

# Stoichiometry of needle litterfall of *Pinus hartwegii* Lindl. in two alpine forests of central Mexico

## Estequiometría de la caída de acículas de *Pinus hartwegii* Lindl. en dos bosques alpinos del centro de México

Fabiola Torres-Duque<sup>1</sup>; Armando Gómez-Guerrero<sup>1\*</sup>; Libia I. Trejo-Téllez<sup>2</sup>; Valentín J. Reyes-Hernández<sup>1</sup>; Arian Correa-Díaz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado Forestal. Carretera México-Texcoco km 36.5. C. P. 56230. Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Edafología. Carretera México-Texcoco km 36.5. C. P. 56230. Texcoco, Estado de México, México.

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales (CENID-COMEF). Av. Progreso núm. 5, Barrio de Santa Catarina. C. P. 04010. Coyoacán, Ciudad de México, México.

\*Corresponding author: agomezg@colpos.mx, tel.: +52 595 952 0200 ext. 1475.

### Abstract

**Introduction:** It is essential to have baselines on nutrient dynamics in forests, due to disturbances that climate change may cause.

**Objective:** To quantify the annual production of needles of *Pinus hartwegii* Lindl. and the proportion of nutrients in the alpine forests of Jocotitlán (JO) and Tláloc (TL) mountains, Estado de México.

**Materials and methods:** A total of 12 circular needle litter traps (30 cm diameter) were placed at ground level, in each forest, distributed in four topographically contrasting sites. For one year, 228 leaf mass measurements and 1 140 chemical determinations were made to determine needle stoichiometry. Measurements were subjected to a longitudinal analysis of variance, by testing trends over time ( $P < 0.05$ ).

**Results and discussion:** Needle production in JO were 67 % higher ( $11.2 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{year}^{-1}$ ) than in TL ( $6.7 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{year}^{-1}$ ); needle litterfall was higher during summer (June and July, months with higher precipitation). For JO, nutrient flux was 98.0, 5.2, 8.7, 24.6, and 5.6  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{year}^{-1}$  for N, P, K, Ca, and Mg, respectively; for TL it was 55.3, 3.4, 7.8, 14.4, and 4.7  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{year}^{-1}$  in the same order of nutrients. Nutrient concentrations were lower from March to May. Except for K, nutrient concentrations and needle production showed quadratic and cubic seasonal trends. Mg dynamics and N:Mg and N:K ratios in TL were more positive for tree growth.

**Conclusions:** Jocotitlán and Tláloc forests produce significant needle mass (compared to other ecosystems) with high dynamic in nutrient transfers.

**Keywords:** leaf mass; forest floor; nutrient flux; pine; climate change; climate change.

### Resumen

**Introducción:** Es imprescindible tener líneas base sobre la dinámica de nutrientes en los bosques, debido a las alteraciones que el cambio climático pueda causar.

**Objetivo:** Cuantificar la producción anual de acículas de *Pinus hartwegii* Lindl. y proporción de nutrientes en los bosques alpinos cerro Jocotitlán (JO) y cerro Tláloc (TL), Estado de México.

**Materiales y métodos:** En cada bosque se colocaron 12 trampas circulares (30 cm de diámetro) para acícula, a nivel del suelo, distribuidas en cuatro sitios topográficamente contrastantes. Durante un año, se realizaron 228 mediciones de masa foliar y 1 140 determinaciones químicas para conocer la estequiometría de acículas. Las mediciones se sometieron a un análisis de varianza longitudinal, probando las tendencias en el tiempo ( $P < 0.05$ ).

**Resultados y discusión:** La producción de acículas en JO fue 67 % superior ( $11.2 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$ ) que en TL ( $6.7 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$ ); la caída fue mayor durante el verano (junio y julio, meses con mayor precipitación). En JO, el flujo de nutrientes fue 98.0, 5.2, 8.7, 24.6 y 5.6  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$  para N, P, K, Ca y Mg, respectivamente; para TL fue 55.3, 3.4, 7.8, 14.4 y 4.7  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$  en el mismo orden de nutrientes. Las concentraciones de nutrientes fueron más bajas de marzo a mayo. Excepto por K, las concentraciones de nutrientes y producción de acículas mostraron tendencias estacionales cuadráticas y cúbicas. La dinámica del Mg y proporciones N:Mg y N:K en TL fueron más favorables para el crecimiento arbóreo.

**Conclusiones:** Los bosques Jocotitlán y Tláloc son muy productivos en acícula (comparados con otros ecosistemas) y dinámicos en la transferencia de nutrientes.

**Palabras clave:** masa foliar; piso forestal; flujo de nutrientes; pino; cambio climático.

## Introduction

Leaf litterfall in forests represents the main pathway for nutrient transfer and return to the soil (Sayer et al., 2020); in turn, leaf mass on forest floor (litter) represents the key reservoir for gradual release of nutrients into mineral soil. Seasonal physiological activity of trees, leaf longevity and climate influence leaf fall (Gavinet, Ourcival, & Limousin, 2019), which results in a seasonal flux of nutrients, characteristic for each ecosystem and its successional phase. However, alteration of carbon and nitrogen cycles can lead to fertilization processes by increasing atmospheric CO<sub>2</sub> in forests, stimulating growth of leaf mass and modifying its chemical composition, but its effect will depend on the progressive limitation of nutrients (González de Andrés, 2019; Silva, Gómez-Guerrero, Doane, & Horwath, 2015). Although locally, soil fertility and forest microclimate influence the levels of leaf fall and its nutrients (Cheng, Lee, Lee, Lee, Chen, & Menyailo, 2020; Wood, Lawrence, & Clark, 2006), indirectly, global climatic events such as El Niño-Southern Oscillation (ENSO) and the North Atlantic Oscillation (NOA) geographically affect the mass and stoichiometry of litterfall (González de Andrés et al., 2019).

The study of nutrient flux via litterfall is limited and requires further research worldwide (Neumann et al., 2018). Mexico has few studies on the dynamics of leaf mass and nutrient concentration in forests. Some have been conducted in the central and northern mesa of Mexico, in pine-oak forests and shrublands with semi-dry climates and elevations lower than 2 800 m (González-Rodríguez et al., 2018; Pérez-Suárez, Arredondo-Moreno, Huber-Sannwald, & Vargas-Hernández, 2009); however, information in alpine forests, ecosystems particularly vulnerable to climate change, is still missing. Consequently, we rely to the experience of studies carried out in other parts of the world to explain the behavior of our forest areas. Due to the above, and considering that climate variation influences each region differently, studies in representative ecosystems of the country are needed to know how forest ecosystems will respond to these changes (Gómez-Guerrero & Doane, 2018).

As a result of climate change, variations in leaf mass production and nutrient flux in forests are expected (Gómez-Guerrero & Doane, 2018). The predicted increase in temperature could result in water stress and changes in nutrient distribution in vegetation reservoirs (Neumann et al., 2018). Therefore, it is important to have baseline studies on nutrient dynamics in forest ecosystems to assess their future changes (Ge & Xie, 2017).

The objective of this study was to evaluate the annual needle production, concentration and mass

## Introducción

La caída de follaje en los bosques representa la principal vía de transferencia y retorno de nutrientes al suelo (Sayer et al., 2020); a su vez, la masa foliar en el piso forestal (mantillo) constituye el reservorio clave para la liberación gradual de nutrientes hacia el suelo mineral. La actividad fisiológica estacional de los árboles, longevidad de las hojas y el clima influye en la caída de la hoja (Gavinet, Ourcival, & Limousin, 2019), la cual da lugar a un flujo estacional de nutrientes, característico para cada ecosistema y su fase de sucesión. No obstante, la alteración de ciclos del carbono y del nitrógeno puede conducir a procesos de fertilización por el incremento de CO<sub>2</sub> atmosférico en los bosques, estimulando el crecimiento de la masa foliar y modificando su composición química, pero su efecto dependerá de la limitación progresiva de los nutrientes (González de Andrés, 2019; Silva, Gómez-Guerrero, Doane, & Horwath, 2015). Aunque localmente la fertilidad del suelo y el microclima del bosque influyen en los niveles de caída de hoja y sus nutrientes (Cheng, Lee, Lee, Chen, & Menyailo, 2020; Wood, Lawrence, & Clark, 2006), indirectamente, los eventos climáticos globales como El Niño-Oscilación del Sur (ENSO) y la Oscilación del Atlántico Norte (NOA) afectan geográficamente la masa y estequiometría de la caída de follaje (González de Andrés et al., 2019).

A nivel global, el estudio del flujo de nutrientes vía caída de follaje es limitado y requiere de más investigación (Neumann et al., 2018). En México existen pocos trabajos sobre la dinámica de la masa foliar y concentración de nutrientes en los bosques. Algunos se han realizado en la mesa central y norte de México, en bosques de pino-encino y matorrales con climas semisecos y elevaciones menores de 2 800 m (González-Rodríguez et al., 2018; Pérez-Suárez, Arredondo-Moreno, Huber-Sannwald, & Vargas-Hernández, 2009); sin embargo, la información en bosques alpinos, ecosistemas particularmente vulnerables al cambio climático, sigue pendiente. En consecuencia, se recurre a la experiencia de trabajos realizados en otras partes del mundo, para explicar el comportamiento de nuestras áreas forestales. Debido a lo anterior, y considerando que la variación climática influye de manera diferente en cada región, se requieren estudios en ecosistemas representativos del país, para saber cómo responderán los ecosistemas forestales a dichos cambios (Gómez-Guerrero & Doane, 2018).

