



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD
ECOLOGÍA

**EFFECTOS FISIOLÓGICOS DEL DEPÓSITO DE NITRÓGENO SIMULADO
EN MALEZAS RUDERALES**

TESIS

(POR ARTÍCULO CIENTÍFICO)

**EFFECTOS FISIOLÓGICOS DEL DEPÓSITO DE NITRÓGENO SIMULADO
EN MALEZAS RUDERALES**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (ECOLOGÍA)

PRESENTA:

DEYSI NAYELI MARTÍNEZ VÁZQUEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ERICK DE LA BARRERA MONTPELLIER
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM
COMITÉ TUTOR: DRA. EK DEL VAL DE GORTARI
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, UNIDAD MORELIA, UNAM
DR. FRANCISCO JAVIER ESPINOSA GARCÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM

MORELIA, MICHOACÁN. MARZO 2020.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ENTIDAD INSTITUTO DE ECOLOGÍA

OFICIO CPCB/121/2020

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas, del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 20 de enero de 2020, se aprobó el siguiente jurado para la presentación del examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Ecología**, de la estudiante, **MARTÍNEZ VÁZQUEZ DEYSI NAYELI**, con número de cuenta con **518018438**, por la modalidad de graduación de tesis **por artículo científico** titulado: **Efectos fisiológicos del depósito de nitrógeno simulado en malezas ruderales**, que es producto del proyecto realizado en la maestría que lleva por título, **“EFECTOS FISIOLÓGICOS DEL DEPÓSITO DE NITRÓGENO SIMULADO EN MALEZAS RUDERALES”**, realizada bajo la dirección del **DR. ERICK DE LA BARRERA MONTPELLIER**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: Dr. Enrico Arturo Yepez González
Vocal: Dr. Fernando Pineda García
Secretario: Dr. Francisco Javier Espinosa García
Suplente: Dr. Felipe Francisco García Oliva
Suplente: Dra. Heike Dora Marie Vibrans Lindemann

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 19 de febrero de 2020

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por aceptarme en el programa de Maestría en Ciencias Biológicas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de manutención durante mis estudios de maestría.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico UNAM por el apoyo financiero otorgado a través de los proyectos IN211519 y RN211519.

A mi Tutor principal, el Dr. Erick de la Barrera Montppellier, a los miembros de mi Comité Tutor, Dra. Ek del Val de Gortari y Dr. Francisco J. Espinosa García, por su guía y apoyo durante el desarrollo de esta investigación.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Estoy muy agradecida con mi Tutor principal, el Dr. Erick de la Barrera y mi comité Tutor, la Dra. Ek del Val y Dr. Francisco J. Espinosa. Fueron muy importantes en mi formación académica. Aprendí de ellos y me incentivaron a buscar el conocimiento. Gracias por su paciencia y apoyo.

Al Dr. Mauricio Quesada A., por apoyo en el uso de sus instalaciones.

Al Dr. Felipe García O., Dr. Horacio Paz H., Dr. Roberto Lindig C. y Dr. Víctor Rocha R., por su apoyo en el préstamo de equipo y material de laboratorio.

Al Dr. Francisco Mora A., por el apoyo en el área estadística.

Al los miembros del jurado: Dr. Enrico Yopez G., Dr. Felipe García O., Dr. Fernando Pineda G., Dr. Francisco J. Espinosa G. y Dra. Heike Vibrans L.

A Adrián, Alejandra, Alonso, Andrés, Edison, Ginna, Javier y Laura, por su apoyo en la colecta en campo y en la ejecución del experimento.

A mamá M. Victoria y Alejandro, por su apoyo y consejos, fueron un pilar muy importante en mi formación académica.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO 1	4
1.1. INTRODUCCIÓN	5
1.1.1. Depósito de nitrógeno	5
1.1.2. Problemas causados por el depósito de nitrógeno	6
1.1.3. Biomonitorio	7
1.2. LITERATURA CITADA	11
CAPÍTULO 2	17
2. ARTÍCULO ENVIADO A ACTA BOTANICA MEXICANA	18
RESUMEN	19
ABSTRACT	20
2.1. INTRODUCCIÓN	21
2.2. MATERIAL Y MÉTODOS	23
2.2.1. Escenarios de depósito de nitrógeno	24
2.2.2. Actividad de la enzima nitrato reductasa (NR)	24
2.2.3. Contenido y fluorescencia de clorofilas	25
2.2.4. Biomasa	25
2.2.5. Análisis estadísticos	25
2.3. RESULTADOS	26
2.3.1. Supervivencia	26
2.3.2. Fisiología y biomasa	28
2.3.3. Biomasa	28
2.3.4. Actividad de la enzima nitrato reductasa (NR)	30
2.3.5. Contenido y fluorescencia de clorofilas	32

2.4. DISCUSIÓN	36
2.4.1. Sobrevivencia	36
2.4.2. Biomasa	37
2.4.3. Actividad de la enzima nitrato reductasa (NR)	38
2.4.4. Contenido y fluorescencia de clorofilas	39
2.5. CONCLUSIÓN	41
2.6. LITERATURA CITADA	43
CAPÍTULO 3	49
3.1. DISCUSIÓN	50
ANEXO	53

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 2.1. Especies de estudio, categorías taxonómicas y origen (Rzedowski et. al., 2005; Mifsut y Jiménez, 2007).	23
Cuadro 2.2. Resumen del efecto de la simulación del depósito de nitrógeno en la fisiología de las malezas. El signo de menos (-) indica efectos negativos en el rasgo, signo de más (+) indica efectos positivos.	42
Figura 2.1. Supervivencia de 11 malezas ruderales bajo distintos escenarios de depósito de nitrógeno simulado. Se muestra el promedio \pm error estándar (n=6).	27
Figura 2.2. Biomasa total y relación entre la biomasa subterránea y la aérea (BS/BA) en respuesta al depósito de nitrógeno simulado. Se muestra el promedio \pm error estándar. Para cada panel letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos.	29
Figura 2.3. Actividad de la enzima nitrato reductasa en respuesta al depósito de nitrógeno simulado. Se muestra el promedio \pm error estándar. Para cada panel letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos.	31
Figura 2.4. Concentración de clorofilas, relación clorofila <i>a/b</i> y fluorescencia. Se muestra el promedio \pm error estándar. Para cada panel letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos.	33

RESUMEN

El nitrógeno reactivo que circula en la superficie terrestre ha incrementado a la par de las actividades humanas, afectando la dinámica de los ecosistemas, la estructura y función de las comunidades vegetales. Su depósito se considera una de las principales amenazas a la biodiversidad y contribuye a la contaminación atmosférica.

El objetivo del estudio fue analizar el efecto de escenarios experimentales de depósito de nitrógeno, i.e, 10, 20, 40 y 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹, en la fisiología de once malezas ruderales de la ciudad de Morelia para identificar potenciales biomonitores de depósito de nitrógeno. La sobrevivencia fue baja para *Amaranthus hybridus* (<11%), *Melinis repens* (<33%), *Sporobolus indicus* (<11%) y nula en *Pennisetum ciliare*. En nueve de once especies de malezas la sobrevivencia fue afectada por el depósito de nitrógeno, a excepción de *Bidens pilosa* (>96%) y *Chloris gayana* (>96%). Bajo el escenario de 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹, la sobrevivencia fue máxima en *Taraxacum officinale* (77.8%) y en *Melinis repens* (33%), mientras que bajo la tasa de 10 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ ocurrió la curva menos abrupta de mortandad en *P. ciliare*.

La producción de biomasa total (g peso seco; $X \pm EE$) incrementó bajo las tasas más altas de depósito de nitrógeno (40 y 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹) en las especies *B. pilosa* (1.099 ± 0.096 g), *C. gayana* (1.557 ± 0.238 g), *Lepidium virginicum* (0.918 ± 0.354 g) y *Pennisetum setaceum* (1.210 ± 339 g). La relación biomasa subterránea/aérea (BS/BA) se redujo en *B. pilosa* (0.211 ± 0.013) y *C. gayana* (0.454 ± 0.013). La actividad de la enzima nitrato reductasa (NR en μMol NO₂ min⁻¹g⁻¹ peso seco) en *C. gayana* (0.173 ± 0.029 μMol NO₂ min⁻¹g⁻¹) y *T. officinale* (0.243 ± 0.009 μMol NO₂ min⁻¹g⁻¹) fue máxima en 10 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ y descendió en tratamientos superiores de depósito de nitrógeno, mientras que en *L. virginicum* el pico máximo de actividad NR (0.227 ± 0.043 μMol NO₂ min⁻¹g⁻¹) ocurrió bajo 40 Kg N ha⁻¹ año⁻¹. El contenido de clorofilas en *B. pilosa* (248.013 ± 19.139

mg m⁻²), *C. gayana* (215.797 ± 17.298 mg m⁻²) y *L. virginicum* (362.475 ± 13.194 mg m⁻²) se incrementó en los tratamientos más altos de depósito de nitrógeno. La relación clorofila *a/b* descendió en *C. gayana* (2.433 ± 0.073) y *L. virginicum* (2.390 ± 0.108) en los escenarios más altos de depósito de nitrógeno. La eficiencia cuántica en la transferencia de electrones (F_v/F_m), descendió en *C. pycnatrix* (0.381 ± 0.018) bajo el tratamiento de 80 Kg N ha⁻¹año⁻¹ y fue mayor en 40 Kg N ha⁻¹año⁻¹ (0.646 ± 0.045). *Bidens pilosa*, *C. gayana* y *L. virginicum* fueron especies con más variables sensibles al depósito de nitrógeno, por lo cual podrían ser útiles en el biomonitorio del depósito de nitrógeno.

ABSTRACT

The reactive nitrogen circulating throughout the terrestrial surface has increased with human activities, affecting the dynamics of ecosystems, the structure and function of plant communities. Its deposition represents the third global threat to biodiversity, and contributes to air pollution.

In this study, the effect of experimental nitrogen deposition scenarios, i.e., 10, 20, 40 and 80 kgN ha⁻¹year⁻¹, on the physiology of eleven ruderal weeds from the city of Morelia was evaluated: biomass production, nitrate reductase activity, chlorophyll content and fluorescence. Survival was low for *Amaranthus hybridus* (<11%), *Melinis repens* (<33%), *Sporobolus indicus* (<11%), and null for *Pennisetum ciliare*. Survival was also affected by nitrogen deposition in nine of 11 species, with the exception of *Bidens pilosa* (> 96%), and *Chloris gayana* (> 96%). Under 80 Kg N ha⁻¹year⁻¹, survival was maximum for *Taraxacum officinale* (77.8%) and *Melinis repens* (33%), while in 10 Kg N ha⁻¹year⁻¹ *P. ciliare* showed a less abrupt mortality curve.

Total biomass production (g dry weight; $X \pm SE$) increased under the higher rates of nitrogen deposition (40 and 80 Kg N ha⁻¹ year⁻¹) for *B. pilosa* (1.099 ± 0.096 g), *C. gayana* (1.557 ± 0.238 g), *Lepidium virginicum* (0.918 ± 0.354 g), and *Pennisetum setaceum* (1.210 ± 339 g). The

underground/aerial biomass ratio was reduced in *B. pilosa* (0.211 ± 0.013) and *C. gayana* (0.454 ± 0.013). The activity of the enzyme nitrate reductase (NR in $\mu\text{Mol NO}_2 \text{ min}^{-1}\text{g}^{-1}$ dry weight) was affected by the nitrogen deposition in *C. gayana* ($0.173 \pm 0.029 \mu\text{Mol NO}_2 \text{ min}^{-1}\text{g}^{-1}$) and *T. officinale* ($0.243 \pm 0.009 \mu\text{Mol NO}_2 \text{ min}^{-1}\text{g}^{-1}$). The maximum was reached under $10 \text{ Kg N ha}^{-1}\text{year}^{-1}$, whereas in *L. virginicum* the maximum peak of NR activity ($0.227 \pm 0.043 \mu\text{Mol NO}_2 \text{ min}^{-1}\text{g}^{-1}$) was in $40 \text{ Kg N ha}^{-1}\text{year}^{-1}$. The chlorophyll content in *B. pilosa* ($248.013 \pm 19.139 \text{ mg m}^{-2}$), *C. gayana* ($215.797 \pm 17.298 \text{ mg m}^{-2}$) and *L. virginicum* ($362.475 \pm 13.194 \text{ mg m}^{-2}$) increased under the high nitrogen deposition treatments. In turn, the chlorophyll *a/b* ratio decreased in *C. gayana* (2.433 ± 0.073) and *L. virginicum* (2.390 ± 0.108) in the high nitrogen deposition treatments. Quantum efficiency in electron transfer (F_v/F_m) decreased in *Chloris pycnотrix* (0.381 ± 0.018) in the treatment of $80 \text{ Kg N ha}^{-1}\text{year}^{-1}$ and the highest F_v/F_m was in $40 \text{ Kg N ha}^{-1}\text{year}^{-1}$ (0.646 ± 0.045). *Bidens pilosa*, *C. gayana* and *L. virginicum* were species with a higher number of variables sensitive to the nitrogen deposition, which could be useful in the biomonitoring of the nitrogen deposition.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN



Taraxacum officinale
Rzedowski, et al., 2005

1.1. INTRODUCCIÓN

1.1.1. Depósito de nitrógeno

El nitrógeno constituye cerca del 78% de los gases en la atmósfera terrestre (Galloway et al., 2004). Se encuentra predominantemente como nitrógeno molecular (N_2), el cual es llamado nitrógeno no reactivo, ya que no puede ser utilizado por la mayoría de los seres vivos (Galloway et al., 2003, 2004; Azcón-Bieto y Talón, 2008; Márquez et al., 2013). Se requiere de grandes cantidades de energía para romper el triple enlace de la molécula N_2 , que solo especies que expresan el complejo nitrogenasa pueden reducir (Galloway et al., 2004; Azcón-Bieto y Talón, 2008). Esta actividad, la fijación biológica de nitrógeno, constituye aproximadamente el 90% de las fuentes naturales de nitrógeno reactivo (Nr), el 10% restante proviene de la actividad volcánica y de descargas eléctricas (Azcón-Bieto y Talón, 2008; Márquez et al., 2013). Las formas reactivas del nitrógeno son componentes oxidados como los NO_x , componentes reducidos como el NH_4^+ y NH_3 , y componentes orgánicos nitrogenados (Galloway et al., 2003, 2004; Bobbink et al., 2010). Estas formas de Nr se sedimentan a la superficie terrestre por acción de la gravedad o se precipitan con el agua, llamándose depósito seco o depósito húmedo, respectivamente (Paerl et al., 2002; Pineda y Venegas, 2008; Reay et al., 2008).

Actividades antrópicas como la quema de combustibles fósiles, el cultivo inducido de plantas asociadas a bacterias fijadoras de nitrógeno, la producción y uso de fertilizantes contribuyen con nuevas fuentes de Nr a la superficie terrestre (Galloway et al., 2003, 2004). Este incremento de Nr ha modificado el ciclo del nitrógeno (Galloway y Cowling, 2002; Gruber y Galloway, 2008). De hecho, el depósito de formas reactivas de nitrógeno se considera una de las principales amenazas a la biodiversidad y un factor de cambio global (Wilcove et al., 1998; Sala et al., 2000; Rockström et al., 2009)

1.1.2. Problemas causados por el depósito de nitrógeno

Debido a que el nitrógeno había sido un elemento limitante para la productividad primaria, su incremento ha modificado la dinámica de los ecosistemas, pues la mayoría de los organismos han evolucionado en entornos de baja disponibilidad de nitrógeno (Lee y Caporn, 1998). En ambientes pobres de nitrógeno, la adición de este ha llevado al desplazamiento de especies adaptadas a baja disponibilidad de nitrógeno por especies con altas tasas de crecimiento, con mayor habilidad competitiva y de tolerancia a condiciones de toxicidad (Bobbink et al., 1998, 2010; Kronzucker et al., 2001; Stevens et al., 2004; Farrer et al., 2013).

El incremento en la disponibilidad de nitrógeno ha aumentado en plantas la susceptibilidad al estrés debido a que se acentúan deficiencias nutricionales y de energía (Schulze, 1989; Krywult et al., 1996; DeHayes et al., 1999). Por ejemplo, el NH_4^+ es expulsado de los compartimentos celulares para evitar despolarizar las membranas, lo que lleva a una alta demanda de energía y su consecuente deficiencia (Kronzucker et al., 2001). A su vez, puede favorecer la labilidad de iones tóxicos como el Al_3^+ , Mn_2^+ y Fe_3^+ , e interferir con la toma de cationes de importancia biológica como el Ca_2^+ y el Mg_2^+ (Schulze, 1989; Tian et al., 2016). O bien, el aumento de nitrógeno puede afectar las relaciones de C/N, y este enriquecimiento llevar a una mayor incidencia de patógenos y de herbivoría (DeHayes et al., 1999; Throop, 2005).

Las formas reactivas del nitrógeno son una de las principales amenazas a la biodiversidad y contribuyen a la contaminación atmosférica (Sala et al., 2000; Rockström et al., 2009; Crutzen y Günter, 2016; Yeo et al., 2019). Formas oxidadas de Nr son precursores de la formación de ozono troposférico relacionado con descensos de en la productividad primaria, así como a efectos negativos a la salud humana (WHO, 2000; Crutzen y Günter, 2016).

