

# BOLETÍN DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

<b>Caracterización fisicoquímica y microbiológica de la harina de camarón <i>Penaeus vannamei</i> (Boone, 1931).</b> Alexandra Elizabeth Bermúdez-Medranda, Vanessa Hanoi Acosta Balbas y Fernando Ramón Isea-León.....	98
<b>Preferencia de frutas en aves que visitan un comedero en la ciudad de Caracas (Venezuela).</b> Bárbara Santana y Cristina Sainz-Borgo.....	112
<b>Fijación de nitrógeno atmosférico en altas montañas tropicales: páramos de Venezuela.</b> Ernesto Medina.....	129
<b>Plantas del Jardín Botánico del Orinoco, ciudad Bolívar, Estado Bolívar, Venezuela.</b> Wilmer A. Díaz-Pérez, Luis Chacón y Magdalena Ochoa.....	146
<b>Revisión del escarabajo excavador género <i>Llanoterus</i> García y Camacho, 2018 (Coleoptera: Noteridae: Noterini). Parte I.</b> Mauricio García y Alfredo Briceño. ....	204
<b>Índice acumulado 1967 – 2023. Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas en su 56 Aniversario.</b> Teresa Martínez Leones.....	272
INSTRUCCIONES A LOS AUTORES.....	321
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS.....	332

Vol.57, N° 2, Pp.98-349, Julio-Diciembre 2023

UNA REVISTA INTERNACIONAL DE BIOLOGÍA PUBLICADA  
POR  
LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA, MARACAIBO, VENEZUELA



## **Fijación de nitrógeno atmosférico en altas montañas tropicales: páramos de Venezuela**

Ernesto Medina

Centro de Ecología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.  
[medinage@gmail.com](mailto:medinage@gmail.com)

### **RESUMEN**

En este artículo reviso la información disponible sobre especies de angiospermas fijadoras de nitrógeno ( $N_2$ ) atmosférico en localidades de la cordillera de Mérida en Venezuela, a elevaciones cerca o por encima del límite de la vegetación arbórea en altas montañas. Además, discuto los resultados de un análisis exploratorio sobre fijación biológica de nitrógeno basado en la abundancia natural de  $^{15}N$  y concentración de nitrógeno en suelos y tejido foliar de especies recolectadas a elevaciones contrastantes (2500 y 4000 m de elevación) en sitios localizados entre Santo Domingo y el páramo de Piedras Blancas en el estado Mérida, Venezuela. El artículo tiene como objetivos a) comparar el comportamiento de fijadoras de  $N_2$  atmosférico en ambientes de altas montañas tropicales y regiones alpinas templadas y b) destacar las oportunidades de investigación para documentar el ciclo del nitrógeno en esos ambientes.

**Palabras clave:** fijación de  $N_2$ , páramos, simbiosis leguminosas, actinorrizas, *Rhizobium*, *Frankia*.

### **Atmospheric nitrogen fixation in high tropical mountains: Venezuelan paramos**

### **ABSTRACT**

This paper reviews the available information on atmospheric nitrogen ( $N_2$ )-fixing angiosperm species in Andean localities of Venezuela, at elevations near or above the tree-line. In addition, I discuss the results of an exploratory survey on biological  $N_2$  fixation (BNF) based on the natural abundance of  $^{15}N$  and N concentration in soils and leaf tissues of species collected at contrasting elevations (2500 and 4000 m elevation) in sites located between Santo Domingo and the paramo of Piedras Blancas in the Mérida State, Venezuela. The paper aims to a) compare the BNF in tropical high mountains and temperate alpine regions and b) highlight research opportunities on the

N cycle in tropical mountain environments.

**Key words:** N<sub>2</sub> fixation, paramos, legumes symbiosis, actinorrhizas, *Rhizobium*, *Frankia*.

**Recibido / Received:** 15-05-2023 ~ **Aceptado / Accepted:** 17-07-2023

## INTRODUCCIÓN

La fijación biológica de nitrógeno (N<sub>2</sub>) atmosférico (FBN) constituye la fuente principal de suministro de N combinado en ecosistema terrestres (Boring *et al.* 1988). Este proceso es catalizado por la enzima nitrogenasa que opera en organismos fotosintéticos de vida libre, o que forman asociaciones simbióticas mutualistas con hongos (cianolíquenes), y plantas vasculares (Wagner 2011). Entre los organismos heterotróficos fijadores de N<sub>2</sub> se encuentran numerosas especies de bacterias de vida libre y otras que forman asociaciones rizosféricas o endofíticas con plantas vasculares (Olivares *et al.* 1996, Triplett 1996, James 2000). Además, se encuentran bacterias heterótrofas fijadoras de N<sub>2</sub> más especializadas que inducen la formación de nódulos en las raíces de la planta hospedante. En esas estructuras las bacterias son aisladas del oxígeno atmosférico, lo que permite la actividad del complejo enzimático de nitrogenasa. Las especies de bacterias fijadoras de N<sub>2</sub> pertenecen a los filos Pseudomonadota, con los géneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* (Alfaproteobacteria) y *Parabulkkholderia* (Betaproteobacteria) y Actinomycetota con el género *Frankia* (Actinomycetes) ([www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/)). Los tres géneros de Pseudomonadota están restringidos a las Fabaceae, principalmente dentro de la subfamilia Faboideae (Faria *et al.* 1989), y un género de Cannabaceae (*Parasponia*) (Trinick y Hadobas 1989), mientras que *Frankia* ocurre en un grupo más amplio de familias (simbiosis actinorrícicas en especies de Betulaceae, Casuarinaceae, Coriariaceae, Datiscaeeae, Elaeagnaceae, Myricaceae, Rhamnaceae y Rosaceae) (Huss-Danell 1997, Bautista Guerrero y Valdés 2008). A pesar de la mayor diversidad de familias, el número de especies actinorrícicas es pequeño comparado con el grupo de especies nodulantes dentro de las leguminosas (Ardley y Sprent 2021).

