

ABSORCIÓN FOLIAR DE NITRÓGENO POR DEPÓSITO HÚMEDO SIMULADO EN FOLLAJE NUEVO DE *Abies religiosa* (H. B. K.) Schl. et Cham.

FOLIAR NITROGEN UPTAKE FROM SIMULATED WET DEPOSITION IN CURRENT-YEAR FOLIAGE OF *Abies religiosa* (H. B. K.) Schl. et Cham.

Griselda Chávez-Aguilar¹, Mark E. Fenn², Armando Gómez-Guerrero¹, Jesús Vargas-Hernández¹ y William R. Horwath³

¹Forestal. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (grischavez@colpos.mx) (agomezg@colpos.mx) (vargashj@colpos.mx), ²Servicio Forestal de los Estados Unidos. (mfenn@fs.fed.us), ³Universidad de California, Davis. (wrhorwath@ucdavis.edu.)

RESUMEN

La absorción foliar directa de nitrógeno (N) es un proceso importante en algunos ecosistemas forestales. El objetivo del presente trabajo fue cuantificar, en invernadero, la cantidad de nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+) fijado en la biomasa de follaje nuevo de *Abies religiosa*. Se usó un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial 2^3 de tratamientos: factor 1, forma (NH_4^+ o NO_3^-), factor 2, dosis (depósito húmedo de 22 o 60 kg N ha⁻¹ año⁻¹); factor 3, escurrimiento al sustrato (permitirlo o evitarlo). Se utilizaron compuestos de ¹⁵N para seguir la ruta del N absorbido. Hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la absorción foliar sólo para la forma y dosis de N. El valor medio de N recuperado (%Nr) fue 5.3% para NH_4^+ y 4.7 % para NO_3^- ; para la dosis alta fue 6.8% y para la baja 3.1%. El %Nr en follaje nuevo no fue diferente ($p > 0.05$) entre las condiciones de escurrimiento; sin embargo, cuando el Nr se expresó en masa neta, las diferencias por escurrimiento fueron significativas ($p \leq 0.05$), con la mayor absorción de N cuando se permitió el escurrimiento al sustrato. De acuerdo con estos resultados hay un alto potencial de absorción foliar de N en *Abies religiosa*.

Palabras clave: Amonio, depósito húmedo, fertilización foliar, ¹⁵N, saturación de nitrógeno.

INTRODUCCIÓN

El depósito de nitrógeno (N) atmosférico en los bosques cercanos a las grandes ciudades se ha incrementado debido al aumento de las emisiones de óxidos de N derivadas de actividades antropogénicas (Brumme *et al.*, 1992; Fenn *et al.*, 1999). Estos compuestos participan en diversas reacciones en la atmósfera y en la formación de iones (NO_3^- y NH_4^+) que pueden depositarse sobre la superficie terrestre en forma seca o húmeda. La copa de los árboles tiene una función importante en la recepción de estos compuestos, ya que presentan alta reactividad y

ABSTRACT

Direct foliar nitrogen (N) uptake is an important process in some forest ecosystems. The objective of the present study was to quantify, in the greenhouse, the amount of nitrate (NO_3^-) and ammonium (NH_4^+) fixed in the biomass of current-year foliage of *Abies religiosa*. Wet deposition was simulated in an experiment with a completely randomized design with a 2^3 factorial arrangement of treatments: factor 1, form (NH_4^+ or NO_3^-), factor 2, dose (wet deposition of 22 and 60 kg N ha⁻¹ year⁻¹) and factor 3, throughfall to the substrate (permit or prevent). Compounds of ¹⁵N were used to follow the route of the absorbed N. There were significant differences ($p \leq 0.05$) in foliar uptake only for the form and dose of N. The mean value of recovered N (%Nr) was 5.3% for NH_4^+ and 4.7% for NO_3^- ; for the high and low dose was 6.8% and 3.1%. The %Nr in current year foliage was not different ($p > 0.05$) among the throughfall conditions; however, when the Nr was expressed in net mass, the differences from throughfall were significant ($p \leq 0.05$), with the highest uptake of N when the throughfall to the substrate was allowed. According to these results, there is a high potential of foliar uptake of N in *Abies religiosa*.

Key words: Ammonium, wet deposition, foliar fertilization, ¹⁵N, nitrogen saturation.

INTRODUCTION

The deposition of atmospheric nitrogen (N) in forests near large cities has increased due to the increase of the emissions of N oxides derived from anthropogenic activities (Brumme *et al.*, 1992; Fenn *et al.*, 1999). These compounds participate in diverse reactions in the atmosphere and in the formation of ions (NO_3^- and NH_4^+) that can be deposited on the terrestrial surface in dry or wet form. The crown of the trees has an important role in the reception of these compounds, given that they present high reactivity and great foliar coverage. Dry deposition is greater than wet deposition (Garten *et al.*, 1998), and the latter contributes significant amounts of N absorbed by the plant through foliar uptake (Aber *et al.*, 1998). When

Recibido: Febrero, 2005. Aprobado: Enero, 2006.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 40: 373-381. 2006.

gran cobertura foliar. El depósito seco es mayor que el húmedo (Garten *et al.*, 1998), y este último aporta cantidades significativas de N absorbido por la planta por vía foliar (Aber *et al.*, 1998). Cuando los compuestos depositados por vía seca se asocian con lluvia, rocío o niebla, aumentan su movilidad y tiempo de exposición sobre el follaje (Lindberg *et al.*, 1982; Buchmann *et al.*, 1995; Tietema *et al.*, 1998). El depósito húmedo de los compuestos nitrogenados puede ocasionar un efecto de fertilización en los ecosistemas deficientes de N y favorecer la exportación de NO_3^- y cationes del suelo, dependiendo de si las cantidades disponibles de N rebasan o no la capacidad de retención del suelo y la vegetación (Schlesinger 1997; Aber *et al.* 1998, Fenn *et al.*, 2006).