1.1.3. Biomonitorio

A pesar de que el depósito de nitrógeno es un factor de cambio global y de contribuir a la contaminación atmosférica, este es únicamente monitoreado en la Ciudad de México (Red de Depósito Atmosférico REDD: Sala et al., 2000; Rockström et al., 2009; Arróniz-Crespo et al., 2012; Yeo et al, 2015). En México, la normatividad solo contempla la emisión de contaminantes atmosféricos para ciudades de más de medio millón de habitantes, pero sólo estima una fracción del depósito total de nitrógeno, el depósito seco (NOM156-SEMARNAT-2012: Arróniz-Crespo et al., 2012; SEMARNAT, 2012). Así mismo, esta normatividad es cumplida en pocas ciudades de México debido al alto costo de los sistemas de monitoreo (Arróniz-Crespo et al., 2012; Díaz-Álvarez et al., 2018; SINAICA, 2019). Se ha sugerido el uso de biomonitores de depósito de nitrógeno atmosférico como alternativa al la ausencia de dichos sistemas de monitoreo (Arróniz-Crespo et al., 2012; Díaz-Álvarez et al., 2018).

Los biomonitores son organismos que contienen información de la calidad del ambiente. Estos deben tener amplia distribución ecológica y geográfica, ser abundantes, de fácil colecta, así como ser a la vez tolerantes y sensibles al contaminante de interés (Markert et al., 2003). Para el biomonitorio del depósito de nitrógeno se han usado especies de plantas vasculares y no vasculares (Arróniz-Crespo et al., 2008; Díaz-Alvarez y de la Barrera, 2017; Díaz-Álvarez et al., 2019, 2020). En éstas, las respuestas fisiológicas al exceso de nitrógeno pueden proveer una aproximación a la tasa de depósito de nitrógeno (Sutton et al., 2004; Arróniz-Crespo et al., 2008; Díaz-Alvarez y de la Barrera, 2017; Díaz-Álvarez et al., 2019, 2020).

En el presente estudio se analizaron malezas ruderales (Cuadro 2.1), debido a se establecen en la cercanía de asentamientos humanos. Dichas especies asimilan formas de Nr como el NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , NH_3 y moléculas orgánicas de bajo peso molecular por el sistema de raíces y la biomasa aérea (Azcón -Bieto y Talón, 2008; Tegeder y Masclaux-Daubresse, 2018).

En este estudio se midió la actividad de la enzima nitrato reductasa (NR), el contenido de clorofilas, su fluorescencia y la producción de biomasa. Dichos rasgos fueron reportados como sensibles al depósito de nitrógeno y de utilidad en el monitoreo (Arróniz-Crespo et al., 2008; Díaz-Álvarez et al., 2015).

La enzima NR es una proteína que cataliza uno de los primeros pasos en la asimilación de nitrógeno (Rothstein et al., 1996; Azcón-Bieto y Talón, 2008). Reduce el grado de oxidación del NO_3^- a NO_2^- (Rothstein et al., 1996; Azcón-Bieto y Talón, 2008). La presencia de NO_3^- y de luz son algunos de los factores que controlan su actividad (Hoff et al., 1992; Azcón-Bieto y Talón, 2008). El NO_3^- promueve la síntesis de RNA mensajero que codifica para dicha enzima (Hoff et al., 1992; Mohr et al., 1992; Azcón-Bieto y Talón, 2008). Sin embargo, la actividad de la enzima NR desciende con la acumulación de moléculas con nitrógeno reducido en la célula como la glutamina, el glutamato y el NH_4^+ , que inhiben su síntesis (Pearce y Van Der Wal, 2002; Azcón-Bieto y Talón, 2008; Glime, 2017).

Las clorofilas son pigmentos que se encuentran embebidos en las membranas de los cloroplastos, a su vez, se encuentran asociadas a proteínas en los complejos cosechadores de luz (LHC) y a los centros de reacción de los fotosistemas (PS: DeEll y Toivonen, 2011; Taiz et al., 2014). La presencia de luz y la disponibilidad de precursores de la clorofila, como el ácido aminolevulínico e isopropenoides, son factores que controlan su síntesis (Eckhardt et al., 2004; Taiz et al., 2014). Diversos estudios han señalado a las clorofilas como sensibles al depósito de nitrógeno, ya que al incrementar la concentración de nitrógeno disponible para las plantas tiene un efecto fertilizante (Arróniz-Crespo et al., 2008; Díaz-Álvarez et al., 2015; Liu et al., 2018). La relación clorofila *a/b* puede fluctuar bajo condiciones estrés, así como con el aumento en el depósito de nitrógeno (Arróniz-Crespo et al., 2008; Lambers et al., 2008; Ashraf y Harris, 2013). Condición de estrés que resulta en descensos de la relación clorofila *a/b*, que afectan las

proporciones de los fotosistemas (PS) y de los complejos cosechadores de luz (LHC) en los tilacoides (Lambers et al., 2008).

La fluorescencia de la clorofila a es un indicador de la integridad del fotosistema II y de su eficiencia cuántica, o bien, de la eficiencia de la conversión de energía lumínica a bioquímica (DeEll y Toivonen, 2011). El parámetro de la fluorescencia F_v/F_m mide la eficiencia de la transferencia del excitón, donde F_v es la variabilidad de la fluorescencia del tejido adaptado a oscuridad, el cual es la diferencia de la fluorescencia máxima (F_m) y la fluorescencia mínima (F_0 : DeEll y Toivonen, 2011; Azcón-Bieto y Talón, 2000). Los descensos de F_v/F_m , implican la emisión de fotones por arriba de 700 nm, debido al estado reducido del primer aceptor de electrones en el fotosistema II, y con ello de la reducción de la capacidad fotosintética (DeEll y Toivonen, 2011). Este parámetro ha sido útil para identificar efectos de estrés debido al incremento del depósito de nitrógeno (Arróniz-Crespo et al., 2008; DeEll y Toivonen, 2011).

En la biomasa se ha observado un efecto fertilizante del depósito de nitrógeno (Jiang et al., 2005; Tian et al., 2012; Stevens y Gowing, 2014; Peng et al., 2016; Tulloss y Cadenasso, 2016; Shen et al., 2019). La producción de biomasa se incrementa bajo escenarios de depósito de nitrógeno, uno de los principales efectos del aumento en la disponibilidad de nitrógeno en el ambiente (Jiang et al., 2005; Tian et al., 2012; Stevens y Gowing, 2014; Peng et al., 2016; Tulloss y Cadenasso, 2016; Shen et al., 2019). En contraste, la relación biomasa subterránea:aérea (BS/BA) se reduce bajo condiciones experimentales de depósito de nitrógeno (Li et al., 2015; Mao et al., 2018). Reguladas por la co-limitación de nutrientes y la capacidad intrínseca de las especies, de igual manera que la producción de biomasa (Azcón-Bieto y Talón, 2008; Taiz et al., 2014; Tulloss y Cadenasso, 2016; Mao et al., 2018).

El objetivo del presente estudio fue analizar las respuestas fisiológicas de malezas ruderales de la ciudad de Morelia, Michocán bajo escenarios de depósito de nitrógeno simulado, para

identificar potenciales biomonitores. Se hipotetizó que la simulación del depósito de nitrógeno, al aumentar el contenido de formas asimilables de nitrógeno inorgánico, afecta las respuestas fisiológicas de las malezas ruderales (Cuadro 2.1). a) Se espera que la producción de biomasa y el contenido de clorofila se incrementen con la simulación de escenarios ascendentes de depósito de nitrógeno, debido a que el depósito de nitrógeno aporta formas inorgánicas de nitrógeno asimilables por las plantas ejerciendo un efecto fertilizante. b) Con respecto la relación de la BS/BA, una reducción a la asignación de recursos a la biomasa subterránea debida al aumento en la disponibilidad de nitrógeno. c) En la actividad de la enzima Nr se encontrará el descenso de su actividad a medida que aumente la tasa de depósito de nitrógeno, debido al aumento en la concentración de compuestos reducidos en el interior de los compartimentos celulares. d) La relación clorofila a/b y la F_v/F_m se verán reducidas, indicando la disminución de la capacidad fotosintética bajo escenarios de depósito de nitrógeno que causen estrés en las plantas, en específico sobre los escenarios más altos de depósito de nitrógeno.

1.2. LITERATURA CITADA

- Arróniz-Crespo, M., J. R. Leake, P. Horton, y G. K. Phoenix. 2008. Bryophyte physiological responses to, and recovery from, long-term nitrogen deposition and phosphorus fertilisation in acidic grassland. *New Phytologist*. 180: 864–874.
- Arróniz-Crespo, M., R. Ochoa-Hueso y E. Manrique. 2012. Biomonitorización del depósito de nitrógeno atmosférico en México: Detección y prevención de daños en ecosistemas naturales. *En: Cerón-Bretón, R., J. Cerón-Breton y J. Guerra-Santos. Avances y perspectivas de la depositación ácida en México. Universidad Autónoma del Carmen. Cd. Del Carmen, México. 81–98.*
- Ashraf, M., y P. J. C. Harris. 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica*. 51: 163–190.
- Azcón-Bieto, J., y M. Talón. 2008. *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill Interamericana, Madrid.
- Beckly, K., S. Dickens, D. Gonzalez, Y. Gault, L. Hallett, L. Nichols, J. Reich, C. Stein, R. Weller, S. Yeraballi For Fi Eld Assistance, W. Anderegg, L. August-Schmidt, D. Kraemer, D. Lek, A. Mcdowell, A. Race, B. Vaughn, y J. Wang. 2013. Nitrogen deposition, plant carbon allocation, and soil microbes: Changing interactions due to enrichment. *American Journal of Botany*. 100: 1458–1470.
- Bobbink, R., K. Hicks, J. Galloway, T. Spranger, R. Alkemade, M. Ashmore, M. Bustamante, S. Cinderby, E. Davidson, F. Dentener, B. Emmett, J.-W. Erisman, M. Fenn, F. Gilliam, A. Nordin, L. Pardo, y W. De Vries. 2010. Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis. *Ecological Applications*. 20: 30–59.
- Bobbink, R., M. Hornung, y J. G. M. Roelofs. 1998. The effects of air-borne nitrogen pollutants on species diversity in natural and semi-natural European vegetation. *Journal of Ecology*. 86: 717–738.
- Carpenter, S. R., N. F. Caraco, D. L. Correll, R. W. Howarth, A. N. Sharpley, y V. H. Smith. 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications*. 8: 559–568.
- Crutzen, P. J., y H. B. Günter. 2016. *Paul J. Crutzen: A pioneer on atmospheric chemistry and climate change in the anthropocene*. Springer, Switzerland.
- DeEll, J., y P. Toivonen. 2011. *Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology*, Springer Sci. Media, New York.
- DeHayes, D. H., P. G. Schaberg, G. J. Hawley, y G. R. Strimbeck. 1999. Acid rain impacts on calcium nutrition and forest health. *BioScience*. 49: 789–800.

Díaz-Álvarez, E., y E. de la Barrera. 2017. Mapping pollution in a megalopolis: the case for atmospheric biomonitors of nitrogen deposition. *Scientific Reports*: 11: 11–14.

Díaz-Álvarez, E. A., E. de la Barrera, A. Arciga-pedraza, y M. Arróniz-Crespo. 2019. Bryophyte enzymatic responses to atmospheric nitrogen deposition: A field validation for potential biomonitors. *The Bryologist*. 122: 396–403.

Díaz-Álvarez, E. A., E. de la Barrera, E. Y. Barrios-Hernández, y M. Arróniz-Crespo. 2020. Morphophysiological screening of potential organisms for biomonitoring nitrogen deposition. *Ecological Indicators*. 108: 105729.

Díaz-Álvarez, E. A., R. Lindig-Cisneros, y E. De La Barrera. 2015. Responses to simulated nitrogen deposition by the neotropical epiphytic orchid *Laelia speciosa*. *PeerJ*. 3:e1021.

Díaz-Álvarez, E. A., R. Lindig-Cisneros, y E. de la Barrera. 2018. Biomonitors of atmospheric nitrogen deposition: Potential uses and limitations. *Conservation Physiology*. 6: 1110–1093.

Eckhardt, U., B. Grimm, y S. Hörtensteiner. 2004. Recent advances in chlorophyll biosynthesis and breakdown in higher plants. *Plant Molecular Biology*. 56: 1–14.

Farrer, E. C., D. J. Herman, E. Franzova, T. Pham, y K. N. Suding. 2013. Nitrogen deposition, plant carbon allocation, and soil microbes: Changing interactions due to enrichment. *American Journal of Botany*. 100: 1458–1470.

Foley, J. a, R. Defries, G. P. Asner, C. Barford, G. Bonan, S. R. Carpenter, F. S. Chapin, M. T. Coe, G. C. Daily, H. K. Gibbs, J. H. Helkowski, T. Holloway, E. A. Howard, C. J. Kucharik, C. Monfreda, J. A. Patz, I. C. Prentice, N. Ramankutty, y P. K. Snyder. 2005. Global consequences of land use. *Science*. 309: 570–4.

Galloway, J., F. Dentener, D. G. Capone, E. W. Boyer, R. W. Howarth, S. P. Seitzinger, G. P. Asner, C. C. Cleveland, P. A. Green, E. A. Holland, A. F. Michaels, J. H. Porter, A. R. Townsend, y C. J. Vorosmarty. 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry*. 70: 153–226.

Galloway, J. N., J. D. Aber, J. W. Erisman, Sybil P. Seitzinger, R. W. Howarth, E. B. Cowling, y B. J. Cosby. 2003. The nitrogen cascade. *BioScience*. 53: 341–356.

Galloway, J. N., y E. B. Cowling. 2002. Reactive nitrogen and the world: 200 years of change. *A Journal of the Human Environment*. 31: 64–71.

Glime, J. 2017. Nutrient Relations: Nitrogen. Chapt. 8-3. In: Glime, J. M. *Bryophyte Ecology*. Volume 1. Physiological Ecology. Michigan, USA. Ebook Digital Commons @ by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists.
<<http://digitalcommons.mtu.edu/bryophyte-ecology/>>

Gotelli, N. J., y A. M. Ellison. 2002. Nitrogen deposition and extinction risk in the northern pitcher plant, *Sarracenia purpurea*. *Ecology*. 83: 2758–2765.

Gruber, N., y J. N. Galloway. 2008. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature*. 451: 293–296.

Hoff, T., B. M. Stummann, y K. W. Henningsen. 1992. Structure, function and regulation of nitrate reductase in higher plants. *Physiologia Plantarum*. 84: 616–624.

Horn, K. J., R. Quinn Thomas, C. M. Clark, L. H. Pardo, M. E. Fenn, G. B. Lawrence, S. S. Perakis, E. A. H. Smithwick, D. Baldwin, S. Braun, A. Nordin, C. H. Perry, J. N. Phelan, P. G. Schaberg, S. B. S. Clair, R. Warby, y S. Watmough. 2018. Growth and survival relationships of 71 tree species with nitrogen and sulfur deposition across the conterminous U.S. *PLoS ONE*. 13: e0205296.

Humbert, J.-Y., J. M. Dwyer, A. Andrey, y R. Arlettaz. 2016. Impacts of nitrogen addition on plant biodiversity in mountain grasslands depend on dose, application duration and climate: a systematic review. *Global Change Biology*. 22: 110–120.

Jiang, Q., J. Tang, X. Chen, J. Chen, R. Yang, y S. Hu. 2005. Effects of simulated nitrogen deposition on weeds growth and nitrogen uptake. *Chinese Journal of Applied Ecology*. 16: 951–955.

Kalaji, H. M., G. Schansker, R. J. Ladle, V. Goltsev, K. Bosa, S. I. Allakhverdiev, M. Brestic, F. Bussotti, A. Calatayud, P. Dąbrowski, N. I. Elsheery, L. Ferroni, L. Guidi, S. W. Hogewoning, A. Jajoo, A. N. Misra, S. G. Nebauer, S. Pancaldi, C. Penella, D. Poli, M. Pollastrini, Z. B. Romanowska-Duda, B. Rutkowska, J. Serôdio, K. Suresh, W. Szulc, E. Tambussi, M. Yanniccari, y M. Zivcak. 2014. Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: Practical issues. *Photosynthesis Research*. 122: 121–158.

Kronzucker, H. J., D. T. Britto, R. J. Davenport, y M. Tester. 2001. Ammonium toxicity and the real cost of transport. *Trends in Plant Science*. 6: 335–337.

Krywult, M., A. Karolak, y A. Bytnerowicz. 1996. Nitrate reductase activity as an indicator of ponderosa pine response to atmospheric nitrogen deposition in the San Bernardino Mountains. *Environmental Pollution*. 93: 141–146.

Lambers, H., F. S. Chapin III, y T. L. Pons. 2008. *Plant physiological ecology*. Springer, New Jersey.

Landrigan, P. J., R. Fuller, N. J. R. Acosta, O. Adeyi, R. Arnold, N. (Nil) Basu, A. B. Baldé, R. Bertollini, S. Bose-O'Reilly, J. I. Boufford, P. N. Breysse, T. Chiles, C. Mahidol, A. M. Coll-Seck, M. L. Cropper, J. Fobil, V. Fuster, M. Greenstone, A. Haines, D. Hanrahan, D. Hunter, M. Khare, A. Krupnick, B. Lanphear, B. Lohani, K. Martin, K. V. Mathiasen, M. A. McTeer, C. J. L. Murray, J. D. Ndahimananjara, F. Perera, J. Potočnik, A. S. Preker, J. Ramesh, J. Rockström, C. Salinas, L. D. Samson, K. Sandilya, P. D. Sly, K. R. Smith, A. Steiner, R. B. Stewart, W. A. Suk, O. C. P. van Schayck, G. N. Yadama, K. Yumkella, y M. Zhong. 2018. The Lancet Commission on pollution and health. *The Lancet*. 391: 462–512.

