

## SIGUIENDO LA PISTA

### Descomposición de la capa de hojarasca de diferentes especies perennifolias y caducifolias

Irantzu Anzar Martínez de Lagrán<sup>1</sup>, Beatriz de Arriba Ruiz<sup>2</sup>, Beatriz Barrera Garmón<sup>3</sup>, Álvaro Campón Sánchez<sup>4</sup>, Raquel Carballo Castosa<sup>5</sup>, Sandra E. Ciudad Broncano<sup>6</sup>, Cristina Díaz Payno<sup>7</sup>, Rocío García Gómez<sup>8</sup>, Jesús Gil Pulido<sup>9</sup>, Diego Herrero Alonso<sup>10</sup>

Facultad de C. C. Biológicas y Ambientales. Universidad de León. Alumnos de 5º curso de Biotecnología (curso 2011-2012).

1. [btciamoo@estudiantes.unileon.es](mailto:btciamoo@estudiantes.unileon.es); 2. [btcbdaoo@estudiantes.unileon.es](mailto:btcbdaoo@estudiantes.unileon.es); 3. [btcbbgoo@estudiantes.unileon.es](mailto:btcbbgoo@estudiantes.unileon.es); 4. [btcacsoo@estudiantes.unileon.es](mailto:btcacsoo@estudiantes.unileon.es); 5. [btrccoo@estudiantes.unileon.es](mailto:btrccoo@estudiantes.unileon.es); 6. [btsecsoo@estudiantes.unileon.es](mailto:btsecsoo@estudiantes.unileon.es); 7. [btccdpoo@estudiantes.unileon.es](mailto:btccdpoo@estudiantes.unileon.es); 8. [btcrsgoo@estudiantes.unileon.es](mailto:btcrsgoo@estudiantes.unileon.es); 9. [btcjgpoo@estudiantes.unileon.es](mailto:btcjgpoo@estudiantes.unileon.es); 10. [btcdhaoo@estudiantes.unileon.es](mailto:btcdhaoo@estudiantes.unileon.es).

Las hojarascas de las especies caducifolias y perennifolias presentan procesos diferenciales de descomposición, debidos, en gran parte, a las diferencias en su composición química. El lixiviado es la primera de las etapas de descomposición. En esta etapa se liberan los materiales solubles presentes en las hojas. En el siguiente trabajo se ha llevado a cabo un experimento para determinar si existen diferencias significativas en el lixiviado de componentes entre hojas pertenecientes a especies caducifolias (*Juglans regia* y *Quercus pyrenaica*) y perennifolias (*Quercus ilex* y *Pinus sylvestris*). Se discutirá la relación entre esta diferencia y la composición de los dos tipos de hoja.

**Palabras clave:** Lixiviación, descomposición, caducifolias, perennifolias, polifenoles, ceras.

### Introducción

El flujo de energía a través de los sistemas se basa en el carbono. Comienza con la fijación del CO<sub>2</sub> como carbono orgánico simple en el proceso de producción primaria; luego es transportado a través de la cadena trófica, para finalizar nuevamente en la atmósfera a través del proceso de respiración celular (Dajoz, 2001).

Sin embargo, la producción primaria depende de la absorción por parte de las plantas de un conjunto de nutrientes minerales esenciales (inorgánicos) y su incorporación a tejidos vivos. A modo general, la fuente de esos nutrientes esenciales es tanto la atmósfera, en el caso del carbono, como la meteorización de rocas y minerales. Una vez en el suelo o en el agua, son absorbidos por las plantas y, desde allí, se desplazan a través de la cadena trófica. De hecho, los nutrientes en forma orgánica, almacenados en los tejidos vivos, representan una

proporción significativa de nutrientes dentro del ecosistema. Cuando este tejido vivo llega a la senectud, los nutrientes vuelven al suelo en forma de materia orgánica muerta, y a partir de allí prosiguen su camino a través de la cadena trófica de los descomponedores (Lopez, 1991).

