



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA

RETENCIÓN Y PÉRDIDAS DE N EN SUELOS
DE UN BOSQUE TROPICAL SECO DE YUCATÁN

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ALEJANDRA ELISA LUÉVANO ARROYO

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JULIO CAMPO ALVES
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. MARÍA DEL ROCÍO CRUZ ORTEGA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. MARÍA DEL PILAR ORTEGA LARROCEA
INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX., DICIEMBRE DE 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA

RETENCIÓN Y PÉRDIDAS DE N EN SUELOS
DE UN BOSQUE TROPICAL SECO DE YUCATÁN

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ALEJANDRA ELISA LUÉVANO ARROYO

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JULIO CAMPO ALVES
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. MARÍA DEL ROCÍO CRUZ ORTEGA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. MARÍA DEL PILAR ORTEGA LARROCEA
INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX., DICIEMBRE DE 2018

OFICIO CPCB/1061/2018

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presenta

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas, en su sesión ordinaria del día 31 de julio de 2017, aprobó el jurado para la presentación del examen para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**, a la alumna **LUÉVANO ARROYO ALEJANDRA ELISA** con número de cuenta: 301119108 con la tesis titulada: "**RETENCIÓN Y PÉRDIDAS DE N EN SUELOS DE UN BOSQUE TROPICAL SECO DE YUCATÁN**", bajo la dirección del **DR. HOMERO JULIO CAMPO ALVES**:

Presidente:	DRA. CRISTINA MARTÍNEZ GARZA
Vocal:	DRA. MARÍA GUADALUPE BARAJAS GUZMÁN
Secretario:	DRA. MARÍA DEL PILAR ORTEGA LARROCEA
Suplente:	DRA. ANA ELENA MENDOZA OCHOA
Suplente	DRA. MARÍA DEL ROCÍO CRUZ ORTEGA

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a, 09 de noviembre de 2018


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Posgrado de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme continuar con mi formación académica.

A la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de maestría otorgada.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica por el apoyo financiero para realizar esta investigación a través del proyecto PAPIIT RN2014313 *Efectos de un ingreso elevado de nitrógeno en los ciclos del carbono y del nitrógeno y sus pérdidas en suelos de bosques tropicales estacionalmente secos.*

Agradezco a mi tutor de tesis Dr. Julio Campo por darme la oportunidad de pertenecer al laboratorio de Biogeoquímica Terrestre y Clima, y darme su apoyo en el proyecto de investigación.

Agradezco a los miembros del comité tutor y jurado: Dra. Rocío Cruz Ortega y la Dra. María del Pilar Ortega Larrocea por sus valiosas aportaciones durante la realización de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Agradezco a mi tutor de tesis Dr. Julio Campo por aceptarme como su alumna y por orientarme en este campo de conocimiento de la Biogeoquímica que me era poco conocido, pero tan importante para la Ecología. Gracias por el apoyo incondicional durante todo el proceso del trabajo de investigación hasta la conclusión de este escrito.

A los miembros del jurado: Dra. Cristina Martínez Graza, Dra. Guadalupe Barajas Guzmán, Dra. Ana Mendoza Ochoa, Dra. Rocío Cruz Ortega y la Dra. María del Pilar Ortega Larrocea por su tiempo, valiosos comentarios y sugerencias.

Agradezco al MsC. Enrique Solís por su apoyo en campo y en los análisis de laboratorio, sé que no fue fácil este último proceso pero se logró la meta. Gracias por las charlas matutinas y los dulces.

Agradezco a la Dra. Pamela Templer de la Universidad de Boston por las aportaciones y comentarios del diseño y realización de este trabajo.

A la Dra. Lilia Liseth Roa Fuentes por proporcionarme parte de su trabajo de tesis de doctorado, también por su apoyo cuando surgían dudas durante el proceso de campo y laboratorio.

A la Dra. Thalita Abruzzini por la ayuda en la interpretación de los análisis de gases.

Agradezco a mis compañeros Itzi, Paty y Daniel por su ayuda en campo y en el laboratorio, también a Eli, Daniela, Thalita, Sandra y Ulises, gracias a todos ustedes la estadía en este laboratorio fue maravillosa y acogedora. Me llevó todos los momentos de crisis, alegría y aprendizaje, esperando que nuestra amistad perduró.

Agradezco a Nicolás Salinas por el apoyo en el trabajo de campo, gracias por cuidar a mis núcleos.

A mi familia y amigos por confiar en mí en todo momento y por ayudarme en este camino de la ciencia.

Este trabajo no hubiera sido posible sin la ayuda de muchos laboratorios que nos proporcionaron sus equipos, y que en algunos casos me orientaron con los análisis de laboratorio, por lo que agradezco al

Laboratorio de Isótopos estables de la Universidad de Boston y en especial a Robert Michener por todas las aclaraciones y comentarios en los análisis isotópicos.

Laboratorio de Alelopatía y Laboratorio de Conducta de Artrópodos del Instituto de Ecología

Laboratorio de Toxicidad Ambiental de la Facultad de Ciencias

Laboratorio de Edafología Ambiental y Laboratorio de Isótopos estables del Instituto de Geología

Por último quiero agradecer al Sr. Fernando del Instituto de Física quien desinteresadamente ayudó al diseño de un equipo.

Contenido

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	4
Antecedentes	8
Justificación	15
Objetivo general	16
Hipótesis	16
Materiales y métodos	17
Resultados	35
Discusión	50
Conclusiones	66
Bibliografía	67
Anexo	79

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Características generales del sitio de estudio. Los valores son medias ± 1 E.E.

Cuadro 2. Variables y factores considerados en este trabajo

Cuadro 3. Concentración de nitrógeno total, nitrógeno en biomasa microbiana (NBM), amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-), y relación $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ en suelos (0-10 cm de profundidad). Los valores representan las medias ± 1 E.E.

Cuadro 4. Concentración de nitrógeno en raíces finas ($\leq 2\text{mm}$) en suelos (0- 10 cm de profundidad). Los valores representan las medias ± 1 E.E.

Cuadro 5. Flujo de amonio (NH_4^+) y de nitrato (NO_3^-) en lixiviados desde el suelo (0-10 cm de profundidad). Los valores representan las medias ± 1 E.E.

Cuadro 6. Flujo de óxido nitroso N_2O liberado desde el suelo (0-10 cm de profundidad). Los valores representan las medias ± 1 E.E.

Cuadro 7. Abundancia natural de ^{15}N en el nitrógeno total e inorgánico presentes en el suelo, en las raíces finas ($\leq 2\text{mm}$ de diámetro), en los lixiviados (como amonio NH_4^+ y nitrato NO_3^-), y en la liberación de óxido nitroso (N_2O) desde el suelo (0-10 cm de profundidad) en los núcleos testigo. Los valores representan las medias ± 1 E.E.

Cuadro 8. Ciclo del nitrógeno en el suelo (0-10 cm de profundidad) con base en las mediciones de ^{15}N adicionado realizadas en al día uno y al día cinco. Los valores representan las medias ± 1 E.E.

Cuadro 9. Concentración de nitrógeno en el suelo, la biomasa microbiana y las raíces finas, en bosques tropicales secos (lluvia total $\leq 2,000$ mm por año) y húmedos (lluvia total $> 2,000$ mm por año). Los valores representan los mínimos y máximos reportados.

Cuadro 10. Abundancia natural de ^{15}N en el suelo, raíces finas, lixiviados y en la liberación de N_2O desde el suelo de bosques tropicales secos (lluvia total $\leq 2,000$ mm por año) y húmedos (lluvia total $> 2,000$ mm por año). Los valores representan los mínimos y máximos reportados.

Cuadro 11. Mineralización bruta de nitrógeno y nitrificación bruta, lixiviación de nitrógeno y liberación de óxido nitroso en bosques tropicales secos (lluvia total $\leq 2,000$ mm por año) y

húmedos (lluvia total > 2,000 mm por año). Se presenta el rango con base en los valores mínimos y máximos reportados.

Cuadro A1. Valor de $\delta^{15}\text{N}$ en nitrógeno inorgánico del suelo, en raíces finas ($\leq 2\text{mm}$ de diámetro), en lixiviados (como amonio $^{15}\text{NH}_4^+$ y nitrato $^{15}\text{NO}_3^-$) y en óxido nitroso ($^{15}\text{N}_2\text{O}$) durante la adición de isótopo en suelos (0-10 cm de profundidad). Los valores representan las medias ± 1 E.E.

Cuadro A2. Efectos de la adición con nitrógeno y del tiempo, y su combinación, en la concentración del bioelemento en el suelo, en la biomasa microbiana (NBM), en las raíces finas (≤ 2 mm de diámetro), en la concentración de amonio (NH_4^+), de nitrato (NO_3^-) y en la relación $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ en el suelo. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis. Los valores significativos ($p < 0.05$) del test se presentan con negrita.

Cuadro A3. Efectos de la adición con nitrógeno en el flujo del bioelemento en formas inorgánicas (amonio NH_4^+ , nitrato NO_3^-) desde suelos por lixiviados. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis.

Cuadro A4. Efectos de la adición con nitrógeno y del tiempo en la liberación del bioelemento como óxido nitroso (N_2O) liberado desde los suelos. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis.

Cuadro A5. Efecto del tiempo en la abundancia natural del $\delta^{15}\text{N}$ en el nitrógeno total y en nitrógeno inorgánico del suelo mineral, en las raíces finas (≤ 2 mm diámetro) y en la liberación de óxido nitroso (N_2O) desde los suelos. Prueba no paramétrica Krukal Wallis. Los valores significativos ($p < 0.05$) del test se presentan con negrita.

Cuadro A6. Recuperación de ^{15}N (%) en los diferentes compartimentos del suelo (0-10 cm de profundidad). Los valores representan las medias ± 1 E.E.

Cuadro A7. Efectos de la adición con nitrógeno y del tiempo en la recuperación del ^{15}N adicionado. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis. Los valores significativos ($p < 0.05$) del test se presentan con negrita.

Cuadro A8. Efectos de la adición con nitrógeno y del tiempo en los procesos del ciclo del nitrógeno en el suelo. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis. Los valores significativos ($p < 0.05$) del test se presentan con negrita.

Lista de Figuras

Figura 1 Ciclo del nitrógeno en ecosistemas terrestres (modificado de Chapin *et al.* 2011). MOS, materia orgánica del suelo; NMB, nitrógeno en biomasa microbiana.

Figura 2. Distribución de los bosques tropicales secos en México.

Figura 3. Rangos de abundancia natural de ^{15}N en los ecosistemas terrestres y derivados de actividades humanas. Los valores son expresados en partes por mil (‰) (modificado de Fry 2008; con base en datos de Amudson *et al.* 2003, Evans 2007 y Craine *et al.* 2015).

Figura 4. Temperatura del aire (línea) y precipitación (barras) en el área de estudio. (a) datos de largo plazo (período de 1950 a 2010) y (b) del año de estudio (2013). Estación meteorológica de *Tzucacab* (20°04'14" N, 89°02'38" O). Las escalas (10 °C = 20 mm) fueron elegidas, porque cuando la línea de temperatura está por debajo de la barra de precipitación, la demanda de agua es menor que la precipitación mensual, y cuando la línea de temperatura está por encima de la barra de precipitación, la demanda de agua excede a la precipitación. La flecha indica el mes en que se realizó el experimento de la adición de ^{15}N .

Figura 5. Representación gráfica del diseño experimental empleado en el estudio. Las columnas representan el isótopo utilizado para la adición con $^{15}\text{KNO}_3$ (+ $^{15}\text{NO}_3$, indicadas en color naranja) y $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ (+ $^{15}\text{NH}_4$, indicadas en color verde). Los grupos (indicados en cuadros naranjas) son los tiempos en que fueron recolectados los núcleos (tiempo *Inicial*, 1 día y 5 días). Los últimos dos núcleos de cada fila (indicados en color azul) no recibieron el isótopo (*testigos*).

Figura 6. Variación temporal en la recuperación del ^{15}N adicionado (en %). Profundidad del suelo de 0-10 cm. El ^{15}N recuperado en la liberación de N_2O no se presenta porque su contribución fue despreciable (ver Cuadro A7).

Figura 7. Variación temporal en la toma de N por parte de las raíces bajo dos tipos de adición. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para la prueba *pos hoc* Tukey.

Figura 8. Almacenes y flujos del nitrógeno analizados al inicio del experimento (en tiempo *inicial*). Los almacenes de nitrógeno se indican con cuadros y están dados en unidades de masa por superficie (g N por m^2). Los flujos de nitrógeno se indican con flechas sólidas y están dados en unidades de masa por superficie por tiempo (g N por m^2 por año). Las flechas punteadas indican los flujos que no fueron calculados en el testigo. La hojarasca ha sido tomada de Campo (2016). Todos los valores representan las medias ± 1 E.E.

Figura 9. Rangos de la abundancia natural de ^{15}N en los distintos compartimentos analizados en el experimento. Los valores de abundancia representan los rangos obtenidos en las muestras.

Figura 10. Flujos de nitrógeno analizados en el experimento con ^{15}N . Los almacenes de nitrógeno se indican con cuadros de color negro, y están dados en g N por gramo de suelo. Los flujos de nitrógeno se indican con fechas de color negro, y están dados en $\mu\text{g N}$ por g de suelo seco por día. La inmovilización de $^{15}\text{NH}_4^+$ es el consumo total de nitrógeno menos la nitrificación total. Los valores representan las medias ± 1 E.E.

Figura 11. Almacenes y flujos del N analizados en tiempo inicial. Los cuadros en negro representan los almacenes de N en g N m^{-2} , las fechas en negro representan las tasas de transformación y movilidad de N en $\text{g N m}^{-2} \text{año}^{-1}$. Los valores representan las medias ± 1 E.E. La inmovilización de $^{15}\text{NH}_4^+$ es el consumo total menos la nitrificación total.

Figura 12. Coeficiente de variación (%) en las concentraciones y flujos calculados en el experimento de adición de ^{15}N . Las barras negras representan los datos de N y las barras grises son datos de ^{15}N .

Figura A1. Bolsa de resina de intercambio iónico.

Figura A2. Cámara estática utilizada para la captura de gases.

Resumen

De manera natural los bosques tropicales tienen una influencia masiva en el ciclo global del nitrógeno (N) dada su participación en la fijación biológica y en la emisión de óxido nitroso (N_2O). Las actividades antropogénicas han alterado el ciclo del N aumentando las tasas de ingreso desde la atmósfera y las de pérdidas en ecosistemas terrestres. Ante esta problemática se desconocen los efectos de éste incremento en el ingreso de N en la dinámica del nutriente en los bosques tropicales. Particularmente, el desconocimiento es mayor en los bosques tropicales secos a pesar que éste ecosistema tiene una gran extensión en el mundo. Ante esta situación, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar la participación de la vegetación en la retención del N que ingresa al suelo, así como la importancia de las diferentes vías de pérdida del N en un bosque tropical seco en la Península de Yucatán. Para cumplir con el objetivo se realizó el estudio de la abundancia natural de ^{15}N en el ecosistema y un experimento de adición de ^{15}N al suelo como un trazador isotópico, los ensayos fueron realizados en campo. Los resultados indicaron una recuperación media del isótopo que osciló entre 30 y 60% de la cantidad añadida. Del ^{15}N recuperado, entre el 15 y el 40% fue tomado por parte de las raíces finas del bosque, indicando que la vegetación es un importante mecanismo de retención del N que ingresa al ecosistema. Los resultados obtenidos respecto a la abundancia natural de $\delta^{15}\text{N}_2\text{O}$ (4 a 6 ‰) y $^{15}\text{NO}_3^-$ (-30 a +11 ‰) en el suelo y en lixiviados (-5 a +4 ‰), así como de los flujos de N por lixiviación y por emisión de $^{15}\text{N}_2\text{O}$ demostraron que es el lavado del N inorgánico presente en el suelo mineral la principal vía de pérdida desde el ecosistema. Por otra parte, el 25% del N producido por nitrificación en el suelo salió del ecosistema por lixiviación ($^{15}\text{NO}_3^-$, 24 %) y en forma gaseosa ($^{15}\text{N}_2\text{O}$; 1%). Este estudio permitió concluir, que si bien los procesos internos (sistema suelo-planta) del ecosistema, son mecanismos que permitirán retener una parte importante del N aumentado por deposición atmosférica; es posible que este incremento en el N producirá una fuerte contaminación de aguas subterráneas y marinas, debido a los incrementos esperados en la lixiviación del N desde los ecosistemas terrestres tropicales secos. Finalmente, éste estudio demuestra que el implementar herramientas de isótopos estables genera evidencias directas respecto a las respuestas de los

ecosistemas ante el aumento observado, y también el esperado, en el ingreso de N contribuyendo al entendimiento de la dinámica futura del nutriente.

Palabras clave: Isótopo ^{15}N , Liberación de óxido nítrico, Lixiviación de N, Tasa bruta de mineralización y nitrificación, Toma de N por la vegetación.

Abstract

Natural tropical forests have a massive influence in the global nitrogen (N) cycle, given for their inputs on the biological fixation and their outputs of nitrous oxide emissions. Anthropogenic activities have altered the N cycle, increasing the atmospheric inputs and terrestrial ecosystems outputs. It remains unknown how the nitrogen atmospheric inputs could affect the tropical forests nutrient cycles. Particularly, there is a lack of knowledge in regard to dry tropical forests even though this ecosystem has a global extension. Considering these issues, the aim of this study was to determine the participation of the vegetation on the retention of N that enters in to the soil, and to evaluate the main pathways for N losses from dry tropical forests. To accomplish that we evaluated the natural abundance of ^{15}N and conducted a field experiment with ^{15}N addition as isotopic tracer. The results indicated that 30 to 60% of the ^{15}N added was recovered by the ecosystem. Around 15 to 40 % of this ^{15}N recovery was taken by fine roots, indicating that the vegetation is an important mechanism of N retention of the N that's enters in to the ecosystem. The natural abundance results of $\delta^{15}\text{N}_2\text{O}$ (4 to 6 ‰) and $^{15}\text{NO}_3^-$ (-30 to +11 ‰) in soil and the leaching (-5 to +4 ‰), and also the N leaching flux and emission of $^{15}\text{N}_2\text{O}$ demonstrate the N inorganic leaching in soil mineral is the main way of N loss. Also, we found about 25% of the nitrified nitrogen lost by leaching ($^{15}\text{NO}_3^-$, 24%) and a small amount was transformed into gas ($^{15}\text{N}_2\text{O}$; 1%). We conclude that internal process (plant-soil system) are the mechanism that will allowed conserve N under increasing N deposition; but it is possible that part of these new N inputs could produce contamination of aquifer and the coastal marine water, due to the expected increment in N leaching in ecosystems dry tropical. Finally, this study demonstrates that the implementation of stable

isotopes tools generates direct evidences regarding the response of the ecosystems of N inputs observed and contributes to future knowledge on the nutrient dynamic.

Key words: ^{15}N isotope, N leaching, N plant uptake, nitrous oxide, rate gross mineralization and nitrification.

Introducción

El nitrógeno (N) es un elemento esencial para cualquier forma de vida en la Tierra. Los organismos vivos utilizan N para formar una serie de compuestos orgánicos tales como aminoácidos, ácidos nucleicos y proteínas. Su mayor reservorio se encuentra en la atmósfera, sin embargo el 99% del N existente no se encuentra en formas disponibles para los organismos (Galloway *et al.* 2003), por lo que esta baja disponibilidad de N es uno de los principales limitantes del funcionamiento de los ecosistemas (Elser *et al.* 2007). Las plantas disponen de este elemento a través de la descomposición de la materia orgánica y por la fijación biológica del N atmosférico o N molecular (FBN), proceso por el cual los microorganismos del suelo juegan un papel fundamental no solo para la fijación y las transformaciones del N ($N_2 \rightarrow NH_4^+$) (**Figura 1**), sino también en la regulación del sistema suelo-planta (Robertson y Groffman 2007).

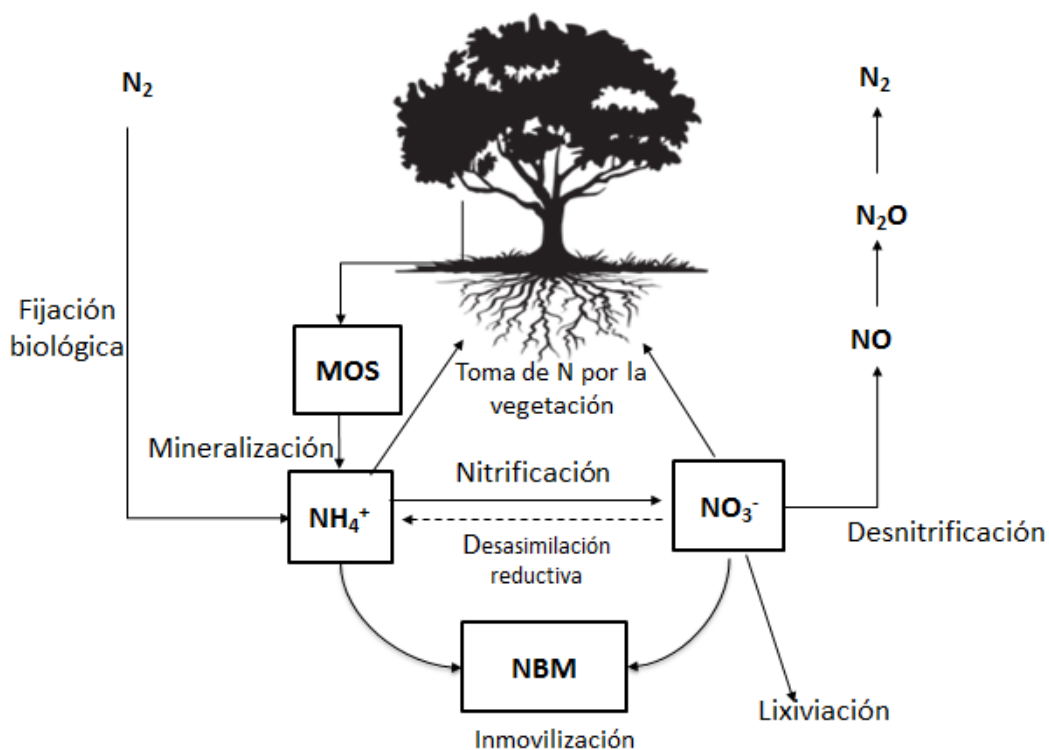


Figura 1. Ciclo del nitrógeno en ecosistemas terrestres (modificado de Chapin *et al.* 2011). MOS, materia orgánica del suelo; NMB, nitrógeno en biomasa microbiana.

A escala global, las tasas de ingreso y de pérdidas de N en los ecosistemas terrestres han aumentado como consecuencia del incremento en el depósito atmosférico de N reactivo (Nr) (Galloway *et al.* 2008); considerando al Nr como todas las formas biológicamente activas en la biosfera y fotoquímicamente reactivas en la atmósfera (nitrato, NO_3^- ; amonio, NH_4^+ ; óxido nítrico, NO_2 ; óxido nítrico, NO ; óxido nitroso, N_2O ; amoníaco, NH_3 ; entre otros). La quema de combustibles fósiles, el uso de fertilizantes inorgánicos en la agricultura, el cultivo de leguminosas con capacidad simbiótica para fijar el N atmosférico y otras actividades humanas, han causado la alteración del ciclo global del bioelemento (Fowler *et al.* 2013). Durante las últimas décadas, la creación de Nr producido para la fertilización de cultivos (conocido como el proceso de Haber-Boch) ha tenido un impacto severo en el ciclo global del N, puesto que ha doblado la fijación global, aumentando en un 80% las emisiones del N_2O a la atmósfera (IPCC 2013). El aumento en la disponibilidad del Nr ha acelerado la movilidad del nutriente dentro de la biósfera, la hidrósfera y atmósfera (Galloway *et al.* 2003). Así mismo esta movilidad de N ha tenido impactos en los ecosistemas como la eutrofización de cuerpos de agua, aumento en la concentración en los óxidos de nitrógeno (NO_x), aerosoles y ozono troposférico, además de la reducción o pérdida de biodiversidad en los ecosistemas terrestres y/o acuáticos (Galloway *et al.* 2008). Particularmente, el depósito de N en los trópicos ha aumentado durante las últimas décadas y se prevé un aumento significativo para el 2030 (Dentener *et al.* 2006).

