Ec. (1). Como se mencionó anteriormente, el valor de $\delta^{15}\text{N}_{\text{nf}}$ correspondió al $\delta^{15}\text{N}$ del plátano en monocultivo, cuando este alcanzó un valor estable en el tiempo (3.22, ver debajo). El valor de $\delta^{15}\text{N}_{\text{nf}}$ generalmente utilizado en este tipo de estimaciones corresponde al de una planta no fijadora, de la cual se asume que su patrón de absorción del N del suelo es igual al de la planta fijadora (8, 9). La aproximación utilizada en este estudio fue lige-

ramente diferente y se basó en dos hipótesis: i- la discriminación isotópica de la absorción del N del suelo es muy baja o nula (15), ii- en un sistema cerrado en macetas, la fuente de N disponible del suelo es la misma para la planta fijadora y la no fijadora, y puede ser caracterizada por su valor de $\delta^{15}\text{N}$. Cuando el $\delta^{15}\text{N}$ de la planta no fijadora (plátano en MON) alcanza un valor estable en el tiempo, por la hipótesis i- este valor debe ser igual al del N disponible del suelo. En consecuencia, él corresponde igualmente al $\delta^{15}\text{N}$ de la planta fijadora cuando su única fuente nitrogenada es el N del suelo.

Con esta aproximación, la estimación del N proveniente de la fijación simbiótica al momento del corte de canavalia representó entre 75 % ($B = -2.07$) y 84 % ($B = -1.41$) del N acumulado en la planta entera. Estas estimaciones están dentro del rango de valores informados para otras leguminosas (8, 9). La observación visual de las raíces de canavalia mostró que los nódulos fueron muy abundantes, principalmente en la parte superior de ellas, de una talla aproximada de 3 mm de diámetro y color púrpura en el interior. La biomasa de nódulos a los 109 DDP ($1.03 \pm 0.33 \text{ g.planta}^{-1}$) representó el 22 % del peso total de las raíces ($4.51 \pm 0.16 \text{ g.planta}^{-1}$). El conjunto de resultados y observaciones visuales indicó que canavalia tuvo una fuerte capacidad de fijación simbiótica en las condiciones de este estudio.

Evolución del $\delta^{15}\text{N}$ del plátano en monocultivo (tratamiento MON). El valor de $\delta^{15}\text{N}$ inicial de la vitroplanta fue 2.77 ± 0.11 . El $\delta^{15}\text{N}$ aumentó rápidamente alcanzando un valor estable a partir de 52 DPP, el cual promedió 3.22 ± 0.17 (Figura 2b). El rápido incremento del $\delta^{15}\text{N}$ fue debido a que la pequeña biomasa nitrogenada de la vitroplanta fue diluida por una cantidad relativamente importante de N absorbido en las primeras semanas después de la plantación (Figura 1a), el cual tuvo un $\delta^{15}\text{N}$ superior al inicial de la planta. Tal como se discutió anteriormente, el valor de 3.22 puede ser considerado como representativo del $\delta^{15}\text{N}$ de los nitratos del suelo. Con este valor y el del $\delta^{15}\text{N}$ de la materia orgánica del suelo utilizado en este estudio (7.16 ± 0.07), el factor de discriminación de la mineralización β calculado con la Ec. (2) fue de 0.9961, el cual corresponde a una discriminación contra el ^{15}N de 3.9 ‰. Este valor se halla en el rango de los citados en la literatura para el proceso de mineralización (10), y es ligeramente superior al estimado por Sierra y Nygren para un vertisuelo de Guadalupe (2.5 ‰) (5).

