

UNIVERSIDAD NACIONAL

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Informe Escrito Final

**Efecto de la fertilización con nitrógeno y fósforo sobre el proceso de descomposición
en un bosque tropical húmedo del cantón de Guácimo, Limón, Costa Rica.**

**Proyecto de graduación presentado como requisito parcial para optar por el grado de
Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos Naturales**

David Matthey Trigueros

Campus Omar Dengo

Heredia, 2019

I

Este trabajo de graduación fue _____ por el Tribunal Examinador de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Manejo de Recursos Naturales.

**Grado Académico, nombre
Presidente del Tribunal**

**Grado Académico, nombre
Director de la Escuela de Ciencias Biológicas**

**Grado Académico, nombre
Tutor(a)**

**Grado Académico, nombre
Asesor(a)**

**Grado Académico, nombre
Invitado(a) especial**

II

RESUMEN

La descomposición de la materia orgánica (MO) es de suma importancia dentro del funcionamiento de los ecosistemas ya que mediante este proceso se reciclan los nutrientes minerales, los cuales son indispensables para el desarrollo de los organismos autótrofos, pero el papel que juega la disponibilidad de nutrientes en el suelo como factor estimulante en este proceso no es del todo claro, por esto el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de cambios en la disponibilidad de nutrientes del suelo sobre el proceso de descomposición, liberación de nutrientes al ambiente y sus implicaciones ambientales en un bosque tropical húmedo en las tierras bajas del Caribe de Costa Rica. Se colocaron bolsas de descomposición con hojarasca de *H. alchorneoides* y paletas de madera, para medir el efecto de la fertilización con N, P y NP, en la Reserva Forestal Escalera de Mono Universidad EARTH, Guácimo, Limón. Un total de 320 bolsas de descomposición, con 7g de hojarasca y una paleta de madera, se colocaron durante 36 semanas, con cinco tiempos de colecta de muestras, posteriormente se determinó el porcentaje de pérdida de biomasa, así como análisis de nutrientes de nitrógeno, fósforo y carbono. A las 36 semanas, se perdió entre un 70 y 80% del material inicial para ambos sustratos, y no hubo diferencias significativas entre tratamientos. La concentración de nutrientes en la hojarasca remanente respondió de manera diferente al tiempo y a los tratamientos aplicados, ya que la concentración de P fue significativamente afectada por la fertilización ($p = 0.022$). En términos de la cantidad de N remanente este disminuyó significativamente con el tiempo ($p < 0.001$) y se vio marginalmente afectada por la fertilización ($p = 0.051$). No se encontró un efecto claro de la adición de N y P sobre la pérdida de masa de hojarasca ni de madera esto podría explicarse porque 1) la disponibilidad de nutrientes es alta, 2) la duración del experimento no fue suficiente, 3) otros nutrientes no incluidos en este estudio son aún más importantes que el N y P 4) las elevadas precipitaciones que podrían ser un control sumamente importante para la pérdida de biomasa. En la dinámica de nutrientes se encontró una mayor inmovilización de P en las parcelas con adición de P, lo que se evidencia en la razón N/P y C/P más bajas con respecto al resto de tratamientos, sin embargo, no se observó una inmovilización de N significativa en las parcelas con adición de este nutriente, lo cual podría indicar que N no es un nutriente tan limitante en comparación con el P. Se concluye que 1) Estudios a nivel local son de suma importancia, 2) Es necesario reforzar los datos obtenidos con otros estudios sobre diversidad y estructura de la biota en el suelo 3) En este estudio, el P tuvo el efecto más claro en la dinámica de nutrientes.

III

Agradecimientos

Primero deseo agradecer a mis padres por siempre apoyar sin condición mis esfuerzos por estudiar y poder culminar una carrera por la cual siento una gran pasión.

A Silvia Álvarez y Andrea Vincent, que a lo largo de este proceso sirvieron como motivadoras, consejeras y guías, agradecimiento total hacia ellas. De igual manera a Roberto Cordero por sus siempre oportunas observaciones sobre este trabajo.

A mis compañeros Sigrid Coto, Mariano Barrantes y Jorge Valerio. Gracias por su apoyo en la toma de datos.

A todos los profesores de los cuales aprendí durante las clases recibidas, de igual manera a la Universidad Nacional, por darme la formación académica durante estos años.

Los funcionarios de la Universidad EARTH que siempre estuvieron para brindar una mano, el señor Carlos Sandí y los muchachos del vivero forestal y el taller didáctico.

Todos formaron parte indispensable en la culminación de este trabajo.

IV

Dedicatoria

Dedicado a mis padres por estar desde siempre dándome su apoyo incondicional

Índice

Miembros del tribunal	I
Resumen.....	II
Agradecimiento	III
Dedicatoria	IV
Índice	V
Índice de cuadros	VI
Índice de figuras	VII
1. Introducción	1
1.2. Objetivos	4
1.2.1. Objetivo General	4
1.2.2. Objetivos Específicos	4
2. Metodología	5
2.1. Sitio de estudio	5
2.2. Diseño experimental	6
2.2.1. Preparación de las bolsas de descomposición	8
2.2.2. Análisis de datos	10
2.2.3. Análisis de nutrientes	11
3. Resultados	11
3.1. Descomposición	11
3.2. Concentración de nutrientes en hojarasca remanente	15
3.3. Cantidad de nutrientes remanentes	19
3.4. Relación carbono/nutrientes	21
4. Discusión	24
4.1. La fertilización no aumentó la tasa de descomposición	24

4.2. Mayor inmovilización de P en hojarasca bajo fertilización con P...	25
5. Conclusiones	27
6. Bibliografía	28
7. Anexos	32

VI

Índice de cuadros

Cuadro 1	Parámetros químicos de suelo e indicadores de productividad primaria (NPP) en parcelas de fertilización en la reserva forestal Escalera de Mono, Universidad EARTH, Guácimo de Limón, Costa Rica	6
Cuadro 2	Masa remanente de dos sustratos en descomposición bajo distintos tratamientos de fertilización evaluado mediante un ANOVA de dos vías, en la reserva forestal Escalera de Mono, Universidad EARTH, Guácimo de Limón, Costa Rica. Diferencias entre niveles de un mismo factor se probaron con pruebas de <i>Tukey's HSD</i> ($\alpha=0.05$), donde letras distintas representan diferencias significativas entre los niveles.....	13
Cuadro 3	Diferencias en la concentración de nutrientes (%) en hojarasca en descomposición entre tratamientos de fertilización y a lo largo del tiempo evaluado mediante un ANOVA de dos vías, Reserva forestal Escalera de Mono, Universidad EARTH, Guácimo de Limón, Costa Rica. Diferencias entre niveles de un mismo factor se probaron con pruebas de <i>Tukey's HSD</i> ($\alpha=0.05$), donde letras distintas representan diferencias significativas entre los niveles.....	16
Cuadro 4	Diferencias en los nutrientes remanentes (concentración de nutrientes \times proporción de hojarasca remanente) en hojarasca en descomposición entre tratamientos de fertilización y a lo largo del tiempo evaluado mediante ANOVA de dos vías. Reserva forestal Escalera de Mono, Universidad EARTH, Guácimo de Limón, Costa Rica	20
Cuadro 5	Resultados de ANOVA de dos vías realizados para la relación entre carbono y nutrientes remanentes en hojarasca en descomposición bajo distintos tratamientos de fertilización en la reserva forestal Escalera de Mono, Universidad EARTH, Guácimo de Limón, Costa Rica	22

Índice de figuras

Figura 1	Ubicación y distribución de las parcelas de fertilización en la reserva forestal Escalera de Mono, Universidad EARTH, Guácimo de Limón, Costa Rica	7
Figura 2	Biomasa remanente (%) de hojarasca y madera través del tiempo en un experimento de fertilización en la reserva forestal de la Universidad EARTH, Limón, Costa Rica. (A)= Hojarasca, (B)= Madera; Tratamientos: CT= control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P= fósforo.....	12
Figura 3	Constante de descomposición (<i>k</i>) +/- errores estándar, para hojarasca y madera, transformada exponencialmente, tras 36 semanas de experimento en cuatro tratamientos de fertilización en la reserva forestal de la Universidad EARTH, Limón, Costa Rica. Tratamientos: CT= control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P= fósforo. Diferencias entre tratamientos no significativas	14
Figura 4	Concentración (%) +/- errores estándar, de nutrientes remanentes en hojarasca a lo largo del tiempo en un experimento de fertilización en la Universidad EARTH, Limón, Costa Rica, donde (A)= Nitrógeno (B)=Fósforo (C) = carbono; CT= control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P= fósforo.....	17
Figura 5	Concentración de nutrientes +/- errores estándar, en hojarasca en colecta final (36 semanas) en un experimento de fertilización en la reserva forestal de la Universidad EARTH, Limón, Costa Rica, donde (A)=Nitrógeno, (B)=Fósforo, (C) =Carbono; Tratamientos: CT= control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P= fósforo. Diferencias entre tratamientos no significativas.....	18
Figura 6	Relación de nutrientes remanente +/- errores estándar, en hojarasca a través de 36 semanas de experimento, en un experimento de fertilización en la reserva forestal de la Universidad EARTH, Limón, Costa Rica, donde (A)= C/N, (B)= N/P, (C) = C/P; Tratamientos: CT= control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P= fósforo.....	23

1. INTRODUCCIÓN

La descomposición de la materia orgánica (MO) es de suma importancia dentro del funcionamiento de los ecosistemas ya que mediante este proceso se reciclan los nutrientes minerales, los cuales son indispensables para la producción primaria y el crecimiento de los organismos edáficos (Smith & Smith, 2007). Aunque se sabe que la abundancia y la composición de la micro y mesofauna terrestre, la temperatura y la precipitación (Aerts, 1994, Barajas-Guzmán & Álvarez-Sánchez, 2003, Powers, et al. 2009, Waring, 2012) son importantes reguladores de la descomposición en los bosques tropicales húmedos, el papel que juega la disponibilidad de nutrientes en el suelo como factor estimulante en este proceso no es del todo claro, debido a que los estudios sobre el tema han generado resultados muy variables (Hobbie & Vitousek, 2000). Entender el papel que juega la disponibilidad de nutrientes sobre la descomposición no solo es importante para entender la función de los bosques tropicales y diseñar buenas estrategias de manejo, sino que es vital para entender como estos bosques van a responder al cambio antropogénico global (Peñuelas, et al. 2012).

