

ACTIVIDAD NODULAR IN SITU DE LOS NODULOS ACTINORRÍDICOS DE TALGUENEA QUINQUENERVIA (RHAMNACEAE) EN EL MATORRAL CHILENO

Por ORLANDO BALBOA*

Summary The root nodules of *Talguenea quinquenervia* Gill. et Hook. (*Rhamnaceae*) growing in the Chilean matorral initiated their activity after the first rainfall, in June, when soil temperature was 10°C and soil water content 10% at the two sites studied. The maximum acetylene reduction activity occurred under these environmental conditions prevailing in Winter and early Spring (37-44 nmol C₂H₄/mg nodule dry wt./h). As soon as the soil water content decreased to 4% and the soil temperature increased to 13° or 21°C at the end of October and early November, respectively, the nitrogenase activity ceased almost completely (0.2-0.8 nmol C₂H₄/mg nodule dry wt./h). The recorded nitrogenase activity of *Talguenea* took place mainly during vegetative growth and flowering and declined to almost zero at the start of leaf shedding. Thus, the nodule activity of this species is regulated to cope with the seasonal changes of the ambient conditions.

INTRODUCCION

Varias especies de la familia Rhamnaceae se encuentran ocupando el mismo hábitat en la región semiárida de Chile Central. Estas especies son: *Trevoa trinervis*, *Retanilla ephedra*, *R. stricta*, *Colletia hystrix* y *Talguenea quinquenervia* (Silvester et al., 1985). Algunas de éstas son deciduas de verano con tallos fotosintetizadores (*Trevoa trinervis* y *R. stricta*), otras carecen de hojas o éstas son efímeras (*C. hystrix* y *R. ephedra*) pero también poseen tallos fotosintetizadores. Finalmente, *T. quinquenervia* es una especie decidua de verano sin tallo fotosintético.

Se ha identificado la presencia de nódulos actinorrídicos en las cinco especies mencionadas. Estos son de tipo coralino y el endosimbionte es el procarionte del género *Frankia*. Los nódulos de las cinco especies son capaces de reducir el acetileno y fijar ¹⁵N₂ (Rundel and Neel, 1978; Silvester et al., 1985).

El estudio de la ultraestructura de los nódulos radicales de *T. quinquenervia* ha confirmado la naturaleza del endosimbionte de las raíces de esta especie, el cual corresponde al género *Frankia* (Balboa et al., 1988).

Los ensayos de reducción de acetileno se han realizado, en la mayoría de los casos, a temperatu-

ra de 20° C (Silvester et al., 1985; Balboa y Martínez, 1985). Sin embargo, la temperatura del suelo en las regiones mediterráneas durante el período en el cual los nódulos radicales son activos, nunca alcanza esta temperatura. Moiroud et Capellano (1979) encontraron por ejemplo, que la máxima actividad de la nitrogenasa de los nódulos radicales de *Alnus viridis* se producía en agosto cuando la temperatura del suelo era de alrededor de 10° C.

El objetivo de este trabajo es establecer si los nódulos radicales de *T. quinquenervia* son activos a la temperatura del suelo que prevalece durante el invierno en el matorral Chileno.

MATERIAL Y METODOS

Talguenea quinquenervia Gill. et Hook., miembro de la familia *Rhamnaceae*, tribu *Colletieae* se encuentra formando aglomeraciones compuestas de varios individuos es decir, forma pequeñas poblaciones con un reducido número de representantes dentro del matorral Chileno de media altura.

Sitios de Estudio

Los materiales fueron colectados en dos sitios cercanos a Santiago de Chile, Fundo Santa Laura localizado a 70 Km al noroeste de Santiago, en la Cordillera de la Costa y en San Carlos de Apoquin-

*Investigador del CONICET, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Pampa, Casilla de Correo 159, 6300, Santa Rosa, La Pampa.

do a 2 Km al este de Santiago, en la falda de la Cordillera de los Andes. Ambos sitios están ubicados a 1000 metros sobre el nivel del mar.

El suelo donde crece esta especie es rocoso, lo que hace difícil la excavación para obtener las raíces actinorríficas. Con frecuencia se suelen ubicar a 20 cm de profundidad del suelo, unidos a raíces jóvenes o viejas, formando en algunos casos masas de considerable tamaño (Balboa y Martínez, 1985).