Los bosques tropicales contienen grandes reservorios de N y contribuyen con el 70 % a la fijación natural terrestre de N (Townsend *et al.* 2011). Además se estima que estos bosques son responsables del 40-70% de las emisiones naturales de N_2O (Bai *et al.* 2012). Estos ecosistemas contienen abundantes especies vegetales con capacidad simbiótica para fijar el N (Pennington *et al.* 2009); sin embargo, en éste bioma la disponibilidad de N en el suelo puede limitar ciertos procesos ecosistémicos, tales como el crecimiento de la vegetación (Lebauer y Tresender 2008). Ante el incremento esperado en el depósito de N es difícil estimar la magnitud de estas respuestas en los trópicos debido a la gran heterogeneidad que presentan estos ecosistemas (Heitz *et al.* 2011), y aunque recientemente se ha demostrado sus efectos en la vegetación y actividad microbiana (Bejarano-Castillo *et al.* 2015), no se conoce con precisión la magnitud de los destinos de éste N.

En particular, ha llamado la atención el análisis de los efectos del enriquecimiento con N en bosques tropicales secos (BTS), dado que éstos ecosistemas ocupan el 42% del área forestal pantropical (Murphy y Lugo 1986, Miles *et al.* 2006). En México, los bosques tropicales secos tienen una amplia distribución cubriendo aproximadamente el 11% de la superficie nacional (Challenger y Soberón 2008) (**Figura 2**). La distribución más al norte alcanza las latitudes 29 y 27 °N. Se extienden desde el Estado de Sonora hasta el sur del país por la vertiente del Pacífico alcanzando el Estado de Chiapas (Miles *et al.* 2006 y Trejo 2015), y por la vertiente del Golfo hasta la Península de Yucatán; y están presentes, también, en el centro del país y en la Península de Baja California. Particularmente en la Península de Yucatán se localiza una región de BTS con una amplia extensión (Miles *et al.* 2006, Challenger y Soberón 2008, Trejo 2015).

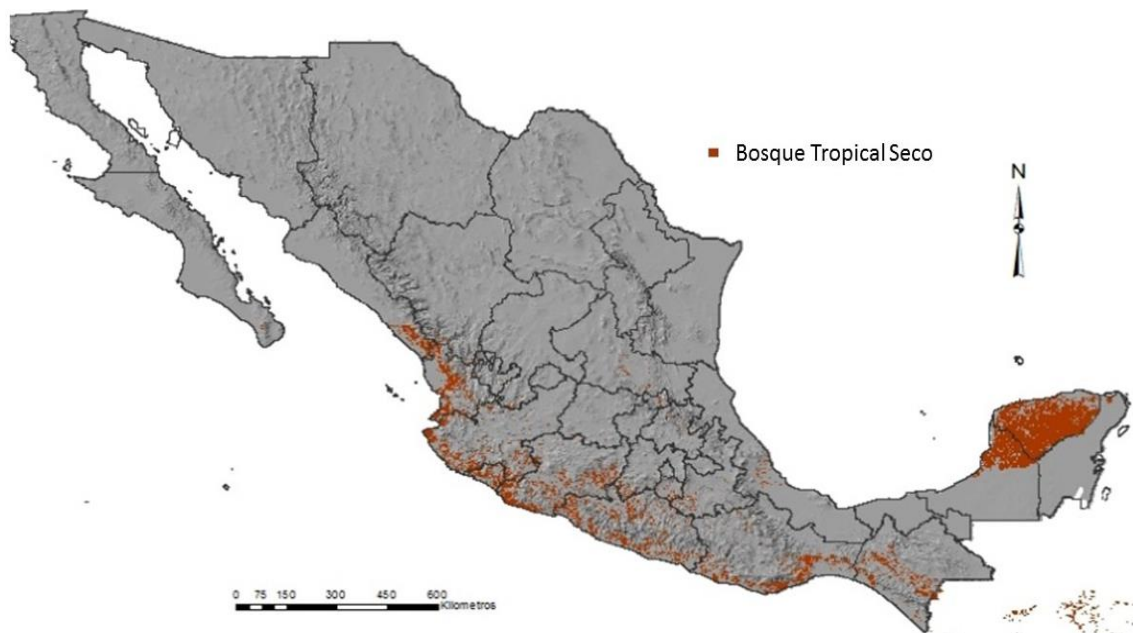


Figura 2. Distribución del bosque tropical seco en México (modificado de Miles *et al.* 2006).

Los BTS se caracterizan por tener un régimen estacional de lluvias, que concentra aproximadamente el 80 % de la precipitación anual en 5 meses, y una estación de sequía que dura de 3 a 6 meses y que recibe una cantidad de lluvia menor que 100 mm por mes, dependiendo de la región (Murphy y Lugo 1986, Banda-R *et al.* 2016). Esta estacionalidad modula la dinámica de N, presentándose pulsos en la estación de lluvia (Gei y Powers,

2014). Estos ecosistemas pueden contener altas cantidades de N acumulado en el suelo, facilitado por un período de secas en que la desnitrificación es baja ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$) y la lixiviación nula (García-Méndez *et al.* 1991, Saynes *et al.* 2005). Los destinos del N en los bosques tropicales secos no han sido documentados como en su contraparte húmeda (bosques tropicales húmedos) (Templer *et al.* 2008, Bejarano-Castillo *et al.* 2015). Dada la amplia extensión de los BTS, este ecosistema tiene una influencia masiva en el ciclo global del N. La carencia de información limita nuestra capacidad predictiva respecto a los escenarios futuros del ciclo del N en el bioma ante el cambio global en su depósito (Bejarano *et al.* 2014a). Ante esta necesidad, en el presente trabajo se analizan los mecanismos de retención de N como es la participación de la vegetación; así como las salidas del nutriente desde el ecosistema (desnitrificación y/o lixiviación), en un bosque tropical seco de la Península de Yucatán.

Antecedentes

El ciclo del nitrógeno en bosques tropicales

La gran heterogeneidad del bioma forestal tropical, tiene consecuencias en los ciclos de los nutrientes como es el caso de N (Townsend *et al.* 2008). Los estudios en estos bosques han demostrado que contienen grandes reservorios de N (Hedin *et al.* 2009). Las relaciones biológicas entre las plantas y microorganismos fijadores de N atmosférico, que en su mayoría pertenecen a la familia *Fabaceae*, podrían explicar las altas entradas de N a los ecosistemas tropicales, donde esta familia es abundante (Pennington *et al.* 2009). La fijación biológica alivia las necesidades de N en suelos infértiles (Batterman *et al.* 2013). En condiciones ricas de N (bosques maduros) los árboles parecen regular la fijación, como una estrategia benéfica para minimizar los costos energéticos (Hedin *et al.* 2009). Sin embargo, surgen varias interrogantes ante la participación de la fijación biológica de N en estos ecosistemas, puesto que se ha determinado que no todo el N fijado es utilizable por las plantas (Freitas *et al.* 2010).

A pesar de las evidencias que marcan que estos ecosistemas son ricos en N, diversos factores abióticos y bióticos contribuyen a limitar la disponibilidad de este nutriente para la vegetación (Elser *et al.* 2007, Hedin *et al.* 2009). Bejarano-Castillo y colaboradores (2015) al comparar experimentos con enriquecimiento de N demostraron que los BTS son más ricos en N que los húmedos de montaña. El aumento en la concentración de N total, amonio, N microbiano en el suelo, y la baja concentración de N disuelto indica que el estado inicial del N en BTS es alto (Bejarano-Castillo *et al.* 2015). Así mismo se ha demostrado la influencia de la cantidad de lluvia anual, mediante estudios en un gradiente de precipitación, en el ciclo del N en BTS, con efectos en la disponibilidad de N (Campo 2016). Esta baja disponibilidad de N puede limitar la descomposición de la materia orgánica en el piso forestal (Campo y Vázquez-Yanes 2004; Bejarano *et al.* 2014b).

Retención y pérdidas de nitrógeno en bosques tropicales

En los bosques tropicales húmedos, donde las pérdidas del N son altas (Templer *et al.* 2008, Brookshire *et al.* 2012), la toma de amonio por parte de las plantas y la vía desasimilatoria de nitrato ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_4^+$), son los principales mecanismos de conservación del N a escala del ecosistema (Silver *et al.* 2001, Templer *et al.* 2008). Las plantas y el suelo retienen aproximadamente el 70% del N que ingresa al ecosistema (Gurmesa *et al.* 2016). En el caso de los BTS estos procesos están regulados por la estacionalidad de la precipitación. La estación de lluvia estimula la inmovilización de N por parte de los microorganismos del suelo y la toma de N por la vegetación (Saynes *et al.* 2005, Gei y Powers 2014), pero también incrementa la actividad microbiana y las transformaciones del N en el suelo (Bejarano *et al.* 2014a). En la temporada de secas el N inorgánico es inmovilizado en la biomasa microbiana (Saynes *et al.* 2005, Anaya *et al.* 2007), ante la reducción de su toma por parte de la vegetación debido a la falta de agua en el suelo y a la muerte de las raíces finas (Castellanos *et al.* 2001).

En cuanto a la toma de N por parte de la vegetación, las especies hacen un cambio de sus preferencias de las diferentes formas de N orgánico e inorgánico presentes en el suelo, dependiendo de la disponibilidad del nutriente en respuesta al cambio de precipitación (Houlton *et al.* 2007). En especies tropicales al cambiar de ambientes semiáridos a húmedos, las preferencias cambian de NO_3^- a NH_4^+ . De igual forma la relación $\text{NH}_4:\text{NO}_3$ en el suelo experimenta un cambio, en ambientes húmedos la descomposición de la materia orgánica es alta y el NO_3^- es mayormente lixiviado, permitiendo que la relación $\text{NH}_4:\text{NO}_3$ aumente (valores mayores a uno) (Houlton *et al.* 2007, Wang y Macko 2011). El pH del suelo puede limitar el transporte del N inorgánico. Existe una mayor absorción de NO_3^- en suelos alcalinos, mientras que la absorción de NH_4^+ está favorecida en suelos con pH bajo (Britto y Kronzuchaer 2013). Por otro lado, las plantas invierten recursos para sostener simbiontes micorrízicos que les permitan acceder a fuentes de N inorgánico (Andersen *et al.* 2017).

Los bosques tropicales son el bioma terrestre que más contribuye al N exportado a la atmósfera por vía de desnitrificación, principalmente como N_2O , y a las zonas costeras marinas por lixiviación, principalmente de NO_3^- , representando alrededor del 70% de las pérdidas globales de N desde ecosistemas terrestres (Townsen *et al.* 2011, Bai *et al.* 2012). Diversos estudios indican que las grandes pérdidas son ocasionadas por desnitrificación aportando grandes emisiones de N_2O a la atmósfera, cerca de 7.3 a 13.2 Teragramos ($1 \text{ Tg} = 10^{15} \text{ g}$) al año (Houlton *et al.* 2006, Bai *et al.* 2012). Estas emisiones están vinculadas principalmente con procesos microbianos (Houlton y Bai 2009, Butterbach *et al.* 2013, Fang *et al.* 2015). Actualmente las emisiones totales de N desde las regiones tropicales son inciertas, y se piensa que podrían estar subestimadas (IPCC 2013). En los BTS se ha reportado altas pérdidas de N desde los ecosistemas por emisión de N_2O en respuesta a los pulsos de disponibilidad de agua (Bejarano *et al.* 2015, Bai *et al.* 2012). Con las primeras lluvias, al finalizar la temporada de sequía, se presenta una alta emisión de N_2O y de NO (García-Méndez *et al.* 1991, Erickson *et al.* 2002, Bejarano *et al.* 2015). Las emisiones de N_2O no presentan un pico tan alto, como las de NO, pero permanecen continuas durante la temporada de lluvias (Matson y Vitousek, 1995). La movilidad del NO_3^- mediante la lixiviación del agua resulta mayor en estos ecosistemas húmedos (Bejarano *et al.* 2015, Brookshire *et al.* 2012), superando a las pérdidas por desnitrificación, hasta en un 75% (Templer *et al.* 2008). En los BTS las altas concentraciones de N lixiviado están relacionadas con la estacionalidad en la precipitación (Anaya *et al.* 2007). En las primeras lluvias, el mayor aporte de N inorgánico lixiviado proviene del mantillo acumulado durante la época de sequía (Gei y Powers 2014).

Al comparar las pérdidas en bosques (desnitrificación vs lixiviación) estudios recientes reportan que la exportación de N por desnitrificación es seis veces mayor que el NO_3^- lixiviado en ecosistemas terrestres (Fang 2015); sin embargo, esta relación podría ser de menor magnitud ya que el número de bosques utilizados es limitado y no se contemplan los BTS.

El ciclo del nitrógeno en los bosques tropicales secos de la Península de Yucatán

En la Península de Yucatán los fenómenos meteorológicos como los huracanes y la ocurrencia del fenómeno de El Niño impactan los ciclos de los nutrientes en general, y el de N en particular (Hasselquist *et al.* 2010). Se plantea que la frecuencia de incendios en la península y la composición de compuestos recalcitrantes en el mantillo estén relacionados con el almacenamiento de la materia orgánica en el suelo (Campo y Merino 2016) y por lo tanto, con el de N, almacenado en la materia orgánica en el suelo (Chapin *et al.* 2011). Se ha descrito que en estos bosques la disponibilidad de N no es homogénea, existiendo una gran variabilidad regional en los ciclos biogeoquímicos que refleja la variabilidad en la cantidad anual de precipitación (Cuevas *et al.* 2013, Bejarano *et al.* 2014a, Campo 2016). Parte de esta variabilidad refleja cambios en el almacenamiento de C en el suelo en respuesta a la cantidad anual de precipitación (Campo *et al.* 2015, Campo y Merino 2016). Así mismo, existe también heterogeneidad biogeoquímica entre sitios dentro de una misma condición climática, la cual es producida por la gran variación espacial de los suelos a escala local (Ceccon *et al.* 2003, Maldonado 2013, Ortega 2014).

Estudios previos han demostrado que un aumento en la disponibilidad de N en el suelo podría producir cambios en su inmovilización por parte de la biomasa microbiana del suelo (Solís y Campo 2004) e incrementar su absorción por parte de la vegetación (Dirzo y Campo 2003, Campo *et al.* 2012) incrementando el flujo del N desde la vegetación al suelo (Campo *et al.* 2007). Si bien se dispone, de estas evidencias indirectas del aprovechamiento por parte de la vegetación del N agregado al sistema, ninguno de estos estudios ha cuantificado la participación de la vegetación como destino del N que ingresa al ecosistema. Este destino es particularmente importante, considerando que las relaciones isotópicas $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ en las hojas de los árboles y en el suelo de la Península de Yucatán sugieren la existencia de una considerable pérdida de N desde éstos ecosistemas (Roa-Fuentes *et al.* 2015), lo cual podría explicar la limitación por N observada en el funcionamiento del ecosistema de la región (Campo y Vázquez-Yanes 2004). Sin embargo, no se han realizado estudios en campo que cuantifiquen las pérdidas, tanto por desnitrificación como por lixiviación, en los bosques tropicales secos de Yucatán.

El uso de isótopos estables en el estudio del ciclo del nitrógeno

Los isótopos estables son aquellas formas de un elemento que difieren en el número de neutrones en el núcleo, y que además no son radioactivos. Los isótopos estables han sido utilizados como herramientas en los procesos ambientales y, específicamente, para el estudio de los ciclos biogeoquímicos. Normalmente se trabaja con isótopos pesados como el ^{13}C , ^2H y ^{18}O y ^{15}N , este último nos ayuda en el entendimiento del funcionamiento del ciclo del N (Fry 2008).

La composición isotópica es comúnmente expresada con la letra delta (δ) que denota partes per mil (‰). El isótopo pesado es comparado con el isótopo más común en la naturaleza, en el nitrógeno el isótopo común o ligero es el ^{14}N . La relación $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ en la muestra es comparada con la de un estándar que en el caso del N es la relación de $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ del N_2 atmosférico (Fry 2008).

$$\delta = \left[\left(\frac{R \text{ muestra}}{R \text{ estandar}} \right) - 1 \right] * 1000 \quad \text{Ecuación 1}$$

$$\delta = \left[\left(\frac{^{15}\text{N muestra} / ^{14}\text{N muestra}}{^{15}\text{N estandar} / ^{14}\text{N estandar}} \right) - 1 \right] * 1000$$

En donde:

R muestra: Relación $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ en la muestra

R estándar: Relación $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ en el aire (0.0036765 ‰)

^{15}N estándar: ^{15}N en el aire atmosférico (0.36630 ‰); y

^{14}N estándar: ^{14}N en el aire (99.63370 ‰)

La mayor abundancia en la naturaleza de N se encuentra en aire en forma de dinitrógeno (N_2) razón por la cual se le considera como el estándar. Por lo tanto el valor de δ para N_2 es cero.

La abundancia natural de ^{15}N en los almacenes de N está determinada principalmente por: (1) la concentración de ^{15}N en las entradas de N al ecosistema por depósito desde la atmósfera y fijación biológica, y las salidas del nutriente desde el ecosistema relacionadas a la movilidad de N por lixiviación, (2) por el fraccionamiento isotópico, o la fluctuación en las relaciones de isótopos de nitrógeno que ocurre durante las transformaciones de N dentro de los ecosistemas en las que participan los microorganismos y las plantas (Mariotti *et al.* 1981, Högberg 1997, Evans 2007, Craine *et al.* 2015). Esta diferencia entre los almacenes, y sobre todo la huella isotópica que deja esta discriminación por parte de los organismos, ha permitido dar más información respecto al estado actual del N en los ecosistemas terrestres naturales (Amudson *et al.* 2003, Bai *et al.* 2012, Craine *et al.* 2015, ver **Figura 3**); e identificar las fuentes y los destinos del N relacionado con actividades humanas (Fry 2008, Koba *et al.* 2012, Wang *et al.* 2014). Se han reportado valores de $\delta^{15}N$ cercanos a cero en las plantas que tienen simbiosis con microorganismos fijadores de N (**Figura 3**). Sin embargo, se observan valores de enriquecimiento (positivos) a valores indicadores de empobrecimiento (negativos) por discriminación respecto a su isótopo liviano ^{14}N en los flujos por depósito húmedo desde la atmósfera, fijación biológica, toma de N por parte de plantas y procesos de descomposición en suelos. También, las rocas presentan rangos de abundancia natural de ^{15}N que implican procesos de discriminación y de enriquecimiento.

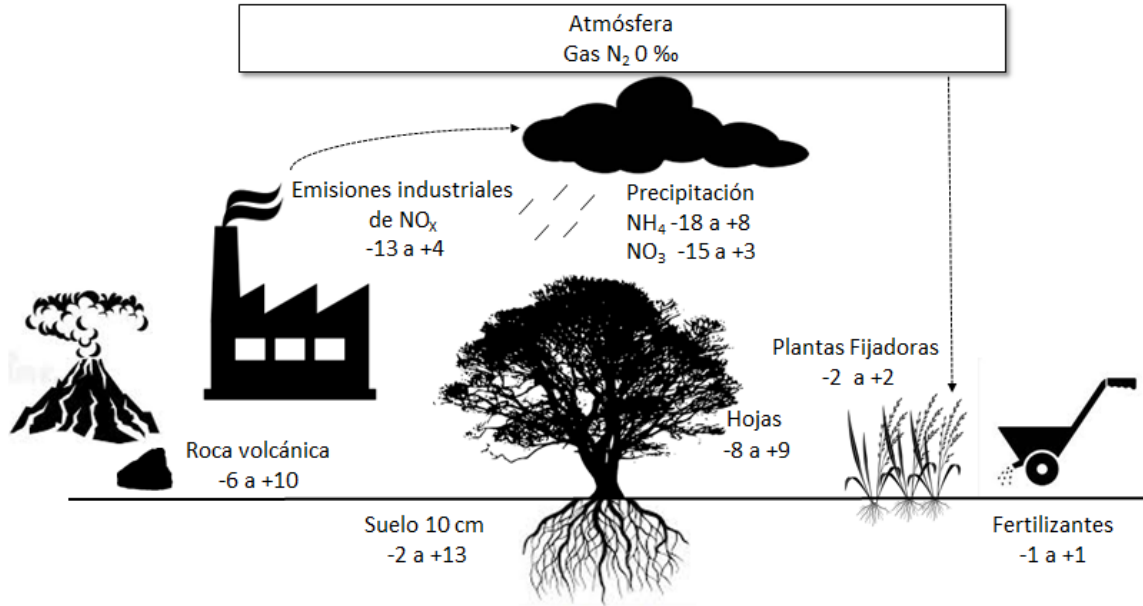


Figura 3. Rangos de abundancia natural de ¹⁵N en los ecosistemas terrestres y derivados de actividades humanas. Los valores son expresados en partes por mil (‰) (modificado de Fry 2008; con base en datos de Amudson *et al.* 2003, Evans 2007 y Craine *et al.* 2015).

Técnica de dilución ¹⁵N

La adición de un isótopo pesado (¹⁵N) a un determinado sistema sirve como un trazador, cuyo principal objetivo es rastrear los destinos del isótopo mediante las transformaciones que pueda sufrir una vez que ingresa al dicho sistema (Robinson 2001). Una de las técnicas más utilizadas en campo es la dilución isotópica de ¹⁵N (*¹⁵N pool dilution* en inglés) la cual implica la adición de ¹⁵N para etiquetar el almacén del producto (NH₄⁺ ó NO₃⁻) y se monitorea la tasa a la cual la producción altera el enriquecimiento isotópico de ese almacén (Hart *et al.* 1994). La adición del isótopo consiste en utilizar compuestos enriquecidos con el isótopo pesado de N (i.e., ¹⁵N) como ¹⁵NH₄Cl y K¹⁵NO₃. Esta técnica permite medir las tasas brutas de mineralización y nitrificación, así como las pérdidas de N por desnitrificación y por lixiviación, y el consumo de N (Evans 2007). También se puede evaluar la retención de N en el ecosistema, y gracias al rastreo del isótopo es posible detectar la participación de cada compartimento (raíces, hojas, suelo, gases, entre otros) en la retención del nutriente del ecosistema (Templer *et al.* 2012).

Al utilizar esta técnica se deben considerar tres supuestos: (1) al adicionar ^{15}N no debe existir discriminación por el isótopo pesado ^{15}N , puesto que al adicionar una concentración más alta de la que originalmente se encuentra se obliga a los organismos a tomar el nutriente enriquecido, al menos durante el experimento; (2) el ^{15}N inmovilizado por la biomasa microbiana no será remineralizado, se espera que el consumo del N sea muy rápido (una semana o menos), por lo que sólo se analizará las tasas del ciclo en ese periodo ; y (3) la adición del isótopo será homogénea, es decir, se requiere que la concentración del isótopo debe ser equitativa en el área asignada (Barraclough 1995).

Aunque las dos técnicas (abundancia natural y trazador isotópico) busquen objetivos particulares, es claro que ambas herramientas proporcionan información útil para el entendimiento de los ciclos biogeoquímicos y en el caso particular del ciclo del N en los ecosistemas.

Justificación

Los trabajos recientes en BTS sugieren que existen grandes pérdidas de N desde el ecosistema. Considerando que se espera que la deposición de Nr en el trópico aumente en $32 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ para el año 2030 (Dentener *et al.* 2006), en el presente estudio se plantea determinar los destinos del N una vez que ingresa al suelo, utilizando: (1) el estudio de la abundancia natural de ^{15}N en el sistema y, (2) la realización de ensayos en campo con la adición del trazador isotópico. En conjunto, los resultados obtenidos permitirán determinar la participación de la vegetación en la retención del Nr en los trópicos, así como cuantificar la importancia de sus pérdidas por desnitrificación y por lixiviación en BTS.

Objetivo general

Determinar la participación de la vegetación en la retención del N que ingresa al suelo, así como la importancia de las diferentes vías de pérdida del N desde el ecosistema, como una aproximación en el estudio de los destinos del nitrógeno reactivo.