El nitrógeno (N) y el fósforo (P) pueden representar factores limitantes para el desarrollo de las plantas dentro de los ecosistemas naturales, ya que el N está relacionado directamente con la capacidad fotosintética de los organismos autótrofos (Chapin, et al. 2002), y el P representa la base para la formación de las cadenas responsables de toda replicación genética (ADN y ARN) y por ende síntesis de todas las enzimas necesarias para la vida (Smil, 2002), sin embargo, hay fuerte evidencia de que el P representa el principal nutriente limitante en los bosques tropicales, ya que diversos estudios han encontrado que genera un efecto sobre la actividad y diversidad de organismos descomponedores y respiración en suelos (Camezind, et al. 2017). Hay fuerte evidencia que indica que la disponibilidad de nutrientes limita la actividad de la biota del suelo en bosques tropicales. Por ejemplo, estudios con bolsas de descomposición en el trópico demuestran la importancia del P sobre procesos de liberación e inmovilización de nutrientes (Manzoni, et al. 2010). Lo anterior puede afectar el proceso de reciclaje de nutrientes, ya que los controles sobre la descomposición de la MO están ligados con la actividad de la fauna descomponedora que en el caso de los bosques tropicales lluviosos es uno de los principales

reguladores de la descomposición (Barajas-Guzmán & Álvarez-Sánchez, 2003, Powers, et al. 2009, Yang & Chen, 2009) y de igual manera la diversidad de los microorganismos heterotróficos que se puede ver afectada por la disponibilidad de nutrientes (Hobbie & Vitousek, 2000, Cleveland, et al. 2002, Fanin, et al. 2015).

Se tiene evidencia indirecta de que la actividad de los organismos descomponedores está limitada por nutrientes (Hobbie & Vitousek, 2000, Cleveland, et al. 2002, Peñuelas, et al. 2012, Turner, et al. 2014, Fanin, et al. 2015). Por ejemplo, se han realizado varios experimentos de fertilización que pretenden entender cómo la adición de nutrientes afecta los ecosistemas del trópico húmedo (p.e. Feller, et al. 1999, Mirmanto, et al. 1999, Hobbie & Vitousek, 2000, McGroddy 2004, Cleveland, et al. 2006, Li, et al. 2006, Kaspari, et al. 2008, Wright, et al. 2011, Barantal, 2012, Chen, 2013), sin embargo, pocos han investigado los efectos de la fertilización con nitrógeno y fósforo sobre la descomposición (Hobbie & Vitousek, 2000, McGroddy, 2004, Cleveland, et al. 2006, Barantal, et al. 2012, Chen, et al. 2013). Otras investigaciones han evaluado el efecto de otros nutrientes (Li, et al. 2006) o han sido realizadas en ecosistemas estuarinos (e.g. Feller, et al. 1999). De estos estudios, algunos demuestran que la adición simultánea de N y P estimula la descomposición (Hobbie & Vitousek, 2000, Barantal, et al. 2012), con aumentos de hasta 60% en la pérdida de biomasa en comparación con los controles (Barantal, et al. 2012). Tres de estos estudios encuentran que la adición de N y P de forma independiente no tiene efectos significativos (Hobbie & Vitousek, et al. 2000, McGroddy, et al. 2004, Barantal, et al. 2012).

Durante la pérdida de biomasa de la MO al ser mineralizado el carbono (C) también hay liberación de nutrientes (Malhi, 2010). En ciertos casos, los nutrientes en el sustrato que se fragmenta y se descompone son liberados al ambiente en un proceso llamado mineralización, el cual ocurre cuando la comunidad microbiana está más limitada por C que por la disponibilidad de nutrientes, y se refleja en una disminución en la concentración de nutrientes en el sustrato (Chapin, et al. 2011). Contrario a esto, se presenta la inmovilización de nutrientes como N y P por parte de los microorganismos, los cuales en vez de liberarlos al ambiente los acumulan en sus tejidos dejándolos no disponibles para otros organismos como las plantas que lo requieren para su crecimiento, y que se presenta

cuando la actividad microbiana está limitada por la concentración de nutrientes no por C (Chapin, et al. 2011). Esto se vería reflejado en un aumento en la concentración de nutrientes en el sustrato que se descompone con el tiempo (Chapin, et al. 2011). Con esto, las dinámicas de nutrientes a lo largo de procesos de descomposición y más en experimentos que traten de probar el efecto del aumento de nutrientes en el suelo, será un indicio de la capacidad de la biota descomponedora ya sea para liberarlos al medio o asimilar nutrientes como estrategias de retención de los mismos en los ecosistemas (Hobbie & Vitousek, 2000). Algunos estudios han encontrado que el efecto de adicionar nutrientes juega un papel importante en la dinámica de un ecosistema. Por ejemplo, se ha documentado aumentos en los niveles de P inmovilizado en el sustrato descompuesto luego de la adición de P (McGroddy, et al. 2004) y N+P, algunas veces hasta del doble de los niveles iniciales (Hobbie & Vitousek, 2000).

Entender el papel que juegan los nutrientes en los procesos ecosistémicos no solo es importante desde un punto de vista ecológico y de manejo, sino como medida de adaptación al cambio ambiental global. Se sabe que la entrada de nutrientes como N y P a los bosques está aumentando por la actividad antropogénica (Matson, et al. 1999, Smil, 2000, Bennett, et al. 2001, Hietz, et al. 2011). De igual manera, desde el inicio de la era industrial se ha generado un aumento en la acumulación de P en suelos agrícolas, debido a la aplicación de fertilizantes inorgánicos y la utilización de alimentos ricos en este elemento para animales de granja, que por medio de la erosión por agua y viento se está perdiendo de estos suelos (Smil, 2000, Bennett, et al. 2001). Estos nutrientes podrían llegar a ecosistemas naturales por medio de partículas de suelo y formas disueltas de P en aguas ya sea de ríos o de escorrentía superficial, ya que un aumento en el cambio del uso del suelo ha favorecido los procesos anteriores. Además, otros procesos naturales como el transporte de P en el polvo proveniente del Sahara se puedan ver afectados en un escenario de cambio climático global (Elser, et al. 2007).

Los experimentos de fertilización a gran escala y a largo plazo son vitales para investigar el papel que tiene la disponibilidad de nutrientes y los cambios en las entradas de los mismos a la biosfera por efecto antropogénico sobre los procesos ecológicos (Tanner, et al. 1998, Wright, et al. 2011, Álvarez-Clare, et al. 2013). Actualmente hay pocos

experimentos de fertilización en el bosque tropical lluvioso de bajura en el mundo, uno de ellos el utilizado en este estudio. Por estas razones, comprender cómo la disponibilidad de nutrientes afecta la descomposición en los bosques tropicales es crucial para predecir la respuesta de estos ecosistemas al cambio ambiental global, y para desarrollar estrategias de manejo que aseguren su salud y su función a futuro.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo general.

Evaluar el efecto de cambios en la disponibilidad de Nitrógeno y Fósforo del suelo sobre el proceso de descomposición, liberación de nutrientes al ambiente y sus implicaciones ambientales en un bosque tropical húmedo del cantón de Guácimo, Limón, Costa Rica.

1.2.2. Objetivos específicos.

Identificar el efecto de la fertilización con N y P como tratamientos individuales y en combinación sobre la tasa de descomposición de la hojarasca y de la madera.

Determinar cómo afecta la fertilización las dinámicas de nutrientes en la hojarasca (inmovilización y pérdida de nutrientes durante la descomposición).

Generar información sobre la respuesta en el proceso de descomposición de los bosques húmedos costarricenses a aumentos en la deposición de N y P, para facilitar la gestión del manejo de bosques naturales y sus implicaciones en los servicios ambientales.

2. Metodología

2.1. Sitio de estudio

El estudio se llevó a cabo en la reserva forestal privada “Escalera de Mono” localizada dentro del campus de la Universidad EARTH (10°11'–10° 15' N y 83° 37' – 83°33' O) a una altitud de 30 m.s.n.m., la cual está ubicada en el cantón de Guácimo, Limón, Costa Rica. La reserva alberga más de 900 ha de bosque destinados a la conservación de los recursos naturales. Se considera un bosque maduro el cuál no ha sido perturbado en más de 25 años, presenta altas precipitaciones con un promedio de 3500 mm anuales, un promedio de temperatura de 25,1°C al año y se clasifica como muy húmedo pre-montano transición a basal (bmh-P) según el sistema de zonas de vida de Holdridge (Bolaños y Watson, 1993). Los suelos de este sitio son de origen volcánico y presentan una proporción alrededor de un 50 % de arcillas, 30 % arena y 20 % de limo y se puede encontrar suelos clasificados como inceptisoles y ultisoles (Sancho, 1990). Se han identificado hasta 104 especies de árboles y palmas, dominadas principalmente por la especie *Pentaclethra macroloba* con un total del 30% del área basal y la especie de palma *Socratea exorrhiza* (Sancho, 1990), condiciones similares a las encontradas en la Estación Biológica La Selva (Hartshorn & Hammel, 1994). El mismo consiste en cuatro tratamientos: adición de N (N, 100 kg N ha⁻¹año⁻¹ en aplicaciones de nitrato de amonio y urea), adición de P (P, 50 kg P ha⁻¹ año⁻¹ como triple superfosfato y roca fosfórica), adición de N y P combinados (NP, utilizando las mismas cantidades aplicadas en las otras parcelas) y el tratamiento de control (CT) sin la adición de fertilizantes, cabe resaltar que los kilogramos de fertilizante aplicados representan un estándar para los estudios de esta índole (Powers, et al. 2009, Yang & Chen, 2009, Álvarez-Clare, et al. 2013).

Se ha reportado en las parcelas de este estudio, que tras 2.7 años de fertilización ya habían generado algunos efectos (Cuadro 1) entre ellos un aumento en el porcentaje de árboles con DAP (Diámetro a la altura del pecho) entre 5 a 10 cm que aumentaron su área basal en las parcelas con adición de P y N+P, además de un incremento en la concentración de P en el suelo (Álvarez-Clare et al. 2013) de igual manera, ciertas especies se vieron

afectadas por la adición de P y N+P incrementando la concentración de P foliar (*Socratea exorrhiza*) y otras que la adición de N propició un aumento en la concentración de este nutriente en sus hojas (*Pentaclethra macroloba*) (Álvarez-Clare & Mack 2015).

Cuadro 1. Parámetros químicos de suelo e indicadores de productividad primaria (NPP) en parcelas de fertilización en la reserva forestal Escalera de Mono, Universidad EARTH, Guácimo de Limón, Costa Rica. Fuente: Álvarez-Clare & Mack 2015.