Como resultado del cambio climático se esperan variaciones en la producción de masa foliar y en el flujo de nutrientes en los bosques (Gómez-Guerrero & Doane, 2018). El aumento pronosticado de temperatura podría resultar en estrés hídrico y cambios en la distribución de nutrientes en los reservorios de la vegetación (Neumann et al., 2018). Por tanto, es importante contar

of nutrients (N, P, K, Ca and Mg) in alpine forests of *Pinus hartwegii* Lindl. of Jocotitlán (JO) and Tláloc (TL) mountains in Estado de México. This study fills the lack of information on nutrient dynamics in alpine forests and establishes a baseline to measure changes that may occur as a response of ecosystems to climate change. The information generated is also useful for modeling biogeochemical processes in forest vegetation.

## Materials and Methods

### Areas of study

This study was carried out in Jocotitlán (JO) and Tláloc (TL) mountains in Estado de México (Figure 1). These mountains are part of the Transmexican Volcanic Belt geologically composed of an andesite-dacite complex and pyroclastic deposits (Arce et al., 2019). The climate is humid semi-cold type C(w<sub>2</sub>)(w), with summer rainfall and less than 5 % of the rainfall occurs in winter, with precipitation/temperature ratio greater than 55 (García, 2004). Mean annual precipitation varies from 900 to 1200 mm with mean annual temperature between 5 and 10 °C. The forest stand in JO is composed on average by 180 trees·ha<sup>-1</sup> with a basal area of 14 m<sup>2</sup>·ha<sup>-1</sup> (Núñez-García, Gómez-Guerrero, Terrazas-Salgado, Vargas-Hernández, & Villanueva-Díaz, 2020), while in the case of TL, it is formed by 250 trees·ha<sup>-1</sup> and 27 m<sup>2</sup>·ha<sup>-1</sup> (Acosta Mireles, Carrillo Anzures, Delgado, & Velasco Bautista, 2014). The increment in basal area of trees in TL is on average 2.5 greater than in JO (Correa-Díaz et al., 2020; Núñez et al., 2020).

After open-field surveys and review of cartographic and satellite material, four periodic collection sites for needle litterfall were established on each mountain. To capture the variation of each mountain, we included collection sites contrasting in elevation and aspect, but with pure stands of *P. hartwegii*. Site locations are shown in Table 1.

### Needle mass

Needle mass (kg·ha<sup>-1</sup>) was quantified in a 20 m transect with three 30 cm diameter litter traps, placed at ground level and delimited with 127 mm thick polyduct, at each site. The distance between litter traps was 10 m, placed along the contour line of the terrain. A total of 12 litter traps were established on each mountain (three replicates x four collection sites).

To identify freshly deposited material, all the mulch within the circle was removed until mineral soil was exposed, allowing the contrast between the black color of the soil and the brown color of the needles to facilitate the identification of recently fallen material. All litter traps were placed under tree canopy, aiming

con estudios base sobre la dinámica de nutrientes en los ecosistemas forestales para valorar sus cambios futuros (Ge & Xie, 2017).

El objetivo de este estudio fue evaluar la producción anual de acículas, su concentración y masa de nutrientes (N, P, K, Ca y Mg) en bosques alpinos de *Pinus hartwegii* Lindl. del cerro Jocotitlán (JO) y cerro Tláloc (TL) del Estado de México. Este estudio subsana la carencia de información sobre dinámica de nutrientes en bosques alpinos y establece una línea base para medir los cambios que puedan ocurrir como respuesta de los ecosistemas ante el cambio climático. La información generada también es útil para fines de modelación de procesos biogeoquímicos en la vegetación forestal.

## Materiales y métodos

### Sitios de estudio

El trabajo se llevó a cabo en las montañas Jocotitlán (JO) y Tláloc (TL) en el Estado de México (Figura 1). Las montañas son parte de la Faja Volcánica Transmexicana compuesta geológicamente por un complejo de andesitas-dacitas y depósitos piroclásticos (Arce et al., 2019). El clima es tipo C(w<sub>2</sub>)(w), semifrío húmedo con lluvias en verano y menos de 5 % de lluvia invernal, con cociente precipitación/temperatura mayor de 55 (García, 2004). La precipitación media anual varía de 900 a 1200 mm con temperatura media anual entre 5 y 10 °C. La masa forestal en JO se compone en promedio por 180 árboles·ha<sup>-1</sup> con un área basal de 14 m<sup>2</sup>·ha<sup>-1</sup> (Núñez-García, Gómez-Guerrero, Terrazas-Salgado, Vargas-Hernández, & Villanueva-Díaz, 2020), mientras que en TL, se forma por 250 árboles·ha<sup>-1</sup> y 27 m<sup>2</sup>·ha<sup>-1</sup> (Acosta Mireles, Carrillo Anzures, Delgado, & Velasco Bautista, 2014). El incremento en área basal de los árboles en TL es en promedio 2.5 mayor que en JO (Correa-Díaz et al., 2020; Núñez et al., 2020).

Después de recorridos de campo y revisión de material cartográfico y satelital, en cada montaña se establecieron cuatro sitios de colecta periódica para la caída de acícula. Para captar la variación de cada montaña se incluyeron sitios de colecta contrastantes en elevación y exposición, pero con masas puras de *P. hartwegii*. La ubicación de sitios se muestra en el Cuadro 1.

### Masa de acículas

En cada sitio, la masa de acículas (kg·ha<sup>-1</sup>) se cuantificó en un transecto de 20 m con tres trampas de 30 cm de diámetro, ubicadas a nivel del suelo y delimitadas con poliducto de 127 mm de grosor. La distancia entre trampas fue de 10 m, colocadas sobre curva de nivel. En total se establecieron 12 trampas en cada montaña (tres repeticiones x cuatro sitios de colecta).

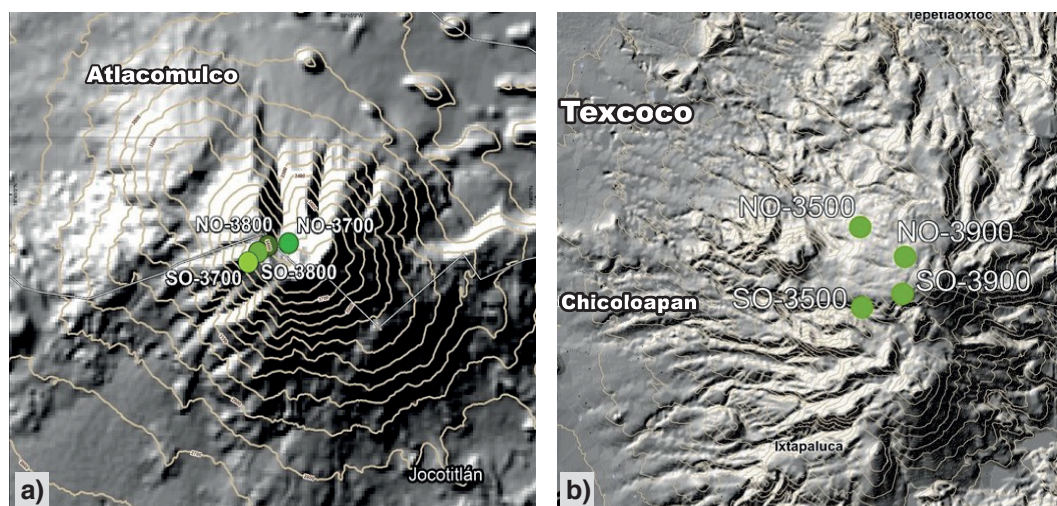


Figure 1. Location of study sites in the mountains of Jocotitlán (a) and Tlálloc Estado de México.

Figura 1. Localización de los sitios de estudio en las montañas de Jocotitlán (a) y Tlálloc (b), Estado de México.

Table 1. Sites used in periodic collection of *Pinus hartwegii* needles in the mountains of Jocotitlán and Tlálloc, Estado de México.

Cuadro 1. Sitios utilizados en la colecta periódica de acículas de *Pinus hartwegii* en las montañas de Jocotitlán y Tlálloc, Estado de México.

Mountain/ Montaña	Site/ Sitio	Elevation (m)/ Elevación (m)	Exposure/ Exposición	Latitude (°)/ Latitud (°)	Length (°)/ Longitud (°)
Jocotitlán	NO-3800	3800	Northwest/ Noroeste	19.7423	-99.7645
	SO-3800	3800	Southwest/ Suroeste	19.7412	-99.7662
	NO-3700	3700	Northwest/ Noroeste	19.7427	-99.7610
	SO-3700	3700	Southwest/ Suroeste	19.7397	-99.7680
Tlálloc	NO-3900	3900	Northwest/ Noroeste	19.4240	-98.7245
	NO-3500	3500	Northwest/ Noroeste	19.4161	-98.7258
	SO-3900	3900	Southwest/ Suroeste	19.7255	-98.7255
	SO-3500	3500	Southwest/ Suroeste	19.4045	-98.7419

for coverages of at least 60 %. The cumulative needles were collected during 9 (JO) and 10 (TL) visits from June 2017 to June 2018. Needles were dried using a forced circulation air oven (Sheldon Fx14-S, USA) at 70 °C for 72 h and weighed on a digital balance (Ohaus Scout Pro, USA) with an accuracy of 0.01g.