Hipótesis

H₁. *La preferencia por la forma reducida de N por parte de la vegetación producirá una mayor toma de amonio respecto a la correspondiente al nitrato en bosques tropicales secos.*

H₂. *Puesto que en los trópicos la desnitrificación es la principal vía de pérdida del elemento desde los ecosistemas forestales, se considera que las pérdidas por liberación del gas N₂O serán mayores respecto a aquellas que ocurren por la lixiviación del suelo en bosques tropicales secos.*

Materiales y métodos

Área de estudio

El estudio se desarrolló en el Municipio de *Tzucacab* (palabra derivada de la lengua maya que significa *tzuc* “parte del pueblo pequeño” y *kakab* “pueblo pequeño”) (20°00’06’’ N y 89°02’30’’ O; altitud 36 m) al sur del Estado de Yucatán. La temperatura promedio anual es de 25.5 °C y el promedio de lluvia de 1240 mm año⁻¹ (**Figura 4**). En el sitio de estudio existe una marcada estacionalidad en la distribución de las lluvias, con una estación seca de siete meses (de noviembre a mayo), y una de lluvias (de junio a octubre) que concentra el 80% de la cantidad total de lluvias en el año. El material parental es roca caliza que data del periodo Plioceno Terciario (Bautista *et al.* 2011). Los suelos dominantes en el área se clasifican como Luvisoles (suelos de color café-rojizo y con bajo contenido de materia orgánica), acompañados por Leptosoles mólicos calcárico-húmicos (suelos de color negro, con alto contenido de materia orgánica; Maldonado 2013). La vegetación se conforma por selva mediana subcaducifolia. La familia Fabaceae, es la más importante en el área (Roafuentes *et al.* 2012). En el **Cuadro 1** se presentan algunas características de los suelos y de vegetación en el área de estudio, reportadas en trabajos anteriores.

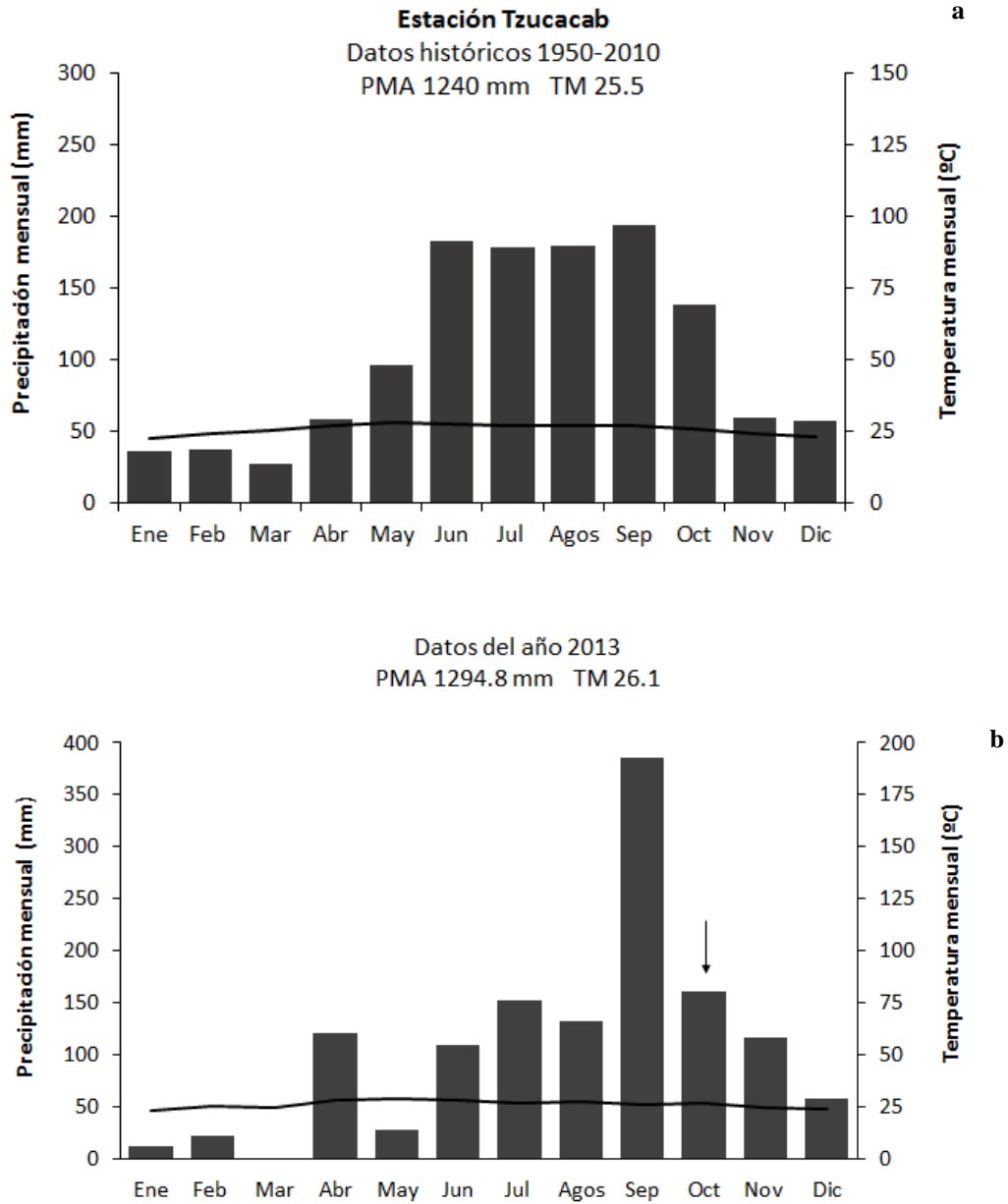


Figura 4. Temperatura del aire (línea) y precipitación (barras) en el área de estudio. (a) datos de largo plazo (período de 1950 a 2010) y (b) del año de estudio (2013). Estación meteorológica de *Tzucacab* (20°04'14" N, 89°02'38" O). Las escalas (10 °C = 20 mm) fueron elegidas, porque cuando la línea de temperatura está por debajo de la barra de precipitación, la demanda de agua es menor que la precipitación mensual, y cuando la línea de temperatura está por encima de la barra de precipitación, la demanda de agua excede a la precipitación. La flecha indica el mes en que se realizó el experimento de adición de ¹⁵N.

Cuadro 1. Características generales del sitio de estudio. Los valores son medias \pm 1 E.E.

Coordenadas	20°00'06'' N, 89°02'30'' O
Altitud (m)	36
<i>Clima</i> ^a	<i>AwI</i> (cálido subhúmedo)
Temperatura media anual ^b	25.5
Precipitación media anual (mm año ⁻¹) ^b	1240
Relación precipitación media anual:	
Evapotranspiración media anual (mm mm ⁻¹) ^b	0.72
<i>Suelo (0- 10 cm de profundidad)</i> ^{c,d}	
Densidad (g cm ⁻³)	0.80 \pm 0.01
Arena (%)	65.8 \pm 2.8
Limo (%)	1.3 \pm 0.5
Arcilla (%)	30.0 \pm 2.4
pH	7.4 \pm 0.02
C total (mg C g ⁻¹)	142 \pm 9
N total (mg N g ⁻¹)	8.7 \pm 0.9
NO ₃ ⁻ -N (μg N g ⁻¹)	26.8 \pm 3.3
NH ₄ ⁺ -N (μg N g ⁻¹)	35.2 \pm 2.1
Tasa neta de mineralización N (mg N g ⁻¹ d ¹)	1.35 \pm 0.36
<i>Vegetación</i> ^c	
Altura de los árboles (m)	5.35 \pm 0.19
Área basal (m ² ha ⁻¹)	30.9 \pm 4.9
Biomasa de raíces (Mg ha ⁻¹)	
Diámetro < 1 mm	2.72 \pm 0.33
Diámetro 1-4 mm	4.86 \pm 0.37

^a García (1998)

^b Campo (2016)

^c Roa-Fuentes *et al.* (2012)

^d Cuevas *et al.* (2013)

^e Bejarano *et al.* (2014a)

Diseño experimental

En el área de estudio se establecieron tres parcelas (5 m× 9 m) en el mes de octubre del 2011. En cada una de las parcelas se formaron seis columnas en las cuales se escavaron 10 hoyos a una profundidad de 10 cm (**Figura 5**). Al suelo removido se le extrajeron las raíces y las rocas. Este suelo se colocó en núcleos de 5 cm de diámetro y 10 cm de profundidad, contruidos con una maya de nylon (malla 2 mm para permitir la entrada de las raíces finas menores o igual a ese diámetro). Se instalarón 60 núcleos por parcela, éstos tuvieron una separación de 1 m entre sí. Cada parcela se dividió en tres grupos y cada grupo contó con dos filas de 10 núcleos (**Figura 5**). Cada grupo representó la recolecta de los núcleos después de la adición del isótopo a diferentes tiempos: 30 minutos (Inicial), 1 día (1d) y cinco días (5d). A cada cilindro del grupo correspondiente a la recolecta en tiempo 5d se le colocó una bolsa que contenía 10 g de resina de intercambio iónico (*Dowex Monosphere MR-3 UPW Mixed Ion Exchange Resin*), para recolectar el N lixiviado (Anexo: Figura A1).

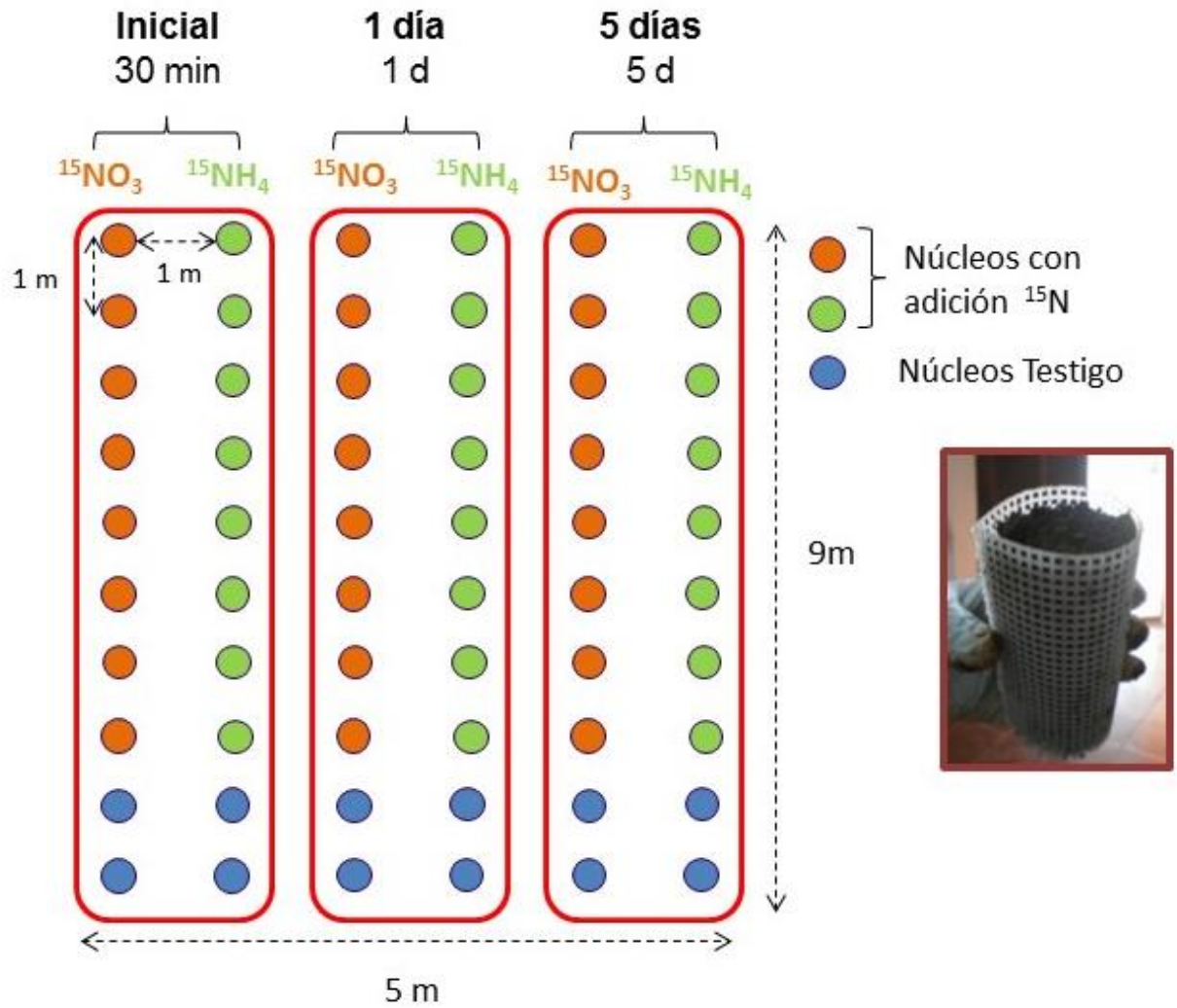


Figura 5. Representación gráfica del diseño experimental empleado en el estudio. Las columnas representan el isótopo utilizado para el enriquecimiento con $^{15}\text{KNO}_3$ (+ $^{15}\text{NO}_3$, indicadas en color naranja) y $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ (+ $^{15}\text{NH}_4$, indicadas en color verde). Los grupos (indicados en cuadros naranjas) son los tiempos en que fueron recolectados los núcleos (tiempo *Inicial*, *1 día* y *5 días*). Los últimos dos núcleos de cada fila (indicados en color azul) no recibieron el isótopo (*testigos*).

Para calcular la cantidad del isótopo que se requería adicionar, se determinó la concentración de NO_3^- y de NH_4^+ en el suelo (i.e., el *background* de N mineral en el sitio; Robinson 2001). Para ello, en el mes de octubre del 2012 se colectaron muestras del suelo (0-10 cm de profundidad) cercanas a las parcelas experimentales, y se determinaron las concentraciones máximas de NO_3^- ($64.0 \mu\text{g N g}^{-1}$) y de NH_4^+ ($81.9 \mu\text{g N g}^{-1}$). Utilizando la siguiente fórmula se determinó la cantidad de N mineral que debía adicionarse.

Background o
abundancia natural Trazador isotópico

$$E \% = \frac{[(A)(\text{átomos A \%}) + (B)(\text{átomos B \%})]}{[A] + [B]} \quad \text{Ecuación 2}$$

En donde:

E = Enriquecimiento esperado en el experimento

[A] = Concentración de NH_4^+ o de NO_3^- en el suelo ($\mu\text{g N g}^{-1}$ suelo)

[B] = Concentración de $^{15}\text{NH}_4^+$ o $^{15}\text{NO}_3^-$ de la sustancia que se debe adicionar en el experimento ($\mu\text{g N g}^{-1}$ suelo)

Átomos A (%) = ^{15}N átomos (%) en abundancia natural del ^{15}N atmosférico (0.3663 %);y

Átomos B (%) = ^{15}N átomos (%) de la sustancia adicionada (p.ej. $^{15}\text{KNO}_3$, 98%)

Por ejemplo, considerando exceder en 15% de la abundancia natural de $^{15}\text{NO}_3^-$, se necesitan $11.28 \mu\text{g } ^{15}\text{NO}_3^-$ por gramo de suelo.

$$15\% = \frac{[(64.0 \mu\text{g NO}_3^- \text{ g}^{-1})(0.3663 \text{ átomos \%}) + ([B])(98 \text{ átomos \%})]}{(64.0 \mu\text{g NO}_3^- \text{ g}^{-1} + [B])}$$

$$[B] = 11.28 \mu\text{g NO}_3^- \text{ g}^{-1}$$

Adición de ^{15}N en el experimento

En la temporada de lluvias (octubre del 2013) se realizó el experimento de adición con ^{15}N . Al suelo contenido en cada núcleo de todas las columnas que recibirían el $^{15}\text{NH}_4$ se le añadió 2.64 mg de cloruro de amonio ($^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$, 98 átomos %; *Sigma-Aldrich*), mientras que a cada núcleo de los correspondientes de las columnas que recibirían el $^{15}\text{NO}_3^-$ se les añadió 2.06 mg de potasio de nitrato (K^{15}NO_3 , 98 átomos %; *Sigma-Aldrich*). Finalmente, dos núcleos de cada columna no fueron marcados con el isótopo ^{15}N y solo se les inyectó agua destilada, siendo considerados como testigos. Para las adiciones de ^{15}N al suelo se utilizó una aguja (No. 18) realizando cinco inyecciones de 1 mL, cuidando que la adición del isótopo fuera lo más uniforme posible. Los núcleos fueron recolectados en tres tiempos: 30 minutos (aquí considerado como la condición inicial), 1 día (1d) y cinco días (5 d) después de la adición del isótopo. Inmediatamente después de la extracción de los núcleos, estos fueron refrigerados a 4 °C. Un día antes de la adición del isótopo, a los 36 núcleos del tiempo 5 se les colocó una cámara de gas estática sobre la superficie del suelo, con el fin de coleccionar muestras del N_2O liberado. La cámara de gas consistió en un tubo de PVC de 7.5 cm de diámetro y 7 cm de alto (volumen 309.25 mL, **Figura A2**). La liberación de N_2O se muestreó con una jeringa de 60 mL extrayendo 30 mL de gas a las primeras 24 horas y a los cinco días después de la adición de ^{15}N . Cinco mL de la muestra del gas fueron expulsados al aire y los restantes 25 mL se inyectaron en viales de vidrio, a los que previamente se generó vacío. Tres muestras de gas fueron tomadas durante el lapso de una hora; la primera al cierre de la cámara estática y las restantes a los 30 y 60 minutos del después del cierre de la cámara.

Análisis de laboratorio

Concentración de nitrógeno y abundancia natural de ^{15}N en las raíces finas

Las raíces finas (≤ 2 mm) presentes en las muestras de suelo fueron sustraídas al inicio y final del experimento, se lavaron con agua destilada y se secaron a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante dos días; posteriormente se pesaron con una balanza analítica. Para determinar la concentración de N y de ^{15}N en el tejido vegetal, las raíces fueron molidas con un mortero y pistilo. Posteriormente, el material vegetal fue analizado en un analizador elemental Euro EA y los gases producidos por la combustión separados en una columna de cromatografía de gas. La concentración de ^{15}N se determinó en un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas GVI *IsoPrime Radio Isotope*. Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Isótopos Estables de la Universidad de Boston en Estados Unidos.

Contenido gravimétrico de agua en el suelo

Se utilizaron 5 g de muestra húmeda para determinar el contenido gravimétrico del agua en cada núcleo. Las muestras se secaron a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un horno por 24 horas. Después se volvió a pesar la muestra seca y se determinó el contenido gravimétrico de agua en el suelo mediante la siguiente **Ecuación 3**;

$$\text{Contenido gravimétrico de } \text{H}_2\text{O} (\%) = \frac{\text{Peso de suelo humedo (g)} - \text{Peso de suelo seco (g)}}{\text{peso de suelo seco (g)}} * 100$$

Concentración de nitrógeno total y abundancia natural de ^{15}N en el suelo

La concentración de N total en el suelo se determinó por digestión ácida Kjeldhal (Anderson e Ingram 1993). La muestra (0.5 g de peso seco) se digirió con ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado a $360\text{ }^{\circ}\text{C}$, y la digestión se filtró (*Whatman* No 1) y se almacenó en

refrigeración. Posteriormente el filtrado se analizó por colorimetría en un autoanalizador Elemental NP (*Technicon Autoanalyzer II*). Para determinar el N en peso seco del suelo se utilizó el contenido gravímetro del agua.

Para determinar la abundancia natural de ^{15}N total en suelo, las muestras del grupo testigo se secaron por dos días a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se molieron en mortero de agata y pistilo. Al igual que las raíces, la concentración de ^{15}N se determinó en un espectrómetro de masas de radio isótopo GVI *IsoPrime Radio Isotope*.

Concentración de nitrógeno inorgánico y abundancia de ^{15}N inorgánico en el suelo

El N inorgánico de los suelos se extrajo utilizando 15 g de suelo en 75 mL de cloruro de potasio (KCl) 2 M, la muestra se filtró (Whatman No. 1) y se almacenó en refrigeración. Se determinó la concentración de amonio (NH_4^+) y de nitrato (NO_3^-) utilizando el analizador elemental NP (*Technicon Autoanalyzer II*). Una vez obtenida la concentración inicial de N inorgánico del extracto se llevó a cabo la técnica de difusión para la recuperación de N inorgánico (tanto del isótopo pesado como ligero, $^{15+14}\text{NH}_4^+$ y $^{15+14}\text{NO}_3^-$), utilizando una trampa ácida (Stark *et al.* 1996). La trampa ácida consistió en un filtro (7 mm de diámetro) de microfibra de vidrio *Whatman GF/F*, previamente incinerado en una mufla a $450\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 horas. Al filtro se le adicionó 15 μL de sulfato ácido de potasio (KHSO_4) y con una cinta de teflón PFTT se empaquetó el filtro; la cinta no permite la entrada de líquido al filtro, pero sí es permeable para gases. Para la captura de NH_4^+ se adicionó óxido de magnesio al extracto; el reactivo permite que el amonio se volatilice en forma de amoníaco (NH_3), este gas es absorbido por la trampa ácida. Las muestras se mantuvieron en agitación continua durante una semana. Después de la agitación la trampa se extrajo de la solución. Para la captura de NO_3^- se agregó aleación de Devarda al extracto y se colocó una nueva trampa. Este reactivo permite que el NO_3^- en solución se reduzca a NH_4^+ , y con el MgO convertir el NH_4^+ a NH_3 . El extracto se mantuvo en agitación por una semana, para después pasar al proceso de secado.

Las trampas se limpiaron con HCl al 10% y con agua destilada, posteriormente se secaron con H_2SO_4 concentrado durante dos días en un desecador. Una vez secos los filtros, se registró su peso con una balanza analítica, y se empaquetaron en cápsulas de estaño (5 mm

x 8 mm). Para la determinación del contenido ^{15}N inorgánico en la muestras, las cápsulas se analizaron mediante cromatografía de gases en el Laboratorio de Isótopos estables de la Universidad de Boston en Estados Unidos.

Concentración de nitrógeno en la biomasa microbiana (NBM)

El N contenido en la biomasa microbiana se determinó mediante la técnica de fumigación-extracción con cloroformo (Vance *et al.* 1987). Se utilizaron 20 g de suelo (peso húmedo), esta muestra se dividió en sub muestras de 10 g. Una submuestra se incubó dentro de un desecador que contenía cloroformo libre de etanol, por un lapso de 24 horas a 25 °C. La otra submuestra no pasó por el proceso de fumigación. Para la extracción se les adicionó 40 mL de sulfato de potasio KSO_4 0.5 M a ambas muestras. Posteriormente, se utilizó una alícuota de 5mL de cada extracto para ser digerida con H_2SO_4 . Las muestras fueron almacenadas a 4 °C para determinar la concentración de N. Utilizando la siguiente ecuación se determinó la concentración de NBM (Brookes *et al.* 1985).

$$\text{NBM} = d\text{N}/k_{\text{N}}$$

Ecuación 4

En donde:

$d\text{N}$ = Diferencia entre la concentración de N en la muestra fumigada y la no fumigada; y

k_{N} = Constante de N en biomasa microbiana (0.54)

Concentración de nitrógeno inorgánico y abundancia de ^{15}N inorgánico en lixiviados

Al extraer las raíces de los núcleos las resinas también fueron separadas del suelo y se almacenaron en una bolsa *ziploc* a 4 °C. Se pesó la resina y se extrajeron el amonio y nitrato con 30 mL de KCl 2 M, después se filtró (papel *Whatman* No.1) el extracto sin perder la resina. El proceso de extracción se repitió dos veces, obteniendo un volumen final de 90 mL. El extracto se almacenó en refrigeración para su posterior lectura de las lecturas de la concentración de N inorgánico (NH_4^+ y NO_3^-) contenido en la resina. Para la recuperación de ^{15}N se procedió al método de difusión, descrito anteriormente. Los

paquetes de trampas se secaron en ácido sulfúrico (H₂SO₄), y los filtros se pesaron y empaquetaron en capsulas de estaño, para el análisis isotópico.

Concentración de N₂O en las muestras de gas

Para calcular las proporciones de isótopo ¹⁴N y ¹⁵N del N₂O, las muestras de gases se analizaron en un sistema de concentración de gases traza *Thermo Finnigan GasBench + PreCon* conectado a un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas (IRMS) *ThermoScientific Delta V Plus*. Estos análisis se realizaron en la Universidad de California en Davis, Estados Unidos.