	Tratamientos de fertilización			
	Control	N	P	NPN+P
Parámetros en suelo (0-10 cm de profundidad)				
pH	4.32 ±0.06	4.25 ±0.05	4.13 ±0.08	4.10 ±0.08
P extraíble (µg g ⁻¹) ^a	3.10 ± 1.85	1.97 ± 0.75	3.42 ± 1.30	3.07 ± 0.66
P total (µg g ⁻¹)	1690.00 ± 310.23	1495.28 ± 164.28	1646.00 ± 244.72	1661.67 ± 173.98
N total (µg g ⁻¹)	438.33 ± 10.75	436.45 ± 4.81	445.50 ± 8.611	433.17 ± 10.52
Indicadores NPP				
Árboles con crecimiento ^b	66.32 ±4.62	66.59 ± 1.94	76.80 ±3.69	76.95 ±3.36
Productividad de hojarasca (Mg C ha ⁻¹) ^c	4.61 ± 0.51	4.72 ± 0.32	5.28 ± 0.77	4.43 ±0.70

Las muestras fueron recolectadas a los 2 años para los parámetros en suelo y a 2.7 para datos de NPP.

^a Extraído con una solución de Mehlich.

^b Promedio del porcentaje de árboles que crecieron en cada parcela entre los 2 y 2.7 años después del inicio de la fertilización.

^c Promedio de hojarasca colectada en trampas de malla entre 1-2 años después de la fertilización.

2.2. Diseño experimental

El estudio se llevó a cabo en un experimento de fertilización a gran escala y a largo plazo llamado EFFEX (EARTH *Forest Fertilization Experiment*) (Fig. 1), el cual fue establecido en el año 2007 (Álvarez-Clare et al. 2013).

Cada tratamiento cuenta con seis parcelas de réplica, excepto el tratamiento de N que cuenta con solo cuatro, debido a que en el año 2009 se cayeron varios árboles que destruyeron gran parte de la vegetación de dos parcelas de N. Por esta razón y con el fin de obtener un diseño balanceado, se utilizaron solamente cuatro de las seis parcelas de cada tratamiento.



Figura 1. Ubicación y distribución de las parcelas de fertilización en la reserva Forestal Escalera de Mono, Universidad EARTH, Guácimo de Limón, Costa Rica.

Cada parcela mide 30 m × 30 m, y se utilizó únicamente el área central (20 m × 20 m) para evitar los efectos de borde; este sector central está dividido en cuatro cuadrantes de igual tamaño (A, B, C y D). La distancia mínima entre parcelas es de 50 m, para evitar la contaminación entre tratamientos (Álvarez-Clare et al. 2013). En estas parcelas se llevó a cabo un experimento de descomposición utilizando dos sustratos, la hojarasca de la especie arbórea *Hyeronima alchorneoides*, y madera. Se eligió la hojarasca de *H. alchorneoides* ya que presenta una hoja de gran tamaño que facilita tanto la recolección del material necesario en redes, así como el manejo de las mismas al elaborar las bolsas de descomposición y es una especie nativa (Cardelus 2010). Para evitar diferencias en el

material a colocar en las bolsas de descomposición se mantuvieron los puntos de colecta en los mismos lugares dentro de la plantación, se secaron todas juntas y posteriormente se homogenizaron para posterior disposición en las bolsas. Además, en la universidad EARTH hay varias plantaciones de esta especie lo cual aseguraba una fuente fiable de material para realizar el experimento. En el sustrato de madera se utilizaron paletas de helado, que son comúnmente usadas en este tipo de experimentos de descomposición (Harmon, et al. 1999). El utilizar sustratos comunes para todas las parcelas nos permite identificar cómo la disponibilidad de nutrientes en el ecosistema afecta la descomposición sobre tipos de materia orgánica con niveles similares de nutrientes en sus tejidos (Harmon, et al. 1999). De esta manera, este experimento de descomposición se enfoca en investigar únicamente diferencias en la comunidad descomponedora del suelo y el mantillo, y no en la calidad de la hojarasca, inducidas por la fertilización.

2.2.1. Preparación de las bolsas de descomposición

La hojarasca de *H. alchorneoides* se recolectó en una plantación forestal en el campus de la universidad EARTH, en redes de sarán de 80% suspendidas a 1 m del suelo y colocadas en la plantación durante una semana. El material se recolectó utilizando guantes de látex para evitar contaminar las muestras. Para secarse, las muestras se colocaron en un sitio ventilado en una superficie que permita aireación de la misma durante una semana (esta metodología también es utilizada para el secado de muestras de suelo para su posterior análisis, Harmon, et al. 1999). Una vez las muestras secas, se retiró la vena central al igual que las porciones de la hoja comidas por insectos o dañadas durante el proceso. La evaluación de la concentración inicial de nutrientes en este material, se tomó una sub-muestra de 10g y se secó en un horno (48h, 55°C) para extracción de nutrientes en el laboratorio, los métodos a utilizar se detallan más adelante.

Las bolsas de descomposición se confeccionaron con cedazo de fibra de vidrio de 2 mm de apertura, para permitir el ingreso de mesofauna (Barajas-Guzmán & Álvarez-Sánchez, 2003) ya que se ha determinado que es un factor determinante dentro de los procesos de descomposición en bosques tropicales (Powers, et al. 2009). Cada bolsa se cosió con hilo de nylon y fue numerada con una etiqueta de aluminio, en la misma se

introdujeron 7 g de hojarasca previamente secada y una paleta de madera previamente pesada. Posteriormente se tomó el peso inicial de cada bolsa (cedazo + hojarasca y paleta de madera); una vez selladas y pesadas las bolsas se colocaron en el campo sobre la hojarasca presente en el sitio para simular las condiciones naturales que la hoja tendría al llegar al suelo del bosque (Harmon, et al. 1999). En cada una de las 16 parcelas experimentales se colocaron 20 bolsas de hojarasca, en grupos de cinco bolsas por cuadrante de cada parcela con el fin de recolectar cuatro bolsas (una por cuadrante) en cinco tiempos de recolección ($4 \times 5 = 20$). La primera recolecta se realizó a las cuatro semanas para determinar cambios rápidos principalmente en la dinámica de nutrientes (Harmon, et al. 1999), y las posteriores recolectas se realizaron a las 12, 19, 24 y 32 semanas, para sumar cinco períodos de recolección. Así, se recolectaron 4 bolsas por parcela \times 5 veces \times 16 parcelas = 320 bolsas de descomposición.

Durante cada periodo de recolección, las bolsas de descomposición se colocaron en bolsas plásticas selladas (Ziplock®) inmediatamente después de ser retiradas del sitio de estudio para evitar la pérdida del material en descomposición. Una vez en el laboratorio, la superficie de las bolsas de cedazo se limpió utilizando pinzas y una brocha para retirar cualquier material como piedras, suelo o raíces que pudieran haberse adherido y una vez limpias se secaron al horno hasta obtener peso constante (aproximadamente 72 h) a 55°C, para determinar su peso seco. Finalmente, de estas muestras secas se preparó una muestra compuesta del material proveniente de las cuatro bolsas por parcela por tiempo de recolección, con el fin de realizar análisis de concentración de nutrientes (Harmon, et al. 1999).

2.2.2. Análisis de datos

Luego de secadas las bolsas recolectadas en cada periodo, se pesaron las muestras de hojarasca y madera para determinar el porcentaje de masa remanente, mediante la fórmula:

$$(t_1/t_0) * 100$$

Donde t_1 es el peso seco de la muestra obtenida durante la colecta número uno t_0 corresponde al peso inicial de la muestra y, así sucesivamente para todos los tiempos de colectas (t_1 , t_2 , t_3 y t_4).

Además, se determinó la constante de descomposición para ambos sustratos utilizando la fórmula:

$$\frac{X_t}{X_0} = e^{-kt}$$

Donde X_t es el peso seco del material en un tiempo transcurrido, X_0 es peso seco inicial, k es una constante de descomposición y t es el tiempo transcurrido (Harmon, et al. 1999).

Para evaluar los impactos de la fertilización sobre la dinámica temporal de la concentración de nutrientes en la hojarasca, se calculó la cantidad de nutrientes remanentes multiplicando la concentración de nutrientes (%) por la masa remanente (%) en las bolsas de descomposición. Se probó que los datos cumplieran con el supuesto de distribución paramétrica con una prueba de Shapiro-Wilk, y luego se aplicaron análisis de varianza de dos vías para determinar el efecto de la fertilización sobre la descomposición (Samuels & Witmer, 2003). Cuando un análisis de varianza (ANDEVA) dio un resultado significativo, se usaron pruebas de *Tukey's Honestly Significant Differences* (HSD) para investigar diferencias entre tratamientos específicos.

2.2.3. Análisis de nutrientes

A la hojarasca se le midió la concentración de nutrientes antes de iniciar el experimento de descomposición, así como en cada uno de los momentos de recolecta. Se midió la concentración de C y N total por medio de combustión en un analizador elemental (vario MACRO CUBE, Elemental), en el Laboratorio de Ecología Tropical Aplicada de la Escuela de Ciencias Ambientales de la Universidad Nacional (UNA). El P total se midió por medio de una extracción con ácido clorhídrico (HCl) seguido por el método de colorimetría utilizando molibdato de amonio (Díaz-Romeo & Hunter, 1982) en un autoanalizador de flujo continuo (QuikChem 8500 Series 2 Lachat Instruments) en el laboratorio del Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología (CIMAR) de la Universidad de Costa Rica (UCR).

3. Resultados

3.1. Descomposición

La pérdida de masa de la hojarasca fue constante a través del tiempo, y para las primeras cuatro semanas de experimento ya había disminuido en aproximadamente un 25% del material inicial para todos los tratamientos (Fig. 2A). A las 36 semanas, se perdió entre un 70 y 80% del material inicial. En el sustrato de madera la primera recolección presentó un porcentaje de descomposición levemente menor al de la hojarasca, con aproximadamente un 15% de pérdida de masa. Sin embargo, para el resto de los periodos, se observaron porcentajes remanentes muy similares entre ambos sustratos (Fig. 2B). Esta pérdida de masa fue significativa con respecto al tiempo de recolecta para ambos sustratos, pero no con respecto al tratamiento de fertilización (Cuadro 2). La constante de descomposición k para ambos sustratos tendió a ser mayor bajo los tratamientos de P y NP con respecto al tratamiento control, sin embargo, esta variación no fue significativa estadísticamente (Fig. 3A, B).