Las simbiosis de Pseudomonadota con Fabaceae están representadas en prácticamente todos los ambientes terrestres, mientras que las simbiosis actinorrícicas se encuentran más frecuentemente en regiones templadas y áreas montañas tropicales. Geográficamente la frecuencia de leguminosas fijadoras de N<sub>2</sub> es mayor en regiones tropicales que en latitudes templadas y frías (Hulton *et al.* 2008) y también disminuye a lo largo de gradientes altitudinales en ambas (Körner 2003).

La FBN tiene un elevado costo energético y nutricional, relacionado con la cantidad de N por unidad de C invertido en el proceso, comparada con la incorporación de N del suelo (Hultton *et al.* 2008). Sin embargo, las bajas temperaturas alpinas no impiden la FBN en leguminosas nodulantes. Jacot *et al.* (2000) demostraron que la proporción de N derivada de la atmósfera promedia entre 68 y 78% en 7 especies de leguminosas de los Alpes suizos, que crecen entre 900 y 2600 m de elevación.

La medición de la tasa de FBN en condiciones naturales no es sencilla, debido a la dificultad para aislar suficientemente las raíces y nódulos sin alterar su estructura y fisiología (Unkovich 1999). Los métodos directos son destructivos y miden la actividad del complejo enzimático nitrogenasa, a) mediante la reducción de acetileno (actividad de reducción de acetileno, ARA) y b) análisis de los productos de la fijación de N<sub>2</sub> (% ureidos) que se transportan vía xilemática de las raíces al vástago. Una alternativa para estimar la contribución de la FBN al balance de N de una planta, es la medición de la abundancia natural del isótopo pesado de N ( $\delta^{15}\text{N}$ ) en sus tejidos expresada como  $\delta^{15}\text{N}$  (Boddey *et al.* 2000). Plantas fijadoras de N<sub>2</sub> discriminan muy poco entre los isótopos de N, y tienen valores de este parámetro cercanos a cero. Las plantas no fijadoras dependen del N del suelo, el cual por lo general está enriquecido en <sup>15</sup>N, debido a la discriminación durante los procesos de mineralización y desnitrificación de la materia orgánica.

En Venezuela se han documentado numerosas especies de leguminosas formando simbiosis con rizobia en ecosistemas de sabanas, y bosques montanos hasta de 1500 de altitud (Sicardi de Mayorca y Izaguirre-Mayoral 1993, Izaguirre-Mayoral y Vivas 1996, Medina e Izaguirre-Mayoral 2004). En vegetación altimontana (>2500 m snm) los estudios son más escasos y se circunscriben a unas pocas localidades andinas (Marquina *et al.* 2001-2002, Abadín *et al.* 2002, Sarmiento *et al.* 2012).

En este artículo describo la información disponible sobre especies de angiospermas fijadoras de N<sub>2</sub> en localidades andinas de Venezuela, a elevaciones entre los 2500 y 4500 m. Esta franja incluye el límite arbóreo (máxima elevación de la vegetación boscosa localizada alrededor de los 3000 m snm) y la región paramera propiamente comprendida entre los 3000 m y el límite nival (Rangel 2000, Llambí 2015, Vásquez *et al.* 2015). Además, discuto los resultados de un análisis exploratorio sobre FBN basado en la abundancia natural de <sup>15</sup>N en tejido foliar de especies recolectadas a elevaciones contrastantes (2500 y 4200 m de elevación) en la carretera que va de la población de Santo Domingo hasta el páramo de Piedras Blancas en el estado Mérida en Venezuela. La variación de la vegetación con la elevación en este gradiente fue descrita por Baruch (1984).

Finalmente, comparo el comportamiento de fijadoras de N<sub>2</sub> en ambientes tropicales de altas montañas y regiones alpinas templadas, que pueden tener temperaturas medias anuales similares, pero que difieren marcadamente en la estacionalidad térmica. En

altas montañas tropicales la temperatura media mensual varía muy poco, pero los cambios diarios son muy marcados y se experimentan temperaturas congelantes diariamente (Walter y Medina 1969, Monasterio 1986).

### **Distribución altitudinal de angiospermas fijadoras potenciales de N<sub>2</sub> atmosférico en los andes de Venezuela.**

Briceño y Morillo (2002) en su catálogo de la vegetación de los páramos de Venezuela registran 917 especies de dicotiledóneas, de las cuales 22 son leguminosas recolectadas a elevaciones superiores a los 2500 m. Todas las especies de leguminosas incluidas son potenciales fijadoras de N<sub>2</sub> pues pertenecen a géneros conocidos por formar simbiosis con rizobia (Faria *et al.* 1989). En este catálogo se registran también especies actinorrhizas de familias cuya capacidad de fijación de N<sub>2</sub> atmosférico ha sido bien documentada: Betulaceae (1 especie) (Budowski y Russo 1997); Coriariaceae (1 especie) (Chaia *et al.* 2019) y Myricaceae (3 especies) (Huguet *et al.* 2005) (Fig. 1). Las especies actinorrhizas, y las leguminosas de los géneros *Cologania*, *Lathyrus*, *Phaseolus* y *Vigna*, así como *Lupinus sergenti* y *L. timotensis*, no han sido registradas por encima de los 3500 m. Las demás especies de *Lupinus* y *Vicia andicola* se han recolectado en la franja de los 4000–4500 m. En este catálogo llama la atención el número de especies del género *Lupinus* (16), la mayoría de las cuales se consideran endémicas. Briceño y Morillo (2002) señalan que es necesario revisar el estatus taxonómico de estas especies. Por otra parte, la diversidad de especies y su presencia a elevaciones mayores de 3000 m representa una oportunidad para estudiar el mecanismo de tolerancia a la congelación nocturna, y la eficiencia de la nitrogenasa a bajas temperaturas.

### **Actividad de nitrogenasa en raíces de Poaceae y Cyperaceae de páramos andinos.**

Las Poaceae constituyen la tercera familia con mayor representación específica en la flora paramera en Venezuela (Briceño y Morillo 2006). Dentro de esta familia se han reportado numerosas especies que forman asociaciones rizosféricas o endofíticas con bacterias fijadoras de N<sub>2</sub> (Olivares *et al.* 2006, López-Hernández *et al.* 2006). En efecto, Marquina *et al.* (2001–2002) detectaron actividad de nitrogenasa (evidenciada por la capacidad de raíces de reducir acetileno, ARA) en 20 especies de Poaceae y 3 de Cyperaceae en su área de estudio en Loma Redonda, Edo. Mérida, localizada ≈4000 m de elevación (Fig. 2). Solo 3 especies de Poaceae no mostraron actividad de reducción de acetileno. Todas las especies medidas tienen rangos de distribución altitudinal que cubren la franja de 3000 a 4000 m, y *Agrostis toluensis* y *Calamagrostis heterophylla* se encuentran a más de 4500 m de elevación.

