

Fundamentos teóricos para el uso de isótopos estables en ecología terrestre

V. Resco ¹

(1) Centro de Investigación del Fuego, Fundación General del Medio Ambiente de Castilla-La Mancha, ICAM, Campus de la Fábrica de Armas, Av. Carlos III s/n, 45071 Toledo

➤ Recibido el 31 de julio de 2010, aceptado el 18 de agosto de 2010.

Resco, V. (2010). Fundamentos teóricos para el uso de isótopos estables en ecología terrestre. *Ecosistemas* 19(3):1-5.

La utilización de los isótopos estables en los estudios de ecología vegetal ha crecido exponencialmente en los últimos años, ya que informan acerca del origen de los recursos adquiridos por las plantas, los procesos que gobiernan la asimilación y transformación de recursos y las condiciones ambientales y fisiológicas durante el crecimiento. Sin embargo, su aplicación a problemas ecológicos se ve limitada por el grado en el que se cumplen las asunciones teóricas. En este monográfico introducimos la teoría para el análisis de la composición isotópica del carbono, hidrógeno y oxígeno en plantas. Además resaltamos cómo la interpretación de los datos se puede ver alterada si no se cumplen las asunciones fundamentales.

Nomenclatura

La composición isotópica de una muestra se expresa como la razón relativa a un patrón internacionalmente reconocido con la notación δ :

$$\delta X (\text{‰}) = (R_{\text{muestra}}/R_{\text{patrón}} - 1) \times 10^3 \quad (1)$$

donde X representa el isótopo de interés y R la razón del isótopo pesado respecto al ligero. En ocasiones resulta conveniente expresar la composición isotópica como discriminación (Δ) que refleja la magnitud del fraccionamiento isotópico entre el reactante o fuente y el producto. Según la cuestión de interés, se usan

$$\Delta = \left(\frac{\delta_{\text{fuente}} - \delta_{\text{muestra}}}{1 + \delta_{\text{muestra}}/10^3} \right) 10^3 \quad (2)$$

ó

$$\Delta = \delta_{\text{fuente}} - \delta_{\text{muestra}} \quad (3)$$

Cabe resaltar que estas ecuaciones no son matemáticamente idénticas, y en ocasiones llevan a resultados distintos, por lo que en cualquier trabajo resulta imprescindible especificar la ecuación utilizada.

$\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en hojas

La discriminación del isótopo del carbono que ocurre durante el intercambio de gases fotosintético en plantas C3 está descrito como (Farquhar et al., 1982; Farquhar et al., 1988):

$$\Delta = a_b \frac{p_a - p_s}{p_a} + a \frac{p_s - p_i}{p_a} + (b_s + a_w) \frac{p_i - p_c}{p_a} + b \frac{p_c}{p_a} - \frac{\frac{eR_d}{k} + f\Gamma^*}{p_a} \quad (4)$$

donde a_b , a , a_w , b_s y b indican los factores de fraccionamiento de la difusión del CO_2 a través de la capa límite (2.9‰), estomas (4.4‰), agua (0.7‰), disolución del CO_2 (1.1‰) y el fraccionamiento neto de fosfoenolpiruvato carboxilasa y de la actividad de ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxygenasa (estimado en 29‰; Roeske y O'Leary, 1984), respectivamente. p_a , p_s , p_i y p_c representan las presiones parciales (Pa) de CO_2 en la atmósfera que rodea la hoja, en la superficie de la hoja, en los espacios intercelulares y en el sitio de carboxilación, respectivamente. Las variables Γ^* , R_d , k , f y e representan el punto compensación de CO_2 (Pa) en ausencia de respiración diurna, la tasa de la respiración diurna ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la eficiencia de la carboxilación ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$), y fraccionamientos asociados a la fotorespiración y respiración diurna (‰) respectivamente. Los primeros tres términos de la ecuación 4 indican fraccionamientos durante la difusión del CO_2 desde la superficie de la hoja hasta el sitio de carboxilación, el cuarto término indica fraccionamientos durante la carboxilación, y el último los efectos de la respiración.

