



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

**Abundancia de los isótopos estables
 $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en suelos de bosques
templados y pastizales alpinos
naturales y transformados.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

ADRIANA GONZÁLEZ CONTRERAS

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. NADIA SILVANA SANTINI GONZÁLEZ

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de
México, 2019.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos académicos

Esta tesis se desarrolló como parte del proyecto cátedra CONACYT: Reservas de carbono en suelos de bosques templados y pastizales subalpinos, proyecto # 236.

Quiero agradecerle,

A la Facultad de Estudios Superiores Iztacala y a todos sus docentes que me otorgaron las herramientas para formarme como Bióloga.

A la Dra. Nadia Silvana Santini González del Laboratorio de Genética y Ecología, Instituto de Ecología UNAM por darme la oportunidad para desarrollar este trabajo bajo su orientación y por la confianza, disposición e interés de principio a fin que mostró para obtener una adecuada tesis.

A la Comunidad de Santiago Tlacotepec por permitirnos tener el alcance para estudiar el área de interés, y por la ayuda durante el muestreo.

Al Dr. Daniel Piñero Dalmau, a Nancy Gálvez Reyes y a Alfredo Villarruel del Laboratorio de Genética y Ecología, Instituto de Ecología UNAM por el apoyo durante el desarrollo del proyecto.

Al Dr. Bruno Manuel Chávez Vergara, al Dr. Daniel Jesús Muñoz Iniestra, a la Mtra. Mayra Hernández Moreno y al Dr. Salvador Rodríguez Zaragoza por sus comentarios y críticas constructivas hacia mi tesis para mejorarla.

Dedicatoria

No existe otra persona que le pueda dedicar este logro, sino es a ti hermana Eliza, me brindaste todo apoyo incondicional para concluir la primera etapa importante en mi vida.

Agradecimientos personales

Deseo darle las gracias,

A Eliza, Orlando, Ofelia, Monse y mamá por apoyarme para iniciar, andar y concluir este sendero en el que aprendí las bases para iniciar a estudiar a la bella, dinámica, perfecta, compleja, maravillosa e inmensamente variable madre naturaleza.

A mis amigas de la carrera, Naty, Lupis, Iskra y Vale por todas las ocurrencias y momentos gratos que hicieron más ameno e inolvidable mi etapa universitaria. Y aunque casi nunca lo manifieste ¡Las quiero chicas!

A mi amigo Aarón, por la buena vibra que siempre me otorgaste para que culminara con éxito mis estudios universitarios.

Al profesor A. Ángel Carballo Hernández, una de las pocas personas que fomentó para que yo estudiara Biología ¡Debería de haber más profesores como usted!

Ser biólogo implica un compromiso con la madre naturaleza, ya que, al conocerla más de cerca, se aprecia su belleza, y su complejidad que en su apariencia esconde, pocos entendemos su generosidad y tal vez por eso no aprendemos a respetarla. Seamos todos biólogos para apreciar nuestra vida.

A. Ángel Carballo Hernández

Índice

Resumen	1
1. Introducción	2
2. Justificación	7
3. Pregunta de investigación	7
4. Objetivos	7
5. Predicciones	8
6. Materiales y métodos	8
6.1 Área de estudio.....	8
6.2 Diseño de muestreo.....	14
6.2.1 Delimitación de parcelas.....	14
6.2.2 Colecta de suelos.....	14
6.2.3 Colecta de mantillo y de biomasa aérea viva.....	15
6.3 Procesamiento de las muestras en el laboratorio.....	15
6.3.1 Análisis del %C, % N y de isótopos estables $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$	15
6.4. Estimación del contenido total de C y N en los perfiles de suelo.....	16
7. Análisis estadísticos	17
8. Resultados	18
8.1 Distribución espacial vertical de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$	21
8.2 Distribución espacial de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre hábitats.....	30
9. Discusión	33
10. Conclusiones	39
11. Anexos	40
12. Literatura citada	45

Resumen.

Las firmas de los isótopos estables de carbono y nitrógeno $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en vegetación y suelos son la consecuencia de una variedad de procesos involucrados en la transformación del carbono y nitrógeno sobre y dentro del suelo, que nos permite entender las dinámicas de estos elementos en los hábitats a lo largo del tiempo. Por lo anterior, determinamos la distribución de las firmas isotópicas $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en perfiles de suelo de más de 50 cm de profundidad y la composición isotópica de hojas y de mantillo de hábitats templados naturales (*Pinus hartwegii*, *Abies religiosa* y pastizal alpino) y transformados (hábitat reforestado de *P. montezumae*, una parcela agrícola y pastizal alpino quemado) del ejido de Santiago Tlacotepec del Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca, México. Los resultados mostraron que las firmas isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en los primeros 15 cm de suelo son significativamente mayores a las firmas isotópicas de las fuentes de carbono y nitrógeno (hojas frescas de la vegetación dominante y sotobosque, y mantillo) en el suelo y por lo tanto que existe discriminación en contra de los isótopos más pesados, i.e. ^{13}C y ^{15}N durante la descomposición y mineralización de la materia orgánica del suelo. Las firmas de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ a lo largo del perfil del suelo sólo aumentaron significativamente ($p < 0.05$) en el hábitat dominado por *A. religiosa*, el sitio agrícola y el pastizal alpino natural y no para los hábitats dominados por *P. hartwegii*, *P. montezumae* y el pastizal alpino quemado. Esto sugiere la formación de compuestos recalcitrantes en los hábitats dominados por *P. hartwegii* y en el pastizal alpino quemado. De esta manera, la distribución de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en el suelo es dependiente de las entradas de carbono y nitrógeno y/o el tipo de perturbación-como la presencia de fuego- en cada hábitat. El fuego controlado sobre pastizal alpino mostró tener un efecto positivo en la acumulación de C en los primeros 15 cm de suelo y la elevada relación C: N del mantillo (C: N= 76.94) en *P. hartwegii* ocasionó la ausencia de cambio isotópico significativo de C por debajo de los primeros 15 cm de suelo. Por otro lado, la coexistencia de fuentes de carbono de vegetación tipo C_3 y C_4 y la reciente reforestación del hábitat de *P. montezumae* posiblemente contribuyeron para que se mantuviera una ligera y no significativa disminución de $\delta^{13}\text{C}$ en el perfil de suelo, tendencia opuesta a la observada en los demás hábitats.

1. Introducción.

El suelo es un sistema complejo, heterogéneo y dinámico en donde interactúan la biosfera, litosfera, hidrosfera y atmósfera (Bevivino y Dalmastri, 2017). Este puede ser considerado el conjunto del material orgánico y mineral no consolidado en la superficie de la Tierra (Voroney y Heck, 2014) que junto con la microbiota que vive en él proporciona el medio físico para el desarrollo de funciones vitales para los ecosistemas como son: el soporte físico para la vegetación, fuente de agua y de nutrientes para las plantas, la descomposición de la materia orgánica y el reciclaje de nutrientes, así como la provisión de hábitat para diversas formas de vida (Chapin III *et al.*, 2002). De estas funciones depende la capacidad de proveer los servicios ecosistémicos que brinda el suelo (Eldor, 2016).

Los suelos comprenden el mayor almacén de carbono (C) orgánico de los biomas terrestres (Ussiri y Lal, 2017; Lal, 2018). La materia orgánica del suelo (MOS) almacena en promedio 1500 petagramos de C (Pg C) ($1 \text{ Pg} = 10^{15} \text{ g}$) a un metro de profundidad. Este contenido es mayor que los promedios de C en la atmósfera (800 Pg C) y en la vegetación terrestre (500 Pg C) combinados (FAO e ITPS, 2015). El cambio de uso del suelo y/o deforestación, pueden incrementar significativamente las emisiones de dióxido de carbono (CO_2) a la atmósfera y modificar así la reserva de C orgánico del suelo (Lal, 2004; Quesada *et al.*, 2018). Por tal razón, el estudio y comprensión de los mecanismos subyacentes al almacenamiento y la estabilidad del C orgánico del suelo en sistemas naturales y transformados han recibido un interés cada vez mayor (Bernoux *et al.*, 1998; Brüggemann *et al.*, 2011; Han *et al.*, 2015).

Una de las herramientas útiles que ha proporcionado conocimientos sobre la dinámica del C orgánico en el suelo es la abundancia de isótopos estables de C y la relación entre ellos ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) (Charles *et al.*, 2007). Los isótopos estables son átomos no radiactivos de un elemento químico con el mismo número de protones y electrones, pero diferente número de neutrones, por lo que difieren en sus masas atómicas. El ^{12}C y el ^{13}C son los isótopos estables de C, su abundancia en la naturaleza es del 98.89 % y 1.11 %, respectivamente (Sulzman, 2007). Su utilidad deriva del hecho de que el isótopo estable más pesado de C (^{13}C) es discriminado durante procesos enzimáticos y de difusión que responden a mecanismos cinéticos

y de equilibrio termodinámico durante procesos bioquímicos, desde la fijación del C por las plantas (fotosíntesis), hasta la discriminación durante la descomposición de los residuos orgánicos en los suelos. Por lo tanto, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ (expresados en ‰) del suelo son la consecuencia de una variedad de procesos involucrados en la transformación del C sobre y dentro del suelo (Ehleringer y Rundel, 1989).

La proporción de ^{13}C en la vegetación C_3 ($\delta^{13}\text{C} = -27$ ‰) es menor que la que presenta el C del CO_2 atmosférico ($\delta^{13}\text{C} = -7.8$ ‰), lo cual indica que se produce una discriminación de ^{13}C durante la fotosíntesis (Makarov, 2009). Asimismo, una vez que el C del material muerto de la vegetación (mantillo) se sitúa sobre el suelo, este es metabolizado por microorganismos a través de los procesos de inmovilización y mineralización de compuestos de C (Weil y Brady, 2017). Durante estos procesos de transformación del C ocurre la discriminación del ^{13}C por lo que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en el suelo dependen entonces de las firmas isotópicas de los residuos vegetales (fuente de C al suelo) y del fraccionamiento isotópico de éstas, es decir, de los cambios en $\delta^{13}\text{C}$ durante la descomposición de la MOS (Tiunov, 2007).

En trabajos previos se ha observado que la concentración de C (%) disminuye y el $\delta^{13}\text{C}$ de la MOS incrementa con la profundidad en suelos que han permanecido bajo la misma comunidad vegetal e incluso durante y posterior a un cambio de uso de suelo (Garten *et al.*, 2000; Accoe *et al.*, 2002; Boström *et al.*, 2007; Acton *et al.*, 2013). Para explicar este enriquecimiento de $\delta^{13}\text{C}$ en perfiles de suelo se han descrito las siguientes hipótesis (Ehleringer *et al.*, 2000; Wynn *et al.*, 2005):

- a) Discriminación cinética contra ^{13}C durante la respiración. Ocurre durante las reacciones enzimáticas asociadas con el metabolismo por los microorganismos del suelo, en donde los compuestos que contienen ^{12}C se metabolizan más fácilmente que los que contienen ^{13}C . Como resultado, la MOS residual se enriquece más en ^{13}C .
- b) Microorganismos como precursores de la materia orgánica estable. Los microorganismos catalizan moléculas ricas de ^{12}C , mientras que para la producción de biomasa utilizan compuestos abundantes en ^{13}C .
- c) Translocación de fracciones de C solubles relativamente sin descomponer, enriquecidas de ^{13}C .

d) Efecto Suess. Se refiere al empobrecimiento de ^{13}C en el C atmosférico moderno desde la industrialización, el cual podría haber contribuido a disminuir las proporciones de ^{13}C en los suelos superficiales al reducir los valores de ^{13}C en los insumos de plantas. Boström *et al.* (2007) observaron que este efecto representa aproximadamente el 1 ‰ desde el mantillo de la superficie del suelo hasta los 6 cm de profundidad del suelo.

Además de los estudios de $\delta^{13}\text{C}$, el análisis de los isótopos estables de nitrógeno (N), ^{14}N y ^{15}N con abundancias de 99.63 % y 0.36 % en la naturaleza, respectivamente, (Sulzman, 2007) son importantes porque la dinámica del C está vinculada a la disponibilidad de N en el suelo (Janzen, 2004; Gärdenäs *et al.*, 2011). Se ha observado que la tasa de cambio en el $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo del perfil de suelo está influenciada no solo por la temperatura sino también por la calidad de la hojarasca o mantillo (C: N) del hábitat. Por ejemplo, en hábitats templados sobre un gradiente altitudinal, se mostró que los hábitats con mayores temperaturas (baja altitud) y con entradas de C (hojarasca o mantillo) lábiles, es decir, con relaciones bajas de C: N (< 25:1) son relacionados con un alto cambio de $\delta^{13}\text{C}$ en el perfil de suelo (Garten *et al.*, 2000).

Del mismo modo en que se distribuye la composición isotópica de C en perfiles de suelo, el $\delta^{15}\text{N}$ tiende a incrementar a lo largo del perfil de suelo mientras que la concentración de N (%N) disminuye (Vervaet *et al.*, 2002; Marty *et al.*, 2011). Los cambios en $\delta^{15}\text{N}$ en perfiles de suelo son mucho más pronunciados en comparación con $\delta^{13}\text{C}$. El $\delta^{15}\text{N}$ de la MOS aumenta hasta 10 ‰ con relación a la firma isotópica del mantillo (Högberg, 1997; Boström *et al.*, 2007). El enriquecimiento de $\delta^{15}\text{N}$ en el suelo es causado principalmente por la discriminación de ^{15}N durante la vía de mineralización-captación de la planta acompañado de la lixiviación o volatilización de compuestos de N ricos en ^{14}N y a la acumulación de productos derivados de microbios ricos en ^{15}N (Högberg, 1997).

El $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas es menor con relación al del suelo donde crecen debido principalmente a factores como la discriminación del ^{15}N durante la mineralización del N y durante la captación y asimilación de nitratos y amonios por la raíz de la planta (Makarov, 2009). La diferencia entre el $\delta^{15}\text{N}$ de la planta y el $\delta^{15}\text{N}$ del suelo se conoce como el factor de enriquecimiento de N (FE) ($\text{FE} = \delta^{15}\text{N}_{\text{hoja}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{suelo}}$). El factor de enriquecimiento es útil para comparar los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de diferentes

hábitats normalizando la heterogeneidad espacial de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ del suelo y de esta manera nos indica el estado de N entre hábitats (Charles *et al.*, 2007; Evans, 2007; Pardo *et al.*, 2007).

En hábitats forestales naturales una fuente principal de suministro de C y N al suelo es el mantillo que proviene de la cobertura vegetal *in situ*. Los compuestos orgánicos derivados de la descomposición incompleta del mantillo se incorporan al suelo a través de lixiviación y bioturbación, así también las formas solubles inorgánicas de N derivados de la mineralización (Fahey *et al.*, 2011). Por otro lado, en sistemas agrícolas, la fuente de C y N proviene de la cobertura vegetal nativa anterior, de los restos del cultivo y los fertilizantes orgánicos (Bernoux *et al.*, 1998). De manera típica, la actividad agrícola disminuye el contenido de C orgánico del suelo y la relación de C: N puede ser baja (< 25:1) a razón de la reducción de entradas de C al suelo y al suministro de N mediante fertilizantes que provoca altas tasas de mineralización neta del N (Compton y Boone, 2000).

Se considera que los suelos de bosques templados tienen una alta capacidad de secuestro de C debido al clima frío que prevalece gran parte del año y que restringe la descomposición del mantillo y a los suelos relativamente fértiles en los que se desarrollan (Lal y Lorenz, 2012). Los pastizales alpinos son ecosistemas vulnerables a los efectos del cambio climático debido a su distribución restringida > 3700 m.s.n.m. (Rzedowski, 1975; Maza-Villalobos *et al.*, 2019). En México, los bosques templados cubren un área de 32.5 millones de hectáreas (ha) y los pastizales alpinos un área de 16,471 ha, por lo tanto, los bosques templados y los pastizales alpinos, ocupan el ~16.5 % del territorio nacional (Figura 1) (INEGI, 2005).