- Lee, J. A., y S. J. M. M. Caporn. 1998. Ecological effects of atmospheric reactive nitrogen deposition on semi-natural terrestrial ecosystems. *New Phytologist*. 139: 127–134.
- Li, W., C. Jin, D. Guan, Q. Wang, A. Wang, F. Yuan, y J. Wu. 2015. The effects of simulated nitrogen deposition on plant root traits: A meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry*. 82: 112–118.
- Liu, N., J. Wang, Q. Guo, S. Wu, X. Rao, X. Cai, y Z. Lin. 2018. Alterations in leaf nitrogen metabolism indicated the structural changes of subtropical forest by canopy addition of nitrogen. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 160: 134–143.
- Mao, J., Y. Xing, G. Yan, y Q. Wang. 2018. A meta-analysis of the response of terrestrial plant biomass allocation to simulated N deposition. *Acta Ecologica Sinica*. 38: 3183–3194.
- Mao, Q., X. Lu, H. Chen, y J. Mo. 2015. Responses of terrestrial plant diversity to elevated mineral element inputs. *Acta Ecologica Sinica*. 35: 5884–5897.
- Markert, B. A., A. M. Breure, y H. G. Zechmeister. 2003. *Bioindicators & biomonitors, principles, concepts and applications*. Elsevier, Oxford.
- Márquez, J., M. Collazo, M. Martínez, A. Orozco, y S. Vazquez. 2013. *Biología de angiospermas*. Coordinación de la Investigación Científica, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Mohr, H., A. Neining, y B. Seith. 1992. Control of nitrate reductase and nitrite reductase gene expression by light, nitrate and a plastidic factor. *Botanica Acta*. 105: 81–89.
- Mur, L. A. J., C. Simpson, A. Kumari, A. K. Gupta, y K. J. Gupta. 2016. Moving nitrogen to the centre of plant defence against pathogens. *Annals of Botany*. 119: mcw179.
- Paerl, H. W., R. L. Dennis, y D. R. Whitall. 2002. Atmospheric deposition of nitrogen: Implications for nutrient over-enrichment of coastal waters. *Estuaries*. 25: 677–693.
- Pearce, I. S. K., y R. Van Der Wal. 2002. Effects of nitrogen deposition on growth and survival of montane *Racomitrium lanuginosum* heath. *Biological Conservation*. 104: 83–89.
- Peng, Y., P. H. Peng, y J. J. Li. 2016. Simulated nitrogen deposition influences the growth and competitive ability of *Centaurea stoebe* populations. *Chinese Journal of Plant Ecology*. 40: 679–685.
- Persson, L., A. Arvidson, M. Lannerstad, H. Lindskog, T. Morrissey, L. Nilsson, S. Noel, y J. Senyagwa. 2010. *Impacts of pollution on ecosystem services for the millennium development goals*. Stockholm Environment Institute, Sweden.
- Pineda, R. A. L., y L. E. Venegas. 2008. Dry and wet deposition of nitrogen emitted in Buenos Aires City to waters of de La Plata River. *Water, Air, and Soil Pollution*. 193: 175–188.

Reay, D. S., F. J. Dentener, P. Smith, J. Grace, y R. A. Feely. 2008. Global nitrogen deposition and carbon sinks. *Nature Geoscience*. 1: 430–437.

Rockström, J., W. Steffen, K. Noone, Å. Persson, F. S. I. Chapin, E. Lambin, T. M. Lenton, M. Scheffer, C. Folke, H. J. Schellnhuber, B. Nykvist, C. A. de Wit, T. Hughes, S. van der Leeuw, H. Rodhe, S. Sörlin, P. K. Snyder, R. Costanza, U. Svedin, M. Falkenmark, L. Karlberg, R. W. Corell, V. J. Fabry, J. Hansen, B. Walker, D. Liverman, K. Richardson, P. Crutzen, y J. Foley. 2009. Planetary boundaries: Exploring the safe operating space for humanity. *Ecology and Society*. 14: 32.

Rothstein, D. E., D. R. Zak, y K. S. Pregitzer. 1996. Nitrate deposition in northern hardwood forests and the nitrogen metabolism of *Acer saccharum* marsh. *Oecologia*. 108: 338–344.

Sala, O. E., F. S. C. Iii, J. J. Armesto, E. Berlow, R. Dirzo, E. Huber-Sanwald, L. F. Huenneke, B. Robert, A. Kinzig, R. Leemans, D. M. Lodge, H. A. Mooney, M. Oesterheld, N. L. Poff, M. T. Sykes, B. H. Walker, M. Walker, y D. H. Wall. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*. 287: 1770–1774.

Schulze, E. D. 1989. Air pollution and forest decline in a spruce (*Picea abies*) forest. *Science*. 244 (4906): 776-783.

SEMARNAT. 2012. NORMA Oficial Mexicana NOM-156-SEMARNAT-2012, Establecimiento y operación de sistemas de monitoreo de la calidad del aire. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial de la Federación. Cd. Mx., México. (http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5259464&fecha=16%2F07%2F2012).

Shen, H., S. Dong, S. Li, J. Xiao, Y. Han, M. Yang, J. Zhang, X. Gao, Y. Xu, Y. Li, Y. Zhi, S. Liu, Q. Dong, H. Zhou, y J. C. Yeomans. 2019. Effects of simulated N deposition on photosynthesis and productivity of key plants from different functional groups of alpine meadow on Qinghai-Tibetan plateau. *Environmental Pollution*. 251: 731–737.

SINAICA. 2019. Sistema Nacional de Información de la Calidad del Aire. <https://sinaica.inecc.gob.mx/> (Consultado en Junio 2019).

Stevens, C. J., y D. J. G. Gowing. 2014. Effect of nitrogen addition, form and clipping on competitive interactions between grassland species. *Journal of Plant Ecology*. 7: 222–230.

Stevens, G., R. H. Dias, K. J. A. Thomas, J. A. Rivera, N. Carvalho, S. Barquera, K. Hill, y M. Ezzati. 2008. Characterizing the epidemiological transition in Mexico: National and subnational burden of diseases, injuries, and risk factors. *PLoS Medicine*. 5: 0900–0910.

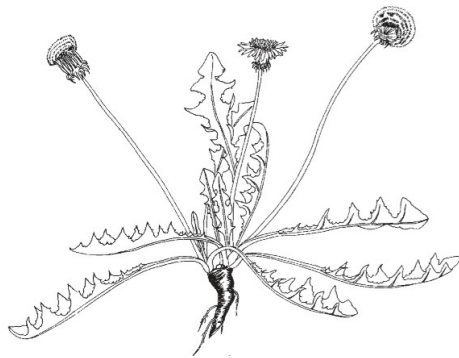
Stevens, J. C., N. B. Dise, J. O. Mountford, y D. j. Gowing. 2004. Impact of nitrogen deposition on the species richness of grasslands. *Science*. 303: 1876–1880.

Sutton, M. A, C. E. R. Pitcairn, y C. P. Whitfield. 2004. Bioindicator and biomonitoring methods for assessing the effects of atmospheric nitrogen on statutory nature conservation sites. JNCC Report

- Taiz, L., E. Zeiger, I. M. Moller, y A. Murphy. 2014. Plant physiology and development. Sinauer Associates, Oxford University Press. UK.
- Tegeder, M., y C. Masclaux-Daubresse. 2018. Source and sink mechanisms of nitrogen transport and use. *New Phytologist*. 217: 35–53.
- Throop, H. L. 2005. Nitrogen deposition and herbivory affect biomass production and allocation in an annual plant. *Oikos*. 111: 91–100.
- Tian, D., Q. Pan, M. Simmons, H. Chaolu, B. Du, Y. Bai, H. Wang, y X. Han. 2012. Hierarchical reproductive allocation and allometry within a perennial bunchgrass after 11 years of nutrient addition. *PLoS ONE*. 7: e42833.
- Tian, Q., N. Liu, W. Bai, L. Li, J. Chen, P. B. Reich, Q. Yu, D. Guo, M. D. Smith, A. K. Knapp, W. Cheng, P. Lu, Y. Gao, A. Yang, T. Wang, X. Li, Z. Wang, Y. Ma, X. Han, y W. H. Zhang. 2016. A novel soil manganese mechanism drives plant species loss with increased nitrogen deposition in a temperate steppe. *Ecology*. 97: 65–74.
- Tulloss, E. M., y M. L. Cadenasso. 2016. The effect of nitrogen deposition on plant performance and community structure: Is it life stage specific?. *PLoS ONE*. 11: 1–18.
- WHO. 2003. Health aspects of air pollution with particulate matter, ozone and nitrogen dioxide. World Health Organization. Bonn, Germany. Pp 94.
- Wilcove, D. S., D. Rothstein, J. Dubow, A. Phillips y E. Losos. 1998. Quantifying threats to imperiled species in the United States source. *BioScience*. 48 (8): 607-615.
- Yeo, S., H. Lee, S. Choi, S. Seol, H. Jin, C. Yoo, J. Lim, y J. Kim. 2019. Analysis of the national air pollutant emission inventory (CAPSS 2015) and the major cause of change in republic of Korea. *Asian Journal of Atmospheric Environment*. 13: 212–231.

CAPÍTULO 2

ARTÍCULO ENVIADO



Taraxacum officinale
Rzedowski, et al., 2005

2. ARTÍCULO ENVIADO A ACTA BOTANICA MEXICANA

Efectos fisiológicos del depósito de nitrógeno simulado en malezas ruderales

Physiological effects of simulated nitrogen deposition in ruderal weeds

D. Nayeli Martínez^{1,2}

Erick de la Barrera²

¹Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Ciudad de México, México.

²Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Morelia, Michoacán, México.

RESUMEN

Antecedentes y objetivos: El nitrógeno reactivo se ha incrementado a la par de las actividades humanas, afectando la dinámica de los ecosistemas, la estructura y función de las comunidades. Su depósito se considera una de las principales amenazas a la biodiversidad y contribuye a la contaminación atmosférica. Se evaluó el efecto del depósito de nitrógeno en la fisiología de malezas de la ciudad de Morelia para identificar potenciales biomonitores de depósito de nitrógeno.

Métodos: En once especies de malezas se cuantificó y comparó la sobrevivencia, la producción de biomasa, la actividad de la enzima nitrato reductasa, el contenido de clorofilas y la fluorescencia, bajo las tasas de depósito de nitrógeno de 10, 20, 40 y 80 kgN ha⁻¹año⁻¹.

Resultados clave: La sobrevivencia fue baja para *Amaranthus hybridus*, *Melinis repens*, *Pennisetum ciliare* y *Sporobolus indicus*, y fue afectada por el depósito de nitrógeno en nueve de 11 especies, a excepción de *Bidens pilosa* y *Chloris gayana*. En *Melinis repens* y *Taraxacum officinale* la sobrevivencia fue máxima en 80 kgN ha⁻¹año⁻¹, mientras que *Pennisetum ciliare* mostró curvas menos abruptas de mortandad en 10 kgN ha⁻¹año⁻¹. La biomasa total incrementó en *Bidens pilosa*, *Chloris gayana*, *Lepidium virginicum* y *Pennisetum setaceum*, al igual que el contenido de clorofilas en *Bidens pilosa*, *Chloris gayana* y *Lepidium virginicum*. El aumento del depósito de nitrógeno redujo la relación biomasa subterránea/aérea en *Bidens pilosa* y *Chloris gayana*, así como la eficiencia fotosintética en *Chloris gayana*, *Lepidium virginicum* y *Chloris pycnothrix*. La actividad de la enzima nitrato reductasa solo se afectó en *Lepidium virginicum*, *Chloris gayana* y *Taraxacum officinale*.

Conclusiones: *Bidens pilosa*, *Chloris gayana* y *Lepidium virginicum* fueron especies con más variables sensibles al depósito de nitrógeno, las cuales podrían ser útiles en el biomonitoreo.

Palabras clave: biomonitores, biomasa, clorofilas, fluorescencia, nitrato reductasa

ABSTRACT

Background and Aims: Reactive nitrogen has increased with human activities, affecting the dynamics of ecosystems, the structure and function of communities. Its deposition represents the third threat to biodiversity, moreover it contributes to air pollution, who represents the main environmental cause of death. We evaluate the effect of nitrogen deposition on physiology of weeds of the Morelia City to identify potential nitrogen deposition biomonitors.

Methods: In eleven weed species, survival, biomass production, nitrate reductase activity, chlorophyll content and fluorescence were quantified and compared under nitrogen deposition rates of 10, 20, 40 and 80 kgN ha⁻¹year⁻¹.

Key results: Survival was low in *Amaranthus hybridus*, *Melinis repens*, *Pennisetum ciliare* and *Sporobolus indicus*, and it was affected by nitrogen deposition in nine of 11 weeds, with the exception of *Bidens pilosa* and *Chloris gayana*. In *Melinis repens* and *Taraxacum officinale* the survival was maximum in 80 kgN ha⁻¹year⁻¹, while *Pennisetum ciliare* showed less abrupt mortality curves in 10 kgN ha⁻¹year⁻¹. Total biomass increased with the nitrogen deposition in *Bidens pilosa*, *Chloris gayana*, *Lepidium virginicum* and *Pennisetum setaceum*, as chlorophyll content in *Bidens pilosa*, *Chloris gayana* and *Lepidium virginicum*. The underground/aerial biomass ratio was reduced in *Bidens pilosa* and *Chloris gayana*, as well as photosynthetic efficiency in *Chloris gayana*, *Lepidium virginicum* and *Chloris pycnothrix*. Nitrate reductase activity was only affected in *Lepidium virginicum*, *Chloris gayana* and *Taraxacum officinale*.

Conclusions: *Bidens pilosa*, *Chloris gayana* and *Lepidium virginicum* were species with more sensitive variables to the nitrogen deposition, that could be useful in the biomonitoring of the nitrogen deposition.

Key words: biomonitors, biomass, chlorophylls, fluorescence, nitrate reductase

2.1. INTRODUCCIÓN

La disponibilidad de nitrógeno reactivo (Nr) ha aumentado a la par de actividades humanas como el uso de combustibles fósiles y fertilizantes nitrogenados (Galloway et al., 2003, 2004). De 1860 a 1990, la producción de Nr aumentó de 33 Tg N año⁻¹ a 156 Tg N año⁻¹ y se espera que esta cantidad se duplique para el año 2050 (Galloway et al., 2004). Las alteraciones al ciclo del nitrógeno son tales que representa uno de los principales factores de cambio global y una de las principales amenazas a la biodiversidad (Wilcove et al., 1998; Sala et al., 2000; Rockström et al., 2009).

Debido a que los organismos han evolucionado en entornos de baja disponibilidad de nitrógeno (Lee y Caporn, 1998), la adición ha llevado al desplazamiento de especies nativas por especies con altas tasas de crecimiento, con mayor habilidad competitiva y con la capacidad de tolerar condiciones de toxicidad (Bobbink et al., 1998, 2010; Stevens et al., 2004; Farrer et al., 2013). Además, el depósito de formas reactivas de nitrógeno también se relaciona con problemas de eutrofización, acidez y lixiviación de cationes, principalmente (DeHayes et al., 1999; Kronzucker et al., 2001; Britto y Kronzucker, 2002; Galloway et al., 2003; Conklin, 2005; Gruber y Galloway, 2008; Bobbink et al., 2010; Persson et al., 2010; Tian et al., 2016). Sin embargo, el depósito de nitrógeno no solo está asociado a problemas en los ecosistemas, también trae efectos adversos a la salud humana, como la intoxicación por contenidos de NO₃⁻ y NO₂ en el agua de consumo, que afecta etapas tempranas del desarrollo humano (Carpenter et al., 1998; WHO, 2003). Las formas reactivas del nitrógeno contribuyen también a la contaminación atmosférica, la cual representa la principal causa ambiental de muerte (Landrigan *et al.*, 2018; Yeo *et al.*, 2019).

En México las ciudades con más de medio millón de habitantes deben implementar sistemas de monitoreo atmosférico (SEMARNAT, 2012). Sin embargo, sólo Guadalajara, la Ciudad de México y Monterrey cumplen cabalmente con dicha normatividad debido al alto costo de su

instalación y mantenimiento (SINAICA, 2019). Por ejemplo, la ciudad de Morelia, que supera el medio millón de habitantes, posee tres estaciones de monitoreo atmosférico pero estas funcionan de manera intermitente. Por ello, se ha propuesto el uso de biomonitores de depósito de nitrógeno atmosférico como una alternativa al alto costo de los sistemas de monitoreo atmosférico (Arróniz-Crespo et al., 2012; Díaz-Álvarez et al., 2018). Diversos estudios han calibrado especies de plantas vasculares y no vasculares para caracterizar las tasas de depósito de nitrógeno con rasgos fisiológicos, en las cuales, las repuestas al exceso de nitrógeno pueden proveer una aproximación a la tasa de depósito de nitrógeno (Sutton et al., 2004; Arróniz-Crespo et al., 2008; Díaz-Alvarez y de la Barrera, 2017; Díaz-Álvarez et al., 2019, 2020).

A través de un experimento de dosis-respuesta en el invernadero, el presente estudio determinó el efecto del depósito de nitrógeno en rasgos fisiológicos para identificar biomonitores potenciales de depósito de nitrógeno. Se usaron malezas ruderales debido a que se establecen en las cercanías al desarrollo de actividades humanas y son especies comunes en la ciudad de Morelia. Se cuantificó la actividad de la enzima nitrato reductasa, que cataliza uno de los primeros pasos en la asimilación del nitrógeno (Azcón-Bieto y Talón, 2008; Rothstein et al., 1996; Tegeder y Masclaux-Daubresse, 2018). La fluorescencia de clorofila y la relación clorofila *a/b* fueron indicadores de la capacidad fotosintética (Azcón-Bieto y Talón, 2008; Arróniz-Crespo et al., 2008; DeEll y Toivonen, 2011). El contenido de clorofilas y la biomasa, indicadores del efecto fertilizante debido al aumento en la tasa de depósito de nitrógeno (Baron et al., 2000; Arróniz-Crespo et al., 2008; Taiz et al., 2014).