Un ecosistema no afectado por el depósito de N en exceso, recibe 2 a 5 kg N ha^{-1} año^{-1} (Aber *et al.*, 1998; Fenn *et al.*, 1999); pero los bosques de coníferas del Valle de México reciben un depósito atmosférico de N 4 a 11 veces mayor que en condiciones naturales (Fenn *et al.*, 1999). Estos bosques podrían estar asimilando cantidades de N en exceso directamente a través del follaje o por absorción radical, cuando el N se incorpora al suelo (Lumme, 1994). Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar la absorción foliar de NO_3^- y NH_4^+ en *Abies religiosa* por depósito húmedo simulado y calcular la cantidad de N incorporado a la nueva biomasa foliar.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se estableció en el vivero del Programa Forestal del Colegio de Postgraduados en Montecillo, Estado de México. El vivero está situado en 19° 31' N y 98° 53' O, a una altitud de 2353 m, con temperatura media anual de 15 °C y una precipitación media anual de 645 mm (García, 1988).

Se usaron árboles *Abies religiosa* de tres años de edad, trasplantados a macetas (30 cm diámetro $\times$ 30 cm altura) con una capacidad de 11 L. El sustrato empleado se obtuvo del suelo mineral superficial de un bosque de coníferas dentro del Parque Nacional Zoquiapan, donde predominan los suelos Andosoles húmicos (Rey, 1975). Para esterilizar el sustrato se usaron dos procedimientos: aplicación de Metam Sodio (1L 10 L^{-1} agua); y luego exposición directa al sol. Para mantener un buen drenaje y evitar la compactación del sustrato se preparó una combinación de sustrato con grava (aproximadamente 6 mm diámetro) en una proporción 80:20.

Para mantener condiciones de humedad adecuadas para el crecimiento y evitar el escurrimiento fuera de las macetas, en una maceta extra, tratada en la misma forma que el resto, se colocó un tensiómetro (-0.8 Mpa) para indicar el momento de aplicar los riegos de acuerdo a la demanda de transpiración de las plantas. El tensiómetro fue previamente calibrado con la curva de retención de humedad del sustrato, la cual se determinó con membrana y olla de presión.

the compounds deposited by dry deposition are associated with rain, dew or mist, their mobility and time of exposure on the foliage are increased (Lindberg *et al.*, 1982; Buchmann *et al.*, 1995; Tietema *et al.*, 1998). Wet deposition of nitrogenous compounds can cause an effect of fertilization on N deficient ecosystems and favor the exportation of NO_3^- and cations from the soil, depending on whether the available amounts of N exceed the retention capacity of the soil and vegetation (Schlesinger 1997; Aber *et al.*, 1998; Fenn *et al.*, 2005).

An ecosystem which is not affected by the deposition of N in excess, receives 2 to 5 kg N ha^{-1} year^{-1} (Aber *et al.*, 1998; Fenn *et al.*, 1999); but the coniferous forests of the Valley of México receive an atmospheric deposition of N 4 to 11 times greater than under natural conditions (Fenn *et al.*, 1999). These forests could be assimilating excessive amounts of N directly through the foliage or by root uptake, when the N is incorporated into the soil (Lumme, 1994). Therefore, the objective of the present study was to evaluate the foliar uptake of NO_3^- and NH_4^+ in *Abies religiosa* through simulated wet deposition and to calculate the amount of N incorporated into current-year foliar biomass.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was established in the nursery of the Programa Forestal of the Colegio de Postgraduados in Montecillo, State of México. The nursery is located at 19° 31' N and 98° 53' W, at an altitude of 2353 m, with a mean annual temperature of 15 °C and a mean annual precipitation of 645 mm (García, 1988).

Three-year-old trees of *Abies religiosa* were used, transplanted to pots (30 cm diameter $\times$ 30 cm height) with a capacity of 11 L. The substrate employed was obtained from the mineral surface soil of a coniferous forest within the Parque Nacional Zoquiapan, where humic Andosols predominate (Rey, 1975). To sterilize the substrate, two procedures were used: application of Sodium Metam (1L 10 L^{-1} water); and then direct exposure to the sun. To maintain good drainage and to avoid compaction of the substrate, a combination of substrate with gravel (approximately 6 mm diameter) was prepared in a proportion of 80:20.

To maintain adequate conditions of moisture for growth and to prevent throughfall outside of the pots, in an extra pot, treated in the same manner as the rest, a tensiometer (-0.8 Mpa) was placed to indicate the moment of applying the irrigations according to the transpiration demand of the plants. The tensiometer was previously calibrated with the moisture retention curve of the substrate, which was determined with a pressure chamber system.

The substrate of the pots was fertilized (160: 100:80; N:P:K), to prevent deficiencies of macronutrients that could influence the results. In experiments of foliar uptake, the concentrations of K and P in the leaves do not have an influence on the process of foliar uptake of N (Wilson and Tiley, 1998). In a greenhouse study, the addition of K to the substrate did not influence the uptake of N

El sustrato de las macetas se fertilizó (160:100:80; N:P:K), para evitar deficiencias de macro-nutrientes que pudieran alterar con los resultados. En experimentos de absorción foliar las concentraciones de K y P en las hojas no influyen en el proceso de absorción foliar de N (Wilson y Tiley, 1998). En un estudio en invernadero la adición de K al sustrato no influyó en la absorción de N (Flaig y Mohr, 1992). Además, mantener el sustrato con alta disponibilidad de N permitió simular la respuesta de las plantas en condiciones de exceso de N, situación de algunos ecosistemas forestales cercanos a la Ciudad de México (Fenn *et al.*, 1999).

Tratamientos y diseño experimental

Para medir la absorción foliar de N se prepararon soluciones con el isótopo estable ^{15}N , utilizando como fuente de NO_3^- , K^{15}NO_3 y de NH_4^+ , $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Las fuentes presentaron un enriquecimiento de 56.7 y 49.2 % en átomo.

El diseño experimental fue completamente al azar con tres factores, cada uno a dos niveles (Cuadro 1). Los factores y niveles fueron: fuente de nitrógeno (NO_3^- ó NH_4^+), dosis aplicada (alta ó baja) y escurrimiento del follaje y tallo (permitiendo o evitando el escurrimiento al sustrato). Se usaron tres repeticiones por tratamiento; la unidad experimental consistió de dos árboles, obteniendo el promedio de sus mediciones para el valor específico en cada repetición. Se estableció un tratamiento testigo (referencia) para conocer el valor medio de la abundancia natural de ^{15}N en follaje de *Abies religiosa*, al cual sólo se asperjó agua destilada de la misma fuente empleada para preparar las soluciones de ^{15}N .