El modelo describió correctamente el cambio de $\delta^{15}\text{N}$ de la planta entera, la parte aérea y las raíces ($R^2 > 0.92$, $P < 0.05$). Sin embargo, para ajustar los valores de la parte aérea y las raíces, fue preciso hacer variar el factor de discriminación interno de la planta. Esto puede ser apreciado en la Figura 2b, por el cambio de la relación en el $\delta^{15}\text{N}$ de los dos compartimientos a partir de 226 DDP. En el período 0-226 DDP, el factor de discriminación fue de 1.0009. Un valor > 1 indica que el producto de la reacción (parte aérea del plátano) está enriquecido en ^{15}N en relación al sustrato (raíces del plátano) (Ec. 2). El factor de

discriminación a partir de 226 DDP fue de 0.9925, lo que indica que el producto se empobreció en ^{15}N con respecto al sustrato. La causa de este cambio no pudo ser dilucidada en este estudio, pero probablemente estuvo asociada a variaciones metabólicas de la planta. Esta variación de la discriminación isotópica también se reflejó en el $\delta^{15}\text{N}$ de la última media hoja adulta: $\delta^{15}\text{N}$ 3.77 a 52 DDP, $\delta^{15}\text{N}$ 5.17 a 150 DDP y $\delta^{15}\text{N}$ 3.80 a 298 DDP (datos no presentados en la Figura 2).

Transferencia de N al plátano (tratamiento ASO). El $\delta^{15}\text{N}$ de los exudados de canavalia fue -6.12 ± 0.13 , ligeramente menor al determinado en *Gliricidia sepium* en un trabajo anterior (16). El $\delta^{15}\text{N}$ de los exudados y el de las raíces de canavalia al momento del corte (0.10 ± 0.05) fueron considerados como los $\delta^{15}\text{N}$ del N transferido por la leguminosa antes y después del corte, respectivamente. La Figura 2c muestra que el $\delta^{15}\text{N}$ del plátano asociado incrementó hasta alcanzar un valor cercano al del N mineral del suelo, luego decreció hasta 240 DDP, y finalmente aumentó hacia el fin de la experimentación. Teniendo en cuenta que el $\delta^{15}\text{N}$ de la fuente nitrogenada

proveniente de la leguminosa (exudados) fue inferior al del N del suelo (3.22), la disminución $\delta^{15}\text{N}$ del plátano asociado observada entre 109 y 200 DDP es indicativa de una transferencia importante de N.

El modelo fue corrido aplicando el cambio de discriminación interna a la planta remarcada en MON a partir de los 200 DDP. La transferencia de N después del corte de canavalia se fijó al valor establecido por diferencia entre ASO y MON (87 %; Figura 1a). De esta manera, la única variable ajustada fue el porcentaje de transferencia entre la siembra y el corte de canavalia. El modelo describió correctamente los cambios de $\delta^{15}\text{N}$ en el período siembra-corte de canavalia ($R^2=0.96$, $P<0.05$) (Figura 2c). Luego del corte, hubo divergencias entre los valores observados y los estimados, lo cual fue más notable cuando las raíces y la parte aérea fueron analizados individualmente (Figura 2d). En la Figura 2d puede apreciarse que la tendencia del $\delta^{15}\text{N}$ de las raíces y la parte aérea fue similar a la observada en MON. Sin embargo, en ASO, el cambio del valor de discriminación no fue suficiente para estimar correctamente los $\delta^{15}\text{N}$ después del corte