Familia	Especie	Elevación (m)					Endemismo
		2500-3000	3000-3500	3500-4000	4000-4500	4500-5000	
Betulaceae	<i>Alnus acuminata</i>						
Coriariaceae	<i>Coriaria ruscifolia</i>						
Myricaceae	<i>Morella pubescens</i>						
	<i>Morella funkii</i>						
	<i>Morella parvifolia</i>						
Fabaceae	<i>Cologetia broussonetii</i>						
	<i>Lathyrus meridensis</i>						
	<i>Lupinus alopecuroides</i>						
	<i>L. austrohumifusus</i>						
	<i>L. chlorolepis</i>						
	<i>L. eremonamus</i>						E
	<i>L. humilis</i>						E
	<i>L. jahnii</i>						E
	<i>L. meridanus</i>						E?
	<i>L. minutissimus</i>						E?
	<i>L. paniculatus</i>						
	<i>L. peruvianus</i>						
	<i>L. pymaeus</i>						E
	<i>L. sergenti</i>						E
	<i>L. tamayoanus</i>						E
	<i>L. timotensis</i>						E
	<i>L. venezuelensis</i>						E
	<i>L. verbasciformis</i>						E?
	<i>Phaseolus erythroloma</i>						
	<i>Vicia andicola</i>						
	<i>Vigna vexillata</i>						

**Figura 1.** Distribución altitudinal de las especies de Betulaceae, Coriariaceae, Myricaceae y Fabaceae potencialmente fijadoras de N<sub>2</sub> atmosférico mediante asociación simbiótica con rizobacterias (data de Briceño y Morillo 2002).

**Capacidad de fijación de N<sub>2</sub> por *Lupinus meridanus* en asociación con *Bradyrhizobium* en condiciones naturales.**

Las especies de *Lupinus* forman asociaciones simbióticas con bacterias fijadoras de N<sub>2</sub> atmosférico del género *Bradyrhizobium* (Abd-Alla 1999, Vielma 1999, Fernández-Pascual 2007). En páramos andinos de Venezuela, *L. meridanus* forma parte de la vegetación secundaria que se desarrolla durante el período de barbecho y constituye una fuente de restauración de fertilidad por su capacidad de fijación de N<sub>2</sub> (Abadín *et al.* 2003).

Sarmiento *et al.* (2012) emplearon el método de abundancia natural de <sup>15</sup>N para estimar la capacidad de fijación de N<sub>2</sub> por la simbiosis de *L. meridanus* y *Bradyrhizobium* spp. en comunidades silvestres en sucesión avanzada, localizadas en páramos andinos por encima de los 3000 m de elevación. Para esta evaluación se cosecharon vástagos y raíces de poblaciones nativas de *L. meridanus* nodulado y de varias especies no-leguminosas que se utilizaron como referencia, a las cuales se les midió la abundancia natural de <sup>15</sup>N (δ<sup>15</sup>N). Además, se cultivó *L. meridanus* inoculado con *Bradyrhizobium* en soluciones nutritivas desprovistas de N para determinar el valor de δ<sup>15</sup>N control.

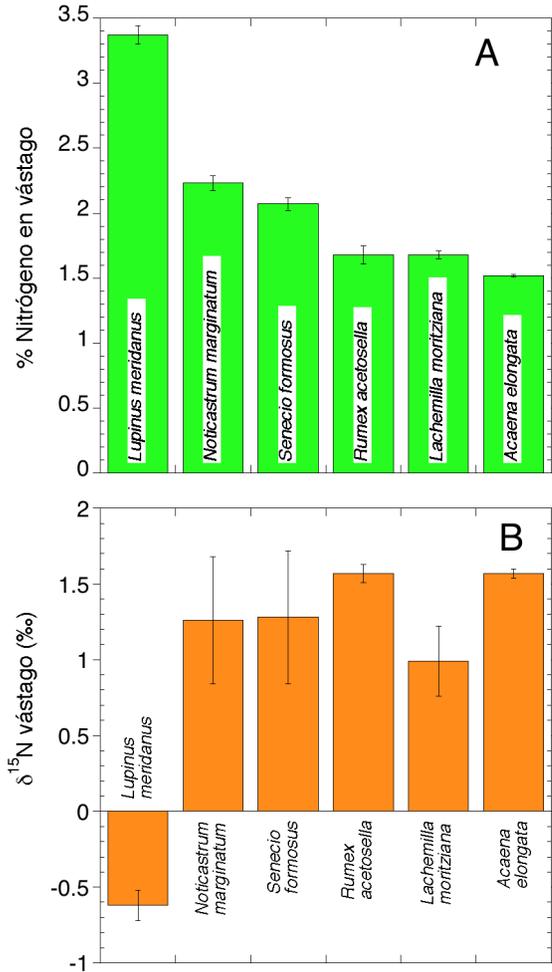
Familia y Especies	I	II	III	2500-3000	3000-3500	3500-4000	4000-4500	4500-5000
<b>POACEAE</b>								
<i>Aciachne acicularis</i>		+						
<i>Agrostis meridensis</i>	+							
<i>A. tolucensis</i>	+	+	+					
<i>A. trichodes</i>	+							
<i>Brachypodium mexicanum</i>		+	+					
<i>Calamagrostis amoena</i>		-	-					
<i>C. chaseae</i>	+							
<i>C. effusa</i>	+							
<i>C. fibrovaginata</i>	+							
<i>C. heterophylla</i>	+	-						
<i>C. ligulata</i>	+							
<i>C. pisina</i>		-						
<i>C. pittieri</i>		-						
<i>Cortaderia hapalotrichia</i>		+	+					
<i>Muhlenbergia ligularis</i>	+							
<i>Poa annua</i>	+	+						
<i>P. denticulata</i>	+							
<i>P. trachyphilla</i>	+							
<i>Trisetum irazuense</i>	+							
<i>Vulpia australis</i>	+							
<b>CYPERACEAE</b>								
<i>Carex albolutescens</i>	+							
<i>C. bonplandii</i>	+							
<i>Uncinia hamata</i>	+							

**Figura 2.** Actividad de nitrogenasa en raíces aisladas de Poaceae y Cyperaceae de páramo estimada por el método de reducción de acetileno (ARA). Las especies ensayadas provenían de zonas inundables con suelos pantanosos (I), zonas drenadas con pendientes de 35–45% (II) y afloramientos rocosos (III) (datos de Marquina *et al.* 2001-2002) La distribución altitudinal de acuerdo a Briceo y Morillo (2006).