Cálculos

Abundancia natural del isótopo ¹⁵N

La abundancia natural de ¹⁵N en el N total e inorgánico del suelo, N en raíces y lixiviados y en el óxido nitroso se determinó únicamente en el grupo testigo. Mediante los análisis por cromatografía de gases se obtuvo el porcentaje de átomos ¹⁵N de una muestra, lo cual también se puede expresar como el valor de delta (δ) en unidades per mil (‰), (**Ecuación 1**). Cuando el valor de δ es mayor a cero o positivo se dice que la muestra está enriquecida en ¹⁵N, y al contrario si el valor de δ es menor a cero o negativo se dice que la muestra está empobrecida de ¹⁵N.

Recuperación del ¹⁵N adicionado

Para la estimación de recuperación del ¹⁵N (%) adicionado en cada uno de los compartimentos analizados (suelo mineral, raíces, lixiviados y gases), se utilizó la siguiente ecuación (Nadelhoffer *et al.* 1999):

$$^{15}\text{N Rec (\%)} = \frac{M_c (^{15}\text{N}_f - ^{15}\text{N}_r)}{M_t (^{15}\text{N}_t - ^{15}\text{N}_r)} * 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

En donde:

$^{15}\text{N Rec}$ = Recuperación de ^{15}N adicionado (%)

Mt = Almacenamiento de N en el compartimento (g N m^{-2})

Mt = ^{15}N aplicado en en el núcleo (g N m^{-2})

Nc = Átomos de ^{15}N en el compartimento (%)

Nr = Átomos de ^{15}N en la referencia del compartimento (%); y

Nt = Átomos de ^{15}N de la sustancia trazadora (98 % átomos de ^{15}N).

En el caso del N de referencia se utilizó la abundancia natural de cada compartimento analizada en el presente trabajo.

Tasas brutas de mineralización y de nitrificación

Como se mencionó anteriormente mediante los análisis por cromatografía de gases se obtiene el porcentaje de átomos ^{15}N de una muestra, que también se expresa en unidades por mil (‰) como valor de $\delta^{15}\text{NH}_4^+$ y $^{15}\text{NO}_3^-$ (ver Cuadro A1). Apartir de este valor se calculó las tasas de transformación del ^{15}N adicionado.

Antes de determinar las tasas de transformación de N se calculó la fracción de isótopo en el tiempo inicial, mediante la siguiente fórmula (Hart *et al.* 1994).

$$F_{N15} = \frac{{}^{15}\text{N exceso } (\mu\text{g kg}^{-1}) * \text{peso del núcleo (g)}}{{}^{15}\text{N inyectado (mg)}} \quad \text{Ecuación 6}$$

En donde:

$${}^{15}\text{N exceso} = ({}^{15}\text{N T}_0 - {}^{15}\text{N nat}) ([\text{N}]) / 100$$

${}^{15}\text{N Inicial}$ = Enriquecimiento ^{15}N (átomos %) del almacén al adicionar el ^{15}N

$^{15}\text{N nat}$ = Abundancia natural de ^{15}N (*background* del suelo); y

$[\text{N}]$ = Concentración de N en el suelo ($\mu\text{g N g}^{-1}$ suelo)

La tasa bruta de mineralización de N (m) y el consumo de NH_4^+ (c_A) fueron calculados con las siguientes ecuaciones.

$$m = \frac{[\text{NH}_4^+]_0 - [\text{NH}_4^+]_t}{t} * \frac{\log(\text{APE}_0/\text{APE}_t)}{\log([\text{NH}_4^+]_0/[\text{NH}_4^+]_t)} \quad \text{Ecuación 7}$$

$$c_A = m - \frac{[\text{NH}_4^+]_t - [\text{NH}_4^+]_0}{t} \quad \text{Ecuación 8}$$

En donde:

m = Tasa bruta de mineralización de N ($\mu\text{g de N g}^{-1}$ suelo día $^{-1}$);

c_A = Tasa de consumo de NH_4^+ ($\mu\text{g N g}^{-1}$ suelo día $^{-1}$);

t = Tiempo (días);

APE_0 = Exceso de átomos de ^{15}N del almacén de NH_4^+ al tiempo 0 (%)

APE_t = Exceso de átomos de ^{15}N del almacén de NH_4^+ al tiempo t (%)

Donde APE_t = Enriquecimiento de átomos % de ^{15}N del almacén de N enriquecido con ^{15}N menos el enriquecimiento de átomos % de ^{15}N de ese almacén antes de la adición de ^{15}N ;

$[\text{NH}_4^+]_0$ = Concentración total de NH_4^+ ($\mu\text{g N g}^{-1}$) al tiempo 0; y

$[\text{NH}_4^+]_t$ = Concentración total de NH_4^+ ($\mu\text{g N g}^{-1}$) al tiempo t.

Para calcular la nitrificación y el consumo de nitrato se procedió con las fórmulas anteriores utilizando los resultados de $\delta^{15}\text{NO}_3^-$ y NO_3^- de las muestras adicionadas con K^{15}NO_3 , en los tiempos 1 y 5 días. El cálculo de las tasas brutas de transformación de N y el del consumo de N por cada parcela se realizaron por triplicado.

Tiempo medio de residencia (TMR) del nitrógeno mineral en el suelo

El TMR para el NH_4^+ y NO_3^- se calculó dividiendo los datos de consumo de N ($\mu\text{g N g}^{-1}$ suelo día¹) entre la concentración de N inorgánico ($\mu\text{g N g}^{-1}$ suelo) en los tiempos 1 y 5 días. Por cada parcela se realizaron tres cálculos para obtener el mismo número de muestras que las tasas de transformación.

Toma de ^{15}N por parte de la vegetación

Para calcular la toma de ^{15}N por parte de la vegetación se utilizó la siguiente fórmula (Templer 2005):

$$Nt = B * \frac{(\text{Nr} * ^{15}\text{Nr átomos}\%) - (\text{Nr} * ^{15}\text{Na átomos}\%)}{^{15}\text{Ns átomos}\%} \quad \text{Ecuación 9}$$

En donde:

Nt = Toma de N por parte de las raíces ($\mu\text{g N g}^{-1}$ raíz día⁻¹)

B = Biomasa de raíces al final del experimento (g)

Nr = Concentración de N en raíces al tiempo 1 y 5 días ($\mu\text{g N g}^{-1}$ raíces)

Na = Concentración de N en raíces en el testigo T_0 ($\mu\text{g N g}^{-1}$ raíces)

$^{15}\text{Nr átomos } \%$ = El promedio de ^{15}N en las raíces con adición de isótopo ($^{15}\text{NO}_3^-$, $^{15}\text{NH}_4^+$) al 1º día y 5 días); y

$^{15}\text{Ns átomos } \%$ = ^{15}N inorgánico (NH_4^+ o NO_3^-) en el suelo al final del experimento

Lixiviación de nitrógeno y ¹⁵N inorgánico

El cálculo de la lixiviación del N inorgánico disuelto (NID), se determinó por la concentración del NID contenido en la bolsa de resina entre el área que ocupó la resina en el núcleo (19.635 cm²) y por los dos años que los núcleos estuvieron en campo, este cálculo se consideró en los grupos testigo. Las unidades se reportan en µg N m⁻² día⁻¹, pero para la comparación del experimento de isótopo se determinó el N disuelto en la cantidad de masa de suelo contenido en los núcleos (µg N g⁻¹ suelo día⁻¹). Para determinar el ¹⁵N inorgánico disuelto (¹⁵NH₄⁺ y ¹⁵NO₃⁻) en el enriquecimiento se utilizaron las fórmulas descritas anteriormente (Tasas brutas del N). En el caso de la tasa de lixiviación, el ¹⁵NO₃⁻ se determinó en los núcleos enriquecidos con ¹⁵NO₃⁻ y ¹⁵NH₄⁺, y para la tasa de ¹⁵NH₄⁺ solamente con adición de ¹⁵NH₄⁺.

Emisiones de N₂O y ¹⁵N₂O

La concentración de N₂O se calculó mediante la Ley de Gas ideal según la **Ecuación 10**;

$$PV = nRT$$

Ecuación 10

$$n = PV/RT$$

En donde:

n = Moles del trazador N₂O (mol L⁻¹)

P = Presión atmosférica (atm)

V = Lectura del cromatógrafo de gases GC (µmoles) * Volumen de la cámara (L)

R = Constante de la ley de gases (0.0821 L atm mol⁻¹ K⁻¹); y

T = Temperatura del suelo (K).

La concentración de N₂O se reporta en µgN kg⁻¹ de muestra de gas. Se calculó la concentración de N₂O en los flujos de gas para cada uno de los tiempos (0, 30 y 60 minutos) en que se hizo la toma de gases. Se graficaron las concentraciones con respecto al tiempo para obtener la tendencia lineal, la cual indica el cambio de concentración de N₂O en el tiempo de incubación (Collier *et al.* 2014). La tasa de liberación de N₂O se expresó en microgramos de N emitidos por área y por el tiempo (µg N m⁻² día⁻¹).

Para la comparación del experimento con el isótopo se consideró el N perdido por gramos de suelo por el tiempo de incubación (µg N g⁻¹ día⁻¹). Para calcular las emisiones de ¹⁵N₂O se utilizó la siguiente fórmula (Miranda 2014):

$$\text{Liberación de } ^{15}\text{N}_2\text{O} = \frac{(^{15}\text{Nm átomos \%} - ^{15}\text{Na átomos \%})}{(^{15}\text{Nt átomos \%} - ^{15}\text{Na átomos \%})} * \text{Ne}$$

Ecuación 11

En donde:

Liberación de ¹⁵N₂O: N proveniente del trazador (µg N g⁻¹ día⁻¹ o µg N m⁻² día⁻¹)

¹⁵Nm átomos % = ¹⁵N de la muestra de gas

¹⁵Na átomos % = ¹⁵N en la atmósfera (0,3663 %)

¹⁵Nt átomos % = ¹⁵N del trazador (98 %); y

Ne = Nitrógeno emitido en forma de N₂O (µg N g⁻¹ suelo día⁻¹ o µg N m⁻² día⁻¹).

Análisis de los datos

Las variables consideradas para el presente trabajo se dividieron en tres secciones que se presentarán en los resultados como se muestra en el Cuadro 2. En la primera sección, los factores que se consideraron para el análisis fueron la adición y el tiempo. La adición contó con tres tratamientos: sustancias adicionadas ¹⁵KNO₃ (+ ¹⁵NO₃) y ¹⁵NH₄Cl (+ ¹⁵NH₄), y el

agua como Testigo (T). El factor tiempo incluyó tres momentos de cosecha: tiempo 30 minutos (Inicial), tiempo 1 día (1d) y tiempo 5 días (5d). En el caso de los flujos de lixiviación de N inorgánico no se contempla el factor tiempo debido a que solo existen núcleos en el último día. Para las emisiones de gases el factor tiempo se consideró como el tiempo de toma de gases (al 1º y al 5º día).

En la segunda sección se analizó la abundancia natural de ^{15}N de los compartimentos (suelo, planta, lixiviados y liberación de N_2O) en las muestras testigo, como se mencionó en los métodos. Por lo tanto, se analizó el efecto del tiempo en la abundancia natural de los compartimentos, con excepción de los lixiviados.

En la tercera sección se presentan los resultados del trazador ^{15}N , las variables se dividieron en la recuperación de isótopo y las tasas y flujos calculados apartir de la adición del isótopo. En el caso de la recuperación de isótopo se analizaron los factores tiempo y adición, con excepción de los lixiviados. Las tasas de mineralización y nitrificación, el consumo, el tiempo medio de residencia y la liberación de gases se calcularon en el primer y último día después de la adición. En estas variables no existe el factor adición porque la adición de $^{15}\text{NH}_4^+$ y $^{15}\text{NO}_3$ es específica para el cálculo de la variable. En la toma de ^{15}N por parte de la vegetación se contempló el tipo de enriquecimiento ($+^{15}\text{NO}_3$ y $+^{15}\text{NH}_4$) y el tiempo (1 y 5 días). Únicamente la lixiviación de $^{15}\text{NO}_3$ se analizó por el tipo de adición o enriquecimiento del isótopo.

Para corroborar que los datos cumplieran con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza se sometieron a las pruebas estadísticas de Shapiro y de Levene, respectivamente. En los casos en que los datos no cumplieran al menos con alguno de estos supuestos, se realizó un análisis de Kruskal Wallis evaluando el efecto de los factores (adición y tiempo) y la combinación de estos (Zar 1999). Se realizó una prueba *Pos Hoc* Tukey para encontrar diferencias significativas entre los tratamientos. Todas las pruebas estadísticas se analizaron con el programa R versión 3.0.2 2013 (R *Development Core Team* 2011).

Cuadro 2. Variables y factores considerados en este trabajo.

Variables	Factores	
	Adición	Tiempo
1. Concentración y flujos de N		
1.1. N total en el suelo ($\mu\text{g N g}^{-1}$)		
NH_4^+ en el suelo ($\mu\text{g N g}^{-1}$)		
NO_3^- en el suelo ($\mu\text{g N g}^{-1}$)	T, + $^{15}\text{NO}_3$, + $^{15}\text{NH}_4$	Inicial, 1d, 5d
N en la biomasa microbiana en el suelo ($\mu\text{g N g}^{-1}$)		
N en raíces finas ($\mu\text{g N g}^{-1}$)		
Flujo de N por lixiviación de NH_4^+ ($\mu\text{g N cm}^{-2} \text{d}^{-1}$)		
Flujo de N por lixiviación de NO_3^- ($\mu\text{g N cm}^{-2} \text{d}^{-1}$)	T, + $^{15}\text{NO}_3$, + $^{15}\text{NH}_4$	
Liberación de N_2O desde el suelo ($\text{ng N cm}^{-2} \text{d}^{-1}$)	T, + $^{15}\text{NO}_3$, + $^{15}\text{NH}_4$	1d, 5d
2. Abundancia natural de ^{15}N		
$\delta^{15}\text{N}$ total en el suelo		Inicial, 5d
$\delta^{15}\text{NH}_4^+$ en el suelo		
$\delta^{15}\text{NO}_3^-$ en el suelo		Inicial, 1d, 5d
$\delta^{15}\text{N}$ en las raíces finas		
$\delta^{15}\text{NH}_4^+$ en los lixiviados del suelo		
$\delta^{15}\text{NO}_3^-$ en los lixiviados del suelo		
$\delta^{15}\text{N}_2\text{O}$		1d, 5d
3. Destinos del trazador ^{15}N adicionado		
3.1. Recuperación del isótopo adicionado (en % del ^{15}N adicionado)		
$^{15}\text{NH}_4^+$ en el suelo		
$^{15}\text{NO}_3^-$ en el suelo	+ $^{15}\text{NO}_3$, + $^{15}\text{NH}_4$	Inicial, 1d, 5d
^{15}N en las raíces finas		
$^{15}\text{NH}_4^+$ en los lixiviados del suelo		
$^{15}\text{NO}_3^-$ en los lixiviados del suelo	+ $^{15}\text{NO}_3$, + $^{15}\text{NH}_4$	
$^{15}\text{N}_2\text{O}$ en muestras de gases	+ $^{15}\text{NO}_3$, + $^{15}\text{NH}_4$	1d, 5d
3.2 Tasas y flujos de N en el sistema suelo (0-10 cm de profundidad)		
Mineralización bruta de N ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{d}^{-1}$)		
Consumo de NH_4^+ ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{d}^{-1}$)		
Tiempo medio de residencia del NH_4^+ (d)		1d, 5d
Nitrificación bruta de N ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{d}^{-1}$)		
Consumo de NO_3^- ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{d}^{-1}$)		
Tiempo medio de residencia de NO_3^- (d)		
N tomado por parte de la vegetación ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{d}^{-1}$)	+ $^{15}\text{NO}_3$, + $^{15}\text{NH}_4$	1d, 5d
Lixiviación de NH_4^+ ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{d}^{-1}$)		
Lixiviación de NO_3^- ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{d}^{-1}$)		
Liberación de N_2O desde el suelo ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{d}^{-1}$)		1d, 5d

Resultados

Condiciones iniciales

En este apartado se presentan las concentraciones de N en el suelo y en la vegetación (raíces finas), y las tasas de pérdidas de N desde el sistema de estudio, previamente al ensayo de adición. Las condiciones iniciales se obtuvieron mediante el muestreo de un subgrupo de cilindros testigo en el muestreo del tiempo inicial (ver segunda columna en los **Cuadros 3 a 6**).

Los suelos del sitio estudiado son ricos en N, como lo indica la concentración de N total. La concentración de NBM se mantiene en rangos de 30 a 50 $\mu\text{g N g}^{-1}$ suelo seco. Las concentraciones de NH_4^+ son más altas que las de NO_3^- , y por lo tanto la relación entre ambas formas de N inorgánico se mantiene en valores menores a uno. El N inorgánico y el N de la biomasa microbiana representan $\sim 2\%$ del N total en el suelo (**Cuadro 3**).

Al sustraer las raíces finas (diámetro $\leq 2\text{mm}$) de las parcelas en el mes de octubre de 2011, antes de la instalación de los núcleos, la biomasa de las raíces finas fue de $331.20 \pm 13.40 \text{ g m}^{-2}$. Dos años después de montar los núcleos, la biomasa de las raíces fue de $185 \pm 8.61 \text{ g m}^{-2}$, lo que representó el 55% de la biomasa original en el sitio, en algunos núcleos se alcanzó el 100% de biomasa original.

En la segunda columna del **Cuadro 4** se presentan las concentraciones de N en las raíces finas al inicio del experimento. El almacén de N en raíces tiene un coeficiente de variación del 60%. En los grupos testigo, la lixiviación de NO_3^- fue aproximadamente un orden de magnitud mayor que la de NH_4^+ (**Cuadro 5**), ($H_{(1,68)} = 12.79$, $p < 0.001$). En el caso de las emisiones de N_2O al primer día del muestreo se presentó una alta variabilidad espacial (coeficiente de variación = 141%; **Cuadro 6**).

Cuadro 3. Concentración de nitrógeno total, nitrógeno en biomasa microbiana (NBM), amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-), y relación $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ en suelos (0-10 cm de profundidad). Los valores representan las medias \pm 1 E.E.

Adición	Testigo			$+^{15}\text{NO}_3$			$+^{15}\text{NH}_4$			
	Tiempo	Inicial	1 día	5 días	Inicial	1 día	5 días	Inicial	1 día	5 días
N total ($\mu\text{g N g}^{-1}$)		16.42a \pm 1.17	17.33a \pm 1.79	22a \pm 12.02	17.53a \pm 0.96	15.97a \pm 0.11	18.63a \pm 3.03	17.12a \pm 1.47	15.59a \pm 1.09	17.12a \pm 0.7
NBM ($\mu\text{g N g}^{-1}$)		69.34ab \pm 21.29	117.67b \pm 62.68	93.03b \pm 30.26	160.85ab \pm 35.51	82.67ab \pm 16.76	980.84a \pm 218.42	227.58ab \pm 19.92	121.35ab \pm 21.13	1201.53a \pm 194.03
NH_4^+ ($\mu\text{g N g}^{-1}$)		26.27a \pm 1.09	25.94a \pm 1.92	37.72 ^a \pm 6.98	34.41a \pm 3.71	30.43a \pm 4.14	31.47a \pm 4.19	30.81a \pm 2.77	38.37a \pm 3.52	33.72a \pm 2.62
NO_3^- ($\mu\text{g N g}^{-1}$)		6.88a \pm 0.78	8.72a \pm 0.44	15.79a \pm 6.08	12.70a \pm 3.28	18.48a \pm 4.14	16.82a \pm 4.07	21.77a \pm 5.50	25.28a \pm 4.65	15.21a \pm 4.33
$\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$		0.27a \pm 0.03	0.35a \pm 0.03	0.34a \pm 0.07	0.41a \pm 0.09	0.62a \pm 0.11	0.49a \pm 0.07	0.67a \pm 0.16	0.60a \pm 0.10	0.39a \pm 0.10

Adición con isótopo n =18, testigo n =12

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el tipo los tratamientos. Prueba *pos hoc* Tukey.

Cuadro 4. Concentración de nitrógeno en raíces finas ($\leq 2\text{mm}$) en suelos (0- 10 cm de profundidad). Los valores representan las medias ± 1 E.E.

Adición <i>Tiempo</i>	Testigo			$+^{15}\text{NO}_3$			$+^{15}\text{NH}_4$		
	<i>Inicial</i>	<i>1 día</i>	<i>5 días</i>	<i>Inicial</i>	<i>1 día</i>	<i>5 días</i>	<i>Inicial</i>	<i>1 día</i>	<i>5 día</i>
N en raíces (mg N g^{-1})	14.70ab ± 0.88	15.79ab ± 0.78	16.88a ± 0.81	12.58b ± 0.42	13.19ab ± 0.69	14.17b ± 0.67	14.66ab ± 0.58	13.34b ± 0.60	15.54ab ± 0.70
N raíces (g N m^{-2})	2.36a ± 0.43	2.60a ± 0.45	2.61a ± 0.41	2.43a ± 0.24	2.36a ± 0.31	2.14a ± 0.27	2.66a ± 0.39	3.30a ± 0.51	3.15a ± 0.46

Adición con isótopo (n =18), testigo (n =12)

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. Prueba *Pos Hoc* Tukey

Cuadro 5. Flujo de amonio (NH_4^+) y de nitrato (NO_3^-) en lixiviados desde el suelo (0-10 cm de profundidad). Los valores representan las medias \pm 1 E.E.

	Testigo	+ $^{15}\text{NO}_3$	+ $^{15}\text{NH}_4$
NH_4^+ ($\mu\text{g N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$)	123.23a \pm 20.27	82.93a \pm 19.53	116.90a \pm 20.02
NO_3^- ($\mu\text{g N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$)	1171.31a \pm 77.51	803.03a \pm 107.51	988.83a \pm 169.72

Adición con isótopo (n =18), testigo (n =12)

Prueba no paramétrica Kruskal Wallis

Cuadro 6. Flujo de óxido nitroso N₂O liberado desde el suelo (0-10 cm de profundidad). Los valores representan las medias ± 1 E.E.

Adición	Testigo		+ ¹⁵ NO ₃		+ ¹⁵ NH ₄	
	<i>1 día</i>	<i>5 días</i>	<i>1 día</i>	<i>5 días</i>	<i>1 día</i>	<i>5 días</i>
N ₂ O (µg N m ⁻² d ⁻¹)	14.25a ± 14.23*	0.36a ± 0.13	6.38a ± 5.39	4.01a ± 1.14*	2.09a ± 0.76	2.24a ± 0.28

(n = 5, *n = 3)

Prueba no paramétrica Kruskal Wallis.

Efectos de la adición de ^{15}N en la dinámica del nitrógeno en el suelo

En esta sección se analizan los efectos de la adición del isótopo pesado de N (^{15}N) presente en el suelo. Los análisis estadísticos comparan el efecto de la adición de $^{15}\text{NO}_3$ ($^{15}\text{KNO}_3$) y el de la adición de $^{15}\text{NH}_4$ ($^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$), y los efectos del tiempo (inicial, al día 1 y al día 5).

Efectos de la adición en las concentraciones de nitrógeno total, amonio, nitrato y nitrógeno en la biomasa microbiana, y en la relación nitrato: amonio del suelo

La adición con ^{15}N no afectó significativamente ($p > 0.05$) las concentraciones de N total, NH_4^+ y NO_3^- en el suelo y tampoco la relación $\text{NO}_3:\text{NH}_4$ (**Cuadro 3**; las comparaciones estadísticas se incluyen en el Cuadro A2 del Anexo). En cambio, la inmovilización de N (i.e., la concentración de N en la biomasa microbiana: NBM) aumentó en aquellos suelos que recibieron $^{15}\text{NH}_4^+$ ($H_{(2,144)} = 22.63$, $p < 0.01$); (**Cuadro 3**). En general, las concentraciones de N en el suelo y la relación $\text{NO}_3:\text{NH}_4$ no variaron de forma significativa con el tiempo ($p > 0.05$), con la excepción de la concentración de NBM que aumentó a los 5 días ($H_{(2,144)} = 25.82$, $p < 0.01$). Al analizar la prueba *pos Hoc* Tukey entre las muestras de NBM se encontraron diferencias entre los suelos Testigo y los enriquecidos ($p < 0.05$), las concentraciones más altas se presentaron en los enriquecidos y aumentando en el último día (**Cuadro 2**).