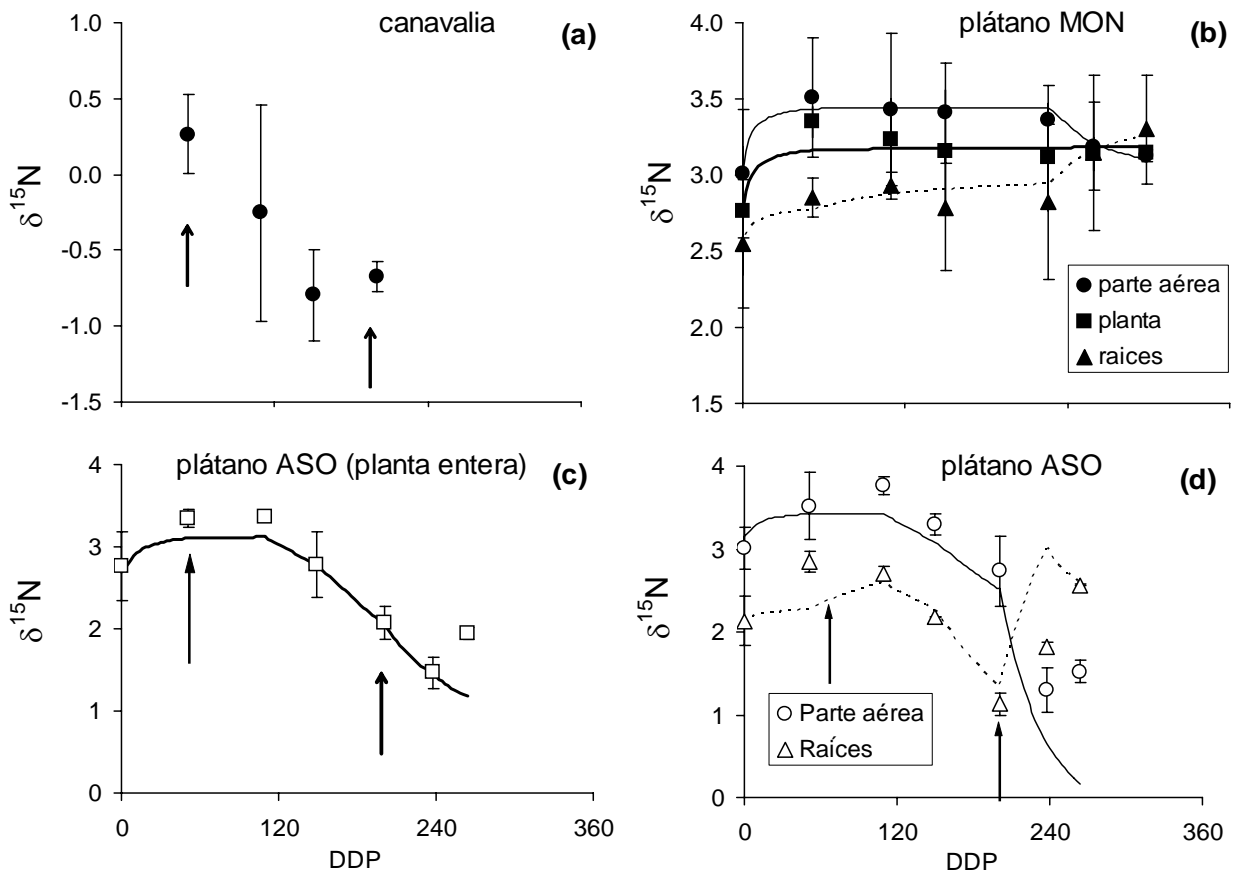


Figura 2. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ de: (a) planta entera de canavalia, (b) plátano creciendo solo (MON), (c) planta entera del plátano asociado a canavalia (ASO), (d) parte aérea y raíces del plátano asociado a canavalia. DDP, días después de la plantación del plátano. Las líneas en (b), (c) y (d) corresponden a los valores simulados por el modelo de compartimientos: línea continua fina, parte aérea; línea continua gruesa, planta entera; línea punteada, raíces. Las flechas en (a), (c) y (d) indican las fechas de siembra y corte de la parte aérea de canavalia. Las barras verticales indican la desviación estándar ($n=2$)

de canavalia. Sierra y Nygren (5) hallaron resultados similares luego de la poda parcial del árbol *Gliricidia sepium* asociado con la gramínea *Dichanthium aristatum*. Estos autores concluyeron que la descomposición de las raíces de la leguminosa se produce con un cambio en el $\delta^{15}\text{N}$ del N liberado, lo cual dificulta la estimación. Esta limitación en la utilización de la abundancia natural y la ausencia de competición entre plantas, luego del corte de la leguminosa, hacen que el método de las diferencias sea más fiable para estimar la transferencia de N en este período.