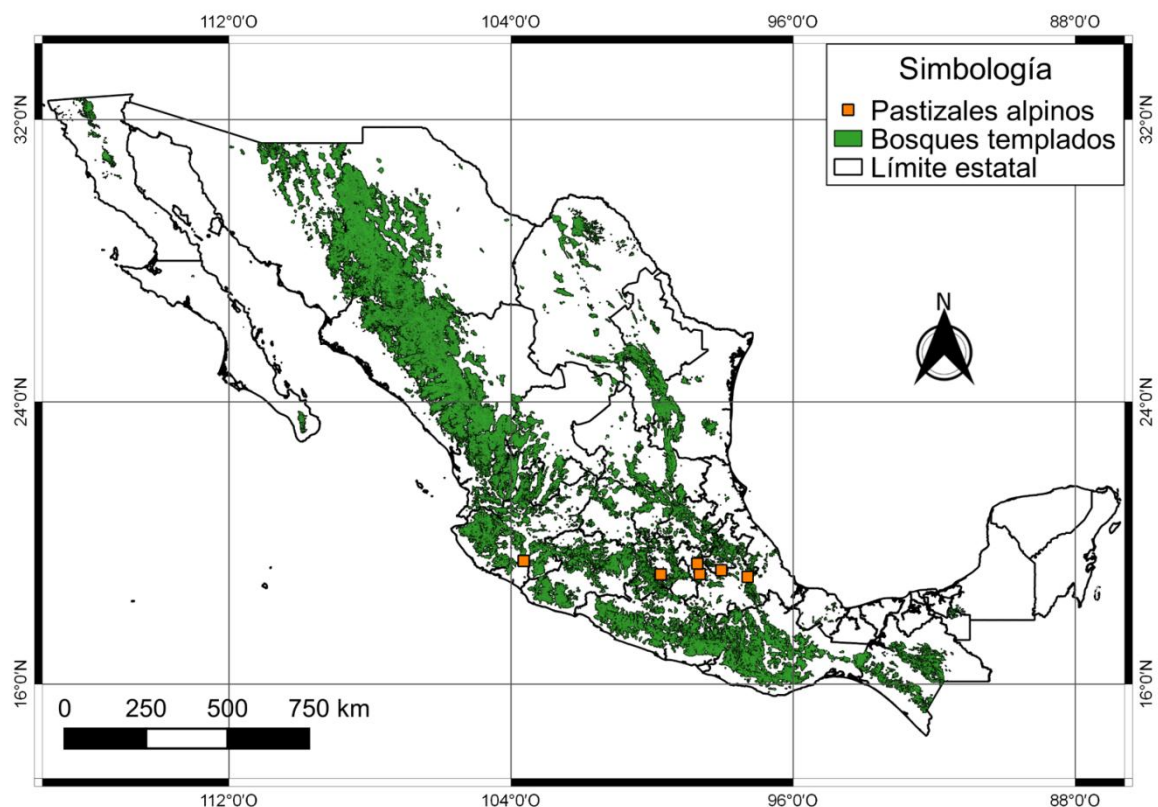


Figura 1. Distribución espacial de los bosques templados (bosques de coníferas y latifoliadas) y pastizales alpinos en México. Los bosques templados se distribuyen en el norte y sur de Baja California, a lo largo de las Sierras Madre Occidental y Oriental, en el Eje Neovolcánico, la Sierra Norte de Oaxaca y en el sur de Chiapas. Los pastizales alpinos se distribuyen en el Nevado de Colima y de Toluca, en el Ajusco, en el Popocatepetl, en el Iztaccíhuatl, en la Malinche y en el pico de Orizaba (Challenger y Soberón, 2008). Elaborado con base en datos vectoriales de uso de suelo y vegetación, escala 1:250000, serie VI (INEGI, 2016).

En el eje Neovolcánico los bosques templados y pastizales alpinos se desarrollan en suelos derivados de materiales de origen ígneo como son los Andosoles (Galicia *et al.*, 2016). A nivel global, los Andosoles presentan una importante acumulación de C orgánico del suelo ($\sim 310 \text{ Mg C ha}^{-1}$), debido a la estabilización de la MOS por la formación de complejos órgano-metálicos (Al/Fe-humus) y órgano-minerales (alófanos) (Johnson-Maynard, 2002). A la fecha, hasta el 50 % de la vegetación primaria de los bosques templados en México ha sido transformada (Sarukhán *et al.*, 2017). En particular, los ecosistemas del Área Natural Protegida del Nevado de Toluca han sido alterados producto de la tala legal e ilegal y cambio de uso del suelo con fines agropecuarios antes de la década de 1970, que provocaron la pérdida del $\sim 15\%$ de área forestal.

2. Justificación.

El estudio de los isótopos estables de C y N en perfiles de suelo nos permite entender las dinámicas y las transformaciones que ocurren en estos elementos a lo largo del tiempo. La interpretación de estos cambios elementales en hábitats naturales y transformados es una herramienta para mejorar y complementar las estrategias de conservación y rehabilitación de los hábitats templados de México.

3. Pregunta de investigación:

¿Cuál es la distribución espacial vertical de $\delta^{13}\text{C}$, %C, $\delta^{15}\text{N}$ y %N en perfiles de suelo de distintos hábitats naturales y transformados del ejido de Santiago Tlacotepec en el Nevado de Toluca, México?

4. Objetivos.

El **objetivo general** de este proyecto es:

Determinar la distribución espacial vertical de $\delta^{13}\text{C}$, %C, $\delta^{15}\text{N}$ y %N en perfiles de suelo de hábitats naturales: *Pinus hartwegii*, *Abies religiosa* y *Festuca tolucensis* (pastizal alpino) y transformados: *P. montezumae* reforestado, una parcela agrícola y *F. tolucensis* perturbado por fuego, distribuidos en el ejido de Santiago Tlacotepec Nevado de Toluca, México.

Los **objetivos particulares de este proyecto son:**

1. Describir la relación entre la concentración total de C (% C) orgánico y los valores de $\delta^{13}\text{C}$, así como la relación entre N (%N) y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en las distintas profundidades del suelo en cada hábitat.
2. Comparar las firmas isotópicas $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ del mantillo con las de las foliares frescas y con la composición isotópica $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de la superficie del suelo (0-15 cm de profundidad) en cada hábitat.

3. Examinar la variabilidad espacial que existe en la distribución de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ del suelo entre nuestros hábitats forestales, y entre el hábitat natural y transformado de pastizal alpino.

5. Las predicciones de este proyecto son:

1. En los perfiles de suelo la concentración de C orgánico (%C) y de N (%N) disminuirán mientras que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ incrementarán a mayor profundidad del suelo debido al enriquecimiento de los isótopos pesados fundamentado en las hipótesis expuestas en la literatura.
2. Las firmas isotópicas $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en el mantillo y en las hojas frescas serán distintas, y por otro lado serán menores con respecto a la firma isotópica del suelo superficial (0 - 15 cm de suelo) como resultado del fraccionamiento isotópico durante las transformaciones de estas fuentes de C y N sobre y dentro del suelo.
3. La distribución de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre los perfiles de suelo de los hábitats forestales será distinta, así como entre los hábitats de pastizal alpino, ya que estará influenciada por la cobertura vegetal dominante (fuente principal de C y N) y/o por la transformación antropogénica.

6. Materiales y métodos.

6.1 Área de estudio.

Este estudio se realizó en el Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca (APFFNT), en el municipio de Toluca, Estado de México (19°07' y 19° 10' N; 99° 43' y 99° 45' O). El APFFNT se distribuye entre los 3000 y los 4680 msnm y presenta un clima templado (CONANP y SEMARNAT, 2016). La temperatura media mínima es de -2.9°C y la temperatura media máxima es de 10.5°C. La precipitación media anual de la región es de 1216 mm (Sistema Meteorológico Nacional, estación No. 00015062). La temporada de lluvias se presenta en verano (julio a septiembre) (Figura 2).

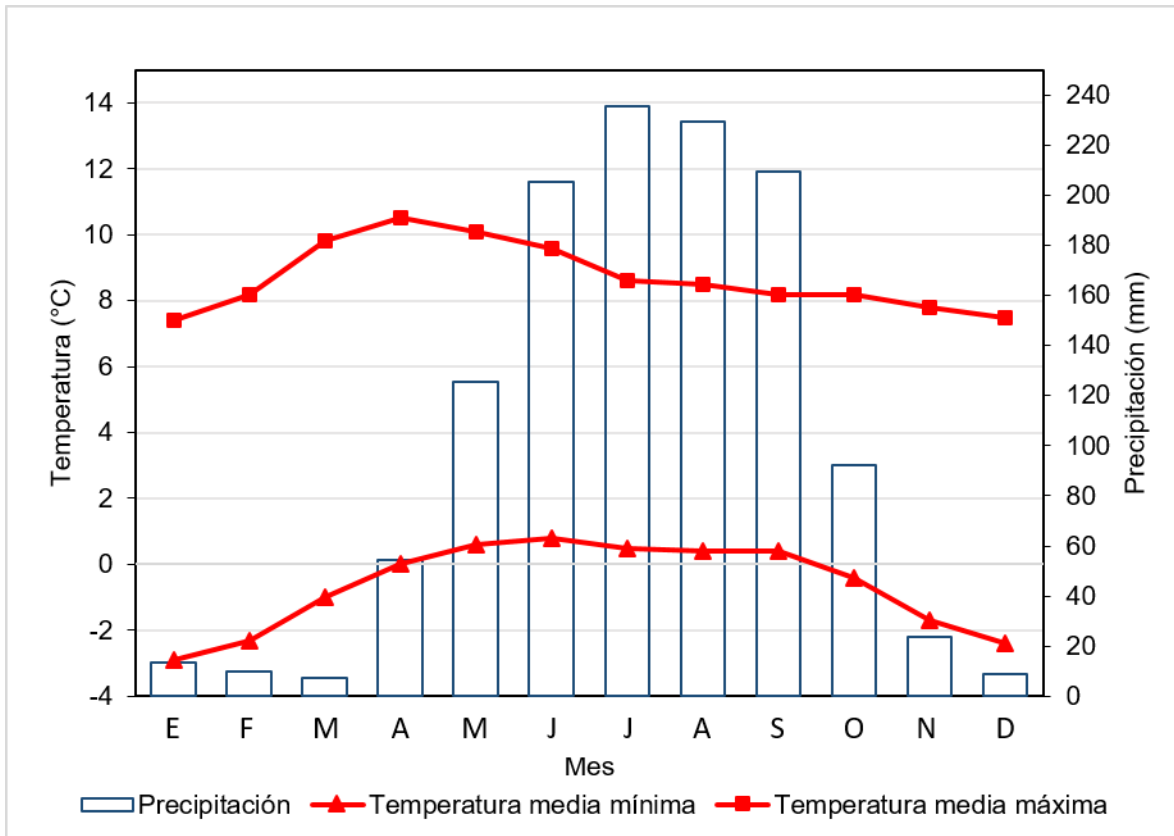


Figura 2. Climograma de la estación No. 00015062 del Nevado de Toluca en el municipio de Zinacantepec, Estado de México (19° 7.11' N; 99° 46.88' O) a una altitud de 4283 msnm durante el periodo de 1981-2010.

El tipo de suelo predominante en el APFFNT son los Andosoles. Éste tipo de suelo, se deriva de cenizas volcánicas, las cuales al intemperizarse en un clima templado dan lugar a la formación de abundantes minerales secundarios no cristalinos principalmente alófanos. Los alófanos junto con la precipitación permiten que el suelo presente una alta capacidad de intercambio catiónico y una baja saturación de bases, lo que facilita la retención de agua y nutrientes para el desarrollo de la vegetación (INEGI, 2000).

Los principales tipos de vegetación en el Nevado de Toluca son los bosques de coníferas y el pastizal alpino. Además de pequeñas porciones de bosques de latifoliadas: *Alnus* spp. (aile) y de *Quercus* spp. (encino). Los bosques del Nevado de Toluca han sufrido una transformación notable. Durante la década de 1960 se deforestaron grandes áreas de bosques (8.3 mil hectáreas) para ser convertidos en zonas agrícolas o de pastoreo. La deforestación junto con la más reciente tala ilegal

ha causado la fragmentación y pérdida de la cobertura arbórea (Mastretta, *et al.*, 2014).

Nuestro estudio abarca tres hábitats naturales y tres transformados en el ejido de Santiago Tlacotepec en el Nevado de Toluca, México. Los hábitats naturales son un bosque de *P. hartwegii* (ocote, pino amarillo, pino chino, pino de las alturas), un bosque de *A. religiosa* (oyamel) y el pastizal o zacatonal alpino también conocido como páramo de altura (*F. toluensis*). Los hábitats perturbados son un bosque de *P. montezumae* (pino real, ocote o pino de Moctezuma) reforestado hace ~30 años, una parcela agrícola y una zona sometida a quemadas controladas cada tres años dominada por *F. toluensis* y (Figura 3).

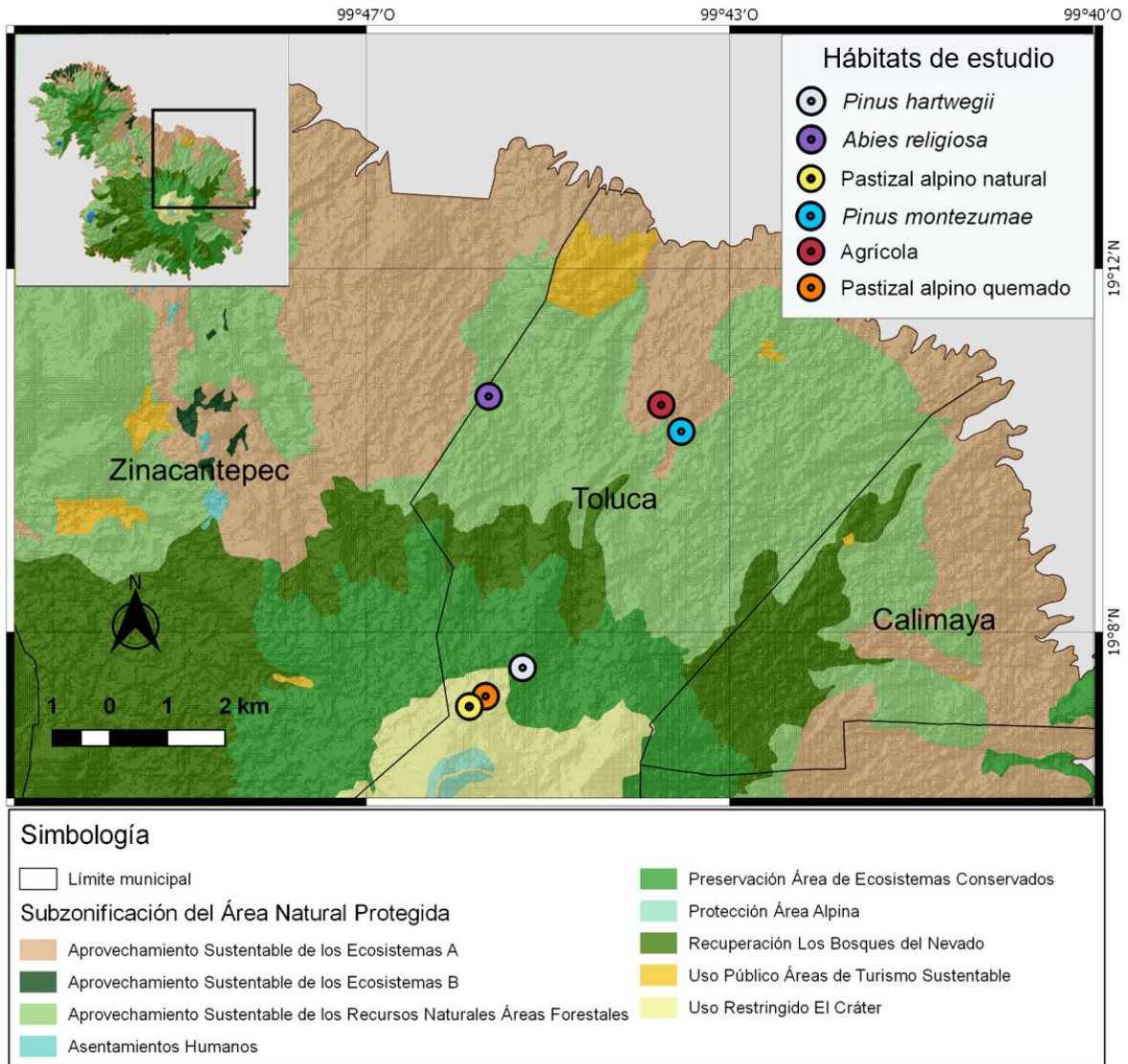


Figura 3. Ubicación geográfica de los hábitats estudiados en la APFFNT. Los ecosistemas A y B incluyen sitios con uso agrícola y pecuario.

