

# Isótopos de nitrógeno en plantas

Juan Pedro Ferrio

Dpto. Botánica, Universidad de Concepción



Universidad de Concepción

*“Isotopos estables: fundamentos y aplicaciones en ciencias naturales”* 16 al 20 de enero, 2017



Universidad  
de Concepción

Dirección de  
Extensión  
UdeC



ESCUELA  
DE VERANO  
UdeC



DIRECCIÓN DE  
POSTGRADO



FONDECYT  
N° 11150914



PROGRAMA  
DOCTORADO EN  
SISTEMÁTICA  
Y BIODIVERSIDAD

DOCTORADO EN OCEANOGRAFÍA

Proyecto “Red\_Clima\_Rec”



FONDEQUIP  
EQM 150018



# Isótopos de nitrógeno en plantas

## Conceptos generales

- Fuentes de variación: sustratos y procesos
- Fijación de nitrógeno y uso de nutrientes

## Aplicaciones

- Contribución de especies fijadoras
- Experimentos de marcaje

# Principales isótopos estables en la biosfera

	Par de isótopos			
	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	$^2\text{H}(\text{D})/^1\text{H}$
Estándar	PDB <sup>b</sup>	N <sub>2</sub> aire	SMOW <sup>c</sup>	SMOW <sup>c</sup>
Notación	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)	$\delta^2\text{H} / \delta\text{D}$ (‰)
Abundancia (%) <sup>a</sup>	1,1	0,37	0,20	0,015

<sup>a</sup> Abundancia del isótopo pesado respecto al total del elemento

<sup>b</sup> PDB, Pee-Dee Belemnite (calcárea)

<sup>c</sup> SMOW, Standard Mean Ocean Water

# Métodos de análisis ( $^{15}\text{N}$ )



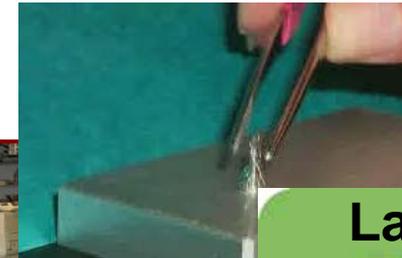
Materia  
Orgánica



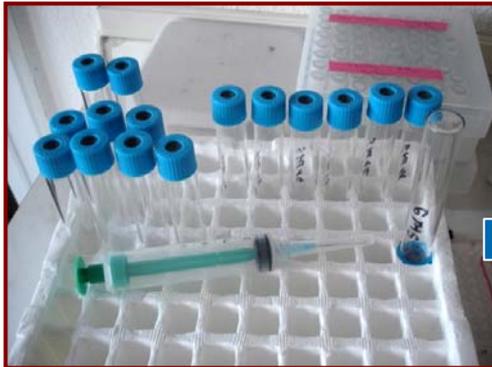
Homogeneizado /  
Extracción compuestos



Encapsulado  
y combustión (EA)



Muestreo  $\text{N}_2$



Inyección



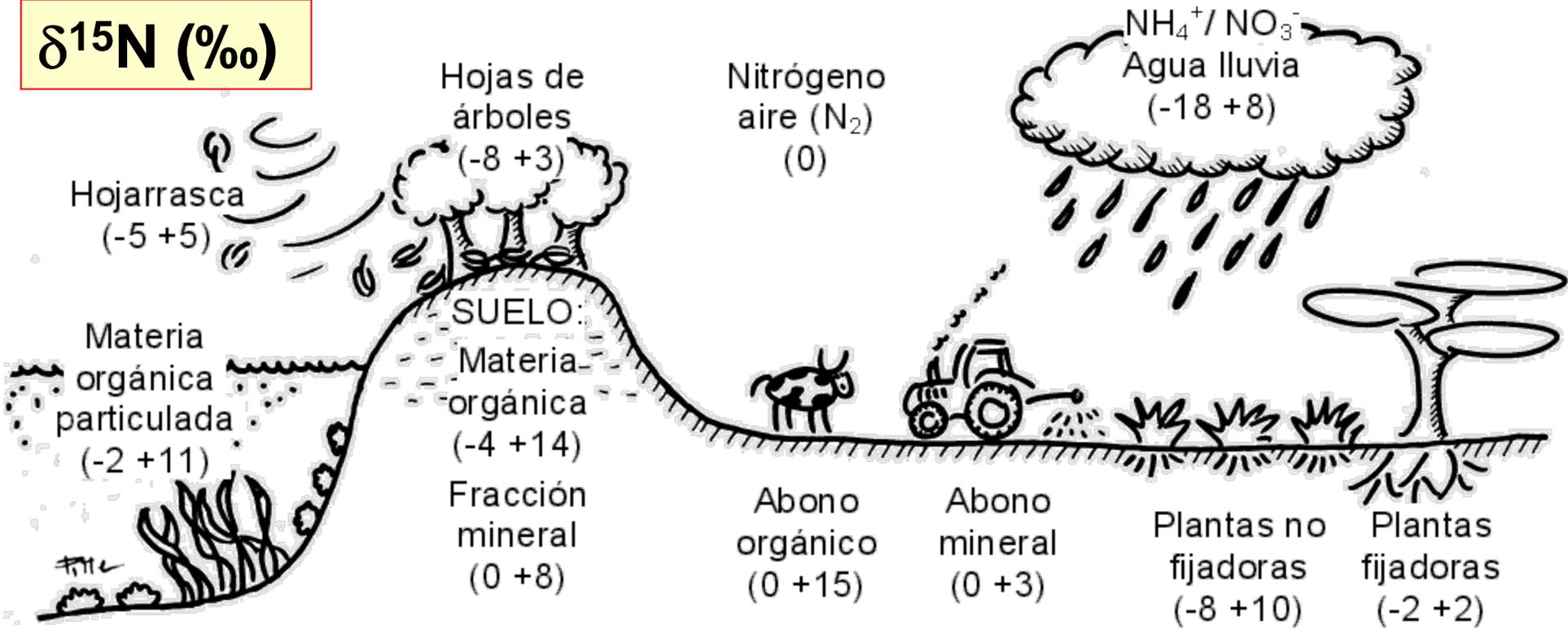
IRMS

Laser (IRIS)



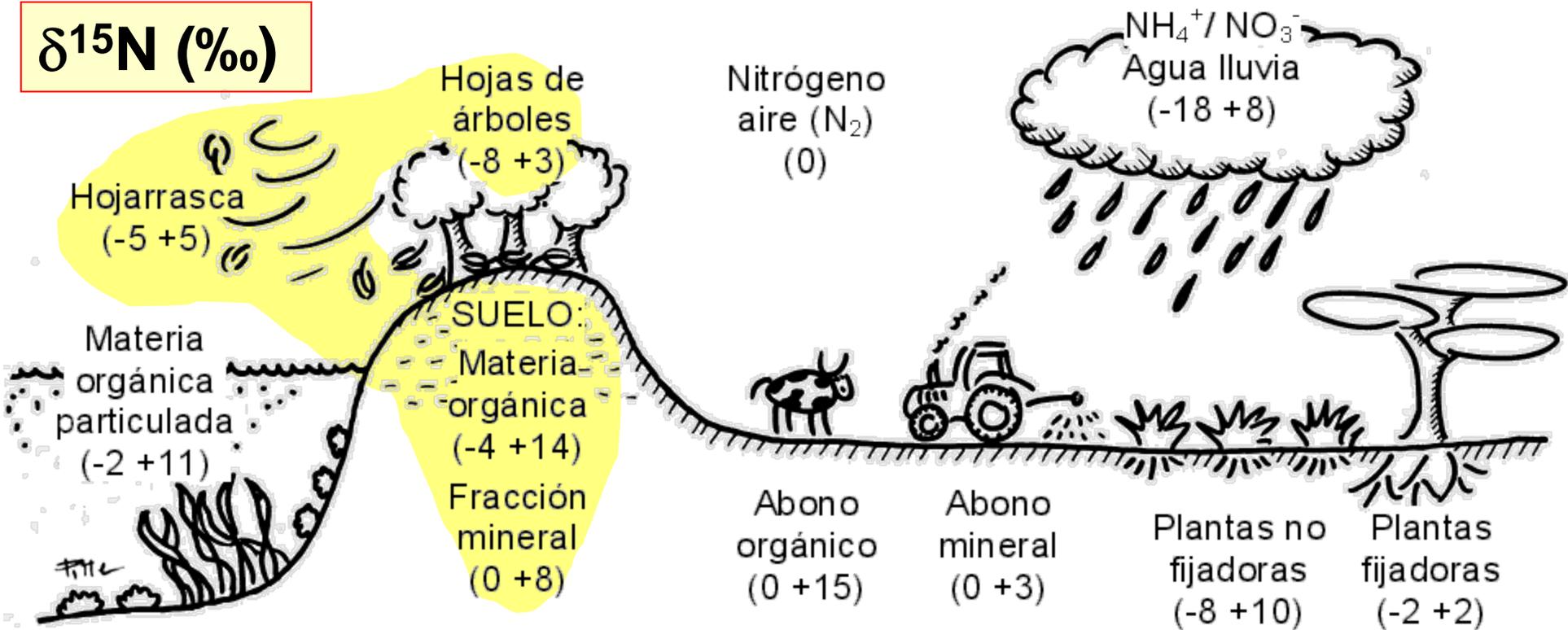
# Isótopos de nitrógeno en plantas

$\delta^{15}\text{N}$  (‰)



# Isótopos de nitrógeno en plantas

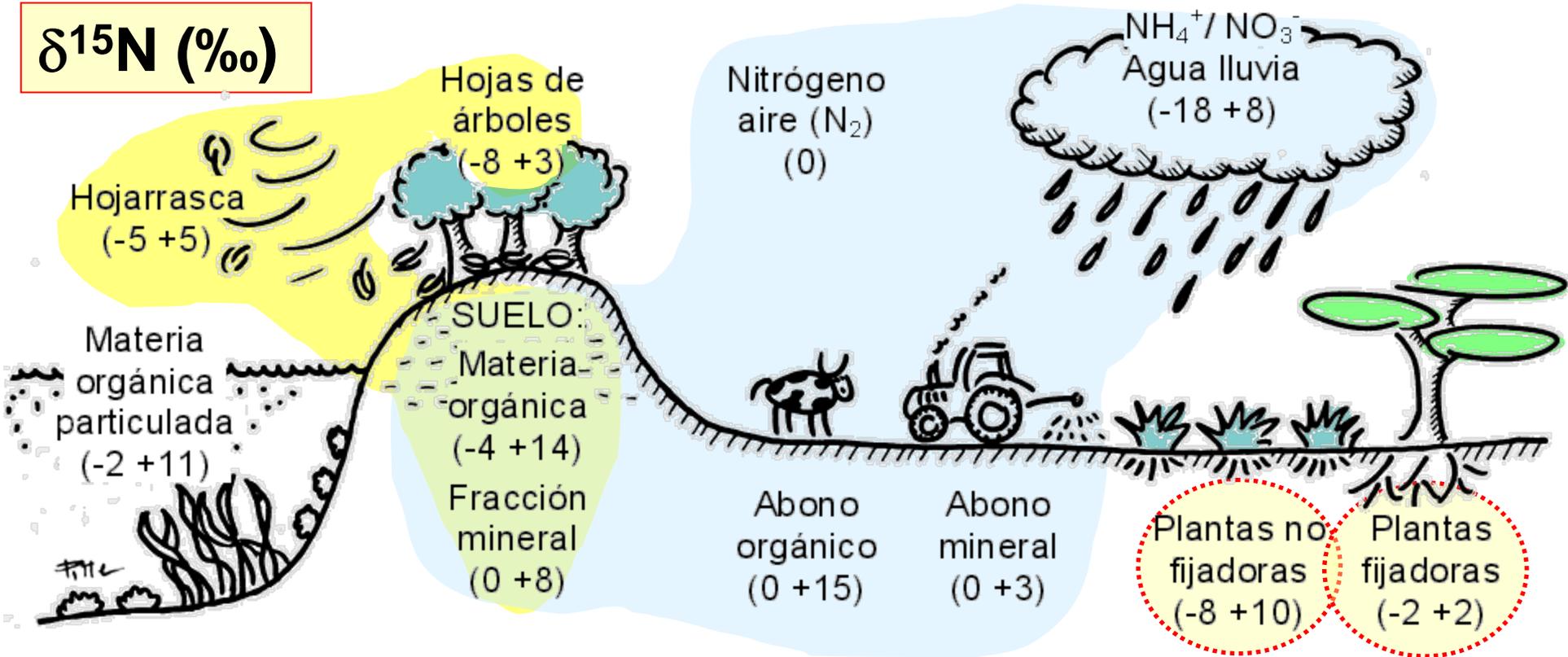
$\delta^{15}\text{N}$  (‰)