Las estimaciones realizadas con el modelo indicaron que en el período de siembra-corte de canavalia, 60 % del N absorbido por el plátano provino de la transferencia desde la leguminosa. Considerando que las hojas senescentes de canavalia fueron colectadas antes de su eventual descomposición en el suelo, la principal vía de transferencia correspondería a los exudados liberados. Esta transferencia pudo ser efectuada de la raíz de canavalia a la raíz de plátano, a causa de su estrecho contacto en la maceta, o vía las micorrizas que eventualmente pudiesen conectar los sistemas radicales de ambas especies (7). En el caso de una transferencia por micorrizas, estas deberían ser del tipo arbusculares, las cuales poseen una débil discriminación contra el ^{15}N (16). La actividad de otro tipo de micorrizas, teniendo una discriminación más elevada, debería haberse reflejado en una disminución del $\delta^{15}\text{N}$ del plátano asociado mucho más pronunciada que la observada en este estudio (7).

Sin embargo, la contribución del N transferido en el período de siembra-corte de canavalia, importante en términos relativos, fue baja en términos absolutos ($70 \text{ mg.planta}^{-1}\text{N}$). Esto fue debido a que en ese período el aumento de la biomasa nitrogenada total del plátano se redujo por la competición ejercida por canavalia (Figura 1a). Tomando

en cuenta el N absorbido en toda la experimentación, la contribución de esta fuente fue solo de 5 %. La disminución relativa de la contribución está relacionada a la importancia del N aportado por las raíces de canavalia en descomposición después del corte: 53 % del N total absorbido por el plátano. El N del suelo representó el 42 % restante.

Evaluación del indicador de la transferencia de N. El $\delta^{15}\text{N}$ de la última media hoja del plátano en ASO estuvo altamente correlacionada con el $\delta^{15}\text{N}$ de la planta entera (Figura 3). Lo contrario se encontró en MON: mientras el $\delta^{15}\text{N}$ de la planta entera fue estable a partir de 52 DDP (Figura 2b), el $\delta^{15}\text{N}$ de la última media hoja varió más de 1.5 unidades $\delta^{15}\text{N}$ a lo largo de la experimentación. Las diferencias entre ambos tratamientos no pueden ser totalmente elucidadas con los resultados de este estudio, pero podrían estar asociadas a la importancia relativa de la transferencia de N y la discriminación interna de la planta. En MON, donde no hubo transferencia de N, el indicador no sería adecuado a causa de la discriminación interna de la planta, que produce un desfase con respecto al valor medio de la planta. Como la discriminación afecta todos los órganos de la planta, esto implica a priori que ningún $\delta^{15}\text{N}$ particular reflejaría ese valor medio. Por otro lado, el cambio de la discriminación con el tiempo se tradujo en la disminución progresiva del $\delta^{15}\text{N}$ de las hojas (Figura 2b). En ASO, esta tendencia coincidió con la disminución del $\delta^{15}\text{N}$ de la planta a causa de la transferencia de N. Es posible, por tanto, que la relación lineal observada en este tratamiento sea debida a que ambos fenómenos fueron simultáneos en el tiempo y presentaron el mismo patrón de variación. La verificación de esta hipótesis necesitaría de un estudio más exhaustivo del proceso de discriminación interna de la planta y del análisis de sus variaciones temporales.