Las características de los hábitats de estudio son las siguientes:

a) Hábitat de *P. hartwegii*. Se desarrolla a una altitud de 3958 msnm en suelos con pH de 6.09 ± 0.12 . Fisonómicamente es una comunidad abierta, el estrato arbóreo alcanza entre 20 y 25 metros de altura. El estrato herbáceo tiene una altura promedio de 1 m y se encuentra conformado por gramíneas amacolladas con metabolismo C_3 .

b) Hábitat de *A. religiosa*. Se encuentra a los 3260 msnm. Fisonómicamente es un bosque alto (25 metros de altura) y denso. Se distribuye sobre suelos con pH de 5.92 ± 0.07 .

c) Hábitat de pastizal alpino natural. Se desarrolla como vegetación dominante a los 4193 msnm. La especie dominante es *F. toluensis* sobre suelos con pH de 5.71 ± 0.08 y es el único hábitat de estudio con suelo de tipo Regosol.

d) Hábitat de *P. montezumae*. Se distribuye en una altitud de 3278 msnm. Fue reforestado hace ~30 años por lo que el estrato arbóreo alcanza una altura promedio de 4 metros sobre suelos con pH de 5.85 ± 0.07 . Encontramos un estrato herbáceo conformado por gramíneas con metabolismo C₄.

e) Parcela agrícola. Se sitúa a los 3266 msnm. En ella se practica la rotación de *Solanum tuberosum* (papa) y *Pisum sativum* (chícharo) en periodos de ~5 años para cada planta sobre suelos con pH de 5.18 ± 0.08 .

f) Hábitat de pastizal alpino quemado. Cerca del hábitat de pastizal alpino natural, se encontró una zona quemada de esta vegetación a los 4053 msnm, la cual presenta un pH de 5.37 ± 0.06 del suelo. El inducir fuego cada 3 - 5 años en esta zona es con el fin de instruir a los ejidatarios en el manejo del fuego.

A continuación, presentamos fotografías representativas de cada hábitat:

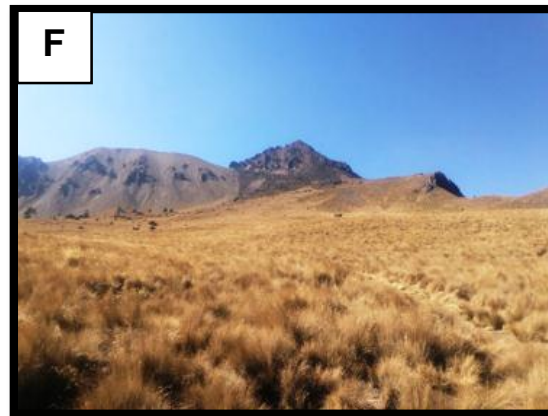


Figura 4. Fotografía de cada hábitat de estudio. **A.** *Pinus hartwegii*, **B.** *Abies religiosa*, **C.** Pastizal alpino natural, **D.** *Pinus montezumae*, **E.** Parcela agrícola y **F.** Pastizal alpino quemado. Fotografías tomadas por Estefanía Barriga Fernández.

6.2 Diseño de muestreo.

6.2.1 Delimitación de parcelas.

En marzo del 2018 se establecieron seis parcelas temporales en cada uno de los hábitats de estudio. El tamaño de las parcelas se definió bajo el criterio del diámetro a la altura del pecho (d.a.p) de los árboles. Para los hábitats de *A. religiosa* y *P. hartwegii*, que presentaron un d.a.p > 50 cm, se establecieron parcelas de 35 x 35 m con una distancia de 50 m entre ellas. En el hábitat de *P. montezumae* donde presentaban un d.a.p de 14 - 50 cm se establecieron parcelas de 25 x 25 m. Para los hábitats de pastizal alpino natural y pastizal alpino quemado situamos parcelas de 50 x 20 m cada 15 m, finalmente para el sitio agrícola se puso una parcela de 300 x 300 m en la cual se ubicaron nueve puntos cada 100 m. Para establecer la posición de las parcelas, georreferenciamos la equina suroeste de cada una.

6.2.2 Colecta de suelos.

En los hábitats dominados por *P. hartwegii*, *A. religiosa* y *P. montezumae*, se colectaron núcleos de suelo de 100 cm de profundidad en la esquina suroeste de cada parcela, con una barrena de 3.2 cm de diámetro (Dormer Soil Samplers; Australia). Para los hábitats de pastizal alpino natural, agrícola y pastizal quemado no se obtuvieron segmentos de suelo de 50 - 100 cm debido a la presencia de roca firme. Antes de colectar los núcleos, se removió la capa de mantillo. Para estudiar los cambios en los isótopos estables de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) en el suelo, se dividió cada núcleo de suelo en intervalos de profundidad de 0 -15, 15 - 30, 30 - 50 cm y para hábitats de *P. hartwegii*, *A. religiosa* y *P. montezumae* también se obtuvo un segmento de 50 – 100 cm. Las muestras de suelo se colectaron en bolsas de plástico selladas y se transportaron al laboratorio de Genética y Ecología del Instituto de Ecología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en donde se mantuvieron en refrigeración a una temperatura de 4°C hasta que fueron procesadas.

6.2.3 Colecta de mantillo y de biomasa aérea viva.

En cada parcela dominada por vegetación arbórea se estableció una sub-parcela de 0.25 x 0.25 m para coleccionar el mantillo (biomasa muerta sobre el suelo). De manera aleatoria se coleccionaron hojas (biomasa aérea viva) de tres distintos árboles maduros por parcela, así como de matas de pastizal coexistiendo con *P. montezumae* y *P. hartwegii*. Dentro de las parcelas de pastizal natural y pastizal quemado establecimos tres sub-parcelas en las que se muestreo biomasa viva aérea (hojas). Las muestras se depositaron en bolsas de papel estraza para llevarlas al laboratorio de Genética y Ecología del Instituto de Ecología de la UNAM para su posterior procesamiento.

6.3 Procesamiento de las muestras en el laboratorio.

Para la medición de la densidad aparente del suelo en los distintos intervalos de profundidad, se utilizó una probeta de 25 ml depositando en ella un volumen de 10 ml de suelo para cada muestra, posteriormente las muestras se secaron en un horno (BG, H-71 México) a 60°C por 4 días. Una vez secas las muestras se pesaron en una balanza (AND EJ Newton Series, New York, USA) para obtener la densidad aparente dividiendo el peso entre el volumen (g/cm³).

Previo al análisis isotópico, las muestras de suelo, mantillo y biomasa aérea (hojas frescas) se secaron en un horno (BG, H-71 México) a 60°C por tres días. Se corroboró que las muestras de suelo no presentaron C inorgánico a través de la aplicación de HCl al 1N (PilskaIn y Paduan, 1992), debido a lo cual la concentración de C orgánico (%C) es equivalente a la concentración del C total. Posteriormente, las muestras se molieron hasta obtener un grano fino por medio de un TissueLyser II de Qiagen (Venlo, Netherlands) con balines de porcelana estériles.

6.3.1 Análisis del %C, % N y de isótopos estables $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$.

Las muestras procesadas se enviaron al Environmental Isotope Laboratory, University of Arizona, Estados Unidos de América para la medición de $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$,

así como la concentración total de carbono (%C) orgánico y de nitrógeno (%N). Las muestras fueron analizadas en un espectrómetro de masas de flujo continuo (Finnigan Delta PlusXL) acoplado a un analizador elemental (Costech). Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y de $\delta^{15}\text{N}$ fueron expresadas en partes por mil (‰) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ó } \delta^{15}\text{N} \text{ ‰} = [(R_{\text{muestra}}/R_{\text{estándar}}) - 1] \times 1000$$

Donde $\delta^{13}\text{C}$ ó $\delta^{15}\text{N}$ es la proporción isotópica ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ó $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) de la muestra en escala delta (δ) en relación a la proporción isotópica de un estándar. $R = (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})$ ó $(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})$. Para las muestras de mantillo y hojas, el estándar de C utilizado fue la composición isotópica del fósil Pee Dee Belemnite Limestone y para N fueron sales de sulfato de amonio (IAEA-N-1 y IAEA-N-2). Para las muestras de suelo se usó acetanilida como estándar para C y N.

6.4. Estimación del contenido total de C y N en los perfiles de suelo.

Para caracterizar a los suelos estudiados en su contenido de C se realizaron los siguientes cálculos de acuerdo a Fourqurean *et al.* (2014):

$$\text{Contenido de C orgánico del suelo (g C / cm}^2\text{)} = \text{densidad aparente del suelo (g / cm}^3\text{)} * \text{concentración de C (1 / 100 ‰)} * \text{espesor del intervalo de profundidad (cm)}$$

Posteriormente, convertimos el contenido de C (g / cm²) a unidades de Kg C / m² de la siguiente manera:

$$\text{Contenido de C (Kg C / m}^2\text{)} = \text{contenido de C (g C / cm}^2\text{)} * (1 \text{ kg / 1,000 g)} * (10,000 \text{ cm}^2 / 1\text{m}^2)$$

Finalmente, se sumó la cantidad de C de los intervalos de profundidad del perfil de suelo para obtener el contenido total de C por perfil. Para la estimación del contenido de N en los perfiles de suelo, se siguió el mismo procedimiento descrito.

7. Análisis estadísticos.

Con el objetivo de caracterizar los suelos estudiados, se comparó la media de la densidad aparente total en el perfil de suelo entre hábitats a través de un Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor y en el caso de encontrar diferencias significativas se realizó la prueba post-hoc de Tukey. Del mismo modo, fueron analizadas las medias de % C y %N totales en el perfil de suelo entre hábitats previo a su transformación a mg C/ g para la aplicación de la prueba ANOVA.

A valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en el perfil de suelo de cada hábitat se les aplicó un ANOVA de un factor, el cual permitió conocer si la distribución espacial vertical de dichas variables era diferente estadísticamente. En el caso de haber diferencias se realizó la prueba de Tukey. Las concentraciones de C (%C) orgánico y N (%N) se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis para conocer si existían cambios significativos a lo largo del perfil de suelo en cada sitio. En caso de encontrar diferencias significativas sometimos los datos a la prueba post-hoc de Dunn.

Para evaluar si las firmas isotópicas de las fuentes de C y N (hojas de la vegetación arbórea dominante, pastizal como sotobosque y mantillo) son diferentes estadísticamente entre ellas, y de la composición isotópica $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ del suelo superficial (0 - 15 cm de suelo) de cada hábitat, los respectivos datos se analizaron con un ANOVA de un factor.

Con el objetivo de estimar la tasa de cambio en el $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo de un perfil de suelo, la cual sirve para reflejar la tasa de descomposición de la MOS (Garten *et al.*, 2000; Powers y Schlesinger, 2002; Garten, 2006; Campbell *et al.*, 2009) se hizo un análisis de regresión lineal ($Y = b(X) + a$) asociando los valores de $\delta^{13}\text{C}$ (Y) con los contenidos de log C (mg C/g) (X) del perfil de suelo para cada hábitat de estudio. En este análisis el coeficiente de regresión (b), representa la tasa de cambio en la abundancia de ^{13}C en el perfil de suelo. Pendientes o coeficientes de regresión más negativos indican mayor tasa de descomposición de la MOS (Charles *et al.*, 2007). Previo al anterior análisis, cada valor de %C se multiplicó por 10 para obtener el contenido de C orgánico como mg C/ g y poder calcular su respectivo logaritmo.

El factor de enriquecimiento (FE) de N para cada hábitat se estimó a partir de la diferencia entre el promedio de $\delta^{15}\text{N}$ foliar y el promedio de $\delta^{15}\text{N}$ en los

primeros 15 cm de suelo. Para los hábitats dominados por *P. hartwegii* y *P. montezumae* en los que encontramos pastizal formando el sotobosque, promediamos la media de $\delta^{15}\text{N}$ de las hojas de la vegetación arbórea con la obtenida en las hojas del pastizal. Posteriormente, se calculó el FE de N de estos hábitats.

Para examinar la distribución espacial de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre hábitats, se aplicó un ANOVA de un factor para comparar cada variable entre los tres hábitats forestales (*P. hartwegii*, *A. religiosa* y *P. montezumae*) en cada intervalo de profundidad (0 - 15, 15 - 30, 30 - 50 y 50 - 100 cm). En caso de haber diferencias significativas corrimos la prueba de Tukey a los datos.

En los hábitats de pastizal alpino (natural y quemado), se compararon los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en las tres profundidades del perfil de suelo (0 - 15, 15 - 30 y 30 - 50 cm) a través de la prueba pareada de t, y las variables de %C y %N con la prueba de Wilcoxon.

Para todos los datos mencionados, se utilizó un nivel de confianza del 95% en el software GraphPad Prism 7.00 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA).

8. Resultados.

Los contenidos de C y de N en los suelos estudiados variaron de 9.27 a 34.49 kg C /m² y de 0.68 a 2.17 kg N /m², respectivamente. Los mayores contenidos se encontraron en los hábitats de *A. religiosa* con 34.49 kg C /m² y 2.17 kg N /m² y en *P. montezumae* con 29.19 kg C /m² y 2.05 kg N /m², seguido del hábitat agrícola con 23.05 kg C /m² y 1.67 kg N /m² y el hábitat de *P. hartwegii* con 15.12 kg C /m² y 0.78 kg N /m². Los suelos de pastizal alpino presentaron los menores contenidos de C y N, siendo inferiores en el pastizal alpino natural (9.27 kg C /m² y 0.68 kg N /m²) en comparación con el suelo del pastizal alpino quemado (13.78 kg C /m² y 1.06 kg N /m²).

La densidad aparente del suelo varió entre hábitats e incrementó con la profundidad del suelo. El pastizal alpino natural presentó la mayor densidad con $0.74 \pm 0.02 \text{ g/cm}^3$ seguido del hábitat de *P. hartwegii*. Por otra parte, los hábitats de

A. religiosa y *P. montezumae* mostraron la menor densidad aparente 0.62 ± 0.03 y 0.62 ± 0.02 g/cm³, respectivamente (Tabla 1; Tabla S1).

La concentración de C (%C) orgánico y de N (N%) total en el perfil de suelo variaron entre los hábitats. Fueron mayores en *A. religiosa* con 5.58 ± 0.85 %C y 0.33 ± 0.04 %N, y en el hábitat agrícola con un promedio de 4.61 ± 0.29 %C y 0.33 ± 0.02 %N, mientras que los hábitats de *P. hartwegii* y pastizal alpino natural presentaron los %C y %N menores: 1.99 ± 0.29 %C, 0.10 ± 0.02 %N y 1.53 ± 0.19 %C, 0.11 ± 0.01 %N, respectivamente (Tabla 1; Tabla S1).

Tabla 1. Medias con error estándar (\pm EE) de la densidad aparente del suelo (g/cm^3), % C y %N en cada intervalo de profundidad del suelo por hábitat. Las medias totales de cada variable que no comparte las mismas letras son significativamente diferentes ($P < 0.05$; prueba de ANOVA de un factor previo a la prueba de Tukey; $n=6$ para todos los hábitats a excepción del agrícola en el que $n=9$) entre hábitats.