- $\delta^{15}\text{N}$  (‰) varía durante el ciclo del nitrógeno

# Isótopos de nitrógeno en plantas

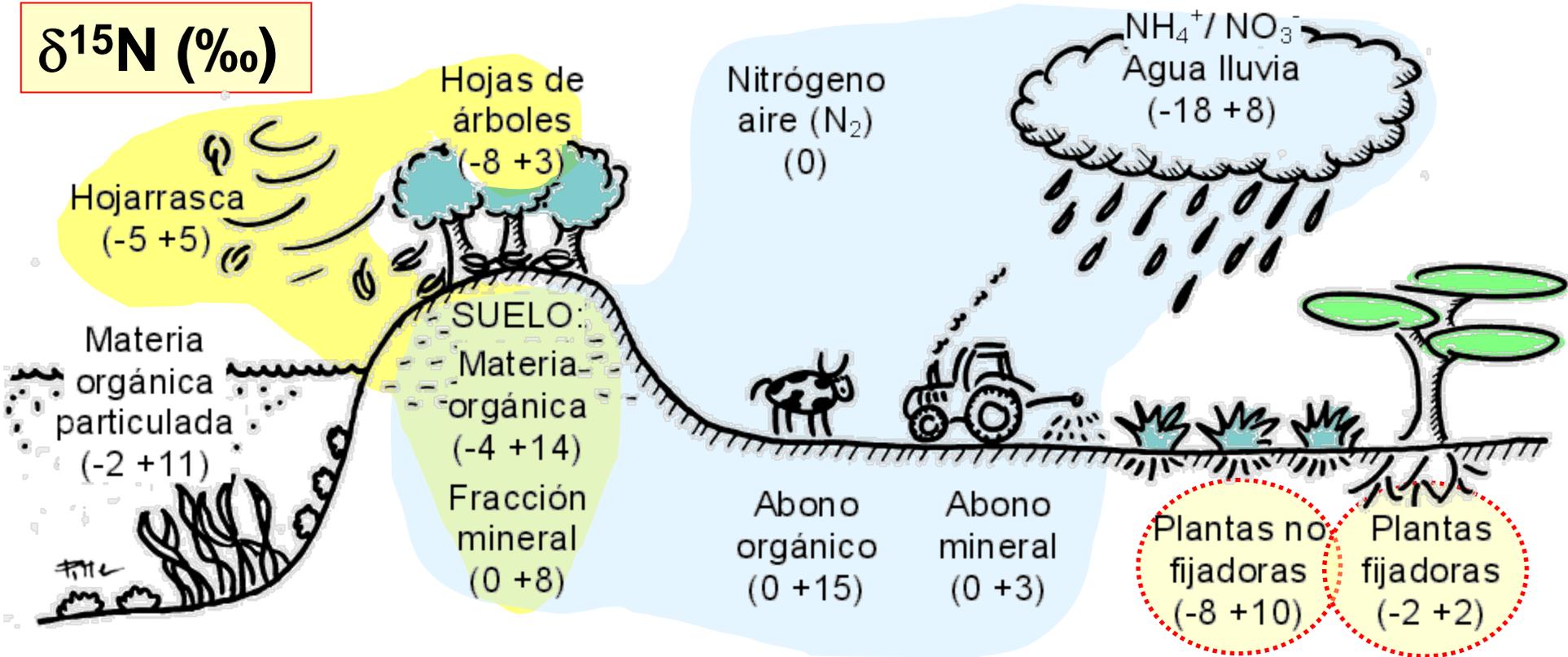
$\delta^{15}\text{N}$  (‰)



- $\delta^{15}\text{N}$  (‰) varía durante el ciclo del nitrógeno
- Fuente de nitrógeno (orgánico enriquecido)

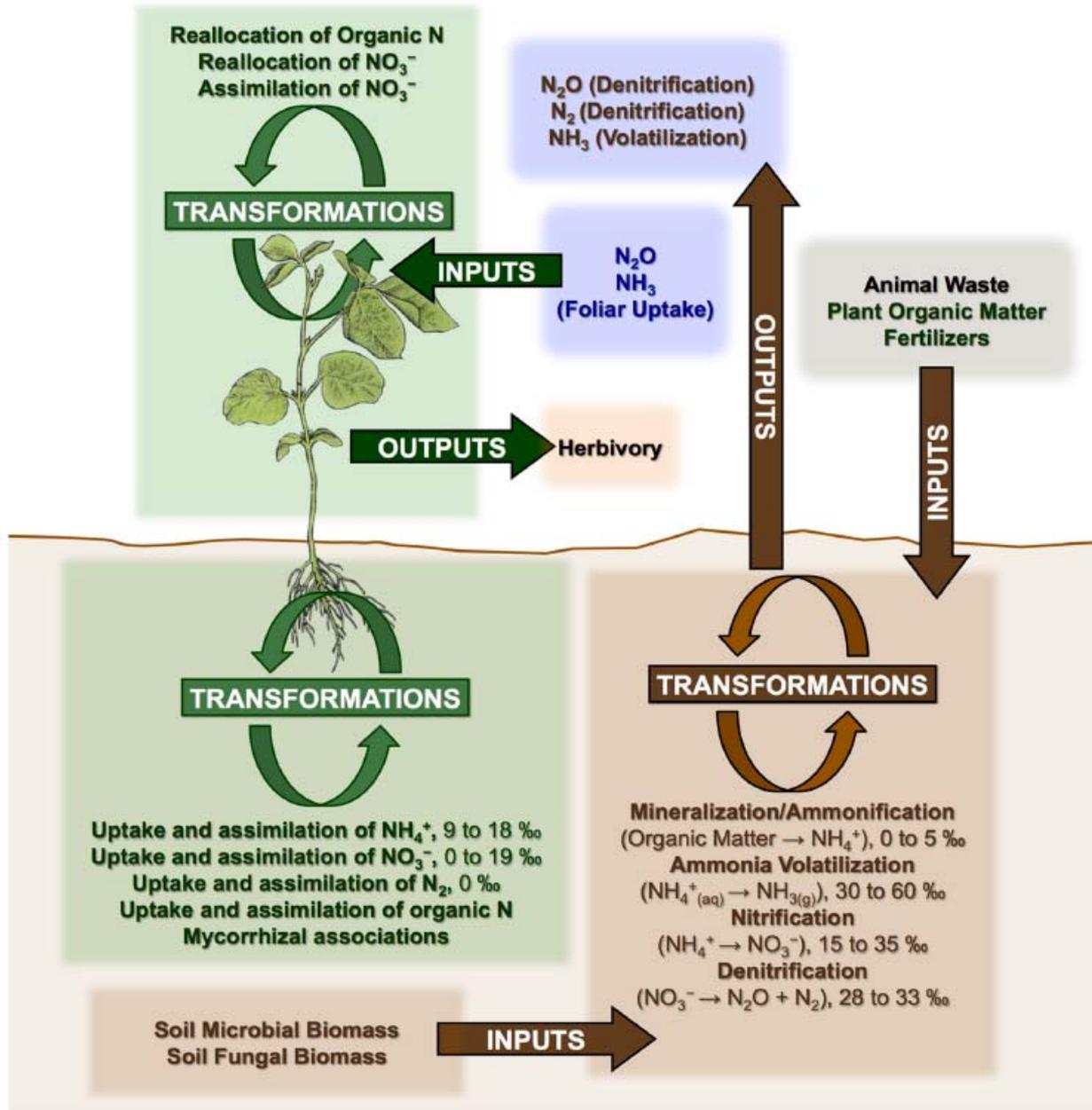
# Isótopos de nitrógeno

$\delta^{15}\text{N}$  (‰)

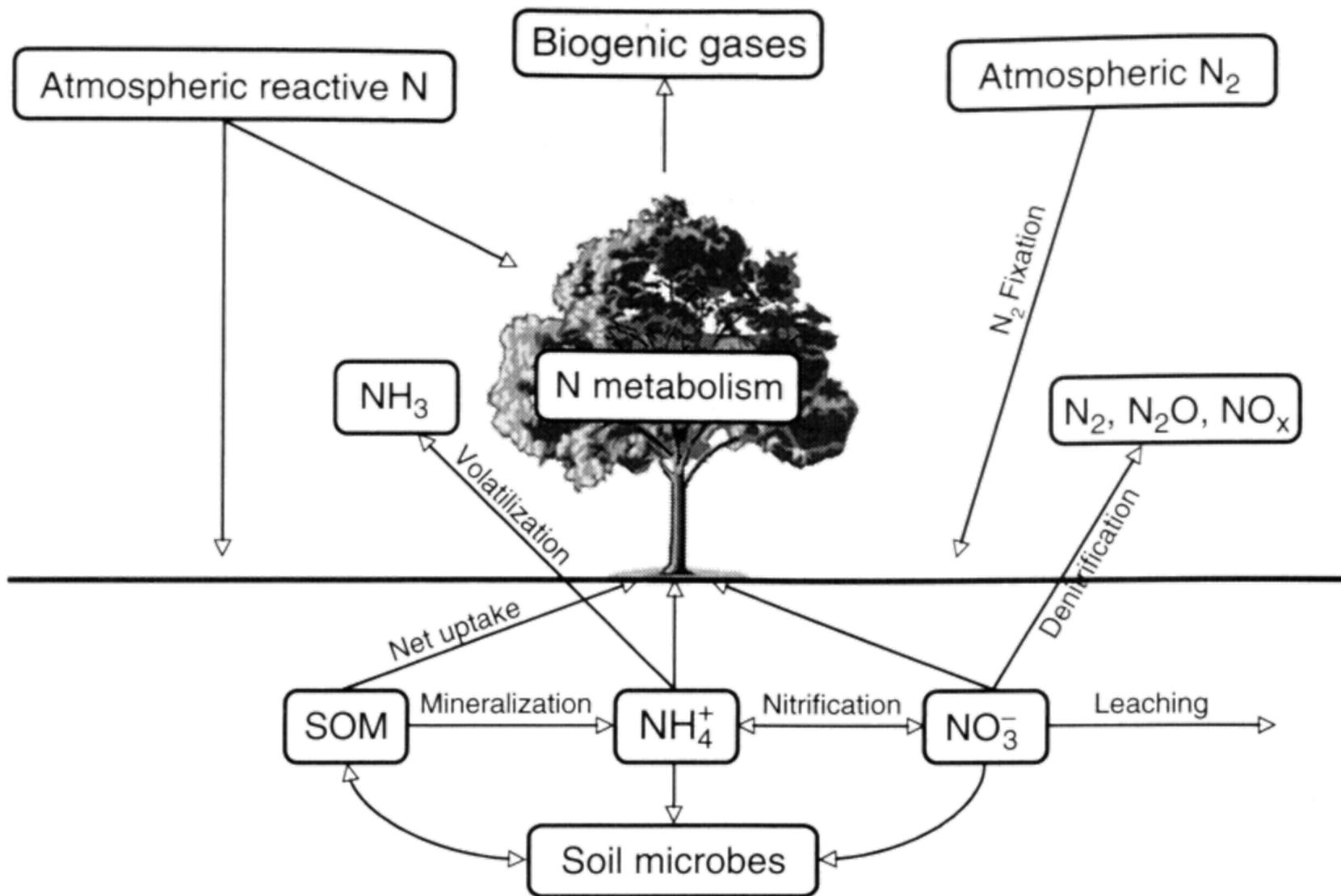


- $\delta^{15}\text{N}$  (‰) varía durante el ciclo del nitrógeno
- Fuente de nitrógeno (orgánico enriquecido)
- Fraccionamiento durante la asimilación