Medición de Actividad Nodular

La determinación de la actividad nodular se inició en junio de 1985, después de las primeras lluvias, siguiendo la metodología de Silvester et al. (1985), los nódulos fueron removidos de la planta conservando restos de raíces, eliminando el exceso de tierra adherida a ellos. Se colocaron 10 a 12 nódulos en frascos de 30 ml, en triplicado. Estos permanecieron abiertos durante 30 minutos para homogeneizar la temperatura dentro de los frascos de incubación. Luego se taparon herméticamente, se registró la temperatura durante la incubación. Después de una hora se removieron de cada frasco 2 ml de mezcla gaseosa la cual fue transferida a tubos de 3 ml con vacío de aire. Las nuevas muestras fueron llevadas al laboratorio, donde se removieron 0.2 ml en duplicado de cada tubo y fueron inyectadas en el Cromatógrafo de Gases (Pelkin Elmer Serie 900) equipado con un detector de llama y una columna de metal con porapak T. Las condiciones de trabajo con el Cromatógrafo de Gases y cuantificación del etileno formado fueron las descritas por Silvester et al. (1985).

Los nódulos radicales usados en el ensayo fueron deshidratados en una estufa a 78° C hasta que no se observó cambio en el peso seco de los mismos. Los resultados de la actividad nodular se expresan en nanomoles de etileno por milígramo de peso seco de los nódulos por hora (nmoles C₂H₄/mg P.S. nódulos/h).

Parámetros Ambientales

Simultáneamente con la determinación de la actividad nodular *in situ* se registró la temperatura del aire y del suelo a 20 cm de profundidad, la humedad relativa del aire y las fenofases de la especie. Para estimar el contenido neto de agua del suelo se tomaron tres muestras del suelo que rodeaba los nódulos radicales, en envases de metal los cuales fueron llevados al laboratorio para su procesamiento. Las muestras fueron pesadas y colocadas en una estufa a 78° C hasta peso constante. La pérdida de peso expresada en porcentaje fue

considerada como contenido neto de agua del suelo en el momento de la incubación de los nódulos radicales *in situ*.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Figura 1 muestra la variación de la actividad nodular de *Talguenea quinquenervia* en los sitios de estudio, San Carlos de Apoquindo y Fundo Santa Laura. La máxima actividad reductora de acetileno ocurrió a fines de junio en San Carlos de Apoquindo (43,9 nmoles C₂H₄/mg P.S. nódulos/h) cuando la temperatura del suelo era de 10° C (Fig. 4) y el tenor de agua del suelo 9,5% (Fig. 2). En Santa Laura la máxima actividad nodular se produjo a mitad de agosto (37 nmoles C₂H₄/mg P.S. nódulos/h), con una temperatura del suelo también a 10° C (Fig. 3) y con un contenido de agua del suelo de 7,5% (Fig. 2).

La máxima actividad de nitrogenasa en *Talguenea* se produce cuando la planta inició su crecimiento vegetativo y las hojas completaron su expansión (Fig. 1). Por consiguiente se postula que la actividad nodular estaría "gatillada" por fotoasi-

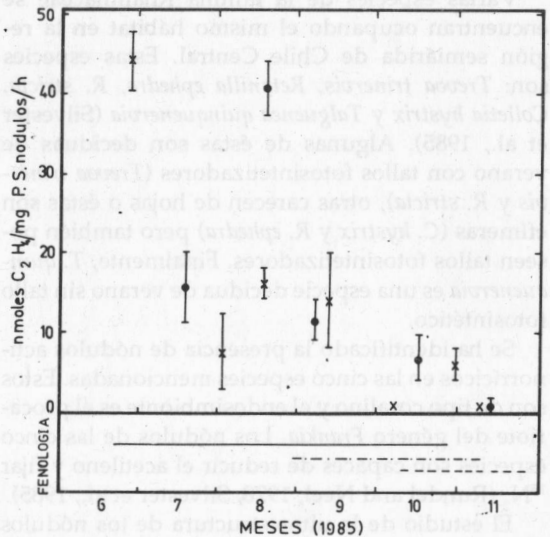


Fig. 1.— Variación estacional de la actividad nodular (reducción de acetileno) durante el período de crecimiento de 1985 y la respectiva fenología de la especie. Los valores con sus correspondientes desviaciones estandar son expresadas en nanomoles de C₂H₄/mg peso seco de nódulos/hora. (X), San Carlos de Apoquindo; (o), Fundo Santa Laura; (—), crecimiento vegetativo; (---), floración; (- - -), caída de las hojas.