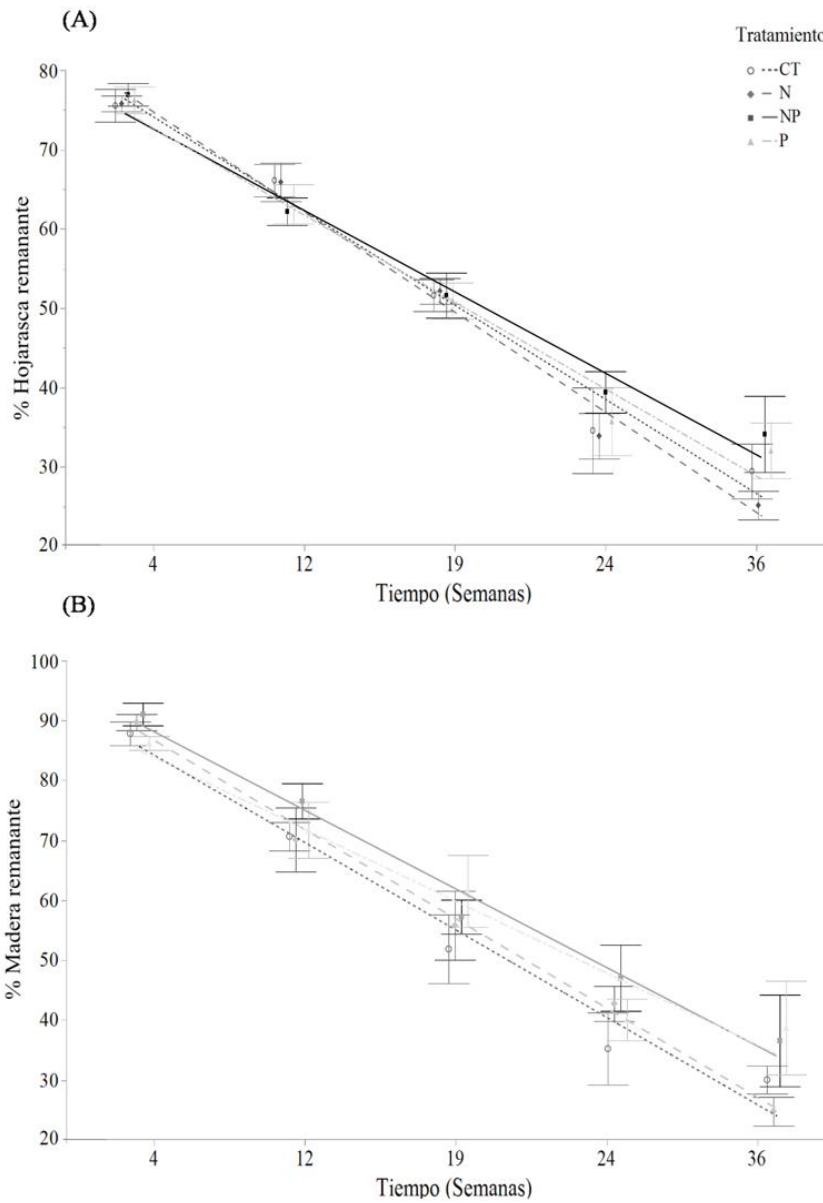


Figura 2. Biomasa remanente (%)+/- Error Estándar, de hojarasca y madera través del tiempo en un experimento de fertilización en la reserva forestal de la Universidad EARTH, Limón, Costa Rica. (A)= Hojarasca, (B)= Madera; Tratamientos: CT= control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P= fósforo.

Cuadro 2. Masa remanente de dos sustratos en descomposición bajo distintos tratamientos de fertilización evaluado mediante un ANOVA de dos vías, en la reserva forestal Escalera de Mono, Universidad EARTH, Guácimo de Limón, Costa Rica. Diferencias entre niveles de un mismo factor se probaron con pruebas de *Tukey's HSD* ($\alpha=0.05$), donde letras distintas representan diferencias significativas entre los niveles.

Factor	F	Grados de libertad	p-model ANOV A	Tukey's HSD
Hojarasca				
Tiempo	261	4	<0.001	4a 12b 19c 24d 36e
Tratamiento	0.88	3	0.455	
Tratamiento × tiempo	0.75	12	0.696	
Madera				
Tiempo	184	4	<0.001	4a 12b 19c 24d 36d
Tratamiento	1.86	3	0.146	
Tratamiento × tiempo	0.44	12	0.940	

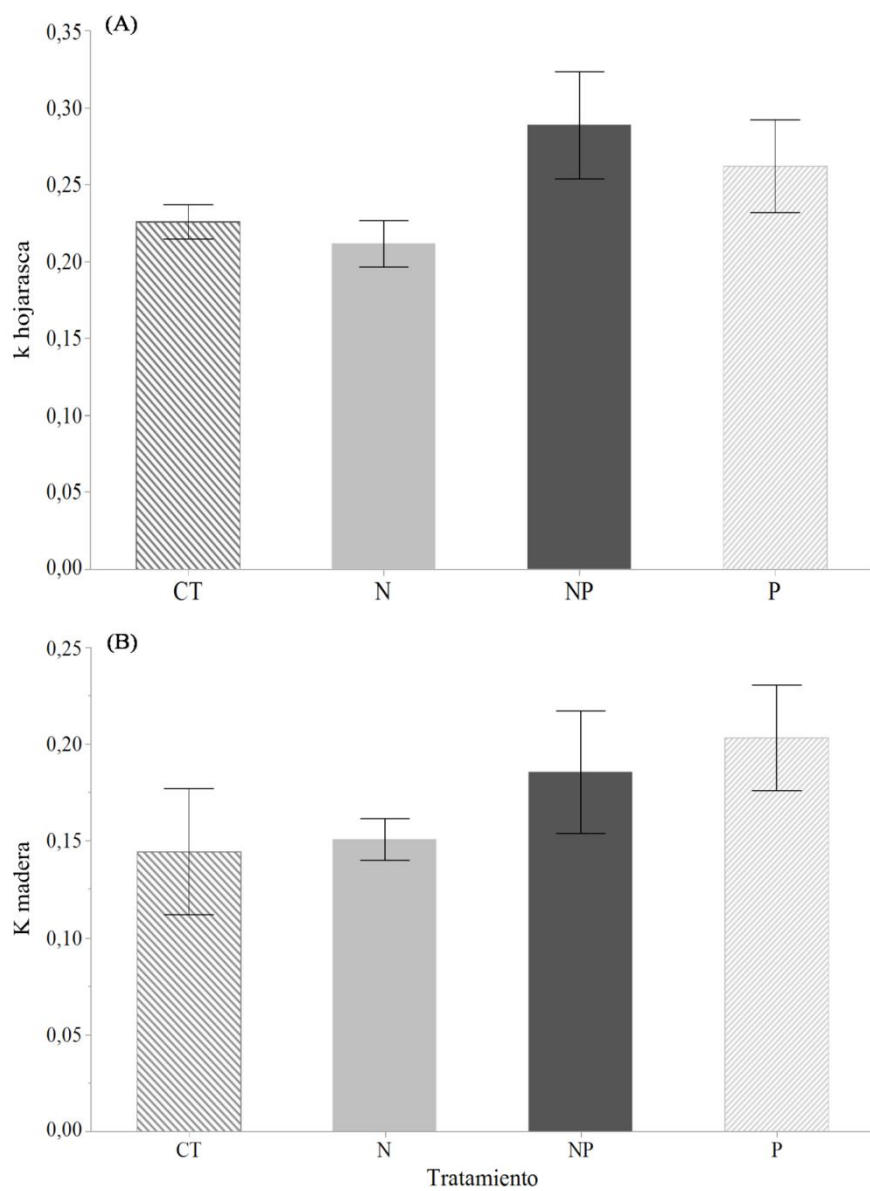


Figura 3. Constante de descomposición (k) \pm Error Estándar, para hojarasca y madera, transformada exponencialmente, tras 36 semanas de experimento en cuatro tratamientos de fertilización en la reserva forestal de la Universidad EARTH, Limón, Costa Rica. Tratamientos: CT= control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P= fósforo. Diferencias entre tratamientos no significativas.

3.2. Concentración de nutrientes en hojarasca remanente

La concentración de nutrientes en la hojarasca remanente respondió de manera diferente al tiempo y a los tratamientos aplicados (Cuadro 3). La concentración de nitrógeno (N) disminuyó significativamente con el tiempo ($p < 0.001$), pero no difirió significativamente entre tratamientos de fertilización ($p = 0.2$; Cuadro 3), a pesar de que la concentración de N al final del experimento tendió a ser menor en los tratamientos de adición de N (Fig. 4A). La concentración de P no cambió significativamente a lo largo del experimento ($p=0.76$) pero si fue significativamente afectada por la fertilización ($p = 0.022$; Cuadro 3), lo cual se ve reflejado por una tendencia a mayores concentraciones de P en las parcelas con adición de P al final del experimento (Fig. 4B). Por otra parte, la concentración de C disminuyó con el tiempo ($p < 0.001$), y fue influenciado por los tratamientos ($p=0.045$; Cuadro 3), con una tendencia no significativa de una menor concentración de C remanente al final de las 36 semanas de experimento bajo en el tratamiento de N (Fig. 5C). No hubo interacciones significativas entre tiempo y fertilización para ninguno de los nutrientes ni para C.

Cuadro 3. Diferencias en la concentración de nutrientes (%) en hojarasca en descomposición entre tratamientos de fertilización y a lo largo del tiempo evaluado mediante un ANOVA de dos vías, Reserva forestal Escalera de Mono, Universidad EARTH, Guácimo de Limón, Costa Rica. Diferencias entre niveles de un mismo factor se probaron con pruebas de *Tukey's HSD* ($\alpha=0.05$), donde letras distintas representan diferencias significativas entre los niveles.

Tratamiento	F	Grados de libertad	p	Tukey's HSD
Nitrógeno				
Tiempo	10.58	4	<0.001*	4a 12 b 19 b 24 b 36 b
Tratamiento	1.60	3	0.2	
Tratamiento × tiempo	0.77	12	0.68	
Fósforo				
Tiempo	0.47	4	0.76	
Tratamiento	3.46	3	0.022*	P a NP ab CT ab N b
Tratamiento × tiempo	0.42	12	0.95	
Carbono				
Tiempo	9.11	4		
Tratamiento	2.86	3	<0.001*	CT a P a NP a N a
Tratamiento × tiempo	0.75	12	0.045*	4 a 24 a 12 ab 19 b 36 b