Efectos de la adición en la concentración de nitrógeno en las raíces finas

La concentración de N en las raíces finas fue mayor en el grupo testigo que en aquellas que recibieron adición de ^{15}N ($H_{(2,144)} = 30.75$, $p < 0.01$). En general, las concentraciones fueron mayores en el día 5 ($H_{(2,144)} = 10.79$, $p < 0.01$) (**Cuadro 4**). Al realizar la prueba *pos hoc* Tukey se encontraron diferencias ($p < 0.05$) entre los suelos Testigo al final del experimento (día 5) y los que recibieron el isótopo (tanto en forma de $^{15}\text{NH}_4$ como en forma de $^{15}\text{NO}_3$) (**Cuadro 4**).

Cuando se analizó la masa de N en el compartimento de las raíces finas, es decir el producto de la concentración de N por la biomasa de raíces finas, no se presentaron cambios significativos con los tratamientos, ni con el tiempo ($p > 0.05$), (**Cuadro 4**; Cuadro A2).

Efectos de la adición en las pérdidas de nitrógeno por lixiviación de amonio y de nitrato desde el suelo

Independientemente del tratamiento (i.e., sustancia adicionada), la lixiviación de NO_3^- fue mayor que la de NH_4^+ ($H_{(1,34)} = 60.73$, $p < 0.01$), (**Cuadro 5**). Estas pérdidas de N mineral desde el sistema no variaron de forma significativa entre tratamientos ($p > 0.05$), (Cuadro A3).

Efectos de la adición en las pérdidas de nitrógeno por liberación de óxido nitroso desde el suelo a la atmósfera

Las pérdidas de N desde el sistema por liberación de gases presentaron una gran heterogeneidad espacial, principalmente en el primer día donde los coeficientes de variación fueron de 141% en el testigo, de 169 % en los núcleos que recibieron + $^{15}\text{NO}_3$ y de 73% en aquellos que recibieron + $^{15}\text{NH}_4$ (**Cuadro 6**; Cuadro A4). Dada esta gran variabilidad espacial, no se tuvieron efectos significativos de la adición en la liberación de N_2O desde el suelo a la atmósfera. Durante el experimento se observó que la liberación de gases desde los suelos testigo y de aquellos que recibieron + $^{15}\text{NO}_3$ tendían a disminuir con el tiempo, sin embargo, tomados en conjunto los tres tratamientos no se evidenció una variación temporal significativa ($p > 0.05$) (Cuadro A4).

Abundancia natural de ^{15}N

Los datos de la abundancia natural de ^{15}N se representan con el símbolo δ y en partes por mil (‰). Como se mencionó anteriormente el $\delta^{15}\text{N}$ representa la relación del cociente ^{15}N : ^{14}N en la muestra con aquella en el estándar (ver Ecuación 1).

La abundancia natural de ^{15}N en el suelo al inicio del experimento fue 7.23 ± 0.22 ‰ (media ± 1 error estándar). La abundancia natural de ^{15}N inorgánico en el suelo presentó contraste entre ambas formas inorgánicas; el valor de $\delta^{15}\text{NH}_4^+$ se encuentra enriquecido, mientras el valor $\delta^{15}\text{NO}_3^-$ está empobrecido. En el caso de las raíces finas presentaron valores positivos o de enriquecimiento en ^{15}N . En cuanto a las pérdidas, la abundancia natural de ^{15}N inorgánico lixiviado presentó valores negativos. Contrariamente, el $\delta^{15}\text{N}$ en las pérdidas por liberación de N_2O indicó enriquecimiento, sugiriendo que no existe la esperada discriminación del isótopo pesado durante la desnitrificación (**Cuadro 7**).

El valor del $\delta^{15}\text{N}$ -total y $\delta^{15}\text{NO}_3^-$ en el suelo, así como en el óxido nitroso no variaron con el tiempo ($p > 0.05$) (Cuadro A5). En cambio, el tiempo afectó significativamente la abundancia natural de $^{15}\text{NH}_4^+$ ($H_{(1,30)} = 8.85$, $p < 0.05$) y la de ^{15}N en las raíces finas ($H_{(1,10)} = 6.81$, $p < 0.05$) (Cuadro A5). El $^{15}\text{NH}_4^+$ se enriqueció al final del experimento; mientras que ^{15}N en las raíces finas disminuyó con el tiempo (**Cuadro 7**).

Cuadro 7. Abundancia natural de ^{15}N en el nitrógeno total e inorgánico presentes en el suelo, en las raíces finas ($\leq 2\text{mm}$ de diámetro), en los lixiviados (como amonio NH_4^+ y nitrato NO_3^-), y en la liberación de óxido nitroso (N_2O) desde el suelo (0-10 cm de profundidad) en los núcleos testigo. Los valores representan las medias ± 1 E.E.

<i>Tiempo</i>	<i>Inicial</i>	<i>1 día</i>	<i>5 días</i>
Suelo			
$\delta^{15}\text{N}$ Total	7.73a \pm 0.22		7.38a \pm 0.22
$\delta^{15}\text{NH}_4^+$ (‰)	10.89b \pm 2.07	11.33ab \pm 3.80	21.68a \pm 5.82
$\delta^{15}\text{NO}_3^-$ (‰)	-16.57a \pm 3.42	-16.22a \pm 2.86	-12.54a \pm 1.40
$\delta^{15}\text{N}$ en raíces (‰)	4.95a \pm 0.70	3.72ab \pm 0.58	2.76b \pm 0.49
Lixiviados			
$\delta^{15}\text{NH}_4^+$ (‰)			0.59 \pm 0.92
$\delta^{15}\text{NO}_3^-$ (‰)			-1.18 \pm 0.90
Gas			
$\delta^{15}\text{N}_2\text{O}$ (‰)		4.89a \pm 0.06	5.21a \pm 0.08
(n=10)			

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) en el tiempo. Prueba *pos hoc* Tukey.

Destinos y flujos del ^{15}N al emplear el trazador isotópico

Recuperación del ^{15}N adicionado

En el **Figura 6** se observa la recuperación de ^{15}N (en porcentaje) de cada uno de los compartimentos analizados (suelo, raíces, lixiviados, ver Cuadro A6). Al sumar los porcentajes se obtuvo la recuperación promedio por día. En ambos tratamientos, $+^{15}\text{NO}_3$ y $+^{15}\text{NH}_4$, la recuperación al inicio de la adición fue muy baja variando de 8 a 24%, y al final del experimento se incrementó a 30% con $+^{15}\text{NO}_3$ y a 56 % con $+^{15}\text{NH}_4$. Del 100% de ^{15}N adicionado solo el 4% enriqueció el almacén de $^{15}\text{NH}_4^+$ y una fracción de alrededor del 2% se mantuvo como N mineral en el compartimento del $^{15}\text{NO}_3^-$. En general la recuperación de $^{15}\text{N}_2\text{O}$ fue menor de 0.01% por lo que se presenta en Cuadro A6 del Anexo.

Al analizar por compartimento se encontró que la vegetación retuvo al menos entre 15 y 40% del ^{15}N adicionado con $+^{15}\text{NO}_3$ y $+^{15}\text{NH}_4$ respectivamente; su participación podría ser mayor porque no se cuantificó el ^{15}N en otros órganos de forma que se carece de determinaciones respecto a la traslocación de ^{15}N desde las raíces al tallo, ramas y hojas. El suelo mineral no retuvo gran cantidad (menos del 10%) del ^{15}N .

Una importante fracción del ^{15}N que ingresó al suelo (entre 15 y 20%) se recuperó en forma de $^{15}\text{NO}_3^-$ disuelto. Mientras que una menor fracción, menos del 0.001 %, se recuperó como $^{15}\text{N}_2\text{O}$. El tipo de adición con ^{15}N tuvo un efecto significativo en la recuperación, en el $^{15}\text{NH}_4^+$ en el suelo ($H_{(1,72)} = 21.39$, $p < 0.001$), el ^{15}N contenido en raíces ($H_{(1,72)} = 26.39$, $p < 0.001$), y el $^{15}\text{NO}_3^-$ lixiviado ($H_{(1,24)} = 14.28$, $p < 0.001$); mientras que el ^{15}N recuperado en forma de $^{15}\text{NO}_3^-$ en el suelo varió con el tiempo ($H_{(2,72)} = 13.96$, $p < 0.001$) y el ^{15}N en raíz ($H_{(2,72)} = 15.13$, $p < 0.001$) (Cuadro A7). En el caso de la liberación de óxido nitroso el tipo de adición $^{15}\text{NH}_4^+$ aumentó con la recuperación del ^{15}N adicionado ($H_{(1,20)} = 26.39$, $p < 0.001$); la combinación entre tiempo y enriquecimiento no fue significativa ($p > 0.05$), (Cuadro A7).

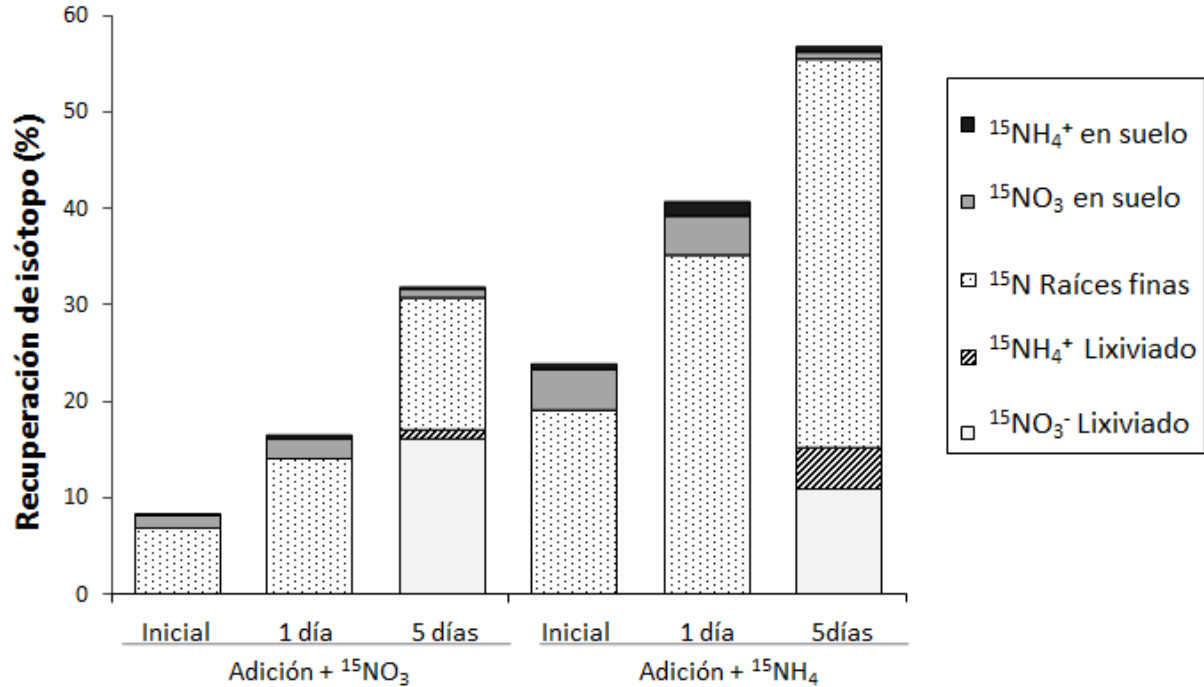


Figura 6. Variación temporal en la recuperación del ¹⁵N adicionado (en %). Profundidad del suelo de 0-10 cm. El ¹⁵N recuperado en la liberación de N₂O no se presenta porque su contribución fue despreciable (ver Cuadro A6). Los cuadros representan las medias ± 1 E.E. (n=12).

Tasas brutas de mineralización de nitrógeno y de nitrificación

Los resultados de la tasa bruta de mineralización de N (TMN) y de nitrificación (TN), el consumo de N inorgánico y su tiempo medio de residencia (TMR) para el primer y quinto día del experimento se muestran en el **Cuadro 8**. La TMN disminuyó significativamente con el tiempo en 81% entre el día 1 y el día 5 ($H_{(1,18)} = 7.74$, $p < 0.05$). En contraste, la TN no varió con el tiempo ($p > 0.05$, ver Cuadro A8), la cantidad de N nitrificado fue el mismo en ambos tiempos. La comparación de ambas tasas indica que mientras que el 40% del N mineralizado al día 1 se nitrificó, en los suelos con mayor tiempo de incubación, el N mineralizado fue totalmente nitrificado al día 5 (**Cuadro 8**). El consumo de ¹⁵NH₄⁺ (valores

en $\mu\text{gN g}^{-1} \text{ d}^{-1}$) que pudo ser inmovilizado por raíces y/o por la biomasa microbiana del suelo disminuyó con el tiempo ($H_{(1,18)} = 4.68$, $p < 0.05$). En cambio, el tiempo no tuvo efecto significativo ($p > 0.05$) en el consumo de $^{15}\text{NO}_3^-$ (**Cuadro 8**). El TMR en días varió entre formas inorgánicas, siendo entre 3 y 4 veces mayor para el $^{15}\text{NH}_4^+$ que para el $^{15}\text{NO}_3^-$ (**Cuadro 8**), pero no varió entre el tiempo ($p > 0.05$, ver Cuadro A8).

Toma de ^{15}N adicionado por parte de la vegetación

El exceso de ^{15}N en las raíces finas fue entre dos y tres órdenes de magnitud mayor en los suelos que recibieron ^{15}N respecto al testigo (**Cuadro 8**; Cuadro A8). Como se mencionó anteriormente con estos datos se calculó la cantidad de $^{15}\text{NH}_4^+$ y $^{15}\text{NO}_3^-$ tomado por las raíces (ver Ecuación 9). En la **Figura 7** se observa que al inicio del experimento las raíces tomaron más N en comparación al último día, sin importar la adición. Al analizar el efecto de la adición se observó que este no tuvo efecto en la toma de N de las raíces ($p > 0.05$, ver Cuadro A8), es decir, la cantidad de N tomada por las raíces es la misma entre las formas inorgánicas. Mientras que el factor tiempo sí es significativo ($H_{(1,36)} = 4.46$, $p < 0.05$). Al realizar la prueba de *pos hoc* de Tukey solo se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la adición de + $^{15}\text{NO}_3$ al quinto día y la + $^{15}\text{NH}_4$ del primer día.

Cuadro 8. Ciclo del nitrógeno en el suelo (0-10 cm de profundidad) con base en las mediciones de ^{15}N adicionado realizadas en al día uno y al día cinco. Los valores representan las medias \pm 1 E.E.

Flujos	1 día	5 días
Mineralización de N ($\mu\text{g } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	19.56a \pm 3.99	3.70b \pm 0.76
Nitrificación ($\mu\text{g } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	7.93a \pm 1.59	3.71a \pm 2.91
Consumo de NH_4^+ ($\mu\text{g } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	23.41a \pm 9.02	5.15b \pm 2.68
Consumo de NO_3^- ($\mu\text{g } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	22.49a \pm 11.66	12.02a \pm 5.71
Tiempo de residencia del NH_4^+ en el suelo (días)	2.13a \pm 1.06	4.76a \pm 3.82
Tiempo de residencia de NO_3^- en el suelo (días)	0.53a \pm 0.80	1.89a \pm 1.30
N tomado por las raíces bajo adición de + $^{15}\text{NO}_3$ ($\mu\text{g } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	224a \pm 61	76b \pm 22
N tomado por las raíces bajo adición de + $^{15}\text{NH}_4$ ($\mu\text{g } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	252a \pm 70	177a \pm 51
Lixiviación de $^{15}\text{NO}_3^-$ bajo adición de + $^{15}\text{NO}_3$ ($\mu\text{g } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$)		1.19 \pm 0.12
Lixiviación de $^{15}\text{NO}_3^-$ bajo adición de + $^{15}\text{NH}_4$ ($\mu\text{g } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$)		1.70 \pm 0.23
Lixiviación de $^{15}\text{NH}_4^+$ bajo adición de + $^{15}\text{NH}_4$ ($\mu\text{g } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$)		0.89 \pm 0.44
Liberación de $^{15}\text{N}_2\text{O}$ bajo adición de + $^{15}\text{NO}_3$ ($\mu\text{g } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$)*	1.39e-04a \pm 0.41e-04	1.02e-03a \pm 0.61 e-03
Liberación de $^{15}\text{N}_2\text{O}$ bajo adición de + $^{15}\text{NH}_4$ ($\mu\text{g } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$)*	1.72e-04a \pm 0.52e-04	2.92e-04a \pm 1.29e-03

(n=9, *n=5)

Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05) en el tiempo. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis.

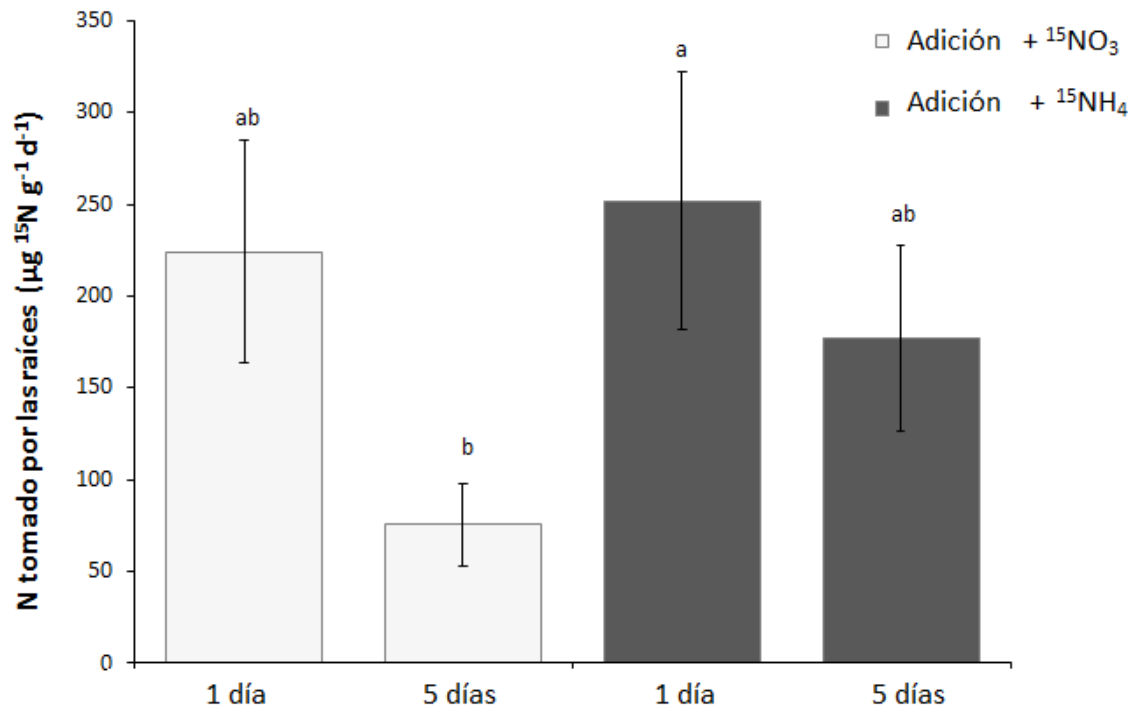


Figura 7. Variación temporal en la toma de N por parte de las raíces bajo dos tipos de adición. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para la prueba *pos hoc* Tukey.

Pérdidas de nitrógeno por lixiviación del suelo y por liberación de N₂O calculadas con base en la adición de ¹⁵N

Al calcular las tasas de lixiviación de amonio y de nitrato del trazador ¹⁵N se observaron que presentan los mismos rangos (1 a 2 µg N g⁻¹ d⁻¹). Este resultado es mayor al calculado para el N lixiviado durante dos años (2 y 19 ng N g⁻¹ d⁻¹ para ¹⁵NO₃⁻ y ¹⁵NH₄⁺, respectivamente) (**Cuadro 5 y 9**).

La adición con + ¹⁵NO₃ no tuvo efecto significativo en la tasa de lixiviación de ¹⁵NH₄⁺ y ¹⁵NO₃⁻ (p >0.05, ver Cuadro A8). Para el caso del amonio lixiviado solamente se calculó con la adición de + ¹⁵NH₄ (**Cuadro 9** y Cuadro A8). El coeficiente de variación para la tasa de lixiviación de ¹⁵NO₃⁻ y ¹⁵NH₄⁺ fue del 30 y 160%, respectivamente.

En todas las muestras la liberación de óxido nitroso ¹⁵N₂O durante el muestreo fue menor de 1 ng N g⁻¹ d⁻¹ (**Cuadro 9**). Como se mencionó anteriormente la recuperación del isótopo fue menor al 0.01% (Cuadro A6) y los valores del δ ¹⁵N al adicionar el isótopo son similares a la abundancia natural de ¹⁵N (ver **Cuadro 7** y Cuadro A1), por lo que no se detectó un exceso de ¹⁵N en el óxido nitroso. En el caso de la liberación de gases el coeficiente de variación se encuentra en rangos de 120 a 190%. Dada esta gran variabilidad espacial, no se comprobaron efectos significativos de adición y del tiempo de muestreo en la liberación de ¹⁵N₂O (p >0.05, ver Cuadro A8).

Discusión

Características del ciclo del nitrógeno en el bosque tropical seco de Yucatán

La **Figura 8** representa una síntesis de los resultados obtenidos para los suelos testigo y que nos indican las características iniciales del N (sin adición de isótopo) en el BTS; integrando resultados de otros estudios en la zona de Tzucacab.

El N mineral y la biomasa microbiana representan solo el 2 % del N total del suelo en el BTS de Tzucacab (**Figura 8**). El 98% del total de N se encuentra asociado a la materia orgánica del suelo. El contenido de NH_4^+ al ser cuatro veces más alto que el NO_3^- , indica que procesos como la mineralización siguen transformando el N orgánico durante la temporada tardía de lluvia (Saynes *et al.* 2005). El contenido de NO_3^- en suelo y en lixiviados, y la baja liberación de N_2O determinaron que cerca del 50% de NO_3^- producido por nitrificación se pierda mayormente por lixiviación. Se debe tomar en cuenta que la precipitación del año en que se realizó el experimento (2013), superó la precipitación histórica (ver **Figura 4**). El mes de septiembre se registró con la máximas precipitaciones clasificándolo como el más más húmedo (CONAGUA, 2013), debido a los ciclones tropicales que se presentaron durante ese año. Por lo tanto el porcentaje de N lixiviado podría estar relacionado a la cantidad de la cantidad de lluvia.

A pesar de esto la cantidad de N perdido es baja, ya que representa solamente el 2% del N que ingresa al suelo cada año asociado a la hojarasca (ver Campo, 2016). En el sitio de estudio la descomposición del mantillo es muy rápida (alrededor de 1 año) (Campo y Merino 2016). Sin embargo, el N es retenido por el suelo y por la biota (vegetación y biomasa microbiana; **Figura 8**), impidiendo que una fracción mayor de N sea exportada del ecosistema, considerándose como un sistema cerrado, en el cual las salidas son limitadas (Chapin *et al.* 2011).

Las magnitudes de N en el suelo, biomasa microbiana y raíces obtenidos en el presente estudio son similares a las encontradas en otros BTS primarios y secundarios, muestreados

en temporada de lluvias para el suelo superficial (primeros 10 cm del perfil); (ver **Cuadro 9**).