Hábitat	Profundidad (cm)	Densidad aparente del suelo (g/cm^3)	%C	%N
<i>Pinus hartwegii</i>	0 - 15	0.61 ± 0.03	3.44 ± 0.39	0.18 ± 0.03
	15 - 30	0.68 ± 0.02	2.39 ± 0.42	0.13 ± 0.02
	30 - 50	0.70 ± 0.03	1.50 ± 0.42	0.08 ± 0.02
	50 - 100	0.79 ± 0.02	0.37 ± 0.15	0.02 ± 0.01
Media \pm EE		0.69 ± 0.02^{ab}	1.99 ± 0.29^{ac}	0.10 ± 0.02^a
<i>Abies religiosa</i>	0 - 15	0.52 ± 0.03	10.98 ± 1.83	0.62 ± 0.08
	15 - 30	0.60 ± 0.04	6.79 ± 1.13	0.42 ± 0.06
	30 - 50	0.65 ± 0.06	3.14 ± 0.60	0.20 ± 0.03
	50 - 100	0.72 ± 0.06	1.41 ± 0.20	0.08 ± 0.01
Media \pm EE		0.62 ± 0.03^a	5.58 ± 0.85^b	0.33 ± 0.04^b
Pastizal alpino natural	0 - 15	0.74 ± 0.05	2.08 ± 0.28	0.15 ± 0.02
	15 - 30	0.74 ± 0.05	1.67 ± 0.16	0.13 ± 0.01
	30 - 50	0.75 ± 0.04	0.83 ± 0.21	0.06 ± 0.01
Media \pm EE		0.74 ± 0.02^b	1.53 ± 0.19^a	0.11 ± 0.01^a
<i>Pinus montezumae</i>	0 - 15	0.54 ± 0.02	6.49 ± 0.43	0.50 ± 0.03
	15 - 30	0.62 ± 0.04	4.94 ± 0.19	0.37 ± 0.02
	30 - 50	0.59 ± 0.04	3.12 ± 0.42	0.23 ± 0.03
	50 - 100	0.74 ± 0.04	1.37 ± 0.24	0.09 ± 0.02
Media \pm EE		0.62 ± 0.02^a	3.98 ± 0.43^{bc}	0.30 ± 0.03^{bc}
Agrícola	0 - 15	0.75 ± 0.05	5.52 ± 0.37	0.41 ± 0.03
	15 - 30	0.61 ± 0.02	4.79 ± 0.37	0.34 ± 0.03
	30 - 50	0.63 ± 0.03	3.51 ± 0.55	0.24 ± 0.03
Media \pm EE		0.66 ± 0.02^{ab}	4.61 ± 0.29^{bd}	0.33 ± 0.02^{bc}
Pastizal alpino quemado	0 - 15	0.66 ± 0.06	3.29 ± 0.40	0.22 ± 0.02
	15 - 30	0.67 ± 0.04	2.59 ± 0.33	0.19 ± 0.02
	30 - 50	0.67 ± 0.03	2.28 ± 0.46	0.18 ± 0.04
Media \pm EE		0.67 ± 0.02^{ab}	2.72 ± 0.24^{acd}	0.20 ± 0.02^{ac}

8.1 Distribución espacial vertical de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$.

El análisis Kruskal-Wallis mostró que, en los hábitats naturales, i.e. *P. hartwegii*, *A. religiosa* y pastizal alpino natural, el %C disminuyó significativamente con el incremento en la profundidad del suelo (Figura 5A-C; Tabla S2). Por otro lado, el %C de los suelos de los hábitats transformados disminuyó significativamente para *P. montezumae* y para el sitio agrícola (Figura 5D-E). La variación del %C en el suelo del hábitat de pastizal alpino quemado no fue estadísticamente significativo ($p=0.2901$) (Figura 5F).

En los hábitats dominados por *A. religiosa*, pastizal alpino natural y el hábitat agrícola, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ se incrementaron significativamente con la profundidad del suelo ($p<0.05$) (Figura 5B, C, E; Tabla S3). Las variaciones de $\delta^{13}\text{C}$ en el suelo de los hábitats dominados por *P. hartwegii*, *P. montezumae* y pastizal alpino quemado no fueron estadísticamente diferentes (Figura 5A, D, F; Tabla S3).

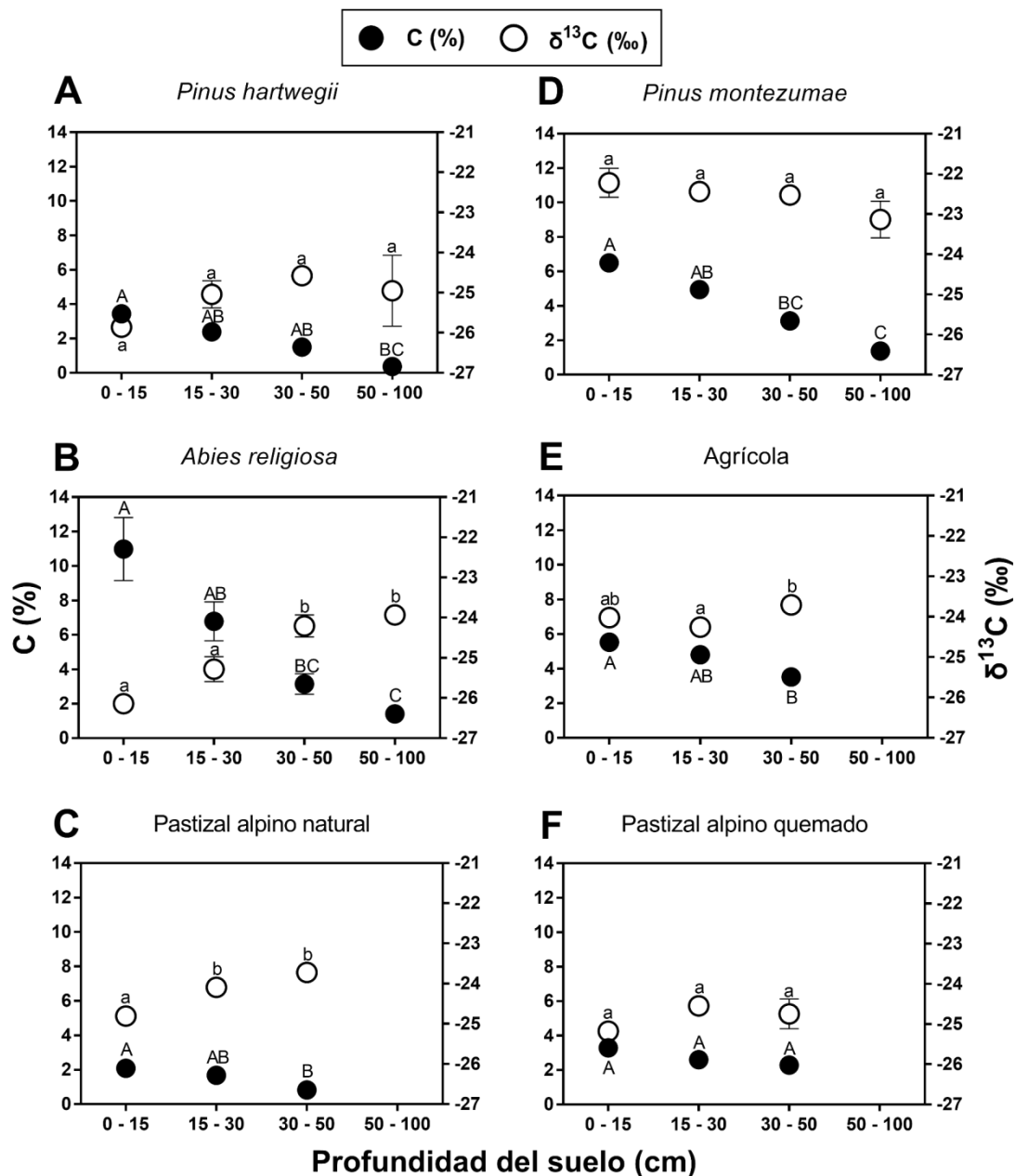


Figura 5. Distribución de %C y δ¹³C a lo largo del perfil de suelo para A) *Pinus hartwegii*, B) *Abies religiosa*, C) pastizal natural, D) *Pinus montezumae*, E) parcela agrícola y F) pastizal quemado. Para los hábitats de pastizal natural, agrícola y pastizal quemado no se obtuvieron segmentos de suelo de 50 - 100 cm debido a la presencia de roca firme. Los puntos representan la media y el error estándar (± EE) de un número de muestras de 6 a 8 por hábitat. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en el % C y letras minúsculas distintas indican diferencias en δ¹³C (P < 0.05; Kruskal-Wallis seguido de la prueba de Dunn para %C; y ANOVA de un factor seguido de la prueba Tukey para δ¹³C) en el perfil de suelo. Para mayor claridad de los símbolos, algunas barras de los ± EE no se muestran.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de Kruskal-Wallis, en todos los hábitats naturales, y transformados de *P. montezumae* y agrícola el % N disminuyó significativamente con la profundidad del suelo ($p < 0.05$) (Figura 6A, B, C, D y E; Tabla S2). Mientras que para el hábitat de pastizal alpino quemado las variaciones del %N en el suelo no fueron estadísticamente significativas (Figura 6F).

Con respecto a las firmas isotópicas de N del suelo, estas aumentaron significativamente a mayor profundidad (Figura 6A, B, C, D y E; Tabla S3) en los hábitats de *P. hartwegii*, *Abies religiosa*, *Pinus montezumae*, agrícola y pastizal alpino natural. La variación de $\delta^{15}\text{N}$ en el perfil de suelo del pastizal alpino quemado no fue estadísticamente significativa (Figura 6F; Tabla S3).

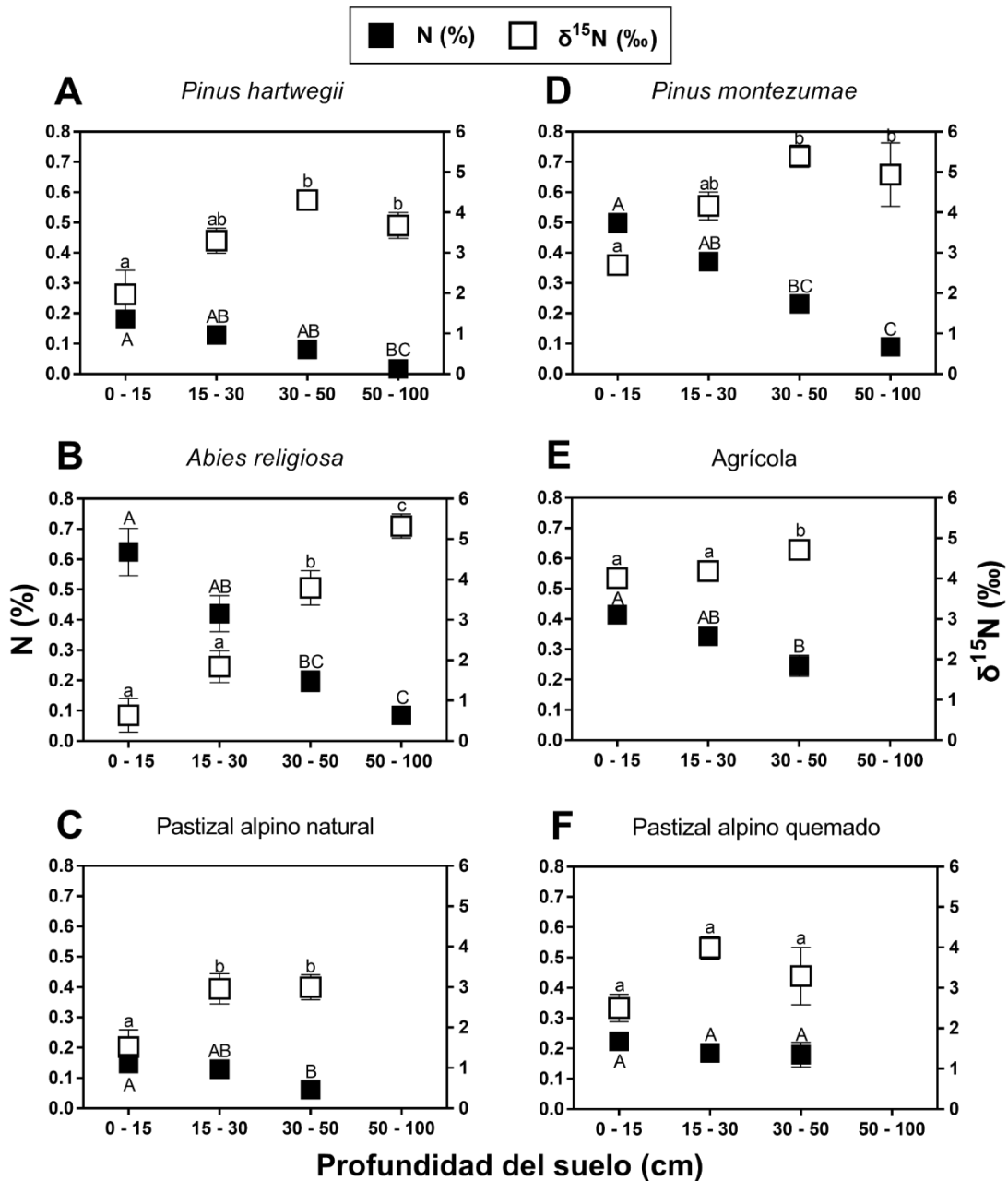


Figura 6. Distribución de %N y $\delta^{15}\text{N}$ a lo largo del perfil de suelo para A) *Pinus hartwegii*, B) *Abies religiosa*, C) pastizal natural, D) *Pinus montezumae*, E) parcela agrícola y F) pastizal quemado. Para los hábitats de pastizal natural, agrícola y pastizal quemado no se obtuvieron segmentos de suelo de 50 - 100 cm debido a la presencia de roca firme. Los puntos representan la media y el error estándar (\pm EE) de un número de muestras de 6 a 8 por hábitat. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en el % N y letras minúsculas distintas indican diferencias en $\delta^{15}\text{N}$ ($P < 0.05$; Kruskal-Wallis seguido de la prueba de Dunn para %N; y ANOVA de un factor seguido de la prueba Tukey para $\delta^{15}\text{N}$) en el perfil de suelo. Para mayor claridad de los símbolos, algunas barras de los \pm EE no se muestran.

De acuerdo con la prueba de Tukey, en todos los hábitats naturales y transformados, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las fuentes de C del suelo i. e. hojas frescas y/o pastizal asociado y/o mantillo fueron significativamente menores ($p < 0.05$) con relación a la firma isotópica de C del suelo superficial (0 - 15 cm) (Figura 7A, B, C y E; Tabla S4). Además, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las hojas para los hábitats de *P. hartwegii*, *A. religiosa* y *P. montezumae* fueron significativamente menores ($p < 0.05$) con respecto al $\delta^{13}\text{C}$ del mantillo (Figura 7A, B, D; Tabla S4). Por otro lado, para el hábitat de *P. montezumae* el valor de $\delta^{13}\text{C}$ en el pastizal asociado fue significativamente mayor con relación a los $\delta^{13}\text{C}$ de las fuentes de C y a la firma isotópica del suelo superficial (Figura 7D, Tabla S4), mientras que el $\delta^{13}\text{C}$ del pastizal asociado en *P. hartwegii* fue comparable con el del mantillo presente en el hábitat (Figura 7A; Tabla S4).

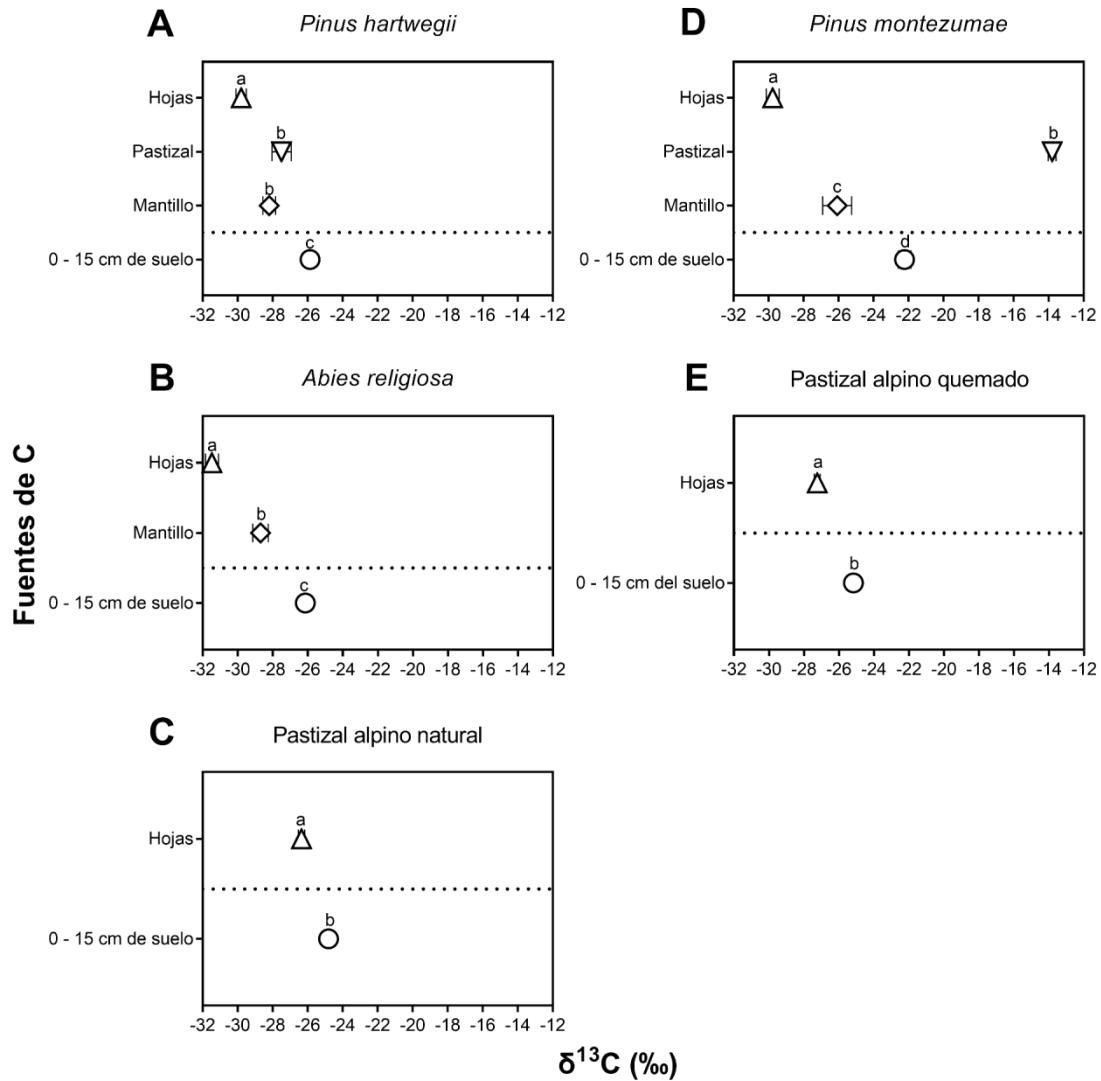


Figura 7. Medias con error estándar (\pm EE) de $\delta^{13}\text{C}$ de las fuentes de C al suelo consideradas para A) *Pinus hartwegii*, B) *Abies religiosa*, C) pastizal alpino natural, D) *Pinus montezumae* y E) pastizal alpino quemado. En cada hábitat, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ del suelo superficial (0-15 cm de profundidad) y de las distintas fuentes de C que no comparte las mismas letras son significativamente diferentes ($P < 0.05$; prueba de ANOVA de un factor previo a la prueba de Tukey). Para mayor claridad de los símbolos, algunas barras de los \pm EE no se muestran.