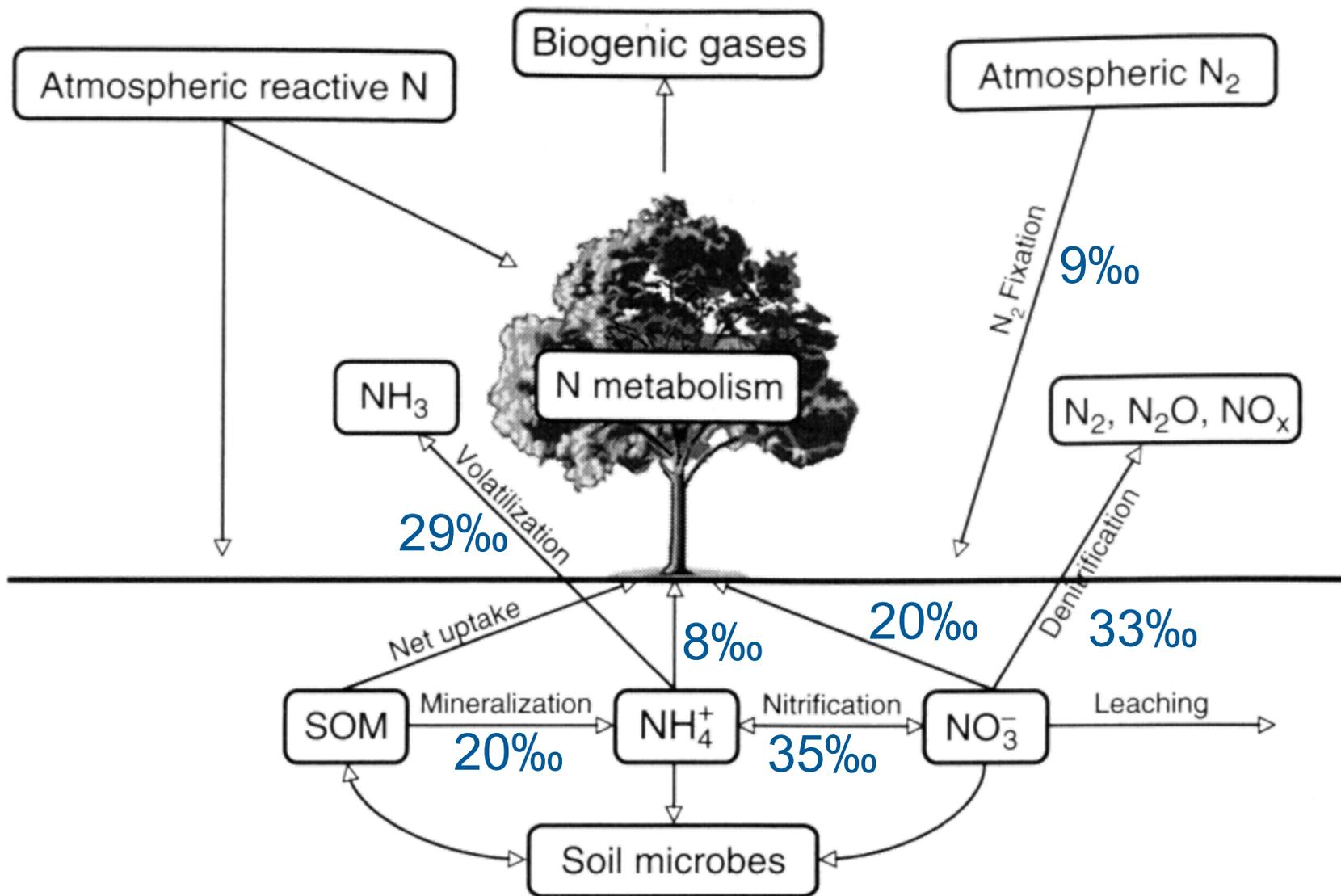
# Ciclo del Nitrógeno y $\delta^{15}\text{N}$ en plantas



# Ciclo del Nitrógeno y $\delta^{15}\text{N}$ en plantas



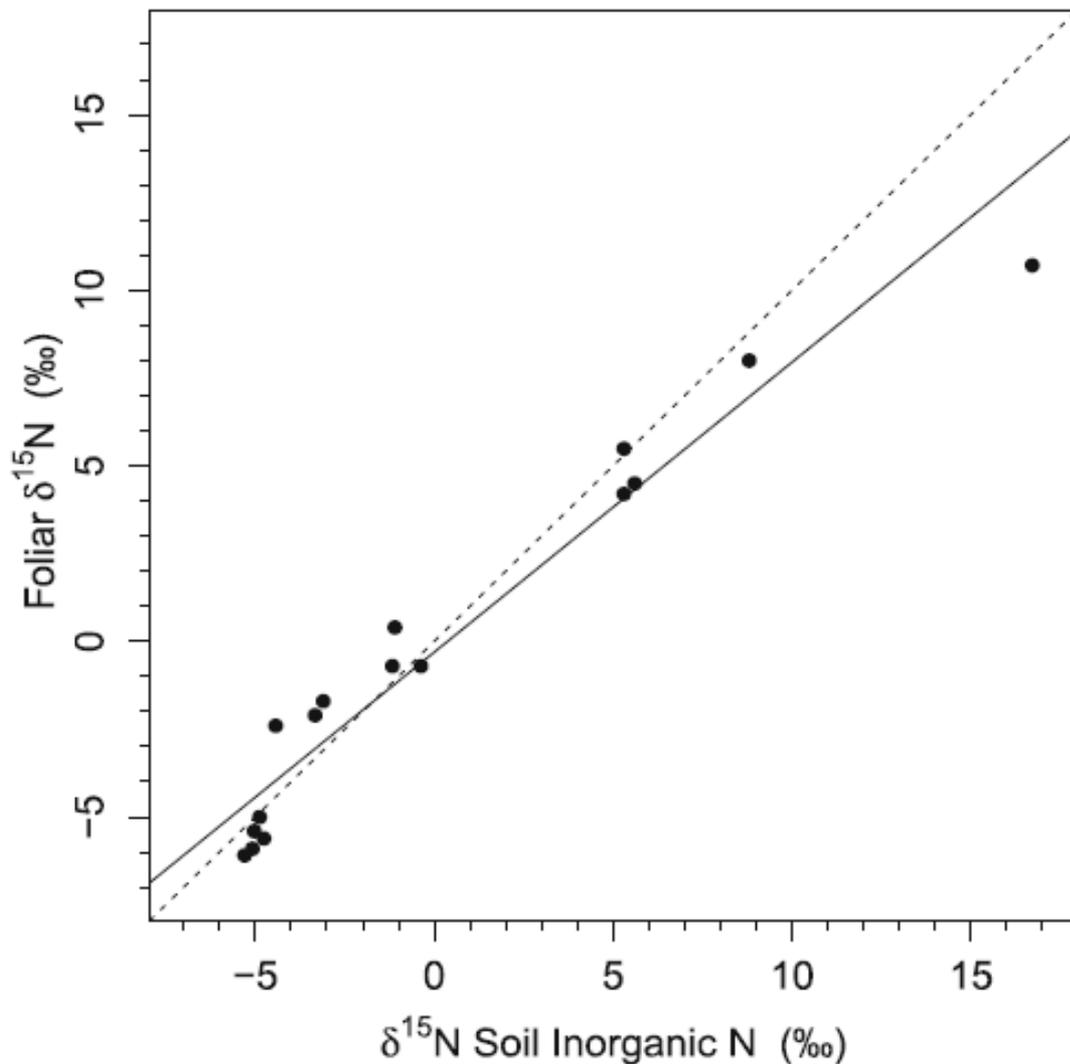
# Ciclo del Nitrógeno y $\delta^{15}\text{N}$ en plantas



# Fuentes de variación de $\delta^{15}\text{N}$ en plantas

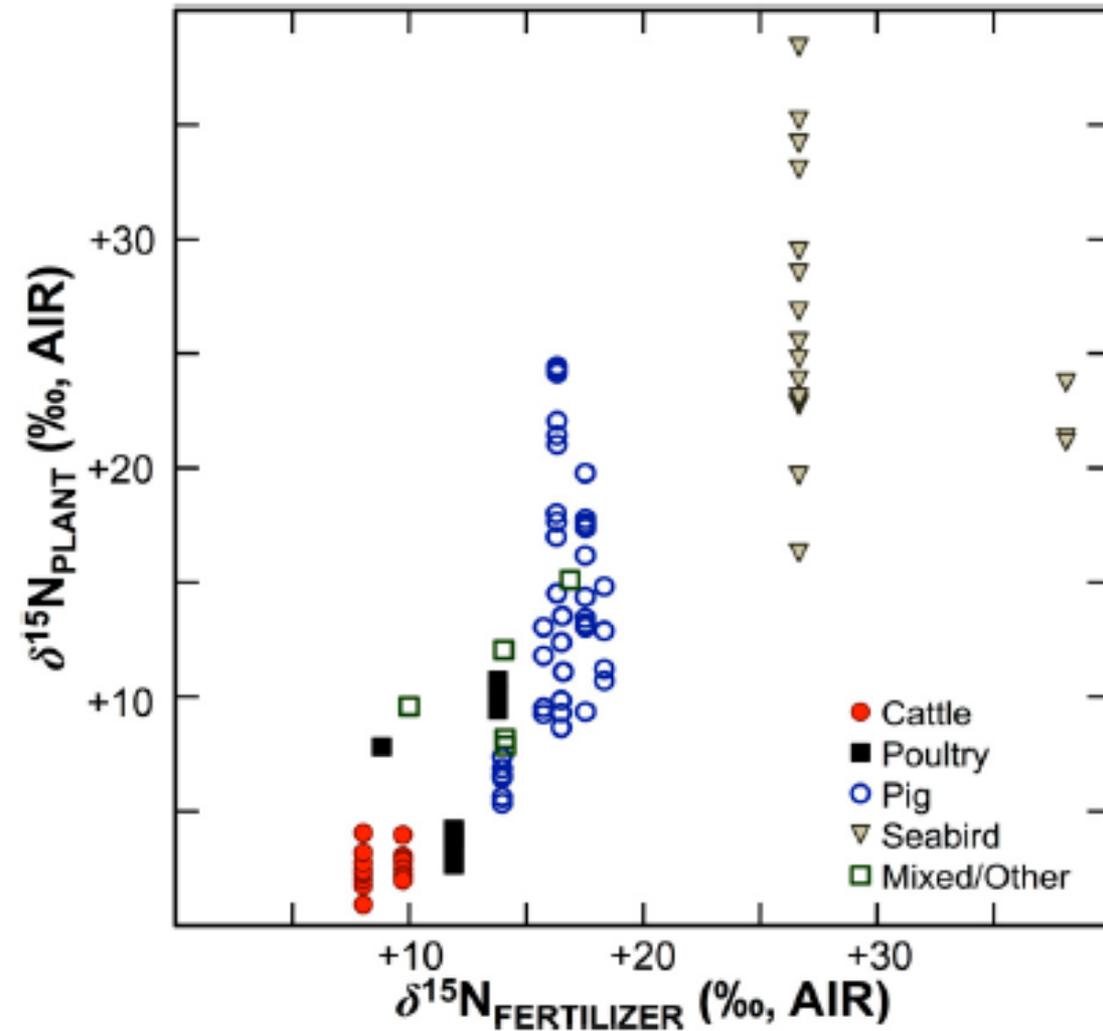
- **Fuente de nitrógeno**
  - $\text{N}_2$ ,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$ , SOM
  - Pérdidas de nitrógeno en el suelo
    - mayor pérdida, mayor enriquecimiento
- **Fraccionamiento durante la asimilación**
  - Concentración en el suelo
    - mayor concentración, mayor discriminación
  - Presencia de micorrizas