La concentración de la solución baja se calculó con base en el depósito húmedo (22 kg N ha $^{-1}$ año $^{-1}$) reportado para los bosques del Valle de México (Fenn *et al.*, 2002) considerando una precipitación media anual de 1200 mm. La concentración de la dosis baja fue 1.833 mg N L $^{-1}$; la de la dosis alta fue 5 mg N L $^{-1}$. Para definir la dosis alta se consideró un depósito de 60 kg N ha $^{-1}$ año $^{-1}$ que representa la condición de algunos bosques europeos seriamente afectados por depósito de N (Emmet *et al.*, 1998; Tietema *et al.*, 1998). Esta dosis permitió conocer el comportamiento probable de *Abies religiosa* ante un escenario crítico que puede alcanzarse si no se controla la contaminación en la ciudad de México.

Las soluciones se asperjaron a punto de goteo con un atomizador manual con capacidad de 850 mL. Se realizaron cuatro aspersiones se realizaron aproximadamente cada 15 d: 26 febrero, 19 de marzo, 02 abril y 16 abril de 2004. El N total aplicado fue 21 574 mg.

Hubo dos condiciones de escurrimiento al sustrato: con (SI) y sin (NO). En SI se permitió el escurrimiento de las soluciones aplicadas hacia el sustrato a través del follaje y del tallo; en NO se protegió la parte superior de la maceta con papel filtro y el tallo con algodón, evitando que la solución llegara al sustrato. La cantidad de solución que pudo haber caído se contabilizó por diferencia del peso del papel filtro y el algodón (ecuación 1).

Cuantificación de la solución aplicada

Para cuantificar la cantidad de solución aplicada a cada árbol se tomó el peso inicial y el peso final del atomizador. Se calculó la

Cuadro 1. Combinación factorial de los tratamientos de acuerdo a la forma de N, dosis de aplicación de la solución y condición de escurrimiento al sustrato.

Table 1. Factorial combination of the treatments according to the form of N, dose of application of the solution and condition of throughfall to the substrate.

Tratamiento	Forma [†]	Dosis	Escurrimiento
T1	NO_3^-	Baja	si
T2	NO_3^-	Baja	no
T3	NO_3^-	Alta	si
T4	NO_3^-	Alta	no
T5	NH_4^+	Baja	si
T6	NH_4^+	Baja	no
T7	NH_4^+	Alta	si
T8	NH_4^+	Alta	no

[†]Se utilizó ^{15}N en ambas formas ionizadas.

(Flaig and Mohr, 1992). Furthermore, maintaining the substrate with high availability of N permitted the simulation of the response of the plants under conditions of excess of N, the situation of some forest ecosystems near México City (Fenn *et al.*, 1999).

Treatments and experimental design

To measure the foliar uptake of N, solutions were prepared with the stable isotope ^{15}N , using as a source of NO_3^- , K^{15}NO_3 and of NH_4^+ , $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. The sources had an enrichment of 56.7 and 49.2% atom.

The experimental design was completely random with three factors, each one at two levels (Table 1). The factors and levels were: source of nitrogen (NO_3^- or NH_4^+), applied dose (high or low) and throughfall of foliage and stem (allowing or preventing the throughfall to the substrate). Three replicates per treatment were used; the experimental unit consisted of two trees, obtaining the average of their measurements for the specific value in each replicate. A control treatment (reference) was established to know the mean value of the natural abundance of ^{15}N in foliage of *Abies religiosa*, which was only sprayed with distilled water from the same source employed to prepare the solutions of ^{15}N .

The concentration of the low solution was calculated based on the wet deposition (22 kg N ha $^{-1}$ year $^{-1}$) reported for the forests of the Valley of México (Fenn *et al.*, 2002) considering a mean annual precipitation of 1200 mm. The concentration of the low dose was 1.833 mg N L $^{-1}$; that of the high dose was 5 mg N L $^{-1}$. To define the high dose, a deposition of 60 kg N ha $^{-1}$ year $^{-1}$ was considered, which represents the condition of some European forests seriously affected by N deposition (Emmet *et al.*, 1998; Tietema *et al.*, 1998). This dose made it possible to know the probable behavior of *Abies religiosa* in a critical scenario that can be reached if contamination in México City is not controlled.

The solutions were sprayed avoiding drip with a manual sprayer with a capacity of 850 mL. Four sprayings were carried out approximately every 15 d: February 26, March 19, April 02 and April 16 of 2004. The total N applied was 21 574 mg.

cantidad de solución empleada en cada árbol por balance de masas, considerando una densidad de 1 g cm^{-3} . Las pérdidas durante la aplicación se controlaron de la siguiente forma: para cuantificar la cantidad de solución no retenida en la copa, se empleó un papel filtro (papel 1) colocado como pantalla atrás de la copa y en la dirección de la aplicación de la solución. Un segundo papel filtro en forma circular (papel 2), se colocó en la base de la planta para proteger el sustrato y asegurar el destino de la solución perdida para los tratamientos sin escurrimiento. Aproximadamente a 4 cm bajo la copa se colocó una cinta de algodón alrededor del tallo (Figura 1). La cantidad de la solución aplicada a cada planta se calculó mediante las diferencias en peso del papel y el algodón (ecuación 1).

$$MS = [P_{fa} - P_{ia}] - [(P_{fp1} - P_{ip1}) + (P_{fp2} - P_{ip2}) + (P_{fal} - P_{ial})] \quad (1)$$

donde, MS = masa de la solución utilizada; P_{fa} , P_{fp1} , P_{fp2} , P_{fal} = peso final del atomizador, papel 1, papel 2 y algodón; y P_{ia} , P_{ip1} , P_{ip2} , P_{ial} = peso inicial del atomizador, papel 1, papel 2 y algodón.

Análisis del material vegetal

Para analizar la cantidad de N acumulado en las cuatro asperiones, se realizó un análisis de follaje nuevo, por ser el componente con mayores requerimientos nutrimentales. Aproximadamente 10 d después de la última aplicación (26 abril del 2004), se tomó una muestra aleatoria de 20 acículas del follaje de crecimiento nuevo para cada tratamiento. Las acículas se enjuagaron con agua destilada para remover de exceso ^{15}N y el material particulado (polvo) sobre

There were two conditions of throughfall to the substrate: with (YES) and without (NO). In YES, the throughfall of the applied solutions to the substrate was allowed through the foliage and the stem; in NO, the upper part of the pot was protected with filter paper and the stem with cotton, preventing the solution from reaching the substrate. The amount of solution that could have fallen was quantified by the difference of the weight of the filter paper and the cotton (equation 1).