Uno de los procesos más importantes en los ecosistemas es la descomposición, por el cual la materia orgánica es transformada en sus componentes elementales. Esta descomposición se presenta en diferentes etapas: trituración, lixiviación, catabolismo y humificación (Álvarez-Sánchez, 2001), las cuales son reguladas por factores climáticos, las propiedades físicas del suelo, características químicas de los compuestos y la actividad de la biota del suelo. El catabolismo y la humificación requieren la colonización microbiana y la fragmentación por invertebrados. La humedad del suelo, el contenido de lignina y la concentración de nitrógeno y fósforo, permiten identificar los patrones temporales de descomposición.

La lixiviación es la eliminación abiótica de sustancias solubles como fenoles, carbohidratos y aminoácidos, debido al proceso de lavado por agua de lluvia de la hojarasca, mediante la cual se pierde hasta el 30% de la masa original de las hojas, dependiendo de la especie. Es la primera etapa de la descomposición y se completa en las primeras 24-48 horas. En el caso de la hojarasca, se lavan elementos inorgánicos como calcio, potasio y magnesio, y otros compuestos orgánicos, entre los que se encuentran ácidos orgánicos, proteínas y azúcares solubles. Estos son compuestos energéticos necesarios para los organismos, que posteriormente descompondrán compuestos recalcitrantes como ligninas y celulosa.

A diferencia del resto de procesos incluidos en la descomposición, la lixiviación es el único que no depende de la actividad microbiana. Sin embargo, depende de distintos factores, como son la absorción de agua por parte de la hojarasca y características morfológicas de la hojarasca (presencia de cutícula, espesor, etc.). Por otro lado, existe una serie de factores ambientales que también influyen, como la presencia de oxígeno, los ciclos de luz y oscuridad, la lluvia, el aire y la temperatura.

Hasta el 30% del peso seco de la hojarasca se puede perder mediante el lixiviado de compuestos tanto inorgánicos como orgánicos en un periodo de cuatro meses, y entre ellos se encuentran compuestos orgánicos solubles en agua tales como polifenoles y ácidos fenólicos.

Se sabe que no todos los compuestos solubles en agua se lixivian con la misma facilidad. Entre los compuestos orgánicos, los carbohidratos son los primeros en lixiviar, pero la cantidad de compuestos solubles en agua que se lixivian varía con las especies (Petersen and Cummins, 1974, Ostrofsky, 1997, Margalef, 2004).

El objetivo de este trabajo es analizar las diferencias en el lixiviado de componentes entre hojas pertenecientes a distintas especies arbóreas. El estudio se llevó a cabo en cuatro especies, dos caducifolias y otras dos perennifolias, que se detallan a continuación.

El pino albar (*Pinus sylvestris*) presenta en la composición de la hoja perennifolia como principales elementos el calcio (420,32 mg/ 100 g de peso seco), potasio (410,23 mg/100g de de peso seco) y magnesio (125,33 mg/100g de peso seco), seguidos por otras compuestos orgánicos específicos tales como ácidos benzoicos (61% de los compuestos orgánicos), ácidos cinámicos (27 % de los compuestos orgánicos) y algunos fenoles (13% de los compuestos orgánicos) (Nykvist, 1963, McTiernana et al., 2003).

El nogal (*Juglans regia*) es un árbol caducifolio de la familia de las juglandáceas. En la composición de las hojas del nogal destaca la presencia de naftoquinonas -como la juglona (5-hidroxil- 1,4- naftoquinona)- y los carotenos. Por otra parte, se encuentran taninos (4% peso seco) que otorgan a las hojas varias propiedades antioxidantes. La vitamina principal en la hoja es la B1 y, la composición en fenoles corresponde al 0,1% del peso total. También podemos encontrar algunos ácidos, como el ascórbico (1-5% del total de la hoja), fenolcarboxílico, gálico, cafeico y el ácido neoclorogénico, así como derivados flavónicos, además de hiperósidos, juglanina, quercetina, hiperina (0,2% del peso total) y arabinosa. Aunque los compuestos en mayor proporción en la hoja son los terpenos y los ácidos grasos, en conjunto, una alta proporción del peso seco corresponde a iones como el hierro, el manganeso o el potasio y otros elementos como el nitrógeno que, en comparación con la composición de otras hojas de árboles se presentan con una abundancia mucho mayor (Drossopoulos et al., 1996, Pereira et al., 2007, Al-Riyami et al., 2009).