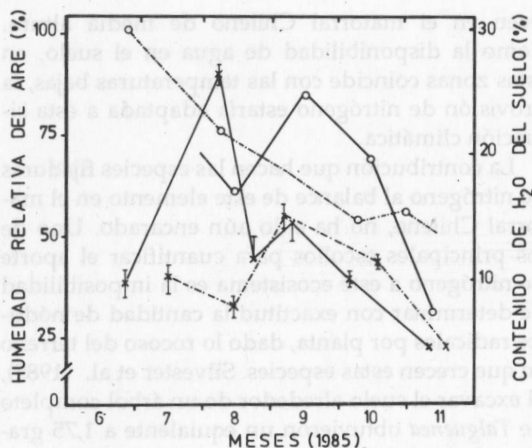


Fig. 2.— Tenor de agua del suelo que rodea los nódulos actinorrhícos durante el período de crecimiento de 1985. (—), San Carlos de Apoquindo; (---), Fundo Santa Laura. Humedad relativa del aire en el momento de la incubación de los nódulos actinorrhícos. (x—x), San Carlos de Apoquindo; (x---x), Fundo Santa Laura.

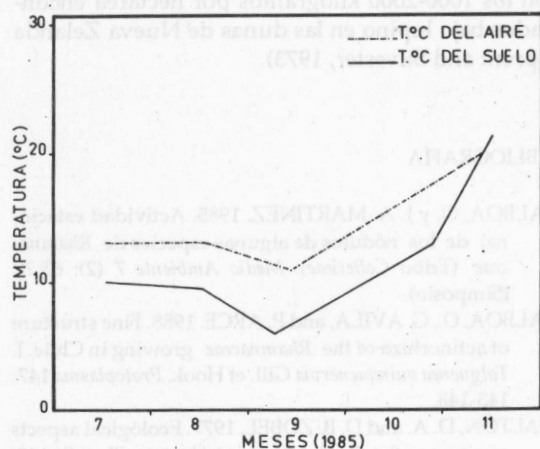


Fig. 3.— Temperatura del suelo y del aire registrada en el Fundo Santa Laura en el momento de la determinación de la actividad nodular *in situ*.

milados provenientes de la hoja (Wheeler, 1969). Observaciones similares se han realizado en *Alnus viridis* (Moiroud et Capellano, 1979).

La actividad varía fuertemente dentro de un mismo lote de nódulos radicales de *Talguenea* provenientes de un mismo individuo (Fig. 1). Esta variabilidad se podría atribuir a la diferencia en la morfología de los nódulos actinorrhícos utilizado en cada ensayo; sin embargo, las muestras de octu-

bre y noviembre no acusaron grandes diferencias entre ellas. Algo parecido se observa en los nódulos de *Alnus viridis* (Moiroud et Capellano, 1979).

A medida que la temperatura del suelo y del aire aumentan (Figs. 3, 4) la humedad del suelo disminuye (Fig. 2); lo mismo ocurrió con la humedad relativa del aire (Fig. 2). Estos cambios parecen causar una disminución de la actividad de la nitrogenasa (Fig. 1) la cual llegó a valores despreciables en noviembre (0,2-0,8 nmoles C₂H₄/mg P.S. nódulos/h), es decir, se produjo una dramática caída del 99,5% de la actividad nodular desde agosto a noviembre. Durante este período *Talguenea* comenzó a perder sus hojas (Fig. 1) muy posiblemente como resultado de la disminución del contenido de agua del suelo, el cual genera en la planta potenciales hídricos de -3,5 MPa en noviembre (Balboa y Martínez, 1985) y de -5,3 MPa en enero.

