

Universidad Pública de Navarra

Nafarroako Unibertsitate Publikoa

**ESCUELA TECNICA SUPERIOR
INGENIARIEN
DE INGENIEROS AGRONOMOS
TEKNIKOA**

***NEKAZARITZAKO
GOI MAILAKO ESKOLA***

**EVOLUCIÓN DEL NITRÓGENO EN SUELOS BAJO CUBIERTA DE
BRACHYPODIUM PINNATUM (L.) Y PASTO DIVERSO.**

.....

Presentado por

ASIER ELCARTE AZCUNE

.....(e)k

aurkeztua

**GRADO EN INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL MEDIO RURAL
GRADUA NEKAZARITZAKO ELIKAGAIEN ETA LANDA INGURUNEAREN
INGENIARITZAN (MENCION EAG).**

Junio, 2017 / 2017, Ekaina

Agradecimientos

No puedo terminar este TFG sin agradecer el apoyo recibido por todas aquellas personas que me han ayudado a lo largo de la carrera, bien sea apoyándome en los malos momentos, corrigiéndome y enseñándome.

En primer lugar gracias a la familia por haberme apoyado y ayudado en los malos momentos. A los amigos y compañeros de la universidad por los ánimos y consejos dados.

Concretamente para este trabajo tengo que dar las gracias en primer lugar a la Junta del Valle de Aezkoa por permitir y facilitar todos los estudios que han sido realizados y se están realizando por el grupo de investigación de pastos de la UPNA. Además, tengo que agradecer a Rosa y Leire por darme la oportunidad de realizar este trabajo con ellas y por todos los conocimientos que me han transmitido durante este periodo académico y en las diferentes salidas a campo que he realizado con ellas. Por último, agradecer a Leticia toda la ayuda prestada a la hora de analizar e interpretar los datos de este trabajo.

A todos ellos, muchas gracias.

Rosa María Canals, profesora titular del área de Producción Agraria de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de la Universidad Pública de Navarra.

INFORMA:

Que el trabajo fin de grado titulado “EVOLUCION DEL NITROGENO EN SUELOS BAJO CUBIERTA DE *BRACHYPODIUM PINNATUM* (L.) Y PASTO DIVERSO” que presenta el alumno ASIER ELCARTE AZCUNE, ha sido realizado en el departamento de Producción Agraria bajo mi dirección, cumple las condiciones exigidas y autorizo su presentación.

Y para que así conste, firmo el presente informe en Pamplona, a 9 de Junio de 2017.

Índice general

Agradecimientos	2
Índice general	4
Índice de Tablas	5
Índice de Figuras	6
Abreviaturas	7
0. Resumen	8
1. Antecedentes	10
2. Introducción	11
2.1. Descripción de <i>B. pinnatum</i> y características de las comunidades que constituye	11
2.2. Expansión de <i>B. pinnatum</i> ante condiciones de cambio de usos de los pastos	14
2.3. El nitrógeno en medios naturales	15
3. Objetivos	16
4. Material y métodos.....	17
4.1. Planteamiento del experimento	17
4.2. Puesta a punto del experimento.....	18
4.3. Seguimiento del experimento y toma de muestras	20
4.4. Análisis de muestras en laboratorio.....	24
4.4.1. Análisis de muestras de suelo.....	24
4.4.2. Análisis de los lixiviados.....	26
4.5. Análisis estadístico de datos.....	27
5. Resultados y Discusión	28
5.1. Análisis de suelos	28
5.2. Análisis de lixiviados	30
6. Conclusiones	37
7. Bibliografía	38

Índice de Tablas

- I. Tabla 1: Características pasicolas de *B. pinnatum* en diferentes ambiente. (Fuente: www.navarra.es).....13
- II. Tabla 2: Cronograma de actividades realizadas en el experimento una vez realizadas las quemas.....22
- III. Tabla 3: Medias y errores estándares (EE) de las variables de suelo estudiadas que son el resultado del ANOVA. NOD: Nitrógeno orgánico disuelto y BMN: Nitrógeno de la biomasa microbiana. Niveles de significancia: NS= No significativo ($p>0,1$), + = siguen una tendencia ($p>0,05$), *=dato significativo ($p<0,05$), **=dato significativo ($p<0,01$) y ***= dato significativo ($p<0,001$). 1: Datos transformados mediante ecuación logarítmica y 2: Datos transformados por raíz cuadrática.....28
- IV. Tabla 4: Resultados de los modelos lineales mixtos, para evaluar los efectos de las quemas y no quemas en los lixiviados. Com= comunidad, ppm= partes por millón. Los efectos fijos son la comunidad, el fuego (fue), la fecha (fe) y sus interacciones. Efectos significativos ($p<0,05$). LR: likelihood ratio.....31

Índice de Figuras

I.	Figura 1: Distribución de <i>B. pinnatum</i> en Navarra. (Fuente: www.navarra.es).....	11
II.	Figura 2: Dibujo de <i>B. pinnatum</i> y partes de la planta. Autor: Lindman, C.A.M.....	12
III.	Figura 3: Localidad de Orbaizeta (Navarra). Coordenadas ETRS-89: 42° 58' 27,42''N y 1° 13' 45,02''W.....	17
IV.	Figura 4: Experimento de <i>B. pinnatum</i> . (Múgica, sin publicar).....	18
V.	Figura 5: Preparación de los tepes.....	19
VI.	Figura 6: Colocación de las macetas en el invernadero multitunel.....	19
VII.	Figura 7: Adaptación de las muestras en el invernadero	20
VIII.	Figura 8: Proceso de quema de las macetas con el soplete portátil.....	21
IX.	Figura 9: Macetas tras la quema.....	21
X.	Figura 10: Proceso de recogida de los lixiviados.....	22
XI.	Figura 11: Evolución del nitrato, amonio y nitrógeno orgánico tras cada tratamiento. Gris continuo= <i>B. pinnatum</i> quemado, Gris discontinuo= <i>B. pinnatum</i> no quemado, negro continuo= pasto diverso quemado y negro discontinuo= pasto diverso no quemado. ppm=partes por millón e indica la concentración en el lixiviado, mg/l = miligramos por litro e indica la cantidad de nitrógeno en sus diferentes forma en el lixiviado y mg de nitrógeno acumulado mide los miligramos que se acumularon en total en los lixiviados tras las cinco recogidas que se realizaron.....	32

Abreviaturas

NOD: Nitrógeno orgánico disuelto.

ppm: partes por millón.

ANOVA: Análisis de la varianza (ANAlisis Of VAriance).

M: Concentración molar.

nm: nanómetros. Unidad de medida de la absorbancia.

MO: Materia orgánica.

psi: Pounds per square inch. Mide la presión.

BMN: Nitrógeno fijado en la biomasa microbiana.

NP: Nitrificación potencial.

PNG: p-nitrophenyl-b-d-glucopyranoside

LR: Likelihood ratio.

p: p-valor. Mide la significancia.

PNP: p-nitrofenil fosfato hexahidratado

0. Resumen

Brachypodium pinnatum (L.) es una especie de baja palatabilidad dominante en lugares de fuerte pendiente y de difícil acceso para el ganado donde la presión pastante es baja. La expansión de *B. pinnatum* en determinadas circunstancias provoca una degradación de los pastizales debido a su desmesurada expansión en comparación con otras especies. Esta expansión se ve favorecida por su plasticidad para adaptarse a diferentes ambientes, su potente sistema rizomatoso que le permite acumular y captar nutrientes, hojas muy duraderas en el tiempo etc. Otro de los aspectos que ha favorecido a la especie ha sido el uso del fuego para contrarrestar la rápida matorralización que se da en el Pirineo Navarro.

El objetivo del estudio fue ver la evolución del nitrógeno en suelos bajo comunidades de pasto diverso y suelos bajo comunidades de *B. pinnatum* para determinar el efecto de la expansión de esta especie en el ciclo del nitrógeno terrestre.

Para ello, se preparó un estudio con 48 macetas, de las que 24 fueron de *B. pinnatum* y las restantes de pasto diverso. De las 24 macetas de cada pasto, la mitad fueron quemadas y la otra mitad se dejaron sin quemar. Por lo que el experimento se quedó con 12 muestras de *B. pinnatum* quemadas, 12 de *B. pinnatum* sin quemar, 12 de pasto diverso quemadas y 12 de pasto diverso sin quemar. En primer lugar, se realizó un análisis de suelo para determinar el estado de cada tipo de suelo y las diferencias que había bajo los suelos de las diferentes cubiertas, más tarde, se quemaron las 24 muestras que se habían preparado y tras la quema se recogieron en 5 fechas diferentes los lixiviados tras el riego y se analizaron en laboratorio el nitrógeno mineral y el nitrógeno orgánico disuelto.

Los resultados del estudio mostraron que los suelos dominados por *B.pinnatum* tuvieron mayores contenidos en nitrógeno orgánico disuelto y mineral que los suelos de pasto diverso. Además a partir de la composición de los lixiviados se dedujo que los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* mostraron preferencia por el nitrógeno en forma de amonio, mientras que los suelos bajo cubierta de pasto diverso tuvieron preferencia por la absorción de nitrógeno en forma. Por último, se vio como los suelos bajo cubiertas no quemadas tuvieron se produjo menor cantidad de DON, por lo que la cantidad lixiviada fue menor.

Palabras clave: Fuego, nitrógeno orgánico disuelto, nitrógeno mineral, pasto diverso y *B.pinnatum*.

Abstract

Brachypodium pinnatum (L.) is a low palatable native grass which usually dominates areas with big slopes and with wrong access for livestock when the grazing pressure is low. The expansion of this specie, in some situations, causes a degradation of the grasslands. This is produced by the excessive growth in comparison with other species. This excessive growth is benefited by its environmental plasticity to adapt to different ecosystems, its vigorous rhizome and its high ramet density cause thick turfs with strong light interception. Another factor which has benefited the expansion of *B. pinnatum* has been the use of prescribed fires to control de shrub encroachment.

The objective of this research was to see the evolution of the nitrogen in soils under polifit communities and soils under *B. pinnatum* communities. We did it to check the capacity of each soils to retain the nitrogen.

For the research, we prepared 48 pots, 24 of *B. pinnatum* and 24 of polifit communities. Then, we burned 12 pots of *B. pinnatum* and 12 more of polifit communities. Before the burning, we analyzed the soils of each type of grass communities to see the main differences between the two types of soils. After the burning, we collected the leaching for the plots and we analyzed mineral nitrogen (ammonium and nitrate) and the dissolved organic nitrogen (DON).

The results of the research showed that the soils dominated by *B. pinnatum* had higher quantity of DON and mineral nitrogen than soils with polifit communities. In addition, we could see that the soils under *B. pinnatum* absorbed higher quantity of ammonium because they have preferences in that type of nitrogen form. However, the soils under polifit communities absorbed higher quantity of nitrate because they have preferences in that type of nitrogen form. Finally, the research showed that burned plots produce higher quantity of DON that non-burned plots.

Key words: Fire, dissolved organic nitrogen, mineral nitrogen, polifit communities and *B. pinnatum*.