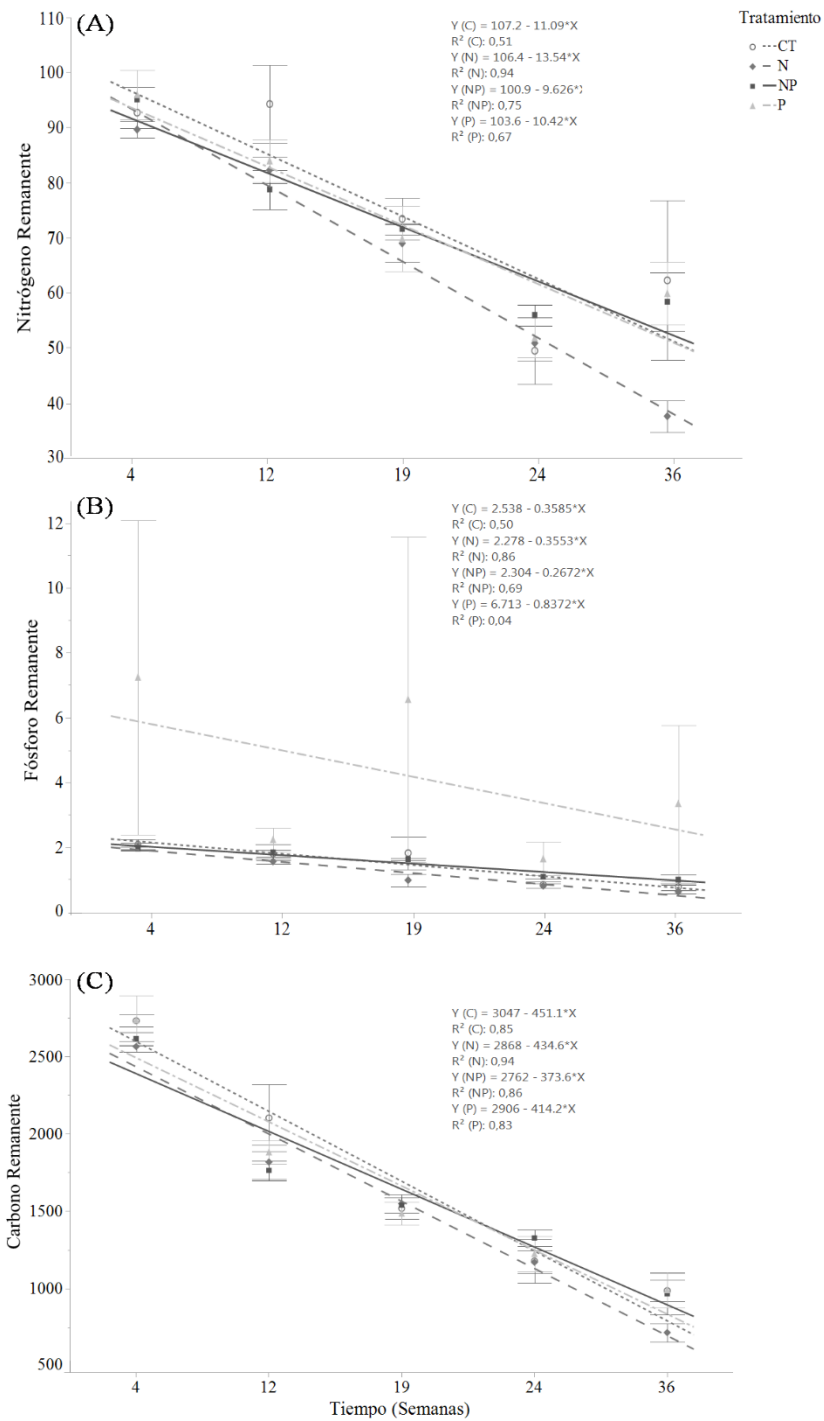


Figura 4. Concentración (%) +/- Error Estándar, de nutrientes remanentes en hojarasca a lo largo del tiempo en un experimento de fertilización en la Universidad EARTH, Limón, Costa Rica, donde (A)= Nitrógeno (B)=Fósforo (C) = carbono; CT= control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P= fósforo.

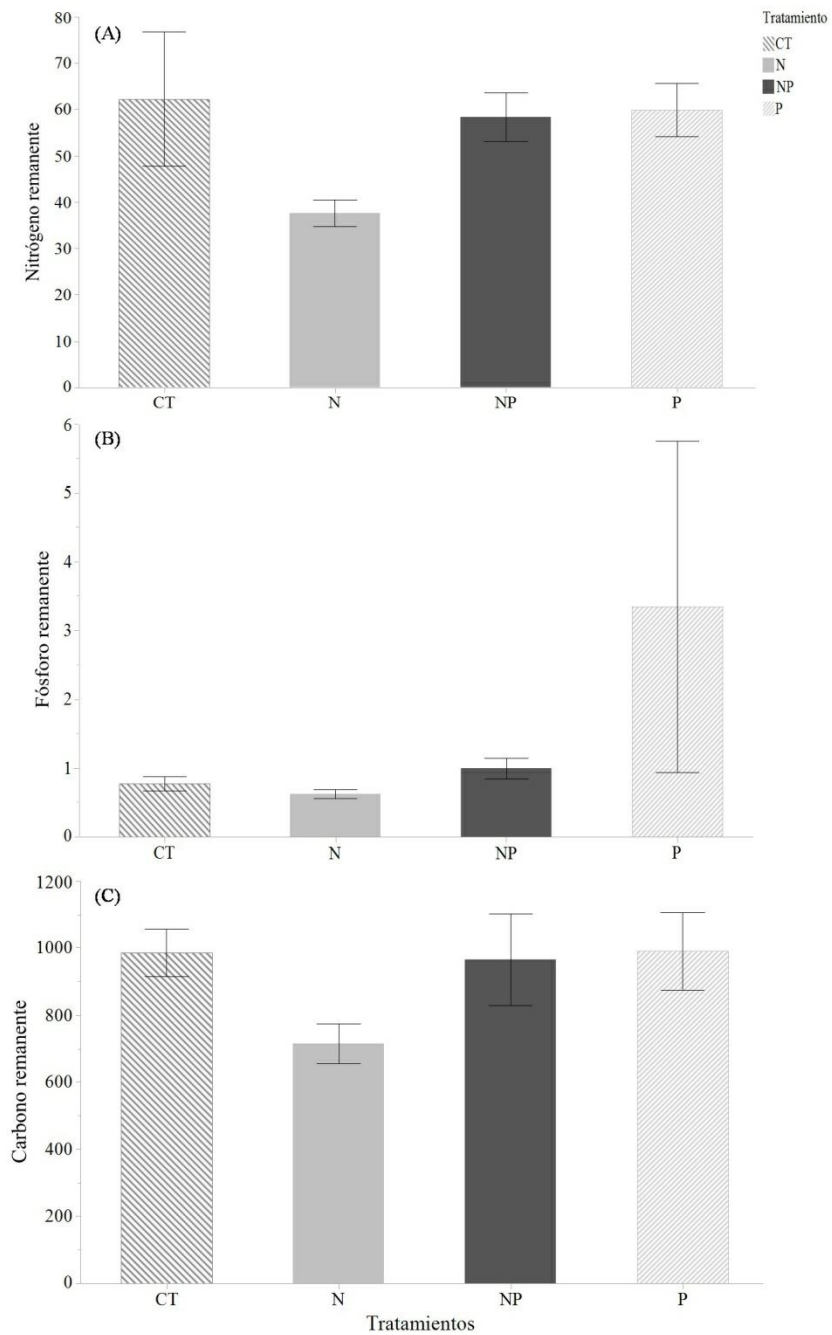


Figura 5. Concentración (%)+/- Error Estándar, de nutrientes en hojarasca en colecta final (36 semanas) en un experimento de fertilización en la reserva forestal de la Universidad EARTH, Limón, Costa Rica, donde (A)=Nitrógeno, (B)=Fósforo, (C) =Carbono; Tratamientos: CT= control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P= fósforo. Diferencias entre tratamientos no significativas.

3.3. Cantidad de nutrientes remanentes

En términos de la cantidad de nitrógeno remanente (concentración de nitrógeno multiplicada por la masa remanente de hojarasca), disminuyó significativamente con el tiempo ($p < 0.001$) y se vio marginalmente afectada por la fertilización ($p = 0.051$; Cuadro 4, Fig. 5A) lo cual refleja la menor cantidad de N remanente en los tratamientos de adición de N que en los demás tratamientos (Fig. 5A). La cantidad de P remanente no varió significativamente a lo largo del experimento ($p = 0.33$) pero sí fue significativamente afectada por la fertilización ($p = 0.022$; Cuadro 3) lo cual se refleja en una mayor cantidad de P remanente en las parcelas fertilizadas con P (Fig. 5B). Finalmente, la cantidad de C remanente disminuyó significativamente a lo largo del tiempo ($p < 0.001$), sin efectos significativos debido a los tratamientos ($p = 0.19$). No hubo interacciones significativas entre tiempo y fertilización para ninguna de las variables.

Cuadro 4. Diferencias en los nutrientes remanentes (concentración de nutrientes × proporción de hojarasca remanente) en hojarasca en descomposición entre tratamientos de fertilización y a lo largo del tiempo evaluado mediante ANOVA de dos vías. Reserva forestal Escalera de Mono, Universidad EARTH, Guácimo de Limón, Costa Rica.

Factor	F	Grados de libertad	p	Tukey's HSD
Nitrógeno				
Tiempo	56.15	4	<0.001*	4 a 12 a 19 b 24 c 36 c
Tratamiento	2.74	3	0.051	
Tratamiento × tiempo	1.34	12	0.22	
Fósforo				
Tiempo	1.18	4	0.33	
Tratamiento	3.45	3	0.022*	P a NP a,b CT a,b N b
Tratamiento × tiempo	0.45	12	0.93	
Carbono				
Tiempo	178	4	<0.001*	4 a 24 b 12 c 19 d 36 e
Tratamiento	1.64	3	0.19	
Tratamiento × tiempo	0.88	12	0.58	

3.4. Relación carbono/nutrientes

La relación entre la concentración de carbono y nutrientes remanentes en hojarasca (concentración \times masa remanente) cambió a través del tiempo y con respecto al tratamiento aplicado (Cuadro 5, Fig. 6). Por ejemplo, la relación C/N varió a través de los periodos de recolección ($p < 0.001$) pero sin cambios por el tratamiento de fertilización ($p = 0.73$; cuadro 5, Fig. 6A). La relación N/P cambió a través del tiempo y con respecto al tratamiento, ya que las parcelas fertilizadas con P presentaron un N/P más bajo que las parcelas de control y las fertilizadas solo con N (Cuadro 5, Fig. 6B). Por último, la proporción C/P no se vio afectada por el tiempo de recolecta pero sí por la adición de nutrientes, ya que en las parcelas con N agregado presentaron los valores más altos en contraste con el tratamiento de adición de P que presentó la relación C/P más baja (Cuadro 5, Fig. 6C).