#### Leaf litterfall nutrients

A total of three leaf litterfall samples were taken at each site (12 per mountain) and concentrations of N,

Para identificar el material fresco depositado, se removió todo el mantillo dentro del círculo hasta exponer el suelo mineral, permitiendo que el contraste entre el color negro del suelo y el café de las acículas facilitara la identificación de material recientemente caído. Todas las trampas se ubicaron debajo del dosel del arbolado, procurando coberturas de al menos 60 %. Las acículas acumuladas se colectaron durante 9 (JO) y 10 (TL) visitas de junio del 2017 a junio del 2018. Las acículas se secaron en estufa de aire de circulación forzada (Sheldon Fx14-S, EUA) a 70 °C por 72 h y se

P, K, Ca and Mg were analyzed to estimate the nutrient reservoirs in the forest floor, at the beginning of the experiment. In the same way, and to correlate nutrient content of litterfall with that of the forest floor and the mineral soil, concentrations of N and P and exchangeable cations  $K^+$ ,  $Ca^{+2}$  and  $Mg^{+2}$  of the surface soil (0 to 10 cm) were determined, taking 36 samples in JO and 40 in TL during the year of observation.

An electronic temperature and relative humidity recorder (Datalogger, HoBo®, USA) was installed at each site to obtain data at 4 h intervals and to know the variation under climate conditions of each mountain.

### Sample analysis

Dry samples of litter and needles were ground for nutrient concentration analysis. N in plant tissue was determined by the semi-micro-Kjeldahl method (Bremmer, 1965). P, K, Ca and Mg concentrations were determined in extract resulting from digestion with  $HNO_3:HClO_4$  (2:1, v:v) of dried and ground plant tissue with an inductively coupled plasma atomic emission spectrophotometer (ICP-OES 725 Series, Agilent) (Alcántara & Sandoval, 1999). The pH of the mineral soil samples was determined with a potentiometer in a 1:2 soil-water ratio. Total nitrogen was also determined by the micro-Kjeldahl method, P by the Bray and Kurtz (1945) method and exchangeable cations with 1 N ammonium acetate pH 7.0.

### Statistical analysis

The Shapiro-Wilk test was used to verify that the data complied with the normality assumption, and when this was not the case, logarithmic, square root or Box-Cox transformations were used. When normal distribution was not possible by transformations, the nonparametric Wilcoxon test (Zar, 2010) was used for comparisons between mountains. Nutrient mass ( $kg \cdot ha^{-1}$ ), concentration (%), ppm or  $cmol_c \cdot kg^{-1}$  and fluxes ( $kg \cdot ha^{-1} \cdot year^{-1}$ ) were the response variables for intermountain comparison. Ratios of nutrients to N were also used, which is a common reference for this type of study (Sardans et al., 2016). For fluxes, a statistical analysis of trends was performed, because samples were repeated over time at each site; therefore, measurements are correlated over time. A longitudinal analysis of variance was performed using linear mixed models regarding time, mountain and time\*mountain interaction as fixed factors (Fitzmaurice, Laird, & Ware, 2004). We tested whether time trends followed a linear, quadratic or cubic pattern ( $P > 0.05$ ). Analyses were performed using the statistical packages SAS (SAS Institute Inc., 2011) and R (3.6.3) (R Core Team, 2020).

pesaron en una balanza digital (Ohaus Scout Pro, EUA) con precisión de 0.01g.

### Nutrientes del mantillo

Al inicio del experimento se tomaron tres muestras de mantillo en cada sitio (12 por montaña) y se analizaron las concentraciones de N, P, K, Ca y Mg, para estimar los reservorios de nutrientes en el piso forestal. De la misma forma, y para correlacionar el contenido de nutrientes de la caída con el del piso forestal y el suelo mineral, se determinaron las concentraciones de N y P y los cationes intercambiables  $K^+$ ,  $Ca^{+2}$  y  $Mg^{+2}$  del suelo superficial (0 a 10 cm), tomando 36 muestras en JO y 40 en TL durante el año de observación.

En cada sitio se instaló un registrador electrónico de temperatura y humedad relativa (Datalogger, HoBo®, EUA), para obtener los datos a intervalos de 4 h y conocer la variación en las condiciones climáticas de cada montaña.

### Análisis de las muestras

Las muestras secas de mantillo y acículas se molieron para el análisis de concentración de nutrientes. El N en el tejido vegetal se determinó mediante el método semimicro-Kjeldahl (Bremmer, 1965). Las concentraciones de P, K, Ca y Mg se determinaron en el extracto resultante de la digestión con  $HNO_3:HClO_4$  (2:1, v:v) de tejido vegetal seco y molido, con un espectrofotómetro de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES 725 Series, Agilent) (Alcántara & Sandoval, 1999). El pH de las muestras de suelo mineral se determinó con potenciómetro en una mezcla de suelo agua 1:2. También se determinó el nitrógeno total por el método de micro-Kjeldahl, el P por el método Bray y Kurtz (1945) y los cationes intercambiables con acetato de amonio 1 N pH 7.0.

### Análisis estadístico

Se verificó que los datos cumplieran con el supuesto de normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk y cuando no fue el caso se utilizaron transformaciones logarítmicas, raíz cuadrada o de tipo Box-Cox. Cuando el ajuste a la normalidad no fue posible mediante transformaciones, se utilizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon (Zar, 2010), para comparaciones entre montañas. La masa de nutrientes ( $kg \cdot ha^{-1}$ ), la concentración (%), ppm o  $cmol_c \cdot kg^{-1}$  y los flujos ( $kg \cdot ha^{-1} \cdot año^{-1}$ ) fueron las variables respuesta para la comparación entre montañas. También se utilizaron proporciones de nutrientes con respecto al N, que es una referencia común para este tipo de estudios (Sardans et al., 2016). Para los flujos se hizo un análisis estadístico de las tendencias, ya que

## Results

According to Table 2, forest floor chemical characteristics (N, P, K and Ca) between both mountains were similar, except for Mg concentration which was 37 % higher for TL ( $P > 0.0001$ ). Ca concentration was significantly higher by 11 % in TL ( $P < 0.09$ ). Although mean K concentration is 54 % higher for TL, the difference was not significant between mountains.

Table 3 shows that the mineral soil is very acid ( $\text{pH} \approx 5.2$ ) in both mountains. Total N, extractable P and exchangeable  $\text{K}^+$  are statistically equal between mountains. Statistical differences were reflected in Mg, Ca and the sum of cations ( $\text{K}^+ + \text{Ca}^{+2} + \text{Mg}^{+2}$ ) with higher values in TL ( $P < 0.021$ ).

Table 4 shows that both the mass of the forest floor and the mass of its nutrients were statistically higher in JO ( $P < 0.04$ ). Forest floor mass in JO ( $46.5 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) was 175 % higher than that in TL ( $16.9 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ). The mass of nutrients of forest floor was greater in JO with higher values of 164, 181, 60, 164 and 118 % for N, P, K, Ca and Mg, respectively.

According to Table 5, needle mass and nutrient flux was statistically higher in JO ( $P < 0.04$ ). The needle mass transfer from the canopy to the forest floor was 67 % higher in JO than in TL. In terms of mass nutrient flux, differences were 77, 54, 12, 70 and 19 % higher in JO with respect to TL, for N, P, K, Ca and Mg, respectively.

las muestras se repitieron en el tiempo en cada sitio; por lo anterior, las mediciones están correlacionadas en el tiempo. Con modelos lineares mixtos, se hizo un análisis de varianza longitudinal considerando el tiempo, montaña e interacción tiempo\*montaña como factores fijos (Fitzmaurice, Laird, & Ware, 2004). Se probó si las tendencias temporales seguían un patrón lineal, cuadrático o cúbico ( $P > 0.05$ ). Los análisis se realizaron con los paquetes estadísticos SAS (SAS Institute Inc., 2011) y R (3.6.3) (R Core Team, 2020).

## Resultados

Acorde con el Cuadro 2, las características químicas del mantillo (N, P, K y Ca) entre ambas montañas fueron similares, excepto por la concentración de Mg que fue 37 % superior en TL ( $P > 0.0001$ ). La concentración de Ca fue significativamente superior en 11 % en TL ( $P < 0.09$ ). Aunque la concentración media de K es 54 % superior en TL, la diferencia no fue significativa entre montañas.

En el Cuadro 3 se observa que el suelo mineral es muy ácido ( $\text{pH} \approx 5.2$ ) en ambas montañas. El N total, P extraíble y el  $\text{K}^+$  intercambiabile son estadísticamente iguales entre montañas. Las diferencias estadísticas se reflejaron en Mg, Ca y en la suma de cationes ( $\text{K}^+ + \text{Ca}^{+2} + \text{Mg}^{+2}$ ) con valores superiores en TL ( $P < 0.021$ ).