1. Antecedentes

El experimento es consecuencia de varios estudios que han sido llevados a cabo en el Valle de Aezkoa, sobre la expansión de *B. pinnatum* L. en comunidades de pastos de altura. Se ha observado que esta especie de baja palatabilidad es dominante en lugares de fuerte pendiente y de difícil acceso para el ganado donde la presión pastante es baja. Es muy importante su plasticidad a diferentes ambientes (Schlapfer y Fischer, 1998; Mojzes *et al*, 2003) y su potente sistema rizomatoso que le permite una gran acumulación de nutrientes que asegura que la especie tenga un temprano rebrote y una rápida propagación vegetativa (Bobbink *et al*, 1988).

La expansión de *B. pinnatum* en determinadas circunstancias provoca una degradación de los pastizales debido a su desmesurado crecimiento en comparación con otras especies y el escaso aprovechamiento por los herbívoros. Ésto provoca la gran acumulación de necromasa, que dificulta el crecimiento de otro tipo de especies. Además, esta especie se vuelve dominante y la diversidad de especies en el pasto se ve tan reducida que comunidades de pastos polífitos pasan a ser comunidades de pastos monófitos. Así mismo, la calidad de estos baja notablemente (Duran 2013).

En estudios anteriores se ha comprobado como *B. pinnatum* es más eficiente en la utilización de nitrógeno inorgánico en forma de amonio con respecto a otros tipos de pastos (*Festuca rubra* L.) (Canals *et al*, 2014). Debido a que las quemas favorecen la liberación de nitrógeno mineral en el suelo, se puede pensar que el fuego puede favorecer la dominancia de esta especie, por lo que incrementando la frecuencia de quemas se podría estar favoreciendo la degradación de los pastos de estas zonas de los Pirineos.

Esta degradación de los pastos que se está produciendo es muy perjudicial para un Valle como el de Aezkoa, en el que la ganadería es uno de los pilares de la economía y donde las explotaciones ganaderas son insostenibles sin los pastos de la zona. Por ello, unos pastos degradados de mala calidad provocan unas menores rentabilidades para los ganaderos y al mismo tiempo menores ingresos para la Junta del Valle.

Además de ser un problema económico es un problema ambiental. En concreto, en este Trabajo final de grado, se quiere conocer si un suelo de pasto diverso es capaz de retener mejor el nitrógeno que un suelo degradado bajo una cubierta monófita de *B. pinnatum* y también se quiere conocer como el fuego afecta a los procesos de lixiviación de ambas especies.

2. Introducción

2.1. Descripción de *B. pinnatum* y características de las comunidades que constituye

B. pinnatum, es una gramínea ampliamente expandida en Europa. Está presente en pastos mediterráneos del centro de Italia (Bonanomi y Allegrezza 2004), en los Apeninos (Catorci et al, 2011), en pastizales calcáreos del centro (Bobbink y Willems 1987) y norte de Europa (Buckland *et al*, 2001) y en pastos calcáreos de Alemania (Bobbink *et al*, 1988).

En Navarra se encuentra por toda la mitad norte, el límite meridional está constituido por las sierras de Codés, Perdón, Alaitz y Leire.



Figura 1: Distribución de *B. pinnatum* en Navarra. (Fuente: www.navarra.es).

B. pinnatum es una planta de la familia de las poáceas que puede llegar a alcanzar un tamaño de 120 cm. Presenta tallos pilosos en los nudos y rizomas en la parte subterránea. Sus hojas son planas, de hasta 8 mm de ancho, con pelos en el haz y nervios bien visibles. Tiene lígula membranosa. El color de las hojas es verde-amarillento. Presenta inflorescencias en racimo, con 15 espiguillas lanceoladas, numerosas flores por espiguilla y una arista corta en el extremo del lema (Durán 2013).

Es un pasto denso de talla media alta (30-40cm) que recubre el suelo totalmente. Suele ser frecuente la presencia de arbustos característicos de sus etapas de sustitución (matorrales de otabera, argomales, brezales, tomillares y aliagares submediterráneos). Además, es frecuente la presencia de leñosas sufruticasas rastreras. Normalmente la presencia de suelo desnudo suele ser <10%, es decir, el suelo está totalmente recubierto y en ocasiones es frecuente la presencia de helechos (*Pteridium aquilinum*).

Los pastos de *B. pinnatum* son pastos mesoxerófilos de óptimo eurosiberiano y submediterráneo con tendencia basófila, dominados por gramíneas vivaceas bastas y duras de

talla media-alta, entre las que predomina *B. pinnatum*, que suele localizarse en zonas donde la presión ganadera es baja.

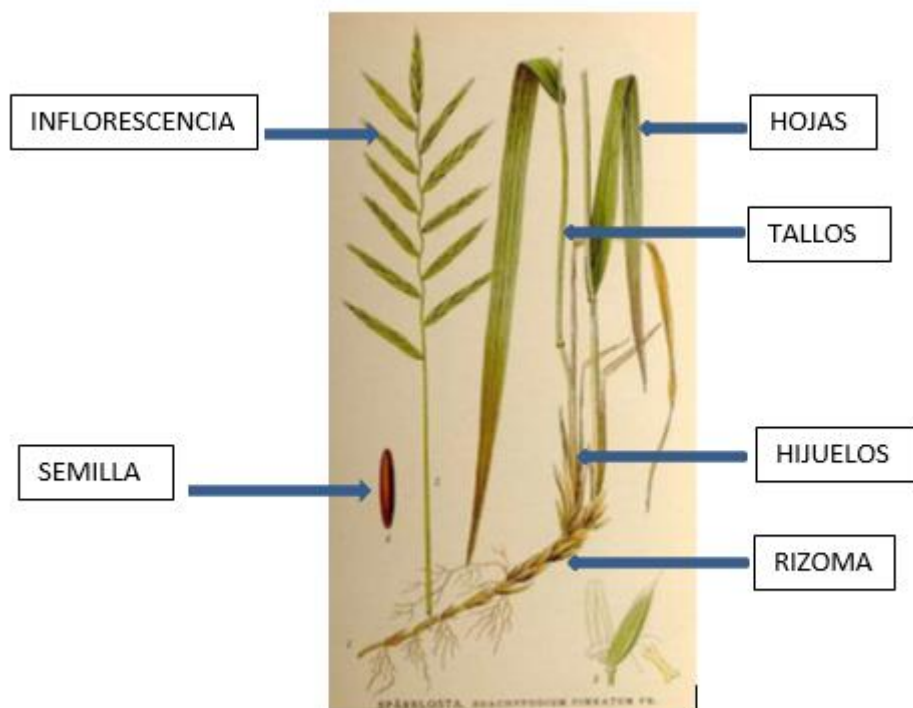


Figura 2: Dibujo de *B. pinnatum* y partes de la planta. Autor: Lindman, C.A.M.

Las especies herbáceas que junto a *B. pinnatum* componen los pastos en la zona del Pirineo occidental son *Festuca rubra*, *Agrostis capillaris*, *Carex caryophylla*, *Avenula sulcata*, *Potentilla montana*, *Potentilla erecta*, *Gallium saxatile*, *Danthonia decumbens*, etc. Las leñosas que se integran en los pastos característicos de esta zona son las leñosas habituales en argomales y brezales (*Ulex gailli*, *U.europaeus*, *Erica vagans* y *Calluna vulgaris*) y otaverales (*Genista occidentalis*). Además, es frecuente la presencia de sufruticosas rastreras (*Thymus polytrichus*) y de helechos (*Pteridium aquilinum*).

Desde el punto de vista pascícola, los pastos de *B. pinnatum* producen una gran cantidad de biomasa que resulta de muy baja calidad y escasa palatabilidad. Dominan especies bastas y duras, con altos porcentajes en fibra y baja digestibilidad de la materia orgánica, aunque en ciertas ocasiones se encuentra con algunas herbáceas de valor pascícola medio como *Dactylis glomerata*, *Agrostis capillaris*, *Festuca rubra*, etc, en los cántabro-pirenaicos y *Sanguisorba minor*, *Carex flacca*, *Helictotrichon cantabricum*, etc, en los submediterráneos. Las leguminosas, en general, no suelen ser muy abundantes aunque se pueden encontrar: *Trifolium repens*, *T. pratense*, *T. campestre*, *Lotus corniculatus*, *Medicago lupulina*, etc. (www.navarra.es).

Características pascícolas			
	Cantábricos	Pirenaicos	Submediterráneos
Apetecibilidad	Media-Baja	Media-Baja	Media-Baja
Valor pastoral	16 - 32	11 - 34	16 - 34
Oferta energética teórica (LFL/ha·año)	880 - 1.760	495 - 1.530	720 - 1.530
Carga ganadera teórica (UGM/ha·año)	0,3 - 0,6	0,2 - 0,5	0,2 - 0,5

Tabla 1: Características pascícolas de *B. pinnatum* en diferentes ambientes. (Fuente: www.navarra.es).

Los pastos formados por *B. pinnatum* en el área Pirenaica se caracterizan por su precocidad, ya que suelen ocupar áreas expuestas al sur de escaso desarrollo y poca capacidad de retención hídrica. Sin embargo, en zonas de suelos profundos que conservan la humedad, alargan su ciclo hasta el verano. El pico de producción se produce en primavera, en el verano la producción cae y en otoño vuelve a producirse un rebrote causado por las lluvias estivales. La calidad del pasto, teniendo en cuenta que es mala, sigue un patrón muy parecido. Suelen ser pastados, en general, con escasa intensidad por ganado ovino, equino y vacuno entre las estaciones de primavera y otoño. Muchas veces no son pastados porque estos pastos se encuentran en lugares de fuertes pendientes en los que el ganado no entra. Son pastos cuya expansión indican una baja carga ganadera. (www.navarra.es).

Con cargas ganaderas bajas o cuando se abandonan, evolucionan a diferentes comunidades arbustivas dependiendo del ámbito biogeográfico en el que se encuentran (argomales, brezales de *Erica vagans* y matorrales de otavera). En determinados casos, esta evolución se ve ralentizada por la gran acumulación de biomasa herbácea y el intrincado sistema radicular del lastón.

En los casos en los que es posible utilizar altas intensidades de pastoreo, evolucionan rápidamente a pastos de mayor calidad (pastos mesofíticos de *Festuca rubra* gr. y *Agrostis capillaris*), y si estas cargas van acompañadas de labores de mejora (abonados, encalados, etc.) a prados de *Cynosurion*. Por lo que son pastos con un alto potencial de mejora.

Con el fin de aprovechar de forma óptima la producción herbácea, evitando la acumulación de necromasa, y mejorar asimismo su calidad y palatabilidad, es necesaria una correcta regulación del pastoreo (cargas, periodos de aprovechamiento, tipos de ganado etc.), apoyada con la instalación de infraestructuras estratégicamente distribuidas en el territorio. Lo más conveniente es efectuar un aprovechamiento temprano, con el fin de obtener un rebrote más tierno y más apetecible para el ganado. El ganado que hace un mejor uso de estos pastos es el ganado mayor, sobre todo el equino, por ser muy poco exigente en calidad de la hierba y por su capacidad de movilización de reservas corporales. La labor de limpieza que puede realizar es muy importante, contribuyendo a mejorar el pasto y por lo tanto a las posibilidades de ser utilizado posteriormente por el ganado más selectivo como el ovino (www.navarra.es).