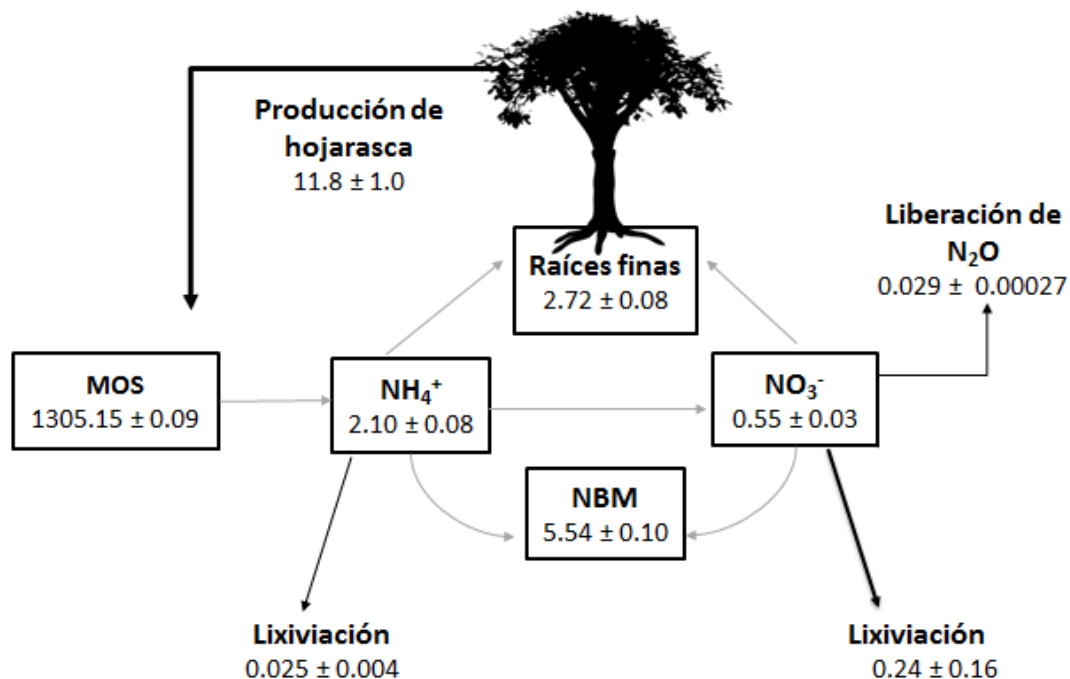


Figura 8. Almacenes y flujos del nitrógeno analizados al inicio del experimento (en tiempo *inicial*). Los almacenes de nitrógeno se indican con cuadros y están dados en unidades de masa por superficie (g N por m²). Los flujos de nitrógeno se indican con flechas sólidas y están dados en unidades de masa por superficie por tiempo (g N por m² por año⁻¹). Las flechas punteadas indican los flujos que no fueron calculados en el testigo. La hojarasca ha sido tomada de Campo (2016). Todos los valores representan las medias ± 1 E.E.

Cuadro 9. Concentración de nitrógeno en el suelo, la biomasa microbiana y las raíces finas, en bosques tropicales secos (lluvia total \leq 2,000 mm por año) y húmedos (lluvia total $>$ 2,000 mm por año). Los valores representan los mínimos y máximos reportados.

	Presente estudio	Tzucacab Yucatán	Bosques tropicales secos Yucatán	Otros Bosques tropicales secos	Bosques tropicales húmedos
Biomasa de raíces finas (Mg ha ⁻¹)	2 - 3	2 - 5 ^a	3 - 6 ^a	1 - 5 ^{b,c}	2 ^d
N total (mg N g ⁻¹)	15 - 24	4 - 220 ^{e,h}	1 - 30 ^{e,h}	0.2 - 19 ^{i-k}	1 - 3 ^{l,m}
N en biomasa microbiana (μg N g ⁻¹)	50 - 120	110 ^f	98 - 400 ^{f,n}	10 - 2150 ^{ij}	
NH ₄ ⁺ (μg N g ⁻¹)	25 - 40	10 - 32 ^{e,f}	34 - 50 ^{c,f}	3 - 240 ^{ij,o,p}	4 - 10 ^{l,m}
NO ₃ ⁻ (μg N g ⁻¹)	8 - 27	10 - 47 ^{e,f}	73 - 100 ^{c,f}	1 - 46 ^{i,j,o,p}	1 - 13 ^{l,m}
N en raíces finas (mg N g ⁻¹)	12-15	10 - 20 ^h	10-30 ^{h,q}	5 ^r	10 ^r

a) Roa-Fuentes *et al.* 2013, b) Castellanos *et al.* 1991, c) Jaramillo *et al.* 2003, d) Templer *et al.* 2008, e) Cuevas *et al.* 2013, f) Bejarano *et al.* 2014a, g) Roa-Fuentes *et al.* 2015, h) Rivero-Villar (datos no publicados), i) Montaña *et al.* 2007, j) Anaya *et al.* 2007, k) Pan *et al.* 2008, l) Wang *et al.* 2014, m) Fang *et al.* 2015, n) Ortega 2014, o) Fang *et al.* 2009a, p) Koehler *et al.* 2012, q) Hasselquist *et al.* 2010, r) Yuan *et al.* 2011

La abundancia natural de N en el suelo y las raíces tienen valores positivos lo que en un principio indica que están enriquecidos en ^{15}N (**Figura 9**), debido a grandes pérdidas del N en forma de gases (como NH_3 , NO , N_2O y N_2 ; ver Mariotti *et al.* 1999, Houlton y Bai 2009), provocando el empobrecimiento de $\delta^{15}\text{N}_2\text{O}$. Otros estudios indican que la discriminación de las bacterias desnitrificantes da como resultado valores de sustrato ($^{15}\text{NO}_3^-$) enriquecidos, quedando el producto ($^{15}\text{N}_2\text{O}$) empobrecido (Mariotti *et al.* 1981, Houlton *et al.* 2006), como se presenta en muchos bosques tropicales (**Cuadro 10**). En los resultados obtenidos en este estudio los valores de $\delta^{15}\text{NO}_3^-$ y $\delta^{15}\text{N}_2\text{O}$ no evidencian una alta pérdida por desnitrificación (**Figura 9** y **Cuadro 10**). Por otro lado, en el presente estudio la abundancia natural de ^{15}N en NO_3^- y ^{15}N en NH_4^+ , así como el aumento de este último, indican una alta participación de los microorganismos nitrificantes (de acuerdo con Mariotti *et al.* 1981, Högberg 1997), lo que explicaría el empobrecimiento de NO_3^- .

Los valores de $\delta^{15}\text{NO}_3^-$ en lixiviados se encuentran más empobrecidos que en otros bosques tropicales secos, por lo tanto este resultado es un indicador de que en este bosque presenta una alta lixiviación, y que probablemente los rangos de $\delta^{15}\text{NO}_3^-$ están más relacionados con bosques húmedos, en estos ecosistemas las pérdidas por lixiviación son más altas que por desnitrificación (**Cuadro 10**).

Los resultados de abundancia natural del isótopo ^{15}N al igual que los de concentración de N en el suelo, raíces, lixiviados y óxido nitroso indican que el ecosistema conserva el elemento en el ciclo interno o en sistema planta-suelo, es decir, las plantas y los procesos en el suelo mantienen el nutriente limitando su salida del sistema, considerándolo como un sistema cerrado (Chapin *et al.* 2011). Consistente con este resultado, la abundancia natural de ^{15}N en el suelo, las raíces, las hojas y la concentración de N en lixiviados y en gases del mismo bosque demostraron que las pérdidas de N son de menor magnitud que en otro bosque de Yucatán (Rivero-Villar *datos no publicados*) que recibe menos lluvia y tiene una mayor concentración de N en el suelo (Rivero-Villar *et al.* 2018).

Finalmente, el bajo enriquecimiento de ^{15}N en la liberación de N_2O sugiere una completa desnitrificación a N_2 , como ha sido observado en otros bosques tropicales (Koba *et al.* 2012).

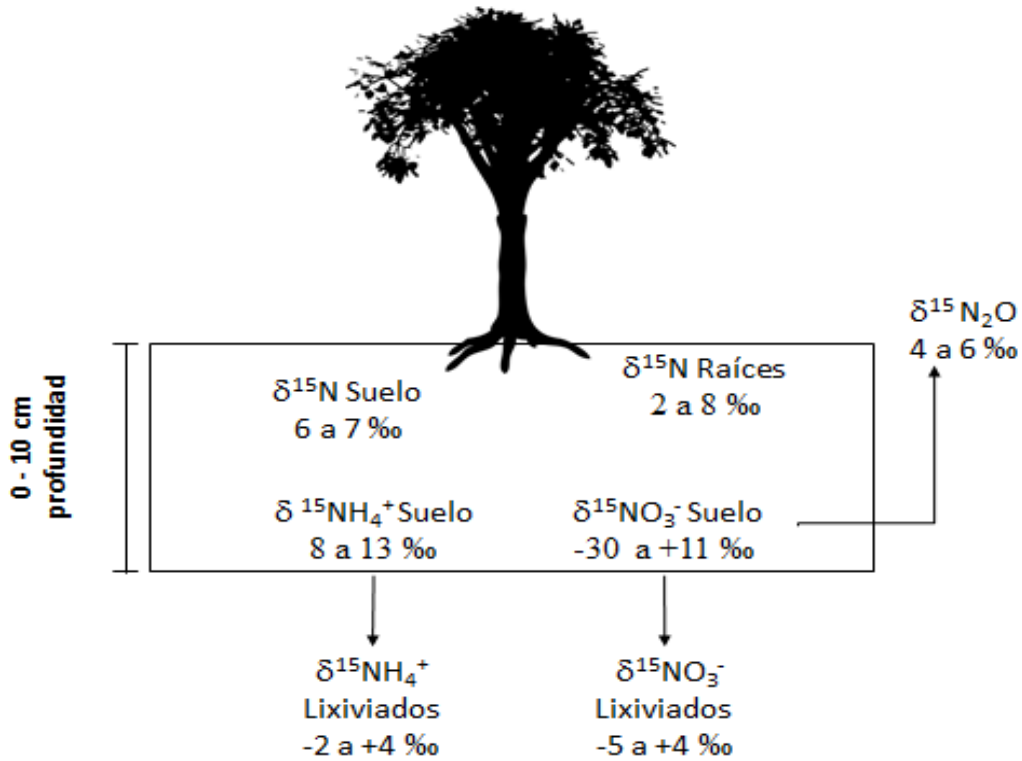


Figura 9. Rangos de la abundancia natural de ^{15}N en los distintos compartimentos analizados en el experimento. Los valores de abundancia representan los rangos obtenidos en las muestras.

Cuadro 10. Abundancia natural de ^{15}N en el suelo, raíces finas, lixiviados y en la liberación de N_2O desde el suelo de bosques tropicales secos (lluvia total $\leq 2,000$ mm por año) y húmedos (lluvia total $> 2,000$ mm por año). Los valores representan los mínimos y máximos reportados.

Abundancia natural $\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Presente estudio	Tzucacab, Yucatán	Bosques tropicales secos de Yucatán	Otros Bosques tropicales secos	Bosques tropicales húmedos
<i>Suelo</i>					
^{15}N Total	6 a 7	2 a 6 ^{a,b}	2 a 8 ^{a,b,c}	-0.5 a +9 ^{d-f}	0.9 a 10 ^{g,j}
$^{15}\text{NH}_4^+$	8 a 13			6 a 15 ^{e,k}	-0.7 a +8 ^l
$^{15}\text{NO}_3^-$	-30 a +11			1 a 7 ^{e,k}	-9 a +11 ^{h-j,l-n}
Raíces	2 a 8	-1 a +3 ^b	-1 a +5 ^{b,c}	-1 a +1 ^b	-2 a +0.6 ^f
<i>Lixiviados</i>					
$^{15}\text{NH}_4^+$	-2 a +4			-7 a +9 ^{e,o}	
$^{15}\text{NO}_3^-$	-5 a +4			1 a 6 ^{e,o}	-2 a +8 ^{j,n}
$^{15}\text{N}_2\text{O}$	4 a 6			-14 a +7 ^{e,k}	-34 a +2 ^m

a) Roa-Fuentes *et al.* 2015, b) Rivero-Villar *et al.* 2018, c) Huasselquist *et al.* 2010, d) Pan *et al.* 2008, e) Koba *et al.* 2012, f) Zhao *et al.* 2015, g) Amudson *et al.* 2003, h) Thilo *et al.* 2011, i) Wang *et al.* 2014, j) Fang *et al.* 2015, k) Koehler *et al.* 2012, l) Houlton *et al.* 2007, m) Pérez *et al.* 2000, n) Houlton *et al.* 2006, o) Brandes *et al.* 1996.

Retención y pérdidas del nitrógeno que ingresa al ecosistema

Al emplear un trazador isotópico las respuestas del ecosistema a su ingreso al suelo pueden ser inmediatas; por ejemplo, el nutriente puede ser inmovilizado por la biomasa microbiana del suelo, tomado por parte de la vegetación, adsorbido al complejo de intercambio del suelo, o perdido del sistema por vía de lixiviación o desnitrificación. En experimentos con adición de ^{15}N un porcentaje alto del isótopo añadido puede ser retenido en el ecosistema (Corre *et al.* 2010, Templer *et al.* 2012). El presente experimento demostró cambios en la abundancia natural del ^{15}N inorgánico y de ^{15}N en raíces finas a los 30 minutos de aplicado, obteniéndose de 30 a 60% de recuperación de la cantidad de isótopo añadido al final del experimento (5 días). Este rango de valores se encuentra por debajo de la recuperación promedio del isótopo en experimentos de adición con mayores lapsos de tiempo (~ 80% de recuperación en 7 días; Templer 2005, Sotta *et al.* 2008). Considerando que en el experimento no se determinó la participación de la biomasa microbiana del suelo en la retención del ^{15}N que ingresa al suelo (un partícipe importante en la dinámica del N en el suelo; Gurmesa *et al.* 2016), los resultados sugieren que la inmovilización del N por parte de microorganismos pudiera ser el destino de gran parte del ^{15}N no recuperado (es decir, la respuesta inmediata principal al ingreso del N). Cabe resaltar que la retención medida en éste estudio corresponde a aquella que ocurre en la rizósfera, donde participa también la biomasa microbiana asociada a la misma. Por otra parte, la retención del isótopo por parte de las plantas, en este estudio, es probablemente, una subestimación de la misma al no considerar la traslocación del ^{15}N desde las raíces a otros órganos de las plantas. Es decir, las medidas de ^{15}N en las raíces finas de la vegetación que fueron obtenidas para el día 1 y el día 5, indican que al menos esa abundancia del ^{15}N agregado al sistema fue absorbido por parte de la vegetación, pudiendo ser esta toma, probablemente, mayor a la estimada.

En la **Figura 10** se muestra las tasas y flujos del N al adicionar el isótopo, considerando el promedio de los dos días muestreados (**Cuadro 8**), y comparando con otros bosques tropicales (**Cuadro 11**), mientras que en la **Figura 11** se presentan los almacenes y flujos estimados en el presente estudio y considerando otros estudios realizados en Tzucacab.

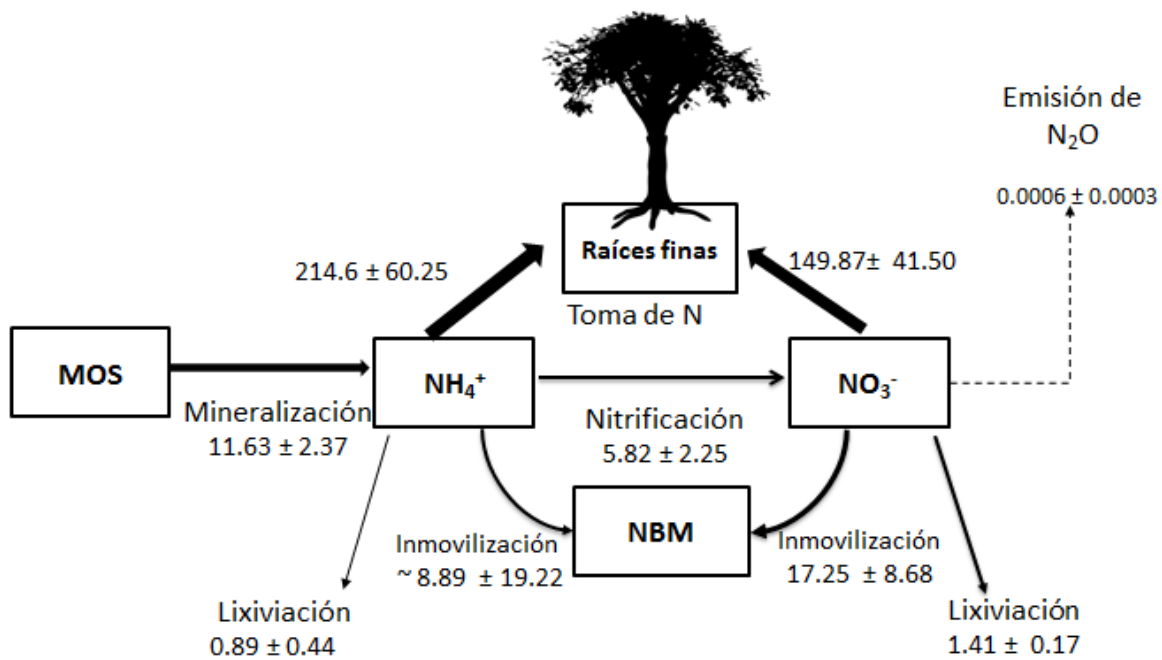


Figura 10. Flujos de nitrógeno analizados en el experimento con ^{15}N . Los almacenes de nitrógeno se indican con cuadros, y están dados en g N por gramo de suelo. Los flujos de nitrógeno se indican con flechas, y están dados en $\mu\text{g N}$ por g de suelo seco por día ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{d}^{-1}$). La inmovilización de $^{15}\text{NH}_4^+$ es el consumo total de nitrógeno menos la nitrificación total. Los valores representan las medias ± 1 E.E.

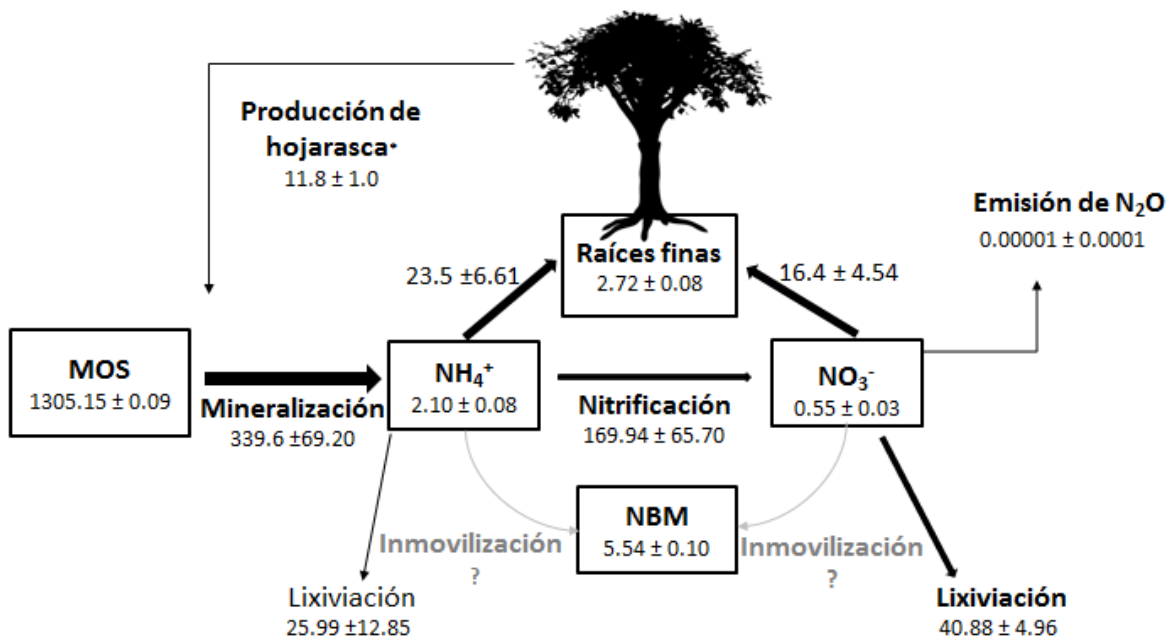


Figura 11. Almacenes y flujos de nitrógeno analizados en tiempo inicial del experimento. Los cuadros en negro representan los almacenes de nitrógeno en g N m⁻², las flechas representan las tasas de transformación bruta y la lixiviación de nitrógeno en g N m⁻² año⁻¹. Los valores representan las medias ± 1E.E. Los valores de inmovilización reales no se calcularon para el presente estudio.

Cuadro 11. Mineralización bruta de nitrógeno y nitrificación bruta, lixiviación de nitrógeno y liberación de óxido nitroso en bosques tropicales secos (lluvia total $\leq 2,000$ mm por año) y húmedos (lluvia total $> 2,000$ mm por año). Se presenta el rango con base en los valores mínimos y máximos reportados.

	Presente estudio	Tzucacab Yucatán	Bosques tropicales secos de Yucatán	Otros bosques tropicales secos	Bosques tropicales húmedos
Mineralización bruta ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	12			8 - 18 ^{a-c}	2 - 14 ^{d-f}
Nitrificación bruta ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	6			2 - 21 ^{a-c}	0.6 - 10 ^{d-f}
Lixiviación de NH_4^+ ($\text{g N m}^{-2} \text{ año}^{-1}$)	0.02* - 25			0.01 - 0.1 ^{h,i}	0.02 - 0.12 ^j
Lixiviación de NO_3^- ($\text{g N m}^{-2} \text{ año}^{-1}$)	0.24* - 40			0.39 - 3.9 ^{h,i}	0.25 - 18.4 ^j
Liberación de N_2O ($\text{g N m}^{-2} \text{ año}^{-1}$)	1e-5 - 0.05*	3e3 ^k	1.4e3 ^k	1e-4 - 0.9 ^{i,l-o}	0.1 - 0.5 ^{j,o}
Liberación de N_2O ($\text{ng N g}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	4e-4 - 58*	98e3 ^k	48e3 ^k		14 ^f

a) Davidson *et al.* 1993, b) Silver *et al.* 2005, c) Sotta *et al.* 2008, d) Booth *et al.* 2005, e) Silver 2001, f) Templer *et al.* 2008, h) Fang *et al.* 2009a, i) Koba *et al.* 2012, j) Fang *et al.* 2015, k) Bejarano *et al.* 2014a, l) Vitousek *et al.* 1995, m) García-Mendez *et al.* 1991, n) Fang *et al.* 2009b, o) Bai *et al.* 2012. * Valores estimados sin la adición del isótopo.

La relación mineralización: nitrificación fue de 2:1, lo que significa que una parte del N mineralizado fue inmovilizada ya sea por la vegetación o por la biomasa microbiana. A pesar de las necesidades de la biota, el tiempo de residencia de $^{15}\text{NH}_4^+$ calculado en este estudio fue de 3 días, valor que se ubica en la parte media del rango reportado para otros BTSs (rango de 1 a 5 días; Sotta *et al.* 2008, Gurmesa *et al.* 2016), y superior al estimado para bosques tropicales húmedos (menos de 1 día; Templer 2008). En comparación con el TMR del $^{15}\text{NO}_3^-$ que se calculó en un día o menos, lo que indica una fuerte remoción del NO_3^- desde el ecosistema por la transformación biológica a formas reducidas y por la lixiviación.

El hecho que la biomasa de las raíces dentro de los núcleos, después de dos años de establecer las parcelas experimentales sea similar a la reportada en la vegetación en un levantamiento previo para la localidad (Roa-Fuentes *et al.* 2013) indica que las condiciones de las parcelas, anterior a la adición se asemejan a las condiciones del ecosistema. La toma de N por parte de las raíces finas en el experimento fue muy alta al superar a las tasas de mineralización del bioelemento y de su consumo como a partir de formas inorgánicas (**Figura 10**). Los datos obtenidos indican que una vez adicionado el isótopo (ya sea como $^{15}\text{NH}_4^+$ o como $^{15}\text{NO}_3^-$) las raíces finas acceden rápidamente al nutriente, probablemente favorecidas por una buena disponibilidad de agua en el suelo durante la estación de lluvias. En cuanto a la toma de las formas inorgánicas de N (i.e., NH_4^+ o NO_3^-) por parte de la vegetación al comienzo del experimento (día 1), no se detectó una preferencia por alguna de las dos formas de N. Esta falta de preferencia observada en este estudio es consistente con los resultados reportados en otros ensayos en bosques tropicales (Houlton *et al.* 2007; Mayor *et al.* 2014) y, en conjunto, indican que la respuesta de la vegetación a la disponibilidad de N no está asociada a preferencias sino a la abundancia de cada forma de N inorgánico al menos a corto plazo. Al día 5 (i.e., al final del experimento) las plantas siguieron tomando NO_3^- , pero su toma relativa a la toma de NH_4^+ disminuyó, sugiriendo una preferencia de la vegetación por la forma reducida de N inorgánico. Sin embargo, mi estudio no permite determinar si este último resultado es una consecuencia directa de la preferencia por la forma reducida, o resultado de la mayor lixiviación del NO_3^- respecto a aquella del NH_4^+ , lo cual reduce la abundancia del $^{15}\text{NO}_3^-$ disponible, o ambas. Es importante señalar que la posible preferencia por parte de una u otra forma de N varía entre

especies en bosques tropicales (Gei y Powers 2014 Andersen *et al.* 2017), por lo cual los resultados del presente trabajo reflejan el promedio de esta variabilidad en las preferencias.