Quantification of the applied solution

To quantify the amount of solution applied to each tree, the initial and final weights of the sprayer were registered. The amount of solution employed in each tree was calculated by a mass balance, considering a density of 1 g cm^{-3} . The losses during the application were controlled in the following way: to quantify the amount of solution not retained in the crown, a filter paper was used (paper 1) placed as a screen behind the crown and in the direction of the application of the solution. A second filter paper shaped as a circle (paper 2) was placed at the base of the plant to protect the substrate and insure the destination of the lost solution for the treatments without throughfall. At approximately 4 cm below the crown, a cotton band was placed around the stem (Figure 1). The amount of solution applied to each plant was calculated by the differences in weight of the paper and the cotton (equation 1).

$$MS = [P_{fa} - P_{ia}] - [(P_{fp1} - P_{ip1}) + (P_{fp2} - P_{ip2}) + (P_{fal} - P_{ial})] \quad (1)$$

where, MS = mass of the solution used; P_{fa} , P_{fp1} , P_{fp2} , P_{fal} = final weight of the sprayer, paper 1, paper 2 and cotton; and P_{ia} , P_{ip1} , P_{ip2} = initial weight of the sprayer, paper 1, paper 2 and cotton.

Analysis of the vegetable material

To analyze the amount of N accumulated in the four sprayings, an analysis of current-year foliage was made, as it is the component with the highest nutritional requirements. Approximately 10 d after the last application (April 26, 2004), a random sample was taken of 20 aciculae of the recent growth foliage for each treatment. The aciculae were rinsed with distilled water to remove the excess ^{15}N and the dust material on its surface. It was dried in an oven at 65°C , during 48 h, and was pulverized using a mortar. An amount of approximately 2 mg of dry weight of tissue was taken, placed in a tin capsule, and sent to the isotope laboratory of the University of California (Davis). The analysis of isotopic composition ($\delta^{15}\text{N}$) was carried out along with the determination of total N by means of mass spectrometry (Ehleringer and Rundel, 1989).

Calculation of biomass in current-year foliage

A correlation was made between the diameter and the length of the branches and the foliar biomass, determined in an additional plant cultivated under the same conditions of the experiment. The measurements of 53 branches were obtained, to which a second

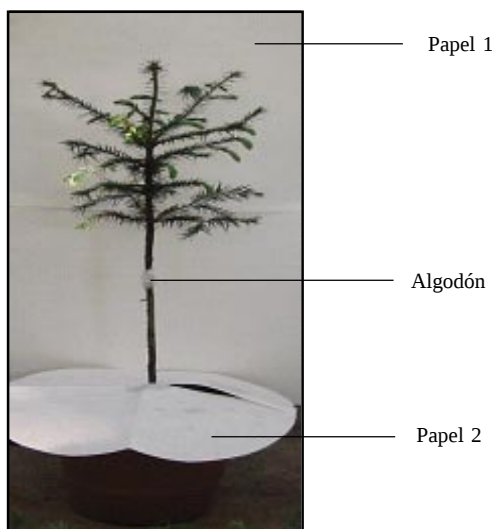


Figura 1. Muestra de la colocación del papel filtro y el algodón, que permitió calcular por diferencia de masas, la cantidad de solución de ^{15}N aplicada a cada planta de *Abies religiosa*.

Figure 1. View of the setting of the filter paper and cotton, which allowed the calculation by difference of masses, of the amount of solution of ^{15}N applied to each plant of *Abies religiosa*.

su superficie. Se secó en una estufa a 65 °C, durante 48 h, y se pulverizó usando un mortero. Se tomó una cantidad aproximada de 2 mg de peso seco de tejido, se colocó en una cápsula de estaño, y se envió al laboratorio de isótopos de la Universidad de California (Davis). Se realizó el análisis de composición isotópica ($\delta^{15}\text{N}$) y la determinación de N total mediante espectrometría de masas (Ehleringer y Rundel, 1989).

Cálculo de biomasa en follaje nuevo

Se correlacionó el diámetro y la longitud de ramillas con la biomasa foliar, determinados en una planta adicional cultivada en las mismas condiciones del experimento. Se obtuvieron las mediciones de 53 ramillas, a las que se ajustó un polinomio de segundo grado ($R^2 = 0.93$). Esta ecuación se usó para calcular la biomasa foliar del follaje nuevo a partir de mediciones de la longitud de cada ramilla en crecimiento en las plantas experimentales. No fue posible la medición directa del follaje nuevo mediante cosecha directa, debido a que se evaluaría posteriormente la absorción acumulada de N en tallo y raíz como resultado de la aplicación del depósito húmedo simulado.

Cálculo del porcentaje átomo en exceso y de nitrógeno recuperado

El porcentaje átomo de ^{15}N en exceso (% $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$) se calculó restando el porcentaje átomo de ^{15}N del testigo al de la muestra (% átomo $^{15}\text{N}_{\text{muestra}} - \% \text{ átomo } ^{15}\text{N}_{\text{testigo}}$). El porcentaje átomo de ^{15}N es una medida de la cantidad de átomos de N con masa 15 en una muestra (Cabrera y Kissel, 1989). Con el % átomo $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$ de la muestra y el de la solución aplicada se calculó el N procedente de la solución aplicada al follaje (Npf) en porcentaje (%). La masa de N en el follaje se calculó con el producto del Npf, la masa de N en follaje y un factor de corrección (0.01). Con la masa de N en follaje y el Npf (%) se obtuvo la masa de Npf para cada árbol. El porcentaje de N recuperado (Nr) se calculó con la masa de Npf y la masa de N aplicado en la solución marcada con ^{15}N :

$$\text{Npf (\%)} = \frac{\% \text{ átomos de } ^{15}\text{N}_{\text{exceso}} \text{ en la muestra}}{\% \text{ átomos de } ^{15}\text{N}_{\text{exceso}} \text{ en la solución}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Masa de N en follaje} = [\text{masa de follaje}] [\% \text{N en follaje}] [0.01] \quad (3)$$

$$\text{Masa de Npf} = [\text{masa de N en follaje}] [\text{Npf}] [0.01] \quad (4)$$

$$\% \text{Nr} = \frac{\text{Masa de Npf}}{\text{Masa de N aplicado con la solución}} \times 100 \quad (5)$$

Con los datos obtenidos del % átomo $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$, %Nr en follaje nuevo y Npf en masa neta, se realizó un análisis de varianza con el procedimiento ANOVA (SAS, 1988), para determinar diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos. Se probó la significancia de cada factor y sus interacciones.

degree polynomial ($R^2 = 0.93$) was adjusted. This equation was used to calculate the foliar biomass of the current-year foliage from the measurements of the length of each growing branch in the experimental plants. Direct measurement of the current-year foliage through direct harvest was not possible, due to the fact that an evaluation would be later made of the accumulated uptake of N in stem and root as a result of the application of the simulated wet deposition.