2.2. Expansion de *B. pinnatum* ante condiciones de cambio de usos de los pastos

En los últimos años la expansión de esta especie ha sido objeto de análisis por varios grupos de investigación de toda Europa. Los estudios realizados por los autores anteriores han relacionado la expansión de *B. pinnatum* con el abandono de las técnicas tradicionales de gestión de pastos como el pastoreo tradicional y la siega (Buckland *et al*, 2001; Catorci *et al*, 2011), el enriquecimiento de nitrógeno favorecido por el abandono de tierras de cultivo (Bonanomi *et al*, 2006), el enriquecimiento en nitrógeno del suelo por deposiciones de N proveniente de la atmosfera (Bobbink *et al*, 1998) y quemas regulares de pastos (Kohler *et al*, 2005).

Este proceso se manifiesta de forma clara en la zona Pirenaica del Valle de Aezkoa que abarcan una gran cantidad de comunidades pascícolas. La matorralización en esta zona es particularmente rápida. Esta comunidad en concreto se ve favorecida por las bajas altitudes y abundantes precipitaciones. En la zona del Valle de Aezkoa es común el uso de las quemas por los ganaderos para el control de la matorralización. Estas quemas se realizan en invierno y están autorizadas por las entidades locales en su mayor parte, aunque también existen quemas furtivas (Canals *et al*. 2014).

Un régimen interno de quemas y un bajo aprovechamiento ganadero provoca la expansión de *B. pinnatum*. En las áreas donde esta especie se vuelve dominante, la biodiversidad del pasto cae dramáticamente y queda abandonada por el ganado, es decir, el ganado no la pasta por su baja palatabilidad.

La rápida expansión de *B. pinnatum* también se debe a las siguientes habilidades competitivas que tiene la especie respecto a otras especies:

- La alta diversidad de clones genéticos hace que tenga una adaptación plástica (Mojzes *et al*, 2003; Schlapfer y Fischer, 1998).
- La gran superficie foliar hace que capte mucha más energía mediante la fotosíntesis (Bobbink *et al*, 1988).
- Las hojas son duraderas en el tiempo (Catorci *et al*, 2014).
- El poderoso rizoma produce un aprovechamiento más eficiente de los nutrientes en comparación con otras especies (Bobbink *et al*, 1988).
- Gran capacidad de reproducción asexual (Baba *et al*. 2012).

Por lo tanto, la expansión extensiva de una sola especie, aunque sea nativa como el caso de *B. Pinnatum*, tiene efectos perjudiciales en el ecosistema que son difíciles de determinar (Valery *et al*, 2009). Todos los factores que han favorecido la expansión de esta especie en los pastos han provocado una caída en la biodiversidad del pasto.

Esta pérdida de biodiversidad es importante, ya que provoca un empobrecimiento de los pastos de montaña debido a la colonización del pasto polífita por parte de la especie en estudio, provocando que los pastos polífitos evolucionen hacia pastos monófitos y que la mejora de estos pastos sea cada vez de mayor dificultad.

2.3. El nitrógeno en medios naturales

El nitrógeno en ecosistemas naturales es un bien escaso y limitante, es el nutriente más importante para las plantas. Es el principal responsable de su crecimiento y forma parte de las proteínas, clorofila, hormonas etc. En ecosistemas naturales se puede encontrar en diferentes formas: nitrógeno orgánico o mineral. Hasta finales del siglo XIX se creía que las comunidades vegetales utilizaban únicamente formas inorgánicas del nitrógeno. Más tarde se vio como en ecosistemas oligotróficos naturales las comunidades vegetales utilizaron formas orgánicas de nitrógeno como aminoácidos. Esto fue visto en la tundra Ártica por Chapin *et al* (1993) y Kielland (1994), en ecosistemas alpinos por Jones y Kielland (2002) y Lipson y Monson (1998), en humedales por Henry y Jefferies (2002) y en desiertos por Schiller *et al* (1998). Estos estudios mostraron que las plantas son capaces de utilizar el nitrógeno orgánico disuelto en forma de aminoácidos (Finlay *et al* 1992), péptidos (Bajwa *et al* 1985), proteínas (Abuzinadah y Read 1986; Finlay *et al* 1992) y otras formas de NOD. Todos estos estudios apuntan, que al parecer el uso de NOD por las comunidades vegetales en ecosistemas donde el nitrógeno es limitado es común. Es cierto que ningún estudio ha dejado claro la cantidad del nitrógeno total que han cogido las comunidades vegetales tiene procedencia orgánica (Leadley *et al* 1997).

Además de la escasa disponibilidad de nutrientes en ecosistemas naturales, en los suelos de estos ecosistemas existen microorganismos que compiten por el nitrógeno con las comunidades vegetales para poder desarrollarse. En el siglo XIX, también se creía que las poblaciones microbianas del suelo competían de forma más satisfactoria por el nitrógeno que las plantas, por lo que esta situación todavía hacía que el nitrógeno fuera más limitante (Liebig y Playfair 1847). Esta teoría también fue desestimada, ya que varios estudios mostraron como las plantas podían competir por el nitrógeno con las poblaciones microbianas. Hubo estudios que mostraron como en ecosistemas limitados en nitrógeno las poblaciones microbianas empeoraban cuando la planta cogía nitrógeno. Además, las menores tasas de mineralización neta respecto a la cantidad de nitrógeno absorbido por las comunidades vegetales también mostró que las segundas son capaces de competir con las poblaciones microbianas por el nitrógeno (Schmidt *et al* 1999).

Como la presencia de nitrógeno en formas que las plantas puedan cogerlo es limitado en la mayor parte de los ecosistemas. Muchas especies vegetales nativas están adaptadas a que el nitrógeno sea un elemento limitado en el medio. Nuevas aportaciones de nitrógeno en estos ecosistemas pueden causar cambios considerables sobre las especies dominantes y una reducción marcada en la diversidad de las especies, debido a que hay unas pocas especies que están mejor adaptadas para aprovechar las altas concentraciones de nitrógeno, compiten mejor con el resto de especies y al final terminan desplazando a las especies menos competitivas. Este sería el caso de la especie que se estudia en esta experimentación: *B. pinnatum*.

Por último se debe tener en cuenta que el nitrógeno como nutriente es un elemento muy móvil que interactúa directamente en el desarrollo de las plantas durante todo el ciclo. Su movilidad hace que sea un nutriente que se lixivie fácilmente provocando la contaminación de ecosistemas acuáticos.

3. Objetivos

El objetivo del presente trabajo final de grado es conocer si los suelos de pasto diverso tienen una mayor capacidad para retener mejor el nitrógeno que los suelos degradados bajo cubierta de *B. pinnatum* y conocer como el fuego afecta a los procesos de pérdida de nitrógeno en estos ecosistemas oligotróficos.

4. Material y métodos

4.1. Planteamiento del experimento

El experimento se encuentra en los túneles multicapilla de la finca de prácticas de la Escuela Superior de Ingenieros Agrónomos en Pamplona (Navarra).

Los invernaderos proporcionan un techo cubierto que permite que se controle el aporte de agua a las macetas. Además, favorece la ventilación y disminuye el efecto invernadero.

Para el experimento se escogieron dos tipos de comunidades de pasto, el primero un pasto dominado por *B. pinnatum* y el segundo un pasto diverso en el que la especie más frecuente es *F.rubra*, pero en el que puede encontrarse *B. pinnatum*.

Los tepes fueron recogidos los días 6 y 7 de Junio de 2016. Para cada tipo de pasto se cogieron 24 tepes, es decir, que en total fueron 48 tepes que se colocaron en macetas. La localidad donde se recogieron las muestras fue en Orbaizeta (Navarra), la recogida de tepes fue en la zona de la Cueva de Arpea en la que se encuentran pastos monófitos de *B. pinnatum* y comunidades de pasto diverso.



Figura 3: Localidad de Orbaizeta (Navarra). Coordenadas ETRS-89: 42° 58' 27,42"N y 1° 13' 45,02"W.

Junto a cada tepe se recogió una muestra de suelo (9 mm de diámetro y 10 mm de profundidad). Los tepes de comunidades monófitas (*B. pinnatum*) pertenecen a una ladera con

alta pendiente, contigua a una de pastos diversos donde la pendiente es menor. La dimensión de los tepes es de 20 cm x 20 cm x 20 cm aproximadamente.

En la zona dominada por *B. pinnatum* existieron complicaciones para extraer los tepes, debido a la elevada pendiente, gran acumulación de vegetación verde y seca y el rizoma, todo esto provocó que la utilización de la pala fuera muy dificultosa.

Los tratamientos que se aplicaron a cada tipo de pasto fueron los siguientes. En cada tipo de pasto se quemaron 12 tepes y se dejaron sin quemar otros 12, por lo que en total quedaron 24 tepes de con comunidades vegetales quemadas y otros 24 con las comunidades vegetales sin quemar (Múgica, sin publicar).

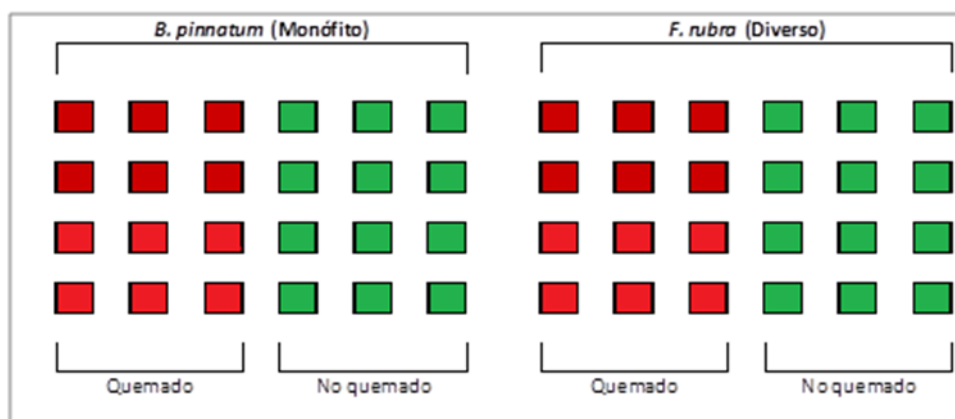


Figura 4: Experimento de *Brachypodium pinnatum*.

4.2. Puesta a punto del experimento

Tras la recogida de los tepes se procedió a introducirlos en macetas. Las características de las macetas son las siguientes: macetas cuadradas, de plástico, con unas dimensiones aproximadas de 22x22 cm la parte superior, de 18x18 cm la parte inferior y de 20 cm de profundidad. Éstas fueron recubiertas de papel de aluminio con el objetivo de disipar la radiación solar y así evitar un sobrecalentamiento en épocas con temperaturas elevadas.



Figura 5: Preparación de los tepes.

Se les colocó un tubo para recoger lixiviados. Para colocarlo se realizó un agujero en el fondo de la maceta, en una esquina con un taladro con broca de 9 mm de diámetro. Se colocó el tubo de silicona que tiene un diámetro exterior de 10 mm y un diámetro interior de 6 mm y se selló a la maceta con pegamento y silicona.

Una vez preparadas las macetas, se procedió a la introducción de los tepes en éstas. En primer lugar, se colocaron 2-3 cm de arlita en el fondo de la maceta con el objetivo de mantener el lixiviado, más tarde se introdujeron los tepes en la maceta, para ello fue necesario cortar y adaptar la forma del tepe a la maceta alterando mínimamente la estructura del suelo original.



Figura 6: Colocación de las macetas en el invernadero multitúnel.