El roble (*Quercus pyrenaica*), tiene como principal componente en sus hojas el isopreno (2-metil-1 ,3-butadieno), que pertenece al grupo de los hidrocarburos orgánicos volátiles. Las hojas presentan elevado contenido de taninos, cuya concentración no es constante.

Aparecen dos tipos de taninos: taninos condensados (proantocianidina, cuya concentración aumenta con la madurez de la planta) y taninos hidrolizables (los galotaninos -que aparecen en primavera y se oxidan en verano- y los elagitaninos -que se degradan en otoño -, mayoritariamente en las hojas jóvenes). Por otro lado, las hojas de roble son muy ricas en azúcares, especialmente glucosa y fructosa, pero esta concentración se reduce durante el lixiviado, siendo más favorecida esta disminución en condiciones aeróbicas que anaeróbicas. Entre los ácidos, destacan el ácido málico y el ácido cítrico, aunque las hojas del roble poseen un menor contenido en dichos ácidos. Estos ácidos no son fáciles de lixiviar. El último componente importante de las hojas de roble

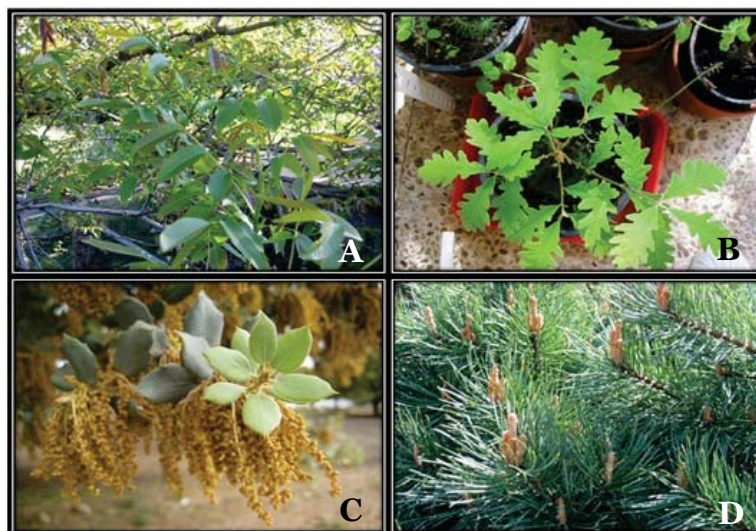
son los fenoles (Sabaté et al., 1995).

La encina (*Quercus ilex*) presenta hojas pequeñas y endurecidas, cubiertas de productos céreos que hacen que tenga una cutícula foliar con textura rígida y resistente. Además, la parte inferior de la hoja está cubierta de una pilosidad blanquecina. Otros componentes importantes de las hojas de encina son los monoterpenos ( $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, sabineno, mirceno), sulfatos solubles y algunos metales como el cobre. Estas características de tamaño, de forma y de composición responden a una doble función: proteger al árbol de la deshidratación en verano, cuando en el bosque mediterráneo hace mucho calor y el agua es poco abundante, y proteger a la hoja de los fríos del invierno. Además, el árbol cierra los estomas de la hoja cuando los recursos hídricos son pobres. De este modo consigue una mayor economía de nutrientes. Construir todo el follaje representa un gran esfuerzo para un árbol que precisa tener muchos recursos a su alcance para conseguirlo, fundamentalmente agua. Una encina puede aprovechar los momentos favorables de un clima mediterráneo tan variable sin arriesgar tanto, ya que estas hojas, muy duras y coriáceas, evitan la excesiva transpiración de la planta, lo que le permite vivir en lugares secos y con gran exposición al sol, como la ribera mediterránea (Romane and Terradas, 1992, Castro-Díez et al., 1997).

### Materiales y métodos

Para estudiar la lixiviación, se aplicó el siguiente protocolo para cada una de las especies (**Fig. 1**):

1. Se prepararon dos lotes diferenciados, cada uno con 4 réplicas, cada una de ellas constituida por unas 15 hojas que tenían un peso medio de entre 10 y 20 gramos.