Los resultados mostraron en *L. meridanus* concentraciones de N significativamente mayores, especialmente en el vástago, en comparación con las especies no fijadoras de N<sub>2</sub>. Además, sus valores de δ<sup>15</sup>N fueron negativos cercanos a cero, mientras que las especies de referencia mostraron valores significativamente mayores (Fig. 3). Los autores calcularon que *L. meridanus* obtiene de la atmósfera más del 80% de su nitrógeno, demostrando así el potencial de esta especie como mejoradora de suelo durante la sucesión secundaria que sigue al descanso de cultivos en los páramos andinos de Venezuela.

**Abundancia natural de <sup>15</sup>N en especies alrededor del límite arbóreo en los Andes del estado Mérida.**

En hábitats de elevación contrastante (2500 y 4000 m) a lo largo de la carretera Barinitas – Pico del guila en el Edo. Mérida, recolectamos especies potencialmente fijadoras de N<sub>2</sub>, en asociaciones con *Rhizobium* y *Frankia*, y especies no-fijadoras (Tabla 1).



**Figura 3.** Concentración de nitrógeno (% masa seca)(A) y abundancia natural de  $^{15}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}$ ) ( $\pm$  e.e.)(B) en vegetación secundaria en el páramo de Gavidia (Parque Nacional Sierra Nevada, Venezuela, a 3400 m snm), en una leguminosa nodulada (*Lupinus meridanus*) y especies no fijadoras de  $\text{N}_2$  utilizadas como referencia (con datos de Sarmiento *et al.* 2012).

**Tabla 1.** Plantas de sitios montanos y de páramos en los andes de Venezuela. En **negritas** las especies potencialmente fijadoras de N<sub>2</sub>. Identificación inicial basada en Vareschi 1970, y actualizada mediante Briceño y Morillo (2002, 2006).

Especie	Familia	Nodulación
2500-3000m		
<i>Alnus acuminata</i>	Betulaceae	+ <i>Frankia</i>
<i>Coriaria ruscifolia</i>	Coriariaceae	+ <i>Frankia</i>
<i>Crotalaria</i> sp.	Fabaceae	+ <i>Rhizobium</i> s.l.
<i>Fraxinus americana</i>	Oleaceae	-
<i>Hyptis</i> sp.	Lamiaceae	-
<i>Lupinus meridanus</i>	Fabaceae	+ <i>Bradyrhizobium</i>
<i>Verbesina turbacensis</i>	Asteraceae	-
4000m		
<i>Aciachne acicularis</i>	Poaceae	-
<i>Arenaria venezuelana</i>	Caryophyllaceae	-
<i>Azorella julianii</i>	Apiaceae	-
<i>Castilleja fissifolia</i>	Scrophulariaceae	-
<i>Draba chionophila</i>	Brassicaceae	-
<i>Espeletia shultzii</i>	Asteraceae	-
<i>Hinterhubera</i> sp.	Asteraceae	-
<i>Hypericum laricifolium</i>	Hypericaceae	-
<b><i>Lupinus eromonimus</i></b>	Fabaceae	+ <i>Bradyrhizobium</i>
<i>Rhizocephalum candollei</i>	Campanulaceae	-
<i>Senecio formosus</i>	Asteraceae	-

En un muestreo exploratorio, hojas de estas especies fueron analizadas para N total y abundancia natural de <sup>15</sup>N (descripción de métodos en Medina *et al.* 2017). En las muestras de sitios montanos a 2500 m de elevación, la concentración de N foliar resultó igual o un poco mayor que la de la única muestra de suelo disponible, con excepción de las dos especies de Fabaceae. Estas especies mostraron concentraciones de N que duplicaban las de las especies actinorrícicas y las no fijadoras (Tabla 2). Los valores de δ<sup>15</sup>N de las Fabaceae son positivos y cercanos a cero, mientras que los de las especies actinorrícicas son negativos (Tabla 2). En las especies no-fijadoras los valores de δ<sup>15</sup>N son marcadamente positivos, excepto en *Verbesina turbacensis*, cuyo valor requiere confirmación. El valor de δ<sup>15</sup>N del suelo es mayor que el de las hojas, exceptuando a *Fraxinus americana*.

En las muestras de páramo los resultados son opuestos en el caso de la concentración

de N, pues el suelo presenta mayores concentraciones que las hojas, con excepción de *L. eromonum* (Tabla 2). Los promedios de  $\delta^{15}\text{N}$  de suelo y hojas son más positivos comparados con los de sitios montanos. Las hojas de *L. eromonum* y *Aciachne acicularis* presentaron los menores valores de  $\delta^{15}\text{N}$ , hasta menos de una desviación estándar por debajo de la media del sitio, mientras que los de *Azorella* sp., *Senecio formosus* y *Draba chionophila* alcanzaron valores mayores que la media por una desviación estándar.

Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de las especies con actinorriza son menores que los de las Fabaceae y todas las no-leguminosas, lo que indica probablemente mayor proporción de fijación de  $\text{N}_2$  o mayor fraccionamiento en el traslado de los productos de FBN de la actinorriza hacia la planta. La revisión de Andrews *et al.* (2011) muestra que la tendencia general es que las plantas con actinorrizas tienen valores de %N derivado de la atmósfera mayores que los de las leguminosas. Sin embargo, queda por explicar porqué sus concentraciones foliares de N son menores que los de las leguminosas.