Tras la introducción de los tepes en las macetas, se procedió a trasladar las macetas al invernadero y se colocaron de forma aleatoria como muestra la figura 7. Una vez se llevaron las macetas al invernadero, se colocaron sobre cajas de plástico, la función de éstas fue y es la de aislar las macetas del suelo para que no absorbieran humedad de él. Además, las macetas fueron colocadas cerca de la puerta (manteniéndola abierta) para favorecer la ventilación y disminuir el incremento de temperaturas que puedan producirse dentro del túnel.

El periodo de adaptación de las plantas fue de cuatro meses. Durante este periodo de tiempo se realizó un riego de mantenimiento que consistió en 3 riegos por semana con una cantidad de 300-500 ml/maceta aproximadamente. Las semanas con elevadas temperaturas ($T < 30^{\circ}\text{C}$) la frecuencia de riego fue mayor, pero en cada riego la cantidad de agua fue menor.



Figura 7: Adaptación de las muestras en el invernadero multicapilla.

4.3. Seguimiento del experimento y toma de muestras

La quema se realizó el 8 de febrero de 2017 (días previos a la quema se procede a regar las macetas para simular las condiciones reales de las quemas en el campo).

Antes de proceder a quemar, se midieron la temperatura del suelo de las macetas y la humedad que hay en ellas. La temperatura se midió mediante un termómetro con una sonda que se introduce en el suelo y la humedad se midió con un higrómetro.

El proceso para realizar la quema fue el siguiente, en primer lugar, se midió la temperatura del suelo con un termómetro con sonda, seguido se aisló la maceta que se iba a quemar del resto para evitar los daños por el fuego en las otras macetas y por último se procedió a quemar la vegetación con la ayuda de un soplete portátil. El tiempo empleado para quemar cada muestra fue diferente, ya que las macetas que contienen *B. pinnatum* contenían mayor biomasa que las de pasto diverso y por lo tanto el tiempo empleado en quemarlas fue mayor. De todos modos, el tiempo empleado para la quema osciló entre uno y tres minutos dependiendo de cada una de las muestras. Tras terminar el proceso de quema se volvió a medir la temperatura. Además se determinó la máxima temperatura alcanzada en superficie, por lo que se determinó que la quema era de baja intensidad.



Figura 8: proceso de quema de las macetas con el soplete portátil.

Una vez se quemaron las muestras, se comenzaron a realizar una serie de intervenciones en las macetas. Esta serie de intervenciones vienen detalladas en la tabla 2. En ésta se recoge cada una de las actividades que fueron realizadas tras la introducción de las macetas en el invernadero.



Figura 9: Macetas tras la quema.

El 21 de septiembre de 2016 se quisieron regar las muestras para quemarlas en días posteriores, debido a que hubo una fuga días antes y el material vegetal de las macetas que se habían regado se reverdeció. Se tomó la decisión de retrasar la quema hasta que todo el material vegetal estuviera completamente seco. Esta decisión pareció adecuada, ya que las quemaduras suelen producirse en época invernal.

El día 23 de marzo de 2017 se midieron las temperaturas de las muestras a lo largo del día. Fue medida cuatro veces. La primera fue a las 8:00 de la mañana, la segunda se realizó a las 12:00, la tercera a las 16:00 y la cuarta a las 20:00. Se trató, con la intención de que la separación horaria entre las medidas fueran iguales (4 horas entre medidas) y se pretendió ver si la ausencia de cubierta vegetal (muestras quemadas) afectaba a la temperatura del suelo.

Tabla 2: Cronograma de las actividades realizadas en el experimento

Fecha	Análisis de suelo	Inventario florístico	Riego	Relleno suelo	Quema	Medición de temperatura	Medición de la humedad	Recogida de lixiviados
8-24 /06/ 2016								
Junio - septiembre 2016								
30/06/2016 - 05/07/2016								
22/07/2016 – 09/09/2016								
21/09/2016								
08/02/2017								
09/02/2017								
16/02/2017								
23/02/2017								
02/03/2017								
09/03/2017								
15/03/2017								
16/03/2017								
23/03/2017								
30/03/2017								
05/04/2017								
10/04/2017								
19/04/2017								
26/04/2017								
03/05/2017								
10/05/2017								
17/05/2017								

La tabla 2 muestra como los días que se recogieron lixiviados se siguió una intervención parecida que consistió en los siguientes pasos, medida de humedad, medida de temperatura, riego y recogida de lixiviados. En primer lugar se midieron las temperaturas mediante un termómetro de suelo. Se introdujo la sonda 5 cm en el centro de la maceta y se esperó a que los valores de temperatura que da el termómetro se estabilizasen (45 segundos/muestra).

Para la medida de la humedad se utilizó un higrómetro que contenía tres sondas que se introducen en el suelo, la lectura del valor de la humedad se lee mediante un lector que va conectado a la sonda. La sonda, al igual que en la temperatura, se introdujo en el centro de la maceta, el lector instantáneamente muestra el dato del valor de la humedad del suelo. Tanto para la introducción de la sonda de la temperatura como para las sondas de medida de la humedad se apreció como las macetas de *B. pinnatum* estaban menos compactadas que las de pasto diverso. Esto se debe a que al no ser pastada por el ganado, los suelos donde *B. pinnatum* está presente están menos compactados y por lo tanto la introducción de la sonda fue más fácil en las macetas de pastos monófitos que en las macetas de pastos diversos.

Para el riego se utilizó un vaso de precipitado de 250mL y un regador portátil de pequeñas dimensiones para que el agua cayera a la maceta simulando una precipitación real. Hasta el 2 de marzo de 2017, la cantidad que se aplicó a las macetas fue de 600mL. Esta cantidad fue suministrada en dos aplicaciones consecutivas de 300mL. Más tarde, se decidió reducir la cantidad total de agua en 200mL, ya que se creyó que 600mL era una cantidad excesiva. Por último, a partir del 23 de marzo de 2017, se decidió aumentar la frecuencia de los riegos debido al aumento de las temperaturas y el crecimiento de la vegetación. A partir de entonces se aplicaron riegos más frecuentes de 300mL.

La recogida de los lixiviados se realizó tras el riego. Antes de comenzar el riego, se colocaron vasos de precipitado numerados debajo de los tubos de silicona de cada maceta. Tras el riego, se esperó a que cesara la caída de lixiviados de los tubos de silicona a los vasos de precipitado. Más tarde, se apuntó la cantidad de lixiviados por cada maceta. Tras este paso se procedió a preparar las muestras para enviar al laboratorio y analizar el nitrógeno orgánico y mineral de estos.



Figura 10: proceso de recogida de los lixiviados.

Para la preparación de las muestras se vio la necesidad de filtrarlas. Para ello, sobre unos embudos se colocó papel de filtro, se lavó con agua destilada y tras este paso se filtraron 60-100mL de cada muestra en tubos numerados. La recogida de los lixiviados se realizó en el invernadero de la finca. La preparación de las muestras normalmente se realizó en el invernadero, aunque en una de las cinco recogidas este paso se hizo en el laboratorio. Para la preparación de las muestras en laboratorio la única diferencia fue el mayor higiene que se debe de tener con las muestras y que añaden reactivos para medir el nitrógeno.

4.4. Análisis de muestras en laboratorio

4.4.1. Análisis de muestras de suelo

En los análisis de suelo que fueron realizados en junio de 2016, se analizó la humedad del suelo, el pH, el nitrógeno mineral (NO_3^- y NH_4^+), la nitrificación potencial (NP), el nitrógeno fijado por la biomasa microbiana (BMN) y por último la actividad enzimática de la glucosidasa, fosfatasa y ureasa.

La humedad del suelo se midió pesando un volumen determinado de suelo fresco que se introdujo en la estufa durante 24 horas, más tarde se volvió a pesar y se obtuvo la humedad. Para corregir el valor, se tamizó el suelo seco y se extrajeron las rocas con diámetro mayor a 2mm, se pesaron y se corrigió el valor de la humedad.

El pH en los suelos es importante, ya que da información sobre la acidez o basicidad de los suelos, éstos parámetros son importantes, ya que dependiendo del pH se establecen unas comunidades u otras en el suelo. Para su medida, se mezcló 10g de suelo con 25mL de agua destilada, se agitó durante media hora y se dejó reposar otra media hora. Más tarde, se midió el pH en el sobrenadante de los tubos en un pH-metro previamente calibrado.

La medida del nitrógeno mineral fue importante, ya que es el macronutriente más limitante de la producción en ecosistemas naturales. El nitrógeno se encuentra en la fase gaseosa del suelo y en la solución acuosa en forma de amonio y nitrato.

Para determinar el nitrógeno mineral se mezclaron 10g de suelo con 30mL de KCl 2M, se agitaron las muestras durante una hora y se les añadió una solución floculante (7,35g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y 10,15g de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 100mL de agua) y se centrifugaron. Finalmente, el contenido de amonio y nitrato del suelo se determina mediante un autoanizador Braun+Luebbe.

La nitrificación es una oxidación biológica en la que los microorganismos oxidan el amonio a nitrito en la primera etapa y a nitrato en la segunda. Existen una serie de factores que condicionan la nitrificación, como la temperatura, humedad, aireación, pH etc.

Para la determinación de la nitrificación potencial (NP) se utilizó el procedimiento que estableció Belser (1979). El método permite evaluar la máxima tasa de nitrificación de una muestra de suelo. Para ello se prepararon cinco soluciones diferentes. El procedimiento comenzó midiendo 100ml de solución en matraces de 250mL, se pesaron 10g de suelo en cada Erlenmeyer, se agitaron a 60rpm. A las 2, 8, 14 y 24 horas, se transfirieron 10mL de suspensión de cada matraz a tubos de centrifuga y se les añadió varias gotas de solución floculante. Más

tarde, se centrifugaron a 3000rpm durante 10min, se vertieron en tubos, se taparon y se congelaron. A continuación se midió el NO_3^- acumulado en un periodo determinado (24h). Por último, se tamizaron los residuos de los suelos a través de un tamiz de 2mm, se colocaron las rocas en recipientes para pesarlas y se secaron en la estufa durante la noche y se apuntó el peso seco de las rocas.

Mediante la biomasa microbiana de los suelos se puede llegar a medir la parte viviente de la materia orgánica. Con determinación del carbono y nitrógeno retenido en la biomasa microbiana se puede determinar el tamaño aproximado de la comunidad microbiana del suelo (Alvear *et al.* 2007). En este trabajo final de grado únicamente se determinó el nitrógeno retenido en la biomasa microbiana.

Para la extracción del nitrógeno retenido en la biomasa microbiana (BMN) se utilizó el protocolo de la oxidación con persulfato. Con este método, a cada muestra se le añadió el reactivo alcalino de persulfato potásico ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) para producir la liberación de amonio. Después de añadirlo, se taparon los tubos y se pesaron. Una vez pesados, se metieron en el autoclave durante 40min a 15psi-s de presión. Tras autoclavarlos, se pesaron nuevamente para calcular la pérdida de masa por vapor y se corrigieron los valores. Por último, se analizaron los resultados a través del espectrofotómetro para determinar el amonio presente.

Para la determinación de la actividad enzimática se miden la actividad de glucosidasa, fosfatasa y ureasa. Las enzimas generalmente vienen de la descomposición microbiana de tejidos vegetales. Cada enzima juega un papel específico y ofrecen información sobre la capacidad potencial para llevar a cabo reacciones específicas importantes en los ciclos de nutrientes importantes como el C, N y P (Giménez, 1984). Es difícil determinar la totalidad de la actividad enzimática de los suelos, por lo que se estudian midiendo su actividad.