2.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Durante los meses de octubre de 2017 y 2018 se colectaron semillas de 11 especies de malezas comunes en la ciudad de Morelia, Michoacán, México (Cuadro 2.1). Las semillas contenidas en sobres de papel manila (8.8 x 16.4 cm) fueron almacenadas en oscuridad (23 °C y 42% de humedad relativa) hasta su uso en febrero 2019.

El experimento consistió de cuatro tratamientos que simularon el depósito de nitrógeno atmosférico con tasa de 10, 20, 40 y 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹. Cada tratamiento consistió de seis réplicas (n=6) por especie aleatoriamente distribuidas en una mesa de invernadero de 15 x 1.5 m. Las semillas de malezas se germinaron en macetas plástico (1.3 litros) con sustrato de agrolita. Para las especies dicotiledóneas se colocaron cinco semillas en cada maceta y para las especies de Poaceae se colocaron tres semillas en cada maceta. Cuando germinaron, después de siete días se dejó una plántula por maceta. Debido a que se harían muestreos destructivos para determinar la biomasa, se inició el experimento con dos juegos de seis réplicas por tratamiento para cada especie.

Cuadro 2.1. Especies de estudio, categorías taxonómicas y origen (Rzedowski et. al., 2005).

	Familia	Clase	Origen
<i>Amaranthus hybridus</i> L.	Amaranthaceae	Magnoliopsida	Nativo
<i>Bidens pilosa</i> L.	Asteraceae	Magnoliopsida	Nativo
<i>Chloris gayana</i> Kunth	Poaceae	Liliopsida	Exótico
<i>Chloris pycnothrix</i> Trin.	Poaceae	Liliopsida	Exótico
<i>Chloris virgata</i> Sw.	Poaceae	Liliopsida	Exótico
<i>Lepidium virginicum</i> L.	Brassicaceae	Magnoliopsida	Nativo
<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka	Poaceae	Liliopsida	Exótico
<i>Pennisetum ciliare</i> (L.) Link	Poaceae	Liliopsida	Exótico
<i>Pennisetum setaceum</i> (Forssk.) Chiov.	Poaceae	Liliopsida	Exótico
<i>Sporobolus indicus</i> (L.) R. Br.	Poaceae	Liliopsida	Nativo
<i>Taraxacum officinale</i> (L.) Weber ex F.H.Wigg.	Asteraceae	Magnoliopsida	Exótico

2.2.1. Escenarios de depósito de nitrógeno

Con soluciones de NH_4NO_3 se simularon escenarios de depósito de nitrógeno húmedo de 10, 20, 40 y 80 $\text{Kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. Los escenarios fueron elegidos a partir de la estimación de depósito de nitrógeno mínima para el área geográfica de Michoacán ($10 \text{ Kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$), sobre la cual se establecieron los escenarios en escala logarítmica (Arróniz-Crespo et al., 2012). El valor máximo de depósito de nitrógeno fue cercano a la estimación para la Ciudad de México, una de las ciudades más contaminadas de México (SINAICA, 2019). Estos escenarios fueron simulados durante cuatro meses, periodo de la temporada de lluvias del sitio de estudio (Templado sub-húmedo de lluvias de verano C(w), INEGI 2017).

Se calculó la cantidad de nitrógeno que se deposita durante la temporada de lluvias para el área de cada maceta y las soluciones fueron agregadas diariamente en dosis de 140 ml de agua durante cuatro meses del experimento. Los requerimientos de micronutrientes y macronutrientes se agregaron semanalmente con solución de Hoagland 0.1 carente de nitrógeno.

2.2.2. Actividad de la enzima nitrato reductasa (NR)

La actividad de la enzima nitrato reductasa se cuantificó con el método utilizado por Díaz-Álvarez et al. (2019). Tejido foliar de la parte media de cada planta se colocó en 5 ml de KNO_3 3 mM en oscuridad durante 12 horas, periodo de inducción. Se infiltró en vacío (58 cmHg) 3 minutos con 5 ml de *buffer* (50 mM KH_2PO_4 , 100 mM KNO_3 , 100 mM acetato de potasio y 1.5% v:v propanol-1-ol, $\text{pH}=7.5$) y fueron colocados en baño oscuro a 30° C por 30 minutos. La producción de nitrito (NO_2^-) se cuantificó removiendo 1 ml de solución del *buffer* y agregándolo a 1 ml de ácido sulfanílico al 1% (w:v) en 1 ml de 1.5 M HCl y 1 ml de n-(1- naptil etileno diamina -HCl) al 0.02% (w:v). Las muestras se mantuvieron en condiciones de oscuridad durante 40 minutos antes de medir la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro Genesis 20 (Thermo Fisher Scientific Inc., Madison, Wisconsin). Las muestras de tejido fueron secadas al final durante 48 horas a 45° C

y pesadas. La curva estándar fue construida con NaNO_2 ($y = 71.0199x + 1.1344$, $R^2 = 0.9984$, $p = 2.167e-08$) y la actividad nitrato reductasa se expresó como micro moles de NO_2 producidos por minuto por gramo de peso seco ($\mu\text{M NO}_2 \text{g}^{-1}$ peso seco).

2.2.3. Contenido y fluorescencia de clorofilas

La fluorescencia (F_v/F_m) fue medida con un fluorómetro FuorPen FP 100 (Photon Systems Instruments, Drasov, Czech Republic) en plantas aclimatadas a oscuridad durante 20 minutos (DeEll y Toivonen, 2011). Para cada especie se midió una hoja de la parte media de cada planta previamente cubierta. El contenido de clorofilas se determinó con el método de Lichtenthaler para acetona al 80% (Lichtenthaler, 1987). Se tomó una muestra de tejido vegetal (generalmente discos de 0.283 cm^2) de una hoja de la parte media de cada planta. La muestra se pulverizó en un mortero con nitrógeno líquido, posterior se agregó 3 ml de acetona. Los extractos se aforaron a 5 ml con acetona y se centrifugaron durante 2.5 minutos a 4200 rpm. La absorbancia fue medida a 663 y 646 nm con un espectrofotómetro Genesis 20. La clorofila se reportó como miligramos de clorofila por metro cuadrado (mg m^2)

2.2.4. Biomasa

Se cosechó al final del experimento la biomasa aérea y subterránea. Para extraer la biomasa subterránea, esta se enjuagó con jabón y agua abundante. El material biológico se secó en una estufa a 45°C hasta peso seco constante. Se pesó la biomasa aérea y la biomasa subterránea, y se obtuvo la biomasa total y la relación biomasa subterránea y aérea (BS/BA).

2.2.5. Análisis estadísticos

Debido a la baja sobrevivencia en las especies de estudio, se calcularon los porcentajes de sobrevivencia ($n=6$) bajo cada escenario de depósito de nitrógeno para cada especie. Se compararon

las curvas de sobrevivencia con la prueba Friedman de medidas repetidas y pruebas *post hoc* de Tukey ($p \leq 0.05$). Para cada especie y cada rasgo fisiológico se realizaron pruebas de varianza ANOVA y *T* de Student ($p \leq 0.05$). Cuando no se cumplieron las condiciones de normalidad y homogeneidad de varianza se realizaron pruebas de Kruskal-Wallis ($p \leq 0.05$). Las pruebas *post hoc* usadas para contrastar tratamientos fueron Tukey y Dunn. Los datos se presentan como promedio \pm error estándar. Todos los análisis se llevaron a cabo el programa SigmaStat 3.5 (Systat Software Inc., San Jose, California).

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Sobrevivencia

Todos los individuos de *Pennisetum ciliare* (L.) Link murieron, mientras que *Amaranthus hybridus* L. y *Sporobolus indicus* (L.) R. Br. presentaron mortandad en porcentajes superiores al 88%. En cambio, *Bidens pilosa* L. y *Chloris gayana* Kunth fueron las especies de mayor sobrevivencia con porcentajes superiores al 96%. *Pennisetum setaceum* (Forssk.) Chiov. alcanzó porcentajes entre 50% y 76%, y *Lepidium virginicum* L. entre 39% y 80%. En *Chloris pycnothrix* Trin. los porcentajes de sobrevivencia se encontraron entre el 6% y 39%, en *Chloris virgata* Sw. entre el 23% y 44%, en *Melinis repens* (Willd.) Zizka entre el 6% y 33% y entre el 28% y 78% en *Taraxacum officinale* (L.) Weber ex F.H.Wigg.

El análisis de Friedman de medidas repetidas indicó que en nueve de las once especies de malezas el depósito simulado de nitrógeno tuvo efectos en la sobrevivencia. En *M. repens* (Fig. 2.1D; $p < 0.001$) bajo 10 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ perecieron más rápido las plántulas y en *C. pycnothrix* (Fig. 2.1E; $p < 0.001$) ocurrió la menor sobrevivencia de plántulas (6%). En *P. ciliare* (Fig. 2.1F; $p < 0.001$) los tratamientos de 10 y 20 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ tuvieron las curvas menos abruptas en mortandad. En *T. officinale* (Fig. 2.1K; $p < 0.001$) y *C. virgata* (Fig. 2.1G; $p < 0.001$) la curva menos abrupta se encontró en 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹. En *P. setaceum* (Fig. 2.1J; $p < 0.001$) bajo 80 Kg

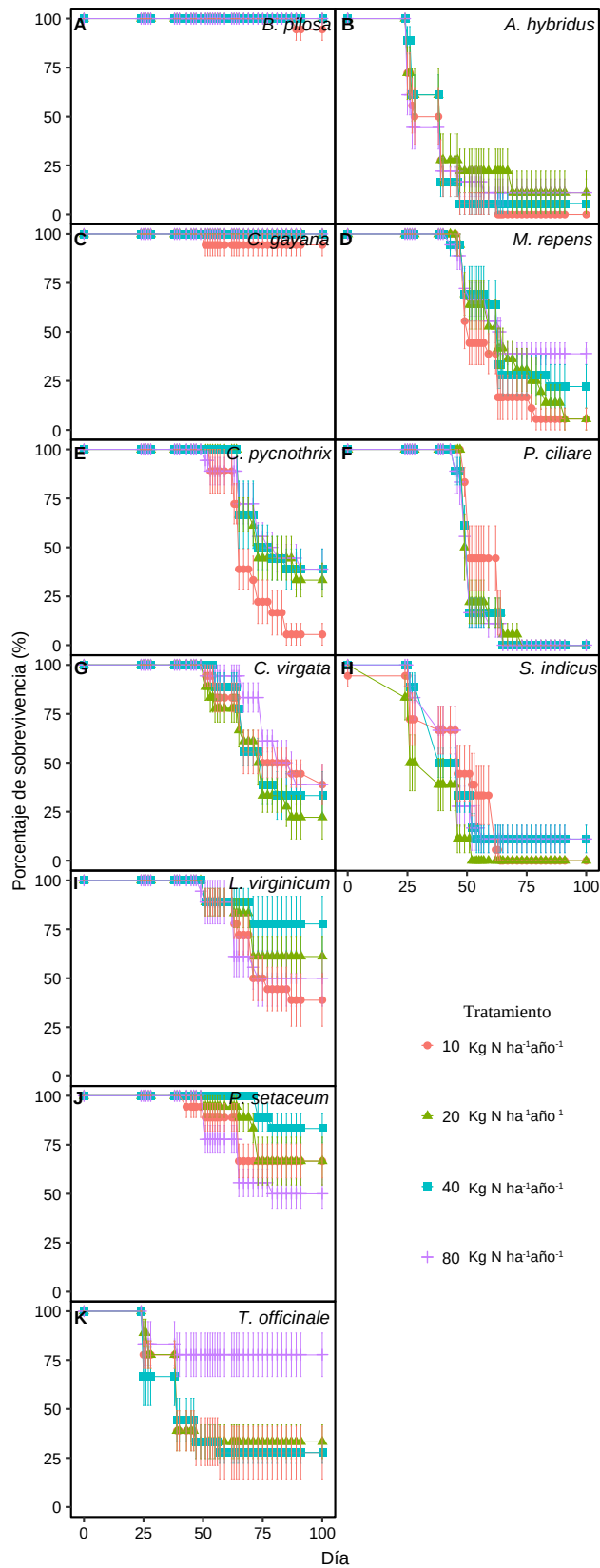


Figura 2.1. Sobrevivencia de 11 malezas ruderales bajo distintos escenarios de depósito de nitrógeno simulado. Se muestra el promedio \pm error estándar (n=6).

N ha⁻¹ año⁻¹ fue donde se encontró mayor mortandad.

En *L. virginicum* (Fig 2.1I; $p < 0.001$) los tratamientos de depósito de nitrógeno intermedios (20 y 40 Kg N ha⁻¹ año⁻¹) tuvieron la mayor sobrevivencia. En *S. indicus* (Fig 2.1H; $p < 0.001$) ocurrió lo contrario, el tratamiento que tuvo la tasa más abrupta de mortandad fue en 20 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ y en *A. hybridus* (Fig 2.1B; $p < 0.001$) ocurrió en la tasa de 10 y 40 Kg N ha⁻¹ año⁻¹. Solo *C. gayana* (Fig 2.1C; $p < 0.001$) y *B. pilosa* (Fig 2.1A; $p = 0.029$) no vieron afectada la sobrevivencia por el depósito de nitrógeno, la mayoría de sus plántulas sobrevivieron bajo todos los tratamientos.

2.3.2. Fisiología y Biomasa

El análisis de aspectos fisiológicos y la biomasa se llevó a cabo en siete malezas, de las cuales solo a cuatro les sobrevivieron todos sus tratamientos (*Bidens pilosa*, *Chloris gayana*, *Lepidium virginicum* y *Pennisetum setaceum*). En tres especies se perdió al menos uno de sus tratamientos (*Taraxacum officinale*, *Chloris virgata* y *Chloris pycnothrix*).

2.3.3. Biomasa

La biomasa de *Taraxacum officinale* (Fig 2.2M; $p = 0.748$), *Chloris virgata* (Fig 2.2C; $p = 0.086$) y *Chloris pycnothrix* (Fig 2.2E; $p = 0.628$) no fue afectada por los escenarios de depósito de nitrógeno simulados. Para dichas especies la biomasa se encontró en 0.356 ± 0.133 , 0.219 ± 0.085 y 0.015 ± 0.008 gramos de peso seco, respectivamente.

El depósito de nitrógeno afectó la biomasa en *Bidens pilosa*, *Chloris gayana*, *Lepidium virginicum* y *Pennisetum setaceum*. La biomasa de *L. virginicum* (Fig 2.2I; $p = 0.014$) y *P. setaceum* (Fig 2.2K; $p = 0.012$) mostró diferencias estadísticas entre los tratamientos extremos de depósito de nitrógeno (10 y 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹), pero no fueron diferentes a 20 y 40 Kg N ha⁻¹ año⁻¹. La máxima producción de biomasa en estas especies se dio en 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ y la mínima bajo 10 Kg N ha⁻¹ año⁻¹. En *L. virginicum* el máximo valor de biomasa fue de 0.918 ± 0.354 g y el valor mínimo de 0.065 ± 0.003 g peso seco. *Pennisetum setaceum* alcanzó 1.210 ± 0.339 g peso seco en 80 Kg N ha⁻¹

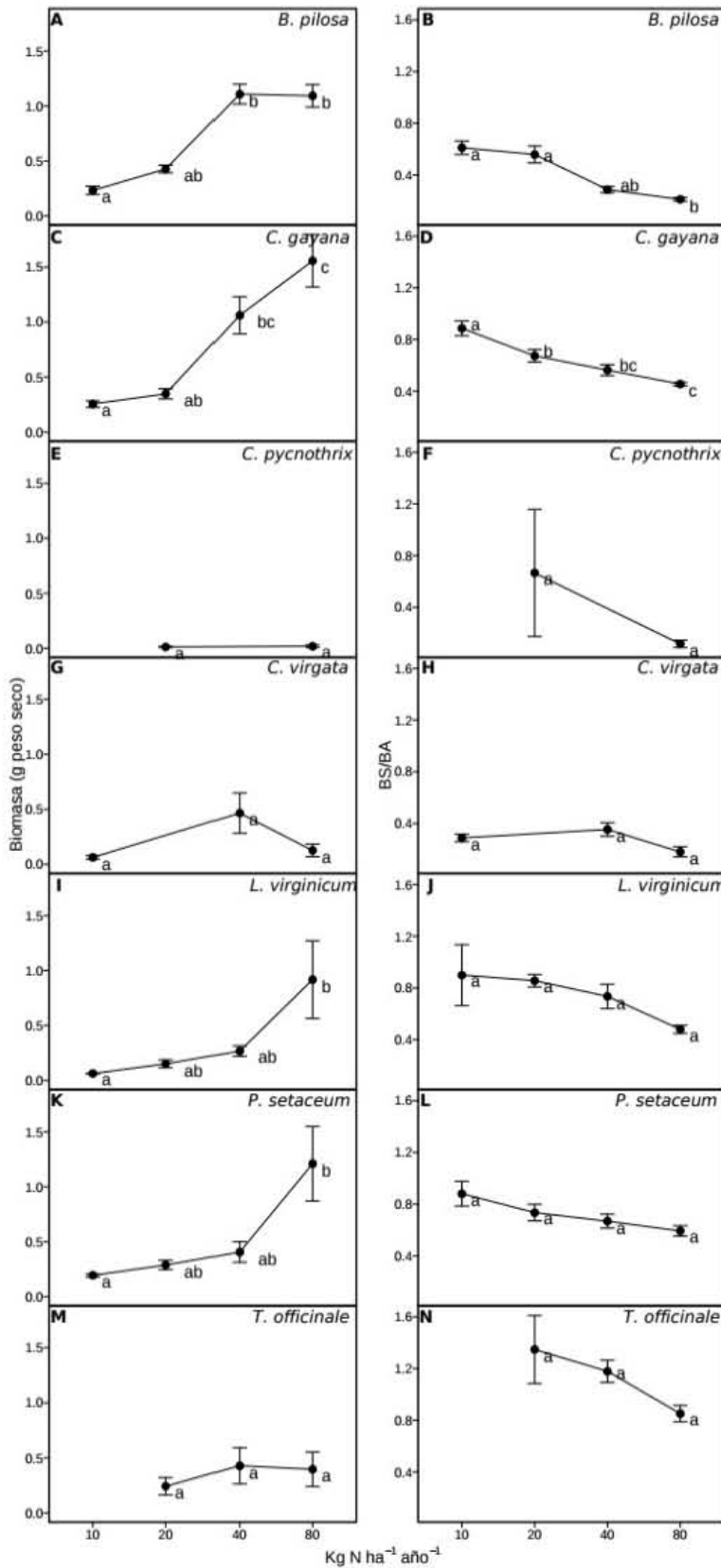


Figura 2.2. Biomasa total y relación entre la biomasa subterránea y la aérea (BS/BA) en respuesta al depósito de nitrógeno simulado. Se muestra el promedio \pm error estándar. Para cada panel letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos.

año⁻¹ y la mínima producción de 0.195 ± 0.013 g peso seco en $10 \text{ Kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$.