Cuadro 5. Resultados de ANOVA de dos vías realizados para la relación entre carbono y nutrientes remanentes en hojarasca en descomposición bajo distintos tratamientos de fertilización en la reserva forestal Escalera de Mono, Universidad EARTH, Guácimo de Limón, Costa Rica

Relación	F	Grados de libertad	p	Tukey's HSD
C/N				
Tiempo	49.95	4	<0.001*	4 a 12 b 19 b 24 b 36 c
Tratamiento	0.43	3	0.73	
Tratamiento × tiempo	0.61	12	0.82	
N/P				
Tiempo	3.73	3	0.009*	
Tratamiento	6.08	4	0.001*	N a CT a NP a,b P b
Tratamiento × tiempo	0.78	12	0.66	
C/P				
Tiempo	1.10	3	0.36	
Tratamiento	9.71	4	<0.001*	N a CT a,b NP b,c P c
Tratamiento × tiempo	0.97	12	0.48	

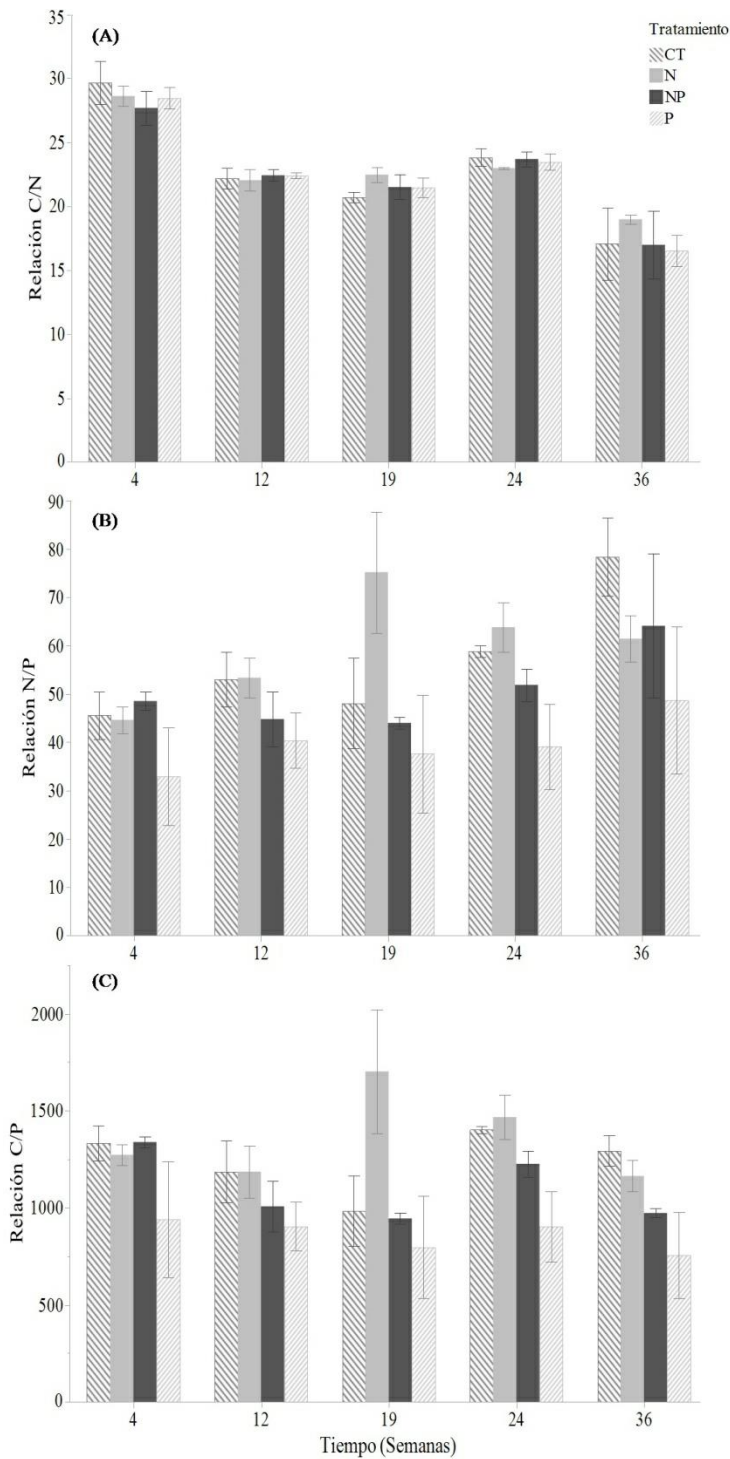


Figura 6. Relación de nutrientes +/- Error Estándar, remanente en hojarasca a través de 36 semanas de experimento, en un experimento de fertilización en la reserva forestal de la Universidad EARTH, Limón, Costa Rica, donde (A)= C/N, (B)= N/P, (C) = C/P; Tratamientos: CT= control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P= fósforo.

4. Discusión

4.1. La fertilización no aumentó la tasa de descomposición

La disminución de biomasa reportada para la hojarasca en este estudio es similar a lo reportado por Cleveland (2006) para la Península de Osa, Costa Rica, donde las pérdidas de hojarasca fueron de más del 80% de la biomasa inicial después de 250 días de descomposición, un período de tiempo similar al de este estudio, pero con hojarasca de otra especie de árbol tropical (*Brosimum utile*). Sin embargo, contrasta con estudios de descomposición que utilizan hojarasca de *H. alchorneoides* (utilizada en este experimento) (Wieder et al. 2009) en donde se reporta un promedio de apenas un 52.1% de pérdida de biomasa tras un año en descomposición. Esta variabilidad se presenta en la mayoría de los estudios de descomposición realizados en ecosistemas tropicales aún bajo condiciones climáticas similares como precipitación y temperatura media anual, y parece responder a variables como la concentración inicial de nutrientes de los sustratos a descomponer, ya que este tipo de hojas tomadas de plantaciones forestales, pueden variar su concentración según edad de la plantación y manejo que ha recibido (Hättenschwiler, et al. 2010).

Contrario a la hipótesis planteada, no se encontró un efecto claro de la adición de N y P sobre la pérdida de masa de hojarasca ni de madera. Esto podría explicarse porque 1) la disponibilidad de nutrientes es alta, lo que genera que la descomposición no está limitada por nutrientes en el sitio de estudio, 2) la duración del experimento no fue suficiente para generar un efecto observable de la descomposición, 3) otros nutrientes no incluidos en este estudio son aún más importantes que el N y P (Li, et al. 2006) y son los que están limitando la tasa de descomposición, 4) las elevadas precipitaciones que podrían conllevar a que la lixiviación sea un control sumamente importante para la pérdida de biomasa; tal como reporta Cleveland et al. (2006) en un estudio de descomposición llevado a cabo en un bosque lluvioso en la Península de Osa, Costa Rica. Sin embargo, otros estudios en los trópicos han encontrado un claro efecto de la adición simultánea de N y P sobre la pérdida de biomasa (Hobbie & Vitousek 2000, Barantal et al. 2012). Esta discrepancia entre los resultados obtenidos en este proyecto y otros estudios publicados para los trópicos podría responder a la interacción entre gran variedad de condiciones propias de cada sitio.

Otro factor que puede incidir en la variabilidad de efectos encontrados con respecto a otros estudios realizados en los trópicos, es el tipo de sustrato a descomponer, ya que este factor es una de las variables que más difiere entre experimentos de fertilización con N y P y descomposición en bosques tropicales húmedos (Barantal, et al. 2012). Por ejemplo, ciertos estudios utilizan hojarasca de varias especies, con rangos muy variables tanto en composición química como estructural (Kaspari, 2008, Barantal, et al. 2012). Otros estudios utilizan un único tipo de hoja (Cleveland, et al. 2006, Hobbie & Vitousek, 2000) como en este estudio. Esta gran variabilidad en tasas de descomposición observada se da entre ecosistemas tropicales aún bajo condiciones climáticas similares (Hättenschwiler, et al. 2010).

4.2. Mayor inmovilización de P en hojarasca bajo fertilización con P.

La hipótesis planteada inicialmente indicaba que la adición de P iba a generar un aumento en la inmovilización de este nutriente y que la adición de N generaría una inmovilización pero menor a la que se esperaba de P. La hipótesis se cumplió parcialmente, ya que sí se encontró una mayor inmovilización de P en las parcelas con adición de P, lo que se evidencia en la razón N/P y C/P más bajas con respecto al resto de tratamientos, sin embargo, no se observa una inmovilización de N significativa en las parcelas con adición de este nutriente, lo cual podría indicar que N no es un nutriente tan limitante en comparación con el P. La falta de una inmovilización de N parece depender de las características propias del N y su ciclo biogeoquímico, el cuál presenta gran volatilidad y un estado gaseoso, además tiene una mayor facilidad para formar diferentes compuestos y presenta mayor solubilidad que el P (Güsewell, 2004).

Una mayor inmovilización del P coincide con lo reportado en otros estudios. Por ejemplo McGroddy et al. (2004), documentaron aumentos en los niveles de P inmovilizado en el sustrato descompuesto luego de la adición de P y N+P, algunas veces hasta del doble. De igual manera Hobbie & Vitousek (2000) en un bosque premontano en Hawaii encontraron que el tratamiento de P fue el que provocó una mayor inmovilización, tal como en el presente estudio. Sin embargo, Chen et al. (2013) encontraron que la adición de N sí tuvo un efecto en el contenido remanente tanto de N como de P, y que por su parte el

tratamiento de adición de P solo generó efectos (mayor inmovilización de P) en uno de los sustratos utilizados.

Cabe resaltar que en este estudio, los efectos estadísticamente significativos relacionados con dinámica del fósforo, relación N/P y C/P dieron efectos contrastantes entre las parcelas con tratamientos N y P, lo que podría responder a los efectos antagónicos de estos elementos en los ecosistemas. Por ejemplo, el N tiende a acidificar el suelo mientras que el P genera un aumento en el pH (Lu et. al 2014). En términos de los cambios que generan en la microbiota del suelo, el N propicia mayor crecimiento de hongos, mientras que el fósforo favorece el crecimiento de ciertas bacterias (Fanin et al. 2015). Ambos efectos podrían generar cambios en la estructura de las comunidades de organismos descomponedores como se ha visto en otros experimentos de fertilización (Chen 2013). Sin embargo, estudios que logren determinar la estructura y diversidad de la biota en el suelo del sitio de estudio son necesarios para generar conclusiones más certeras.

A pesar de que no se encontró un efecto directo de la fertilización sobre la pérdida de biomasa, no se debe dejar de lado la importancia que tiene la disponibilidad de nutrientes sobre los procesos de liberación de CO₂ a la atmósfera o bien de fijación en los suelos de estos ecosistemas. Si bien es cierto estos procesos no regulan directamente la pérdida de biomasa, si pueden regular la velocidad con la que la materia orgánica disuelta es devuelta al ambiente en forma de CO₂ (Cleveland, et al. 2006). Esto, aunado a que los bosques lluviosos tropicales de bajas están entre los ecosistemas en los que se descompone mayor cantidad de material orgánico (Wieder, 2009), los cambios en las tasas de descomposición, aun cuando estas sean pequeñas, deben ser prioritariamente estudiadas ya que pueden tener un gran efecto sobre fenómenos a nivel global como el calentamiento global (Chapin, et al. 2011).