# Plantas usan sobretodo N mineral



**Fig. 3** Relationship between  $\delta^{15}\text{N}$  of soil inorganic nitrogen and foliage  $\delta^{15}\text{N}$ . Data derived from multiple sources (Boddey et al. 2000; Cheng et al. 2010; Garten and Van Miegroet 1994; Pate et al. 1993; Takebayashi et al. 2010). When  $\delta^{15}\text{N}$  of soil inorganic nitrogen was not provided in the reference, it was calculated as the mean value of  $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$  and  $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ , weighed by the size of these two N pools. Shown are the orthogonal fit (solid line;  $y=1.35+1.05x$ ; 95% CI for slope=0.69–1.62,  $r=0.74$ ,  $P<0.001$ ). Identity line is shown dashed

# Plantas usan sobretodo N mineral



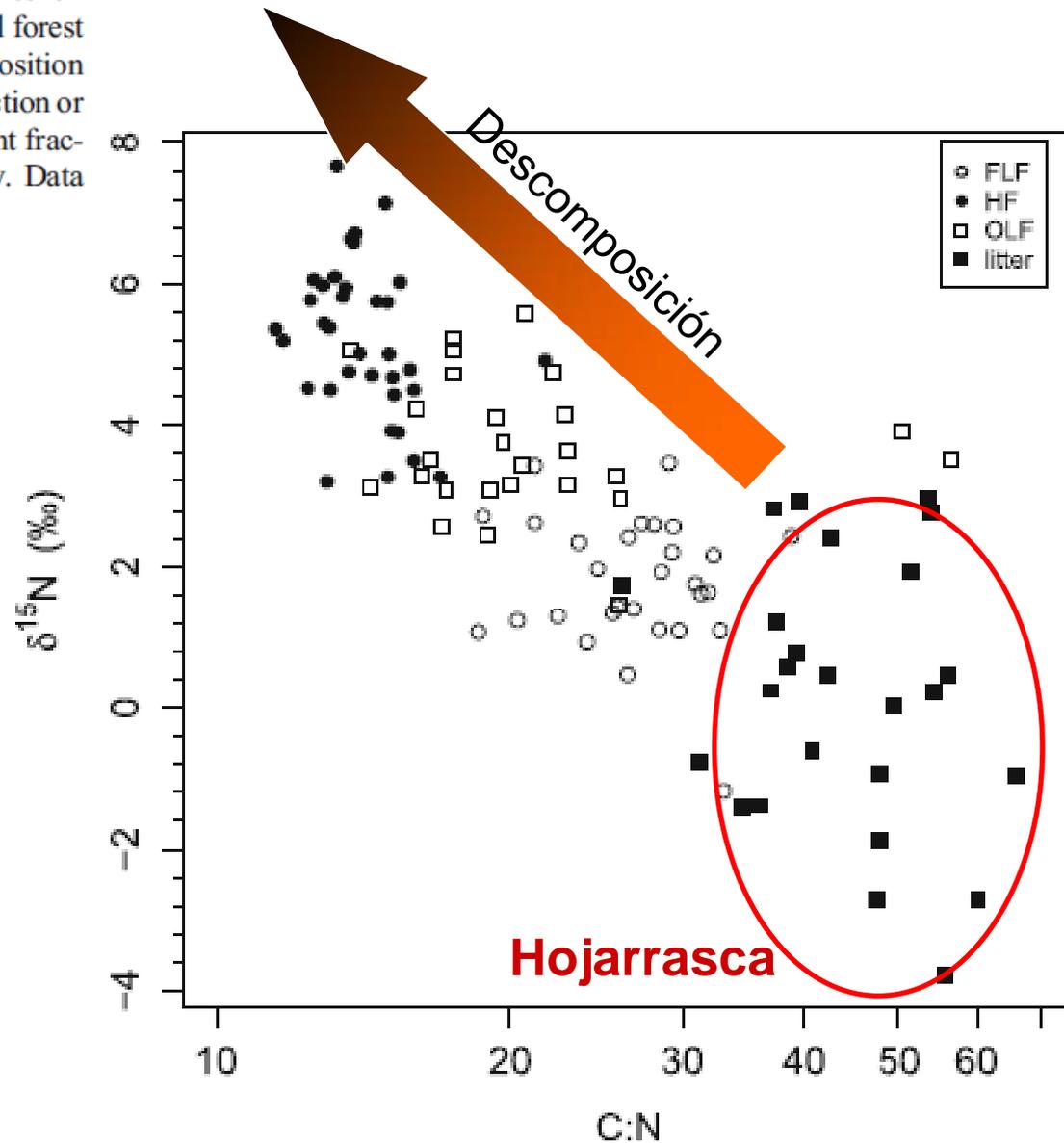
La señal no es directa:  
Múltiples transformaciones

# De la hojarrasca a la fracción orgánica

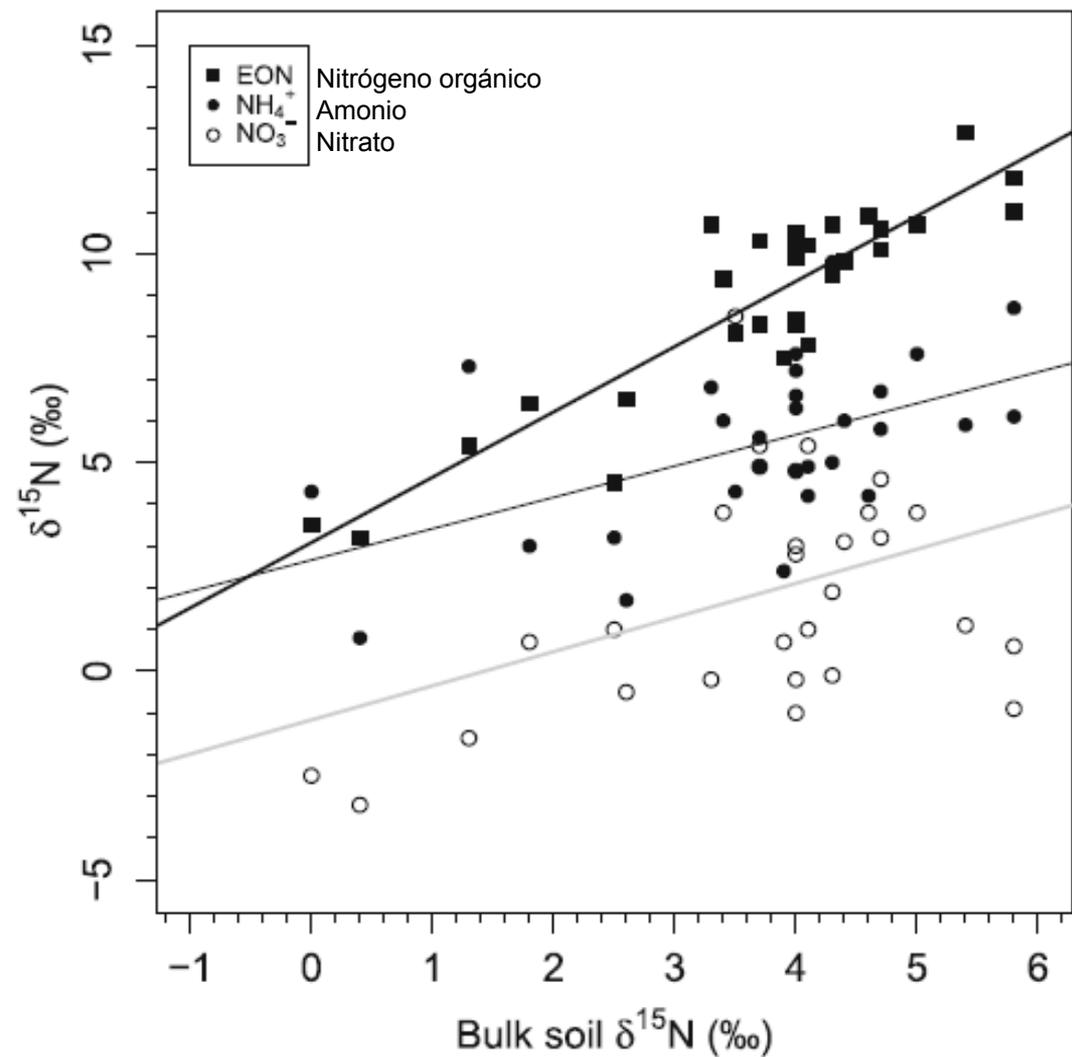
Fig. 5 Patterns in  $\delta^{15}\text{N}$  and C:N concentrations of leaf litter and SOM physical density fractions across forests and pastures on highly-weathered Oxisols (0–10 cm) in the wet subtropical forest life zone of Puerto Rico. The degree of microbial decomposition generally increases from plant litter, Free LF (FLF; light fraction or particulate organic matter); occluded or intra-aggregate light fraction (OLF); and heavy fraction (HF; > 1.85 g/ml density). Data from Marín-Spiotta (2008)

**Carbono ( $\text{CO}_2$ ) se pierde más rápido que nitrógeno**

**Durante el proceso la  $\delta^{15}\text{N}$  se vuelve más positiva (enriquecimiento)**



# De la fracción orgánica a la mineral



**Fig. 2** Relationship between bulk soil  $\delta^{15}\text{N}$  and the  $\delta^{15}\text{N}$  of organic N (*closed squares*),  $\text{NH}_4^+$  (*closed circles*), and  $\text{NO}_3^-$  (*open circles*) across a range of soil depths from a subtropical forest in China (Koba et al. 2010). Each point represents a value derived from a particular soil depth (O horizon-100 cm) from three different locations within the forest

Orgánico  
a mineral

# Efecto de las micorrizas en $\delta^{15}\text{N}$

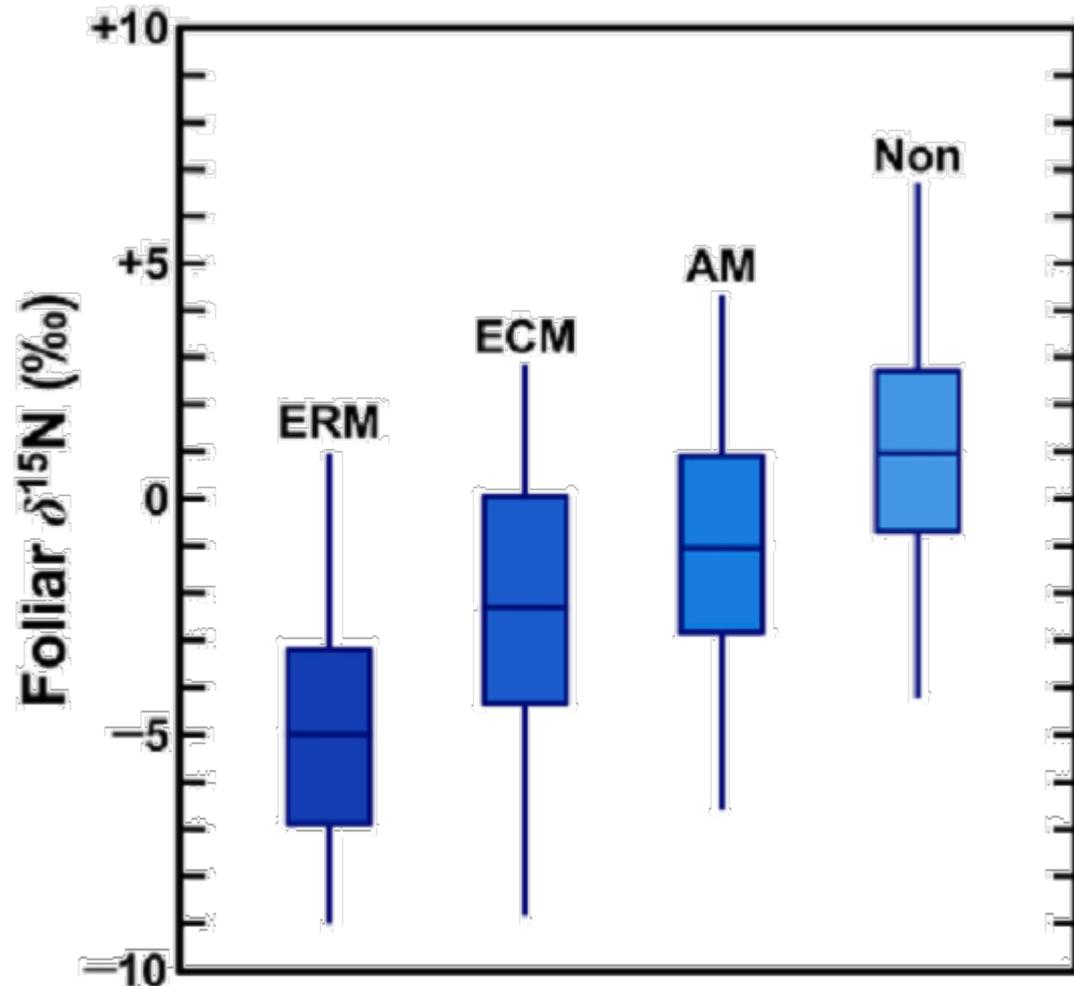
**FIGURE 2 | Foliar N isotopic compositions of plants according to mycorrhizal associations (Craine et al., 2009b).** Boxes represent interquartile (25–75%) ranges, bars dividing boxes represent means, vertical lines represent 95% of the data. As described in Craine et al. (2009b) data were normalized to a common temperature, precipitation, and foliar [N]. ERM, ericoid; ECM, ectomycorrhizal; AM, arbuscular; Non, non-mycorrhizal.