La prueba de Tukey indica que en todos los hábitats estudiados el $\delta^{15}\text{N}$ de las fuentes de N, i.e. hojas y/o pastizal asociado y/o mantillo fueron significativamente menores ($p < 0.05$) que el $\delta^{15}\text{N}$ de los primeros 15 cm de suelo (Figura 8A, B, C, D y E; Tabla S4). Por otra parte, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre las distintas fuentes de N en *Pinus hartwegii*, *Abies religiosa* y *P. montezumae* no fueron diferentes estadísticamente (Figura 8A, B y D; Tabla S4).

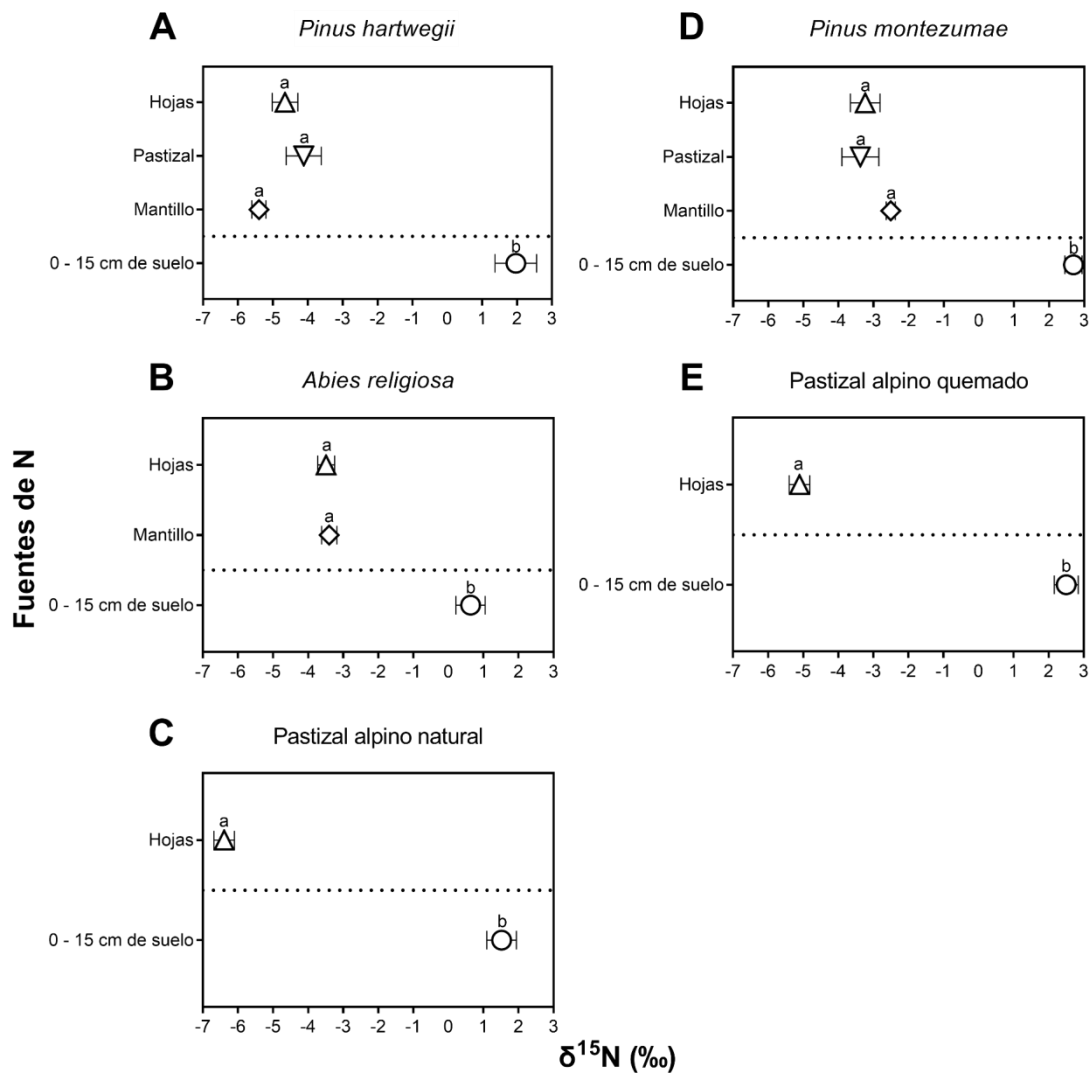


Figura 8. Medias con error estándar (\pm EE) de $\delta^{15}N$ de las fuentes de N al suelo consideradas para A) *Pinus hartwegii*, B) *Abies religiosa*, C) pastizal alpino natural, D) *Pinus montezumae* y E) pastizal alpino quemado. En cada hábitat, los valores de $\delta^{15}N$ del suelo superficial (0-15 cm de profundidad) y de las distintas fuentes de C que no comparte las mismas letras son significativamente diferentes ($P < 0.05$; prueba de ANOVA de un factor seguido de la prueba de Tukey). Para mayor claridad de los símbolos, algunas barras de los \pm EE no se muestran.

El análisis de regresión lineal mostró que, en los hábitats de *A. religiosa*, pastizal alpino natural, pastizal alpino quemado y agrícola existe una relación estadísticamente significativa entre el %C y los valores de $\delta^{13}C$ en todas las profundidades de suelo estudiadas, ésta fue una relación negativa, lo que significa que los valores de $\delta^{13}C$ disminuyen conforme aumenta el %C orgánico (Figura 9B, C, E y F).

El hábitat de *A. religiosa* presentó la mayor tasa de cambio en el $\delta^{13}\text{C}$ ($y = -2.13x + b$), mientras que el hábitat de pastizal alpino natural presentó la menor ($y = -0.92x + b$). Por otro lado, en los hábitats de *P. hartwegii* y *P. montezumae* la tasa de cambio del $\delta^{13}\text{C}$ no fue estadísticamente significativa a lo largo del perfil (Figura 9A y D).

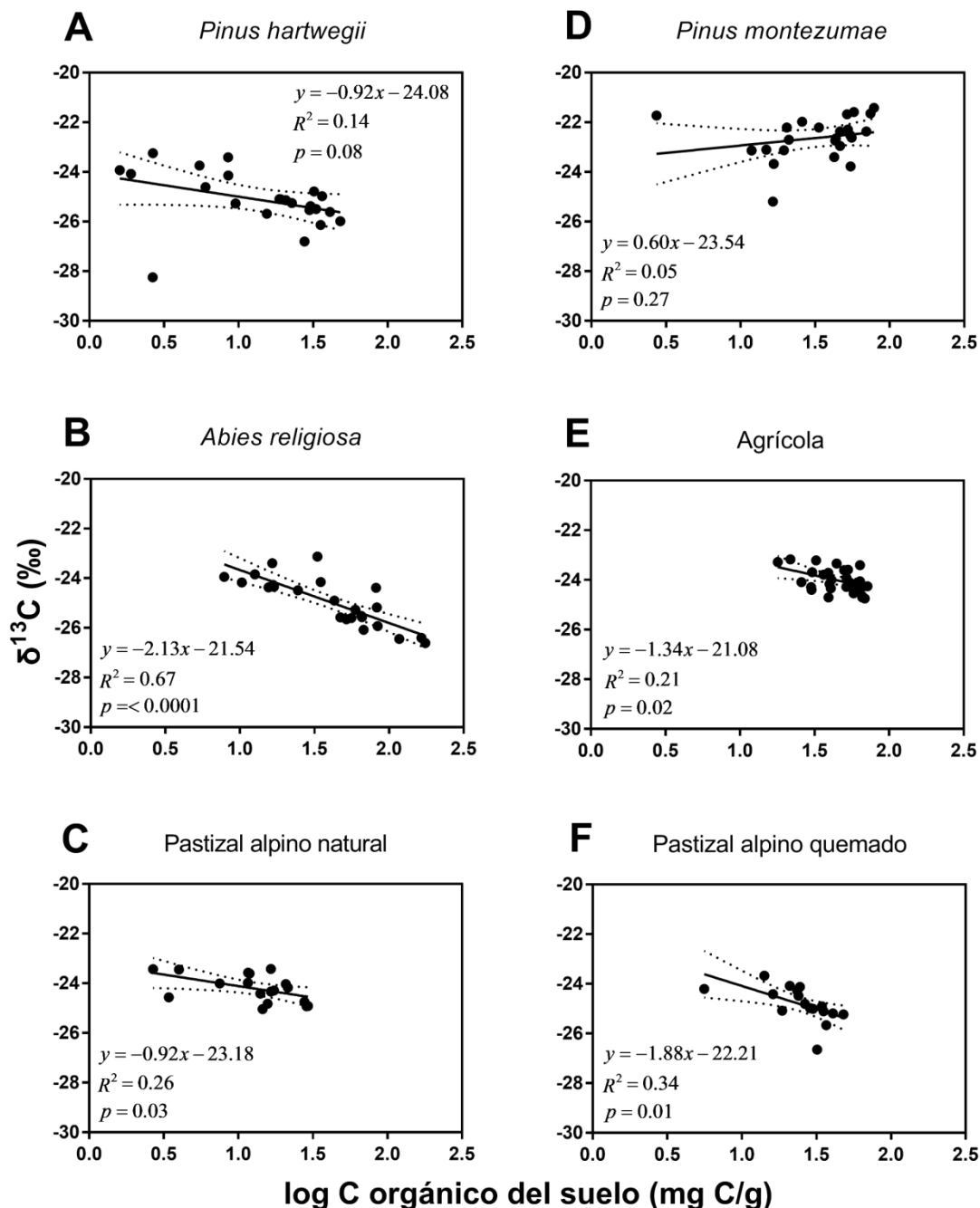


Figura 9. Regresión lineal de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y del log de C orgánico (mg C/g) a lo largo de los perfiles de suelo para A) *Pinus hartwegii*, B) *Abies religiosa*, C) pastizal natural, D) *Pinus montezumae*, E) parcela agrícola y F) pastizal quemado. La banda de confianza se representa con líneas punteadas (95%) y la recta de regresión con línea continua.

Acorde al análisis de Kruskal-Wallis la relación C: N presente en las hojas frescas de *P. hartwegii* fue menor a las encontradas en el pastizal y el mantillo de este hábitat (Tabla 2; Tabla S5). Por otra parte, en el hábitat de *P. montezumae* las proporciones C: N en hojas frescas, pastizal y mantillo no fueron diferentes estadísticamente ($p= 0.0557$).

Para el hábitat de *A. religiosa*, la relación C: N de las hojas frescas fue significativamente mayor a la del mantillo (Tabla 2; Tabla S5).

Tabla 2. Media con error estándar (\pm EE) de la relación C: N de las fuentes de C y N en cada hábitat. Los valores de C: N que no comparten las mismas letras entre fuentes son significativamente diferentes ($P < 0.05$; Kruskal-Wallis seguido de la prueba de Dunn para las fuentes de *P. hartwegii* y *P. montezumae*; prueba de Mann Whitney para las fuentes de *A. religiosa*; $n=3$ para hojas y $n=6$ para pastizal y mantillo).

Hábitat	C: N		
	Hojas	Pastizal	Mantillo
<i>Pinus hartwegii</i>	31.46 \pm 1.23 ^a	51.95 \pm 2.58 ^{ab}	76.94 \pm 10.75 ^b
<i>Abies religiosa</i>	43.16 \pm 1.48 ^a	-	35.95 \pm 2.20 ^b
Pastizal alpino natural	113.72 \pm 8.46	-	-
<i>Pinus montezumae</i>	44.42 \pm 1.05 ^a	43.66 \pm 1.29 ^a	68.24 \pm 9.14 ^a
Pastizal alpino quemado	76.36 \pm 4.93	-	-

8.2 Distribución espacial de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre hábitats.

De acuerdo al ANOVA de un factor, se encontró que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ son diferentes estadísticamente ($p < 0.05$) entre los hábitats forestales i. e. *P. hartwegii*, *A. religiosa* y *P. montezumae* en las profundidades de 0 -15, 15 -30 y 30 - 50 cm de suelo (Tabla 3; Tabla S6). El hábitat de *P. montezumae* presentó los valores significativamente mayores de $\delta^{13}\text{C}$ en los primeros tres intervalos de profundidad con respecto a los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en los hábitats de *P. hartwegii* y *A. religiosa*

En la profundidad de 50 -100 cm de suelo los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de los hábitats forestales no difirieron estadísticamente (Tabla 3; Tabla S6).

Tabla 3. Medias con error estándar (\pm EE) de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en el perfil de suelo de cada hábitat forestal. Medias en la misma columna con diferente letra indican diferencias significativas ($P < 0.05$; ANOVA de un factor previo a la prueba de Tukey).

Hábitat	Profundidad del suelo			
	0 - 15 cm	15 - 30 cm	30 - 50 cm	50 - 100 cm
<i>Pinus hartwegii</i>	-25.86 \pm 0.24 ^a	-25.04 \pm 0.34 ^a	-24.58 \pm 0.22 ^a	-24.95 \pm 0.88 ^a
<i>Abies religiosa</i>	-26.14 \pm 0.14 ^a	-25.28 \pm 0.31 ^a	-24.21 \pm 0.28 ^a	-23.93 \pm 0.15 ^a
<i>Pinus montezumae</i>	-22.22 \pm 0.36 ^b	-22.44 \pm 0.16 ^b	-22.53 \pm 0.21 ^b	-23.33 \pm 0.46 ^a

El resultado del ANOVA de un factor indica que los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en las profundidades de 0 -15, 15 -30 y 30 - 50 cm entre los hábitats forestales son diferentes estadísticamente, con los menores valores en *A. religiosa* en las tres profundidades de suelo (Tabla 4; $p < 0.05$; Tabla S6).

En la profundidad de 50 - 100 cm de suelo los valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre los hábitats forestales, no fueron estadísticamente significativos (Tabla 4; Tabla S6).

Tabla 4. Medias con error estándar (\pm EE) de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en el perfil de suelo de cada hábitat forestal. Medias en la misma columna con diferente letra indican diferencias significativas ($P < 0.05$; ANOVA de un factor previo a la prueba de Tukey).