En primer lugar, se midió la acción de la glucosidasa, ésta está relacionada con el ciclo del carbono y el proceso de mineralización de la materia orgánica (MO). Es una enzima hidrolítica que libera moléculas de monosacáridos a partir de glucósidos. Esta enzima es importante en la degradación de carbohidratos del suelo, proporcionando sustratos orgánicos sencillos que pueden utilizarlos como fuente de energía los microorganismos del suelo (Gonzalo, 2002). Para medir la actividad de la glucosidasa se empleó el método de Taylor *et al.* (2002), que consistió en elaborar una suspensión que se le añade el sustrato p-nitrophenyl-b-d-glucopyranoside, PNG (60 mM en MUB 60mM pH 6.0) y se colocó en las placas tal y como indica el método seguido, más tarde se incubó durante una hora a 37°C. Cuando la reacción se detuvo se añadieron 50 μL de NaOH 0.5M y se midió la absorbancia a 410nm (415).

En segundo lugar, se midió la actividad de la fosfatasa que está involucrada en el proceso del fósforo, resulta un indicador del ciclo del fósforo en los ecosistemas, ya que está relacionado con la actividad biológica que proporciona el fósforo que es utilizado por las plantas. Para su medida se utilizó el mismo método que para la medida de la glucosidasa, solo que el sustrato fue p-nitrofenil fosfato hexahidratado, PNP (60 mM MUB 60mM pH 6.0) en vez de p-nitrophenyl-b-d-glucopyranoside.

Por último se midió la ureasa, esta enzima está relacionada con el ciclo del nitrógeno. La ureasa participa en la descomposición de la urea en sistemas agrícolas fertilizados y se le considera un mineralizador importante en ecosistemas terrestres y acuáticos. Esta enzima descompone la urea en dióxido de carbono y amonio y la actividad se mide por la producción de

amonio. El protocolo seguido para medir la ureasa fue el de Kandeler & Greber (1988), que consiste en lo siguiente. Primero se prepararon las muestras y se pesaron. Sobre las muestras se ajustó la temperatura, se etiquetaron los tubos y se ordenaron en la gradilla (por cada muestra se usaron tres tubos: 1 para el blanco y 2 para las repeticiones de ensayos). Más tarde, se pesaron por triplicado 1g de suelo en cada tubo y se añadió 1,75mL de tampón borato (100mM y pH=10), se agitaron y se colocaron en el bloque para que se atemperasen junto con un tubo con la solución de urea 820mM.

Una vez se inició la reacción, con intervalos regulares se añadieron 0,25mL de solución de urea a cada tubo, salvo a los blancos. Se agitaron y se colocaron en el bloque. A los 15, 30 y 45 minutos se volvieron a agitar y se dejaron en su posición. Una vez se detuvo la reacción (60 minutos aproximadamente) se añadió 6mL de solución de KCl 2M a todos los tubos, se agitaron y se cerraron. Seguidamente, se hizo la misma operación con 0,25mL de solución de urea y se centrifugaron los tubos.

Para la determinación del amonio (NH_4^+) se preparó una recta de calibrado con solución de amonio y agua. Inmediatamente después de centrifugar se pipetearon a tubos de 10mL, 0,25mL de sobrenadante y 3,75mL de agua y se agitaron. Más tarde se añadió el reactivo, se esperó 30 minutos y se midió la absorbancia de los ensayos y las soluciones de calibración.

4.4.2. Análisis de los lixiviados

Respecto a los lixiviados, se analizó la cantidad de lixiviados por cada muestra, el nitrógeno mineral y el nitrógeno orgánico disuelto (NOD). Los lixiviados se recogieron en vasos de precipitados en los que se mide el volumen lixiviado por cada maceta.

El proceso para determinar el nitrógeno mineral es el explicado anteriormente, solo que no tenemos que extraerlo del suelo, ya que está diluido en el agua. Por lo que el proceso es más sencillo.

Para la obtención del nitrógeno orgánico a partir de los lixiviados se utiliza el método de fumigación con cloroformo. El N presente en los extractos fumigados y no fumigados se determinó mediante una oxidación con persulfato. Para ello, se realizaron mezclas (1:1) de extractos de lixiviado con un reactivo de persulfato potásico alcalino al 5 %, se pasaron por el autoclave durante 40 minutos y se midió el contenido de nitrato en las digestiones tal y como se ha descrito en el apartado anterior. Se obtuvo una curva de calibración al digerir soluciones con concentraciones conocidas de alanina al mismo tiempo que las muestras. El N orgánico disuelto (NOD) se calculó restando el N mineral medido en los extractos de KCl al N medido en los extractos no fumigados.

4.5. Análisis estadístico de datos

Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico R (R Core team, 2012). Los datos de los suelos fueron analizados con una ANOVA, para ello había que asegurarse de la homogeneidad de las varianzas, que los datos siguieran una distribución normal y que los datos fueran independientes. En la ANOVA para los suelos, los datos pudieron ser transformados mediante raíz cuadrada o logaritmo cuando fue necesario normalizarlos y mejorar la homogeneidad de la varianza. Para el análisis de datos de suelos hubo un solo tratamiento (muestras de *B. pinnatum* y comunidades de pasto diverso). Para cada tratamiento se analizaron diferentes variables (pH, humedad, nitrato etc.) y se vio si había diferencias significativas entre los tratamientos

Para la ANOVA los datos con un p-valor menor a 0,05 son significativos y se pueden comparar, los datos con un p-valor menor a 0,1 se puede decir que siguen una tendencia y los datos mayores a 0,1 no son significativos, por lo que no se pueden comparar entre sí.

El análisis de los datos de lixiviados se realizó con el mismo programa pero mediante un modelo lineal mixto. Esto se debió a que se disponía más de un tratamiento, la quema, la fecha y la diversidad. Además, con el análisis lineal mixto se midieron las interacciones entre los diferentes tratamientos obteniendo cuatro, el fuego por la comunidad, la comunidad por la fecha, el fuego por la fecha y una triple interacción que relacionaron las comunidades, el fuego y la fecha. Estas interacciones fueron consideradas como efectos fijos y las macetas se consideraron como efectos aleatorios. Siguiendo la aproximación de Zuur *et al.* (2009) se eligió la estructura óptima del componente aleatorio.

5. Resultados y Discusión

5.1. Análisis de suelos

La tabla 3 muestra los resultados de la ANOVA donde se compararon los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* y los suelos bajo cubierta de comunidades de pasto diverso.

Tabla 2: Medias y errores estándares (EE) de las variables de suelo estudiadas que son el resultado del ANOVA. NOD: Nitrógeno orgánico disuelto y BMN: Nitrógeno de la biomasa microbiana. Niveles de significancia: NS= No significativo ($p>0,1$), + = siguen una tendencia ($p>0,05$), *=dato significativo ($p<0,05$), **=dato significativo ($p<0,01$) y ***= dato significativo ($p<0,001$). 1: Datos transformados mediante ecuación logarítmica y 2: Datos transformados por raíz cuadrática.

Parámetro de suelo	Especies				Significancia	p valor
	<i>B.pinnatum</i>		Pasto Diverso			
	Media	EE	Media	EE		
Humedad	0.40	0.01	0.39	0.01	NS	0,395
pH	6.18	0.04	5.72	0.03	***	$9,28*10^{-12}$
Amonio ¹	6.70	0.51	4.91	0.25	**	0,00109
Nitrato	0.29	0.06	0.03	0.02	***	$6,61*10^{-5}$
NOD ¹	8.73	0.65	4.86	0.45	**	0,00211
BMN ¹	302.98	12.45	235.65	9.05	***	$4,54*10^{-5}$
Nitrificación potencial ²	0.14	0.03	0.12	0.03	NS	0,313
Fosfatasa ¹	75.45	12.97	114.36	15.71	*	0,0147
Glucosidasa ¹	61.51	5.15	52.28	2.58	+	0,0894
Ureasa ¹	45.25	2.44	52.77	1.85	**	0,0085

En los resultados se observó la existencia de diferencias significativas para la mayor parte de las variables medidas excepto la humedad y la nitrificación potencial donde no se observaron diferencias significativas y para la glucosidasa donde se observó una tendencia a que en suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* hay una mayor presencia de esta enzima que en los suelos bajo cubierta de comunidades de pasto diverso.

Respecto al pH la importancia reside en que influye en muchos aspectos del suelo: la nutrición de las plantas, el funcionamiento de los microorganismos del suelo, el comportamiento de contaminantes y en las propiedades del suelo. Además el pH de un suelo

afectara también a procesos que tienen lugar en éste, como puede ser la formación de arcillas. Los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* tienen un pH significativamente mayor (Tabla 3). Según Kourtev *et al.* (2002), en los suelos bajo especies invasoras la composición microbiana y las funciones del suelo se ven alteradas. Además, Ehrenfeld *et al.* (2001) vieron como en bosques caducifolios europeos invadidos por varias especies exóticas (*Berberis thunbergii* y *Microstegium vimineum*) el pH de los suelos había aumentado.

Si nos referimos al nitrógeno del suelo, los resultados mostraron que en suelos bajo *B. pinnatum* las cantidades de nitrato, amonio y NOD son significativamente mayores en los suelos bajo cubiertas de *B. pinnatum* que en los suelos bajo comunidades de pasto diverso (Tabla 3). Al igual que para el pH, Ehrenfeld *et al.* (2001) observaron en los mismos suelos mayores tasas de nitrificación y mineralización del nitrógeno. Hurst y John (1999) también encontraron mayores concentraciones de nitrato en suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* que en suelos cercanos donde no se encontraba esta especie. Esta mayor cantidad de nitrógeno perturba los ecosistemas naturales limitantes en nutrientes y estos generalmente muestran una gran sensibilidad al incremento de nitrógeno. El enriquecimiento provoca un aumento de la biomasa vegetal y *B. pinnatum* es una especie que utiliza eficientemente el nitrógeno mineral (Duran 2013). En otras regiones europeas se ha observado la buena respuesta de la especie al enriquecimiento en N y sus efectos negativos en la diversidad de las comunidades vegetales (Bobbink *et al.* 1998).

Los resultados también mostraron que en suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* el nitrógeno fijado por la biomasa microbiana es significativamente mayor que en los suelos bajo cubiertas de comunidades de pasto diverso. La medida de éstos da una idea de la actividad metabólica del suelo y sirve de ayuda para entender la funcionalidad del mismo. En el suelo, la actividad metabólica es la responsable de procesos tan importantes como los de mineralización y humificación de la materia orgánica, los cuales inciden a su vez sobre otra serie de procesos en los que intervienen algunos elementos fundamentales (C, N, P y S), así como de todas las transformaciones en la que interviene la propia biomasa microbiana del suelo.

Las actividades enzimáticas que se analizaron fueron la ureasa, fosfatasa y glucosidasa. Cada una de estas está involucradas en el ciclo del nitrógeno, fósforo y carbono respectivamente. Los resultados mostraron que en suelos bajo cubierta monófitas, los valores de ureasa y fosfatasa son significativamente menores que en los suelos bajo cubierta de pasto diverso (Tabla 3). No ocurrió así para la glucosidasa, ya que en este caso en los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* se vio una tendencia a que esta enzima fuera mayor que en los suelos bajo cubierta de pasto diverso.