Debe notarse que en ambas localidades los  $\Delta(\delta^{15}\text{N})$  planta-suelo son mucho menores en fijadoras de  $\text{N}_2$ , comparadas con no-fijadoras, exceptuando a *A. acicularis*. Esta diferencia debe ser mayor en la medida que la planta sea menos dependiente del suministro de N del suelo. Por otra parte, el conjunto de especies no-fijadoras de  $\text{N}_2$  analizadas presentan valores negativos de  $\delta^{15}\text{N}$ , en concordancia con lo reportado por Sarmiento *et al.* (2012). Es notable que los valores más bajos de  $\delta^{15}\text{N}$  en el páramo corresponden a una Fabaceae nodulada (*L. eromonum*) y a una especie de Poaceae (*A. acicularis*), mientras que en el sitio por debajo del límite arbóreo los valores de *V. turbacensis* son similares a los de las Fabaceae, pero con menor concentración de foliar de N.

La variación de  $\delta^{15}\text{N}$  no puede ser explicada solamente por la variación de N del suelo (0,7 a 4,0 ‰ en sitios por debajo del límite arbóreo y 1,5 a 3,5 ‰ en el sitio de páramo). Los factores más frecuentes que explican las diferencias de  $\delta^{15}\text{N}$  en material vegetal comparado con los de la materia orgánica del suelo son: a) que las especies tengan acceso a fuentes de N con distinta abundancia isotópica, y b) la presencia de asociaciones micorrízicas (Hobbie *et al.* 2000, Craine *et al.* 2015). En montañas tropicales existe poca información sobre ambos aspectos en vegetación natural.

### **Micorrización en especies del páramo andino.**

Montilla *et al.* (1992, 2002) estudiaron la frecuencia de micorrización en suelos cultivados en páramos andinos a elevaciones superiores a los 3000 m, con énfasis en los cambios que ocurren durante el período de barbecho. Después de 12 años de sucesión secundaria, 3 especies nativas alcanzaron cerca del 55% de cobertura: *Hypericum laricifolium* (25%), *Espeletia schultzei* (25%), *Orthrosanthus chimboracensis* (5%),

y un conjunto de 10 especies alcanzaron el 30% (Tabla 3. De esas 14 especies las dominantes presentan alto grado de micorrización. La única especie de leguminosa, *L. meridanus* también estaba micorrizada, aunque en menor proporción. Estas diferencias en grado de micorrización podrían generar variaciones en la abundancia natural de <sup>15</sup>N, especialmente en suelos con baja disponibilidad de N, y serían un tema para comprobación experimental.

**Tabla 2.** Concentración de nitrógeno y valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de suelos (0 – 5 cm) y material foliar (ordenados de menor a mayor) de sitios montanos (2500–3000 m) y páramos (>4000 m) en los Andes de Venezuela (Carretera Panamericana entre Santo Domingo y Pico del Águila).

Sitios montanos (2500–3000 m)	PLANTAS		SUELO		$\Delta$ ( $\delta^{15}\text{N}$ ) planta-suelo ‰
	N mmol g <sup>-1</sup>	$\delta^{15}\text{N}$ ‰	N mmol g <sup>-1</sup>	$\delta^{15}\text{N}$ ‰	
<b>Especies fijadoras de N<sub>2</sub></b>					
<i>Coriaria thymifolia</i>	1,83	-1,7	1,39	3,5	-5,2
<i>Alnus acuminata</i>	1,70	-0,6		*	-4,1
<i>Crotalaria</i> sp.	3,91	0,3		*	-3,2
<i>Lupinus meridanus</i>	3,08	0,3		*	-3,2
<b>promedio (± d.e.)</b>	<b>2,63 (1,06)</b>	<b>0,4 (1,0)</b>			<b>-3,9 (1,0)</b>
<b>no fijadoras de N<sub>2</sub></b>					
<i>Fraxinus americana</i>	1,39	4,0		*	0,5
<i>Hyptis</i> sp.	1,66	1,8		*	-1,7
<i>Verbesina turbacensis</i>	1,77	0,7		*	-2,8
<b>promedio (± d.e.)</b>	<b>1,61 (0,2)</b>	<b>2,2 (1,7)</b>			<b>-1,3 (1,7)</b>
<b>Páramo (&gt; 4000 m)</b>					
<b>fijadoras de N<sub>2</sub></b>					
<i>Lupinus eromonomus</i>	3,09	1,0	2,37	6,0	-5,0
<b>no fijadoras de N<sub>2</sub></b>					
<i>Acicahne acicularis</i>	1,00	0,8	5,70	4,5	-4,7
<i>Castilleja fissifolia</i>	1,17	1,5	2,90	6,6	-3,8
<i>Rhizocephalum candollei</i>	1,58	1,8	3,90	5,0	-3,5
<i>Arenaria venezuelana</i>	0,88	1,9	3,13	5,8	-3,4
<i>Hypericum laricifolium</i>	1,30	2,0	2,34	4,2	-3,3
<i>Espeletia schultzii</i>	0,68	2,1		*	-3,2
<i>Hinterhubera</i> sp.	1,26	3,1	3,89	4,9	-2,2
<i>Azorella</i> sp.	1,44	3,5	3,59	4,7	-1,8
<i>Draba chionophila</i>	2,10	3,5	2,89	6,1	-1,8
<i>Senecio formosus</i>	1,96	3,5	3,72	5,8	-1,8
<b>promedio (± d.e.)</b>	<b>1,34 (0,45)</b>	<b>2,4 (1,0)</b>	<b>3,56 (0,96)</b>	<b>5,3 (0,8)</b>	<b>-3,0 (1,0)</b>

\* para el cálculo de  $\Delta$  (planta-suelo) se utiliza el promedio de muestras de suelo

**Tabla 3.** Lista de las especies estudiadas por Montilla *et al.* (1992) en barbechos de 12 años en el Páramo de Gavidia, edo. Mérida. No micotrofas (NM) y grados bajo (Mb), intermedio (Mi) y alto (Ma) de infección con micorrizas vesículo-arbusculares.