En *B. pilosa* (Fig. 2.2A; $p < 0.001$), la mayor acumulación de biomasa se encontró en los tratamientos de 40 y $80 \text{ Kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ (1.099 ± 0.096 g peso seco), y en $10 \text{ Kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ la menor producción de biomasa (0.232 ± 0.036 g peso seco). En *C. gayana* (Fig. 2.2C; $p < 0.001$) la máxima acumulación fue bajo $80 \text{ Kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ (1.557 ± 0.238 g peso seco) y en $10 \text{ Kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ la mínima (0.255 ± 0.030 g peso seco).

La relación biomasa subterránea:biomasa aérea (BS/BA) también fue afectada por el depósito de nitrógeno en *B. pilosa* (Fig. 2.2B; $p < 0.001$) y *C. gayana* (Fig. 2.2D; $p < 0.001$). En dichas especies la relación BS/BA disminuyó en los tratamientos más altos de depósito de nitrógeno, de 0.611 ± 0.052 a 0.211 ± 0.013 y 0.886 ± 0.057 a 0.454 ± 0.013 , respectivamente. En *C. pycnothrix* (Fig. 2.2F; $p = 0.328$), *C. virgata* (Fig. 2.2H; $p = 0.066$), *L. virginicum* (Fig. 2.2J; $p = 0.157$), *P. setaceum* (Fig. 2.2L; $p = 0.075$) y *T. officinale* (Fig. 2.2N; $p = 0.038$) se mantuvo la relación BS/BA constante. Aunque *T. officinale* mostró una $p < 0.05$, la prueba post-hoc no indicó diferencias significativas entre sus tratamientos. En orden ascendente la relación BS/BA en *C. virgata* se encontró en 0.274 ± 0.040 , en 0.391 ± 0.260 *C. pycnothrix*, en 0.719 ± 0.063 *P. setaceum*, en 0.742 ± 0.103 en *L. virginicum* y en 1.126 ± 0.138 en *T. officinale*.

2.3.4. Actividad de la enzima nitrato reductasa (NR)

La actividad de la enzima NR fue afectada por el depósito de nitrógeno en *Chloris gayana* (Fig. 2.3B; $p = 0.001$), *Lepidium virginicum* (Fig. 2.3E; $p = 0.017$) y *Taraxacum officinale* (Fig. 2.3G; $p = 0.035$). En *C. gayana* y *T. officinale* la actividad de la enzima NR disminuyó con el aumento en la tasa de depósito de nitrógeno. En *C. gayana* las diferencias se dieron entre $10 \text{ Kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ y los tratamientos de 40 y $80 \text{ Kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. La mayor actividad de la enzima NR fue de $0.173 \pm 0.029 \mu\text{Mol NO}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ bajo $10 \text{ Kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, y disminuyó a $0.082 \pm 0.009 \mu\text{Mol NO}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ bajo 40 y $80 \text{ Kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. En *T. officinale* la actividad de la enzima NR fue diferente

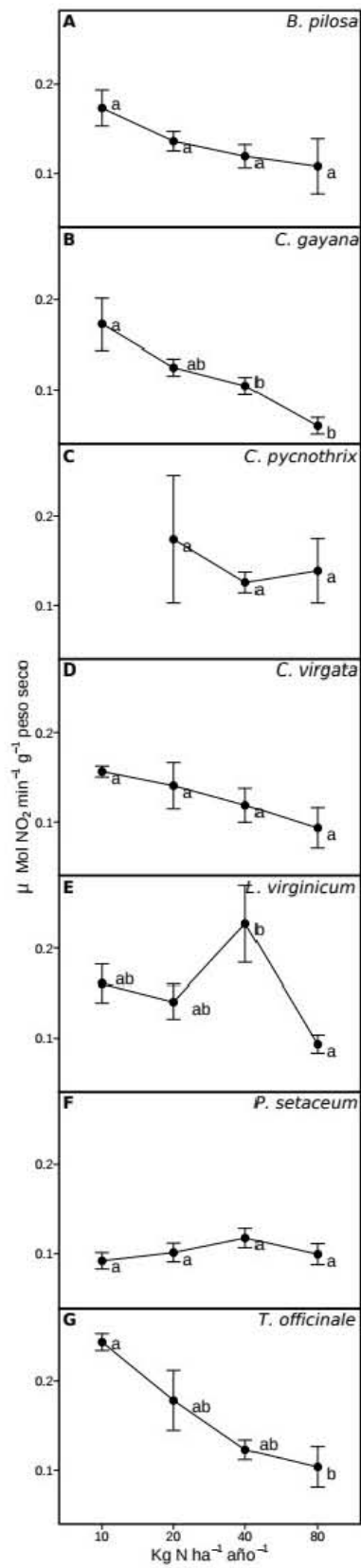


Figura 2.3. Actividad de la enzima nitrato reductasa en respuesta al depósito de nitrógeno simulado. Se muestra el promedio \pm error estándar. Para cada panel letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos.

entre tratamientos extremos de depósito de nitrógeno (10 y 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹) pero no con tratamientos continuos (20 y 40 Kg N ha⁻¹ año⁻¹). La mayor actividad de la enzima NR ocurrió bajo 10 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ (0.243 ± 0.009 μMol NO₂ min⁻¹ g⁻¹ peso seco) y descendió a 0.103 ± 0.023 μMol NO₂ min⁻¹ g⁻¹ peso seco en el tratamiento de 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹. En *L. virginicum* la máxima actividad NR se dio en 40 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ (0.227 ± 0.043 μMol NO₂ min⁻¹ g⁻¹ peso seco) y la mínima en 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ (0.093 ± 0.031 μMol NO₂ min⁻¹ g⁻¹ peso seco).

En las especies *Bidens pilosa* (Fig. 2.3A; $p = 0.153$), *Chloris pycnothrix* (Fig. 2.3C; $p = 0.732$), *Chloris virgata* (Fig. 2.3D; $p = 0.186$) y *Pennisetum setaceum* (Fig. 2.3F; $p = 0.402$) el depósito de nitrógeno no afectó la actividad de la enzima NR. Esta se mantuvo constante en μMol NO₂ min⁻¹ g⁻¹ peso seco de 0.134 ± 0.019 en *B. pilosa*, 0.146 ± 0.040 en *C. pycnothrix*, 0.127 ± 0.018 en *C. virgata* y 0.103 ± 0.011 en *P. setaceum*.

2.3.5. Contenido y fluorescencia de clorofilas

En *Bidens pilosa*, *Chloris gayana* y *Lepidium virginicum* los escenarios de depósito de nitrógeno, entre 10 y 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹, afectaron los contenidos de clorofilas. En dichas especies, las clorofilas *a* y *b* incrementaron hacia los tratamientos más altos de depósito de nitrógeno lo que llevó al aumento de la clorofila total.

En *B. pilosa* el contenido de clorofila total (Fig. 4A; $p = 0.006$) incrementó de 165.780 ± 5.793 mg m⁻² bajo 10 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ a 248.013 ± 19.139 mg m⁻² en 40 y 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹. Bajo los mismos escenarios de depósito de nitrógeno que la clorofila total, la clorofila *a* (Fig. 4A; $p = 0.003$) incrementó de 119.708 ± 5.415 a 179.463 ± 13.251 mg m⁻². La clorofila *b* (Fig. 4A; $p = 0.022$) mostró diferencias significativas entre los tratamientos de 10 y 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹, pero no con los tratamientos intermedios de 20 y 40 Kg N ha⁻¹ año⁻¹. El valor mínimo de clorofila *b* fue de 46.072 ± 1.596 mg m⁻² y el valor máximo de 71.331 ± 7.812 mg m⁻².

En *C. gayana*, bajo los tratamientos de 10, 20 y 40 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ la clorofila *a* (Fig. 4D; p

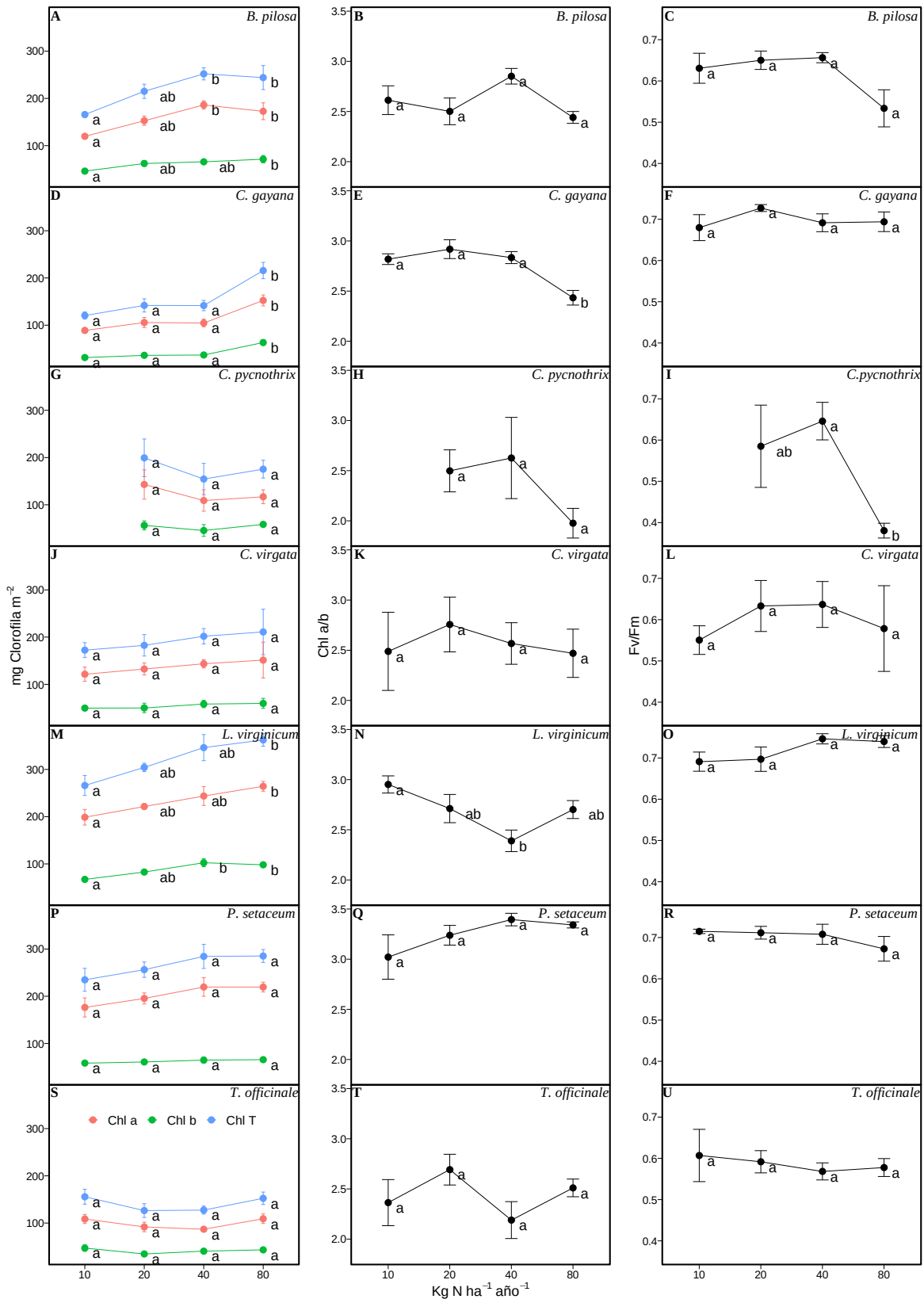


Figura 2.4. Concentración de clorofilas –Clorofila *a* (Chl *a*), *b* (Chl *b*) y total (Chl T)–, Relación de clorofila *a/b* y Fluorescencia (F_v/F_m). Se muestra el promedio \pm error estándar. Para cada panel letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos.

< 0.001), *b* (Fig. 4D; $p < 0.001$) y total (Fig. 4D; $p < 0.001$) fueron estadísticamente iguales y se incrementaron en el tratamiento de 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹. El valor mínimo de clorofila total fue de 134.723 ± 10.870 mg m⁻² y en 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ se alcanzó la mayor concentración (215.797 ± 17.298 mg m⁻²). De igual manera, la clorofila *a* incrementó de 99.792 ± 8.156 mg m⁻² a 152.518 ± 11.595 mg m⁻², y la clorofila *b* de 34.931 ± 2.790 mg m⁻² a 63.288 ± 5.888 mg m⁻².

En *L. virginicum* (Fig. 4M; $p = 0.015$), bajo 10 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ se encontró la concentración más baja de clorofilas totales (266.07 ± 21.11 mg m⁻²) y el valor máximo en 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ (362.475 ± 13.194 mg m⁻²). En esta especie, los tratamientos extremos de 10 y 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ fueron distintos estadísticamente pero no con los tratamientos intermedios de 20 y 40 Kg N ha⁻¹ año⁻¹. De igual manera, la clorofila *a* (Fig. 4M; $p = 0.035$) incrementó de 198.841 ± 16.478 mg m⁻² a 264.337 ± 10.361 mg m⁻². La clorofila *b* (Fig. 4M; $p = 0.004$) incrementó de 67.237 ± 4.827 mg m⁻² bajo 10 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ a 100.279 ± 6.130 mg m⁻² bajo los tratamientos de 40 y 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹, que fueron iguales estadísticamente.

En *Chloris pycnothrix*, *Chloris virgata*, *Pennisetum setaceum* y *Taraxacum officinale* no hubo efecto del depósito de nitrógeno sobre el contenido de clorofilas. En *P. setaceum* la clorofila *a* (Fig. 4P; $p = 0.206$) se encontró en 202.716 ± 15.460 mg m⁻², la clorofila *b* (Fig. 4P; $p = 0.707$) en 62.486 ± 4.76 mg m⁻², y la clorofila total (Fig. 4P; $p = 0.285$) en 265.205 ± 19.944 mg m⁻². En *C. virgata* la clorofila *a* (Fig. 4J; $p = 0.699$) fue de 137.208 ± 18.616 mg m⁻², la clorofila *b* (Fig. 4J; $p = 0.746$) en 54.439 ± 8.058 mg m⁻², y la clorofila total (Fig. 4J; $p = 0.700$) en 191.960 ± 25.776 mg m⁻². En *C. pycnothrix* la clorofila *a* (Fig. 4G; $p = 0.578$) fue de 122.972 ± 22.786 mg m⁻², la clorofila *b* (Fig. 4G; $p = 0.550$) en 53.460 ± 8.803 mg m⁻², y la clorofila total (Fig. 4G; $p = 0.611$) en 176.432 ± 30.616 mg m⁻². En *T. officinale* la clorofila *a* (Fig. 4S; $p = 0.346$) se encontró en 99.143 ± 8.366 mg m⁻², la clorofila *b* (Fig. 4S; $p = 0.353$) en 41.371 ± 4.936 mg m⁻², y la clorofila total (Fig. 4S; $p = 0.364$) en 140.514 ± 13.044 mg m⁻².

La relación clorofila *a/b* fue afectada por el depósito de nitrógeno en *Chloris gayana* (Fig 2.4E; $p < 0.001$) y *Lepidium virginicum* (Fig 2.4N; $p = 0.028$). En *C. gayana*, la relación descendió en el tratamiento de 80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ a 2.434 ± 0.073 , mientras que los tratamientos de 10, 20 y 40 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ fueron estadísticamente iguales y mostraron una relación mayor de clorofila *a/b* (2.857 ± 0.069). En *L. virginicum* ocurrió un descenso de la relación clorofila *a/b* bajo 40 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ (2.390 ± 0.107) y el valor máximo en 10 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ (2.952 ± 0.086).

En *B. pilosa* (Fig 2.4B; $p = 0.070$), *C. pycnothrix* (Fig 2.4H; $p = 0.222$), *C. virgata* (Fig 2.4K; $p = 0.914$), *P. setaceum* (Fig 2.4Q; $p = 0.309$) y *T. officinale* (Fig 2.4T; $p = 0.192$) el depósito de nitrógeno no afectó la relación de las clorofilas. La relación clorofila *a/b* se situó en 3.249 ± 0.103 para *P. setaceum*, en 2.602 ± 0.103 en *B. pilosa*, en 2.570 ± 0.277 en *C. virgata*, en 2.439 ± 0.164 en *T. officinale* y *C. pycnothrix* con 2.367 ± 0.254 .