A diferencia de Duran (2013) y San Emeterio *et al.* (2014) que comprobaron cómo los suelos de *B. pinnatum* tienen una mayor actividad de la ureasa, los resultados de este experimento mostraron lo contrario.

Respecto a la glucosidasa, esta enzima está relacionada con el ciclo del carbono y el proceso de mineralización de la materia orgánica del suelo. Es una enzima que libera monosacáridos a partir de glucósidos. La enzima participa en la degradación de los carbohidratos en el suelo, proporcionando sustratos orgánicos sencillos que pueden ser utilizados como fuente de energía por la fauna edáfica (Gonzalo, 2002). Los resultados parecen concluir que los microorganismos que estén bajo suelos de *B. pinnatum* tendrán mayor

disponibilidad de adquirir estos carbohidratos del suelo que los microorganismos que estén bajo suelos de pasto diverso.

Por último, la fosfatasa está relacionada con el ciclo del fósforo y ésta provoca que el fosforo esté disponible en forma mineral y pueda ser absorbido por las plantas (Arévalo, Carreira, and Niell 1993). La actividad de la fosfatasa tiende a disminuir en suelos limitados en fósforo o en los que otros nutrientes (N o K) estén presentes de forma abundante. Dado que no se analizaron los contenidos de fósforo en los suelos, no se puede afirmar que éstos tengan una baja cantidad de P. Sin embargo, Duran (2013) vio diferencias significativas en las cantidades de fósforo en la parte radical. Las cantidades de fósforo fueron más elevadas en cubiertas polífitas que en las de pasto diverso. Esto explicaría que la actividad enzimática de la fosfatasa fuera menor en suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* que en suelos bajo cubierta de comunidades de pasto diverso.

5.2. Análisis de lixiviados

La tabla 4 muestra los resultados del análisis mixto de variables. Muestra los diferentes tratamientos (comunidad, fuego y fecha) y las interacciones entre cada tratamiento (comunidad-fuego, comunidad-fecha, fuego-fecha y comunidad-fuego-fecha). Las variables analizadas fueron la concentración (en partes por millón), la cantidad (mg) y la acumulación en el tiempo (mg) para amonio, nitrato y NOD.

La figura 11 muestra la evolución del nitrato, amonio y NOD gráficamente en el tiempo. La primera fila de gráficas muestra la concentración (ppm), la segunda fila muestra la cantidad (mg) y la última muestra la acumulación en el tiempo. Respecto a las columnas la primera hace referencia al amonio, la segunda columna al nitrato y la tercera al NOD.

Tabla 3: Resultados de los modelos lineales mixtos, para evaluar los efectos de las quemas y no quemas en los lixiviados. Com= comunidad, ppm= partes por millón. (mg/l)= cantidad de nitrógeno mineral y NOD en los lixiviados. (mg)= para la acumulación en las 5 recogidas de lixiviados. Los efectos fijos son la comunidad, el fuego (fue), la fecha (fe) y sus interacciones. Efectos significativos ($p < 0,05$). LR: likelihood ratio.

Variable	Comunidad		Fuego		Fecha		<u>Com-fuego</u>		<u>Com-fecha</u>		<u>Com-fecha</u>		<u>Com-fue:fec</u>	
	LR	p	LR	p	LR	p	LR	p	LR	p	LR	p	LR	p
Concentración en lixiviados														
Amonio (ppm)	3.28	0.070	1.611	0.204	140.91	<0.001	3.37	0.066	1.53	0.820	21.01	<0.001	15.00	0.005
Nitrato (ppm)	1.47	0.225	1.40	0.236	64.96	<0.001	2.89	0.089	14.95	0.005	1.33	0.856	0.44	0.979
NOD (ppm)	6.86	0.009	4.34	0.037	47.73	<0.001	0.94	0.333	9.85	0.043	7.03	0.134	6.15	0.188
Cantidad en lixiviados														
Amonio (mg/l)	8.85	0.003	0.94	0.333	198.83	<0.001	0.23	0.633	8.82	0.066	14.10	0.007	11.83	0.019
Nitrato (mg/l)	0.61	0.433	1.20	0.273	54.56	<0.001	4.84	0.028	23.09	<0.001	4.86	0.302	4.80	0.309
NOD (mg/l)	1.13	0.288	4.41	0.036	35.42	<0.001	1.47	0.225	14.81	0.005	12.16	0.016	11.43	0.022
Acumulado total														
Amonio (mg)	11.07	<0.001	4.14	0.042	64.97	<0.001	2.95	0.086	13.45	0.009	11.68	0.020	15.00	0.005
Nitrato (mg)	2.37	0.124	0.06	0.812	62.07	<0.001	7.12	0.008	9.79	0.044	9.73	0.045	11.14	0.025
NOD (mg)	8.72	0.003	2.28	0.131	69.30	<0.001	6.76	0.009	7.01	0.136	13.43	0.009	7.46	0.113

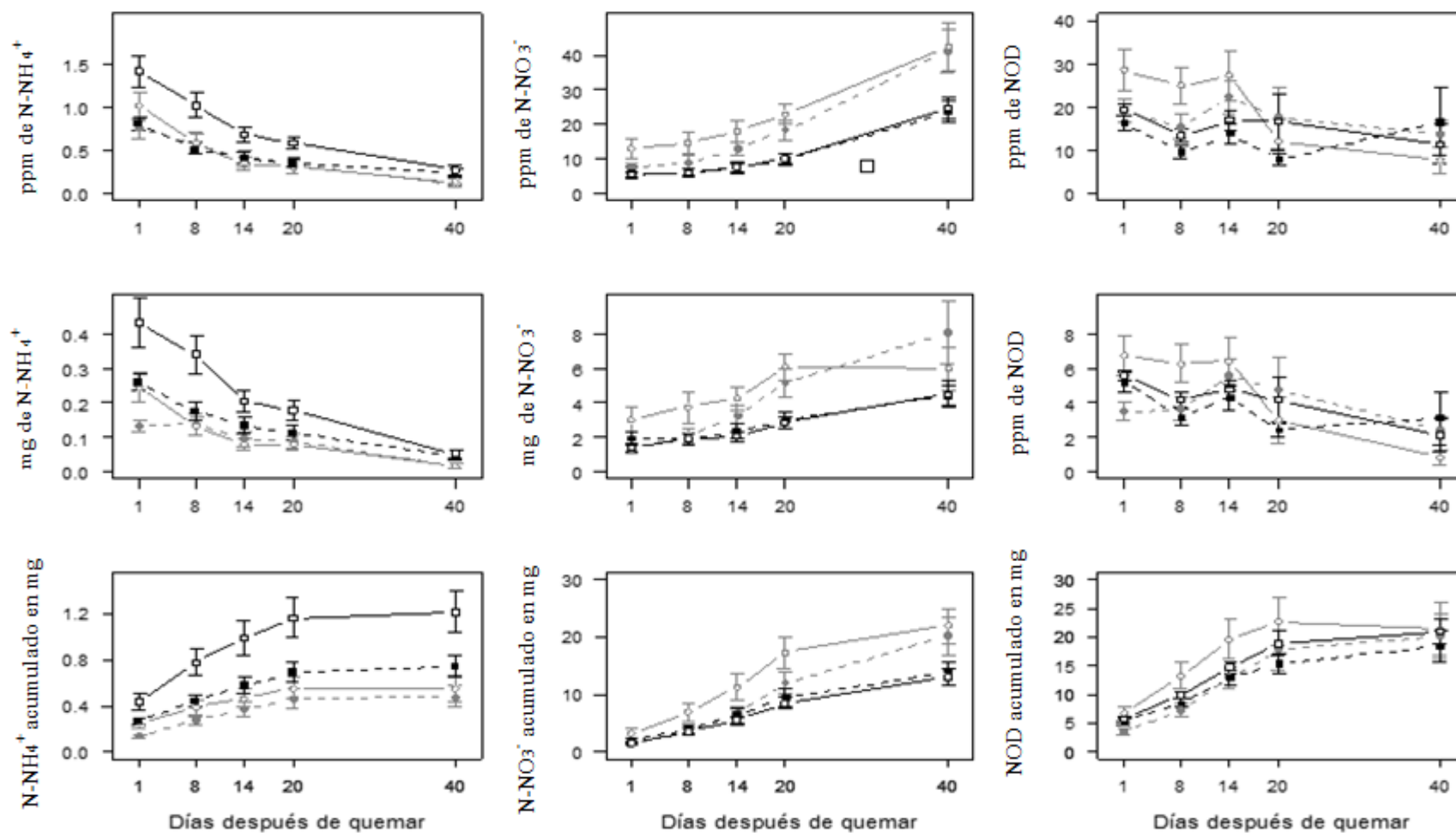


Figura 11: Evolución del nitrato, amonio y nitrógeno orgánico tras cada tratamiento. Gris continuo= *B.pinnatum* quemado, Gris discontinuo=*B.pinnatum* no quemado, negro continuo= pasto diverso quemado y negro discontinuo= pasto diverso no quemado. ppm=partes por millón e indica la concentración en el lixiviado, mg = miligramos e indica la cantidad de nitrógeno en sus diferentes formas en el lixiviado y el acumulado mide la cantidad total que se acumuló en total en los lixiviados tras las cinco recogidas que se realizaron.

La tabla 4 muestra como existe una interacción entre el fuego y la fecha que indica que las macetas quemadas se comportan de forma diferente a las macetas no quemadas con el paso del tiempo. La figura 11 muestra cómo tras las quemaduras se produjo un incremento en la concentración de amonio en los lixiviados bajo los suelos de ambos tipos de cubiertas (comunidades de pasto diverso y *B. pinnatum*). Este efecto se diluyó con el tiempo y a los 40 días después de la quema, la concentración en lixiviados de amonio, bajo ambos tipos de cubiertas, era mínima y muy similar a la de suelos no quemados. La concentración de amonio en lixiviados fue significativamente mayor en los lixiviados de los suelos bajo cubierta pasto diverso quemados que en los lixiviados de los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* quemado. Entre los lixiviados de los suelos bajo cubiertas no quemadas no existieron diferencias significativas. Además se observa una interacción significativa triple entre el fuego, la fecha y la comunidad vegetal.

La dinámica de la concentración de nitrato es la de ir aumentando en todos los casos estudiados hasta alcanzar el máximo a los 40 días tras la quema. La concentración en los lixiviados de los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* es mayor que la misma en suelos bajo cubierta de pasto diverso. Estas diferencias quedan reflejadas en la tabla 4 por una interacción significativa entre la comunidad y la fecha que indica que las diferentes cubiertas evolucionan de forma distinta en el tiempo. Además, la figura 11 muestra como los lixiviados bajo suelos de *B. pinnatum* quemado tienen mayor concentración de nitrato que los lixiviados bajo suelo de *B. pinnatum* sin quemar. Este aumento podría estar relacionado con la nitrificación, ya que a la vez que el amonio (sustrato de los agentes nitrificantes) desciende, aumenta el nitrato.