5. Conclusiones

- Estudios a nivel local son de suma importancia para tener una visión más clara de cómo los nutrientes y un desequilibrio en estos van a afectar a los ecosistemas tropicales.
- Es necesario reforzar los datos obtenidos con otros estudios sobre diversidad y estructura de la biota en el suelo para poder entender e interpretar de manera más clara como se ven afectados diversos procesos con la adición de nutrientes, entre ellos el de descomposición de materia orgánica.
- En este estudio, el P tuvo el efecto más claro en la dinámica de nutrientes, ya que presentó mayor inmovilización que el nitrógeno, indicando una mayor asimilación por la biota del sitio de estudio.

6. Bibliografía

- Aerts, R. 1997. Climate, leaf litter chemistry and litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *Oikos* 79 (3):439-449.
- Alvarez-Clare, S. & M. C. Mack. 2015. Do foliar, litter, and root nitrogen and phosphorus concentrations reflect nutrient limitation in a lowland tropical wet forest?, *Plos One*, 10(4), 16.
- Álvarez-Clare, S., M. C. Mack, & M. Brooks. 2013. A direct test of nitrogen and phosphorus limitation to net primary productivity in a lowland tropical wet forest. *Ecology* 94:1540-1551.
- Barajas-Guzmán, G. & J. Alvarez-Sánchez. 2003. The relationship between litter fauna and rates of litter decomposition in a tropical rain forest. *Applied Soil Ecology* 24: 91-100.
- Barantal, S., H. Schimann, N. Fromin, and S. Haettenschwiler. 2012. Nutrient and Carbon Limitation on Decomposition in an Amazonian Moist Forest. *Ecosystems* 15:1039-1052.
- Bennett, E. M., S. R. Carpenter & N. F. Caraco. 2001. Human impact on erodable phosphorus and eutrophication: A global perspective. *BioScience* 51(3): 227-234.
- Bolaños, R.A. & V.C. Watson. 1993. Mapa ecológico de Costa Rica, según el Sistema de Clasificación de Zonas de Vida del Mundo de Holdrige. Centro Científico Tropical. San José, Costa Rica.
- Camenzind, T, Hättenschwiler S., Treseder K., Lehmann A. & Rillig M.C. 2017. Nutrient limitation of soil microbial processes in tropical forests. *Ecological Monographs* 88: 4-21.
- Cardelus, C. 2010. Litter decomposition within the canopy and the forest floor of three tree species in a tropical lowland rainforest, Costa Rica. *Biotropica* 42 (3): 300-308.
- Chapin III, F. S., P. A. Matson, P. M. Vitousek. 2011. *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*. Springer Science, New York, USA.
- Chapin, F. S., III, P. A. Matson & H. A. Mooney. 2002. *Principles of terrestrial ecosystem ecology*. New York: Springer- Verlag.

- Chen, H., S. Dong, L. Liu, C. Ma, T. Zhang, X. Zhu & J. Mo. 2013. Effects of Experimental Nitrogen and Phosphorus Addition on Litter Decomposition in an Old Growth Tropical Forest. PLoS ONE 8(12).
- Cleveland, C. C. & A. R. Townsend. 2006. Nutrient additions to a tropical rain forest drive substantial soil carbon dioxide losses to the atmosphere. PNAS 103(27): 10316-10321.
- Cleveland, C. C., A. R. Townsend, & S. K. Schmidt. 2002. Phosphorus limitation of microbial processes in moist tropical forests: evidence from short-term laboratory incubations and field studies. Ecosystems 5:680–691.
- Cleveland, C. C., S. C. Reed & A. R. Townsend. 2006. Nutrient regulation of organic matter decomposition in a tropical rain forest. Ecology 87(2): 492-503.
- Díaz-Romeo, R. & A. Hunter. 1982. Metodología de muestreo de Suelos, Análisis Químico de Suelos y Tejido Vegetal y de Investigación en Invernadero. CATIE. Turrialba Costa Rica. 62 p
- Elser, J. J., M. E. S. Bracken, E. E. Cleland, D. S. Gruner, W. S. Harpole, H. Hillebrand, J. T. Ngai, E. W. Seabloom, J. B. Shurin & J. E. Smith. 2007. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. Ecology letters 10: 1135-1142.
- Fanin N., S. Hättenschwiler, H. Schimann & N. Fromin. 2015. Interactive effects of C, N and P fertilization on soil microbial community structure and function in an Amazonian rain forest. Functional Ecology 29: 140–150.
- Feller, I. C., D. F. Whigham, J. P. O’Neil & K. L. Mckee. 1999. Effects of nutrient enrichment on within-stand cycling in a mangrove forest. Ecology 80 (7): 2193-2205.
- Güsewell, S. 2004. N:P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. New Phytol. 162:243–66.
- Harmon, M. E., K. J. Nadelhoffer & J. M. Blair. 1999. Measuring decomposition, nutrient turnover, and stores in plant litter. En: *Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research*. Oxford University Press. New York. 202-240 p.
- Hartshorn, G. S., and B. E. Hammel. 1994. Vegetation types and floristic patterns. Pages 73–89 in L. A. McDade, K. S. Bawa, H. A. Hespenheide, and G. S. Hartshorn, editors. *La Selva: ecology and natural history of a neotropical rain forest*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.

- Hättenschwiler, S., and H. B. Jorgensen. 2010. Carbon quality rather than stoichiometry controls litter decomposition in a tropical rain forest. *Journal of Ecology* 98:754-763.
- Hietz, P., B. L. Turner, W. Wanek, A. Richter, C. A. Nock, & S. J. Wright. 2011. Long-Term Change in the Nitrogen Cycle of Tropical Forests. *Science* 334:664-666.
- Hobbie, S. E. & P. M. Vitousek. 2000. Nutrient limitation of decomposition in Hawaiian forests. *Ecology* 81 (7): 1867-1877.
- Kaspari, M., M. N. Garcia, K. E. Harms, M. Santana, S. J. Wright & J. B. Yavitt. 2008. Multiple nutrients limit litterfall and decomposition in a tropical forest. *Ecology letters* 11: 35-43.
- Li, Y., M. Xu & X. Zou. 2006. Effects of nutrient additions on ecosystem carbon cycle in a Puerto Rican tropical wet forest. *Global Change Biology* 12: 284-293.
- Lu, X., Q. Mao, F. S. Gilliam, Y. Luo & J. G. Mo. 2014. Nitrogen deposition contributes to soil acidification in tropical ecosystems. *Global Change Biology*: doi: 10.1111.
- Malhi, Y. 2010. The carbon balance of tropical forest regions, 1990-2005. *Current Opinion in Environmental Sustainability* 2:237-244.
- Manzoni, S., J. A. Trofymow, R. B. Jackson, and A. Porporato. 2010. Stoichiometric controls on carbon, nitrogen, and phosphorus dynamics in decomposing litter. *Ecological Monographs* 80:89-106.
- Matson, P. A., W. H. McDowell, A. R. Townsend, & P. M. Vitousek. 1999. The globalization of N deposition: ecosystem consequences in tropical environments. *Biogeochemistry* 46:67-83.
- McGroddy, M. E., W. L. Silver & R. Cosme de Oliveira Jr. 2004. The effects of phosphorus availability on decomposition dynamics in a seasonal lowland Amazonian forest. *Ecosystem* 7 (2): 172-179.
- Mirmanto, E., J. Proctor, J. Green, L. Nagy & Suriantata. 1999. Effects of nitrogen and phosphorus fertilization in a lowland evergreen rainforest. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 354: 1825-1829.
- Peñuelas, J., J. Sardans, A. Rivas-Ubach & I. A. Janssens. 2012. The human-induced imbalance between C, N and P in Earth's life system. *Global Change Biology* 18: 3-6.

- Powers, J. S., R. A. Montgomery, E. C. Adair, F. Q. Brearley, S. J. DeWalt, C. T. Castanho, J. Chave, E. Deinert, J. U. Ganzhorn, M. E. Gilbert, J. A. González-Iturbe, S. Bunyavejchewin, H. R. Grau, K. E. Harms, A. Hiremath, S. Iriarte-Vivar, E. Manzano, A. A. De Oliveira, L. Poorter, J. B. Ramanamanjato, C. Salk, A. Varela, G. D. Weiblen & M. T. Lerdau. 2009. Decomposition in tropical forests: a pan-tropical study of the effects of litter type, litter placement and mesofaunal exclusion across a precipitation gradient. *Journal of Ecology* 97: 801-811.
- Samuels, M. L. & J. A. Witmer. 2003. *Statistics for the Life Sciences*. Pearson Education Internacional. New Jersey, USA.
- Sancho, F., R. Mata, E. Molina, and R. Salas. 1990. Estudio de suelos finca de la Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda. Reporte para la Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda (EARTH), Limón, Costa Rica.
- Smil, V. 2000. Phosphorus in the environment: Natural Flows and human interferences. *Annu. Rev. Energy Environ.* 25: 53-88.
- Smith, T. M. y R. L. Smith. 2007. *Ecología*. Pearson Educación. Madrid, España. 776p.
- Tanner, E. V. J., P. M. Vitousek & E. Cuevas. 1998. Experimental investigation of nutrient limitation of forest growth on wet tropical mountains. *Ecology* 79 (1): 10-22.
- Waring, B. 2012. A meta-analysis of climatic and chemical controls on leaf litter decay rate in tropical forests. *Ecosystem* 15 (6): 999-1009.
- Wieder, W.R., C. C. Cleveland, A. R. Townsend. 2009. Controls over leaf litter decomposition in wet tropical forests. *Ecology* 90: 3333-3341.
- Wright, S. J., J. B. Yavitt, N. Wurzbarger, B. L. Turner, E. V. J. Tanner, E. J. Sayer, L. S. Santiago, M. Kaspari, L. O. Hedin, K. E. Harms, M. N. Garcia, & M. D. Corre. 2011. Potassium, phosphorus, or nitrogen limit root allocation, tree growth, or litter production in a lowland tropical forest. *Ecology* 92:1616-1625.
- Yang, X. & J. Chen. 2009. Plant litter quality influences the contribution of soil fauna to litter decomposition in humid tropical forests, southwestern China. *Soil Biology & Biochemistry* 41: 910-918.

7. Anexos

Anexo 1. Masa remanente de hojarasca (% promedio, con error estándar entre paréntesis), por parcela y semana de colecta; en cada instancia n=cuatro bolsas de descomposición. Tratamientos: CT= control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P= fósforo. N/D= datos no disponibles.