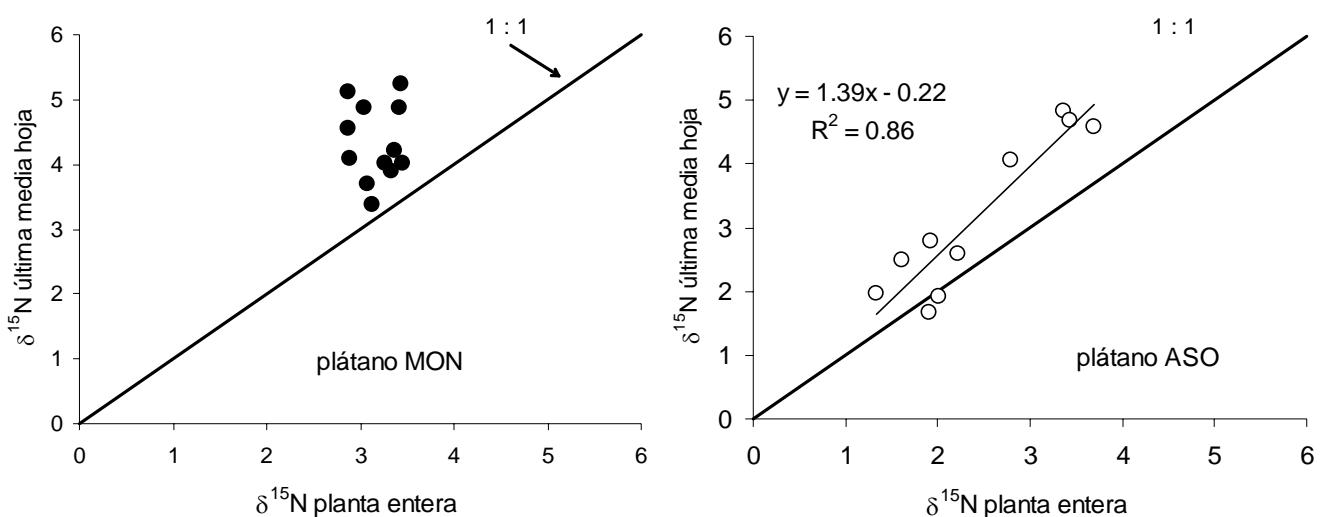


Figura 3. Relación entre el $\delta^{15}\text{N}$ de la última media hoja del plátano y el $\delta^{15}\text{N}$ de la planta entera. MON, plátano creciendo solo; ASO, plátano asociado a canavalia

A pesar de estos inconvenientes, los resultados hallados en ASO demuestran que la estimación de la transferencia de N en condiciones de campo podría ser encadrada con un indicador de fácil obtención. Indudablemente, la calibración a campo del indicador es necesaria antes de su utilización en un trabajo de diagnóstico. Teniendo en cuenta que el $\delta^{15}\text{N}$ del suelo y la discriminación durante la mineralización son variables a considerar, la calibración debería ser realizada para cada tipo de suelo en particular.

CONCLUSIONES

El método de la abundancia natural ^{15}N mostró ser un instrumento fiable y sensible para determinar la transferencia de N durante el ciclo de la leguminosa. Las dificultades halladas para estimar con este método el efecto de abono verde ya fueron descritas anteriormente, lo que sugiere que se trata de un fenómeno general, y no de una particularidad de la especie leguminosa o del suelo estudiado en este trabajo. Una combinación entre la abundancia natural ^{15}N y el método de las diferencias aparece entonces como la mejor aproximación para cuantificar el efecto total de la leguminosa.

Los objetivos de este trabajo implicaban un estudio en condiciones controladas, en donde las raíces de las dos especies tuviesen el máximo contacto. Esto produjo colateralmente una fuerte competición por los recursos del suelo que indujeron, excepto el efecto de abono verde, un bajo nivel de transferencia de N en términos absolutos. Es indudable que el interés agronómico de la transferencia y utilización del N transferido debe ser determinado en el campo. Para ello, el indicador presentado en este estudio puede revelarse de gran utilidad. Asimismo, los resultados del efecto del abono verde sobre la nutrición fosforada del plátano, deberían ser tenidos en cuenta en futuras experimentaciones para cuantificar adecuadamente los beneficios y eventuales procesos de competición entre las especies.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el *Département Environnement et Agronomie* del INRA (Francia). Agradecemos a D. Daudin por la colaboración en el diseño y montaje de los experimentos, y a S.A. Sophie y F. Solvar por el excelente apoyo técnico durante las experimentaciones.