Calculation of the excess atom percentage and of recovered nitrogen

The percentage of excess ^{15}N atoms (% atom $^{15}\text{N}_{\text{excess}}$) was calculated by subtracting the percentage of atoms of ^{15}N of the control from that of the sample (% atom $^{15}\text{N}_{\text{sample}} - \% \text{ atom } ^{15}\text{N}_{\text{control}}$). The percentage of atoms of ^{15}N is the amount of atoms with mass 15 in a sample (Cabrera and Kissel, 1989). With the % atom $^{15}\text{N}_{\text{excess}}$ of the sample and that of the applied solution, the N was calculated proceeding from the solution applied to the foliage (Npf) in percentage (%). The mass of N in the foliage was calculated with the product of the Npf, the mass of N in foliage and a correction factor (0.01). With the mass of N in foliage and the Npf (%), the mass of Npf was obtained for each tree. The percentage of recovered N (Nr) was calculated based on the mass of Npf and the mass of N applied in the solution marked with ^{15}N :

$$\text{Npf (\%)} = \frac{\% \text{ atoms of } ^{15}\text{N}_{\text{exceso}} \text{ in the sample}}{\% \text{ atoms of } ^{15}\text{N}_{\text{exceso}} \text{ in the solution}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Mass of N in foliage} = [\text{mass of foliage}] [\% \text{N in foliage}] [0.01] \quad (3)$$

$$\text{Masa de Npf} = [\text{mass of N in foliage}] [\text{Npf}] [0.01] \quad (4)$$

$$\% \text{Nr} = \frac{\text{Mass of Npf}}{\text{Mass of N applied with the solution}} \times 100 \quad (5)$$

With the data obtained of the % atom $^{15}\text{N}_{\text{excess}}$, %Nr in current-year foliage and Npf in net mass, a variance analysis was made with the procedure ANOVA (SAS, 1988), to determine significant statistical differences ($p \leq 0.05$) among treatments. The significance of each factor and their interactions was tested.

RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of the % atom $^{15}\text{N}_{\text{excess}}$

The presence of the ^{15}N in current-year foliage was verified with the control or reference treatment (TR), which presented values different from that of the plants labeled with ^{15}N (Figure 2). The analysis of variance of the % atom $^{15}\text{N}_{\text{excess}}$ showed statistical evidence that the proportion of ^{15}N among treatments was different after applying the solutions. There was no statistical

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis del % átomo $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$

La presencia del ^{15}N en follaje nuevo se corroboró con el tratamiento testigo o de referencia (TR), el cual presentó valores diferentes al de las plantas marcadas con ^{15}N (Figura 2). El análisis de varianza del % átomos $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$ mostró evidencia estadística de que la proporción de ^{15}N entre los tratamientos fue diferente después de aplicar las soluciones. No hubo diferencia estadística significativa ($p=0.13$) para forma de N, pero la dosis aplicada causó un efecto altamente significativo ($p=0.0001$). Esta diferencia se debió a que los tratamientos con dosis baja no presentaron diferencia respecto a la forma de N, contrario a los tratamientos con dosis alta (Figura 2). T3 y T4 (forma NO_3^-) y T7 y T8 (forma NH_4^+), ambos con la dosis alta, presentaron el mayor % átomos $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$ (Figura 2). En comparación con otros estudios el % átomos $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$ fue bajo pero perceptible, con variaciones de 0 a 0.0038. El % átomos $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$ varía de un estudio a otro, principalmente por las cantidades y el enriquecimiento de las fuentes empleadas. Boyce *et al.* (1996) reportaron 0.09% de átomo en exceso de ^{15}N , pese a que usaron una fuente de bajo enriquecimiento (5% átomo) y la cantidad total de N aplicado varió de 0.35 a 0.7g N L $^{-1}$; estos autores consideran que la intensidad de aplicación puede influir sobre los valores del % átomos $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$.

El % átomos $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$ tampoco presentó diferencia estadística significativa con respecto al escurrimiento ($p=0.09$), con una media de 0.0014 y 0.0011 para SI y NO. Para las interacciones entre factores hubo diferencia estadística significativa ($p\leq 0.04$) sólo para la interacción forma de N * dosis aplicada.

Análisis del porcentaje de nitrógeno recuperado (Nr)

Para el Nr en el follaje nuevo de *Abies religiosa* hubo diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p\leq 0.01$) (Figura 3). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas asociadas sólo con la dosis de N ($p\leq 0.0003$), pero no con la forma de N ($p=0.48$) ni con escurrimiento ($p=0.27$). Ninguna interacción entre factores fue estadísticamente significativa, lo que indica que dentro de una misma forma de N, las dos dosis probadas y la condición de escurrimiento se comportaron de manera similar.

Las coníferas absorben preferentemente NH_4^+ por vía foliar (Bowden *et al.*, 1989; Lumme, 1994; Lumme y Smolander, 1996; Wilson y Tiley, 1998). En parte esto se explica por la preferencia de retención foliar

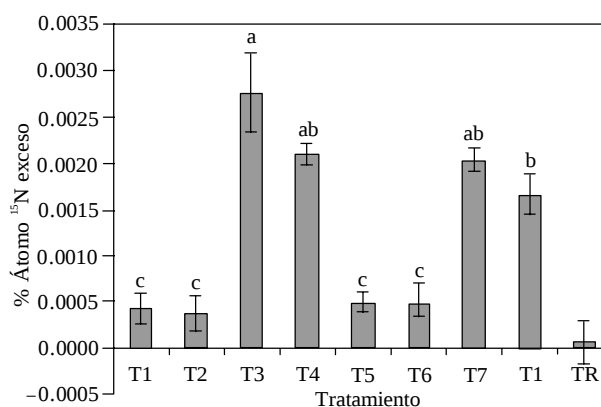


Figura 2. Porcentaje átomo $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$ (% átomos $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$) para los tratamientos aplicados al follaje de brinzales de *Abies religiosa*; más el tratamiento testigo o de referencia (TR).