El Cuadro 4 muestra que tanto la masa del mantillo como la masa de sus nutrientes fue estadísticamente mayor en JO ( $P < 0.04$ ). La masa de mantillo en JO ( $46.5$

**Table 2. Forest floor nutrient concentrations in two alpine *Pinus hartwegii* forests in central Mexico.**

**Cuadro 2. Concentraciones de nutrientes del mantillo (piso forestal) en dos bosques alpinos de *Pinus hartwegii* en el centro de México.**

Site / Sitio	TN (%) / NT (%)	P	K	Ca	Mg
(ppm)					
Jocotitlán					
Mean / Media	0.8	535.5	722.0	2 292.4	491.0
SD / DE	0.2	94.6	205.3	335.6	106.6
CV (%)	21.0	17.7	28.4	14.6	21.7
n	12	12	12	12	12
Tlálloc					
Mean / Media	0.9	548.5	1 112.4	2 540.6	674.9
SD / DE	0.2	81.1	575.0	417.8	88.1
CV (%)	27.8	14.8	51.7	16.4	13.1
n	12	12	12	12	12
P<	ns	ns	ns	0.0941	0.0001

TN = total nitrogen; SD: standard deviation of the mean; CV: coefficient of variation. P< value indicates statistical difference between mountains according to the Wilcoxon test; ns = not significant.

NT = nitrógeno total; DE: desviación estándar de la media; CV: coeficiente de variación. El valor P< indica diferencia estadística entre montañas de acuerdo con la prueba de Wilcoxon; ns = no significativo.

**Table 3. Surface soil nutrient concentrations (0-10 cm) in two alpine *Pinus hartwegii* forests in central Mexico.****Cuadro 3. Concentraciones de nutrientes del suelo superficial (0-10 cm) en dos bosques alpinos de *Pinus hartwegii* en el centro de México.**

Mountain/ Montaña	pH (1:2)	TN (%)/ NT (%)	P (ppm)	Exchangeable cations (cmol <sub>c(+) </sub> ·kg <sup>-1</sup> )/ Cationes intercambiables (cmol <sub>c(+) </sub> ·kg <sup>-1</sup> )			
				K <sup>+</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	Sum
Jocotitlán							
Mean/Media	5.3	0.4	3.3	1.2	2.5	0.20	3.9
SD/DE	0.9	0.2	1.8	1.3	2.0	0.1	1.3
CV (%)	16.5	42.1	53.1	106.8	81.2	55.2	34.1
n	36	36	36	36	36	36	36
Tlálloc							
Mean	5.1	0.4	3.4	1.4	3.6	0.24	5.2
SD	0.5	0.1	2.2	1.6	2.1	0.3	1.3
CV (%)	10.0	32.8	64.7	108.1	60.2	129.9	25.4
n	40	40	40	40	40	40	40
P<	ns	ns	ns	ns	0.0001	0.0211	0.0001

TN = total nitrogen; SD: standard deviation of the mean; CV: coefficient of variation. P< value indicates statistical difference between mountains according to the Wilcoxon test; ns = not significant.

NT = nitrógeno total; DE: desviación estándar de la media; CV: coeficiente de variación. El valor P< indica diferencia estadística entre montañas de acuerdo con la prueba de Wilcoxon; ns = no significativo.

**Table 4. Forest floor (mulch) and nutrient mass in two alpine forests of *Pinus hartwegii* in central Mexico.****Cuadro 4. Masa del piso forestal (mantillo) y de nutrientes en dos bosques alpinos de *Pinus hartwegii* en el centro de México.**

Site/ Sitio	Mass (Mg·ha <sup>-1</sup> )/ Masa (Mg·ha <sup>-1</sup> )	N	P	K	Ca	Mg
Jocotitlán						
Mean/Media	46.5	360.6	24.7	34.5	106.8	23.8
SD/DE	21.4	194.4	11.5	18.3	53.2	12.7
CV (%)	46.0	53.9	46.5	53.2	49.8	53.4
n	12	12	12	12	12	12
Tlálloc						
Mean/Media	16.9	136.7	8.8	21.5	40.5	10.9
SD/DE	19.1	151.7	10.5	31.7	43.4	12.6
CV (%)	113.2	111.0	119.5	147.8	107.1	115.3
n	12	12	12	12	12	12
P<	0.0014	0.0001	0.0010	0.0404	0.0003	0.0141

SD: standard deviation of the mean; CV: coefficient of variation. P< value indicates statistical difference between mountains according to the Wilcoxon test.

DE: desviación estándar de la media; CV: coeficiente de variación. El valor P< indica diferencia estadística entre montañas de acuerdo con la prueba de Wilcoxon.

### Seasonal trends

The most common seasonal trend was cubic. K concentrations showed no definite trend, except when the N:K ratio was considered. Table 6 indicates that, in all cases where a trend could be fitted, the factor time was significant ( $P < 0.001$ ), while the mountain effect was not statistically significant for P, Ca concentrations and the N:Ca ratio. The mountain\*time interaction was statistically significant for N and the N:K and N:Mg ratios.

For this research, during the one-year cycle, the fact that the trend of nutrients or proportions is quadratic indicates that there is a low point for a given season, while when it is cubic there is a seasonal maximum and minimum; that is, two changes of slope in the trend.

Figure 2 shows that the trend of needle litterfall was higher during summer and lower in winter. The trends by nutrients and ratios regarding N are shown in Figures 3 and 4, respectively. N concentration was higher in mid-fall (October 17), while for P and Ca it was higher in summer (June 20 to July 7). For Mg, concentrations were higher in spring (March 16 to May 5) (Figure 3). Except for the N:Ca ratio, most of the nutrient ratios (N:P, N:K, N:Mg) had maxima at the end of summer (August 28) and autumn (October 17) (Figure 4).

Mg·ha<sup>-1</sup>) fue 175 % mayor que la de TL (16.9 Mg·ha<sup>-1</sup>). La masa de nutrientes del mantillo fue superior en JO con valores superiores en 164, 181, 60, 164 y 118 % para N, P, K, Ca y Mg, respectivamente.

De acuerdo con el Cuadro 5, el flujo de masa de acículas y nutrientes fue estadísticamente superior en JO ( $P < 0.04$ ). La transferencia de masa de acículas del dosel al piso forestal fue 67 % superior en JO con respecto a TL. En cuanto al flujo de nutrientes en masa, las diferencias fueron 77, 54, 12, 70 y 19 % superiores en JO con respecto a TL, para N, P, K, Ca y Mg, respectivamente.

### Tendencias estacionales

La tendencia estacional más común fue cúbica. Las concentraciones de K no mostraron una tendencia definida, excepto cuando se consideró la proporción N:K. El Cuadro 6 indica que, en todos los casos en que se pudo ajustar una tendencia, el factor tiempo fue significativo ( $P < 0.001$ ), mientras que el efecto de montaña no fue estadísticamente significativo para las concentraciones de P, Ca y la relación N:Ca. La interacción montaña\*tiempo fue estadísticamente significativa para N y las relaciones N:K y N:Mg.

Específicamente para esta investigación, durante el ciclo de un año, el hecho de que la tendencia de nutrientes o sus proporciones sea cuadrática indica

**Table 5. Annual needle and nutrient mass flux via litterfall in two alpine forests of *Pinus hartwegii* in central Mexico.**

**Cuadro 5. Flujo anual de masa de acículas y nutrientes vía caída de follaje en dos bosques alpinos de *Pinus hartwegii* en el centro de México.**

Site	Mass (Mg·ha <sup>-1</sup> ·year <sup>-1</sup> ) / Masa (Mg·ha <sup>-1</sup> ·año <sup>-1</sup> )	N	P	K	Ca	Mg
		(kg·ha <sup>-1</sup> ·year <sup>-1</sup> ) / (kg·ha <sup>-1</sup> ·año <sup>-1</sup> )				
Jocotitlán						
Mean/Media	11.2	98.0	5.2	8.7	24.6	5.6
SD/DE	3.0	20.9	1.1	2.6	6.8	1.9
CV (%)	26.8	21.3	23.1	30.7	27.7	33.4
n	12	12	12	12	12	12
Tlálac						
Mean/Media	6.7	55.3	3.4	7.8	14.4	4.7
SD/DE	3.4	28.3	1.8	6.6	5.8	2.2
CV (%)	50.7	51.2	54.3	85.2	40.2	46.9
n	12	12	12	12	12	12
P<	0.0027	0.0001	0.0010	0.0404	0.0003	0.0141

SD: standard deviation of the mean; CV: coefficient of variation. P< value indicates statistical difference between mountains according to the Wilcoxon test.