ESPECIE	≈% cobertura	Micorrización
<i>Espeletia schultzii</i>	25	Ma
<i>Hypericum laricifolium</i>	25	Ma
<i>Orthrosanthus chimboracensis</i>	5	Mi
<i>Rumex acetosella</i> (introducida)	10	NM
<i>Acaena elongata</i>	30	Ma
<i>Baccharis prunifolia</i>		Ma
<i>Echeveria venezuelensis</i>		Mi
<i>Gnaphalium purpureum</i>		Mi
<i>Lachemilla verticillata</i>		Mi
<i>Stevia elongata</i>		Mi
<i>Acaena cilindrostachya</i>		Mb
<i>Geranium sp.</i>		Mb
<i>Gnaphalium paramorum</i>		Mb
<i>Lupinus meridanus</i>		Mb

Barnola y Montilla (1997) analizaron la micorrización en especies que constituyen la vegetación de arbustal-rosetal en un páramo no perturbado en el Edo. Mérida (Páramo El Banco, a 3800 m de elevación). De un total de 18 especies estudiadas solo *R. acetosella* (introducida), y *Conyza lasseriana* no mostraron asociación con micorrizas. Las especies dominantes *H. laricifolium* (42,6 % de cobertura), *E. schultzii* (18,6%) presentaron buen grado de micorrización, confirmando lo reportado en Montilla *et al.* (1992). Resultados similares se encontraron para el conjunto de especies muestreadas en pajonales (16 especies) entre las cuales destacan las Poaceae *Muehlenbergia ligularis* (15,3% de cobertura) y *Calamagrostis mullerii* (13,4) y la Cyperaceae *Eleocharis acicularis* (24%). Se puede concluir que la mayoría de las especies de páramos estudiadas hasta ahora conforman asociaciones micorrízicas vesículo-arbusculares.

### **Contraste entre plantas altas montañas alpinas y tropicales.**

La literatura sobre FBN en plantas vasculares de altas montañas tropicales es escasa, en comparación con los estudios en altas montañas de zonas templadas (Krner 2003). Por ello, me limito a una comparación de información basada en abundancia natural de <sup>15</sup>N en plantas y suelos de los Andes y un extenso estudio de ecosistemas alpinos en Suiza. Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  en plantas de páramo contrastan con los reportados por Yang *et al.* (2015) para localidades alpinas templadas. Los autores encuentran que en sitios localizados alrededor de 2500 m de elevación en los Alpes suizos, *Trifolium alpinum* (Fabaceae), las Cyperaceae *Carex curvula* y *C. sempervirens*, y la Juncaceae *Luzula lutea*, presentaron bajos niveles de discriminación de <sup>15</sup>N ( $\delta^{15}\text{N}$  -0,38 hasta -1,58 ‰) en contraste con 5 especies de otras familias (Poaceae, Asteraceae, Apiaceae, Rosaceae) ( $\delta^{15}\text{N}$  de -3,84 hasta -5,55 ‰). En estos sitios el  $\delta^{15}\text{N}$  del suelo era mayor que el de las plantas e incrementaba con la profundidad. Los autores argumentan que las ciperáceas y juncáceas tienen acceso a fuentes muy estables de N orgánico enriquecido en <sup>15</sup>N. En el caso de las especies con valores más negativos, Yang *et al.* (2015) sugieren que puede ser causado por el fraccionamiento en simbiosis micorrízicas.

Dos puntos resaltan de esta comparación:

a) ¿Cómo explicar que las especies dicotiledóneas no-fijadoras de N<sub>2</sub> tengan valores negativos en los Alpes y positivos en los Andes? Para responder esta pregunta se requiere analizar en detalle en ambos sistemas de las fuentes de N orgánico y mineral, la magnitud de la micorrización, y la presencia de organismos fijadores de N<sub>2</sub> en la rizosfera.

b) Las similitudes en  $\delta^{15}\text{N}$  de leguminosas alpinas y especie de Cyperaceae y Juncaceae sugiere análisis comparativos con especies andinas. En los Andes de Venezuela, según los registros de Briceño y Morillo (2006), las Cyperaceae están representadas por 29 especies que crecen por encima de los 3000 m, entre ellas 3 especies de *Carex* se han recolectado a más de 4000 m. El caso de las Juncaceae es también interesante con 9 especies registradas a elevaciones superiores a 3000 m y 4 especies por encima de los 4000 m.

### **CONCLUSIONES**

Del análisis anterior se deriva la necesidad de:

- Ampliar el rango de muestreo de las poblaciones de leguminosas que ocurren a más de 3000 m de elevación para comprobar si presentan nodulación y determinar la eficiencia de la FBN con mediciones *in situ* y abundancia natural de <sup>15</sup>N.

- Desarrollar un estudio taxonómico molecular de las especies de *Lupinus* para determinar el grado real de endemismo y ratificar la validez de las numerosas especies listadas.
- Profundizar el estudio de las Poaceae, Cyperaceae y Juncaeeae de páramo para determinar si tienen acceso a fuentes de N orgánico enriquecido en  $^{15}\text{N}$  o confirmar su asociación con bacterias endofíticas fijadoras de  $\text{N}_2$  como se ha demostrado con especies de *Trachypogon* en sabanas.
- Proceder a una evaluación sistemática de la fijación de  $\text{N}_2$  en gradientes altitudinales de montañas tropicales para determinar el papel de la temperatura en la regulación del proceso, en especial los amplios rangos térmicos diurnos. Este análisis puede contribuir a entender el predominio de asociaciones leguminosa-*Rhizobium* en zonas bajas, y el predominio de asociaciones actinorríticas fijadoras de  $\text{N}_2$  a mayor elevación.
- Revisar la correlación en la actividad de FBN *in situ* y la concentración de N en tejidos, para clarificar contrastes entre leguminosas y especies actinorríticas.
- Promover el cultivo de especies de *Lupinus* como plantas que favorecen los procesos de restauración de suelo y explorar las posibilidades de utilizarlas con fines de producción de alimento.

## AGRADECIMIENTOS

A dos revisores anónimos del Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas de LUZ, y María Luisa Izaguirre-Mayoral de la Universidad Técnica de Manabí, Ecuador, por su revisión crítica a la primera versión de este artículo.