Figure 2. Percentage atom $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$ (% atoms $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$) for the treatments applied to the foliage of *Abies religiosa* seedlings; plus the control or reference treatment (TR).

difference ($p=0.13$) for form of N, but the applied dose caused a highly significant effect ($p=0.0001$). This difference was due to the fact that the low dose treatments presented no difference with respect to the form of N, contrary to the high dose treatments (Figure 2). T3 and T4 (form NO_3^-) and T7 and T8 (form NH_4^+), both with the high dose, presented the highest % atoms $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$ (Figure 2). Compared with other studies, the % atoms $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$ was low but perceptible, with variations of 0 to 0.0038. The % atoms $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$ varied from one study to another, mainly because of the amounts and the enrichment of the sources employed. Boyce *et al.* (1996) reported 0.09% of excess atoms of ^{15}N , despite the fact that they used a source of low enrichment (5% atom) and the total amount of N applied varied from 0.35 to 0.7g N L $^{-1}$; these authors consider that the intensity of application may have an influence on the values of % atoms $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$.

Neither did the % atoms $^{15}\text{N}_{\text{exceso}}$ presented significant statistical difference with respect to throughfall ($p=0.09$), with a mean of 0.0014 and 0.0011 for YES and NO. For the interactions among factors there was significant statistical difference ($p\leq 0.04$) only for the interaction form of N * dose applied.

Analysis of the percentage of recovered nitrogen (Nr)

For Nr in the current-year foliage of *Abies religiosa* there was significant statistical difference among treatments ($p\leq 0.01$) (Figure 3). Statistically significant differences were found associated only with the dose of N ($p\leq 0.0003$), but not with the form of N ($p=0.48$)

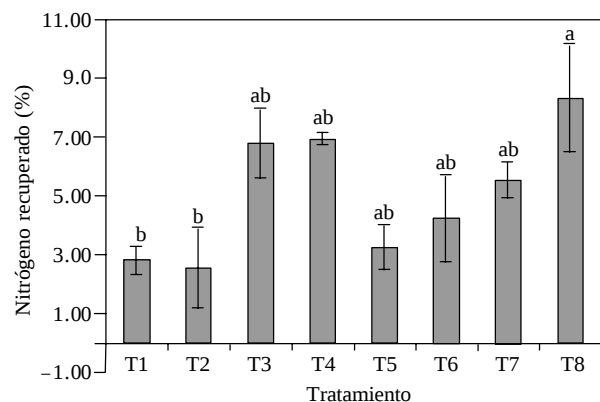


Figura 3. Porcentaje de nitrógeno recuperado (%Nr) por tratamiento en follaje de *Abies religiosa*.

Figure 3. Percentage of recovered nitrogen (%Nr) per treatment in foliage of *Abies religiosa*.

del NH_4^+ comparado con NO_3^- (Wilson y Tiley, 1998). Sin embargo, esta preferencia no se observa en todas las especies; Garten *et al.* (1998) no encontraron diferencias significativas entre la retención foliar de NO_3^- y NH_4^+ en especies del sotobosque de los géneros *Acer*, *Cornus*, *Abies* y *Picea*. En follaje de *Picea abies*, los valores medios de la absorción de NH_4^+ fueron más altos que los de NO_3^- , pero la absorción entre estos dos iones no fue significativamente diferente (Wilson y Tiley, 1998).

El Nr varió de 2 a 8%; al respecto, Brumme *et al.* (1992) encontraron recuperaciones de 6% N por depósito húmedo en el follaje de *Fagus silvatica* L., mientras que Boyce *et al.* (1996) observaron que el follaje (junto con las ramillas) de *Picea rubens* Sarg. asimilaron 5% del N aplicado como NH_4^+ y sólo 1% como NO_3^- . Sin embargo, en el presente estudio sólo se evaluó el porcentaje de Nr en la porción de follaje nuevo.

La cantidad de N absorbido por vía foliar puede variar de acuerdo con la especie. La retención de ^{15}N puede ser 4 a 5 veces más alta en las especies latifoliadas (12-26%) que en las coníferas (3-5.8%), debido a la baja integridad de las ceras epicuticulares de las latifoliadas (Garten *et al.*, 1998).

La dosis alta presentó porcentajes de Nr mayores que la baja. Los tratamientos T3, T4, T7 y T8 que recibieron la dosis alta, presentaron la mayor recuperación (Figura 3), sugiriendo que la tasa de absorción de N es proporcional a su concentración en la solución aplicada. Brumme *et al.* (1992) reportaron resultados similares al aplicar N en follaje de *F. silvatica* L., en dosis baja (8 mg N L^{-1}) y alta (30 mg N L^{-1}).

La dosis baja aplicada en el presente estudio simuló un depósito de $22 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ y se recuperó 3.1% de N, y en la dosis alta ($60 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$) se recuperó 6.8% de N. Estos valores son altos comparados

nor with throughfall ($p=0.27$). No interaction among factors was statistically different, which indicates that within a same form of N, the two doses tested and the condition of throughfall behaved in a similar manner.

Conifers absorb NH_4^+ preferentially by foliar uptake (Bowden *et al.*, 1989; Lumme, 1994; Lumme and Smolander, 1996; Wilson and Tiley, 1998). This is explained in part by the preference of foliar retention of NH_4^+ compared with NO_3^- (Wilson and Tiley, 1998). However, this preference is not observed in all of the species; Garten *et al.* (1998) did not find significant differences among the foliar retention of NO_3^- and NH_4^+ in species of the undergrowth of *Acer*, *Cornus*, *Abies* and *Picea*. On foliage of *Picea abies* the mean values of the absorption of NH_4^+ were higher than those of NO_3^- , but the absorption between these two ions was not significantly different (Wilson and Tiley, 1998).