Al comparar entre los bosques tropicales se ha encontrado que la inmovilización de $^{15}\text{NH}_4^+$ por parte de la biomasa microbiana es mayor que la de $^{15}\text{NO}_3^-$ demostrando que los microorganismos del suelo, al igual que ocurre con la vegetación, prefieren las formas reducidas a las oxidadas de N inorgánico debido al costo energético que implica su uso (Gerschlauer *et al.* 2016). Si bien en este estudio no se midió el ^{15}N en la biomasa microbiana del suelo, Davidson y colaboradores (1991) consideran al consumo de $^{15}\text{NO}_3^-$ resultado de su asimilación por parte de la biomasa microbiana del suelo, y su desasimilación y desnitrificación. En el sitio de estudio la desnitrificación fue muy baja (**Cuadro 8**), mientras no es esperable la participación de la desasimilación reductiva ya que está asociada a suelos inundados (Silver *et al.* 2001). Considerando la exclusión y/o baja participación de los dos últimos procesos en el BTS de este estudio, se puede considerar al consumo de $^{15}\text{NO}_3^-$ como una estimación de su inmovilización por parte de la biomasa microbiana. En la **Figura 10** se muestra una estimación de la inmovilización de NH_4^+ por la biomasa microbiana, considerada como el consumo promedio de $^{15}\text{NH}_4^+$ menos la nitrificación promedio (ver Gerschlauer *et al.* 2016). Este dato podría indicar que cerca del 50% de $^{15}\text{NH}_4^+$ podría ser inmovilizado por la biomasa microbiana, siendo las magnitudes variables dependiendo de la relación C:N en la biomasa microbiana (Booth *et al.* 2005, Bejarano *et al.* 2014a). El hecho que el consumo de $^{15}\text{NH}_4^+$ involucre la toma del ión por parte de la biomasa microbiana del suelo, pero también el $^{15}\text{NH}_4^+$ que queda adsorbido al complejo de intercambio del suelo, no permite comparar ambos consumos para poder determinar si existe una preferencia por parte de la biomasa microbiana por la forma oxidada ($^{15}\text{NO}_3^-$) o por la forma reducida ($^{15}\text{NH}_4^+$) del N inorgánico disponible (**Figura 10**). A pesar de las estimaciones expuestas, los resultados del presente trabajo no permiten cuantificar esta participación de la biomasa microbiana del suelo en la retención del N que ingresa al sistema (**Figura 11**), sin embargo, los altos valores de consumo de $^{15}\text{NO}_3^-$ y de $^{15}\text{NH}_4^+$ (**Cuadro 8**) sugieren una participación importante de los microorganismos y del complejo de intercambio del suelo en la retención del nutriente en éste ecosistema. Estudios con trazadores indican que la inmovilización del ^{15}N por parte de la biomasa microbiana es

un importante mecanismo de retención de N (de 6 a 36 %) en bosques y en otros ecosistemas terrestres en general (Templer *et al.* 2012).

El experimento con adición isotópica demostró que la mayor parte del N que ingresó al sistema fue retenido (75%). El restante 25% del NO_3^- fue perdido del ecosistema por lixiviación $^{15}\text{NO}_3^-$ (24 %) y por liberación de $^{15}\text{N}_2\text{O}$ (1%) (**Figuras 10 y 11**). Esta comparación entre vías de pérdidas de N desde bosques tropicales es contraria a la importante participación de la desnitrificación en el trópico húmedo, pero parece ser consistente con el único estudio que utilizó ^{15}N , según mi conocimiento, en bosques tropicales secos (**Cuadro 11**). A pesar que se mencionó anteriormente que la lixiviación del N en las parcelas podría estar más relacionada a un proceso hidrológico, como la precipitación registrada un mes antes de la adición (**Figura 4**), el experimento con ^{15}N demostró la significancia de este proceso en la pérdida de N (**Figura 10**). Por lo tanto los resultados indican que contrariamente a la *Hipótesis 2*, en Yucatán es el lavado del suelo la principal vía de pérdida del N. Confirmar la preponderancia del lavado del suelo respecto a las pérdidas de N debido a la desnitrificación exige la realización de nuevos estudios que contemplen medidas de emisiones de N_2 (ver Pérez 2005, Templer *et al.* 2008, Koba *et al.* 2012). A pesar de ello, estos resultados sugieren que las pérdidas de N por lixiviación podrían ser importantes en el BTS de Yucatán considerando que el prolongado período sin eventos de lluvia durante la estación de secas favorece la acumulación de grandes cantidades de nutrientes en forma soluble en el suelo orgánico y en el suelo mineral de estos ecosistemas los que son lavados al comienzo de la estación de lluvias (Campo *et al.* 1998; Saynes *et al.* 2005). Ante el escenario que se pronostica para los BTS del mundo y, particularmente, los de Yucatán, la existencia futura de períodos más prolongados y más intensos de sequías ante el cambio en el clima global del planeta (IPCC 2013; ver también Rivero-Villar *et al.* 2018), es esperable que las pérdidas de N por ésta lixiviación produzcan pulsos de grandes pérdidas del nutriente al comienzo de cada estación de lluvias, pero también se incrementen las pérdidas de N por volatilización al ser más frecuentes e intensos los incendios naturales (IPCC 2013, Campo y Merino 2016).

Heterogeneidad biogeoquímica en el bosque tropical seco de Yucatán

Los experimentos realizados con la técnica de dilución con ^{15}N están expuestos a la gran heterogeneidad del sitio (Hart *et al.* 1994). Particularmente los bosques tropicales presentan una alta heterogeneidad a escalas de espacio y de tiempo, provocando que procesos ecosistémicos como los ciclos de los nutrientes se vean afectados (Townsend *et al.* 2008, Asner *et al.* 2015). El coeficiente de variación es un indicador de la variabilidad a la que puede estar expuesta una muestra (Zar 1999). La **Figura 12** muestra el coeficiente de variación calculado para los datos de N y de ^{15}N , y se puede comprobar que los flujos de N y algunas de las concentraciones del nutriente en el suelo alcanzaron el 100% de coeficiente de variación, evidenciando la existencia de una gran heterogeneidad biogeoquímica a escala local en la Península de Yucatán. Si bien hay homogeneidad en el material parental (roca caliza), la región presenta una alta heterogeneidad de suelos a escalas locales (Krasilnikov *et al.* 2013) reflejando profundos cambios microtopográficos y la influencia de la alta diversidad de su flora (Ceccon *et al.* 2002).

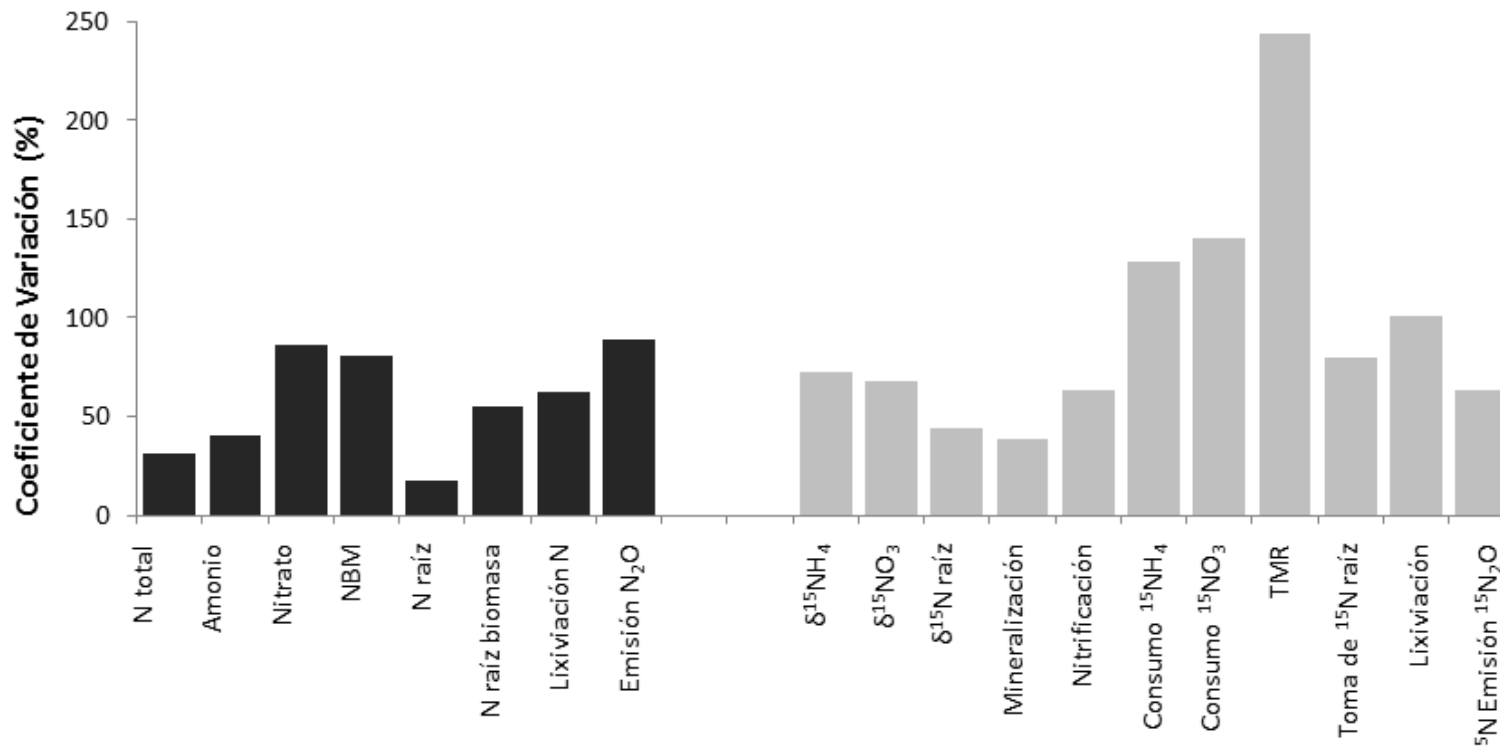


Figura 12. Coeficiente de variación (%) en las concentraciones y flujos calculados en el experimento de adición de ^{15}N de éste estudio. Las barras negras representan los datos de N y las barras grises son datos de ^{15}N .

Perspectivas

Ante el aumento del depósito de nitrógeno reactivo en los trópicos son necesario más estudios que permitan determinar las respuestas que tendrán sus ecosistemas, ante su participación masiva en los ciclos globales de este elemento así como en el del carbono y, por tanto, en la evolución del clima futuro del planeta. Para ello es imprescindible un adecuado conocimiento de las respuestas que ocurren en los ecosistemas ante los incrementos en el depósito atmosférico de nitrógeno. El presente trabajo sugiere que una gran parte del nitrógeno reactivo que ingresará desde la atmósfera mediante depósito bruto será retenido por parte de la biota del bosque tropical seco de Yucatán. Por lo que es necesario realizar estudios a nivel de especies de plantas (Fabaceae), así como su asociación con otros microorganismos (bacterias y hongos) que contribuyen en la toma del nitrógeno. De igual manera se requiere de estudios que caractericen a las comunidades microbianas del suelo y como éstas responden no solamente al aumento del nitrógeno reactivo sino a cambios ambientales pronosticados en la península de Yucatán.

A pesar de la alta capacidad de retención de N en los bosques, las salidas del nutriente al ambiente circundante se aumentarán, generando un fenómeno en cascada favorecido por la gran movilidad del nitrato en el suelo, lo que podría tener consecuencias ambientales negativas para los cuerpos de agua epicontinentales y las zonas marinas costeras, al favorecer los pulsos de productividad primaria (eutrofización). Particularmente, dado los suelos delgados y el fragmentado material parental presente en la península de Yucatán, los cuales favorecen una rápida infiltración del agua hacía el acuífero y el movimiento del agua en dirección a las costas, se aportaría de grandes cantidades de NO_3^- desde los bosques nativos (y también, tierras bajo cultivo) con consecuencias negativas para el funcionamiento de los ecosistemas costeros.

Finalmente, éste estudio demuestra que al implementar herramientas de isótopos estables genera evidencias directas respecto a las respuestas de los ecosistemas en el ingreso de N contribuyendo al entendimiento de la dinámica futura del nutriente.

Conclusiones

1. Los resultados obtenidos indican que una gran parte del nitrógeno que ingresa al ecosistema es retenido en el bosque tropical seco de Yucatán, y las pérdidas son en términos relativos bajas, sugiriendo un ciclo del nutriente cerrado.
2. En esta retención, la vegetación tiene un papel importante y, aunque no se cuenta con medidas particulares de la inmovilización microbiana del nutriente, hay evidencias que sugieren una posible competencia de los microorganismos con la vegetación por el nitrógeno que ingresa al ecosistema.
3. A corto plazo, la vegetación no demostró preferencia por alguna de las formas inorgánicas del nitrógeno, ya sea amonio o nitrato, como se esperaba, y la toma del nutriente parece reflejar la abundancia de éstas formas en el suelo.
4. A pesar que el bosque tropical seco estudiado presenta pérdidas de nitrógeno menores en comparación con otros bosques tropicales, ya sean secos o húmedos, la lixiviación del nitrógeno es, en términos relativos, la principal vía de pérdida del nutriente en las condiciones climáticas estudiadas.

Bibliografía

- Anaya CA, Felipe García-Oliva F, Jaramillo VJ (2007) Rainfall and labile carbon availability control litter nitrogen dynamics in a tropical dry forest. *Oecologia* 150:602–610
- Anderson JM e Ingram JSI (1993) Tropical Soil biology and Fertility. A Handbook Methods. CAB International. Wallingford 221pp
- Andersen KM, Mayor JR, Turner BL (2017) Plasticity in nitrogen uptake among plant species with contrasting nutrient acquisition strategies in a tropical forest. *Ecology*, 98(5): 1388–1398
- Amudson R, Austin AT, Schuur EAG, Yoo K, Matzek V, Kendall C, Uebersax A, Brenner D, Baisden WT (2003) Global patterns of the isotopic composition of soil and plant nitrogen. *Global Biogeochemical Cycles* 17(1):1–5
- Asner G, Anderson CB, Martin RE, Tupayachi R, Knapp DE, Sinca F (2015) Landscape biogeochemistry reflected in shifting distributions of chemical traits in the Amazon forest canopy. *Nature Geoscience* 8:567–573
- Bai E, Houlton BZ, Wang YP (2012) Isotopic identification of nitrogen hotspots across natural terrestrial ecosystems. *Biogeosciences* 9: 3287–3304
- Banda-R K, Delgado-Salinas A, Dexter KG, Linares-Palomino R, Oliveira-Filho A, Prado D, Pullan M, Quintana C, Riina R, Rodríguez GMG, Weintritt J, Acevedo-Rodríguez P, Adarve J, Álvarez E, Aranguren AB, Camilo JA, Aymard G, Castaño A, Ceballos-Mago N, Cogollo A, Cuadros H, Delgado F, Devia W, Dueñas H, Fajardo L, Fernández A, Fernández MA, Franklin J, Freid EH, Galletti LA, Gonto R, González-M R, Graveson R, Helmer EH, Idárraga A, López R, Marcano-Vega H, Martínez OG, Maturo HM, McDonald M, McLaren K, Melo O, Mijares F, Moggi V, Molina D, Moreno N, Nassar JM, Neves DM, Oakley L, Oatham M, Olvera-Luna AR, Pezzini F, Reyes OJD, Ríos ME, Rivera O, Rodríguez N, Rojas A, Särkinen T, Sánchez R, Smith M, Vargas C, Villanueva and RB, Pennington T (2016) Plant diversity patterns in neotropical dry forests and their conservation implications. *Science* 353(6306): 1383-1387

- Barraclough D (1995) ^{15}N isotope dilution techniques to study soil nitrogen transformations and plant uptake. *Fertilizer Research* 42: 185-192
- Bautista F, Palacio GA, Quintana P, Zinck JE (2011) Spatial distribution and development of soils in tropical karst areas from the Peninsula of Yucatan, Mexico. *Geomorphology* 135:308-321
- Bejarano M, Etchever JD, Ruíz-Suárez G, Campo J (2014a) The effects of increased N input on soil C and N dynamics in seasonally dry tropical forests: An experimental approach. *Applied Soil Ecology* 73:105–115
- Bejarano M, Crosby MM, Parra V, Etchevers JD, Campo J (2014b) Precipitation Regime and Nitrogen Addition Effects on Leaf Litter Decomposition in Tropical Dry Forests. *Biotropica* 46: 415-424
- Bejarano-Castillo M, Campo J, Roa-Fuentes LL (2015) Effects of Increased Nitrogen Availability on C and N Cycles in Tropical Forests: A Meta-Analysis. *PLOS ONE* 10 (12)
- Booth MS, Stark MJ, Rastetter E. (2005) Controls on nitrogen cycling in terrestrial ecosystems: a synthetic analysis of literature data. *Ecological Monographs*, 75(2): 139-157
- Brandes JA, McClain ME, Pimentel TP (1996) N-^{15} evidence for the origin and cycling of inorganic nitrogen in a small Amazonian catchment. *Biogeochemistry* 34:45-56
- Britto DT, Kronzucker HJ (2013) Ecological significance and complexity of N-source preference in plants. *Annals of Botany* 112: 957–963
- Brookes PC, Landman A, Pruden G, Jenkinson DS (1985) Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology Biochemistry* 17:837-842
- Brookshire E, Hedin L, Newbold J, Sigman D, Jackson J (2012) Sustained losses of bioavailable nitrogen from montane tropical forests. *Nature Geoscience* 5: 123–126

- Butterbach KB, Baggs EM, Dannenmann M, Kiese R, Zechmeister SB (2013) Nitrous oxide emissions from soils: how well do we understand the processes and their controls? *Philosophical Transaction of the Royal Society Biological* 368: 20130122.
- Campo J, Jaramillo VJ, Maass JM (1998) Pulses of soil phosphorus availability in a tropical dry forest: effects of seasonality and level of wetting. *Oecologia* 115:167-172
- Campo J, Vázquez YC (2004) Effects of nutrient limitation on aboveground carbon dynamics during tropical dry forest regeneration in Yucatan, Mexico. *Ecosystems* 7:311–319
- Campo J, Solís E, Gallardo JF (2012). Effects of fertilisation on soil nutrient characteristics and the growth of tree stand in secondary seasonally dry tropical forests in Mexico. *Journal of Tropical Forest Science* 24:419-26
- Campo J, García-Oliva F, Navarrete-Segueda A, Siebe C (2015) Almacenes y dinámica del carbono orgánico en ecosistemas forestales tropicales de México: una perspectiva desde la biogeoquímica. *Tierra Latinoamericana* 33(1):1-9
- Campo J (2016) Limitation Shift from ecosystem P to N limitation at precipitation gradient in tropical dry forests at Yucatan, Mexico. *Environment Research Letters* 11:1-11
- Campo J, Merino A (2016) Variations in soil carbon sequestration and their determinants along a precipitation gradient in seasonally dry tropical forest ecosystems. *Global Change Biology* 22:1942-56
- Castellanos J, Maass M, Kummerow J (1991) Root biomass of a dry deciduous tropical forest in Mexico. *Plant and Soil* 131: 225-228
- Castellanos J, Jaramillo VJ, Standford RL, Kauffman JB (2001) Slash and burn effects on fine root biomass and productivity in a tropical dry forest ecosystems in Mexico. *Forest Ecology and Management* 148:41:50
- Ceccon E, Olmsted I, Vázquez-Yanes C, Campo-Alves J (2002) Vegetation and soil properties in two tropical dry forests of differing regeneration status in Yucatan. *Agrociencia* 36:621-31

- Ceccon E, Huante P , Campo J (2003) Effects of nitrogen and phosphorus fertilization on the survival and recruitment of seedlings of dominant tree species in two abandoned tropical dry forests in Yucatán, Mexico. *Forest Ecology and Management* 182: 387–402
- Collier SM, Ruark MD, Oates LG, Jokela, WE, Dell CJ (2014) Measurement of Greenhouse Gas Flux from Agricultural Soils Using Static Chambers. *Journal of Visualized Experiments* (90):52110
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) (2013) Reporte del Clima en México. Septiembre 2013. Servicio Meteorológico Nacional. Año 3, Número 9. Ciudad de México, México. 25pp
- Cuevas RM, Hidalgo C, Payán F, Etchevers JD, Campo J (2013) Precipitation influences on active fractions of soil organic matter in seasonally dry tropical forests of the Yucatan: regional and seasonal patterns. *European Journal Forest Research* 132: 667-677
- Craine M J, Brookshire E J, Cramer DM, Hasselquist N, Koba K, Marin-Spiotta E, Wang L (2015) Ecological interpretations of nitrogen isotope ratios of terrestrial plants and soils. *Plant Soil* 396:1-26
- Challenger A, Soberón J (2008) Los ecosistemas terrestres. En: Comisión Nacional de Biodiversidad Conabio (Eds). *Capital natural de México, Vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad*. México pp. 87-108
- Chapin SF, Matson AP, Vitousek PM (2011) *Principles of Terrestrial Ecosystems Ecology*. Springer-Verlag, New York. 529pp
- Davidson EA, Hart SC, Shanks CA, Firestone MK (1991) Measuring gross nitrogen mineralization, immobilization and nitrification by ¹⁵N isotopic pool dilution in intact soil cores. *Journal Soil Science* 42, 335-349
- Davidson P A, Matson PM, Vitousek R, Riley K, Dunkin G, García-Méndezand J, Maass M (1993) Processes Regulating Soil Emissions of NO and N₂O in a Seasonally Dry Tropical. *Ecology* 74(1): 130-139

- Dentener F, Drevet J, Lamarque JF, Bey I, Eickhout B, Fiore AM, Hauglustaine D, Horowitz LW, Krol M, Kulshrestha UC, Lawrence M, Galy-Lacaux C, Rast S, Shindell D, Stevenson D, Van Noije T, Atherton C, Bell N, Bergman D, Butler T, Cofala J, Collins B, Doherty R, Ellingsen K, Galloway J, Gauss M, Montanaro V, Müller JF, Pitari G, Rodríguez J, Sanderson M, Solomon F, Strahan S, Schultz M, Sudo K, Szopa S, Wild O (2006) Nitrogen and sulfur deposition on regional and global scales: a multimodel evaluation. *Global Biogeochemical Cycles* 20: GB4003, doi:10.1029/2005GB002672
- Dirzo R, Campo J (2003) Leaf Quality and Herbivory Responses to Soil Nutrient Addition in Secondary Tropical Dry Forests of Yucatán, Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 19(5):525-530
- Elsler JJ, Bracken MES, Cleland EE, Gruner DS, Harploe WS, Hillebrand H, Ngai JT, Seabloom EW, Shurin J B, Smith JE (2007) Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 10:1135-1142
- Evans D R (2007) Soil nitrogen isotope composition En: Michener R y Lajtha K. Stable (Eds). *Isotopes in Ecology and Environmental Science*. Blackwell Publishing EU. pp 83-95
- Fang Y, Gundersen P, Mo J, Zhu W (2009a) Nitrogen leaching in response to increased nitrogen inputs in subtropical monsoon forests in southern China. *Forest Ecology and Management* 257:332-342
- Fang Y, Gundersen P, Zhang W, Zhou G, Christiansen JR, Mo J, Dong S y Zhang T (2009b) Soil-atmosphere exchange of N₂O, CO₂ and CH₄ along a slope of an evergreen broad-leaved forest in southern China. *Plant Soil* 319:37-48
- Fang Y, Koba K, Makabe A, Takahashi C, Zhu W, Hazyashi T, Hokari AA, Urakawa R, Bai E, Houlton BZ, Xi D, Zhanga S, Matsushita K, Tu Y, Dongwei L, Zhu F, Wang Z, Zhou G, Chen D, Makita T, Hiroto Toda H, Liu X, Chen Q, Zhang D, Li Y, Yoh M (2015) Microbial denitrification dominates nitrate losses from forest ecosystems. *Proceedings of the National Academic of Sciencies USA* 112(15): 1470-1474