Parcelas	Tratamiento	Semanas				
		4	12	19	24	36
1	N	74.5 (1.4)	60.4 (1.9)	N/D	32.3 (6.1)	20.2 (2.7)
2	CT	72.6 (1.6)	57.9 (1.8)	46.6 (3.9)	42.8 (5.4)	N/D
3	NP	75.3 (1.3)	53.9 (2.7)	47.6 (1.6)	40.1 (8.7)	42.5 (1.7)
4	P	73.6 (2.2)	56.6 (1.9)	48.8 (9.9)	27.9 (7.2)	33.8 (9.0)
5	NP	74.7 (2.6)	55.4 (2.7)	49.8 (5.1)	40.1 (5.1)	36.2 (7.1)
7	CT	74.5 (0.8)	62.4 (1.5)	53.4 (3.5)	38.5 (3.9)	30.2 (3.8)
8	CT	73.6 (0.9)	56.3 (2.2)	44.8 (2.7)	25.4 (6.2)	24.8 (0.5)
9	P	73.8 (3.7)	53.9 (2.4)	42.6 (2.1)	42.7 (5.8)	37.0 (3.6)
10	N	73.8 (0.5)	54.4 (1.3)	49.8 (1.9)	34.3 (4.1)	25.0 (3.6)
12	N	74.9 (1.8)	59.9 (2.7)	45.0 (11.6)	28.7 (10.3)	28.3 (9.5)
13	N	74.2 (1.3)	56.9 (2.3)	48.6 (2.2)	38.7 (4.4)	28.9 (4.3)
15	P	75.4 (1.6)	60.1 (2.1)	52.1 (4.6)	36.9 (6.2)	22.7 (2.9)
18	NP	73.6 (0.9)	56.2 (3.2)	42.1 (9.9)	32.6 (5.7)	33.5 (2.8)
21	P	74.8 (3.7)	55.1 (2.2)	45.0 (2.9)	32.7 (1.6)	32.7 (2.6)
23	NP	74.9 (1.9)	57.0 (1.9)	52.9 (5.7)	40.7 (6.9)	22.5 (4.9)
24	CT	76.1 (2.8)	55.9 (3.9)	46.9 (6.5)	27.9 (4.3)	34.0 (3.6)

Anexo 2. Masa remanente de madera (% promedio con error estándar entre paréntesis), por parcela y semana de colecta; en cada instancia n = cuatro bolsas de descomposición. Tratamientos: C = control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P = fósforo. N/D = datos no disponibles.

Parcelas	Tratamiento	Semanas				
		4	12	19	24	36
1	N	87.9 (1.9)	45.9 (10.2)	N/D	42.9(14.5)	21.8 (5.7)
2	CT	88.7 (1.6)	60.4 (4.9)	43.7 (8.8)	27.9 (4.2)	N/D
3	NP	91.1 (1.9)	52.8 (5.3)	48.7 (8.3)	30.5 (7.4)	47.7 (7.1)
4	P	85.6 (2.6)	60.7 (6.6)	37.8(13.3)	39.1(7.8)	17.3 (3.5)
5	NP	87.4 (1.2)	61.7 (0.3)	48.3 (0.5)	37.9 (6.3)	22.7 (1.3)
7	CT	88.6 (1.6)	60.8 (7.5)	48.5 (4.7)	42.9 (5.8)	26.8 (4.1)
8	CT	85.6 (2.1)	49.3 (9.3)	32.6 (5.1)	22.4 (4.3)	27.5 (4.1)
9	P	87.9 (1.8)	68.7 (2.3)	50.8 (3.3)	37.4(4.1)	45.2 (11.4)
10	N	88.8 (1.6)	64.1 (8.4)	51.8 (6.4)	33.0 (4.1)	21.9 (7.3)
12	N	85.6 (2.5)	58.7 (5.3)	44.3 (7.4)	34.8 (5.6)	25.2 (4.1)
13	N	88.6 (0.3)	61.2 (8.8)	39.3 (7.7)	36.9 (4.2)	29.9 (5.1)
15	P	83.8 (3.6)	47.9 (8.1)	48.9 (7.4)	29.8 (7.7)	30.2 (5.2)
18	NP	86.7 (1.6)	64.9 (2.3)	47.6 (7.8)	48.3 (10.1)	33.5 (6.5)
21	P	85.1 (0.6)	59.1 (3.9)	59.9 (7.3)	34.4 (13.1)	40.4 (11.6)
23	NP	90.9 (1.3)	66.4 (7.4)	41.7 (9.7)	40.4 (8.1)	26.5 (7.2)
24	CT	82.4 (0.9)	56.0 (6.8)	47.8 (3.1)	33.1 (11.8)	30.6 (5.6)

Anexo 3. Concentración de nutrientes en hojarasca en descomposición, por parcela y semana de muestreo, en un experimento de fertilización a largo plazo en Guácimo. Limón. Tratamientos: CT = control, N = nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P = fósforo. N/D = datos no disponibles.

Parcela	Tratamiento	Semana de muestreo				
		4	12	19	24	36
		Nitrógeno (%)				
1	N	1.18	1.3	N/D	1.63	1.54
2	CT	1.46	1.61	1.46	1.47	N/D
3	NP	1.19	1.52	1.45	1.35	1.36
4	P	1.20	1.40	1.46	1.62	2.18
5	NP	1.23	1.45	1.44	1.48	1.22
7	CT	1.15	1.61	1.55	1.47	1.86
8	CT	1.23	1.34	1.49	1.55	1.64
9	P	1.19	1.50	1.33	1.45	1.69
10	N	1.19	1.49	1.47	1.45	1.41
12	N	1.18	1.30	1.39	1.51	1.39
13	N	1.27	1.57	1.48	1.51	1.55
15	P	1.38	1.59	1.64	1.40	2.02
18	NP	1.5	1.51	1.76	1.58	1.90
21	P	1.39	1.46	1.51	1.49	1.76
23	NP	1.18	1.20	1.35	1.45	3.03
24	CT	1.16	1.94	1.62	1.40	2.64
		Fósforo (mg g⁻¹)				
1	N	0.29	0.27	N/D	0.23	0.21
2	CT	0.25	0.27	0.71	0.25	N/D
3	NP	0.26	0.26	0.33	0.29	0.31
4	P	0.26	0.28	0.24	0.26	0.28
5	NP	0.27	0.29	0.34	0.24	0.25
7	CT	0.24	0.33	0.27	0.25	0.23
8	CT	0.32	0.34	0.24	0.25	0.26
9	P	2.95	0.53	5.07	0.73	2.85
10	N	0.25	0.32	0.26	0.29	0.27
12	N	0.3	0.25	0.14	0.24	0.25
13	N	0.25	0.24	0.21	0.21	0.24
15	P	0.41	0.48	0.38	0.41	0.35
18	NP	0.28	0.45	0.37	0.32	0.34
21	P	0.29	0.29	0.33	0.37	0.33
23	NP	0.24	0.32	0.32	0.29	0.28
24	CT	0.31	0.3	0.31	0.25	0.29
		Carbono (%)				
1	N	35.6	29.8	N/D	37.3	28.4
2	CT	36.1	34.2	32.0	33.8	N/D
3	NP	35.9	33.5	33.9	34.1	28.5
4	P	33.5	31.7	30.9	35.4	31.4
5	NP	35.1	33.7	31.9	34.1	23.7
7	CT	36.7	34.5	31.2	36.1	30.7
8	CT	38.1	28.8	29.8	34.7	36.6
9	P	34.3	34.5	30.3	36.1	32.7
10	N	34.5	29.4	31.2	33.4	28.0

12	N	34.3	29.2	32.1	34.5	25.5
13	N	33.5	37.3	33.9	34.7	29.9
15	P	36.7	35.0	31.6	32.8	29.4
18	NP	35.9	32.1	33.1	35.9	34.7
21	P	42.4	32.1	33.4	35.3	31.3
23	NP	33.4	27.6	29.4	34.5	28.0
24	CT	36.2	47.7	33.6	35.5	33.1

Anexo 4. Relación entre concentración de nutrientes en hojarasca en descomposición por parcela y semana de colecta en un experimento de fertilización a largo plazo en Guácimo, Limón. Tratamientos: CT= control, N= nitrógeno, NP = nitrógeno y fósforo, P= fósforo. N/D= datos no disponibles.

		Semana de muestreo				
Parcelas	Tratamiento	4 C/N	12	19	24	36
1	N	30.11	22.2	N/D	22.9	18.4
2	CT	24.7	21.2	21.9	23.0	N/D
3	NP	30.1	22.1	23.4	25.3	21.0
4	P	27.8	22.6	21.8	21.9	14.4
5	NP	28.5	23.3	22.1	23.0	19.5
7	CT	31.9	21.5	20.1	24.5	16.5
8	CT	31.0	21.5	20.1	22.5	22.3
9	P	28.9	23.0	22.7	24.9	19.4
10	N	28.9	19.8	21.3	23.1	19.8
12	N	29.1	22.5	23.2	22.9	18.4
13	N	26.4	23.8	23.0	23.0	19.3
15	P	26.6	22.0	19.2	23.5	14.5
18	NP	23.9	21.3	18.8	22.7	18.3
21	P	30.6	22.1	22.2	23.7	17.8
23	NP	28.3	23.0	21.7	23.8	9.3
24	CT	31.3	24.6	20.8	25.4	12.5
		N/P				
1	N	40.8	49.7	N/D	70.7	73.4
2	CT	58.5	59.7	20.6	58.8	N/D
3	NP	45.8	58.4	44.0	46.5	43.9
4	P	46.3	50.1	59.0	62.4	77.7
5	NP	45.5	49.8	42.3	61.7	48.6
7	CT	48.1	48.7	57.5	58.9	80.9
8	CT	38.4	39.3	61.9	61.9	63.2
9	P	4.0	28.3	2.6	19.9	5.9
10	N	47.8	46.5	56.3	49.8	52.3
12	N	39.3	52.0	98.9	62.8	55.6
13	N	50.7	65.3	70.3	71.9	64.4
15	P	33.6	33.1	43.2	34.1	57.7
18	NP	53.7	33.5	47.6	49.3	55.9
21	P	47.8	50.2	45.7	40.2	53.4

23	NP	49.1	37.5	42.3	49.9	108.1
24	CT	37.4	64.6	52.3	56.0	91.0
C/P						
1	N	1227	1102	N/D	1621	1353
2	CT	1444	1266	451	1354	N/D
3	NP	1379	1290	1027	1174	920
4	P	1287	1132	1286	1363	1121
5	NP	1299	1161	937	1420	946
7	CT	1531	1044	1157	1442	1333
8	CT	1192	846	1242	1389	1407
9	P	116	651	60	494	115
10	N	1382	920	1199	1153	1037
12	N	1145	1168	2292	1437	1022
13	N	1339	1553	1616	1654	1244
15	P	894	729	831	801	839
18	NP	1284	713	894	1121	1021
21	P	1461	1107	1012	953	948
23	NP	1390	864	920	1188	1001
24	CT	1168	1588	1085	1421	1140