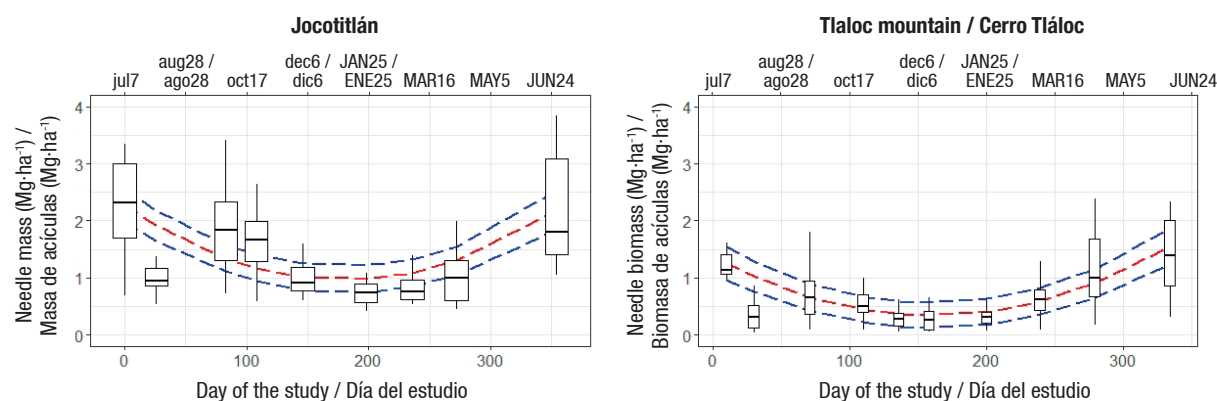
DE: desviación estándar de la media; CV: coeficiente de variación. El valor P< indica diferencia estadística entre montañas de acuerdo con la prueba de Wilcoxon.



**Table 6. Statistical significance of longitudinal analysis of variance of temporal trends of needle mass and nutrient concentration in two alpine forests of *Pinus hartwegii* in central Mexico.**

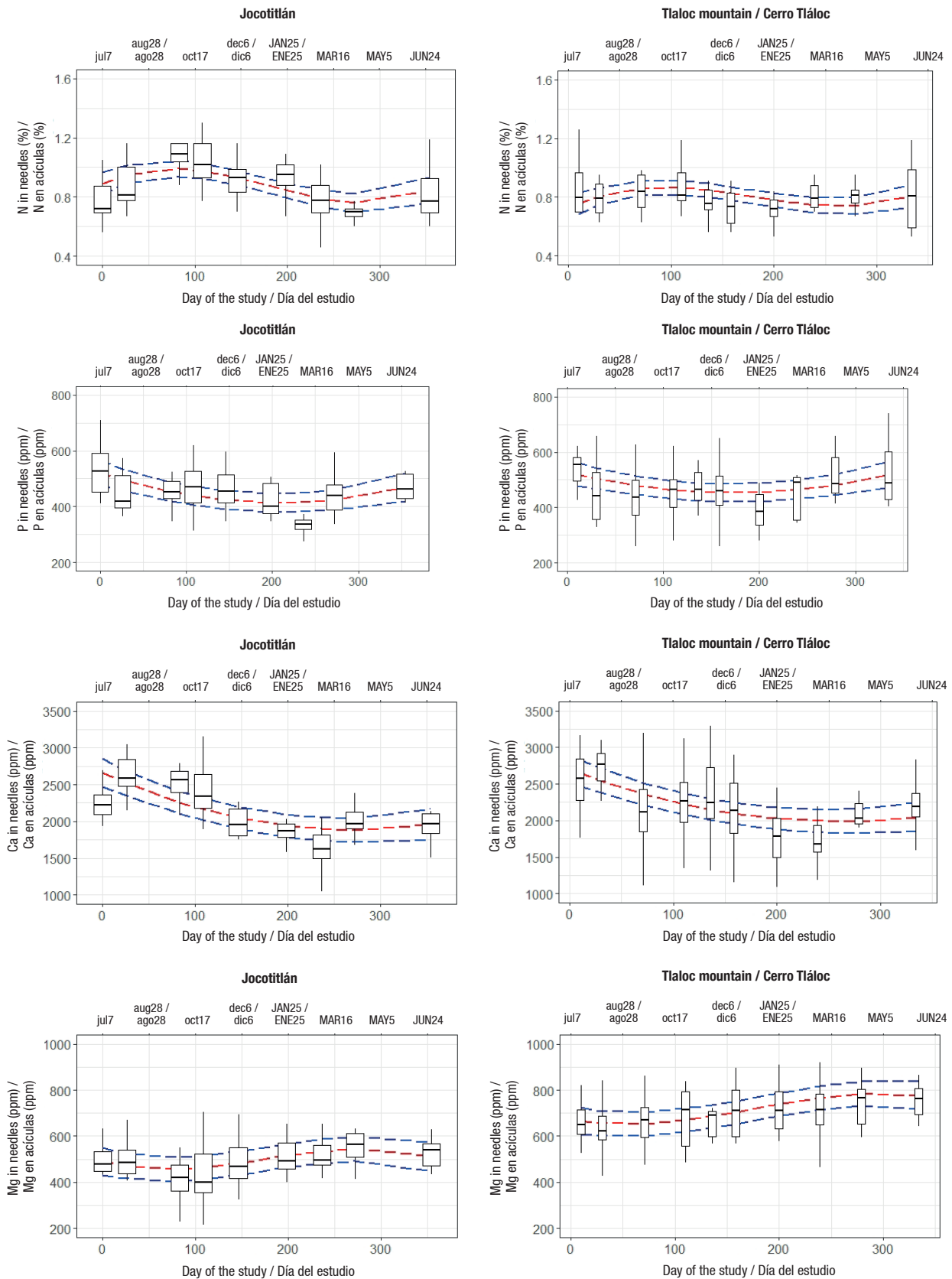
**Cuadro 6. Significancia estadística del análisis de varianza longitudinal de las tendencias temporales de masa de acículas y concentración de nutrientes en en dos bosques alpinos de *Pinus hartwegii* en el centro de México.**

Variable	Trend/ Tendencia	Time/ Tiempo	Mountain/ Montaña	Time*mountain interaction/ Interacción tiempo*montaña
Needle mass/ Masa de acículas	Quadratic/ Cuadrática	<.0001	<.0001	0.0443
N	Cubic/ Cúbica	0.0002	0.0002	0.0153
P	Quadratic/ Cuadrática	<.0001	0.8172	ns
K	No trend/ Sin tendencia	---	---	---
Ca	Quadratic/ Cuadrática	<.0001	0.7372	ns
Mg	Cubic/ Cúbica	0.0322	<.0001	ns
N:P	Cubic/ Cúbica	0.0007	0.0058	ns
N:K	Cubic/ Cúbica	<.0001	<.0001	0.0007
N:Ca	Quadratic/ Cuadrática	<.0001	0.2002	ns
N:Mg	Cubic/ Cúbica	<.0001	<.0001	0.0024



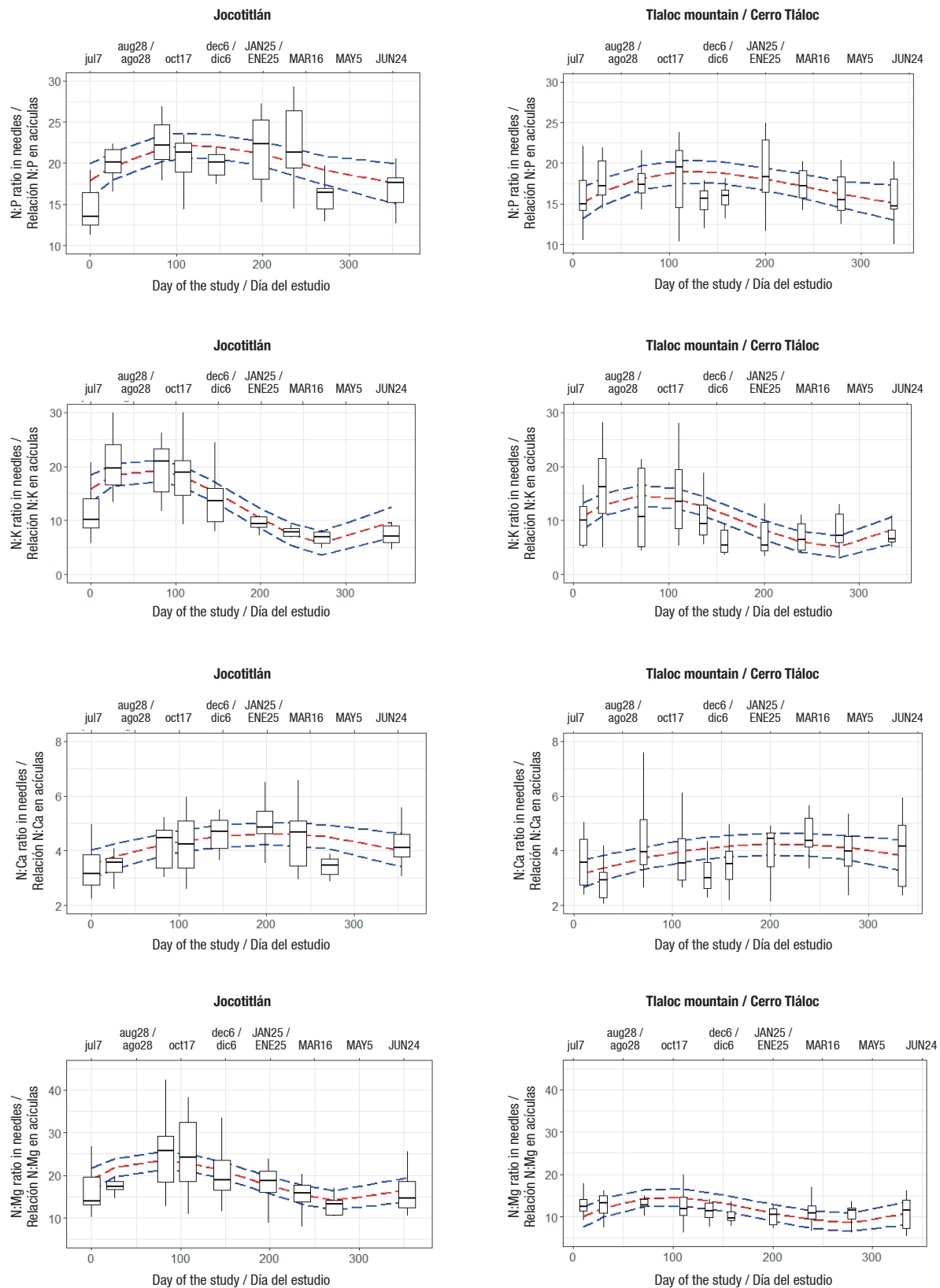
**Figure 2. Temporal trends in *Pinus hartwegii* needle litterfall mass with estimated values and 95 % confidence intervals in two alpine forests of central Mexico. Lowercase and uppercase letters indicate months of 2017 and 2018, respectively.**