**ERM:** micorrizas tipo ericoide (ericáceas)

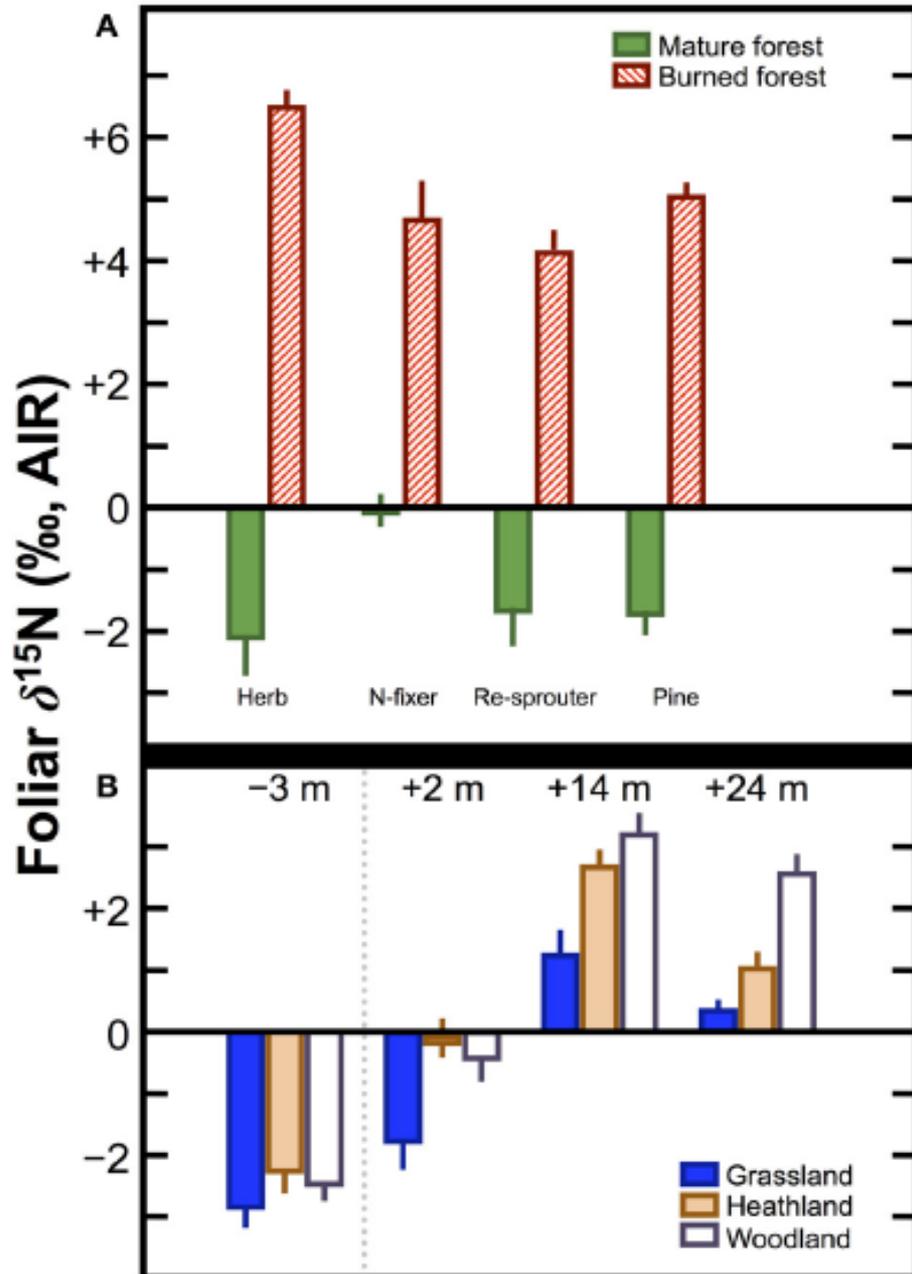
**ECM:** ectomicorrizas (fagáceas, coníferas)

**AM:** micorrizas arbusculares (gramíneas)

**Non:** sin micorrizas



# Incendios y disponibilidad de nitrógeno



**FIGURE 6 | Effects of fire on plant  $\delta^{15}\text{N}$  values. (A)** Comparisons between plants grown on mature and recently burned California pine forests (Grogan et al., 2000). **(B)** Change over time in three different Australian ecosystems following substantial wildfires. Values above indicate number of months prior to or after the wildfires. The broken vertical line separates the pre- and post-fire samples (Huber et al., 2013). In both **(A,B)** bars represent means  $\pm$  one standard deviation.

# Algunas tendencias generales

**Exceso de N en suelo conlleva pérdidas y un aumento de  $\delta^{15}\text{N}$**

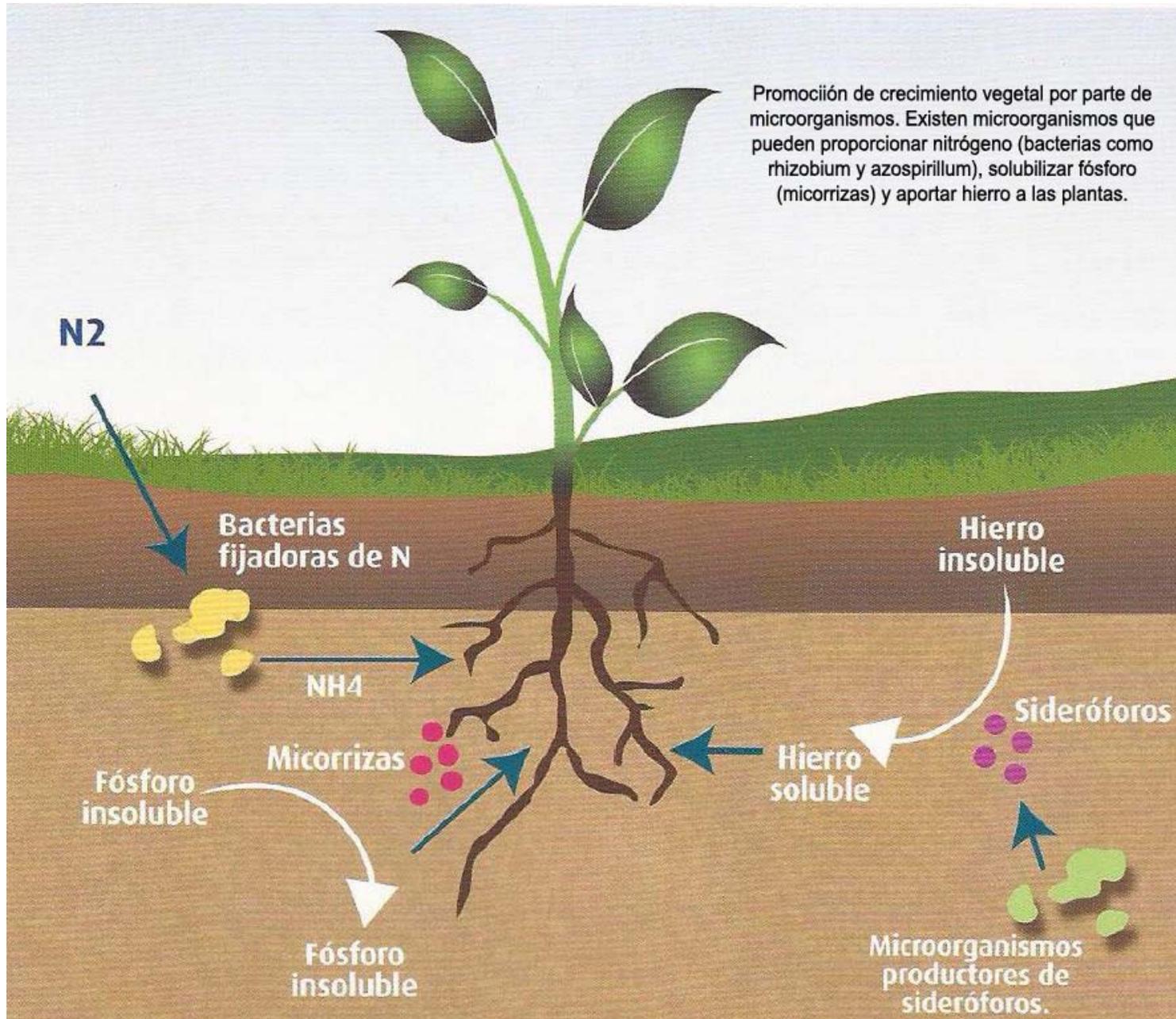
Fertilización animal: aumenta  $\delta^{15}\text{N}$

Incendio: aumenta  $\delta^{15}\text{N}$  de forma temporal

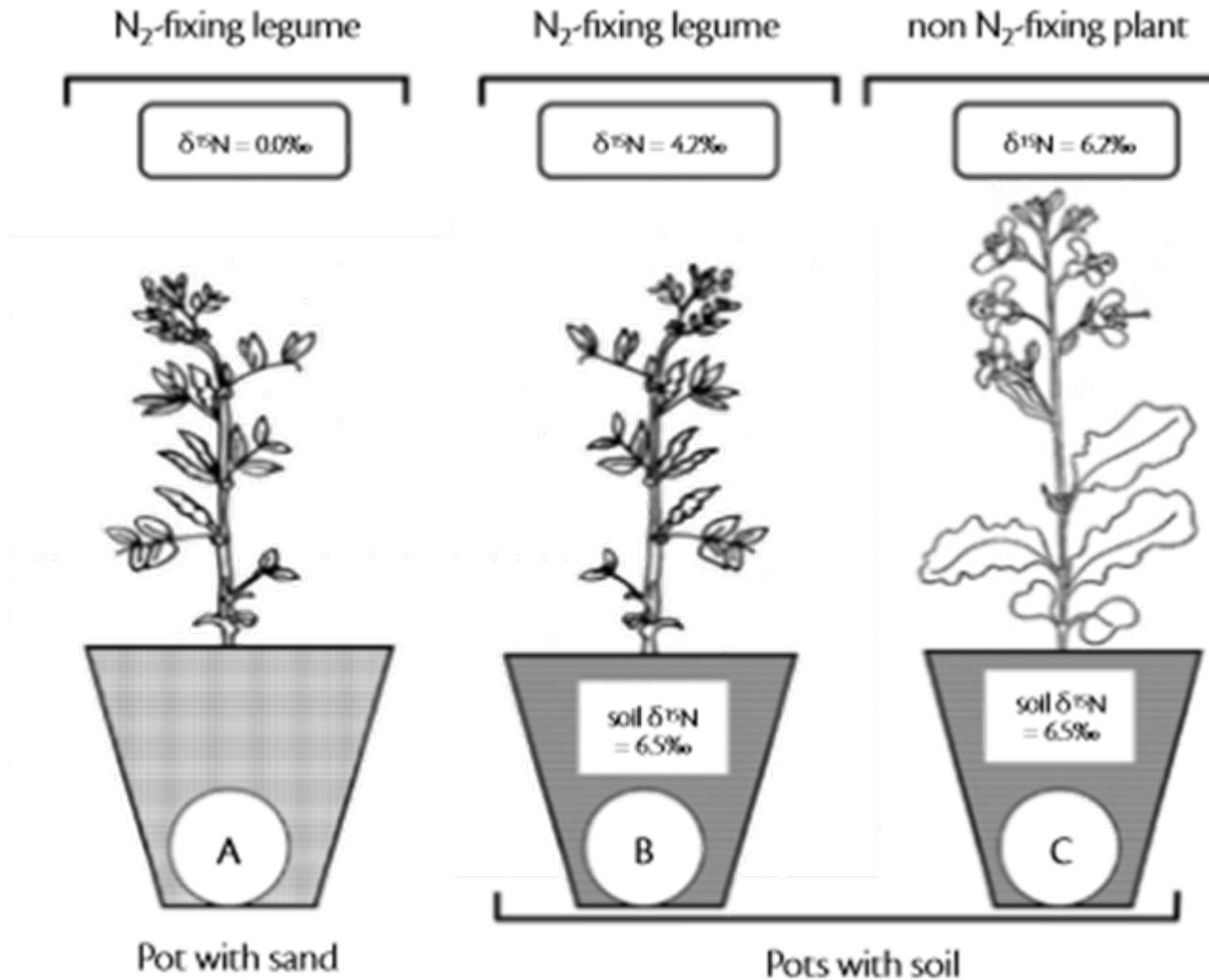
Forrageo: aumenta  $\delta^{15}\text{N}$