Para terminar con las concentraciones de los lixiviados, se dispone de los datos de la concentración de nitrógeno orgánico disuelto en los lixiviados. En la tabla 4 se ve una interacción entre comunidad vegetal y fecha que indica que las cubiertas evolucionan diferente en el transcurso del tiempo. Además, en la figura 11 se aprecia como la concentración de NOD disminuye ligeramente con el paso de los días tras la quema en todos los lixiviados. La figura 11 muestra como los lixiviados de los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* quemado, desde el inicio hasta la mitad de las recogidas de lixiviados, tienen una mayor concentración de NOD que los lixiviados de los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* no quemado. Sin embargo, desde la mitad hasta el final, aumenta la concentración de NOD en los lixiviados de los suelos de muestras no quemadas y disminuye en los suelos de muestras quemadas. Para la concentración de NOD en las muestras de pasto diverso ocurre parecido, ya que en estas muestras la concentración de NOD en las quemadas es superior a las no quemadas, pero cambia en los últimos lixiviados recogidos.

Respecto a la cantidad total promediada de nitrógeno mineral y NOD en cada lixiviado, se ve como la cantidad de amonio, al igual que ocurre con la concentración de éste en los lixiviados disminuye con el transcurso de los días. Entre las diferentes comunidades cabe destacar que las muestras de pasto diverso lixivian mayor cantidad de amonio que las de *B. pinnatum*, este efecto se ve acentuado en las primeras recogidas de lixiviados ya que en la última recogida las diferencias son mínimas. Además, se puede ver como los suelos bajo comunidades de pasto diverso quemado lixivian mayor cantidad de amonio que los suelos bajo comunidades de pasto diverso no quemado. Las cantidades de amonio que lixivian los suelos bajo comunidades de pasto diverso se asemejan a los suelos bajo *B. pinnatum*.

La cantidad de nitrato en los lixiviados de todos los suelos aumenta conforme transcurren los días. Este aumento es mayor en los lixiviados de suelos bajo cubierta de *B.*

pinnatum en los que la cantidad lixiviada es el doble que en los lixiviados de los suelos bajo cubierta de pasto diverso. La cantidad de lixiviados en los suelos bajo cubierta de pasto diverso es igual para muestras quemadas y no quemadas. No ocurre lo mismo en los lixiviados de los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum*, en éstos hasta la cuarta recogida de lixiviados la cantidad de nitrato lixiviado por los suelos quemados es mayor que la lixiviada por los suelos no quemados, pero en la última recogida ocurre que la cantidad de nitrato lixiviado por los suelos de las muestras quemadas es menor al de las no quemadas.

Para concluir con las cantidades de nitrógeno mineral y orgánico, en los lixiviados quedan por analizar las cantidades de NOD. Tal y como muestra la tabla 4 existe una interacción significativa entre la fecha y el fuego que significa que las muestras quemadas se comportan diferente a las macetas no quemadas con el transcurso de los días. Esta diferencia se puede ver en la figura 9, en donde se ve como en las tres primeras recogidas de lixiviado las cantidades de NOD en los suelos bajo cubiertas quemadas son mayores que en los suelos bajo cubiertas sin quemar. Sin embargo, a partir de la tercera recogida en los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum*, la cantidad de NOD lixiviado se reduce. Esta reducción es mucho mayor en las muestras quemadas que en las no quemadas. A partir de la tercera recogida en los suelos bajo cubierta de pasto diverso, el NOD en los lixiviados de las muestras quemadas va en descenso, sin embargo, la cantidad de NOD en los suelos de las muestras no quemadas aumenta ligeramente. Además, existe la triple interacción entre el tipo de cubierta, el fuego y la fecha.

Si se observan los resultados referidos a la acumulación de amonio en el transcurso del tiempo, se ve un aumento conforme transcurren los días tras la quema. Esto resulta lógico ya que como mínimo solo podría mantenerse constante (esto ocurriría en caso de que las macetas no hubieran lixiviado nada de amonio, ocurrirá lo mismo con la acumulación de nitrato y de nitrógeno orgánico). El amonio acumulado en los lixiviados de los suelos de pasto diverso (quemado y no quemado) es superior al acumulado en los lixiviados de los suelos bajo cubiertas de *B. pinnatum* (quemado y no quemado). Las diferencias en la cantidad de amonio acumulado conforme pasan los días dejan claras las diferencias, y los pastos diversos quemados lixivieron el doble de amonio que el resto. Esto podría significar que las comunidades de *B.pinnatum* pueden tener una mayor capacidad de absorción del amonio que las comunidades de pasto diverso, está mejor absorción estaría favorecida por el rizoma que tiene *B.pinnatum*. Además, Canals *et al.* (2014) vieron como *B. pinnatum* responde mejor a la absorción de amonio que las comunidades de pasto diverso. Otra causa, aunque menos probable, podría ser que los suelos bajo cubiertas vegetales de *B. pinnatum* podrían tener una mayor capacidad de retención del nitrógeno en forma de amonio que los suelos bajo cubierta de pasto diverso. Las muestras de la misma cubierta quemadas tienen un mayor contenido en amonio que las muestras de la misma cubierta no quemadas. En el caso de la acumulación del amonio también existen interacciones entre la comunidad vegetal y el fuego. Esto quiere decir que las muestras quemadas se comportan de forma diferente en función de la cubierta. También se produce una interacción triple entre la comunidad, el fuego y la fecha.

En la acumulación de nitrato en los lixiviados se observa una interacción significativa entre las comunidades vegetales y la fecha, que muestra como la acumulación de nitrato en los lixiviados de las muestras de *B. pinnatum* es mayor que en los de pasto diverso. Además, existe otra interacción significativa entre el fuego y la fecha que indica que las diferentes cubiertas tienen un comportamiento diferente al fuego. Esto se puede ver en la figura 11, donde la acumulación de nitrato en las muestras de *B. pinnatum* quemado es significativamente mayor que en las de no quemado. Respecto a las de pasto diverso, la acumulación de nitrato es mayor

en las muestras no quemadas que en las muestras quemadas. Esto podría significar que en los suelos bajo cubiertas de *B. pinnatum* se produjera una mayor tasa de nitrificación y que por ello los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* lixiviaran una mayor cantidad de nitrato que los suelos bajo cubierta de pasto diverso. Von Felten *et al.* (2009) vieron que *F. rubra* (especie principal en las comunidades de pasto diverso estudiadas) tenía preferencia por el nitrógeno en forma de nitrato frente al nitrógeno en forma de amonio. Además, si comparamos las cantidades de amonio y nitrato lixiviadas vemos como ambos suelos lixivian mayor cantidad de nitrato que de amonio (lixivian 20 veces más nitrato que amonio. Figura 11). Cabe recordar que el nitrato es muy móvil, ya que su carga negativa le impide que se adhiera al suelo y por lo tanto puede ser arrastrado por el agua de forma sencilla. La tabla 4 muestra como también existe una interacción significativa entre la especie, la fecha y el fuego. Por último, si se trasladarían los resultados medidos en este experimento a la zona donde se recogieron las muestras se vería como los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* tendrían alrededor de un 25% más de nitrato que las de pasto diverso, esto traducido a unidades de masa por superficie se traducirá que los suelos bajo una hectárea de *B. pinnatum* lixiviaría aproximadamente 0,85 kg de N-NO₃⁻ frente a 0,65 kg de N-NO₃⁻ que se lixiviarían los suelos bajo una hectárea de pasto diverso.

Por último, respecto a la acumulación de NOD, existe una interacción significativa entre la comunidad y el fuego que indica que la cantidad de NOD es mayor en los lixiviados de los suelos bajo cubiertas quemadas que en los suelos bajo cubiertas sin quemar. Además, también existe otra interacción significativa entre el fuego y la fecha que indica que las muestras quemadas evolucionan de forma diferente a las no quemadas con el paso del tiempo. La figura 11 muestra como las macetas quemadas tienden a perder una mayor cantidad de NOD que las macetas no quemadas. Esto es debido a que la producción en las macetas quemadas es mayor que en las no quemadas y por ello la lixiviación de NOD en muestras quemadas es mayor que en no quemadas.

Estudios como el de Robichaud *et al* en 2000 clasificaron la severidad de las quemaduras en baja, moderada o alta. Las quemaduras realizadas en macetas para este estudio se caracterizan como de baja severidad, ya que en esta experimentación las temperaturas alcanzadas en el primer centímetro de suelo no fueron demasiado elevadas. Tras la quema la temperatura más elevada alcanzada en la superficie de las cubiertas vegetales fue inferior a 50°C y además en los primeros 5 cm de suelo fue menor de 10°C.

Según Certini en (2005), las quemaduras de baja intensidad provocan un incremento inmediato en los nutrientes del suelo después de la quema. Este incremento es temporal y con el tiempo se ve reducido. Los resultados de este estudio coinciden con los resultados de trabajos previos como el de San Emeterio *et al* (2013) o el de DeLuca y Zouharen (2000), en los que al igual que en éste, se dio un incremento del amonio inmediato y un aumento del nitrato con el transcurso de los días.

El amonio aumenta por ser un producto directo de la combustión de la materia orgánica (Covington y Sackett 1992), viendo la figura 11 se ve como tras la quema se produce un pulso de amonio en los lixiviados de los suelos bajo cubiertas quemadas que con el tiempo se diluye. El aumento del nitrato después de la quema y tras el transcurso de varios días fue visto por DeLuca y Zouhar (2000) y San Emeterio *et al* (2013). Este nitrato, a diferencia del amonio, no es producto directo de la quema sino que es producido debido a la nitrificación del amonio por medio de poblaciones nitrificantes del suelo (Covington y Sackett 1992), por lo que esto explicaría el descenso del amonio con el tiempo y el aumento del nitrato, ya que las poblaciones

nitrificantes del suelo utilizarían como sustrato el amonio producido tras la quema para realizar la nitrificación.

Prieto-Fernández *et al.* (1998) descubrieron que en los suelos donde las temperaturas alcanzan unos 350°C, el NOD disminuye y en suelos donde las temperaturas alcanzan entre 150 y 250°C, el NOD se mantiene estable. En este estudio la disminución del nitrógeno orgánico no es inmediato, ésta ocurre conforme pasa el tiempo y es una disminución ligera. Esto seguramente sea debido a que las temperaturas alcanzadas en las quemas son muy inferiores a 350°C. Es más, se observó como el NOD se mantuvo constante en algunas de las muestras y aumento ligeramente en otras con el paso de los días. Esto se podría deber a la existencia de una fuente temporal de nitrógeno orgánico que podría provenir de material vegetal en descomposición o restos vegetales quemados y cenizas.

6. Conclusiones

- Los suelos dominados por *B. pinnatum* presentan diferencias significativas en propiedades del suelo como el pH o contenido en nitrato.
- Los suelos dominados por *B. pinnatum* tuvieron mayores contenidos en nitrógeno mineral (amonio y nitrato), nitrógeno orgánico disuelto, nitrógeno de la biomasa microbiana y tuvieron una tendencia a tener una mayor actividad de la glucosidasa.
- Los suelos de pastos diversos mostraron una mayor actividad de las enzimas ureasa y fosfatasa que los suelos en los que *B. pinnatum* era la principal especie.
- Tras el análisis de los lixiviados para el caso del amonio, se produjo un aumento inmediato pero temporal en el tiempo. El amonio se lixivio en mayor cantidad en suelos bajo cubierta de pasto diverso que en suelos bajo cubierta de *B. pinnatum*. Esto podría deberse a la preferencia de *B. pinnatum* por el amonio frente a las comunidades de pasto diverso, por ello la lixiviación en *B. pinnatum* es menor que en comunidades de pasto diverso.
- En el caso del nitrato en los lixiviados, el aumento no fue inmediato y se dio sobre los 20 días probablemente como resultado de la nitrificación microbiana. El nitrato se lixivia de forma más abundante en los suelos bajo cubierta de *B. pinnatum* que en los suelos bajo cubierta de pasto diverso, esto puede ser debido a que como vieron von Felten *et al.* (2009) el pasto diverso cuya especie más abundante fue *F. rubra* tiene preferencia por el nitrato por lo que absorbe mayor cantidad produciendo menor cantidad de lixiviado que las muestras de *B. pinnatum*.
- Por ultimo respecto al NOD, se vio como este no disminuye sino que aumentó ligeramente. La disminución pudo estar atribuida a que durante la quema las temperaturas alcanzadas no fueron demasiado elevadas y el aumento a la existencia de una fuente temporal de nitrógeno orgánico.