**Figura 2. Tendencias temporales en la masa de caída de acículas de *Pinus hartwegii* con valores estimados e intervalos de confianza del 95 % en dos bosques alpinos del centro de México. Letras minúsculas y mayúsculas indican meses del 2017 y 2018, respectivamente.**



**Figure 3. Trends in needle litterfall nutrient concentration of *Pinus hartwegii* with 95 % confidence intervals in two alpine forests of central Mexico. Lowercase and uppercase letters indicate months of 2017 and 2018, respectively.**

**Figura 3. Tendencias en la concentración de nutrientes de caída de acículas de *Pinus hartwegii* con intervalos de confianza del 95 % en dos bosques alpinos del centro de México. Letras minúsculas y mayúsculas indican meses del 2017 y 2018, respectivamente.**



**Figure 4.** Seasonal trends in needle litterfall nutrient ratios of *Pinus hartwegii* with estimated values and 95 % confidence intervals, in two alpine forests of central Mexico. Lowercase and uppercase letters indicate months of 2017 and 2018, respectively.

**Figura 4.** Tendencias temporales en proporciones de nutrientes de caída de acículas de *Pinus hartwegii* con valores estimados e intervalos de confianza del 95 %, en dos bosques alpinos del centro de México. Letras minúsculas y mayúsculas indican meses del 2017 y 2018, respectivamente.

## Discussion

### Forest floor and soil concentrations

Compared to JO, the forest floor in TL had higher concentrations of Mg ( $P < 0.001$ ) and Ca ( $P < 0.009$ ). That difference was also reflected in mineral soil concentrations, confirming the close relationship of soil fertility and needle chemistry (Wood et al., 2006). A higher sum of cations (K + Ca + Mg) in TL indicates better fertility and reinforces the relationship between the amount of potentially available nutrients and the chemical composition of needles, considering that there is the same volcanic soil (Andisol) in both mountains. In these, the low concentration of the main cations ( $< 6 \text{ cmol}_c \cdot \text{kg}^{-1}$ ) is expected in forest soils of *P. hartwegii* forests in central Mexico (Marín, Escolero-Fuentes, & Trinidad-Santos, 2002).

### Needle mass

The fact that JO had a larger amount of mulch mass also translated into larger reservoirs of all nutrients ( $P < 0.001$ ); however, it is important to note that even with larger reservoirs in JO, TL forest has higher productivity. Trees in JO have a mean annual increase in basal area of  $6 \text{ cm}^2$ , while in TL it is  $15 \text{ cm}^2$  (Correa-Díaz et al., 2020; Núñez-García et al., 2020).

The results indicate that a high proportion of the net productivity goes to leaf mass production in JO. Depending on forest structure and age, needle production can account for more than 70 % of canopy litter (Schlesinger & Bernhardt, 2013). Annually, greater amounts of nutrients flow from the canopy to the forest floor in JO, but there does not seem to be a priority in the production of timber components. In fact, the synchrony between photosynthetic activity at the canopy level (through vegetation indices- NDVI) and annual growth ring formation is higher in TL than in JO (Correa-Díaz, Gómez-Guerrero, Vargas-Hernández, Rozenberg, & Horwath, 2020).

Other authors have also found no correlation between radial growth and needle production in *Pinus silvestris* L. forests (Lehtonen, Lindholm, Hokkanen, Salminen, & Jalkanen, 2008), but have found pulses of needle production every four years, possibly associated with global climatic circulation events (González de Andrés et al., 2019). As for larger forest floor reservoirs, what is known is that litterfall accumulation is rather correlated with decomposition processes than with the forest yield (Frank, Pontes, & McFarlane, 2012). The results of this study suggest that there may be other factors of needle quality and decomposition, such as N:lignin ratio, that could explain this result (Schlesinger & Bernhardt, 2013).

que hay un punto bajo para una estación determinada, mientras que cuando es cúbica se presenta un punto máximo y un mínimo estacional; es decir, dos cambios de pendiente en la tendencia.

La Figura 2 muestra que la tendencia de caída de acícula fue mayor durante el verano y menor en invierno. Las tendencias por nutrientes y proporciones con respecto al N se muestran en las Figuras 3 y 4, respectivamente. La concentración de N fue mayor a mediados del otoño (octubre 17), mientras que para P y Ca fue mayor en el verano (junio 20 a julio 7). En el caso del Mg, las concentraciones fueron mayores en primavera (marzo 16 a mayo 5) (Figura 3). Excepto por la relación N:Ca, la mayoría de la proporciones de nutrientes (N:P, N:K, N:Mg) presentaron máximos al final del verano (agosto 28) y otoño (octubre 17) (Figura 4).

## Discusión

### Concentraciones en piso forestal y suelo

Comparado con JO, el piso forestal en TL mostró mayor concentración de Mg ( $P < 0.001$ ) y Ca ( $P < 0.009$ ). Tal diferencia también se reflejó en las concentraciones del suelo mineral, lo que corrobora la estrecha relación de la fertilidad del suelo y la química de las acículas (Wood et al., 2006). Una suma mayor de cationes (K + Ca + Mg) en TL indica mejor fertilidad y refuerza la relación entre la cantidad de nutrientes potencialmente disponibles y la composición química de las acículas, ya que el suelo es de origen volcánico (Andisol) en ambas montañas. En estas, la baja concentración de los principales cationes ( $< 6 \text{ cmol}_c \cdot \text{kg}^{-1}$ ) es la esperada en los suelos forestales de bosques de *P. hartwegii* en el centro de México (Marín, Escolero-Fuentes, & Trinidad-Santos, 2002).

### Masa de acículas

El hecho de que JO haya presentado mayor cantidad de masa de mantillo se tradujo también en reservorios más grandes de todos los nutrientes ( $P < 0.001$ ); sin embargo, llama la atención que aun con mayores reservorios en JO, el bosque TL tenga mayor productividad. Los árboles en JO tienen incremento medio anual en área basal de  $6 \text{ cm}^2$ , mientras que en TL es de  $15 \text{ cm}^2$  (Correa-Díaz et al., 2020; Núñez-García et al., 2020).

Los resultados indican que, en JO, una proporción alta de la productividad neta se destina a la producción de masa foliar. Dependiendo de la estructura y edad del bosque, la producción de acículas puede representar más del 70 % de los detritos del dosel (Schlesinger & Bernhardt, 2013). Anualmente, fluyen mayores cantidades de nutrientes del dosel al piso forestal en JO, pero no parece haber prioridad en la productividad de componentes maderables. De hecho, la sincronía

Being an isolated volcano and not part of a mountain range like TL (Figure 1), it is likely that JO may have more extreme humidity and temperature events and higher wind speed that cause more needle litterfall, less decomposition and less tree growth (Zhu et al., 2021). Dataloggers data showed that temperature is slightly lower and relative humidity is higher in JO than in TL (6.83 vs. 7.25 °C; 73.13 vs. 69.74 %).

### Annual nutrient flux

Both mountains have clear trends in needle and nutrient mass between June of the previous year (2017) and June of the subsequent year (2018), with lower values in early winter. Total pine needle input was 11.2 Mg·ha<sup>-1</sup>·year<sup>-1</sup> for JO, while for TL it was 6.7 Mg·ha<sup>-1</sup>·year<sup>-1</sup> (Table 5). These data are high compared to those reported in other ecosystems; for example, 7.6 Mg·ha<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup> for total litterfall (leaves, branches and reproductive structures) in pine-oak forests of Chiapas (Rocha-Loredo & Ramírez-Marcial, 2009); 5.9 Mg·ha<sup>-1</sup>·year<sup>-1</sup> in pine-oak forests of Durango (Moreno Valdez et al., 2018) and 7.4 and 10.6 Mg·ha<sup>-1</sup>·year<sup>-1</sup> in oak forests of Nuevo León and Morelos, respectively (González-Rodríguez et al., 2011; Mantero-García, Gómez-Guerrero, Gavi-Reyes, Zamora-Morales, & Ramírez-Ayala, 2019). According to a global review, Zhang, Yuan, Dong, and Liu (2014) determined that total litterfall in forest ecosystems ranges from 3 to 11 Mg·ha<sup>-1</sup>·year<sup>-1</sup>, although the upper extremes extend to 13 Mg·ha<sup>-1</sup>·year<sup>-1</sup>.