Hábitat	Profundidad del suelo			
	0 - 15 cm	15 - 30 cm	30 - 50 cm	50 - 100 cm
<i>Pinus hartwegii</i>	1.97 \pm 0.59 ^{ab}	3.30 \pm 0.31 ^a	4.30 \pm 0.19 ^{ab}	3.67 \pm 0.32 ^a
<i>Abies religiosa</i>	0.64 \pm 0.41 ^a	1.84 \pm 0.40 ^b	3.79 \pm 0.43 ^a	5.32 \pm 0.30 ^a
<i>Pinus montezumae</i>	2.70 \pm 0.23 ^b	4.16 \pm 0.35 ^a	5.39 \pm 0.28 ^b	4.94 \pm 0.78 ^a

La prueba de Tukey muestra que el factor de enriquecimiento (FE) de N es significativamente mayor en el hábitat de *A. religiosa* con respecto al presentado en *P. hartwegii* y en *P. montezumae* (Tabla 5; $p < 0.05$; Tabla S7), por lo que en este hábitat hay mayor disponibilidad de N en comparación con los otros hábitats forestales.

Tabla 5. Media con error estándar (\pm EE) del Factor de enriquecimiento (FE) de N ($\text{FE} = \delta^{15}\text{N}_{\text{hoja}} - \delta^{15}\text{N}_{15 \text{ cm de suelo}}$) para cada hábitat forestal. Los valores de FE N que no comparten las mismas letras son significativamente diferentes ($P < 0.05$; prueba de ANOVA de un factor seguido de la prueba de Tukey; $n=6$).

Hábitat	Factor de enriquecimiento (FE) de N
<i>Pinus hartwegii</i>	-6.35 \pm 0.59 ^a
<i>Abies religiosa</i>	-4.13 \pm 0.45 ^b
<i>Pinus montezumae</i>	-6.00 \pm 0.33 ^a

Las pruebas de t pareadas sugieren que el $\delta^{13}\text{C}$ de los primeros 15 cm de suelo en el pastizal alpino natural es significativamente mayor con relación al del hábitat de pastizal alpino quemado (Tabla 6; $p < 0.05$; Tabla S8). En cuanto a la variación de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre los perfiles de suelo de ambos hábitats de pastizal alpino, esta no fue estadísticamente significativa (Tabla 6; Tabla S8).

Por otra parte, las pruebas de Wilcoxon mostraron que el %C en el suelo es mayor en el pastizal alpino quemado en los primeros 15 cm de suelo en comparación con el presentado en el pastizal alpino natural (Tabla 6; Tabla S8), mientras que a mayor profundidad de suelo el % C es igual estadísticamente en los dos hábitats. En el caso del %N en el suelo entre estos hábitats, no es diferente estadísticamente ($p < 0.05$) (Tabla S8).

El Factor de enriquecimiento del N fue estadísticamente ($p < 0.05$) igual en ambos hábitats del pastizal alpino (Tabla 6; Tabla S7).

Tabla 6. Medias con error estándar (\pm EE) de % C, $\delta^{13}\text{C}$, %N, $\delta^{15}\text{N}$ y Factor de enriquecimiento (FE) de N en el perfil de suelo de los hábitats de pastizal alpino natural y quemado. Medias con diferente letra de acuerdo a la profundidad del suelo entre hábitats indican diferencias significativas ($P < 0.05$; Prueba de t pareada para $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ y FE N; y prueba Wilcoxon para % C y %N; $n=6$).

Pastizal alpino y profundidad	%C	$\delta^{13}\text{C}$	%N	$\delta^{15}\text{N}$	FE N
Natural					
0 - 15 cm	2.16 ± 0.31^a	-24.81 ± 0.09^a	0.15 ± 0.02^a	1.41 ± 0.46^a	-6.42 ± 0.30^a
15 - 30 cm	1.66 ± 0.17^a	-24.06 ± 0.11^a	0.13 ± 0.01^a	3.01 ± 0.42^a	
30 - 50 cm	0.77 ± 0.23^a	-23.74 ± 0.19^a	0.06 ± 0.02^a	3.03 ± 0.36^a	
Quemado					
0 - 15 cm	3.29 ± 0.40^b	-25.18 ± 0.10^b	0.22 ± 0.02^a	2.50 ± 0.34^a	-5.10 ± 0.36^a
15 - 30 cm	2.59 ± 0.33^a	-24.55 ± 0.16^a	0.19 ± 0.02^a	3.99 ± 0.28^a	
30 - 50 cm	2.28 ± 0.46^a	-24.75 ± 0.37^a	0.18 ± 0.04^a	3.29 ± 0.71^a	

9. Discusión.

Los Andosoles se caracterizan entre otras cosas por presentar altas concentraciones de C (%C) y de N (%N) y densidades aparentes bajas $< 0.9 \text{ g/cm}^3$ (Nanzyo, 2002). El promedio del contenido de C y de N en los perfiles de suelo de los hábitats de *A. religiosa* y *P. montezumae* fueron mayores a los promedios reportados por Batjes (2014) en Andosoles. Del mismo modo, el contenido de C y N en el suelo del hábitat agrícola fue superado con respecto al reportado por este mismo autor para profundidades de 0 – 50 cm, y fue todo lo contrario para los presentados por los suelos de los hábitats de pastizal alpino.

El promedio de %C y %N en suelos del hábitat dominado por *A. religiosa*, fueron superiores a los reportados por Drijber y Lowe (1990) para el mismo tipo de vegetación en el volcán Iztaccíhuatl, y a los registrados en el ejido El conejo, en el volcán Cofre de Perote (Gamboa y Galicia, 2012), en donde la vegetación dominante son las coníferas. Por otro lado, en ambos trabajos mencionados, se registraron porcentajes mayores de C y N para hábitats de *P. hartwegii* y pastizal alpino (dominado por *F. toluensis* y *F. amplissima*) que en los encontrados para los mismos hábitats en este estudio.

Los suelos estudiados presentaron densidades aparentes bajas, debido a la alta porosidad como resultado de la acumulación de agregados que presentan los Andosoles (Nanzyo, 2002). Estas densidades aparentes son similares a las registradas por Gamboa y Galicia (2012) en suelos agrícolas, reforestados y de pastizales subalpinos en el volcán Cofre de Perote, y como las registradas en hábitats de *A. religiosa* y *P. montezumae* degradados de la Sierra de Chichinauhtzin (Peña-Ramírez *et al.*, 2009).

Las firmas isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ del mantillo y del follaje de la vegetación dominante y del sotobosque (que son las fuentes de C y N al suelo), fueron menores comparadas a la firma isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los primeros 15 cm de suelo en todos los hábitats, esto confirma que existe fraccionamiento isotópico en las fuentes de C y N al incorporarse al suelo y concuerda con la idea de que existe una preferencia para metabolizar el isótopo más ligero, i.e. ^{12}C y ^{14}N por parte de la

microbiota involucrada en la mineralización del C y el N (Garten *et al.*, 2000; Garten, 2006; Boström *et al.*, 2007).

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las hojas frescas de la vegetación dominante de los hábitats forestales (*P. hartwegii*, *A. religiosa* y *P. montezumae*) fueron significativamente menores al del mantillo, este cambio isotópico sucede como consecuencia de mecanismos que varían en tiempo como: reabsorción de nutrientes enriquecidos en ^{12}C de la hoja a otros órganos vivos de la planta durante la senescencia foliar (Ehleringer *et al.*, 2000), y a la discriminación isotópica contra ^{13}C durante los procesos de descomposición y mineralización de los residuos orgánicos sobre el suelo y/o a la incorporación de biomasa fúngica enriquecida en ^{13}C en la capa de mantillo como lo registraron Boström *et al.* (2007).

Por otra parte, las firmas isotópicas de $\delta^{15}\text{N}$ de las fuentes de N al suelo de los hábitats forestales resultaron ser similares entre ellas. Este hecho, permite inferir en parte que no existe una reabsorción importante de N durante la senescencia foliar, ya que McGroddy *et al.* 2004 observaron en coníferas la inmovilidad del N a causa de la preferible reabsorción de compuestos secundarios de C (resinas, taninos y ceras), aunque también es posible que no haya una discriminación significativa en contra del ^{15}N durante la senescencia foliar en los hábitats de *P. hartwegii* y *P. montezumae* porque los % de N en sus hojas frescas fueron mayores en comparación con el de la capa de mantillo.

Las firmas de $\delta^{15}\text{N}$ en las hojas y/o de la capa de mantillo fueron significativamente menores al valor de $\delta^{15}\text{N}$ de los 15 cm de suelo en todos los hábitats. Conforme a Baeza-Guzmán *et al.* (2017) y Oros-Ortega *et al.* 2017, un posible factor que contribuyó a menores valores de $\delta^{15}\text{N}$ en las hojas frescas de los hábitats dominados por coníferas fue la presencia de ectomicorrizas sobre el sistema radicular de los árboles, las cuales proveen N agotado en ^{15}N a las plantas hospedadoras mientras que esta biomasa fúngica retiene al ^{15}N para la producción de biomasa (Taylor *et al.*, 2003).

En los perfiles de suelo de todos los hábitats estudiados (naturales y transformados), a excepción del hábitat de *P. montezumae*, el $\delta^{13}\text{C}$ aumentó al disminuir el %C con la profundidad (si bien no fue significativo para todos los

hábitats, sí hubo una variación), lo cual es consistente con la tendencia observada en estudios previos (Garten *et al.*, 2000; Accoe *et al.*, 2002; Boström *et al.*, 2007; Marty 2011; Acton *et al.*, 2013; Brunn *et al.*, 2014; Marty *et al.*, 2015). Ehleringer *et al.*, (2000) propusieron distintos mecanismos responsables del enriquecimiento de $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo del perfil de suelo, sin embargo, la mayoría de los estudios señalan a la discriminación de ^{13}C durante la descomposición de la MOS, como principal contribuyente a la acumulación de ^{13}C (Accoe *et al.*, 2002; Garten, 2006; Acton *et al.*, 2013).

De igual forma, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en el suelo aumentaron con la disminución del % N, pero en este caso para todos los hábitats estudiados. De acuerdo a Hobbie y Ouimette (2009) y Makarov (2009), esta tendencia se ha atribuido a la preferencial degradación biológica de los compuestos de N ricos en ^{14}N y su posterior pérdida por volatilización a la atmósfera como NH_3 (amoníaco), N_2 (N molecular) y N_2O (óxido nitroso) durante la mineralización del N orgánico o por lixiviación de NO_3^- (nitratos). De esta manera, se presenta la progresiva acumulación de ^{15}N a lo largo de una continua entrada de residuos orgánicos frescos hasta componentes con mayor grado de humificación y edad en el suelo (Trumbore, 2000).

Las tasas de cambio del $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo del perfil de suelo están relacionadas al fraccionamiento isotópico durante las transformaciones del C orgánico (Acton *et al.*, 2013). En este estudio, la tasa de cambio del $\delta^{13}\text{C}$ fue distinta en los hábitats estudiados, debido a que ésta depende de la relación C: N del mantillo como sugieren Garten *et al.* (2000). La relación C: N de los residuos orgánicos se ha utilizado como un índice que define la susceptibilidad de estos a la descomposición en función de su composición química. Una baja relación C: N (<25:1) promueve la rápida descomposición y mineralización del C y N, mientras que relaciones C: N mayores (>30:1) pueden provocar la inmovilización de estos elementos por la microbiota en el suelo (Liu y Sun, 2013). Por lo tanto, la relación no significativa entre el contenido de C orgánico y los valores de $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo del perfil del suelo en el hábitat de *P. hartwegii* pudo deberse a la alta relación C: N del mantillo (C: N= 76.94) que representó una limitante en la descomposición de entradas de C en el al suelo en profundidades superiores a los 15 cm de suelo debido a la baja disponibilidad de N (Joffre *et al.*, 2001; Janssens *et al.*, 2010; Marty *et al.*, 2015) y

de esta manera el fraccionamiento cinético de C es probablemente lento (Gautam *et al.*, 2017).

Por otra parte, la relación del mantillo C: N igual a 35.95 permitió la más alta y significativa tasa de cambio del $\delta^{13}\text{C}$ en el perfil de suelo del hábitat de *A. religiosa*, en donde se atribuye que existe más rápida degradación de los residuos orgánicos frescos que contienen los nutrientes en las cantidades relativamente suficientes para la microbiota edáfica y que reduce la posibilidad de que los microorganismos recurran a el C y N existentes en el suelo y esto lo demuestra las altas cantidades de C y N (FE N menos negativo) en el hábitat con referencia a los demás. De acuerdo a Jackson *et al.* (1996) y a Blume *et al.* (2002), esta discriminación isotópica en contra de ^{13}C y ^{15}N durante la descomposición se lleva a cabo en los primeros 30 cm de suelo, por presentarse la mayor biomasa microbiana y radicular. Además, biomasa microbiana rica en ^{13}C puede tener un efecto complementario en el enriquecimiento de $\delta^{13}\text{C}$ en los primeros 30 cm de suelo (Ehleringer *et al.*, 2000; Boström *et al.*, 2007) y en el resto del perfil de suelo la acumulación de ^{13}C puede ser la causa de la incorporación de necromasa microbiana como precursora del C orgánico estable (Högberg *et al.*, 2005).

Si bien es cierto que las coníferas presentan altas concentraciones de compuestos recalcitrantes como ligninas y taninos, los cuales retarden la tasa de descomposición (Rahman *et al.*, 2013; Gaspar-Santos *et al.*, 2015), en este trabajo además de que se atribuye que el cambio isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ es modificado por las relaciones distintas de C: N en el mantillo presentes en *P. hartwegii* y *A. religiosa*, también podrían existir diferencias en las tasas de descomposición de los compuestos recalcitrantes en cada hábitat, Rasmussen *et al.* (2006) observaron que la degradación de compuestos recalcitrantes en coníferas estaba vinculada a la temperatura, ya que esta puede controlar la estructura de la microbiota y propiciar la degradación mejorada de compuestos recalcitrantes.

En el pastizal alpino natural también existió una relación significativa entre el C orgánico y $\delta^{13}\text{C}$ en el suelo, que fue la menor tasa de cambio en el $\delta^{13}\text{C}$ entre los hábitats. Sin embargo, el bajo ajuste de la regresión (coeficiente de determinación (R^2) = 0.26), se atribuye a la relación C: N alta (C: N= 113) del follaje, por lo que no puede estar asociada la tasa de cambio de $\delta^{13}\text{C}$ solamente al fraccionamiento que ocurre durante la descomposición del follaje del pastizal como

el factor dominante. Posiblemente, la contribución de biomasa microbiana y de necromasa enriquecida en ^{13}C (Ehleringer *et al.*, 2000; Högberg *et al.*, 2005; Boström *et al.*, 2007) explique en mayor medida el enriquecimiento de $\delta^{13}\text{C}$ en este hábitat.

Con respecto al enriquecimiento de $\delta^{15}\text{N}$ en el suelo de los hábitats forestales fue evidentemente mayor en comparación al $\delta^{13}\text{C}$ como se ha registrado en previos trabajos (Boström *et al.*, 2007; Marty *et al.*, 2011). El enriquecimiento de $\delta^{15}\text{N}$ se piensa que se debe en gran parte a la presencia de ectomicorrizas enriquecidas en ^{15}N , como ocurre en otros hábitats de coníferas (Hobbie y Colpaert, 2003; Högberg *et al.*, 2010), y a la discriminación de la biomasa microbiana contra el ^{15}N durante la mineralización del N, ya que la %N disminuye con la profundidad. Y por debajo de los 50 cm de suelo, a la presencia de N estable derivado de la biomasa fúngica y microbiana rica en ^{15}N de profundidades superiores como sugirieron Dijkstra *et al.* (2006).

El perfil de suelo del hábitat de *P. montezumae* no presentó cambio significativo de $\delta^{13}\text{C}$, el cual puede deberse a la mezcla de las firmas isotópicas de C del pastizal (sotobosque) y de *P. hartwegii* en el hábitat, las cuales son mayores en el pastizal ($\delta^{13}\text{C} = -13.80 \text{ ‰}$) en comparación a la especie forestal (*P. montezumae*: $\delta^{13}\text{C} = -29.76 \text{ ‰}$) debido al metabolismo C_4 que presenta el pastizal, durante el cual discrimina en menor grado al ^{13}C en comparación a las plantas C_3 como *P. montezumae* (Tiunov, 2007). Por lo tanto, la mezcla de estas fuentes de C sobre el suelo provoca valores de $\delta^{13}\text{C}$ intermedios ($\delta^{13}\text{C} = -22 \text{ ‰}$) en por lo menos los primeros 15 cm de suelo ya que la reforestación del hábitat es reciente (~30 años). Mientras que el %C es mayor en los primeros 15 cm de suelo comparado a profundidades mayores ya que se ha registrado que después de la reforestación incrementa el C a razón del aumento en las entradas de C y bajas tasas de descomposición del C nuevo en comparación al del C antiguo de la vegetación anterior (Zhang *et al.*, 2015).