El efecto inhibitorio del déficit hídrico del suelo en la actividad de la nitrogenasa está bien documentado en las plantas noduladas con *Rhizobium* (Sprent, 1976). Para plantas actinorrhícas la información que se dispone es insuficiente. Dalton y Zobel (1977) encontraron en los nódulos radicales de *Purshia tridentata* un marcado efecto del potencial hídrico (2,5 MPa) sobre la actividad nodular. La enzima nitrogenasa es muy sensible al déficit hídrico. En algunas especies como *Alnus glutinosa* cuando los potenciales hídricos de las ramillas alcanzan valores entre -1,6 y -1,89 MPa se redujo a 75% la actividad nodular comparado con el control. En *Talguenea* potenciales hídricos que van des-

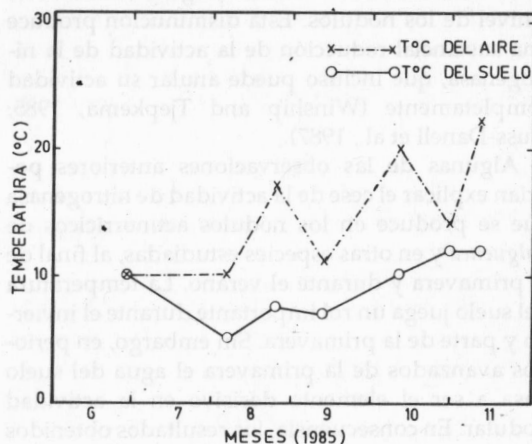


Fig. 4.— Temperatura del suelo y del aire registrada en San Carlos de Apoquindo en el momento de la incubación *in situ* de los nódulos actinorrhícos.

de -0,9 MPa (registrado en agosto) a -3,0 MPa (registrado en diciembre) producen una disminución del 98,4% de la actividad reductora de la nitrogenasa (Balboa y Martínez, 1985).

Como se indicó anteriormente, el déficit hídrico del suelo no sólo produce una reducción drástica de la actividad nodular sino que además la planta empieza a perder las hojas (Fig. 1). Este último proceso produce una disminución de la superficie evaporativa de la planta, y lo que es más importante el cese de la provisión de fotoasimilados a la raíz actinorríca (Huang et al., 1975), esta observación puede homologarse con lo que ocurre con la actividad nodular cuando se oscurecen plantas noduladas de *Alnus incana* (Sundstrom and Huss-Danell, 1987). Sin embargo, en *Alnus glutinosa* no se encontró correlación entre el contenido de azúcares de los nódulos y la tasa de fijación de nitrógeno (Wheeler, 1971).

Los cambios en el estrés hídrico provocan por un lado, un rápido cierre estomático, y por otro lado, una rápida disminución de la fijación de nitrógeno. No obstante, en las plantas sometidas a tratamiento de oscuridad, estos procesos son más lentos (Sundstrom and Huss-Danell, 1987). Estas observaciones indicarían que otros factores estarían interviniendo en la actividad de la nitrogenasa. Entre ellos se puede mencionar, daño al sistema nitrogenasa o inhibición de la traslocación de fotoasimilados desde las hojas (Sundstrom and Huss-Danell, 1987).

Se sabe por otra parte que el estrés hídrico produce una significativa restricción de la difusión de oxígeno hacia el interior de los nódulos, la cual se traduce en un menor tenor de oxígeno (de 20 a 5%) a nivel de los nódulos. Esta disminución produce una sustancial reducción de la actividad de la nitrogenasa, que incluso puede anular su actividad completamente (Winship and Tjepkema, 1985; Huss-Danell et al., 1987).

Algunas de las observaciones anteriores podrían explicar el cese de la actividad de nitrogenasa que se produce en los nódulos actinorrícos de *Talguenea* y en otras especies estudiadas, al final de la primavera y durante el verano. La temperatura del suelo juega un rol importante durante el invierno y parte de la primavera. Sin embargo, en períodos avanzados de la primavera el agua del suelo pasa a ser el elemento decisivo en la actividad nodular. En consecuencia, los resultados obtenidos estarían indicando que la fijación de nitrógeno estaría regulada por las condiciones ambientales y por la demanda de la planta para su crecimiento, o al menos, la cesación de la fijación sería una consecuencia de las condiciones ambientales que preva-

leen en el matorral Chileno de media altura. Como la disponibilidad de agua en el suelo, en estas zonas coincide con las temperaturas bajas, la provisión de nitrógeno estaría adaptada a esta situación climática.