Micorrizas: disminuyen  $\delta^{15}\text{N}$

# Fijación de nitrógeno atmosférico



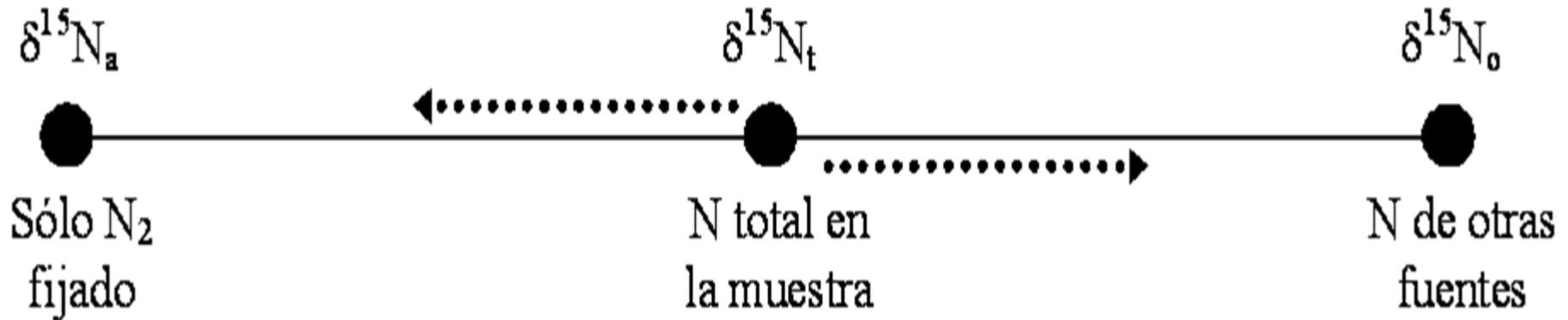
# Fijación de nitrógeno y $\delta^{15}\text{N}$



- A) Leguminosa sin nitrógeno en suelo. N planta = 100% N aire
- B) Leguminosa con nitrógeno en suelo. N planta = mezcla de N aire y N suelo
- C) No fijadora únicamente depende del suelo

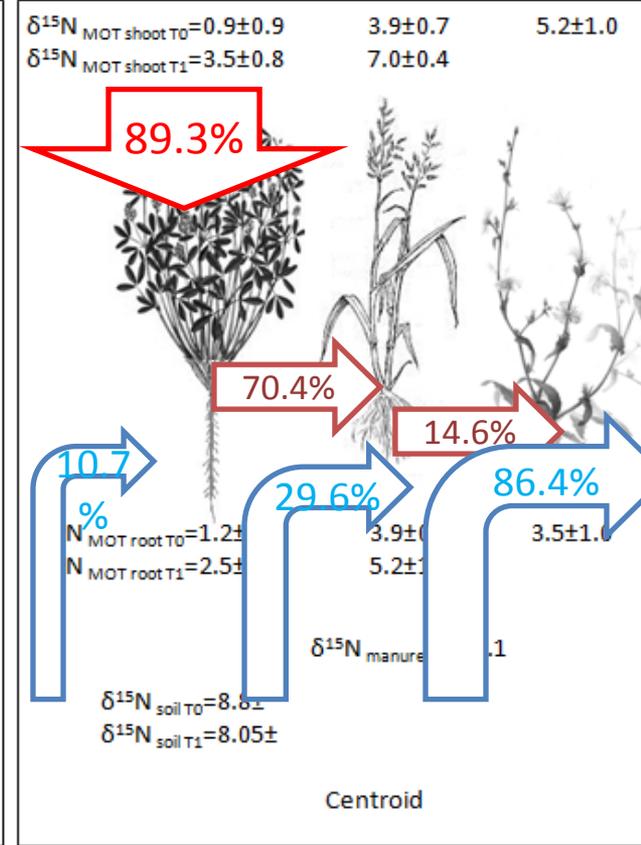
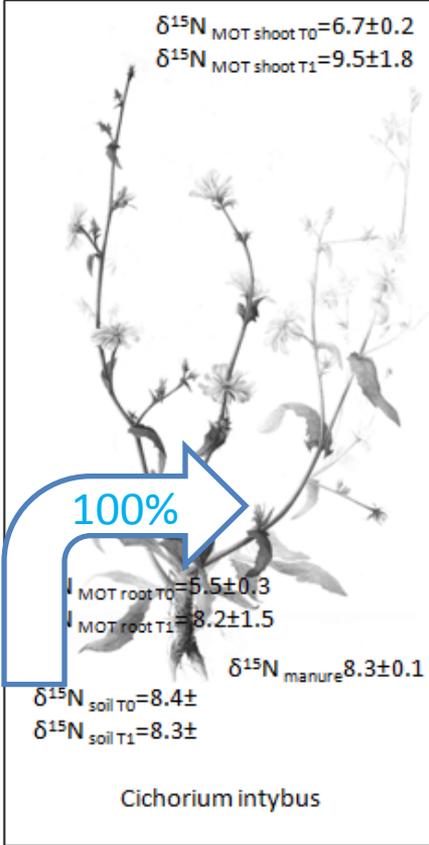
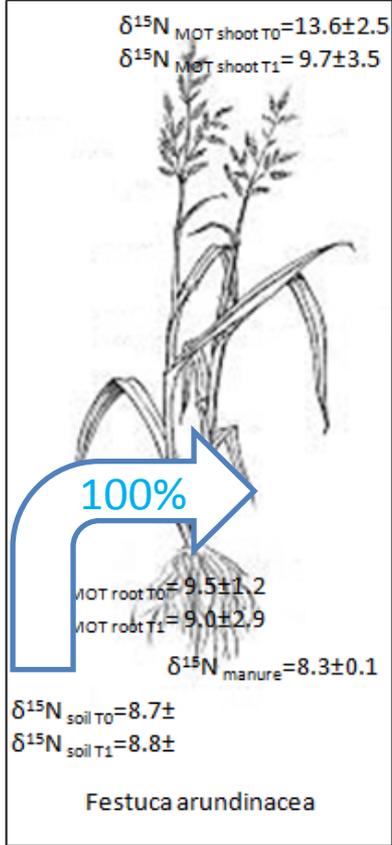
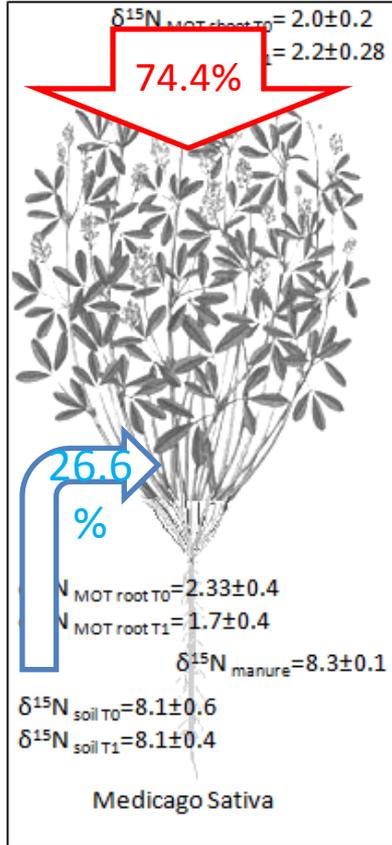
# Fijación de nitrógeno y $\delta^{15}\text{N}$

**Porcentaje de N fijado del aire**  
(abundancia natural)



TO

$\delta^{15}\text{N air} = 0$



Leguminosa

No-Leguminosa

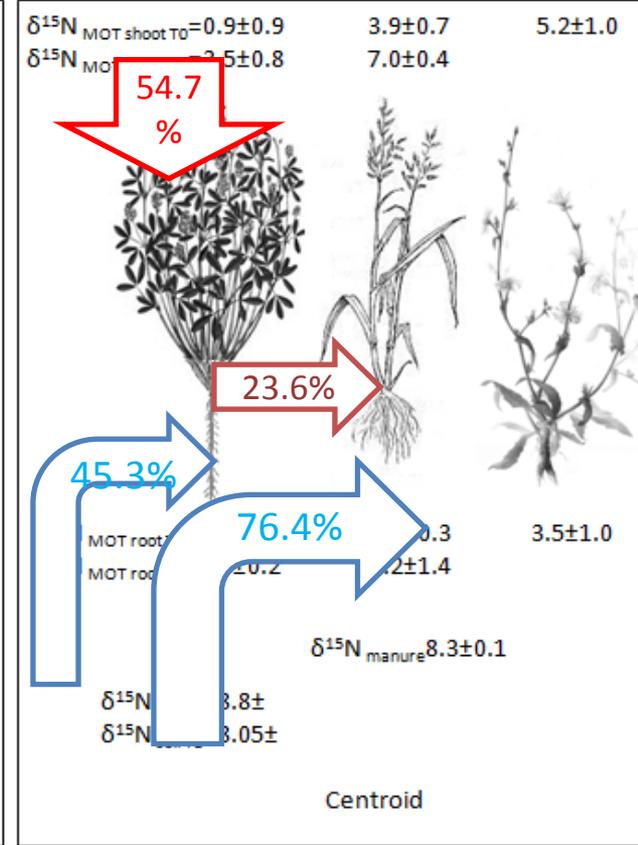
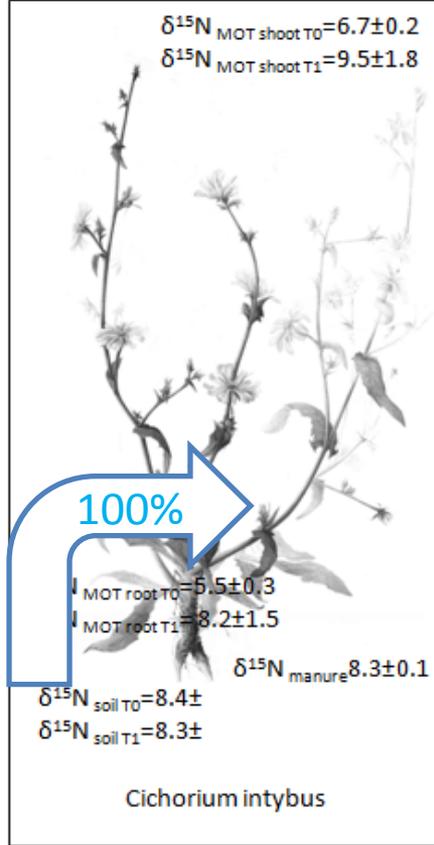
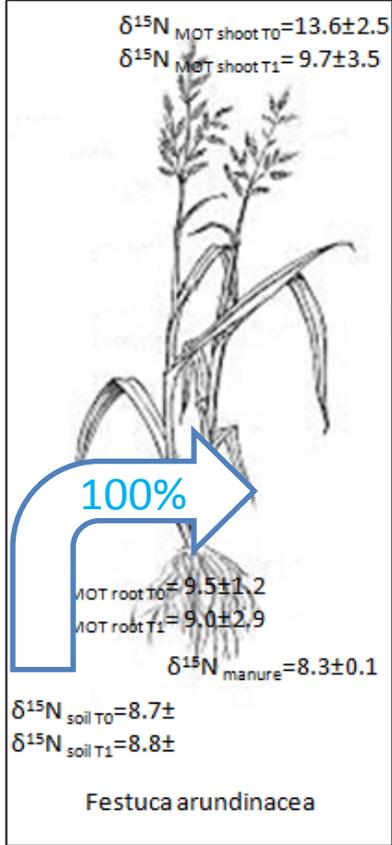
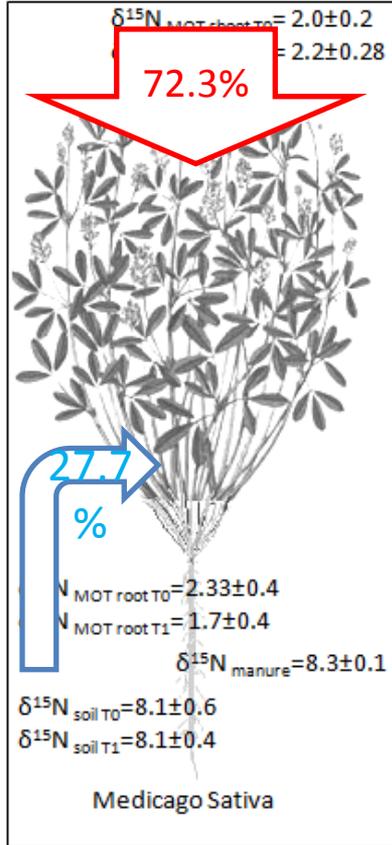
No-Leguminosa