Generalmente cuando existe un cambio de vegetación con distinto metabolismo existe un cambio isotópico (Diochon y Kellman, 2008), sin embargo, la ausencia de cambio isotópico de $\delta^{13}\text{C}$ en el hábitat de *P. montezumae* sugiere que antes de la reforestación existían formas vegetales semejantes, es decir coexistían ambos metabolismos (Dou *et al.*, 2013) y posiblemente la relación de

C: N en el mantillo eran elevadas lo que permitiría una relación no significativa entre el C y el $\delta^{13}\text{C}$, misma que presentó el hábitat. Por otra parte, el $\delta^{15}\text{N}$ en el suelo de *P. montezumae* no se vio afectada por la presencia de diferentes metabolismos, ya que sí presentó enriquecimiento significativo de ^{15}N con la profundidad del suelo. Para este caso, no se ha reportado una diferencial discriminación isotópica entre residuos vegetales con distinto metabolismo durante la fijación biológica de N por la microbiota especializada y también durante la asimilación vegetal del N, lo anterior lo comprueba la no significativa diferencia entre las firmas isotópicas de $\delta^{15}\text{N}$ del follaje de *P. montezumae* y del pastizal con metabolismo C_4 .

El hábitat agrícola, presentó la segunda mayor tasa de cambio de $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo del perfil, esto podría deberse al mejoramiento que se le da al suelo mediante la adición de N a través de los residuos del cultivo de chícharo, planta leguminosa que acorde a la literatura (Hoyle, 2013) este grupo de plantas contiene bajas relaciones C: N (< 25:1) lo que intensifica las tasas de descomposición con el fin de asegurar la disponibilidad de nutrientes para el recurso en cuestión (papa o chícharo). De esta manera, ocurre la transformación de compuestos de C y N ricos en los isótopos ligeros (^{12}C y ^{14}N). También se observó que las firmas de $\delta^{13}\text{C}$ y el $\delta^{15}\text{N}$ no varían en los primeros 30 cm de suelo a razón de la mezcla que se hace de suelo durante la labranza, mientras que por debajo de los 30 – 50 cm fueron distintas estadísticamente. Además, la disminución del %C y % N por debajo de los 30 cm que se presentó, puede deberse a la inhibición de entradas de material radicular durante la labranza (De Clercq *et al.*, 2015).

El hábitat de pastizal alpino quemado mostró una variación de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ no significativa en el suelo, en un principio se le atribuiría al material recalitrante que representa el follaje por presentar una relación elevada C: N (76.36), sin embargo, la relación significativa entre las concentraciones de C y $\delta^{13}\text{C}$ muestra que existe un fraccionamiento isotópico lento durante la descomposición de la MOS, así como de la incorporación de biomasa rica en ^{13}C y ^{15}N en profundidades inferiores (Boström *et al.*, 2007).

El hábitat de pastizal alpino quemado presentó mayor %C y menor $\delta^{13}\text{C}$ comparado al sitio de pastizal natural en los primeros 15 cm de suelo. Estudios previos han demostrado que en los primeros 30 cm de suelo, el fuego tiene un efecto positivo en el %C del suelo debido a la incorporación de necromasa

(González-Pérez *et al.*, 2004). Asimismo, de manera típica, el fuego genera compuestos de C recalcitrantes (González-Pérez *et al.*, 2004), y que pueden también establecerse por la asociación con Al, Fe y alófanos presentes en este tipo de suelo (Golchin *et al.*, 1997). De esta manera, la actividad microbiana pudo verse afectada negativamente por la persistencia de compuestos estables, que causó valores menores de $\delta^{13}\text{C}$ en pastizal quemado con respecto a los encontrados en el pastizal alpino natural en el suelo superficial (0 -15 cm) (Zagal *et al.*, 2012). Por otro lado, el fuego no ha causado variación en $\delta^{15}\text{N}$ del perfil del suelo del pastizal alpino quemado ya que estadísticamente no encontramos diferencias con el hábitat de pastizal alpino sin perturbación.

Las variaciones en $\delta^{13}\text{C}$ entre los hábitats forestales mostraron que el cambio de uso de suelo previo a la reforestación en el hábitat de *P. montezumae* y la coexistencia de metabolismos C_3 y C_4 influyeron para ser menores estadísticamente a los hábitats de *P. hartwegii* y *A. religiosa*. Mientras que la variación en el $\delta^{15}\text{N}$ en los perfiles de suelo de estos hábitats fue influenciada propiamente por las características intrínsecas a nivel género. Esta variación isotópica sólo sucedió hasta la para profundidad de 0 – 50 cm del suelo, ya que en el intervalo de 50- 100 cm las firmas isotópicas son iguales entre los hábitats a razón de que comparten el material parental a partir del cual se formó el suelo.

10. Conclusiones.

Las distribuciones isotópicas de C y N consistieron en la acumulación de los isótopos pesados (^{13}C y ^{15}N) con la profundidad del suelo en la mayoría de los hábitats, y la magnitud de ésta acumulación fue dependiente del estado de los residuos orgánicos que se incorporan al suelo y/o el tipo de transformación en el hábitat.

11. Anexos.

Tabla S1. ANOVA de un factor para la comparación de las medias de la densidad aparente, % C y % N entre los hábitats de estudio.

Fuente de variación	F (gl_{entre} , gl_{dentro})	P
Densidad aparente del suelo	F (5,130) = 3.697	0.0037
% C	F (5, 136) = 8.784	<0.0001
% N	F (5, 130) = 12.92	<0.0001

Tabla S2. Prueba de Kruskal-Wallis para la comparación de %C y %N en el perfil de suelo para cada hábitat.

Fuente de variación	Estadístico	P
%C en perfil de suelo entre profundidad		
<i>Pinus hartwegii</i>	14.24	0.0026
<i>Abies religiosa</i>	23.03	<0.0001
Pastizal alpino natural	7.933	0.0133
<i>Pinus montezumae</i>	20.9	0.0001
Agrícola	8.641	0.0133
Pastizal alpino quemado	2.561	0.2901
%N en perfil de suelo entre profundidad		
<i>Pinus hartwegii</i>	13.16	0.0043
<i>Abies religiosa</i>	23.6	<0.0001
Pastizal alpino natural	9.091	0.0060
<i>Pinus montezumae</i>	20.22	0.0002
Agrícola	10.2	0.0061
Pastizal alpino quemado	1.731	0.4402

Tabla S3. ANOVA de un factor para la comparación de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en el perfil de suelo de cada hábitat.

Fuente de variación	F ($g_{\text{entre}}, g_{\text{dentro}}$)	P
$\delta^{13}\text{C}$ en perfil de suelo entre profundidad		
<i>Pinus hartwegii</i>	F (3, 19) = 1.483	P=0.2510
<i>Abies religiosa</i>	F (3, 28) = 19.1	P<0.0001
Pastizal alpino natural	F (2, 18) = 12.46	P=0.0004
<i>Pinus montezumae</i>	F (3, 20) = 2.237	P=0.1154
Agrícola	F (2, 24) = 3.796	P=0.0369
Pastizal alpino quemado	F (2, 15) = 1.387	P=0.2800
$\delta^{15}\text{N}$ en perfil de suelo entre profundidad		
<i>Pinus hartwegii</i>	F (3, 19) = 6.596	P=0.0031
<i>Abies religiosa</i>	F (3, 28) = 28.37	P<0.0001
Pastizal alpino natural	F (2, 18) = 5.072	P=0.0179
<i>Pinus montezumae</i>	F (3, 20) = 6.115	P=0.0040
Agrícola	F (2, 24) = 12.05	P=0.0002
Pastizal alpino quemado	F (2, 15) = 1.922	P=0.1807

Tabla S4. Prueba de ANOVA de un factor y de t-Student para la comparación de las distintas fuentes de C y N y la firma isotópica de los primeros 15 cm de suelo para cada hábitat.

Fuente de variación	F ó t y df	P
Fuentes de C por hábitat		
<i>Pinus hartwegii</i>		
Hojas vs pastizal	F= 18.88, P=<0.0001	0.0018
Hojas vs. hojarasca		0.0427
Hoja vs. 15 cm de suelo		<0.0001
Pastizal vs. hojarasca		0.6033
Pastizal vs. 15 cm suelo		0.0290
Hojarasca vs. 15 cm de suelo		0.0026
<i>Abies religiosa</i>		
Hojas vs hojarasca	F=72.95, P=<0.0001	<0.0001
Hojas vs 15 cm de suelo		<0.0001
Hojarasca vs. 15 cm de suelo		<0.0001
Pastizal alpino natural		
Hojas vs. 15 cm de suelo	t=4.784 df=23	<0.0001
<i>Pinus montezumae</i>		
Hojas vs pastizal	F=187, P=<0.0001	<0.0001
Hojas vs. hojarasca		0.0002
Hoja vs. 15 cm de suelo		<0.0001
Pastizal vs. hojarasca		<0.0001
Pastizal vs. 15 cm suelo		<0.0001
Hojarasca vs. 15 cm de suelo		0.0001
Pastizal alpino quemado		
Hojas vs. 15 cm de suelo	t=7.061 df=22	<0.0001
Fuentes de N por hábitat		
<i>Pinus hartwegii</i>		
Hojas vs pastizal	F=54.91, P=<0.0001	0.8306
Hojas vs. hojarasca		0.6846
Hoja vs. 15 cm de suelo		<0.0001
Pastizal vs. hojarasca		0.2512
Pastizal vs. 15 cm suelo		<0.0001
Hojarasca vs. 15 cm de suelo		<0.0001
<i>Abies religiosa</i>		
Hojas vs hojarasca	F=52.69, P=<0.0001	0.9837
Hojas vs 15 cm de suelo		<0.0001
Hojarasca vs. 15 cm de suelo		<0.0001
Pastizal alpino natural		
Hojas vs. 15 cm de suelo	t=15.09 df=21	<0.0001
<i>Pinus montezumae</i>		
Hojas vs pastizal	F=63.11, P=<0.0001	0.9930
Hojas vs. hojarasca		0.5080
Hoja vs. 15 cm de suelo		<0.0001
Pastizal vs. hojarasca		0.3602
Pastizal vs. 15 cm suelo		<0.0001
Hojarasca vs. 15 cm de suelo		<0.0001
Pastizal alpino quemado		
Hojas vs. 15 cm de suelo	t=13.84 df=22	<0.0001

Tabla S5. Prueba de Kruskal-Wallis para comparar las relaciones de C: N de las distintas fuentes de C y N en cada hábitat. Valor crítico de $p=0.05$.

Fuente de variación	Estadístico	P
<i>Pinus hartwegii</i>	13.43	<0.0001
<i>Abies religiosa</i>	4	0.026
<i>Pinus montezumae</i>	5.556	0.0557

Tabla S6. ANOVA de un factor para la comparación de la distribución de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre los hábitats forestales.

Fuente de variación	F ($g_{\text{fuente}}, g_{\text{dentro}}$)	P
$\delta^{13}\text{C}$		
15 cm de suelo	F(2, 17) 76.63	<0.0001
30 cm de suelo	F(2, 17) 26.95	<0.0001
50 cm de suelo	F(2, 17) 17.72	<0.0001
100 cm de suelo	F(2, 16) 2.516	0.1122
$\delta^{15}\text{N}$		
15 cm de suelo	F(2, 17) 5.923	0.0112
30 cm de suelo	F(2, 17) 9.884	0.0014
50 cm de suelo	F(2, 17) 5.526	0.0142
100 cm de suelo	F(2, 16) 2.682	0.0990

Tabla S7. Prueba de ANOVA de un factor para comparar los factores de enriquecimiento (FE) de N entre hábitats forestales. Y prueba de t-student para la comparación del FE N entre los hábitats de pastizal alpino.

Fuente de variación	F	P
FE de N entre sitios forestales	4.527	0.0206
FE de N entre pastizales	t=2.173 df=5	0.0819

Tabla S8. Prueba de Wilcoxon para comparar el % C y %N y prueba de t pareadas para comparar el $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre los hábitats de pastizal alpino.

Fuentes de variación	t, df	P
% C entre zonas		
15 cm de suelo	-	0.0313
30 cm de suelo	-	0.0938
50 cm de suelo	-	0.0938
% N entre zonas		
15 cm de suelo	-	0.0625
30 cm de suelo	-	0.0938
50 cm de suelo	-	0.0938
$\delta^{13}\text{C}$ entre zonas		
15 cm de suelo	t=3.014 df=5	0.0296
30 cm de suelo	t=2.348 df=5	0.0658
50 cm de suelo	t=2.132 df=5	0.0862
$\delta^{15}\text{N}$ entre zonas		
15 cm de suelo	t=1.855 df=5	0.1227
30 cm de suelo	t=1.601 df=5	0.1702
50 cm de suelo	t=0.3005 df=5	0.7759

12. Literatura citada.

- Accoe F., Boeckx P., Cleemput O. V., Hofman G., Zhang Y., Li R. H., Guanxiong C., 2002. Evolution of the $\delta^{13}\text{C}$ signature related to total carbon contents and carbon decomposition rate constants in a soil profile under grassland. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 16 (23): 2184-2189.
- Acton P., Fox J., Campbell E., Rowe H., Wilkinson M., 2013. Carbon isotopes for estimating decomposition and physical mixing in well-drained forest soil. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 118: 1532-1545.
- Baeza-Guzmán Y., Medel-Ortiz, R., Garibay-Orijel R., 2017. Caracterización morfológica y genética de los hongos ectomicorrízicos asociados a bosques de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz. *Revista mexicana de biodiversidad* 88 (1): 41-48.
- Batjes N. H., 2014. Total carbon and nitrogen in the soils of the world. *European Journal of Soil Science* 65 (1): 10-21.
- Bernoux M., Cerri C. C., Neill C., De Moraes J. F. L., 1998. The use of stable carbon isotopes for estimating soil organic matter turnover rates. *Geoderma* 82: 43-58.
- Bevivino A., Dalmastrì C., 2017. Chapter 5: Impact of agricultural land management on soil bacterial community: a case study in the mediterranean area. In: Lukac M, Grenni P., Gamboni M. (Eds.), *Soil Biological Communities and Ecosystem Resilience*, Springer, Rome, Italy, pp.77-96.
- Blume E., Bischoff M., Reichert J. M., Moorman T., Konopka, A., Turco R. F., 2002. Surface and subsurface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season. *Applied Soil Ecology* 20(3): 171-181.
- Bruggemann N., Gessler A., Kayler Z., Keel S. G., Badeck F., Barthel M., Boeckx P., Buchmann N., Brugnoli E., Esperschütz J., Gavrichkova O., Ghashghaie J., Gomez-Casanovas N., Keitel C., Knohl A., Kuptz D., Palacio S., Salmon Y., Uchida Y., Bahn M., 2011. Carbon allocation and carbon isotope fluxes in the plant-soil-atmosphere continuum: a review. *Biogeosciences* 8: 3457-3489.
- Brunn M., Spielvogel S., Sauer T., Oelmann Y., 2014. Temperature and precipitation effects on $\delta^{13}\text{C}$ depth profiles in SOM under temperate beech forests. *Geoderma* 235: 146-153.
- Boström B., Comstedt D., Ekblad, A., 2007. Isotope fractionation $\delta^{13}\text{C}$ enrichment in soil profiles during the decomposition of soil organic matter. *Oecologia* 153: 89-98.
- Campbell J. E., Fox F. J., Davis M. C., Rowe D. H., Thompson N. 2009. Carbon and Nitrogen Isotopic Measurements from Southern Appalachian Soils: Assessing Soil Carbon Sequestration under Climate and Land-Use Variation. *Journal of Environmental Engineering* 135 (6): 439-448.
- Compton J. E., Boone R. D., 2000. Long-term impacts of agriculture on soil carbon and nitrogen in new england forests. *Ecology* 81(8): 2314-2330.
- Challenger A., y Soberón J., 2008. Los ecosistemas terrestres, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México, pp. 87-108.