- Fowler D, Coyle M, Skiba U, Sutton MA, Cape JC, Reis S, Sheppard LJ, Jenkins A, Grizzetti B, Galloway JN, Vitousek P, Leach A, Alexander F, Bouwman AF, Butterbach-Bahl K, Dentener F, Stevenson D, Amann M, Voss M (2013) The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences* 368: 20130164
- Freitas ADS, Sampaio EVSB, Santos CERS, Fernandes AR (2010) Biological nitrogen fixation in tree legumes of the Brazilian semi-arid caatinga. *Journal of Arid Environments* 74:344-349
- Fry B (2008) *Stable Isotope Ecology*. Springer, Nueva York, EU. pp307
- Galloway JN, Aber JD, Erisman JW, Seitzinger SP, Howarth RW, Cowling EB, Cosby BJ (2003) The Nitrogen Cascade. *Biological Science* 53:341-356
- Galloway JN, Townsend AR, Erisman JW, Bekunda M, Cai Z, Freney JR, Martinelli LA, Seitzinger SP, Sutton MA (2008) Transformation of the Nitrogen Cycle: Recent Trends, Questions, and potential solutions. *Science* 320: 889-892
- García-Mendez G, Maass M, Pamela A, Matson PA, Peter M, Vitousek PM (1991) Nitrogen transformations and nitrous oxide flux in a tropical deciduous forest in Mexico. *Oecologia* 88:362-366
- García E (1998) *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- Gei MG, Powers JS (2014) Nutrient cycling in tropical dry forests. En: Sanchez-Azofeifa G A, Powers JS, Fernandes GW y M Quesada (Eds). *Tropical Dry Forests in the Americas: Ecology, Conservation, and Management*. Boca Raton, FL: CRC Press. pp 141–155
- Gerschlauer F, Dannenmann M, Kühnel A, Meier R, Kolar A, Butterbach-Bahl K, Kiese R (2016) Gross Nitrogen Turnover of Natural and Managed Tropical Ecosystems at Mt. Kilimanjaro, Tanzania. *Ecosystems* 19: 1271–1288
- Gurmesa GA, Lu X, Gundersen P, Mao Q, Zhou K, Fang Y, Mo J (2016) High retention of ¹⁵N-labeled nitrogen deposition in a nitrogen saturated old-growth tropical forest. *Global Change Biology* 22:3608-3620

- Hasselquist NJ, Santiago LS, Allen MF (2010) Belowground nitrogen dynamics in relation to hurricane damage along a tropical dry forest chronosequence. *Biogeochemistry* 98: 89-100
- Hart SC, Stark JM, Firestone MK (1994) Nitrogen mineralization, immobilization and Nitrification. En: Soil Science Society of America (Ed) *Methods of Soil Analysis: Parte 2- Microbiological and Biochemical Properties SSSA Book Series 5.2*, USA pp 985-999
- Heitz P, Turner BL, Wanek W, Richter A, Nock CA, Wright SJ (2011) Long-term change in the nitrogen cycle of tropical forests. *Science* 334: 664-666
- Hedin LO, Brookshire JE, Menge DNL, Barron AR (2009) The nitrogen paradox in tropical forest ecosystems. *Annual Reviews Ecological Evolution Systematics* 40:613-635
- Högberg P (1997) Tansley review No. 95-15N natural abundance in soil-plant systems. *New Phytologist* 137:179-203
- Houlton BZ, Sigman DM, Hedin LO (2006) Isotopic evidence for large gaseous nitrogen losses from tropical rainforests. *Proceedings of the National Academic of Sciences USA* 103:8745–8750
- Houlton BZ, Sigman DM, Schuur EAG, Hedin LA (2007) A climate-driven switch in plant nitrogen acquisition within tropical forest communities. *Proceedings of the National Academic of Sciences USA*. 104 (21): 8902-8906
- Houlton BZ y Bai E (2009) Imprint of denitrifying bacteria on the global terrestrial biosphere. *Proceedings of the National Academic of Sciences USA* 106 (51):21713-21716
- IPCC, 2013: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis*. Working Group I to the Fifth Assesment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, UK y New York, USA pp1535
- Jaramillo VJ, Kauffman JB, Rentería-Rodríguez L, Cummings DL, Ellingson LJ (2003) Biomass, carbon, and nitrogen pools in Mexican tropical dry forest landscapes. *Ecosystems* 6: 609-629

- Koba K, Fang Y, Mo J, Zhang W, Lu X, Liu L, Zhang T, Takebayashi Y, Toyoda S, Yoshida N, Suzuki K, Yoh M, Senoo K (2012) The ^{15}N natural abundance of the N lost from an N-saturated subtropical forest in southern China. *Journal of Geophysical Research* 117:1-13
- Koehler B, Corre MD, Steger K, Well R, Zehe E, Sueta J P, Veldkamp E. 2012. An in-depth look into a tropical lowland forest soil: nitrogen addition effects on the contents of N_2O , CO_2 and CH_4 and N_2O isotopic signatures down to 2-m depth. *Biochemistry* 111:695-713
- Krasilnikov P, Gutiérrez-Castorena MC, Ahrens RJ, Cruz-Gaistaldo CO, Sedov S, Sollleiro-Rebolledo E (2013) *The soils of Mexico*. Springer, New York pp174
- Lebauer CD, Treseder KK (2008) Nitrogen limitation of net primary productivity in Terrestrial ecosystems is globally distributed. *Ecology* 89(2):371-379
- Maass JM, Burgos A (2011) Water dynamics at the ecosystem level in seasonally dry tropical forests. En: Dirzo R, Young HS, Mooney HA y Ceballos G (Eds). *Seasonally dry tropical forests: ecology and conservation*. Island Press, Washington. pp. 141-156
- Maldonado MV (2013) Fracción activa de la materia orgánica del suelo en bosques tropicales estacionalmente secos: variación sucesional y edafoclimática. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México
- Mariotti A, Germon JC, Hubert P, Kaiser P, Letolle R, Tardieux A, Tardieux P (1981) Experimental determination of nitrogen kinetic isotope fractionation—some principles illustration for the denitrification and nitrification processes. *Plant Soil* 62:413-430
- Martinelli LA, Piccolo MC, Townsend AR, Vitousek PM, Cuevas E, McDowell W, Robertson GP, Santos OC, Treseder K (1999) Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: Tropical versus temperate forests. *Biogeochemistry* 46: 45-65
- Matson PA, Vitousek PM (1995) Nitrogen gas emissions in a tropical dry forest ecosystem. En: Bullock SH, Mooney HA, Medina E (Eds). *Seasonally dry tropical forests*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 384–398

- Mayor JR, Wright SJ, Schuur EAG, Brooks ME, Turner BL (2014) Stable nitrogen isotope patterns of trees and soils altered by long-term nitrogen and phosphorus addition to a lowland tropical rainforest. *Biogeochemistry* 119:293-306
- Miles L (2006) A global overview of the conservation status of tropical dry forests. *Journal of Biogeography* 33: 491-505
- Miranda MJJ (2014) Emisiones de N₂ y N₂O provenientes de los fertilizantes aplicados a los suelos cultivados con caña de azúcar por el método trazador ¹⁵N. Tesis de Doctorado. Centro de Energía Nuclear en Agricultura. Universidad de San Paulo. Piracicaba, Brasil
- Montaño NM, García-Oliva F, Jaramillo VJ (2007) Dissolved organic carbon affects soil microbial activity and nitrogen dynamics in a Mexican tropical deciduous forest. *Plant Soil* 295:265-277
- Murphy PG, Lugo AE (1986) Ecology of tropical dry forest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 67-88
- Nadelhoffer KJ, Downs MR, Fry B (1999) Sinks for ¹⁵N-enriched additions to an oak forest and a red pine plantation. *Ecological Applications*, 9(1): 72-86
- Ortega APF (2014) Efectos del enriquecimiento con nitrógeno en la dinámica del carbono y el nitrógeno en suelos de un bosque tropical estacionalmente seco de Yucatán. Tesis de Licenciatura. FES Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Tlanepantla, Estado de México.
- Pan K, Xu Z, Blumfield T, Totua S, Lu M (2008) In situ mineral ¹⁵N dynamics and fate of added ¹⁵NH₄⁺ in hoop pine plantation and adjacent native forest in subtropical Australia. *Journal of Soils Sediments*. 8: 398-405
- Pennington RT, Lavin M, Oliveira-Filho A (2009) Woody Plant diversity, evolution, and ecology in the tropics: perspectives from seasonally dry tropical forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 40:437-57

- Pérez T, Trumbore SE, Tyler SC, Davidson EA, Keller M, de Camargo PB (2000) Isotopic variability of N₂O emissions from tropical forests soils. *Global Biogeochemical Cycles* 14(2): 525-535
- Pérez T (2005) Factors that Control the Isotopic Composition of N₂O from soil emissions. En Flanagan LB, Ehleringer JR, Pataki DE (Eds). *Stable isotopes and biosphere: atmospheric interactions: processes and biological controls*. Elsevier Academic Press USA. pp 69-81
- R Development Core Team (2011) *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna
- Rivero-Villar A, Templer PH, Parra-Tabla V, Campo J (2018) ¹⁵Natural abundance in plants and soils indicate differences in nitrogen cycling between two tropical dry forests under contrasting precipitation regimes. *Biotropica* en prensa.
- Roa-Fuentes LL, Campo J, Tabla PV (2012) Plant biomass allocation across a precipitation gradient: an approach to seasonally dry tropical forest at Yucatan, Mexico. *Ecosystems* 15:1234-1244
- Roa-Fuentes LL, Hidalgo C, Etchevers JD, Campo J (2013) The effects of precipitation regime on soil carbon pools on the Yucatan Peninsula. *Journal of Tropical Ecology* 29:463-46
- Roa-Fuentes LL, Templer P, Campo J (2015) Effects of precipitation regime and soil nitrogen on leaf traits in seasonally dry tropical forests of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Oecologia* 179:585-597
- Robertson PG, Groffman MP (2007) Nitrogen transformation. En: E.A. Paul (Ed) *Soil Microbiology, Biochemistry and Ecology*. Springer, New York, USA. pp. 341-364
- Robinson D. (2001) δ ¹⁵N as an integrator of the nitrogen cycle. *Trends in Ecology & Evolution*. 16(3):153-162
- Saynes V, Hidalgo C, D. Etchevers JD, Campo J. (2005) Soil C and N dynamics in primary and secondary seasonally dry tropical forests in Mexico. *Applied Soil Ecology* 29:28-289

- Silver WL, Donald J, Herman DJ, Firestone MK. (2001) Dissimilatory nitrate reduction to ammonium in upland tropical forest soils. *Ecology* 82 (9):2410-2416
- Silver WL, Thompson AW, Reich A, Ewel JJ, Firestone MK (2005) Nitrogen cycling in tropical plantation forests: potential controls on nitrogen retention. *Ecological Applications*, 15(5):1604-1614
- Solís E, Campo J (2004) Soil N and P dynamics in two secondary tropical dry forests after fertilization. *Forest Ecology and Management* 195:409-18
- Sotta ED, Corre MD, Veldkamp E (2008) Differing N status and N retention processes of soils under old-growth lowland forest in Eastern Amazonia, Caxiuana, Brazil. *Soil Biology & Biochemistry* 40: 740-750
- Stark JM, Hart SC (1996) Diffusion Technique for Preparing Salt Solutions, Kjeldahl Digests, and Persulfate Digests for Nitrogen-15 Analysis. *Soil Science Society of America Journal* 60: 1846-1855
- Templer HP (2005) Tree species effects on nitrogen cycling and retention: a synthesis of studies using ¹⁵N tracers. En: Binkley D y Menyailo O (Eds). *Tree species effects on soils: Implications for global change*. Springer Países Bajos. pp 51-69
- Templer HP, Silver WL, Ridge JP, DeAngeles MK, Firestone KR (2008) Nitrogen retention in tropical forest. *Ecology* 89: 3030-3040
- Templer HP, Mack MC, Chapin FS III, L. M. Christenson LM, Compton JE, Crook HD, Currie WS, Curtis CJ, Dail DB, D'antonio CM, Emmett BA, Epstein HE, Goodale CI, Gundersen P, Hobbie SE, Holland K, Hooper DU, Hungate BA, Lamontagne S, Nadelhoffer KJ, Osenberg CW, Perakis SS, Schleppi P, Schimel J, Schmidt IK, Sommerkorn M, Spoelstra J, Tietema A, Wessel WW, Zak DR (2012) Sinks for nitrogen inputs in terrestrial ecosystems: a meta-analysis of ¹⁵N tracer field studies. *Ecology*, 93(8): 1816-1829

- Thilo SM, Oelmann Y, Wilcke W (2011) Stable N isotope composition of nitrate reflects N transformations during the passage of water through a montane rain forest in Ecuador. *Biogeochemistry* 102:195-208
- Trejo I (2015) Bosques tropicales secos. OKARA: Geografia em debate 9(2): 261-274
- Townsend AR, Asner GP, Cleveland CC (2008) The biogeochemical heterogeneity of tropical forests. *Trends in Ecology and Evolution* 23(8): 426-431
- Townsend RA, Cleveland CC, Houlton ZB, Alden BC, White WCJ (2011) Multi-element regulation of the tropical forest carbon cycle. *Frontiers in Ecology and the Environment* 9(1): 9-17
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS (1987) An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19: 703-707
- Wang A, Fang YT, Chen DX, Koba K, Makabe A, Li YD, Lou TS, Yoh M (2014) Variations in nitrogen-15 natural abundance of plant and soil systems in four remote tropical rainforest, southern China. *Oecologia*.174:567-580
- Wang L, Macko SA (2011) Constrained preferences in nitrogen uptake across plant species and environments. *Plant, Cell and Environment* 34:525–534
- Yuan ZY, Chen HYH, Reich PB (2011) Global-scale latitudinal patterns of plant fine-root nitrogen and phosphorus. *Nature Communication* 2:344
- Zar JH (1999) *Biostatistic analysis*. Cuarta Edición. Prentice Hall. New Jersey 904pp
- Zhao W, Zucong Cai Z, Xu Z (2015) Net and gross N transformation rates in subtropical forest soils under aerobic and anaerobic conditions. *Journal of Soils and Sediments* 15:96-105

Anexo

Cuadro A1. Valor de $\delta^{15}\text{N}$ en nitrógeno inorgánico del suelo, en raíces finas ($\leq 2\text{mm}$ de diámetro), en lixiviados (como amonio $^{15}\text{NH}_4^+$ y nitrato $^{15}\text{NO}_3^-$) y en óxido nitroso ($^{15}\text{N}_2\text{O}$) durante la adición de isótopo en suelos (0-10 cm de profundidad). Los valores representan las medias ± 1 E.E.

Adición	$+^{15}\text{NO}_3$			$+^{15}\text{NH}_4$			
	<i>Tiempo</i>	<i>Inicial</i>	<i>1 día</i>	<i>5 días</i>	<i>Inicial</i>	<i>1 día</i>	<i>5 días</i>
Suelo							
$\delta^{15}\text{NH}_4^+$ (‰)		208.76 \pm 84.94	224.50 \pm 60.07	182.49 \pm 38.16	787.53 \pm 78.79	742.32 \pm 126.84	788.15 \pm 164.90
$\delta^{15}\text{NO}_3^-$ (‰)		3750.01 \pm 701.19	2483.32 \pm 364.01	2144.88 \pm 838.88	7134.01 \pm 1403.19	8158.75 \pm 1168.87	2079.28 \pm 340.36
$\delta^{15}\text{N}$ en raíces (‰)		94.71 \pm 9.59	219.77 \pm 26.46	243.71 \pm 17.44	387.08 \pm 42.56	631.35 \pm 58.26	744.18 \pm 66.45
Lixiviados							
$\delta^{15}\text{NH}_4^+$ (‰)		-	-	1817.64 \pm 636.16	-	-	7223.04 \pm 1698.96
$\delta^{15}\text{NO}_3^-$ (‰)		-	-	3114.05 \pm 402.18	-	-	2201.81 \pm 183.81
Gases							
$\delta^{15}\text{N}_2\text{O}$ (‰)*		-	5.93 \pm 0.38	5.93 \pm 0.38	-	6.11 \pm 0.49	5.39 \pm 0.26

(n=12, *n=5)

Cuadro A2. Efectos de la adición con nitrógeno y del tiempo, y su combinación, en la concentración del bioelemento en el suelo, en la biomasa microbiana (NBM), en las raíces finas (≤ 2 mm de diámetro), en la concentración de amonio (NH_4^+), de nitrato (NO_3^-) y en la relación $\text{NO}_3:\text{NH}_4$ en el suelo. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis. Los valores significativos ($p < 0.05$) del test se presentan con negrita.

	<i>Adición</i>			<i>Tiempo</i>			<i>Combinación de Factores</i>		
	<i>gl</i>	χ^2	<i>p</i>	<i>gl</i>	χ^2	<i>p</i>	<i>gl</i>	χ^2	<i>p</i>
N total suelo	2	0.57	0.75	2	1.70	0.42	4	4.04	0.85
NBM	2	22.63	1.22e-05	2	25.82	2.47e-06	4	53.37	9.11e-09
NH_4^+	2	5.74	0.06	2	0.43	0.08	4	12.62	0.12
NO_3^-	2	0.14	0.93	2	2.79	0.25	4	5.81	0.67
$\text{NO}_3:\text{NH}_4$	2	1.56	0.46	2	3.43	0.18	4	8.67	0.37
N raíz	2	14.28	7.94e-04	2	10.79	4.54e-03	4	30.76	1.5e-04
N raíz	2	4.16	0.12	2	0.61	0.74	4	6.92	0.54

Cuadro A3. Efectos de la adición con nitrógeno en el flujo del bioelemento en formas inorgánicas (amonio NH_4^+ , nitrato NO_3^-) desde suelos por lixiviados. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis.

	<i>Factor</i>	<i>gl</i>	χ^2	<i>p</i>
Flujo NH_4^+				
	<i>Adición</i>	2	4.08	0.13
Flujo NO_3^-				
	<i>Adición</i>	2	3.76	0.15

Cuadro A4. Efectos de la adición con nitrógeno y del tiempo en la liberación del bioelemento como óxido nitroso (N₂O) liberado desde los suelos. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis.

<i>Factor</i>	<i>gl</i>	<i>H</i>	<i>p</i>
Adición	2	3.62	0.16
Tiempo de toma de gases	1	0.89	0.34
Combinación de Factores	3	1.03	0.79

Cuadro A5. Efecto del tiempo en la abundancia natural del $\delta^{15}\text{N}$ en el nitrógeno total y en nitrógeno inorgánico del suelo mineral, en las raíces finas ($\leq 2\text{mm}$ diámetro) y en la liberación de óxido nitroso (N_2O) desde los suelos. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis. Los valores significativos ($p < 0.05$) del test se presentan con negrita.

	<i>Tiempo</i>		
	<i>Gl</i>	<i>H</i>	<i>p</i>
Suelo			
$\delta^{15}\text{N Total}$	1	2.71	0.09
$\delta^{15}\text{NH}_4^+$	2	8.85	0.01
$\delta^{15}\text{NO}_3^-$	2	0.40	0.81
$\delta^{15}\text{N en raíces}$	2	6.81	0.03
Gases			
$\delta^{15}\text{N}_2\text{O}$	2	0.82	0.36

Cuadro A6. Recuperación de ^{15}N (%) en los diferentes compartimentos del suelo (0-10 cm de profundidad). Los valores representan las medias \pm 1 E.E.

Adición	$+^{15}\text{NO}_3$			$+^{15}\text{NH}_4$		
	<i>Inicial</i>	<i>1 día</i>	<i>5 días</i>	<i>Inicial</i>	<i>1 día</i>	<i>5 días</i>
Suelo						
$^{15}\text{NH}_4^+$	0.17b \pm 0.06	0.40ab \pm 0.13	0.12b \pm 0.02	0.64a \pm 0.06	1.32a \pm 0.63	0.53a \pm 0.13
$^{15}\text{NO}_3^-$	1.44a \pm 0.51	2.15a \pm 0.67	1.01b \pm 0.39	4.22a \pm 0.46	4.17b \pm 0.81	0.66b \pm 0.19
^{15}N Raíces finas	6.88b \pm 1.29	14.08ab \pm 3.24	13.55ab \pm 2.89	19.16ab \pm 1.21	35.67a \pm 6.65	40.23a \pm 8.44
Lixiviados						
$^{15}\text{NO}_3^-$	--	--	16.14a \pm 3.21	--	--	11.02a \pm 2.38
$^{15}\text{NH}_4^+$	--	--	1.01a \pm 0.54	--	--	4.26a \pm 1.42
Gas						
$^{15}\text{N}_2\text{O}^*$	--	4.9e-07a \pm 4.2e-07	8.1e-07a \pm 7.9e-07	--	1.1e-10a \pm 7.4e-11	7.8e-11a \pm 3.2e-11
Total	8.48 \pm 1.79	16.63 \pm 4.07	31.83 \pm 7.07	24.02 \pm 1.73	41.16 \pm 8.09	56.70 \pm 12.56

(n = 12, * n = 5)

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el tipo los tratamientos. Prueba *pos hoc* Tukey.

Cuadro A7. Efectos de la adición con nitrógeno y del tiempo en la recuperación del ^{15}N adicionado. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis. Los valores significativos ($p < 0.05$) del test se presentan con negrita.

	<i>Adición</i>			<i>Tiempo</i>			<i>Combinación de factores</i>		
	<i>gl</i>	<i>H</i>	<i>p</i>	<i>gl</i>	<i>H</i>	<i>p</i>	<i>gl</i>	<i>H</i>	<i>p</i>
Suelo									
$^{15}\text{NH}_4^+$	1	21.39	3.74e-06	2	1.29	0.52	5	31.30	8.16e-06
$^{15}\text{NO}_3^-$	1	3.02	0.08	2	13.96	9.3e-04	5	15.13	9.8e-03
^{15}N raíz	1	26.32	2.88e-07	2	7.75	0.02	5	49.17	2.04e-09
Lixiviados									
$^{15}\text{NH}_4^+$	1	1.21	0.27	-	-	-	-	-	-
$^{15}\text{NO}_3^-$	1	14.28	7.94e-04	-	-	-	-	-	-
Gas									
$^{15}\text{N}_2\text{O}$	1	4.68	0.03	1	0.80	0.37	3	6.29	0.09

Cuadro A8. Efectos de la adición con nitrógeno y del tiempo en los procesos del ciclo del nitrógeno en el suelo. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis. Los valores significativos ($p < 0.05$) del test se presentan con negrita.

	<i>Adición</i>			<i>Tiempo</i>			<i>Combinación de Factores</i>		
	<i>gl</i>	<i>H</i>	<i>p</i>	<i>gl</i>	<i>H</i>	<i>p</i>	<i>gl</i>	<i>H</i>	<i>p</i>
Mineralización	-	-	-	1	7.74	0.005	-	-	-
Nitrificación	-	-	-	1	3.60	0.06	-	-	-
Consumo de NH_4^+	-	-	-	1	4.68	0.03	-	-	-
Consumo de NO_3^-	-	-	-	1	0.16	0.69	-	-	-
Tiempo de residencia de NH_4^+	-	-	-	1	0.86	0.35	-	-	-
Tiempo de residencia de NO_3^-	-	-	-	1	2.37	0.12	-	-	-
Toma de ^{15}N por raíces	1	2.31	0.13	1	4.46	0.03	3	7.66	0.05
Lixiviación de $^{15}\text{NO}_3^-$	1	2.40	0.12	-	-	-	-	-	-
Liberación de $^{15}\text{N}_2\text{O}$	1	0.04	0.84	1	0.77	0.37	3	1.03	0.79

-, no hay comparación estadística.

Figura A1. Bolsa de resina de intercambio iónico.

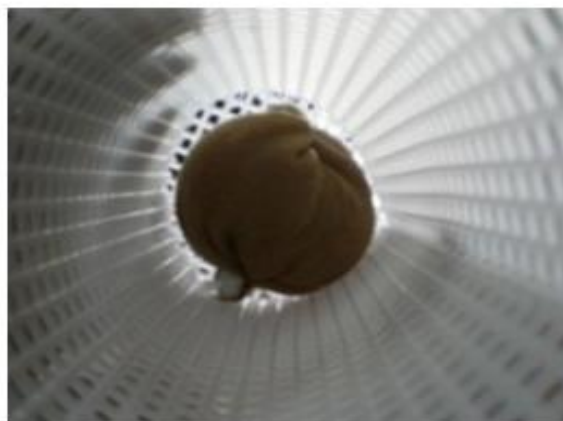


Figura A2. Cámara estática utilizada para la captura de gases.