## LITERATURA CITADA

ABADÍN, J., S. J. GONZÁLEZ-PRIETO, L. SARMIENTO, M. C. VILLAR Y T. CARBALLAS. 2002. Successional dynamics of soil characteristics in a long fallow agricultural system of the high tropical Andes. *Soil Biology and Biochemistry*. 34: 1739–1748.

ABD-ALLA, M. H. 1999. Nodulation and nitrogen fixation of *Lupinus* species with *Bradyrhizobium* (lupin) strains in iron-deficient soil. *Biology and Fertility of Soils*. 28: 407–415.

ANDREWS, M., E. K. JAMES, J. I. SPRENT, R. M. BODDEY, E. GROSS Y F. B. DOS REIS JR. 2011. Nitrogen fixation in legumes and actinorhizal plants in natural ecosystems: values obtained using  $^{15}\text{N}$  natural abundance. *Plant Ecology and Diversity*. 4: 131–

ARDLEY, J. Y J. I. SPRENT. 2021. Evolution and biogeography of actinorhizal plants and legumes: A comparison. *Journal of Ecology*. 109:1098–1121.

BARNOLA, L. G. Y M. G. MONTILLA. 1997. Vertical Distribution of Mycorrhizal Colonization, Root Hairs, and Belowground Biomass in Three Contrasting Sites from the Tropical High Mountains, Merida, Venezuela. *Arctic and Alpine Research*. 29: 206-212.

BARUCH, Z. 1984. Ordination and Classification of Vegetation along an Altitudinal Gradient in the Venezuelan Páramos. *Vegetatio*. 55: 115-126.

BAUTISTA GUERRERO, H. H. Y M. VALDÉS. 2008. *Frankia* y la simbiosis actinorrízica. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 50: 9 0–102.

BODDEY, R. M., M. B. PEOPLES, B. PALMER Y P. J. DART. 2000. Use of the <sup>15</sup>N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 57: 235–270.

BORING, L. R., W. T. SWANK, J. B. WAIDE Y G. S. HENDERSON. 1988. Sources, fates, and impacts of nitrogen inputs to terrestrial ecosystems: Review and Synthesis. *Biogeochemistry*. 6: 119–159.

BRICEÑO, B. Y G. MORILLO. 2002. Catálogo abreviado de las plantas con flores de los páramos de Venezuela. Parte I. Dicotiledóneas (Magnoliopsida). *Acta Botánica Venezuelica*. 25: 1–46.

BRICEÑO, B. Y G. MORILLO. 2006. Catálogo de las plantas con flores de los páramos de Venezuela. Parte II. Monocotiledóneas (Liliopsida). *Acta Botánica Venezuelica*. 29: 89–124.

BUDOWSKI, G. Y R. RUSSO. 1997. Nitrogen-fixing trees and nitrogen fixation in sustainable agriculture: Research challenges. *Soil Biology and Biochemistry*. 2: 767–770.

CHAIA, E. E., K. HUSS-DANELL, L. G. WALL Y D. MYROLD. 2019. Nitrogen fixation by riparian plants belonging to Coriariaceae, Rhamnaceae, and Gunneraceae in Northwest Patagonia. *Symbiosis*. 77: 237–247.

CRAINE, J. M., E. N. J. BROOKSHIRE, M. D. CRAMER, N. J. HASSELQUIST, K. KOBAYASHI, E.

MARIN-SPIOTTA Y L. WANG. 2015. Ecological interpretations of nitrogen isotope ratios of terrestrial plants and soils. *Plant and Soil*. 396: 1–26.

FARIA, S. M., G. P. LEWIS, J. I. SPRENT Y J. M. SUTHERLAND. 1989. Occurrence of nodulation in the Leguminosae. *New Phytologist*. 111: 607–619.

FERNÁNDEZ-PASCUAL, M., J. J. PUEYO, M. R. FELIPE, M. P. GOLVANO Y M. M. LUCAS. 2007. Singular features of the *Bradyrhizobium-Lupinus* symbiosis. *Dynamic Soil, Dynamic Plant* ©2007 Global Science Books.

HOBBIE, E. A., S. A. MACKO Y M. WILLIAMS. 2000. Correlations between foliar  $\delta^{15}\text{N}$  and nitrogen concentrations may indicate plant-mycorrhizal interactions. *Oecologia*. 122: 273–283.

HOULTON, B. Z., Y.-P. WANG, P. M. VITOUSEK Y C. B. FIELD. 2008. A unifying framework for dinitrogen fixation in the terrestrial biosphere. *Nature*. 454: 327–330.

HUGUET, V., M. GOUY, P. NORMAND, J. F. ZIMPFER Y M. P. FERNANDEZ. 2005. Molecular phylogeny of Myricaceae: a reexamination of host–symbiont specificity. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 34: 557–568.

HUSS-DANEL, K. 1997. Actinorhizal symbioses and their  $\text{N}_2$  fixation. *New Phytologist*. 136: 375–405.

IZAGUIRRE-MAYORAL, M. L. Y V. I. VIVAS. 1996. Symbiotic  $\text{N}_2$ -fixation in tropical legume species growing at high geographic elevation. *Symbiosis*. 21: 49–69.

JACOT, K.A., A. LÜSCHER, J. NÖSBERGER Y U. A. HARTWIG. 2000. Symbiotic  $\text{N}_2$  fixation of various legume species along an altitudinal gradient in the Swiss Alps. *Soil Biology and Biochemistry*. 32: 1043–1052.

JAMES, E. K. 2000. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. *Field Crops Research*. 65: 197-209.

KÖRNER, C. 2003. *Alpine Plant Life: Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems*. 2nd Edition Springer Verlag Berlin – Heidelberg.

LLAMBÍ, LD. 2015. Estructura, diversidad y dinámica de la vegetación en el ecotono bosque-páramo: revisión de la evidencia en la Cordillera de Mérida. *Acta Biologica Colombiana*. 20(3): 5–19.

LÓPEZ-HERNÁNDEZ, D., S. SANTAELLA Y P. CHACÓN. 2006. Contribution of nitrogen-fixing organisms to the N budget in *Trachypogon* savannas. *European Journal of Soil Biology*. 42: 43–50.