- Chapin III F. S., Matson A. P., Mooney A. H. 2002. Chapter 3: Geology and Soils, In: Principles of terrestrial ecosystem ecology, Springer, New York, pp. 46-67.
- Charles T., Garten Jr., Paul J., Hanson, Donald E. Todd, Jr, Bonnie B. Lu, y Deanne J. Brice. 2007. Chapter 3: Natural ^{15}N - and ^{13}C -abundance as indicators of forest nitrogen status and soil carbon dynamics, In: Michener, R. y Lajtha, K., (Eds.), Stable isotopes in ecology and environmental science, 2da. ed., Blackwell Publishing, Hong Kong, pp. 61-82.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP) y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), 2016. Programa de Manejo Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca. México.
- De Clercq T., Heiling M., Dercon G., Resch C., Aigner M., Mayer L., Merckx R., 2015. Predicting soil organic matter stability in agricultural fields through carbon and nitrogen stable isotopes. *Soil Biology and Biochemistry* 88: 29-38.
- Drijber R. A., Lowe L. E., 1990. Nature of humus in Andosols under differing vegetation in the Sierra Nevada, Mexico. *Geoderma* 47: 221-231.
- Dijkstra P., Ishizu A., Doucett R., Hart S. C., Schwartz E., Menyailo O. V., Hungate B. A., 2006. ^{13}C and ^{15}N natural abundance of the soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry* 38(11): 3257-3266.
- Diochon A., Kellman, L., 2008. Natural abundance measurements of ^{13}C indicate increased deep soil carbon mineralization after forest disturbance. *Geophysical Research Letters* 35(14): 1-5.
- Dou X., Deng Q., Li M., Wang W., Zhang Q., Cheng, X., 2013. Reforestation of *Pinus massoniana* alters soil organic carbon and nitrogen dynamics in eroded soil in south China. *Ecological engineering* 52: 154-160.
- Ehleringer J. R., Rundel P. W., 1989. Stable isotopes: history, units, and instrumentation. In: Rundel P. W., Ehleringer J. R., Nagy K. A. (Eds.), Stable isotopes in ecological research, Springer-Verlag, New York, pp. 1-15.
- Ehleringer J. R., Buchmann N., Flanagan L. B., 2000. Carbon isotope ratios in belowground carbon cycle processes. *Ecological Applications* 10: 412-422.
- Eldor A. P., 2016. The nature and dynamics of soil organic matter: Plant inputs, microbial transformations, and organic matter stabilization. *Soil Biology and Biochemistry* 98: 109-126.
- Evans R. D., 2007. Chapter 4: Soil nitrogen isotope composition, In: Michener, R. y Lajtha, K., (Eds.), Stable isotopes in ecology and environmental science, 2da. ed., Blackwell Publishing, Hong Kong, pp. 83-98.
- Fahey T. J., Yavitt J. B., Sherman R. E., Groffman P. M., Fisk, M. C., Maer J. C., 2011. Transport of Carbon and Nitrogen Between Litter and Soil Organic Matter in a Northern Hardwood Forest. *Ecosystems* 14: 326-340.
- Food and Agriculture Organization (FAO) and Intergovernmental Technical Panel on Soils (ITPS), 2015. Status of the World's Soil Resources, Rome. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i5199e/I5199E.pdf>.

- Fourqurean J., Johnson B., J. Kaufman J. B., Kennedy H., Lovelock C., 2014. Chapter 3: Field sampling of soil carbon pools in coastal ecosystems, In: Howard J., Hoyt S., Isensee K., Telszewski M., Pidgeon E., (Eds.), Coastal blue carbon: methods for assessing carbon stocks and emissions factors in mangroves, tidal salt marshes, and seagrasses, Conservation International, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, International Union for Conservation of Nature, Arlington, VA, USA, pp. 39-66.
- Galicia L., Gamboa C. A. M., Cram S., Chávez V. B., Peña R. V., Saynes V., Siebe C., 2016. Almacén y dinámica del carbono orgánico del suelo en bosques templados de México. *Terra Latinoamericana* 34: 1-29.
- Gärdenäs A. I., Ågren G. I., Bird, J. A., Clarholm, M., Hallin S., Ineson P., Kätterer T., Knicker H., Nilsson S. I., Näsholm T., Ogle, S., Paustian K., Persson T., Stendahl, J. 2011. Knowledge gaps in soil carbon and nitrogen interactions- From molecular to global scale. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 702-717.
- Garten C. T., Van Miegroet H. 1994. Relationships between soil nitrogen dynamics and natural ^{15}N abundance in plant foliage from Great Smoky Mountains National Park. *Canadian Journal of Forest Research* 24: 1636-1645.
- Garten Jr. C.T., Cooper, L.W., Post III W.M., y Hanson, P.J. 2000. Climate controls on forest soil C isotope ratios in the southern Appalachian Mountains. *Ecology* 81: 1108-1119.
- Garten C., 2006. Relationships among forest soil C isotopic composition, partitioning, and turnover times. *Canadian Journal of Forest Research* 36: 2157-2167.
- Gaspar-Santos E. S., González-Espinosa M., Ramírez-Marcia, N., Álvarez-Solís J. D., 2015. Acumulación y descomposición de hojarasca en bosques secundarios del sur de la Sierra Madre de Chiapas, México. *Bosque* 36(3): 467-480.
- Gautam M. K., Lee K. S., Song B. Y., Bong Y. S., 2017. Site related $\delta^{13}\text{C}$ of vegetation and soil organic carbon in a cool temperate region. *Plant and Soil* 418: 293-306.
- Golchin A., Baldock J. A., Clarke P., Higashi T., Oades J. M., 1997. The effects of vegetation and burning on the chemical composition of soil organic matter of a volcanic ash soil as shown by ^{13}C NMR spectroscopy: I. Whole soil and humic acid fraction. *Geoderma* 76: 155-174.
- González-Pérez J. A., González-Vila F. J., Almendros G., Knicker H., 2004. The effect of fire on soil organic matter-a review. *Environment International* 30: 855-870.
- Han L., Sun K., Jin J., Xing B., 2015. Some concepts of soil organic carbon characteristics and mineral interaction from a review of literature. *Soil Biology y Biochemistry* 30: 1-15.
- Hobbie E. A., Colpaert J.V., 2003. Nitrogen availability and colonization by mycorrhizal fungi correlate with nitrogen isotope patterns in plants. *New Phytologist* 157:115–126.
- Hobbie E. A., Ouimette A. P., 2009. Controls of nitrogen isotope patterns in soil profiles. *Biogeochemistry* 95: 355-371.
- Högberg P., 1997. ^{15}N natural abundance in soil-plant systems, *New Phytologist* 137:179-203.

- Högberg P., Ekblad A., Nordgren A., Plamboeck A. H., Ohlsson A., Bhupinderpal-Singh, Högberg, M. N., 2005. Factors determining the ^{13}C abundance of soil-respired CO_2 in boreal forests. *Stable Isotopes and Biosphere Atmosphere Interactions*: 47–68.
- Högberg P., Johannisson C., Yarwood S., Callesen I., Näsholm T., Myrold D. D., Högberg M. N., 2010. Recovery of ectomycorrhiza after “nitrogen saturation” of a conifer forest. *New Phytologist* 189 (2): 515–525.
- Hoyle F., 2013. Chapter 1: Soil organic matter Managing Soil Organic Matter: A Practical Guide, In: *Managing Soil Organic Matter: A Practical Guide*, Grains Research and Development Corporation, Australia, pp. 8-18.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), 2005. Conjunto de datos vectoriales de la carta de uso del suelo y vegetación: escala 1: 250 000. Serie III (continuo nacional). Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, Aguascalientes.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), 2016. Conjunto de datos vectoriales de uso de suelo y vegetación. Escala 1:250 000, serie VI.
- Jackson R. B., Canadell J., Ehleringer J. R., Mooney H. A., Sala O. E., Schulze E. D., 1996. A global analysis of root distributions for terrestrial biomes. *Oecologia* 108(3): 389-411.
- Janssens I. A., Dieleman W., Luysaert S., Subke J. A., Reichstein M., Ceulemans R., Papale D., 2010. Reduction of forest soil respiration in response to nitrogen deposition. *Nature geoscience* 3 (5): 315-322.
- Janzen H. H., 2004. Carbon cycling in earth systems: a soil science perspective. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 104: 399-417.
- Joffre R., Agren G. I., Gillon D., Bosatta E., 2001. Organic matter quality in ecological studies: theory meets experiment. *Oikos* 93: 451-458.
- Johnson-Maynard J. L., 2002. Allophanes. In: R. Lal (Ed.). *Encyclopedia of soil science*. Marcel Dekker. New York, USA, pp. 50-52.
- Koba K., Isobe K., Takebayashi Y., Fang Y. T., Sasaki Y., Saito W., Zhang T., 2010. $\delta^{15}\text{N}$ of soil N and plants in a N-saturated, subtropical forest of southern China. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 24(17): 2499-2506.
- Lal R., 2004. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma* 123: 1-22.
- Lal R., Lorenz K. 2012. Chapter 9: Carbon Sequestration in Temperate Forests. In: Lal R., Lorenz K., Hüttl R.F., Schneider B. U., Braun J. V. (Eds.), *Recarbonization of the Biosphere: Ecosystems and the Global Carbon Cycle*. Springer, Holanda, pp. 187-201.
- Lal R., 2018. Digging deeper: A holistic perspective of factors affecting soil organic carbon sequestration in agroecosystems. *Global Change Biology* 24: 1-17.
- Liu C., Sun X., 2013. A Review of Ecological Stoichiometry: Basic Knowledge and Advances. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences.
- Makarov M. I., 2009. The nitrogen isotopic composition in soils and plants its use in environmental studies (a review). *Eurasian Soil Science* 42 (12): 1335-1347.

- Marty C., Houle D., Gagnon C., Duchesne L., 2011. Isotopic compositions of S, N and C in soils and vegetation of three forest types in Québec, Canada. *Applied Geochemistry* 26: 2181-2190.
- Marty C., Houle D., Gagnon C., 2015. Effect of the relative abundance of conifers versus hardwoods on soil $\delta^{13}\text{C}$ enrichment with soil depth in eastern Canadian forests. *Ecosystems*, 18 (4): 629-642.
- Mastretta Y. A., Cao R., Nicasio A. S., Quadri P., Escalante E. T., Arredondo L., y Piñero D. 2014. ¿Será exitosa la estrategia del cambio de categoría para mantener la biodiversidad del Nevado de Toluca? *Oikos*, 12: 7-17. Instituto de Ecología, UNAM.
- Maza-Villalobos M. S., Cotler A. H., Almeida-Leñero L., Hoth J., Steinmann W. V., Mastretta Y. A., Hernández C. R. A., 2019. Conservando el pastizal alpino mexicano; conocimientos, amenazas y esperanzas. *Biodiversitas* 142: 12-16.
- McGroddy M. E., Daufresne T., Hedin L. O., 2004. Scaling of C: N: P stoichiometry in forests worldwide: implications of terrestrial redfield-type ratios. *Ecology* 85 (9): 2390-2401.
- Nanzyo M., 2002. Unique properties of volcanic ash soils. *Global environmental research-english edition* 6 (2): 99-112.
- Oros-Ortega I., Andrade-Torres A., Lara-Pérez L. A., Guzmán-Olmos R. F., Casanova-Lugo F., Sáenz-Carbonell L. A., Córdova-Lara I., 2017. Ecología, biotecnología y taxonomía de ectomicorriza para la conservación y aprovechamiento de *Abies religiosa* en zonas templadas de México. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente* 23 (3): 411-426.
- Pan Y., Birdsey R. A., Fang F., Houghton R., Kauppi P. E., Kurz W. A., Phillips O. L., Shvidenko A., Lewis S. L., Canadell J. G., Ciais P., Jackson R. B., Pacala S. W., Maguire A. D., Piao S., Rautiainen A., Sitch S., Hayes D., 2011. A large and persistent carbon sink in the world's forests. *Science* 333: 988- 993.
- Pardo L. H., Hemond H. F., Montoya J. P., Pett-Ridge J., 2007. Natural abundance ^{15}N in soil and litter across a nitrate-output gradient in New Hampshire. *Forest Ecology and Management* 251: 217-230.
- Peña-Ramírez V. M., Vázquez-Selem L., Siebe C., 2009. Soil organic carbon stocks and forest productivity in volcanic ash soils of different age (1835–30,500 years BP) in Mexico. *Geoderma* 149: 224-234.
- Powers J. S., Schlesinger W. H., 2002. Geographic and vertical patterns of stable carbon isotopes in tropical rain forest soils of Costa Rica. *Geoderma* 109: 141-160.
- Pilskaln C., Paduan, J. 1992. Laboratory techniques for the handling and geochemical analysis of water column particulate and surface sediment samples. Monterey Bay Aquarium Research Institute Technical Report, pp. 92-99.
- Rahman M. M., Tsukamoto J., Rahman M. M., Yoneyama A., Mostafa K. M., 2013. Lignin and its effects on litter decomposition in forest ecosystems. *Chemistry and Ecology* 29 (6): 540–553.

- Rasmussen C., Southard R. J., Horwath W. R., 2006. Mineral control of organic carbon mineralization in a range of temperate conifer forest soils. *Global Change Biology* 12 (5): 834-847.
- Quesada B., Arneeth A., Robertson E., de Noblet-Ducoudre N., 2018. Potential strong contribution of future anthropogenic land-use and land-cover change to the terrestrial carbon cycle. *Environmental Research Letters* 13: 1-11.
- Rzedowski, 1975. An ecological and phytogeographical analysis of the grasslands of Mexico. *Taxon* 24: 67-80.
- Sarukhán J., Koleff P., Carabias J., Soberón J., Dirzo R., Llorente-Bousquets J., Halffter G., González R., March I., Mohar A., Anta S., de la Maza J., Pisanty I., Urquiza H. T., Ruiz G. S. P., García M. G. 2017. Capital natural de México. Síntesis: evaluación del conocimiento y tendencias de cambio, perspectivas de sustentabilidad, capacidades humanas e institucionales. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.
- Sistema meteorológico Nacional, 2018. Información climatológica por estado. Disponible en: <http://smn.cna.gob.mx/es/informacion-climatologica-ver-estado?estado=mex>
- Smith T. M., y Smith R. L., 2007. Capítulo 5: Ambiente terrestre. In: Ecología. 6ta. ed., Pearson educación, Madrid, pp. 87-105.
- Sulzman E. W., 2007. Chapter 1: Stable isotope chemistry and measurement: a primer, In: Michener, R. Y Lajtha, K. (Eds.), Stable isotopes in ecology and environmental science, 2da. ed., Blackwell Publishing, Hong Kong.
- Taylor A. F. S., Fransson P. M., Högberg P., Högberg M. N., Plamboeck A. H., 2003. Species level patterns in C-13 and N-15 abundance of ectomycorrhizal and saprotrophic fungal sporocarps. *New Phytologist* 159: 757-774.
- Tiunov A. V. 2007. Stable Isotopes of Carbon and Nitrogen in Soil Ecological Studies. *Biology Bulletin* 34 (4): 395-407.
- Trumbore S., 2000. Age of soil organic matter and soil respiration: radiocarbon constraints on belowground C dynamics. *Ecological Applications* 10 (2): 399-411.
- Ussiri D. A. N., Lal R. 2017. Chapter 4: The global carbon inventory. In: Carbon Sequestration for Climate Change Mitigation and Adaptation. Springer, USA, pp. 77-97.
- Vervaeet H., Boeckx P., Unamuno V., Van Cleemput O., Hofman G., 2002. Can $\delta^{15}\text{N}$ profiles in forest soils predict NO_3^- loss and net N mineralization rates? *Biology and Fertility of Soils* 36:143-150.
- Voroney R. P. y Heck R. J., 2014. Chapter 2: The soil habitat. In: Eldor A. E. (Ed.), Soil microbiology, ecology and biochemistry, 4ta. ed. Academic Press, San Diego, pp. 15-40.
- Weil R. R., Brady N. C., 2017. Chapter 12: Soil organic matter, In: The nature and properties of soils, 15ta. ed., Pearson, England, pp. 544-600.

- Wynn J. G., Bird M. I., Wong V. N. L., 2005. Rayleigh distillation and the depth profile of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of soil organic carbon from soils of disparate texture in Iron Range National Park, Far North Queensland, Australia. *Geochimica et Cosmochimica* 69 (8): 1961-1973.
- Zagal E., Muñoz C., Espinoza S., Campos J., 2012. Soil profile distribution of total C content and natural abundance of ^{13}C in two volcanic soils subjected to crop residue burning versus crop residue retention. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil and Plant Science* 62: 263-272.
- Zhang K., Dang H., Zhang Q., Cheng X., 2015. Soil carbon dynamics following land-use change varied with temperature and precipitation gradients: evidence from stable isotopes. *Global change biology* 21 (7): 2762-2772.