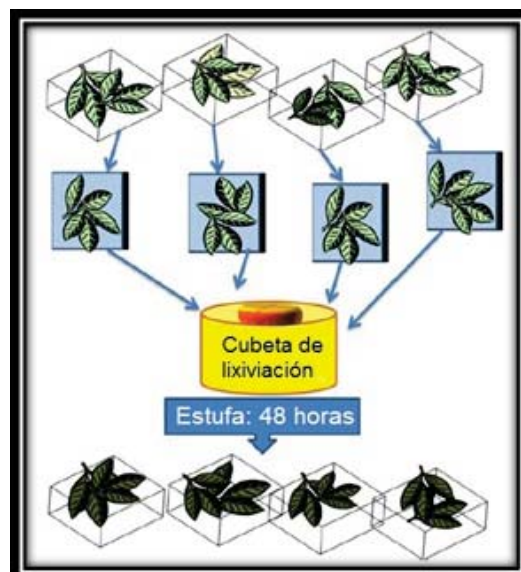
**Figura 1.** Detalle de las hojas de las especies utilizadas para el experimento. *Juglans regia* (A), *Quercus pyrenaica* (B), *Quercus ilex* (C), *Pinus sylvestris* (D).

2. El lote 1 se utilizó para calcular el peso seco medio por réplica de las hojas mediante su deshidratación en estufa durante 48 horas a 45°C (**Fig.2**). Con el peso fresco medio de las réplicas y el peso seco se calculó un parámetro que se denominó factor de corrección medio ((peso seco de las hojas/ peso húmedo de las hojas)\*100).



**Figura 2.** Deshidratación de réplicas.

3. Las réplicas del lote 2 se sumergieron en agua del grifo para simular el proceso de lixiviación natural. Las hojas se encontraban agrupadas en réplicas en el interior de mallas. Se cambió a diario el agua del contenedor donde se sumergieron las muestras. Pasadas 72 horas, se sacaron las hojas de las mallas y se secaron en la estufa durante 48 horas a 45 °C (**Fig.3**). De esta manera se obtuvo el peso seco de cada réplica después de haber sufrido un proceso de lixiviación.



**Figura 3.** Proceso de lixiviación simulada.

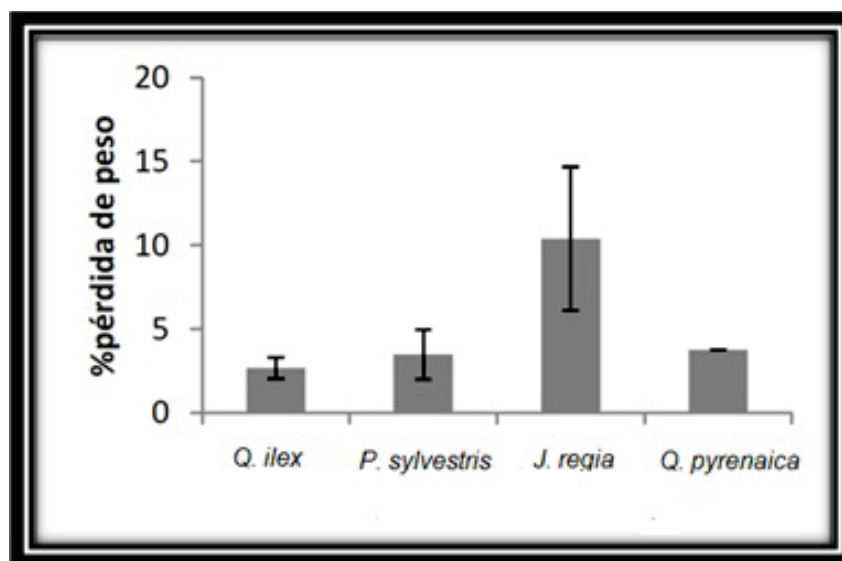
4. Los pesos frescos de las réplicas del lote 2 se multiplicaron cada uno por el factor de corrección medio, para obtener el peso seco aproximado que tendría que tener la réplica después del secado. Estos datos se analizaron mediante un análisis estadístico “ANOVA” de una vía y se compararon las especies para ver si hay diferencias significativas en la descomposición por lixiviación entre caducifolias y perennifolias. Los análisis post hoc fueron Tukey con un nivel de significación de  $p < 0.05$ .