The Nr varied from 2 to 8%; to this respect, Brumme *et al.* (1992) found recoveries of 6% N by wet deposition in the foliage of *Fagus silvatica* L., while Boyce *et al.* (1996) observed that the foliage (along with the branches) of *Picea rubens* Sarg. assimilated 5% of the N applied as NH_4^+ and only 1% as NO_3^- . However, in the present study, only the percentage of Nr in the portion of current-year foliage was evaluated.

The amount of N absorbed by foliar uptake can vary according to the species. The retention of ^{15}N can be 4 to 5 times higher in broadleaf species (12-26%) than in the conifers (3-5.8%), due to the low integrity of the epicuticular waxes of broadleaf species (Garten *et al.*, 1998).

The high dose presented higher percentages of Nr than the low dose. The treatments T3, T4, T7 and T8 that received high dose, presented the highest recovery (Figure 3), suggesting that the rate of absorption of N is proportional to its concentration in the applied solution. Brumme *et al.* (1992) reported similar results when applying N in foliage of *F. silvatica* L., in low (8 mg N L^{-1}) and high dose (30 mg N L^{-1}).

The low dose applied in the present study simulated a deposition of $22 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ and 3.1% N was recovered, and in the high dose ($60 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$) 6.8% of N was recovered. These values are high compared with those obtained by Schleppe *et al.* (1999), who simulated a wet deposition in *P. abies* of $30 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ and recovered only 2% of N in current-year foliage.

For the throughfall condition, there were no statistically significant differences in the percentage of Nr. In the N in net recovered mass (Figure 4), statistically significant differences were found, with a higher absorption of N when throughfall to the substrate was permitted. The above underlines the importance of the root system as the most important route for the absorption of N (Fenn and Leininger, 1995).

con los obtenidos por Schleppi *et al.* (1999) quienes simularon un depósito húmedo en *Picea abies*, de 30 kg N ha⁻¹ año⁻¹ y recuperaron solamente 2% de N en hojas nuevas.

Para la condición de escurrimiento no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de Nr. En el N en masa neta recuperada (Figura 4) hubo diferencias estadísticamente significativas, con una mayor absorción de N cuando se permitió el escurrimiento al sustrato. Lo anterior destaca la importancia del sistema radicular como la vía más importante la absorción de N (Fenn y Leininger, 1995).

El porcentaje máximo de N en el presente estudio fue 8%, un valor alto comparado con estudios similares. Lo anterior sugiere que en campo podrían ocurrir efectos serios en el desarrollo de los bosques de oyamel. Suponiendo un comportamiento similar en toda la copa del árbol y una productividad de 12 m³ ha⁻¹ año⁻¹, una densidad de la madera de 0.5 Mg m⁻³ y una relación C:N de 100 en promedio para tejido vegetal, un bosque de oyamel demandaría 30 kg N ha⁻¹ año⁻¹. Con los resultados del presente experimento, de los 22 kg N ha⁻¹ año⁻¹ que reciben los bosques del Valle de México en depósito húmedo, 1.76 kg se podrían absorber por vía foliar. Esto es, al menos 6% de los requerimientos de N llegarían vía copa. Los ingresos altos de N en los bosques pueden conducir a desbalances nutrimentales y deterioro de la calidad de agua.

CONCLUSIONES

Abies religiosa absorbió nitrógeno vía foliar como resultado del depósito húmedo simulado, corroborado con el % átomo ¹⁵N_{exceso}. El efecto en la forma de N no fue estadísticamente significativo, con una media de 4.75 y 5.31 % de Nr, para NO₃⁻ y NH₄⁺. No hubo preferencia de absorción de N en forma de amonio como lo sugieren estudios similares. El efecto de la dosis fue altamente significativo, indicando que a mayor dosis de aplicación, mayor será la absorción foliar de N. La condición de escurrimiento al sustrato no fue estadísticamente significativa al expresar los datos como porcentaje del N aplicado; sin embargo, cuando el N se expresó en masa neta, hubo una mayor absorción significativa de N para el escurrimiento al sustrato. El porcentaje de Nr fue 8%, considerado un valor relativamente alto comparado con estudios similares.

AGRADECIMIENTOS

Al Programa UC-Mexus-CONACYT por el financiamiento a este proyecto.

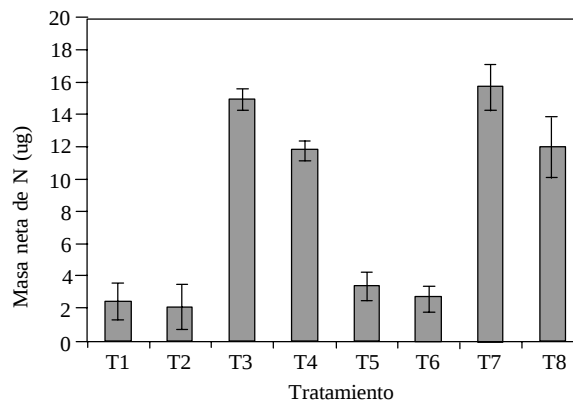


Figura 4. Masa neta de N recuperado en follaje nuevo de *Abies religiosa*, a partir de depositación húmeda simulada.

Figure 4. Net mass of recovered N in recent foliage of *Abies religiosa*, from simulated wet deposition.

The maximum percentage of N in the present study was 8%, a high value compared with similar studies. The above suggests that in the field, serious effects could occur in the development of the fir forests. Assuming a similar behavior throughout the crown of the tree and a productivity of 12 m³ ha⁻¹ year⁻¹, a wood density of 0.5 Mg m⁻³ and a ratio C:N of an average of 100 for plant tissue, a fir forest would demand 30 kg N ha⁻¹ year⁻¹. With the results of the present experiment, of the 22 kg N ha⁻¹ year⁻¹ received by the forests in the Valley of México in wet deposition, 1.76 kg could be absorbed via foliar uptake. That is, at least 6% of the requirements of N would come via the crown. The high depositions of N in the forests may lead to nutrimental imbalances and deterioration of the water quality.