La eficiencia cuántica en la transferencia de electrones (F_v/F_m) fue afectada por la simulación del depósito de nitrógeno en *C. pycnothrix* (Fig 2.4I; $p = 0.020$). La F_v/F_m disminuyó en el tratamiento más alto de depósito de nitrógeno (80 Kg N ha⁻¹ año⁻¹) a 0.380 ± 0.018 . La mayor eficiencia en la conversión de energía lumínica se alcanzó en el tratamiento de 40 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ ($F_v/F_m 0.646 \pm 0.045$), dicho tratamiento no difirió de 20 Kg N ha⁻¹ año⁻¹.

En *B. pilosa* (Fig 2.4C; $p = 0.043$), *C. gayana* (Fig 2.4F; $p = 0.513$), *C. virgata* (Fig 2.4L; $p = 0.706$), *L. virginicum* (Fig 2.4O; $p = 0.183$), *P. setaceum* (Fig 2.4R; $p = 0.562$) y *T. officinale* (Fig 2.4U; $p = 0.877$) el depósito de nitrógeno no afectó la eficiencia en la conversión de energía lumínica (F_v/F_m). En orden decreciente, la F_v/F_m se situó en 0.719 ± 0.020 en *L. virginicum*, 0.702 ± 0.019 en *P. setaceum*, en 0.698 ± 0.021 en *C. gayana*, en 0.618 ± 0.029 en *B. pilosa*, en 0.600 ± 0.064 en *C. virgata* y en 0.586 ± 0.033 en *T. officinale*.

2.4. DISCUSIÓN

2.4.1. Supervivencia

La supervivencia de las especies estudiadas no dependió de su origen, es decir, las especies exóticas no necesariamente sobrevivieron más que las nativas al depósito de nitrógeno simulado. *Bidens pilosa* y *Chloris gayana* no respondieron a los tratamientos, independientemente de la dosis, lo cual también ha sido observado en distintas especies como el pasto *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin., el arbusto *Calluna vulgaris* (L.) Hull y los árboles *Fraxinus americana* L., *Malus coronaria* L., *Rhus typhina* L. y *Schima superba* Gardner & Champ. (Van Den Berg et al., 2005; McWhirter y Henry, 2014; Han et al., 2019). Por su parte, la supervivencia de *Pennisetum ciliare* mostró sensibilidad al depósito de nitrógeno. Dicho aumento de la mortalidad a mayores tasas de depósito de nitrógeno también ha sido documentado para *Succisa pratensis* L., *Antennaria dioica* L., *Pinus massoniana* D. Don, *Pouteria torta* (Mart.) Radlk. y 39 especies arbóreas (Van Den Berg et al., 2005; Cárate-Tandalla et al., 2015; Horn et al., 2018; Han et al., 2019). En estos casos, una consecuencia del aumento de la mortalidad de las especies más sensibles bajo tasas mayores de depósito de nitrógeno podría ser una disminución en la distribución y abundancia (Gotelli y Ellison, 2002; Horn et al., 2018). En contraste, la supervivencia de *Chloris pycnothrix* y *Taraxacum officinale* aumentó con las dosis de nitrógeno, lo cual ha sido observado en *Elaeagnus umbellata* Thunb., *Erodium oxyrinchum* M. Bieb. y *Robinia pseudocacia* L. (McWhirter y Henry, 2014; Horn et al., 2018; Chen et al., 2019a).

La baja supervivencia de las especies consideradas en este estudio podría deberse a sus preferencias de hábitat. Por ejemplo, se ha observado que *Melinis repens* y *Taraxacum officinale* se establecen mejor en ambientes urbanos cuyo suelo presenta gran cantidad de hojarasca y bajo plantas nodriza (Cavieres et al., 2005; David y Menges, 2011). Por otro lado, podría deberse

simplemente a que la alta producción de propágulos con bajo costo de recursos se relaciona a una consecuente baja sobrevivencia (Ricklefs, 2009).

En este caso, la germinación y establecimiento son la etapa más vulnerable de las especies (de la Barrera et al., 2009). Por ejemplo, el mismo *Pennisetum ciliare* cuya sobrevivencia fue nula en este estudio, es insensible a la fertilización con urea de 50 Kg N ha⁻¹ año⁻¹ una vez que se ha logrado establecer (Lyons et al., 2013).

2.4.2. Biomasa

Un aumento del depósito de nitrógeno tuvo un efecto fertilizante en *Bidens pilosa*, *Chloris gayana*, *Lepidium virginicum* y *Pennisetum setaceum*, ya que incrementó la cantidad de biomasa a mayor concentración experimental de nitrógeno. Este efecto de fertilización también ha sido observado en especies como en *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn., *Centaurea stoebe* L., *Prunella vulgaris* L., *Anthoxanthum odoratum* L., *Plantago lanceolata* L., *Medicago lupulina* L., *Trifolium repens* L., *Lolium perenne* L., *Poa annua* L., *Avena fatua* L., *Hordeum murinum* L. y *Stipa pulchra* Hitchc. (Jiang et al., 2005; Tian et al., 2012; Stevens y Gowing, 2014; Peng et al., 2016; Tulloss y Cadenasso, 2016; Shen et al., 2019). El incremento en la productividad primaria, posterior a la fertilización, suele ser una respuesta a la limitación de nutrientes como el nitrógeno (Azcón-Bieto y Talón, 2008; Van der Valk, 2009; Taiz et al., 2014). En estos casos, la producción de biomasa puede aumentar linealmente hasta alcanzar la curva de saturación y/o limitarse debido a las capacidades intrínsecas de la planta, a efectos de toxicidad, o bien, por la co-limitación de otros nutrientes (Azcón-Bieto y Talón, 2008; Taiz et al., 2014; Mao et al., 2018a). Ello probablemente sucedió con *Chloris pycnothrix*, *C. virgata* y *Taraxacum officinale*, donde la acumulación de biomasa no respondió a las dosis de nitrógeno, que también ha sido observado en *Schima superba*, *Eremopyrum orientale* (L.) Jaub. & Spach, *Elaeagnus umbellata*, *Malus coronaria*, *Fraxinus americana*, *Rhus*

typhina L., *Elymus caput-medusae* L., *Plantago virginica* L. y *Amaranthus spinosus* L. (Jiang et al., 2005; McWhirter y Henry, 2014; Tulloss y Cadenasso, 2016; Chen et al., 2019b; Han et al., 2019).

El incremento de la asignación de recursos a la biomasa subterránea, que incrementa la relación BS/BA, se vincula a plantas adaptadas a ambientes pobres de nutrientes, ya que una mayor superficie radical mejora capacidad de la toma de nutrientes (Litton et al., 2003; Taiz et al., 2014). En condiciones experimentales de depósito de nitrógeno, que llevan al aumento en la disponibilidad de nitrógeno, se han observado reducciones en la relación BS/BA (Li et al., 2015; Mao et al., 2018a). Observamos este efecto en *Bidens pilosa* y *Chloris gayana* del presente estudio y que también han sido documentado en *Nepeta micrantha* Bunge, *Oriza sativa* L. y en plantas del bosque más que de pastizales (Li et al., 2015; Chen et al., 2019b; Wang et al., 2019). En el presente estudio, las especies *Chloris virgata*, *C. pycnothrix*, *Lepidium virginicum*, *Taraxacum officinale* y *Pennisetum setaceum* mantuvieron la relación BS/BA constante. Resultados semejantes han sido reportados en *Eremopyron orientale*, *Poa annua*, *Lolium perenne*, *Prunella vulgaris*, *Medicago lupulina*, *Trifolium repens* y *Amarathus spinosus* (Jiang et al., 2005; Stevens y Gowing, 2014; Chen et al., 2019b). El nulo efecto del depósito de nitrógeno en el patrón de asignación de recursos entre la biomasa subterránea y aérea se ha atribuido a que el nitrógeno no sea el único nutriente limitante y el mantener la relación BS/BA constante, o incluso incrementarla, facilite la exploración del suelo y permita mantener la capacidad competitiva (Tulloss y Cadenasso, 2016).

2.4.3. Actividad de la enzima nitrato reductasa (NR)

La enzima NR fue afectada por el depósito de nitrógeno en *Chloris gayana* y *Taraxacum officinale*, en las cuales el aumento de la tasa de depósito de nitrógeno redujo su actividad, como también se ha visto en *Acer saccharum* Marshall y las briofitas *Braunia secunda* (Hook.) Bruch & Schimp., *Leptodontium pungens* (Mitt.) Kindb., *Racomitrium lanuginosum* (Hedw.) Brid. y *Rhytidiadelphus squarrosus* (Hedw.) Warnst. (Pearce y Van Der Wal, 2002; Arróniz-Crespo et al.,

2008; Tang et al., 2012; Díaz-Álvarez et al., 2019). Dicha enzima, en escenarios ascendentes de depósito de nitrógeno, ha visto reducida su actividad debido al incremento de compuestos nitrogenados reducidos en los tejidos que inhiben su síntesis y actividad (Downs et al., 1993; Arróniz-Crespo et al., 2008; Coelho y Romão, 2015; Glime, 2017). En briofitas, el descenso de la actividad se atribuye a que el NH_4^+ disponible satisface la demanda de nitrógeno, mientras que en especies vasculares se ha atribuido a las propiedades intrínsecas de las especies como la tasa de crecimiento y el estado de desarrollo (Downs et al., 1993; Arróniz-Crespo et al., 2008; Tang et al., 2012; Glime, 2017). En el caso de las especies que mantuvieron la actividad de la NR constante en los escenarios de depósito de nitrógeno, *Bidens pilosa*, *Chloris pycnothrix*, *Chloris virgata* y *Pennisetum setaceum*, quizás la proporción de NH_4^+ , que aportó el NH_4NO_3 en los distintos escenarios de depósito de nitrógeno, más el NO_3^- reducido fueron suficientes para cubrir la demanda de nitrógeno manteniendo la actividad de la enzima NR constante. Este nulo efecto del depósito de nitrógeno, también se ha visto en *Acer rubrum* L., *Ardisia quinquegona* Blume, *Betula alleghaniensis* Britton, *Blastus cochinchinensis* Lour., *Fagus grandifolia* Ehrh., *Pinus strobus* L., *P. rigida* Mill., *Tillandsia recurvata* L. y en las briofitas *Pleurochaete squarrosa* (Brid.) Lindb. y *Pseudoscleropodium purum* (Hedw.) M. Fleisch. (Downs et al., 1993; Pearce y Van Der Wal, 2002; Pearce et al., 2003; Arróniz-Crespo et al., 2008; Tang et al., 2012; Ochoa-Hueso y Manrique, 2013; Liu et al., 2018b; Díaz-Álvarez et al., 2020).

2.4.4. Contenido y fluorescencia de clorofilas

Los escenarios de depósito de nitrógeno aumentaron el contenido de clorofilas en *Bidens pilosa*, *Lepidium virginicum* y *Chloris gayana*. Incrementos en la producción de clorofilas bajo escenarios de depósito de nitrógeno se han encontrado también en las especies *Ardisia quinquegona*, *Camellia japonica* L., *Fraxinus mandshurica* Rupr., *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm., *Pleurochaete squarrosa* y *Populus cathayana* Rehder. (Arróniz-Crespo et al., 2008;

Wang et al., 2012; Yuan et al., 2017; Liu et al., 2018a). Se han atribuido estos incrementos de clorofila *a* que la disponibilidad de nitrógeno puede promover el uso de compuestos nitrogenados para su síntesis (Arróniz-Crespo et al., 2008; Díaz-Álvarez et al., 2015). Como las especies del presente estudio, que no vieron afectada su concentración de clorofila por las tasas de depósito de nitrógeno, *Chloris pycnothrix*, *C. virgata*, *Pennisetum setaceum* y *Taraxacum officinale*, estudios en *Calamagrostis angustifolia* Kom., *Quercus acutissima* Carruth., *Blastus cochinchinensis*, *Cryptocarya chinensis* (Hance) Hemsl., *C. concinna* Hance, *Randia canthioides* Champ. ex Benth. y *Populus deltoides* W. Bartram ex Marshall tampoco han mostrado que la concentración de clorofila sea un rasgo sensible al depósito de nitrógeno (Dou et al., 2009; Li et al., 2018; Liu et al., 2018c; Liu et al., 2018a; Mao et al., 2018b; Xu et al., 2018).

Se observó una reducción en la relación de la clorofila *a/b* bajo tasas de depósito de nitrógeno en *Lepidium virginicum* y *Chloris gayana*, en las cuales ocurrió un incremento no proporcional de la concentración de clorofila *b* sobre la clorofila *a*. Esta reducción de la relación clorofila *a/b* se ha relacionado a mayor asignación de recursos a los complejos cosechadores de luz (LHC) que a los centros de reacción de los fotosistemas (PS), que pueden llevar a descensos en la capacidad fotosintética, como lo encontrado en *Pseudoscleropodium purum* y *Rhytidiadelphus squarrosus* (Arróniz-Crespo et al., 2008; Lambers et al., 2008; Ochoa-Hueso et al., 2014). A diferencia de lo reportado en *Pseudoscleropodium purum* y *Rhytidiadelphus squarrosus*, donde la relación clorofila *a/b* se relacionó con descensos de la eficiencia cuántica de la transferencia de electrones (F_v/F_m : Arróniz-Crespo et al., 2008), en este estudio no se observó tal efecto. Ni *Lepidium virginicum* ni *Chloris gayana* mostraron descensos en la F_v/F_m , ni en *C. pycnothrix* que vio reducida la F_v/F_m , la relación de la clorofila *a/b* se encontró afectada por la tasa de depósito de nitrógeno. Descensos de la eficiencia cuántica de la transferencia de electrones (F_v/F_m), o fotoinhibición, debido al depósito de nitrógeno han sido reportados también en *Laelia speciosa*

(Kunth) Schltr., *Syntrichia caninervis* Mitt. y *Pseudoscleropodium purum* (Arróniz-Crespo et al., 2008; Díaz-Álvarez et al., 2015; Zhang et al., 2016).

2.5. CONCLUSIÓN

En el presente estudio se analizó el efecto del depósito de nitrógeno simulado en la fisiología de malezas ruderales para identificar potenciales biomonitores del depósito de nitrógeno. De las siete malezas que sobrevivieron a los escenarios de depósito de nitrógeno entre 10 y 80 Kg N ha⁻¹año⁻¹, al menos un rasgo fisiológico fue sensible en seis de ellas, la excepción fue *Chloris virgata* (Cuadro 2.2). La actividad nitrato reductasa fue sensible al depósito de nitrógeno en *Chloris gayana*, *Lepidium virginicum* y *Taraxacum officinale*, mientras que en *Bidens pilosa*, *C. gayana* y *L. virginicum* fue la concentración de clorofilas y la biomasa, en este último rasgo también lo fue *Pennisetum setaceum*. En la fluorescencia y la relación de la clorofila *a/b*, rasgos relacionados al estrés, solo *C. gayana*, *Chloris pycnothrix* y *L. virginicum* fueron afectadas por el depósito de nitrógeno. Estas especies sensibles al depósito de nitrógeno, podrían ser usadas como biomonitores de contaminación de nitrógeno.

Una de las posibles implicaciones ecológicas de que se incremente la tasa de depósito de nitrógeno es que las comunidades de malezas se vean afectadas en estructura y composición. Ya que la sobrevivencia de las malezas ruderales fue sensible al depósito de nitrógeno y mostraron un desempeño diferencial. La producción de biomasa, así como la capacidad fotosintética y la sobrevivencia, son rasgos que pueden poner en desventaja por exclusión competitiva, o bien, debido a los umbrales de tolerancia pueden tener un impacto en la estructura de las comunidades (Gotelli y Ellison, 2002; Mao et al., 2015; Humbert et al., 2016; Horn et al., 2018).

Cuadro 2.2. Resumen del efecto de la simulación del depósito de nitrógeno en la fisiología de las malezas. El signo de menos (-) indica efectos negativos en el rasgo, signo de más (+) indica efectos positivos.

	Biomasa	BS/BA	aNR	Clorofilas	Clorofila a/b	F _v /F _m
<i>Bidens pilosa</i> L.	+	-		+		
<i>Chloris gayana</i> Kunth	+	-	-	+	-	
<i>Chloris pycnothrix</i> Trin.						-
<i>Chloris virgata</i> Sw.						
<i>Lepidium virginicum</i> L.	+		+	+	-	
<i>Pennisetum setaceum</i> (Forssk.) Chiov	+					
<i>Taraxacum officinale</i> (L.) Weber ex F.H.Wigg.			-			

2.6 LITERATURA CITADA

Arróniz-Crespo, M., J. R. Leake, P. Horton, y G. K. Phoenix. 2008. Bryophyte physiological responses to, and recovery from, long-term nitrogen deposition and phosphorus fertilisation in acidic grassland. *New Phytologist*. 180: 864–874.

Arróniz-Crespo, M., R. Ochoa-Hueso y E. Manrique. 2012. Biomonitorización del depósito de nitrógeno atmosférico en México: Detección y prevención de daños en ecosistemas naturales. *En* Cerón-Bretón, R., J. Cerón-Breton y J. Guerra-Santos. Avances y perspectivas de la depositación ácida en México. Universidad Autónoma del Carmen. Cd. Del Carmen, México. 81–98.

Azcón-Bieto, J., y M. Talón. 2008. Fundamentos de fisiología vegetal. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, España.

Baron, J. S., H. M. Rueth, A. M. Wolfe, K. R. Nydick, E. J. Allstott, J. T. Minear, y B. Moraska. 2000. Ecosystem responses to nitrogen deposition in the Colorado front range. *Ecosystems*. 3: 352–368.

Bobbink, R., K. Hicks, J. Galloway, T. Spranger, R. Alkemade, M. Ashmore, M. Bustamante, S. Cinderby, E. Davidson, F. Dentener, B. Emmett, J. W. Erisman, M. Fenn, F. Gilliam, A. Nordin, L. Pardo, y W. De Vries. 2010. Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis. *Ecological Applications*. 20: 30–59.