REFERENCIAS

- España, M., Cabrera-Bisbal, E. y López, M. Study of nitrogen fixation by tropical legumes in acid soil from Venezuelan savannas using N-15. *Interciencia*, 2006, vol. 31, p. 197-201.
- Kass, D.C.L., Sylvester-Bradley, R. y Nygren, P. The role of nitrogen fixation and nutrient supply in some agroforestry systems of the Americas. *Soil Biology and Biochemistry*, 1997, vol. 29, p. 775-785.
- Høgh-Jensen, H. The nitrogen transfer between plants: an important but difficult flux to quantify. *Plant and Soil*, 2006, vol. 282, p. 1-5.
- Høgh-Jensen, H. y Schjoerring, J. K. Below-ground nitrogen transfer between different grassland species: direct quantification by ^{15}N leaf feeding compared with indirect dilution of soil ^{15}N . *Plant and Soil*, 2000, vol. 227, p. 171-183.
- Sierra, J y Nygren, P. Transfer of N fixed by a legume tree to the associated grass in a tropical silvopastoral system. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, vol. 38, p. 1893-1903.
- Høgh-Jensen, H. y Schjoerring, J.K. Measurement of biological dinitrogen fixation in grassland: comparison of the enriched ^{15}N dilution and the natural ^{15}N abundance methods at different nitrogen application rates and defoliation frequencies. *Plant and Soil*, 1994, vol. 166, p. 153-163.
- Hobbie, E.A., Jumpponen, A. y Trappe, J. Foliar and fungal $^{15}\text{N}:$ ^{14}N ratios reflect development of mycorrhizae and nitrogen supply during primary succession: testing analytical models. *Oecologia*, 2005, vol. 146, p. 258-268.
- Nygren, P., Cruz, P., Domenach, A. M., Vaillant, V. y Sierra, J. Influence of forage harvesting regimes on dynamics of biological dinitrogen fixation of a tropical woody legume. *Tree Physiology*, 2000, vol. 20, p. 41-48.
- Eriksen, J. y Høgh-Jensen, H. Variation in the natural abundance of ^{15}N in ryegrass/white clover shoot material as influenced by cattle grazing. *Plant and Soil*, 1998, vol. 205, p. 67-76.
- Högberg, P. ^{15}N natural abundance in soil-plant systems. *New Phytologist*, 1997, vol. 137, p. 179-203.
- ModelKinetix. *Maker 3: User Manual*. ModelKinetix. Reading, UK, 2004.
- SAS Institute. *SAS user's guide: Statistics*. SAS Inst., Cary, NC, USA, 2003.
- Motisi, N. Rôle de la litière souterraine dans le transfert d'azote dans une culture associée légumineuse herbacée -banane. Tesis de Maestría, INAPG, 2005.
- Randhawa, P. S., Condrón, L.M., Di, H. J., Sinaj, S. y McLenaghan, R. D. Effect of green manure addition on soil organic phosphorus mineralization. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2005, vol. 73, p. 181-189.
- Mariotti, A., Mariotti, F., Amarger, N., Pizelle, G., Ngambi, J. M., Champigny, M. L. y Moise, A. Nitrogen isotope fractionation during nitrate absorption and nitrogen fixation by plants. *Physiologie Végétale*, 1980, vol. 18, p. 163-181.
- Sierra, J y Nygren, P. Nitrogen transfer from a legume tree to the associated grass estimated by the isotopic signature of tree root exudates: a comparison of the ^{15}N leaf feeding and natural ^{15}N abundance methods. *European Journal of Agronomy*, 2006 (en prensa).

Recibido: 17 de noviembre de 2006

Aceptado: 22 de febrero de 2007