CONCLUSIONS

Abies religiosa absorbed nitrogen via foliar uptake as a result of the simulated wet deposition, verified with the % atom ¹⁵N_{excess}. The effect in the form of N was not statistically significant, with a mean of 4.75 and 5.31 % of Nr, for NO₃⁻ and NH₄⁺, respectively. There was no preference of N uptake in the form of ammonium as suggested in similar studies. The effect of the dose was highly significant, indicating that the higher the dose of application, the greater the foliar uptake of N. The condition of throughfall to the substrate was not statistically significant when expressing the data as percentage of the applied N; however, when the amount of N was expressed in net mass, there was a greater significant uptake of N for the throughfall to the substrate. The percentage of Nr was 8%, considering a relatively high value compared with similar studies.

LITERATURA CITADA

- Aber, J., W. McDowell, K. Nadelhoffer, A. Magill, G. Berntson, M. Kamakea, S. McNulty, W. Currie, L. Rustad, and I. Fernández. 1998. Nitrogen saturation in temperate forest ecosystems. Hypotheses revised. *BioScience* 48: 921-934.
- Bowden, R. D., G. T. Geballe, and W. B. Bowden. 1989. Foliar uptake of ^{15}N from simulated cloud water by red spruce (*Picea rubens*) seedlings. *Can. J. For. Res.* 19: 382-386.
- Boyce, R. L., A. J. Friedland, C. P. Chamberlain, and S. R. Polson. 1996. Direct canopy nitrogen uptake from ^{15}N -labeled wet deposition by mature red spruce. *J. Can. For. Res.* 26: 1539-1547.
- Brumme, U. R., U. Leimcke, and E. Matzner. 1992. Interception and uptake of NH_4 and NO_3 from wet deposition by above-ground parts of young beech (*Fagus sylvatica* L.) trees. *Plant and Soil* 142: 273-279.
- Buchmann, N., E. D. Schulze, and G. Gebauer. 1995. ^{15}N -ammonium and ^{15}N -nitrate uptake of a 15-year-old *Picea abies* plantation. *Oecologia* 102: 361-370.
- Cabrera, M. L., and D. E. Kissel. 1989. Review and simplification of calculations in ^{15}N tracer studies. *Fertilizer Res.* 20: 11-15.
- Ehlenringer, J. R., and P. W. Rundel. 1989. Stable isotopes: history, units, and instrumentation. In: *Stable Isotopes in Ecological Research*. Rundel P. W., J. R. Ehleringer, and K. A. Nagy (eds). Springer-Verlag, New York Inc. pp: 1-15.
- Emmett, B. A., O. J. Kjønaas, P. Gundersen, C. Koopmans, A. Tietema, and D. Slebo. 1998. Natural abundance of ^{15}N in forests across a nitrogen deposition gradient. *For. Ecol. Manage.* 101: 9-18.
- Fenn, M. E., and T. D. Leininger. 1995. Uptake and distribution of nitrogen from acidic fog within a Ponderosa Pine (*Pinus ponderosa* Laws.)/litter/soil system. *For. Sci.* 41: 645-663.
- Fenn, M. E., L. I. De Bauer, A. Quevedo-Nolasco, and C. Rodríguez-Frausto. 1999. Nitrogen and sulfur deposition and forest nutrient status in the Valley of México. *Water, Air, and Soil Pollution* 113: 155-174.
- Fenn, M. E., L. I. Bauer, K. Zeller, A. Quevedo, C. Rodríguez, and T. Hernández-Tejeda. 2002. Nitrogen and sulfur deposition in the México City air basin: Impacts of forest nutrient status and nitrate levels in drainage waters. In: Fenn M. E., L. I. de Bauer, and T. Hernández-Tejeda (eds). *Urban Air Pollution and Forests Resources at Risk in the Mexico City Air Basin*. Springer-Verlag, New York, USA. Vol. 156. pp: 194-221.
- Fenn, M. E., T. D. Huntington, S. B. McLaughlin, C. Eagar, A. Gomez, and R. B. Cook. 2006. Status of soil acidification in North America. *J. For.* (Prague) 52: 3-13.
- Flaig, H., and H. Mohr. 1992. Assimilation of nitrate and ammonium by the Scot pine (*Pinus sylvestris*) seedling under conditions of high nitrogen supply. *Physiol. Plant.* 84: 568-576.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köpen. 4a. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 217 p.
- Garten, C. T., A. B. Schwab, and T. L. Shirshac. 1998. Foliar retention of ^{15}N tracers: implications for net canopy exchange in low- and high-elevation forest ecosystems. *For. Ecol. Manage.* 103: 211-216.
- Lindberg, S. E., D. S. Shilner, and W. A. Hoffman, J. R. 1982. The interaction of wet and dry deposition with the forest canopy. In: *Acid Precipitation. Effects on Ecological Systems*. D'itri, F. M. (ed). Ann Arbor Science. England. pp: 385-409.
- Lumme, I. 1994. Nitrogen uptake of Norway spruce (*Picea abies* Karst.) seedlings from simulated wet deposition. *Forest Ecol. Manage.* 63: 87-96.
- Lumme, I., and A. Smolander. 1996. Effect of nitrogen deposition level on nitrogen uptake and bud burst in Norway spruce (*Picea abies* Karst.) seedlings and N uptake by soil microflora. *For. Ecol. Manage.* 89: 197-204.
- Rey, C. J. A. 1975. Estudio de Suelos de la Estación de Enseñanza Investigación y Servicios Forestales de Zoquiapan. Universidad Autónoma Chapingo. Información técnica. México. 63 p.
- SAS Institute. 1988. SAS User's Guide. SAS Institute, Cary, NC. 1028 p.
- Schleppi, P., I. Bucher-Wallin, R. Siegwolf, M. Saurer, N. Muller, and J. B. Bucher. 1999. Simulation of increased nitrogen deposition to a montane forest ecosystem: partitioning of the added ^{15}N . *Water, Air, and Soil Pollution* 116: 129-134.
- Schlesinger, W. H. 1997. *Biogeochemistry: An Analysis of Global Change*. 2nd. ed. Academic Press, San Diego, CA. 588 p.
- Tietema, A., B. A. Emmett, P. P. Gundersen, and O. J. Kjønaas. 1998. The fate of ^{15}N -labeled nitrogen deposition in coniferous forest ecosystems. *For. Ecol. Manage.* 101: 19-27.
- Wilson, E. J., and C. Tiley. 1998. Foliar uptake of wet-deposited nitrogen by Norway Spruce: an experiment using ^{15}N . *Atmospheric Environ.* 32: 513-518.