In years with moisture and years with strong winds, leaf litterfall can be more than twice as high compared to average climate years, which particularly affects coniferous forests with higher needle litterfall (Cheng et al., 2020). Due to the lack of meteorological stations, it was not possible to know if in the study year there was higher leaf litterfall due to abiotic factors. Leaf litterfall values represent sites with good tree cover (>60 %), but in sites with lower cover the values will be lower. Although all sites have 100 % understory cover, it is also likely that due to the location of the trap at ground level some needles may be captured by the effect of gravity.

Maximum needle accumulation was found in the months with the highest precipitation (Figure 2), for both mountains, when growth activity is higher, trees replace old foliage and mobile nutrients such as N and P are transported from old to new tissue (Schlesinger & Bernhardt, 2013). These results contrast with those of other studies, where higher leaf litter production is associated with the driest season of the year (López-Escobar et al., 2018); however, a bimodal trend, including dry and wet season was reported for oak-pine forests (*Quercus potosina* Trel. and *Pinus cembroides*

entre la actividad fotosintética a nivel dosel (a través de índices de vegetación- NDVI) y la formación de anillos de crecimiento anual es mayor en TL que en JO (Correa-Díaz, Gómez-Guerrero, Vargas-Hernández, Rozenberg, & Horwath, 2020).

Otros autores tampoco han encontrado correlación entre el crecimiento radial y la producción de acículas en bosques de *Pinus silvestris* L. (Lehtonen, Lindholm, Hokkanen, Salminen, & Jalkanen, 2008), pero sí han encontrado pulsos de producción de acícula cada cuatro años, posiblemente asociados a eventos de circulación climática global (González de Andrés et al., 2019). En cuanto a mayores reservorios del piso forestal, lo que se sabe es que la acumulación de mantillo está más bien correlacionada con los procesos de descomposición que con la productividad de un bosque (Frank, Pontes, & McFarlane, 2012). Los resultados de este estudio sugieren que podría haber otros factores de la calidad de acícula y descomposición, como la proporción N:lignina, que podrían explicar este resultado (Schlesinger & Bernhardt, 2013).

Es probable que en el sitio JO, por ser un volcán aislado y no parte de una cadena montañosa como TL (Figura 1), ocurran eventos más extremos en humedad y temperatura y mayor velocidad de viento que provoquen mayor caída de acícula, menor descomposición y menor crecimiento de los árboles (Zhu et al., 2021). Los datos de los *dataloggers* mostraron que la temperatura es ligeramente menor y la humedad relativa es mayor en JO que en TL (6.83 vs. 7.25 °C; 73.13 vs. 69.74 %).

### Flujo anual de nutrientes

En ambas montañas hay tendencias definidas de la masa de acícula y nutrientes entre junio del año previo (2017) y junio del año posterior (2018), con los valores más bajos a principios de invierno. El aporte total de acículas de pino fue 11.2 Mg·ha<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup> en JO, mientras que en TL fue 6.7 kg·ha<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup> (Cuadro 5). Estos datos son altos comparados con los reportados en otros ecosistemas; por ejemplo, 7.6 Mg·ha<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup> para hojarasca total (hojas, ramillas y estructuras reproductivas) en bosques de pino-encino de Chiapas (Rocha-Loredo & Ramírez-Marcial, 2009); 5.9 Mg·ha<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup> en bosques de pino-encino de Durango (Moreno Valdez et al., 2018) y 7.4 y 10.6 Mg·ha<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup> en bosques de encino de Nuevo León y Morelos, respectivamente (González-Rodríguez et al., 2011; Mantero-García, Gómez-Guerrero, Gavi-Reyes, Zamora-Morales, & Ramírez-Ayala, 2019). De acuerdo con una revisión global, Zhang, Yuan, Dong, y Liu (2014) determinaron que la hojarasca total en ecosistemas forestales varía de 3 a 11 Mg·ha<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup>, aunque los extremos superiores se extienden hasta los 13 Mg·ha<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup>.

Zucc.) in San Luis Potosí, with total leaf litter production of  $5.9 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{year}^{-1}$  (Pérez-Suárez et al., 2009). The results of this study indicate a single peak of needle production occurring in summer (Figure 2). Thus, in spite of developing in cold climates, the results show that the forests studied are very productive in needles and dynamic in nutrient transfer.

### Nutrient use efficiency

Using the information in Table 5, nutrient use efficiency in needle litterfall can be estimated at the ecosystem level. Such an estimate is the ratio of the annual flux of needle mass to the annual flux of each nutrient ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{year}^{-1}$ ). The efficiencies in JO are 114, 2 153, 1 287, 485, 2 015 for N, P, K, Ca and Mg, respectively, while for TL they are 121, 1 971, 859, 465, 1 425 in the same order of nutrients. These results indicate that N use efficiency is higher in TL mountain, because the same unit of nutrient (kg) translated into higher amounts of leaf mass (kg). But in terms of K and Mg there was more efficiency in JO, which is particularly consistent with a higher sum of cations in the TL soil (Table 3). Regardless of locality, these efficiency levels are higher for the bases K, Ca and Mg than those found in a stand of *Pinus pseudostrobus* Lindl. mixed with deciduous species (González-Rodríguez et al., 2011) and, except for P efficiency, also exceed the nutrient efficiency of the tropical rainforest (Kotowska, Leuschner, Triadiati, & Hertel, 2016).

### Trends over time

Needle production is reduced in the cold months, reflecting low physiological activity in trees, for both mountains. For alpine forests this is an expected result because temperature limits several ecophysiological processes (Körner, 2012). Nutrient concentrations in needle litterfall are the result of concentrations in green needle and resorption (Kobe, Lepczyk, & Iyer, 2005); the lower the concentration of nutrients in needle litterfall, the higher the amount of resorption into trees. Both mountains have a similar pattern with lower concentrations (higher resorption) in the months from March to May (Figure 2); that is, in the dry months when nutrient supply via soil is low due to lower soil moisture (Gómez-Guerrero & Doane, 2018).

P showed a gradual increase in reuse from July to January, i.e., greater demand as the rainy season moved away (Figure 3). This could be because P is a low mobility element absorbed mainly by mass diffusion, requiring soil moisture to favor the presence of soluble forms (Binkley & Fisher, 2020). The similarity of the N:P ratio indicated a higher reuse in the months of June and July for both mountains; subsequently, this reuse decreased in winter and was reactivated in late spring

En años húmedos y con vientos fuertes, la caída de hoja puede ser hasta más de dos veces mayor en comparación con años de clima promedio, lo cual afecta particularmente a los bosques de coníferas con mayor desprendimiento de acículas (Cheng et al., 2020). Por falta de estaciones meteorológicas, no fue posible saber si en el año de estudio haya habido mayor caída de hoja por factores abióticos. Los valores de caída de hoja representan sitios con buena cobertura arbórea (>60 %), pero en sitios de menor cobertura los valores serán menores. Aunque todos los sitios presentan cobertura del 100 % en sotobosque, es probable también que por la ubicación de la trampa a nivel de suelo se puedan captar algunas acículas por efecto de la gravedad.

En ambas montañas, la máxima acumulación de acículas ocurrió en los meses con mayor precipitación (Figura 2), cuando la actividad de crecimiento es mayor, los árboles reemplazan el follaje viejo y los nutrientes móviles como el N y P se transportan de tejido viejo a nuevo (Schlesinger & Bernhardt, 2013). Estos resultados contrastan con los de otros estudios, donde la mayor producción de hojarasca se asocia a la temporada más seca del año (López-Escobar et al., 2018); sin embargo, una tendencia bimodal, incluyendo temporada seca y húmeda se reportó para bosques de encino-pino (*Quercus potosina* Trel. y *Pinus cembroides* Zucc.) en San Luis Potosí, con producción total de hojarasca de  $5.9 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$  (Pérez-Suárez et al., 2009). Los resultados del presente estudio indican un solo pico de producción de acícula que ocurre en verano (Figura 2). Así, a pesar de desarrollarse sobre climas fríos, los resultados evidencian que los bosques estudiados son muy productivos en acícula y dinámicos en la transferencia de nutrientes.