Bobbink, R., M. Hornung, y J. G. M. Roelofs. 1998. The effects of air-borne nitrogen pollutants on species diversity in natural and semi-natural european vegetation. *Journal of Ecology*. 86: 717–738.

Britto, D. T., y H. J. Kronzucker. 2002. NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of Plant Physiology*. 159: 567–584.

Cárate-Tandalla, D., C. Leuschner, y J. Homeier. 2015. Performance of seedlings of a shade-tolerant tropical tree species after moderate addition of N and P. *Frontiers in Earth Sciences*. 3: 1–10.

Carpenter, S. R., N. F. Caraco, D. L. Correll, R. W. Howarth, A. N. Sharpley, y V. H. Smith. 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications*. 8: 559–568.

Cavieres, L. A., C. L. Quiroz, M. A. Molina-Montenegro, A. A. Muñoz, y A. Pauchard. 2005. Nurse effect of the native cushion plant *Azorella monantha* on the invasive non-native *Taraxacum officinale* in the high-Andes of central Chile. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 7: 217–226.

Chen, Y., L. Zhang, X. Shi, Y. Ban, H. Liu, y D. Zhang. 2019a. Life history responses of spring-and autumn-germinated ephemeral plants to increased nitrogen and precipitation in the Gurbantunggut Desert. *Science of the Total Environment*. 659: 756–763.

Chen, Y., L. Zhang, X. Shi, H. Liu, y D. Zhang. 2019b. Life history responses of two ephemeral plant species to increased precipitation and nitrogen in the Gurbantunggut Desert. *PeerJ*. 7:e6158

Coelho, C., y M. J. Romão. 2015. Structural and mechanistic insights on nitrate reductases. *Protein Science*. 24: 1901–1911.

Conklin, A. R. 2005. Introduction to soil chemistry. John Wiley & Sons. New Jersey, USA.

- David, A. S., y E. S. Menges. 2011. Microhabitat preference constrains invasive spread of non-native natal grass (*Melinis repens*). *Biological Invasions*. 13: 2309–2322.
- De la Barrera, E., E. Pimienta-Barrios, y J. E. Schondube. 2009. Reproductive ecophysiology. In De la Barrera, E. y W.K. Smith. *Perspectives in biophysical plant ecophysiology: a tribute to Park S. Nobel*. Universidad Nacional Autónoma de México. DF, México.
- DeEll, J., y P. Toivonen. 2011. *Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology*. Springer Science+Business Media. New York, US.
- DeHayes, D. H., P. G. Schaberg, G. J. Hawley, y G. R. Strimbeck. 1999. Acid rain impacts on calcium nutrition and forest health. *Bioscience*. 49: 789–800.
- Díaz-Álvarez, E. A., E. de la Barrera, E. Y. Barrios-Hernández, y M. Arróniz-Crespo. 2020. Morphophysiological screening of potential organisms for biomonitoring nitrogen deposition. *Ecological Indicators*. 108: 105729.
- Díaz-Álvarez, E. A., E. de la Barrera, A. Arciga-pedraza, y M. Arróniz-Crespo. 2019. Bryophyte enzymatic responses to atmospheric nitrogen deposition: A field validation for potential biomonitors. *The Bryologist*. 122: 396–403.
- Díaz-Álvarez, E. A., R. Lindig-Cisneros, y E. de La Barrera. 2015. Responses to simulated nitrogen deposition by the neotropical epiphytic orchid *Laelia speciosa*. *PeerJ*. 3:e1021.
- Díaz-Álvarez, E. A., R. Lindig-Cisneros, y E. De La Barrera. 2018. Biomonitors of atmospheric nitrogen deposition: potential uses and limitations. *Conservation Physiology*. 6: 1110–1093.
- Díaz-Álvarez, E., y E. de la Barrera. 2017. Mapping pollution in a megalopolis: the case for atmospheric biomonitors of nitrogen deposition. *Scientific Reports*: 11: 11–14.
- Dou, J.-X., J.-S. Liu, Y. Wang, y G.-Y. Zhao. 2009. Ecophysiological responses of *Calamagrostis angustifolia* to nitrogen deposition. *Wetland Science*. 7: 40–46.
- Downs, M. R., K. J. Nadelhoffer, J. M. Melillo, y J. D. Aber. 1993. Foliar and fine root nitrate reductase activity in seedlings of four forest tree species in relation to nitrogen availability. *Trees*. 7: 233–236.
- Farrer, E. C., D. J. Herman, E. Franzova, T. Pham, y K. N. Suding. 2013. Nitrogen deposition, plant carbon allocation, and soil microbes: Changing interactions due to enrichment. *American Journal of Botany*. 100: 1458–1470.
- Galloway, J., F. Dentener, D. G. Capone, E. W. Boyer, R. W. Howarth, S. P. Seitzinger, G. P. Asner, C. C. Cleveland, P. A. Green, E. A. Holland, A. F. Michaels, J. H. Porter, A. R. Townsend, y C. J. Vorosmarty. 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry*. 70: 153–226.
- Galloway, J. N., J. D. Aber, J. W. Erisman, S. ybil P. Seitzinger, R. W. Howarth, E. B. Cowling, y B. J. Cosby. 2003. The nitrogen cascade. *BioScience*. 53: 341.
- Glime, J. 2017. Chapter 8 nutrients. In: *Bryophyte ecology*. Volume 1. *Physiological ecology*. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. <https://digitalcommons.mtu.edu/bryophyte-ecology/>
- Gotelli, N. J., y A. M. Ellison. 2002. Nitrogen deposition and extinction risk in the northern pitcher plant, *Sarracenia purpurea*. *Ecology*. 83: 2758–2765.

Gruber, N., y J. N. Galloway. 2008. An earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature*. 451: 293–296.

Han, W., J. Jiang, Q. He, H. Huang, J. Hu, S. Hu, y J. Ni. 2019. Effects of nitrogen deposition and liming on the early regeneration of two dominant tree species in a subtropical forest of China. *Ecoscience*. 26: 269–277.

Horn, K. J., R. Quinn Thomas, C. M. Clark, L. H. Pardo, M. E. Fenn, G. B. Lawrence, S. S. Perakis, E. A. H. Smithwick, D. Baldwin, S. Braun, A. Nordin, C. H. Perry, J. N. Phelan, P. G. Schaberg, S. B. S. Clair, R. Warby, y S. Watmough. 2018. Growth and survival relationships of 71 tree species with nitrogen and sulfur deposition across the conterminous U.S. *PLoS One*. 13(10): e0205296.

Humbert, J.Y., J. M. Dwyer, A. Andrey, y R. Arlettaz. 2016. Impacts of nitrogen addition on plant biodiversity in mountain grasslands depend on dose, application duration and climate: a systematic review. *Global Change Biology*. 22: 110–120.

INEGI. 2017. Anuario estadístico y geográfico de Michoacán de Ocampo 2017. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México, Cd. Mx., México.

Jiang, Q., J. Tang, X. Chen, J. Chen, R. Yang, y S. Hu. 2005. Effects of simulated nitrogen deposition on weeds growth and nitrogen uptake. *The Journal of Applied Ecology*. 16: 951–5

Kronzucker, H. J., D. T. Britto, R. J. Davenport, y M. Tester. 2001. Ammonium toxicity and the real cost of transport. *Trends in Plant Science*. 6: 335–337.

Lambers, H., F. S. Chapin III, y T. L. Pons. 2008. *Plant physiological ecology*. Springer. New Jersey, USA.

Landrigan, P. J., R. Fuller, N. J. R. Acosta, O. Adeyi, R. Arnold, N. (Nil) Basu, A. B. Baldé, R. Bertollini, S. Bose-O'Reilly, J. I. Boufford, P. N. Breysse, T. Chiles, C. Mahidol, A. M. Coll-Seck, M. L. Cropper, J. Fobil, V. Fuster, M. Greenstone, A. Haines, D. Hanrahan, D. Hunter, M. Khare, A. Krupnick, B. Lanphear, B. Lohani, K. Martin, K. V. Mathiasen, M. A. McTeer, C. J. L. Murray, J. D. Ndahimananjara, F. Perera, J. Potočnik, A. S. Preker, J. Ramesh, J. Rockström, C. Salinas, L. D. Samson, K. Sandilya, P. D. Sly, K. R. Smith, A. Steiner, R. B. Stewart, W. A. Suk, O. C. P. van Schayck, G. N. Yadama, K. Yumkella, y M. Zhong. 2018. The Lancet commission on pollution and health. *The Lancet*. 391: 462–512.

Lee, J. A., y S. J. M. M. Caporn. 1998. Ecological effects of atmospheric reactive nitrogen deposition on semi-natural terrestrial ecosystems. *New Phytologist*. 139: 127–134.

Li, M., W. Guo, N. Du, Z. Xu, y X. Guo. 2018. Nitrogen deposition does not affect the impact of shade on *Quercus acutissima* seedlings. *PLoS One*. 13(3): e0194261.

Li, W., C. Jin, D. Guan, Q. Wang, A. Wang, F. Yuan, y J. Wu. 2015. The effects of simulated nitrogen deposition on plant root traits: A meta-analysis. *Soil Biology & Biochemistry*. 82: 112–118.

Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. 148: 350–382.

Litton, C. M., M. G. Ryan, D. B. Tinker, y D. H. Knight. 2003. Belowground and aboveground biomass in young postfire lodgepole pine forests of contrasting tree density. *Canadian Journal of Forest Research*. 33: 351–363.

- Liu, C., X. Guo, K. Wang, Y. Sun, W. Li, Q. Liu, y Q. Liu. 2018c. Nitrogen deposition does not alleviate the adverse effects of shade on *Camellia japonica* (Naidong) seedlings. PLoS One. 13(8): e0201896.
- Liu, N., J. Wang, Q. Guo, S. Wu, X. Rao, X. Cai, y Z. Lin. 2018b. Alterations in leaf nitrogen metabolism indicated the structural changes of subtropical forest by canopy addition of nitrogen. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 160: 134–143.
- Liu, N., S. Wu, Q. Guo, J. J. Wang, C. Cao, y J. J. Wang. 2018a. Leaf nitrogen assimilation and partitioning differ among subtropical forest plants in response to canopy addition of nitrogen treatments. *Science of The Total Environment*. 637–638: 1026–1034.
- Lyons, K. G., B. G. Maldonado-Leal, y G. Owen. 2013. Community and ecosystem effects of buffelgrass (*Pennisetum ciliare*) and nitrogen deposition in the sonoran desert. *Invasive Plant Science and Management*. 6: 65–78.
- Mao, J., Y. Xing, G. Yan, y Q. Wang. 2018a. A meta-analysis of the response of terrestrial plant biomass allocation to simulated N deposition. *Acta Ecologica Sinica*. 38: 3183–3194.
- Mao, Q., X. Lu, H. Chen, y J. Mo. 2015. Responses of terrestrial plant diversity to elevated mineral element inputs. *Acta Ecologica Sinica*. 35: 5884–5897.
- Mao, Q., X. Lu, H. Mo, P. Gundersen, y J. Mo. 2018b. Effects of simulated N deposition on foliar nutrient status, N metabolism and photosynthetic capacity of three dominant understory plant species in a mature tropical forest. *Science of The Total Environment*. 610–611: 555–562.
- McWhirter, B. D., y H. A. L. Henry. 2014. Successional processes and global change: tree seedling establishment in response to warming and N addition in a temperate old field. *Plant Ecology*. 216: 17–26.
- Ochoa-Hueso, R., y E. Manrique. 2013. Effects of nitrogen deposition on growth and physiology of *Pleurochaete squarrosa* (Brid.) Lindb.; A terricolous moss from mediterranean ecosystems. *Water Air Soil Pollution*. 224:1492.
- Ochoa-Hueso, R., C. Paradela, M. E. Pérez-Corona, y E. Manrique. 2014. Pigment ratios of the mediterranean bryophyte *Pleurochaete squarrosa* respond to simulated nitrogen deposition. In: Sutton, M.A., K.E. Mason, L.J. Sheppard, H. Sverdrup, R. Haeuber y W.K Hicks (ed.). *Nitrogen deposition, critical loads and biodiversity*. Springer. Dordrecht, Netherlands. Pp. 207–216
- Pearce, I. S. K., y R. Van Der Wal. 2002. Effects of nitrogen deposition on growth and survival of montane *Racomitrium lanuginosum* heath. *Biological Conservation*. 104: 83–89.
- Pearce, I. S. K., S. J. Woodin, y R. Van Der Wal. 2003. Physiological and growth responses of the montane bryophyte *Racomitrium lanuginosum* to atmospheric nitrogen deposition. *New Phytologist*. 160: 145–155.
- Peng, Y., P. H. Peng, y J. J. Li. 2016. Simulated nitrogen deposition influences the growth and competitive ability of *Centaurea stoebe* populations. *Chinese Journal Plant Ecology*. 40: 679–685.
- Persson, L., A. Arvidson, M. Lannerstad, H. Lindskog, T. Morrissey, L. Nilsson, S. Noel, y J. Senyagwa. 2010. Impacts of pollution on ecosystem services for the millennium development goals. Stockholm Environment Institute, Stockholm, Sweden. Pp 50.

Ricklefs, R. E. 2009. The economy of nature. W. H. Freeman and Company. New York, USA. Pp 620.

Rockström, J., W. Steffen, K. Noone, Å. Persson, F. S. I. Chapin, E. Lambin, T. M. Lenton, M. Scheffer, C. Folke, H. J. Schellnhuber, B. Nykvist, C. A. de Wit, T. Hughes, S. van der Leeuw, H. Rodhe, S. Sörlin, P. K. Snyder, R. Costanza, U. Svedin, M. Falkenmark, L. Karlberg, R. W. Corell, V. J. Fabry, J. Hansen, B. Walker, D. Liverman, K. Richardson, P. Crutzen, y J. Foley. 2009. Planetary boundaries: Exploring the safe operating space for humanity. *Ecology and Society*. 14(2): 32.

Rothstein, D. E., D. R. Zak, y K. S. Pregitzer. 1996. Nitrate deposition in northern hardwood forests and the nitrogen metabolism of *Acer saccharum* marsh. *Oecologia*. 108: 338–344.

Rzedowski, G. C. de, J. Rzedowski, y Colaboradores. 2005. Flora fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Patzcuaro, México.

Sala, O. E., F. S. Chapin III, J. J. Armesto, E. Berlow, R. Dirzo, E. Huber-sanwald, L. F. Huenneke, B. Robert, A. Kinzig, R. Leemans, D. M. Lodge, H. A. Mooney, M. Oesterheld, N. L. Poff, M. T. Sykes, B. H. Walker, M. Walker, D. H. Wall, O. E. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*. 287: 1770–1774.

SEMARNAT. 2012. NORMA Oficial Mexicana NOM-156-SEMARNAT-2012, Establecimiento y operación de sistemas de monitoreo de la calidad del aire. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial de la Federación. Cd. Mx., México.
(http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5259464&fecha=16%2F07%2F2012).

Shen, H., S. Dong, S. Li, J. Xiao, Y. Han, M. Yang, J. Zhang, X. Gao, Y. Xu, Y. Li, Y. Zhi, S. Liu, Q. Dong, H. Zhou, y J. C. Yeomans. 2019. Effects of simulated N deposition on photosynthesis and productivity of key plants from different functional groups of alpine meadow on Qinghai-Tibetan plateau. *Environmental Pollution*. 251: 731–737.

SINAICA. 2019. Sistema Nacional de Información de la Calidad del Aire.
<https://sinaica.inecc.gob.mx/> (Consultado en Junio 2019).

Stevens, C. J., y D. J. G. Gowing. 2014. Effect of nitrogen addition, form and clipping on competitive interactions between grassland species. *Journal Plant Ecology*. 7: 222–230.

Stevens, J. C., N. B. Dise, J. O. Mountford, y D. j. Gowing. 2004. Impact of nitrogen deposition on the species richness of grasslands. *Science*. 303: 1876–1880.

Sutton, M. a, C. E. R. Pitcairn, y C. P. Whitfield. 2004. Bioindicator and biomonitoring methods for assessing the effects of atmospheric nitrogen on statutory nature conservation sites. JNCC Report No: 356. Countryside council for wales, English nature, joint Nature Conservation Committee and Centre for Ecology and Hydrology. <http://jncc.defra.gov.uk/pdf/jncc356.pdf>

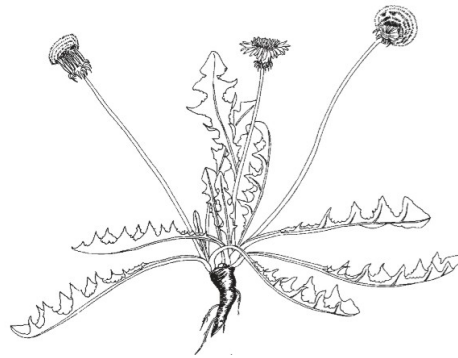
Taiz, L., E. Zeiger, I. M. Moller, y A. Murphy. 2014. Plant physiology and development. Sinauer Associates. Oxford, UK. Pp 761.

Tang, M. H., S. Porder, y G. M. Lovett. 2012. Species differences in nitrate reductase activity are unaffected by nitrogen enrichment in northeastern US forests. *Forest Ecology and Management*. 275: 52–59.