La contribución que hacen las especies fijadoras de nitrógeno al balance de este elemento en el matorral Chileno, no ha sido aún encarado. Uno de los principales escollos para cuantificar el aporte de nitrógeno a este ecosistema es la imposibilidad de determinar con exactitud la cantidad de nódulos radicales por planta, dado lo rocoso del terreno en que crecen estas especies. Silvester et al. (1985), al excavar el suelo alrededor de un árbol completo de *Talguenea* obtuvieron un equivalente a 1,75 gramos de nódulos; sin embargo, la excavación de otro individuo similar arrojó un valor de 6,1 gramos de nódulos. Por el otro lado, *Talguenea* raramente alcanza una altura de más de tres metros, con una proyección de la copa de alrededor de 2 metros de diámetro. Con esta cobertura y la densidad por hectárea, Silvester et al. (1985) especulan que no será posible encontrar más de uno a dos kilogramos de nódulos por hectárea, comparado con los 1000-2000 kilogramos por hectárea encontrados bajo lupino en las dunas de Nueva Zelanda (Sprent and Silvester, 1973).

BIBLIOGRAFIA

- BALBOA, O. y J. A. MARTINEZ. 1985. Actividad estacional de los nódulos de algunas especies de *Rhamnaceae* (Tribu *Colletieae*). *Medio Ambiente* 7 (2): 63-72 (Simposio).
- BALBOA, O., G. AVILA, and P. ARCE. 1988. Fine structure of actinorhiza of the *Rhamnaceae* growing in Chile. I. *Talguenea quinque nervia* Gill. et Hook. *Protoplasma* 147: 143-148.
- DALTON, D. A. and D. B. ZOBEL. 1977. Ecological aspects of nitrogen fixation by *Purshia tridentata*. *Plant Soil* 48: 57-80.
- HUANG, C., J. S. BOYER, and L. N. VANDERHOEFF. 1975. Limitation of acetylene reduction (nitrogen fixation) by photosynthesis in soybean having low water potential. *Plant Physiol.* 56: 228-232.
- HUSS-DANELL, K., L. J. WINSHIP, and A. S. HANLIN. 1987. Loss and recovery of nitrogenase in *Alnus incana* nodules exposed to low oxygen and low temperature. *Physiol. Plant.* 70: 355-360.
- MOIROUD, A. et A. CAPELLANO. 1979. Etude de la dynamique de l'azote a haute. I. Fixation d'azote (reduction de l'acetylene) par *Alnus viridis*. *Can. J. Bot.* 57: 1979-1985.
- RUNDEL, W. R. and J. W. NEEL. 1978. Nitrogen fixation by *Trevoa trinervis* (*Rhamnaceae*) in the Chilean matorral. *Flora* 167: 127-132.

- SEILER, J. R. and J. D. JOHNSON. 1984. Morphological changes in black alder seedlings in response to water stress. *Can. J. For. Res.* 14: 477-480.
- SILVESTER, W. B., O. BALBOA and J. A. MARTINEZ. 1985. Nodulation and nitrogen fixation in members of the *Rhamnaceae* (*Colletia*, *Retanilla*, *Talguenea* and *Trevoa*) growing in the Chilean matorral. *Symbiosis* 1: 29-38.
- SPRENT, J. I. and W. B. SILVESTER. 1973. Nitrogen fixation by *Lupinus arboreus* grown in the open and under different aged stands of *Pinus radiata*. *New Phytol.* 72: 992-1003.
- SPRENT, J. I. 1976. Water deficit and nitrogen-fixing root nodules. In: *Water Deficits and Plant Growth*. (T. T. Kozlowski, ed.). Vol. IV, pp. 291-315. Academic Press, New York ISBN 0-424154-9.
- SUNDSTROM, K-R. and K. HUSS-DANELL. 1987. Effects of water stress on nitrogenase activity in *Alnus incana*. *Physiol. Plant.* 70: 342-348.
- WHEELER, C. T. 1969. The diurnal fluctuation in nitrogen fixation in the nodules of *Alnus glutinosa* and *Myrica gale*. *New Phytol.* 68: 675-682.
- WHEELER, C. T., 1971. The causation of the diurnal changes in nitrogen fixation in the nodules of *Alnus glutinosa*. *New Phytol.* 70: 487-495.
- WINSHIP, L. J. and J. D. TJEPKEMA. 1985. Nitrogen fixation and respiration by root nodules of *Alnus rubra* Bong. Effects of temperature and oxygen concentration. *Plant Soil* 87: 91-108. 1985.