MARQUINA, M. E., R. M. SKWIERINSKI Y B. BRICEÑO. 2001-2002. Actividad reductora de acetileno de las bacterias asociadas a las Glumifloras del Páramo, Loma Redonda, Mérida – Venezuela. *Pittieria*. 2(31): 57–69.

MEDINA, E. Y M. L. IZAGUIRRE. 2004. N<sub>2</sub>-fixation in tropical American savannas evaluated by the natural abundance of <sup>15</sup>N in plant tissues and soil organic matter. *Tropical Ecology*. 45: 87–95.

MEDINA, E., E. CUEVAS Y A. E. LUGO. 2017. Substrate Chemistry and Rainfall Regime Regulate Elemental Composition of Tree Leaves in Karst Forests. *Forests*. 8, 182; doi:10.3390/f8060182.

MONASTERIO, M. 1986. Adaptive Strategies of Espeletia in the Andean Desert Paramo. Cap. 3, pp. 48–80 en: Vuilleumier, F. y M. Monasterio (Eds) *High Altitude Tropical Biogeography*. Oxford University Press and the American Museum of Natural History.

MONTILLA, M., R. A. HERRERA Y M. MONASTERIO. 1992. Micorrizas vesículo-arbusculares en parcelas que se encuentran en sucesión regeneración en los Andes Tropicales. *Suelo y Planta*. 2: 59–70.

MONTILLA, M., R. HERRERA-PERAZA Y M. MONASTERIO. 2002. Influencia de los períodos de descanso sobre la distribución vertical de raíces, micorrizas arbusculares y pelos radicales en páramos andinos venezolanos. *Ecotropicos*. 15(1): 85–98.

OLIVARES, F. L., V. L. D. BALDANI, V. M. REI, J. I. BALDANI Y J. DÖBEREINER. 1996. Occurrence of the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* spp. in roots, stems, and leaves, predominantly of Gramineae. *Biology and Fertility of Soils*. 21: 197–200.

RANGEL, O. 2000. La región paramuna y franja aledaña en Colombia. En: Rangel, O. (Ed.), *Colombia diversidad biótica III. La región de vida paramuna* Unibiblos, Bogotá D.C., pp. 1-23.

SARMIENTO, L., A. ABADÍN, S. GONZÁLEZ-PRIETO Y T. CARBALLAS. (2012) Assessing and modeling the role of the native legume *Lupinus meridanus* infertility restoration in a heterogeneous mountain environment of the tropical Andes. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 159: 29– 39.

SICARDI DE MALLORCA, M. Y M. L. IZAGUIRRE-MAYORAL. 1993. A comparative evaluation of the symbiotic  $N_2$ -fixation and physiological performance of thirty six native legume species collected in a tropical savanna during the rainy and dry seasons. *Symbiosis*. 16: 225–247.

TRINICK M. J. Y P. A. HADOBAS. 1989. Biology of the *Parasponia-Bradyrhizobium* symbiosis. En: *Nitrogen Fixation with Non-Legumes*, (Skinner FA, Boddey RM y Fendrik I, eds.) *Developments in Plant and Soil Sciences* Vol. 35, pp. 25–33. Springer, Dordrecht.

TRIPLETT, E. W. 1996. Diazotrophic endophytes: progress and prospects for nitrogen fixation in monocots. *Plant and Soil*. 186: 29–38.

VARESCHI, V. 1970. Flora de los páramos de Venezuela. Mérida (Venezuela): Ediciones del Rectorado, Universidad de los Andes; p. 429.

VÁSQUEZ, D. L. A., H. BALSLEV Y P. SKLENÁR. 2015. Human impact on tropical-alpine plant diversity in the northern Andes. *Biodiversity and Conservation*. 24: 2673–2683.

VIELMA, M. 1999. Caracterización de cepas autóctonas de *Bradyrhizobium* sp. aisladas de *Lupinus* spp. *Revista Facultad de Agronomía (LUZ)*. 16: 495–508.

WAGNER, S. C. 2011. Biological Nitrogen Fixation. *Nature Education Knowledge*. 3(10): 15.

WALTER, H. Y E. MEDINA. 1969. La temperatura del suelo como factor determinante para la caracterización de los pisos subalpino y alpino en los Andes de Venezuela. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales*. 38 (115/116): 201-210.

YANG, Y., R. T. W. SIEGWOLF Y C. KÖRNER. 2015. Species specific and environment induced variation of  $\delta^{13}C$  and  $\delta^{15}N$  in alpine plants. *Frontiers Plant Science*. 6:423. doi: 10.3389/fpls.2015.00423.

**BOLETÍN  
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS**

AN INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGY  
PUBLISHED BY THE UNIVERSITY OF ZULIA, MARACAIBO, VENEZUELA  
Vol. 57, No 2, Pp. 98-349, July-December 2023

**CONTENTS**

<b>Physicochemical and microbiological characterization of shrimp meal <i>Penaeus vannamei</i> (Boone, 1931).</b> Alexandra Elizabeth Bermúdez-Medrandá, Vanessa Hanoi Acosta Balbas y Fernando Ramón Isea-León.....	98
<b>Preference of fruits in birds that visit a feeder in the city of Caracas.</b> Bárbara Santana y Cristina Sainz-Borgo.....	112
<b>Atmospheric nitrogen fixation in high tropical mountains: Venezuelan paramos.</b> Ernesto Medina.....	129
<b>Plants of the Botanical Garden of the Orinoco, ciudad Bolívar, Bolívar State, Venezuela.</b> Wilmer A. Díaz-Pérez, Luis Chacón y Magdalena Ochoa.....	146
<b>Revision of the burrowing beetle genus <i>Llanoterus</i> García and Camacho, 2018 (Coleoptera: Noteridae: Noterini). Part I</b> Mauricio García y Alfredo Briceño.....	204
<b>Accumulated index 1967 – 2023. Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas on its 56 th Anniversary.</b> Teresa Martínez Leones.....	272
<b>INSTRUCCIONES A LOS AUTORES.....</b>	321
<b>INSTRUCTIONS FOR AUTHORS.....</b>	332