- Tegeder, M., y C. Masclaux-Daubresse. 2018. Source and sink mechanisms of nitrogen transport and use. *New Phytologist*. 217: 35–53.
- Tian, Q., N. Liu, W. Bai, L. Li, J. Chen, P. B. Reich, Q. Yu, D. Guo, M. D. Smith, A. K. Knapp, W. Cheng, P. Lu, Y. Gao, A. Yang, T. Wang, X. Li, Z. Wang, Y. Ma, X. Han, y W. H. Zhang. 2016. A novel soil manganese mechanism drives plant species loss with increased nitrogen deposition in a temperate steppe. *Ecology*. 97: 65–74.
- Tian, D., Q. Pan, M. Simmons, H. Chaolu, B. Du, Y. Bai, H. Wang, y X. Han. 2012. Hierarchical reproductive allocation and allometry within a perennial bunchgrass after 11 years of nutrient addition. *PLoS ONE*. 7(9): e42833.
- Tulloss, E. M., y M. L. Cadenasso. 2016. The effect of nitrogen deposition on plant performance and community structure: Is it life stage specific. *PLoS One*. 11(6): e0156685.
- Van der Valk, A. G. 2009. *Herbaceous plant ecology*. Springer. Ames, USA.
- Van Den Berg, L. J. L., E. Dorland, P. Vergeer, M. A. C. Hart, R. Bobbink, y J. G. M. Roelofs. 2005. Decline of acid-sensitive plant species in heathland can be attributed to ammonium toxicity in combination with low pH. *New Phytologist*. 166: 551–564.
- Wang, J., X. Yi, J. Cui, Y. Chang, D. Yao, D. Zhou, J. Yang, J. Zhou, A. Chan, W. Wang, y X. Yin. 2019. Nonlinear effects of increasing nitrogen deposition on rice growth and heavy metal uptake in a red soil ecosystem of southeastern China. *Science of the Total Environment*. 670: 1060–1067.
- Wang, M., S. Shi, F. Lin, Z. Hao, P. Jiang, y G. Dai. 2012. Effects of soil water and nitrogen on growth and photosynthetic response of manchurian ash (*Fraxinus mandshurica*) seedlings in Northeastern China. *PLoS One*. 7(2): e30754.
- Wilcove, D. S., D. Rothstein, J. Dubow, A. Phillips y E. Losos. 1998. Quantifying threats to imperiled species in the United States source. *BioScience*. 48 (8): 607-615.
- WHO. 2003. *Health aspects of air pollution with particulate matter, ozone and nitrogen dioxide*. World Health Organization. Bonn, Germany. Pp 94.
- Xu, W., B. Shang, Y. Xu, X. Yuan, A. J. Dore, Y. Zhao, R.-S. Massad, y Z. Feng. 2018. Effects of elevated ozone concentration and nitrogen addition on ammonia stomatal compensation point in a poplar clone. *Environmental Pollution*. 238: 760–770.
- Yeo, S., H. Lee, S. Choi, S. Seol, H. Jin, C. Yoo, J. Lim, y J. Kim. 2019. Analysis of the national air pollutant emission inventory (CAPSS 2015) and the major cause of change in republic of Korea. *Asian Journal of Atmospheric Environment*. 13: 212–231.
- Yuan, X., B. Shang, Y. Xu, Y. Xin, Y. Tian, Z. Feng, y E. Paoletti. 2017. No significant interactions between nitrogen stimulation and ozone inhibition of isoprene emission in Cathay poplar. *Science of the Total Environment*. 601–602: 222–229.
- Zhang, Y., X. Zhou, B. Yin, y A. Downing. 2016. Sensitivity of the xerophytic moss *Syntrichia caninervis* to prolonged simulated nitrogen deposition. *Annals of Botany*. 117: 1153–1161.

CAPÍTULO 3

DISCUSIÓN



Taraxacum officinale
Rzedowski, et al., 2005

3.1. DISCUSIÓN

Se esperaba que bajo escenarios de depósito de nitrógeno, al aumentar la disponibilidad de formas asimilables de nitrógeno por las plantas, se vieran afectadas las respuestas fisiológicas de las malezas ruderales del presente estudio. Las tasas de depósito de nitrógeno utilizadas, entre 10 y 80 Kg N ha⁻¹año⁻¹, efectivamente tuvieron efecto en la fisiología de seis especies de malezas. Una excepción fue *Chloris virgata*, que no respondió a la simulación de depósito de nitrógeno. Todos los rasgos fisiológicos analizados fueron sensibles a los escenarios de depósito de nitrógeno: la actividad de la enzima nitrato reductasa, la producción de biomasa, la relación BS/BA, la fluorescencia de clorofilas, su contenido y la relación clorofila *a/b* (Cuadro 2.2).

Del experimento con once especies de malezas, cuatro tuvieron una sobrevivencia por debajo del 33%, tres de ellas perdieron al menos uno de sus tratamientos y solo cuatro lograron sobrevivir por arriba del 33% en todos los tratamientos. Las especies de mayor sobrevivencia fueron *Bidens pilosa*, *Chloris gayana*, *Lepidium virginicum* y *Pennisetum setaceum*, mientras que las de menor sobrevivencia fueron *Pennisetum ciliare*, *Amaranthus hybridus*, *Melinis repens* y *Sporobolus indicus*. Especies cuya baja sobrevivencia se relacionó principalmente a las preferencias de hábitat.

El efecto del depósito de nitrógeno en la sobrevivencia se observó en nueve de las once especies de malezas: *A. hybridus*, *Chloris pycnothix*, *Chloris virgata*, *M. repens*, *L. virginicum*, *P. ciliare*, *P. setaceum*, *S. indicus* y *T. officinale*. Por su parte, *B. pilosa* y *C. gayana* no fueron sensibles, alcanzando máximos de sobrevivencia en todos los tratamientos. *Taraxacum officinale* vio mayores porcentajes de sobrevivencia en la tasa más alta de depósito de nitrógeno y en *P. ciliare* en tasas superiores a los 10 Kg de N ha⁻¹año⁻¹ se encontraron las curvas más abruptas en mortandad.

La biomasa fue sensible en *B. pilosa*, *C. gayana*, *L. virginicum* y *P. setaceum*, en las cuales se observó un efecto fertilizante al incrementar la cantidad de biomasa a mayor concentración experimental de nitrógeno. En *B. pilosa* y *C. gayana*, el depósito de nitrógeno tuvo efecto en el patrón de asignación de recursos. Descendió la relación BS/BA con el aumento en la tasa de depósito de nitrógeno. Estas respuestas de la producción de biomasa y la asignación a la biomasa subterránea y aérea son consistentes con estudios realizados bajo escenarios de depósito de nitrógeno. Donde se incrementó la producción de biomasa debido al efecto fertilizante y ocurrió una reducción de la relación BS/BA con el aumento en la disponibilidad de nitrógeno (Li et al., 2015; Mao et al., 2018).

En *C. gayana*, *T. officinale* y *L. virginicum*, la actividad de la enzima NR fue afectada por el depósito de nitrógeno. Se observaron descensos de la actividad de la enzima NR en escenarios ascendentes de depósito de nitrógeno en *C. gayana* y *T. officinale*. En *L. virginicum* la actividad tuvo un pico máximo en un tratamiento intermedio alto (40 Kg ha⁻¹año⁻¹) y actividades bajas de la enzima NR en tratamientos extremos de depósito de nitrógeno, en 10 y 80 Kg ha⁻¹año⁻¹.

El contenido de clorofilas fue sensible en *B. pilosa*, *C. gayana* y *L. virginicum*, al incrementar su contenido con la disponibilidad de nitrógeno, como se ha visto bajo tasas experimentales de depósito de nitrógeno (Arróniz-Crespo et al., 2008; Díaz-Álvarez et al., 2015). En los rasgos que evaluaron la capacidad fotosintética, la fluorescencia de la clorofila (F_v/F_m) fue sensible a tasas de depósito de nitrógeno en la especie *C. pycnothrix*, en la cual descendió la eficiencia cuántica en la transferencia de electrones (F_v/F_m). *Lepidium virginicum* y *C. gayana* fueron sensibles en la relación de la clorofila *a/b*, ya que presentaron un descenso en la relación, indicando un cambio en proporción de las antenas cosechadoras de luz (LCH) y del PSII en los tilacoides (Arróniz-Crespo et al., 2008; Lambers et al., 2008). La relación clorofila *a/b* y F_v/F_m , que son rasgos que muestran evidencia de estrés (Arróniz-Crespo et al., 2008; DeEll y Toivonen, 2011;

Kalaji et al., 2014; Wang et al., 2019), en conjunto con el desempeño diferencial y la sobrevivencia, pueden poner en desventaja competitiva y repercutir en la dominancia de las especies (Gotelli y Ellison, 2002; Mao et al., 2015; Humbert et al., 2016; Horn et al., 2018), así como modificar la estructura de las comunidades de malezas en escenarios que vean incrementado la tasa de depósito de nitrógeno.

El presente estudio cumplió el objetivo de identificar biomonitores potenciales y los rasgos fisiológicos sensibles al depósito de nitrógeno. Es una problemática de prioridad debido a los efectos negativos del depósito de nitrógeno a la salud humana y la amenaza a la biodiversidad (Sala et al., 2000; Stevens et al., 2008; Rockström et al., 2009; Landrigan et al., 2018). Además se identificaron especies de fácil manejo en el invernadero, ya que uno de los problemas del estudio fue la baja sobrevivencia de plántulas, independiente del tratamiento de depósito de nitrógeno. Con base en los resultados obtenidos, se podría sugerir como potenciales biomonitores, el uso de *B. pilosa*, *C. gayana* y *L. virginicum*, debido a que fueron las especies con más variables sensibles al depósito de nitrógeno, las cuales podrían ser útiles en el biomonitoreo.

Nota: Literatura citada 1.2 (Pp. 11)

ANEXO

ANEXO

Anexo 1. Resumen de Friedman de medidas repetidas para la sobrevivencia.

	Tratamiento Kg N ha ⁻¹ año ⁻¹				χ^2	° L	p
	10	20	40	80			
<i>Amaranthus hybridus</i> L.	a	b	ac	bc	49.26	3	< 0.001
<i>Bidens pilosa</i> L.	a	a	a	a	9	3	0.029
<i>Chloris gayana</i> Kunth	a	a	a	a	78	3	< 0.001
<i>Chloris pycnothrix</i> Trin.	a	b	b	b	96.549	3	< 0.001
<i>Chloris virgata</i> Sw.	a	b	a	c	70.926	3	< 0.001
<i>Lepidium virginicum</i> L.	a	ab	b	a	33.033	3	< 0.001
<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka	a	b	b	b	72.477	3	< 0.001
<i>Pennisetum ciliare</i> (L.) Link	a	ab	b	b	56.926	3	< 0.001
<i>Pennisetum setaceum</i> (Forssk.) Chiov.	a	a	b	c	165.812	3	< 0.001
<i>Sporobolus indicus</i> (L.) R. Br.	a	b	a	a	109.826	3	< 0.001
<i>Taraxacum officinale</i> (L.) Weber ex F.H.Wigg.	a	a	a	b	278.668	3	< 0.001

Anexo 2. Resumen de la estadística de la biomasa total y la relación biomasa subterránea/ biomasa aérea (BS/BA).

	Estadístico	° L	p	Post Hoc	Tratamientos (Kg N ha ⁻¹ año ⁻¹)				
					10	20	40	80	
Biomasa total									
<i>Bidens pilosa</i> L.	H	19.467	3	<0.001	Tukey	a	ab	b	b
<i>Chloris gayana</i> Kunth	H	17.512	3	<0.001	Dunn	a	ab	bc	c
<i>Chloris pycnothrix</i> Trin.	t	-0.525	4	0.628			a		a
<i>Chloris virgata</i> Sw.	F	3.807	8	0.086	Tukey	a		a	a
<i>Lepidium virginicum</i> L.	H	10.555	3	0.014	Dunn	a	ab	ab	b
<i>Pennisetum setaceum</i> (Forssk.) Chiov	H	10.955	3	0.012	Dunn	a	ab	ab	b
<i>Taraxacum officinale</i> (L.) Weber ex F.H.Wigg.	F	0.3	11	0.748			a	a	a
BS/BS									
<i>Bidens pilosa</i> L.	H	18.613	3	<0.001	Tukey	a	a	ab	b
<i>Chloris gayana</i> Kunth	F	17.881	22	<0.001	Tukey	a	b	bc	c
<i>Chloris pycnothrix</i> Trin.	t	0.114	4	0.328			a		a
<i>Chloris virgata</i> Sw.	F	4.427	8	0.066		a		a	a
<i>Lepidium virginicum</i> L.	F	2.076	15	0.157		a	a	a	a
<i>Pennisetum setaceum</i> (Forssk.) Chiov	F	2.744	20	0.075		a	a	a	a
<i>Taraxacum officinale</i> (L.) Weber ex F.H.Wigg.	H	5.974	2	0.038	Dunn		a	a	a

Anexo 3. Resumen de la estadística de la actividad de la enzima nitrato reductasa (NR).

	<i>Estadístico</i>		<i>°L</i>	<i>p</i>	<i>Post Hoc</i>	<i>Tratamientos (Kg N ha⁻¹ año⁻¹)</i>			
	<i>F</i>	<i>1.96</i>				10	20	40	80
aNR									
<i>Bidens pilosa</i> L.	<i>F</i>	1.96	23	0.153		a	a	a	a
<i>Chloris gayana</i> Kunth	<i>F</i>	8.001	23	0.001	Tukey	a	ab	b	b
<i>Chloris pycnothrix</i> Trin.	<i>F</i>	0.323	11	0.732			a	a	a
<i>Chloris virgata</i> Sw.	<i>F</i>	1.916	14	0.186		a	a	a	a
<i>Lepidium virginicum</i> L.	<i>F</i>	4.436	21	0.017	Tukey	ab	ab	b	a
<i>Pennisetum setaceum</i> (Forssk.) Chiov	<i>F</i>	1.031	21	0.402		a	a	a	a
<i>Taraxacum officinale</i> (L.) Weber ex F.H.Wigg.	<i>H</i>	8.632	3	0.035	Dunn	a	ab	ab	b

Anexo 4. Resumen de la estadística del contenido de clorofilas, la relación clorofila a/b y fluorescencia (F_v/F_m).

		Estadístico	° L	p	Post Hoc	Tratamientos (Kg N ha ¹ año ⁻¹)			
						10	20	40	80
Chl a									
<i>Bidens pilosa</i> L.	F	6.464	23	0.003	Tukey	a	ab	b	b
<i>Chloris gayana</i> Kunth	F	8.719	23	<0.001	Tukey	a	a	a	b
<i>Chloris pycnothrix</i> Trin.	F	0.583	11	0.578			a	a	a
<i>Chloris virgata</i> Sw.	H	1.429	3	0.699		a	a	a	a
<i>Lepidium virginicum</i> L.	H	8.595	3	0.035	Dunn	a	ab	ab	b
<i>Pennisetum setaceum</i> (Forssk.) Chiov	F	1.673	22	0.206		a	a	a	a
<i>Taraxacum officinale</i> (L.) Weber ex F.H.Wigg.	F	1.218	15	0.346		a	a	a	a
Chl b									
<i>Bidens pilosa</i> L.	F	4.004	23	0.022	Tukey	a	ab	ab	b
<i>Chloris gayana</i> Kunth	F	13.953	23	<0.001	Tukey	a	a	a	b
<i>Chloris pycnothrix</i> Trin.	F	0.64	11	0.55			a	a	a
<i>Chloris virgata</i> Sw.	F	0.415	14	0.746		a	a	a	a
<i>Lepidium virginicum</i> L.	F	6.329	21	0.004	Tukey	a	ab	b	b
<i>Pennisetum setaceum</i> (Forssk.) Chiov	F	0.469	22	0.707		a	a	a	a
<i>Taraxacum officinale</i> (L.) Weber ex F.H.Wigg.	F	1.196	15	0.353		a	a	a	a
Chl total									
<i>Bidens pilosa</i> L.	F	5.664	23	0.006	Tukey	a	ab	b	b
<i>Chloris gayana</i> Kunth	F	10.349	23	<0.001	Tukey	a	a	a	b
<i>Chloris pycnothrix</i> Trin.	F	0.52	11	0.611			a	a	a
<i>Chloris virgata</i> Sw.	F	0.484	14	0.7		a	a	a	a
<i>Lepidium virginicum</i> L.	F	4.607	21	0.015	Tukey	a	ab	ab	b
<i>Pennisetum setaceum</i> (Forssk.) Chiov	F	1.359	22	0.285		a	a	a	a
<i>Taraxacum officinale</i> (L.) Weber ex F.H.Wigg.	F	1.164	15	0.364		a	a	a	a
Chl a/b									
<i>Bidens pilosa</i> L.	F	2.742	23	0.07		a	a	a	a
<i>Chloris gayana</i> Kunth	F	9.09	23	<0.001	Tukey	a	a	a	b
<i>Chloris pycnothrix</i> Trin.	F	1.79	11	0.222			a	a	a
<i>Chloris virgata</i> Sw.	F	0.17	14	0.914		a	a	a	a
<i>Lepidium virginicum</i> L.	F	3.804	21	0.028	Tukey	a	ab	b	ab
<i>Pennisetum setaceum</i> (Forssk.) Chiov	H	3.592	3	0.309		a	a	a	a
<i>Taraxacum officinale</i> (L.) Weber ex F.H.Wigg.	F	1.849	15	0.192		a	a	a	a
Fv/Fm									
<i>Bidens pilosa</i> L.	F	3.272	23	0.043	Tukey	a	a	a	a
<i>Chloris gayana</i> Kunth	F	0.791	23	0.513		a	a	a	a
<i>Chloris pycnothrix</i> Trin.	F	5.881	12	0.02	Tukey		ab	a	b
<i>Chloris virgata</i> Sw.	F	0.475	14	0.706		a	a	a	a
<i>Lepidium virginicum</i> L.	F	1.801	21	0.183		a	a	a	a
<i>Pennisetum setaceum</i> (Forssk.) Chiov	H	2.052	3	0.562		a	a	a	a
<i>Taraxacum officinale</i> (L.) Weber ex F.H.Wigg.	F	0.225	15	0.877		a	a	a	a