A efectos prácticos este modelo se ha simplificado en base a la correlación que generalmente se observa entre Δ y p_i/p_a :

$$\Delta = a + (b - a) \frac{p_i}{p_a} \quad (5)$$

Cuando dicha correlación se sostiene, la composición isotópica del carbono varía linealmente con p_i/p_a y se puede usar como indicador de la eficiencia en el uso del agua (EUA) foliar, la razón entre asimilación de carbono (A) y transpiración (E), pero únicamente en el caso de que el déficit de presión de vapor (D) se mantenga constante:

$$\frac{A}{E} = \frac{p_a \left(1 - \frac{p_i}{p_a} \right)}{1.6D} \quad (6)$$

Este modelo de discriminación isotópica del carbono en plantas C3 es un modelo para el intercambio gaseoso fotosintético en estado estacionario. Sin embargo, ha sido ampliamente usado en el análisis foliar como indicador de EUA. Existe un gran número de fraccionamientos pos-fotosintéticos (Cernusak et al., 2009), por lo que es aconsejable complementar el análisis de $\delta^{13}\text{C}$ foliar con mediciones fisiológicas adicionales, como el intercambio gaseoso fotosintético, para validar el uso de $\delta^{13}\text{C}$ como indicador de EUA.

El análisis de $\delta^{13}\text{C}$ foliar para comparar la EUA entre distintas especies ha sido una práctica común en el pasado. Sin embargo, la falta de estabilidad temporal en D bajo condiciones naturales y las diferencias existentes entre especies (Smith, 1978) pueden comprometer dicha aplicación (Ecuación 6). Otros factores como las diferencias en la conductancia del mesófilo al CO_2 y los fraccionamientos pos-fotosintéticos también pueden interferir en la relación entre $\delta^{13}\text{C}$ y EUA (Warren y Adams, 2006; Seibt et al., 2008; Bickford et al., 2009). Por ello resulta recomendable la validación de dicha relación con mediciones fisiológicas adicionales.

Para discernir si los cambios en $\delta^{13}\text{C}$ se deben a cambios en A o en E se ha usado el $\delta^{18}\text{O}$, que refleja cambios en la conductancia estomática pero no en la asimilación (Scheidegger et al., 2000; Grams et al., 2007). Sin embargo, el uso del $\delta^{18}\text{O}$ como indicador del comportamiento de los estomas en comparaciones entre especies ha sido cuestionado

recientemente si no son considerados los cambios en las propiedades hidráulicas de la hoja que afectan al camino del flujo transpiracional (L). L refleja el camino que sigue el agua hasta el sitio donde se evapora y aumenta con disminuciones en la disponibilidad hídrica, probablemente por una reducción en la conductancia hidráulica del mesófilo, lo que desemboca en una reducción de $\Delta^{18}\text{O}$ bajo escasez de agua (Kahmen et al., 2008; Ferrio et al., 2009). Dichos cambios en L parecen seguir rutas diferentes entre especies, por lo que la no consideración de variación en L entre especies puede comprometer la validez de $\delta^{18}\text{O}$ para inferir cambios en la conductancia estomática en comparaciones multi-específicas (Ferrio et al. 2009).

$\delta^{18}\text{O}$ y δD en el agua del xilema

Otra aplicación ampliamente expandida de los isótopos estables en la ecología terrestre es su uso para estudiar la fuente de agua usada por las plantas (Ehleringer y Dawson, 1992; Williams y Ehleringer, 2000; Ogle et al., 2004). Dentro de un perfil edáfico se suele observar una composición isotópica diferente de δD y $\delta^{18}\text{O}$ en profundidad, mayoritariamente debido a que: 1) se da un enriquecimiento isotópico de las capas superficiales y 2) las lluvias que caen durante la estación fría tienen una composición isotópica diferente de las que caen en la estación cálida y, mientras que las primeras tienden a percolar por el suelo en profundidad, una gran proporción de las segundas se evaporará rápidamente tras la precipitación. La composición isotópica del agua del xilema se corresponde con la composición isotópica de la fuente cuando no se produce fraccionamiento en la asimilación del agua (Dawson y Ehleringer, 1993). Es por ello que comparar la composición isotópica del agua del xilema entre especies para determinar el solapamiento potencial en fuentes de agua entre especies concurrentes ha sido una práctica común (Ehleringer et al., 1991).