7. Bibliografía

- Abuzinadah, R A, and D J Read. 1986. "The Role of Proteins in the Nitrogen Nutrition of Ectomycorrhizal Plants. III. Protein Utilization by *Betula*, *Picea* and *Pinus* in Mycorrhizal Association with *Hebeloma Crustuliniforme*." *New Phytologist*: 507–14.
- Alvear, Marysol et al. 2007. "Actividades Biológicas Y Estabilidad de Agregados En Un Suelo Del Bosque Templado Chileno Bajo Dos Etapas Sucesionales Y Cambios Estacionales." *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal* 7(3): 38–50.
- Arévalo, J R, J A Carreira, and F X Niell. 1993. "Kinetic Parameters of Phosphatase Activity along a Xeric Dolomitic Soil Chronosequence Related to Wildfires." *Geomicrobiology Journal* 11(3–4): 235–45.
- Błkaba, Wojciech et al. 2012. "Genetic Diversity of the Expansive Grass *Brachypodium Pinnatum* in a Changing Landscape: Effect of Habitat Age." *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 207(5): 346–53.
- Bajwa, R, S Abuarghub, and D J Read. 1985. "The Biology of Mycorrhiza in the Ericaceae." *New Phytologist* 101(3): 469–86.
- Bobbink, R., Bik, L. & Willems, J.H. 1988. "Effects of Nitrogen-Fertilization on Vegetation Structure and Dominance of *Brachypodium Pinnatum* (L) Beauv in Chalk Grassland." *Acta Botanica Neerlandica* 37: 231–242.
- Bobbink, R., Hornung, M. & Roelofs, J.G.M. 1998. "The Effects of Air-Borne Nitrogen Pollutants on Species Diversity in Natural and Semi-Natural European Vegetation." *Journal of Ecology* 86: 717–738.
- Bobbink, R. & Willems, J.H. 1987. "Increasing Dominance of *Brachypodium Pinnatum* (L) Beauv in Chalk Grasslands – a Threat to a Species-Rich Ecosystem." *Biological Conservation* 40: 301–314.
- Bonanomi, G., Caporaso, S. & Allegranza, M. 2006. "Short-Term Effects of Nitrogen Enrichment, Litter Removal and Cutting on a Mediterranean Grassland." *Acta Oecologica* 30: 419–425.
- Bonanomi, G. & Allegranza, M. 2004. "Effetti Della Colonizzazione Di *Brachypodium Rupestre* (Host) Roemer Et. Schultes Sulla Diversità Di Alcune Fitocenosi Erbacee dell' Appennino Centrale." *Fitosociologia* 41: 51–69.
- Buckland, S.M., Thompson, K., Hodgson, J.G. & Grime, J.P. 2001. "Grassland Invasions: Effects of Manipulations of Climate and Management." *Journal of Applied Ecology* 38: 301–309.
- Canals, Rosa Maria, Javier Pedro, Esther & Ruperez, and Leticia San Emeterio. 2014. "Nutrient Pulses after Prescribed Winter Fires and Preferential Patterns of N Uptake may Contribute to the Expansion of *Brachypodium pinnatum* (L.) P. Beauv. in Highland Grasslands." *Applied Vegetation Science* 17: 419–428.
- Catorci, A., Antolini, E., Tardella, F.M., & Scocco, P. 2014. "Assessment of Interaction between Sheep and a Poorly Palatable Grass: A Key Tool for Grassland Management and Restoration." *Journal of Plant Interactions* 9: 112–21.
- Catorci, A., Cesaretti, S., Gatti, R. & Ottaviani, G. 2011. "Abiotic and Biotic Changes due to Spread of *Brachypodium Genuense* (DC.) Roem. & Schult. in subMediterranean

- Meadows.” *Community Ecology* 12: 117–25.
- Certini, Giacomo. 2005. “Effects of Fire on Properties of Forest Soils: A Review.” *Oecologia* 143(1): 1–10.
- Covington, W Wallace, and S S Sackett. 1992. “Soil Mineral Nitrogen Changes Following Prescribed Burning in Ponderosa Pine.” *Forest Ecology and Management* 54(1–4): 175–91.
- DeLuca, T H, and K L Zouhar. 2000. “Effects of Selection Harvest and Prescribed Fire on the Soil Nitrogen Status of Ponderosa Pine Forests.” *Forest Ecology and Management* 138(1): 263–71.
- Duran, Maria. 2013. “Análisis de Nutrientes En *Brachypodium Pinnatum*, Producción, Calidad Y Características de Los Suelos En Los Que Se Desarrolla: Primeros Muestreos En Pastos Del Pirineo Occidental.” *Trabajo final de master*: 1–76.
- Ehrenfeld, Joan G, Peter Kourtev, and Weize Huang. 2001. “Changes in Soil Functions Following Invasions of Exotic Understory Plants in Deciduous Forests.” *Ecological applications* 11(5): 1287–1300.
- von Felten, Stefanie et al. 2009. “Belowground Nitrogen Partitioning in Experimental Grassland Plant Communities of Varying Species Richness.” *Ecology* 90(5): 1389–99.
- Finlay, R D, Å Frostegård, and A-M SONNERFELDT. 1992. “Utilization of Organic and Inorganic Nitrogen Sources by Ectomycorrhizal Fungi in Pure Culture and in Symbiosis with *Pinus Contorta* Dougl. Ex Loud.” *New Phytologist* 120(1): 105–15.
- Gonzalo, Consuelo Quilchano. 2002. “Actividad Biológica En Suelos Forestales Mediterráneos.” *Almoraima: revista de estudios campogibraltareños* (27): 149–56.
- Henry, H A L, and R L Jefferies. 2002. “Free Amino Acid, Ammonium and Nitrate Concentrations in Soil Solutions of a Grazed Coastal Marsh in Relation to Plant Growth.” *Plant, Cell & Environment* 25(5): 665–75.
- Hurst, Audra, and Elizabeth John. 1999. “The Biotic and Abiotic Changes Associated with *Brachypodium Pinnatum* Dominance in Chalk Grassland in South-East England.” *Biological Conservation* 88(1): 75–84.
- Ill, F Stuart Chapin, Lori Moilanen, and Knut Kielland. 1993. “Preferential Use of Organic Nitrogen for Growth by a Non-Mycorrhizal Arctic Sedge.” *Nature* 361: 14.
- Jones, David L, and Knut Kielland. 2002. “Soil Amino Acid Turnover Dominates the Nitrogen Flux in Permafrost-Dominated Taiga Forest Soils.” *Soil Biology and Biochemistry* 34(2): 209–19.
- Kielland, Knut. 1994. “Amino Acid Absorption by Arctic Plants: Implications for Plant Nutrition and Nitrogen Cycling.” *Ecology* 75(8): 2373–83.
- Kohler, B., Gigon, A., Edwards, P.J., Krusi, B., Langenauer, R., and P. Luscher, A. & Ryser. 2005. “Changes in Species Composition and Conservation Value of Limestone Grasslands in Northern Switzerland after 22 Years of Contrasting Managements.” *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*: 51–67.
- Kourtev, Peter S, Joan G Ehrenfeld, and Max Häggblom. 2002. “Exotic Plant Species Alter the Microbial Community Structure and Function in the Soil.” *Ecology* 83(11): 3152–66.
- Leadley, Paul W, James F Reynolds, and F S Chapin. 1997. “A Model of Nitrogen Uptake by

Eriophorum Vaginatum Roots in the Field: Ecological Implications.” *Ecological Monographs* 67(1): 1–22.

- von Liebig, Justus Freiherr, and Lyon Playfair Baron Playfair. 1847. *Chemistry in Its Application to Agriculture and Physiology*. TB Peterson. book.
- Lipson, David A, and Russell K Monson. 1998. “Plant-Microbe Competition for Soil Amino Acids in the Alpine Tundra: Effects of Freeze-Thaw and Dry-Rewet Events.” *Oecologia* 113(3): 406–14.
- Mojzes, A., Kalapos, T. & Viragh, K. 2003. “Plasticity of Leaf and Shoot Morphology and Leaf Photochemistry Form *Brachypodium Pinnatum* (L.) Beauv. Growing in Contrasting Microenvironments in a Semiarid Loess Forest–steppe Vegetation Mosaic.” *Flora-Morphology*, 198: 304–320.
- Prieto-Fernández, A, M J Acea, and T Carballas. 1998. “Soil Microbial and Extractable C and N after Wildfire.” *Biology and Fertility of Soils* 27(2): 132–42.
- Robichaud, Peter R, Jan L Beyers, and Daniel G Neary. 2000. “Evaluating the Effectiveness of Postfire Rehabilitation Treatments.”
- San Emeterio, L et al. 2013. “Cambios En El Nitrógeno Edáfico Tras La Realización de Quemadas Controladas Para Mejora de Pastos Pirenaicos.” *Pastos* 43(2): 44–53.
- San Emeterio, L., M. Duran, L. & Mugica, and R.M. Canals. 2014. “Características Microbiológicas de Los Suelos de Pastos Dominados Por Laston vs Pastos Multiespecíficos En El Pirineo.” *Pastos y PAC 2014-2020* 53: 89–96.
- Schiller, Petra, Hermann Heilmeyer, and Wolfram Hartung. 1998. “Uptake of Amino Acids by the Aquatic Resurrection Plant *Chamaejas Intrepidus* and Its Implication for N Nutrition.” *Oecologia* 117(1): 63–69.
- Schlapfer, F. & Fischer, M. 1998. “An Isoenzyme Study of Clone Diversity and Relative Importance of Sexual and Vegetative Recruitment in the Grass *Brachypodium Pinnatum*.” *Ecography* 21: 351–360.
- Schmidt, Inger K, Sven Jonasson, and Anders Michelsen. 1999. “Mineralization and Microbial Immobilization of N and P in Arctic Soils in Relation to Season, Temperature and Nutrient Amendment.” *Applied Soil Ecology* 11(2): 147–60.
- TEAM, R CORE. 2012. “R: A Language and Environment for Statistical Computing.” : Viena, Austria.
- Valery, L., Fritz, H., Lefeuvre, J.C. & Simberloff, D. 2009. “Ecosystem- Level Consequences of Invasions by Native Species as a Way to Investigate Relationships between Evenness and Ecosystemfunction.” *Biological Invasions* 11: 609–17.
- Zuur, A F et al. 2009. “Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R. New York: Springer.” 574 p.

Páginas web consultadas y otras fuentes:

Apuntes de Suelos y Agronomía

www.navarra.es