### Resultados y discusión

La lixiviación es el primer paso en el proceso de descomposición de las hojas. Durante esta etapa, se produce una disminución de peso que corresponde con la pérdida principalmente de iones. La hipótesis que se quiere comprobar es si va a ser diferente entre hojas de especies arbóreas perennifolias y caducifolias.

La comparación se realiza en función del peso seco, por ello es necesario calcular el factor de correlación medio para poder comparar solamente la pérdida de peso en materia orgánica, determinándose que solo el 45% del peso fresco de la hoja corresponde a materia orgánica (resultados no mostrados). Este factor, multiplicado por el peso fresco de las hojas del lote 2 aporta el peso en materia orgánica aproximada que tendrían las mismas antes de ser sometidas al proceso de lixiviación.

Una vez calculado el peso seco de las hojas tras la lixiviación, se comprueba que hay una pérdida de peso diferencial entre las diferentes especies, siendo esta mayor en el caso de las especies caducifolias (**Fig.4**).



**Figura 4.** Porcentaje de materia orgánica perdido por lixiviación en las diferentes especies estudiadas. Se representa media  $\pm$  desviación estándar (n= 60)

Para la discusión vamos a obviar los resultados obtenidos para la especie *Quercus pyrenaica* debido a que un error en el proceso experimental hizo que de ella no se pudieran obtener datos concluyentes.

Se realiza un análisis ANOVA de una vía de las varianzas, obteniéndose un valor de “p” de 0,00121 (Fig.5). En el análisis ANOVA, un P-value menor de 0,05 indica diferencias significativas entre los compuestos analizados, por tanto, se puede suponer que existe algún factor diferencial entre especies que hace que, sometidas al mismo proceso de lixiviación, las pérdidas de materia orgánica sean significativamente diferentes.

Univariate Tests of Significance for %pérdida de peso (Spreadsheet5) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Deg r. of	MS	F	p
Intercept	439,0073	1	439,007	73,2724	0,000002
Especie	185,5396	3	61,8465	10,3225	0,00121
Error	71,8973	12	5,9914		

**Figura 5.** Análisis ANOVA de una vía de los datos de “pérdidas de peso” de las especies analizadas. En la tabla se representan: (SS) suma de cuadrados, (Deg r.OF) Grados de libertad del tratamiento, (MS) Promedio de los cuadrados, (F) Valor estadístico de contraste y (P) P-value.

Las tres especies de árboles a considerar podemos dividirlos en 2 grupos: la especie caducifolia (*Juglans regia*) y las especies perennifolias (*Quercus ilex*, *Pinus sylvestris*). En las especies caducifolias existe una pérdida de la hoja en cada ciclo anual, mientras que en las perennifolias la hoja se mantiene más tiempo y necesitan periodos de 4-5 años para renovarse. Para que las hojas de especies perennifolias puedan soportar las condiciones adversas que se dan, sobre todo, en los meses de invierno (soportando bajas temperaturas) y en los de verano (intentando minimizar la transpiración), presentan diferentes sustancias ceras que las protegen. Estas sustancias, que constituyen un sistema de adaptación a condiciones climatológicas adversas, están presentes en menor medida en hojas de especies caducifolias (Ricklefs, 2001). Las especies *Quercus ilex* y *Pinus sylvestris*, debido a su protección de naturaleza ceras, tienen una mayor resistencia a la lixiviación, ya que estos compuestos impermeables e hidrofóbicos impiden la solubilización de compuestos polares. De esta manera

*Juglans regia*, que presenta una menor cantidad de estos compuestos impermeables en la superficie de sus hojas, está más expuesto a los procesos de lixiviación y por tanto, pierde mayor porcentaje de materia orgánica. Dentro de las especies perennifolias, la diferente distribución de esos componentes cerosos, así como la propia morfología foliar, hacen que la lixiviación difiera entre ellas, a pesar de que los resultados que obtenemos son muy similares (**Fig. 4**).