La asunción de no fraccionamiento durante la asimilación de agua en la interfase suelo-raíz ha sido cuestionada recientemente en plantas halófitas y xerófitas (Lin y Sternberg 1993; Ellsworth y Williams 2007). Una separación isotópica ($\Delta^2\text{H} = \Delta^2\text{H}_{\text{agua edáfica}} - \Delta^2\text{H}_{\text{agua xilemática}}$) significativa (del 3‰ al 9‰) ha sido observada en 12 especies halófitas y xerófitas del suroeste de los Estados Unidos (Ellsworth y Williams 2007). Sin embargo, aun se desconoce la frecuencia con la que ocurre dicho fraccionamiento durante la captación de agua, la magnitud de dicha separación isotópica y el mecanismo subyacente. Por ejemplo, estos problemas pueden estar asociados a problemas durante la extracción del agua mediante la destilación criogénica al vacío. Además, el aparente fraccionamiento durante la captación de agua se espera que desaparezca a medida que se acerca al estado estacionario, algo que no fue observado por Ellsworth y Williams (2007). Mientras se clarifica este dilema, se recomienda un análisis de sensibilidad para determinar la incertidumbre potencial asociada con la asunción de no fraccionamiento durante la captación de agua en ambientes xéricos y salinos.

En este número especial hemos reunido cuatro contribuciones sobre las aplicaciones ecológicas de los isótopos estables. Serrano-Ortiz y colaboradores (2010) separan las fuentes de CO_2 en ecosistemas carbonatados a través del $\delta^{13}\text{C}$. Carreira y colaboradores (2010) exploran cómo los isótopos estables han permitido avanzar nuestro entendimiento sobre los ciclos biogeoquímicos. Aguilera y colaboradores (2010) exploran la evolución temporal de EUA en quercíneas mediterráneas. Finalmente, Linares y Camarero (2010) exploran el efecto de aumentos en la concentración de CO_2 sobre EUA.

Agradecimientos

Este número especial surge tras el simposio sobre isótopos estables y cambio global en el IX Congreso de la Asociación Española de Ecología Terrestre (AEET). Tras dicho congreso se formó el grupo de trabajo RIE (Red sobre Isótopos Estables; <http://redisotopos.weebly.com>) abierto a todo aquel interesado en las aplicaciones de los isótopos estables en las ciencias de la tierra, atmosféricas y biológicas. Invitamos a los interesados a incorporarse a RIE a través de la página web y agradecemos el apoyo de los organizadores del congreso, de la AEET, del comité editorial de Ecosistemas así como de los autores y revisores involucrados en este artículo. Gran parte de las ideas aquí expuestas se recogen de trabajos anteriores del autor, quien agradece la colaboración de los coautores en dichos trabajos y, en especial, de D.G. Williams. El autor está financiado parcialmente por el Fondo Social Europeo.

Referencias

- Aguilera, M., Voltas, J., Ferrio, J.P., Serrano, L. 2010. Evolución estacional de $\delta^{13}\text{C}$ en hojas y madera de dos quercíneas mediterráneas concurrentes (*Quercus ilex* subsp. *ballota* L. y *Quercus faginea* Lam.): dinámica de la eficiencia en uso del agua. *Ecosistemas* 19(3):000-000.
- Bickford, C.P., McDowell, N.G., Erhardt, E.B., Hanson, D.T. 2009. High-frequency field measurements of diurnal carbon isotope discrimination and internal conductance in a semi-arid species, *Juniperus monosperma*. *Plant, Cell and Environment* 32:796-810.

Carreira, J.A., Viñegla, B., Blanes, M.C., García-Ruiz, R. 2010. Isótopos estables y cambios de paradigma sobre la biogeoquímica del nitrógeno y del carbono en el suelo. *Ecosistemas* 19(3):000-000.

Cernusak, L.A. et al. 2009. Why are non-photosynthetic tissues generally ^{13}C enriched compared with leaves in C_3 plants? Review and synthesis of current hypotheses. *Functional Plant Biology* 36:199-213.

Dawson, T.E., Ehleringer, J.R. 1993. Isotopic enrichment of water in the 'woody' tissues of plants: Implications for plant water source, water uptake, and other studies which use the stable isotopic composition of cellulose. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57:3487-3492.