Mezcla

Comparando los valores de no fijadoras en monocultivo o con fijadora, se puede estimar la contribución de N atmosférico aportado por la leguminosa

T1

$\delta^{15}\text{N air} = 0$



Leguminosa

No-Leguminosa

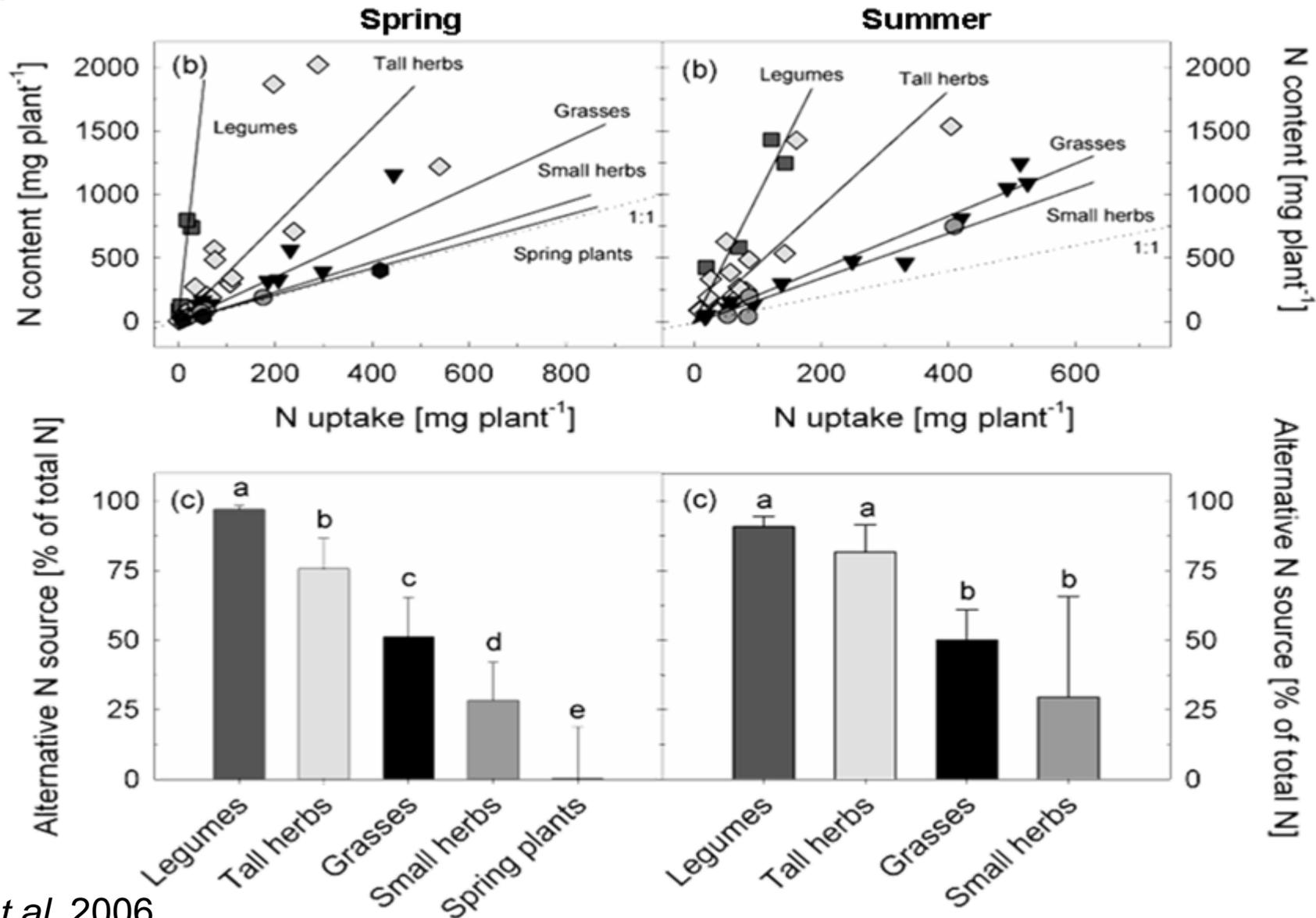
No-Leguminosa

Mixture

Tras añadir fertilización, se reduce la contribución del N atmosférico en cultivos mixtos

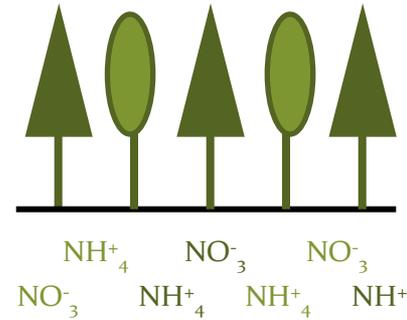
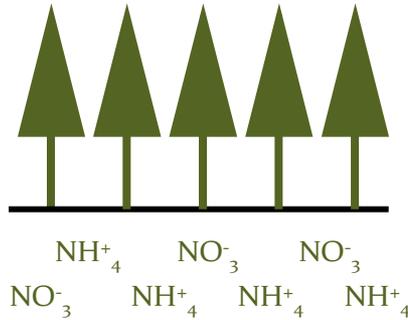
# Patrón de uso del nitrógeno

## Marcaje isotópico con abono rico en $^{15}\text{N}$

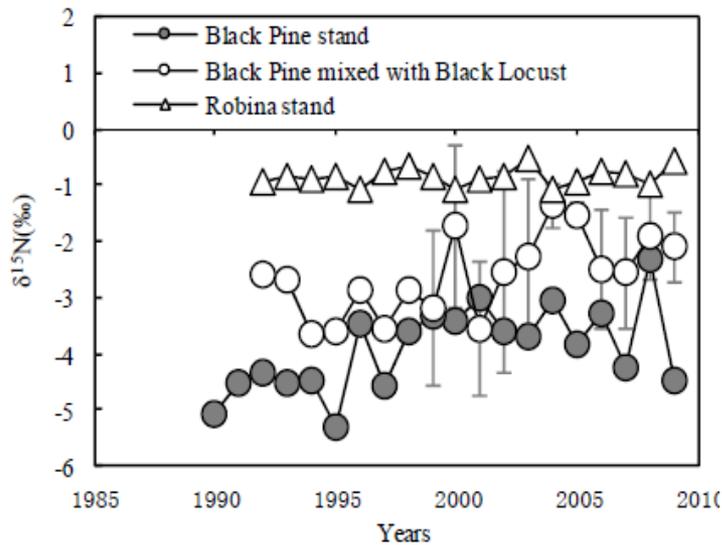




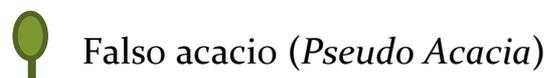
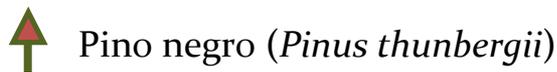
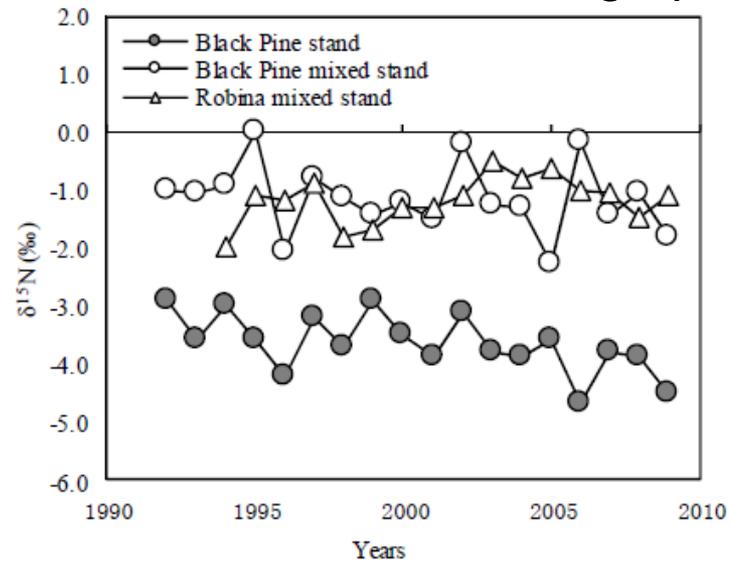
# Contribución de N de leguminosas forestales