Además, la elevada proporción de iones presentes en las hojas caducifolias, tales como hierro, manganeso, potasio y otros elementos, permiten explicar que se pierda mayor cantidad de material de la hoja debido a la lixiviación (Ostrowsky, 1997). No obstante diversos estudios señalan que la tasa de procesamiento de las hojas caídas en otoño depende en gran medida de la proporción de taninos en la hoja, viéndose favorecida por la concentración de nitrógeno y desfavorecida a medida que aumenta la concentración de lignina y fenoles (Pereira et al., 2007).

### **Agradecimientos**

A la Dra. Leonor Calvo Galván, profesora de la asignatura Bases de Ecología de 5º curso de Licenciatura en Biotecnología, dentro de cuyo contexto se encuentran los experimentos descritos en el presente artículo, por la revisión del texto y sus ánimos para sacar adelante esta publicación.

A D. Fernando González Romero, Ingeniero de Montes y Licenciado en Ciencias Ambientales, que ha cedido las fotografías originales que componen la Figura 1.

A nuestros compañeros de la asignatura que realizaron algunos experimentos cuyos resultados hemos incluido en el texto.

### **Bibliografía**

- Al-Riyami, V. R., Seena Sahadevan, Elshafie Abdulkadir, and Feliz Bärlocher. 2009- Leaf Decomposition in a Mountain Stream in the Sultanate of Oman. *International Review of Hydrobiology* 96, no. 1: 16-28.
- Álvarez-Sánchez, J. 2001. Descomposición y ciclo de nutrientes en ecosistemas terrestres en México. *Acta zoológica mexicana*, nº especial 1 : 11-27.
- Castro-Díez, P., P. Villar-Salvador, C. Pérez-Rontomé, M. Maestro-Martínez, and G. Montserrat- Martí. 1997. Leaf morphology and leaf chemical composition in three *Quercus* (Fagaceae) species along a rainfall gradient in NE Spain. *Trees -Structure and Function* 11, no. 3: 127-134.
- Dajoz, R. *Tratado de ecología*. Ed. MP, 2001.
- Drossopoulos, B., G.G. Kouchaji, and D.L. Bouranis 1996. Seasonal dynamics of mineral nutrients and carbohydrates by walnut tree leaves. *Journal of Plant Nutrition* 19: 493-516.



- Lopez Gorge, J. Fijación y movilización biológica de nutrientes (Vol. I). CSIC. 1991.
- Margalef, R. Ecología. Ed. Omega, 2004.
- McTiernana, K.B., M.M Coûteaux, B. Berg, M.P. Berg, R.C. de Anta, A. Gallardo, W. Kratz, P. Piussi, J. Remacle, A. V. De Santo. 2003. Changes in chemical composition of *Pinus sylvestris* needle litter during decomposition along a Europe coniferous forest climatic transect. *Soil Biology & Biochemistry* 35: 801–812.
- Nykvist, N. 1963. Leaching and decomposition of water-soluble organic substances from different types of leaf and needle litter. *Estudia Forestalia Suecica* no.3 : 1-31.
- Ostrofsky, M. L. 1997. Relationship between Chemical Characteristics of Autumn-Shed Leaves and Aquatic Processing Rates. *Journal of the North American Benthological Society* 16, nº 4 : 750-759.
- Pereira, J.A., I. Oliveira, A. Sousa, P. Valentão, P.B. Andrade, I.C. Ferreira, F. Ferreres, A. Bento, R. Seabra, L. Estevinho. 2007. Wanut leaves: phenolic compound, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology* 45, no. 11: 2287–2295.
- Petersen, R. C. y K. W. Cummins. 1974. Leaf processing in a woodland stream. *Freshwater Biology* 4: 343–368.
- Ricklefs, R. E. Invitación a la ecología. La economía de la naturaleza. 4ª Edición. Ed. Panamericana., 2001.
- Romane, F. y J. Terradas. 1992. *Quercus ilex* L. ecosystems: function, dynamics and management. Kluwer Academic Publishers: 13-17.
- Sabaté, S., A. Sala y C. Gracia. 1995. Nutrient content in *Quercus ilex* canopies: Seasonal and spatial variation within a catchment. Kluwer Academic Publishers: 297-304.