Ehleringer, J.R., Dawson, T.E. 1992. Water uptake by plants: perspectives from stable isotope composition. *Plant, Cell and Environment* 15:1073-1082.

Ehleringer, J.R., Phillips, S.L., Schuster, W.S.F., Sandquist, D.R. 1991. Differential utilization of summer rains by desert plants. *Oecologia* 88:430-434.

Ellsworth, P.Z., Williams, D.G. 2007. Hydrogen isotope fractionation during water uptake by woody xerophytes. *Plant and Soil* 291:93-107.

Farquhar, G.D., Hubick, K.T., Condon, A.G., Richards, R.A.. 1988. Carbon isotope fractionation and plant water-use efficiency. En: Rundel, P.W., Ehleringer, J.R. y Nagy, K.A.(eds.), *Stable isotopes in ecological research*, pp 21-40. Springer-Verlag, New York, USA.

Farquhar, G.D., Oleary, M.H., Berry, J.A. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the inter-cellular carbon-dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* 9:121-137.

Ferrio, J.P., Cuntz, M., Offermann, C., Siegwolf, R., Saurer, M., Gessler, A. 2009. Effect of water availability on leaf water isotopic enrichment in beech seedlings shows limitations of current fractionation models. *Plant, Cell and Environment* 32:1285-1296.

Grams, T.E.E., Kozovits, A.R., Haberle, K.-H., Matyssek, R., Dawson, T.E. 2007. Combining $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ analyses to unravel competition, CO_2 and O_3 effects on the physiological performance of different-aged trees. *Plant, Cell and Environment* 30:1023-1034.

Kahmen, A., Simonin, K., Tu, K.P., Merchant, A., Callister, A., Siegwolf, R., Dawson, T.E., Arndt, S.K. 2008. Effects of environmental parameters, leaf physiological properties and leaf water relations on leaf water $\delta^{18}\text{O}$ enrichment in different Eucalyptus species. *Plant, Cell and Environment* 31:738-751.

Lin, G., Sternberg, L. 1993. Hydrogen isotopic fractionation by plant roots during water uptake in coastal wetland plants. En: Ehleringer, J., Hall, A. y Farquhar, G. (eds.). *Stable isotopes and plant carbon-water relations*, pp 497-510, Academic Press Inc., New York, USA.

Linares, J.C., Camarero, J.J. 2010. Evaluando los efectos del cambio global sobre el funcionamiento de los abetos ibéricos mediante análisis de isótopos de carbono en los anillos de crecimiento. *Ecosistemas* 19(3):000-000.

Ogle, K., Wolpert, R.L., Reynolds, J.F. 2004. Reconstructing plant root area and water uptake profiles. *Ecology* 85:1967-1978

Roeske, C.A., O'Leary, M.H. 1984. Carbon isotope effects on the enzyme-catalyzed carboxylation of ribulose biphosphate. *Biochemistry* 23:6275-6284.

Scheidegger, Y., Saurer, M., Bahn, M., Siegwolf, R. 2000. Linking stable oxygen and carbon isotopes with stomatal conductance and photosynthetic capacity: a conceptual model. *Oecologia* 125:350-357.

Seibt, U., Rajabi, A., Griffiths, H., Berry, J. 2008. Carbon isotopes and water use efficiency: sense and sensitivity. *Oecologia* 155:441-454.

Serrano-Ortiz, P., Cuezva, S., Kowalski, A.S., Sánchez-Moral, S. 2010. *Cuantificación y procedencia de los intercambios de CO₂ en un ecosistema carbonatado mediante la técnica de eddy covariance y el análisis de los isótopos estables de carbono*. *Ecosistemas* 19(3):000-000.

Smith, W.K. 1978. Temperatures of desert plants: another perspective on the adaptability of leaf size. *Science* 201:614-616.

Warren, C.R., Adams, M.A. 2006. Internal conductance does not scale with photosynthetic capacity: implications for carbon isotope discrimination and the economics of water and nitrogen use in photosynthesis. *Plant, Cell and Environment* 29:192-201.

Williams, D.G., Ehleringer, J.R. 2000. Intra- and interspecific variation for summer precipitation use in pinyon-juniper woodlands. *Ecological Monographs* 70:517-537.