## Establecimiento reciente



## Establecimiento a largo plazo

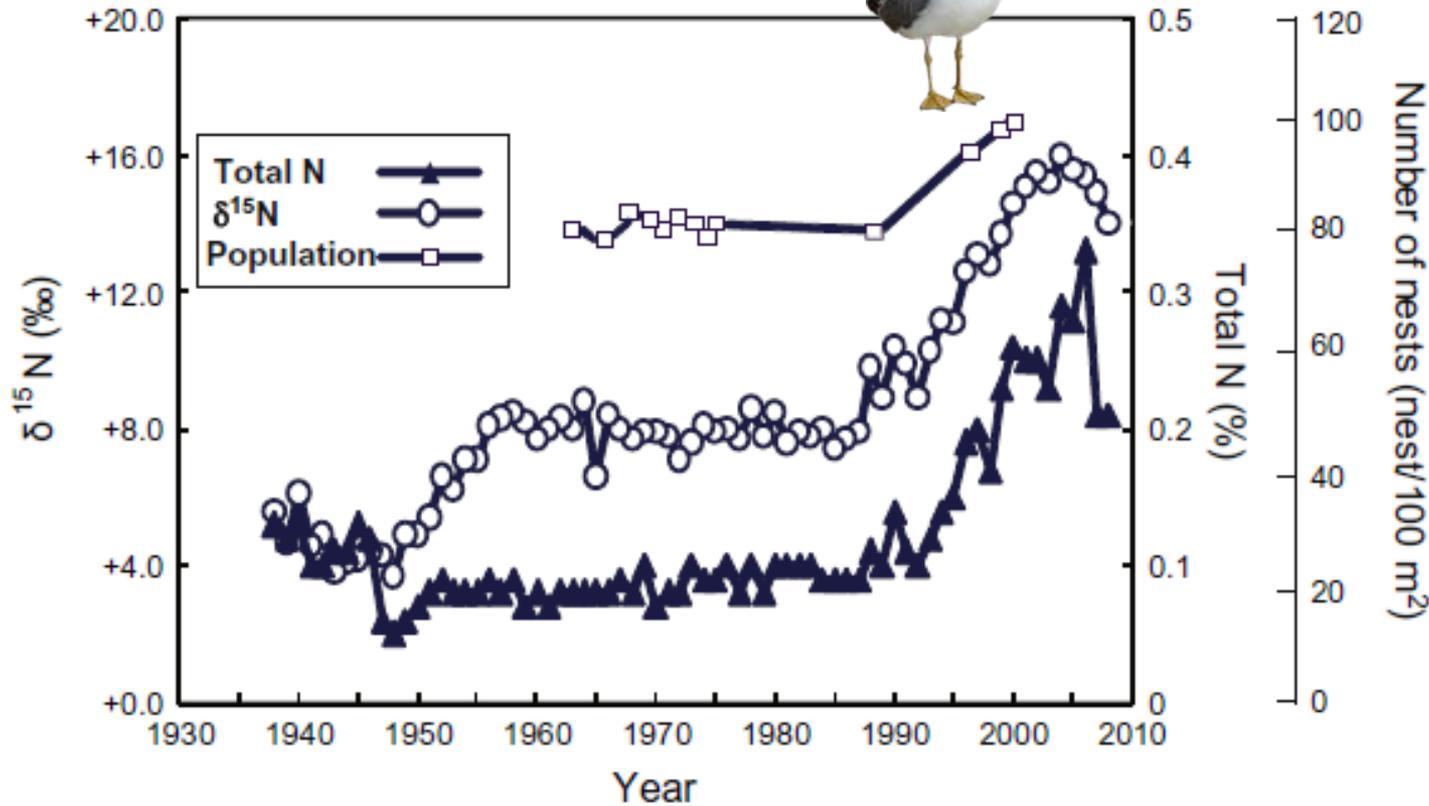


# Identificación de flujos externos de N Matsushima, Miyagi, Japan

Reciente decaimiento de los bosques en el archipiélago



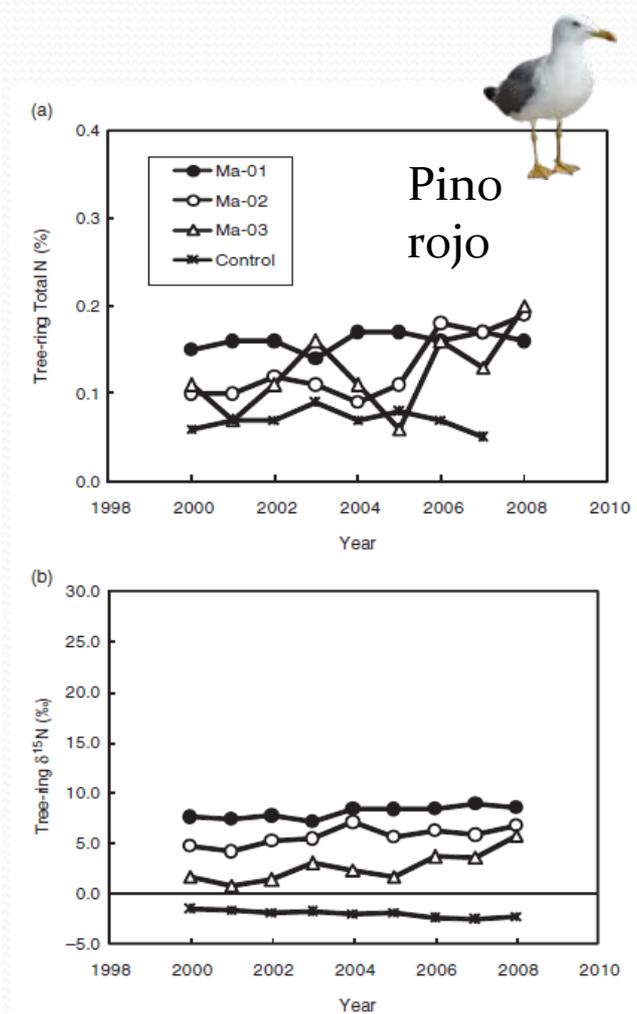
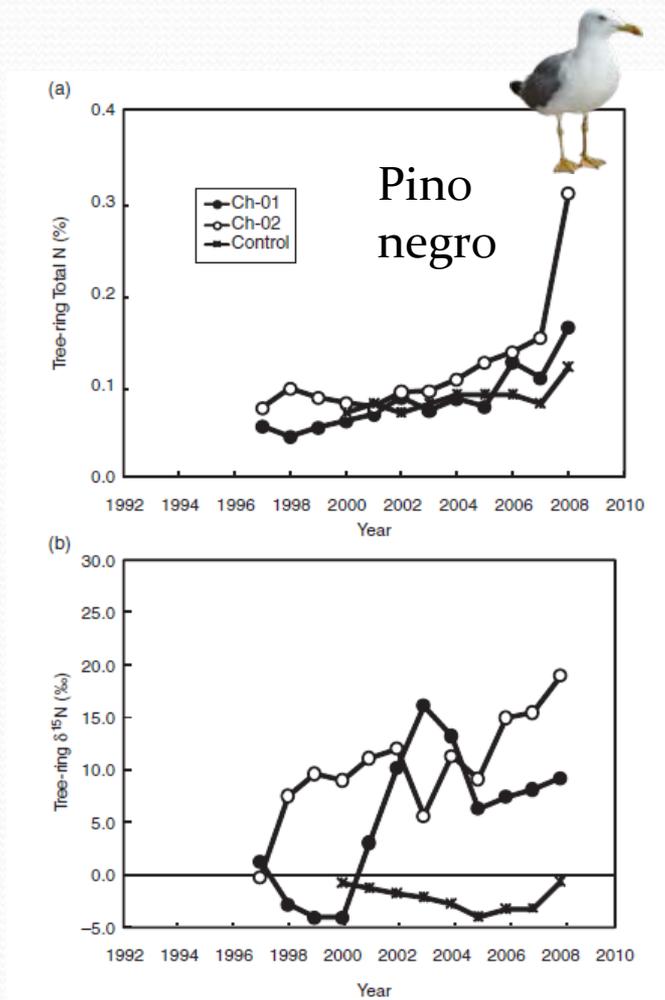
# Long-term effect of bird colonization inferred from tree-rings $\delta^{15}\text{N}$ Isojima, Aomori, JAPAN



Lopez et al., 2010 *Rapid Communication in Mass Spectrometry*

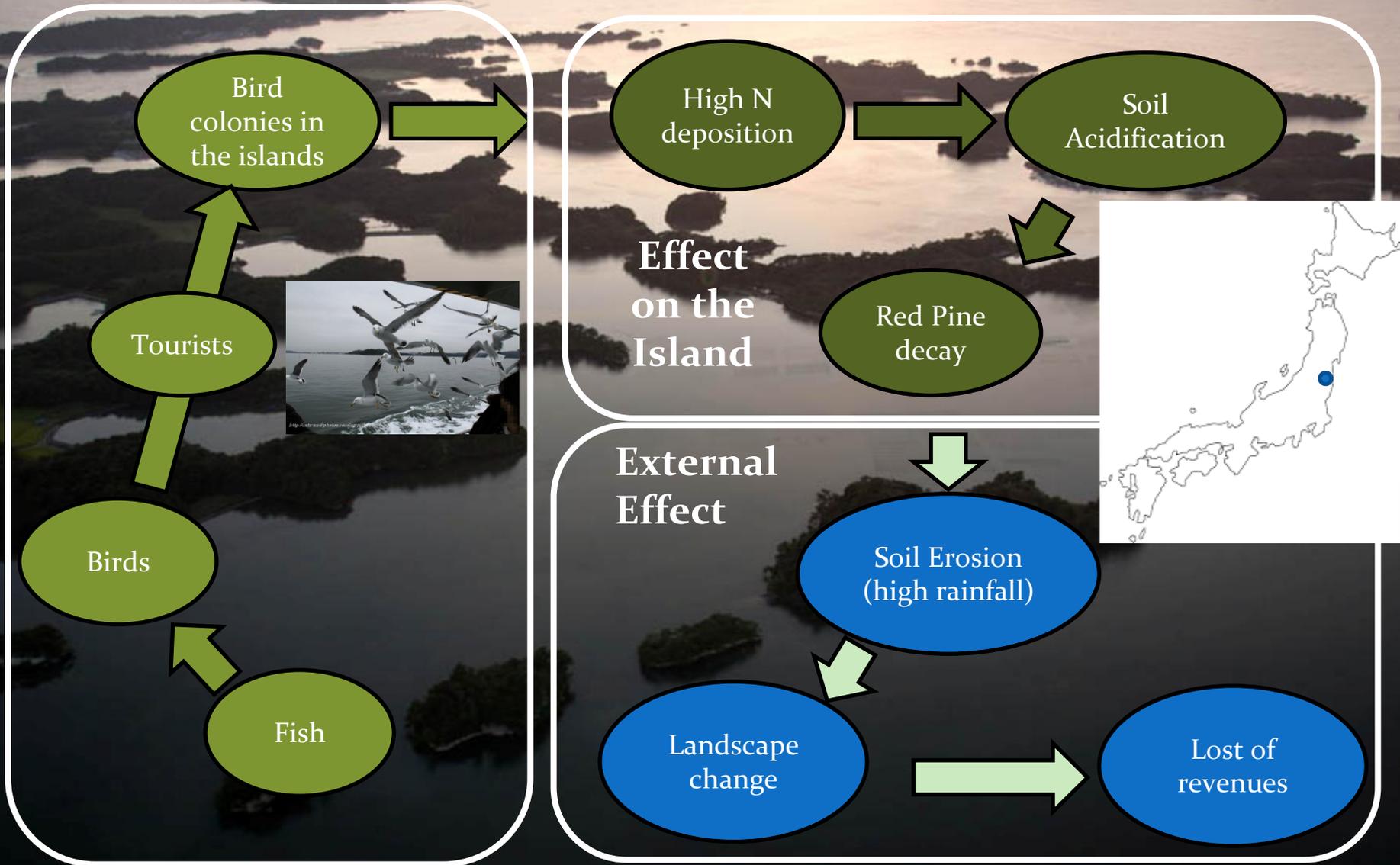


# Tree-ring $\delta^{15}\text{N}$ in black (*P. thunbergii*) and red pine (*Pinus densiflora*)



# Identificación de flujos externos de N

## Matsushima, Miyagi, Japan



## Fuentes de variación de $\delta^{15}\text{N}$ en plantas

- **Fuente de nitrógeno**
  - $\text{N}_2$ ,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$ , SOM
  - Pérdidas de nitrógeno en el suelo
    - mayor pérdida, mayor enriquecimiento
- **Fraccionamiento durante la asimilación**
  - Concentración en el suelo
    - mayor concentración, mayor discriminación
  - Presencia de micorrizas
- **¡Muy complejo!**
  - marcaje isotópico vs. abundancia natural

# Ideas generales isótopos en plantas

**Terminología:** fraccionamiento, enriquecimiento, empobrecimiento, discriminación, marcaje isotópico, abundancia natural

**Carbono:** discriminación isotópica, respuesta ambiental en  $C_3$ , diferencias  $C_3$  y  $C_4$

**Oxígeno / hidrógeno:** agua fuente, enriquecimiento en la hoja

**Nitrógeno:** fuente de nitrógeno, fraccionamiento en la asimilación

**General:** Integración temporal y espacial según el tipo de muestra