### Eficiencia de uso de nutrientes

Utilizando la información del Cuadro 5, la eficiencia de uso de nutrientes en caída de acícula se puede estimar a nivel de ecosistema. Dicha estimación es el cociente del flujo anual de masa de acícula con respecto al flujo anual de cada nutriente ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$ ). Las eficiencias en JO son 114, 2 153, 1 287, 485, 2 015 para N, P, K, Ca y Mg, respectivamente, en tanto que para TL son 121, 1 971, 859, 465, 1 425 en el mismo orden de nutrientes. Estos resultados indican que la eficiencia de uso de N es más eficiente en la montaña TL, ya que una misma unidad de nutriente (kg) se tradujo en cantidades mayores de masa foliar (kg). Pero en términos de K y Mg hubo mejor eficiencia en JO, lo que particularmente es consistente con una mayor suma de cationes en el suelo de TL (Cuadro 3). Independientemente de la localidad, estos niveles de eficiencia son más altos para las bases K, Ca y Mg que los encontrados en un rodal de *Pinus pseudostrobus* Lindl. mezclado con especies caducifolias (González-Rodríguez et al., 2011) y, excepto

of the following year, which is a trend coupled with the rate of tree growth and denotes the importance of these two macroelements (N and P) for biomass formation (Schlesinger & Bernhardt, 2013).

Ca indicated a progressive demand from July to March, which reflects the process of cell wall formation in needles; that is, unlike other elements, an accumulative process is inferred as leaf expansion is concluded. The variation in the N:Ca ratio indicates that the highest Ca consumption is found during the rainy season, when needles begin to expand. The fact that this ratio remains stable during the rest of the year indicates that Ca has low mobility and that it accumulates in support structures such as the cell wall.

The lower Mg concentrations in JO are consistent with lower soil availability (Table 3). The results indicate that, in JO, the needles that fall to the ground already have low Mg concentrations, due to low availability in the soil, which conditions trees to increase Mg reuse. For TL, on the other hand, the soil has a better supply of Mg, so that needles return to the soil with higher Mg concentrations (Figure 3). Since TL productivity is high compared to JO, the results indicate enough Mg supply and less need for reuse; in addition, the N:Mg ratio is more stable in TL throughout the year. The lower N:Mg ratio in TL indicates a better nutrient balance, supported by higher soil fertility (Table 2). Although at both sites the N:Mg ratio varies during the year, it is evident that changes are greater in JO, where needles fallen from August to October were significantly reduced in Mg (higher N:Mg ratio), indicating that JO needs further modification in nutrient ratio to maintain tree growth.

K alone showed no temporal trend, but when the N:K ratio is considered, the importance of K and its greater amplitude of response is remarkable. N:K ratio was expressed in two phases; the first from August to December (summer-autumn) when proportionally K is low in relation to N, while the second phase occurs in the dry months, from January to May (winter-spring), when K:N ratio increases (N:K decreases). Since K is linked to stomatal regulation, phloem transport and photosynthesis, this result could indicate an increase in K retranslocation in autumn, prior to cold season, while in spring K retranslocation decreases, when new growing and photosynthesis season is about to start. On the other hand, before winter, leaves have already accumulated cellulose and N is diluted, resulting in lower N:K ratios before new growing season starts (Schlesinger & Bernhardt, 2013). The role of K is complex, at an ecosystem level, but a comprehensive review of the subject indicates a strong relationship with N (Tripler, Kaushal, Likens, & Walter, 2006), which is in complete agreement with this study. In this

por la eficiencia en P, también superan la eficiencia de nutrientes del bosque tropical lluvioso (Kotowska, Leuschner, Triadiati, & Hertel, 2016).

### Tendencias en el tiempo

En ambas montañas, la producción de acícula se reduce en los meses fríos, reflejando la baja actividad fisiológica en los árboles. Para bosques alpinos este es un resultado esperado, debido a que la temperatura limita un gran número de procesos ecofisiológicos (Körner, 2012). Las concentraciones de los nutrientes en la caída de acícula son resultado de las concentraciones en acícula verde y la reabsorción (Kobe, Lepczyk, & Iyer, 2005); cuanto más baja es la concentración de nutrientes en caída de acículas, mayor es la cantidad de reabsorción al interior de los árboles. Ambas montañas tienen un patrón similar con concentraciones más bajas (mayor reabsorción) en los meses de marzo a mayo (Figura 2); es decir, en los meses secos cuando la provisión de nutrientes vía suelo es baja por la menor humedad del suelo (Gómez-Guerrero & Doane, 2018).

El P mostró un aumento gradual de reutilización de julio a enero, esto es, mayor demanda en la medida que el periodo lluvias se iba alejando (Figura 3). Lo anterior podría deberse a que P es un elemento de baja movilidad que se absorbe principalmente por difusión de masas, requiriendo humedad del suelo para favorecer la presencia de sus formas solubles (Binkley & Fisher, 2020). En ambas montañas, la similitud de la proporción N:P indicó una reutilización mayor en los meses de junio y julio; posteriormente, esta reutilización disminuyó en invierno y se reactivó a finales de la primavera del siguiente año, que es una tendencia acoplada con el ritmo de crecimiento arbóreo y que denota la importancia de estos dos macroelementos (N y P) para la formación de biomasa (Schlesinger & Bernhardt, 2013).

El Ca indicó una demanda progresiva de julio a marzo, lo que refleja el proceso de formación de pared celular en las acículas; es decir, a diferencia de otros elementos, se infiere un proceso acumulativo en la medida que se concluye la expansión foliar. La variación de la proporción N:Ca indica que el mayor consumo de Ca ocurre en la época de lluvias, cuando las acículas empiezan su expansión. El hecho de que dicha relación se mantenga estable el resto del año indica que el Ca tiene baja movilidad y que se va acumulando en las estructuras de soporte como la pared celular.

Las concentraciones más bajas de Mg en JO concuerdan con la menor disponibilidad en el suelo (Cuadro 3). Los resultados indican que, en JO, las acículas que caen al piso ya van con bajas concentraciones de Mg, debido a su baja disponibilidad en el suelo, lo que

regard, it has been proposed that parallel pulses of K and nitrate in watershed streams indicate the strong relationship of these elements (Tripler et al., 2006). Although the mean temperature of both sites is similar, days with temperatures below freezing are greater in JO (Núñez-García et al., 2020). In fact, there is a more marked pulse of K retranslocation, indicated by N:K ratio for JO, which coincides with higher frequency of frost at this site (Núñez-García et al., 2020).

## Conclusions

The results of this study are a useful baseline for detecting changes in future functionality of alpine forests. The forests of Jocotitlán and Tlaloc mountains differed in needle production and nutrient flux. The Jocotitlán forest, less productive in timber components (e.g., basal area), had higher needle litterfall. The N:K ratio in needle litterfall is more relevant than previously thought, as it showed more marked seasonal variation, highlighting the importance of the balance of these macronutrients in the canopy. Climate change could lead to nutritional and water stress in forests, therefore, studies on leaf litterfall production and its chemical composition can be important indicators to assess effects on vegetation and propose conservation strategies. The stoichiometry of leaf litterfall provides crucial information for understanding biogeochemistry of alpine forests.

## Acknowledgments

The authors of this study thank to the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) for the graduate studies scholarship awarded to the first author. The authors also thank to Unión de Ejidos de la Montaña and municipal authorities of Jocotitlán, Estado de México, for allowing to access their forest areas.

### End of English version

## References

- Acosta Mireles, M., Carrillo Anzures, F., Delgado, D., & Velasco Bautista, E. (2014). Establecimiento de parcelas permanentes para evaluar impactos del cambio climático en el Parque Nacional Izta-Popo. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 5(26), 06–29. doi: 10.29298/rmcf.v5i26.287
- Alcántara, G. G., & Sandoval, V. M. (1999). *Manual de análisis químico de tejido vegetal. Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación*. Chapingo, Estado de México, México: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A. C.
- Arce, J. L., Layer, P. W., Macías, J. L., Morales-Casique, E., García-Palomo, A., Jiménez-Domínguez, F. J., ...Vásquez-Serrano, A. (2019). Geology and stratigraphy of the

condiciona a los árboles incrementar la reutilización de Mg. En cambio en TL, el suelo tiene mejor abasto de Mg, de tal forma que las acículas regresan al suelo con concentraciones más altas de Mg (Figura 3). Dado que la productividad de TL es alta comparada con JO, los resultados denotan provisión suficiente de Mg y menor necesidad de reutilización; además, la proporción N:Mg es más estable en TL a lo largo del año. La proporción más baja de N:Mg en TL indica un mejor balance de nutrientes, sustentado por la mayor fertilidad de suelo (Cuadro 2). Aunque en ambos lugares la proporción N:Mg varía durante el año, es evidente que los cambios son mayores en JO, donde las acículas caídas de agosto a octubre se empobrecen considerablemente en Mg (mayor relación N:Mg), denotando que en JO se requieren más ajustes en la proporción de nutrientes para mantener el crecimiento arbóreo.

Llama la atención que el K por sí solo no haya mostrado tendencia temporal, pero cuando se considera la proporción N:K, es notable la importancia del K y su mayor amplitud de respuesta. La proporción N:K se manifestó en dos fases; la primera de agosto a diciembre (verano-otoño) cuando proporcionalmente el K es bajo respecto a N, mientras que la segunda fase ocurre en los meses secos, de enero a mayo (invierno-primavera), cuando la proporción K respecto a N aumenta (disminuye N:K). Dado que el K está ligado a la regulación estomática, transporte de floema y fotosíntesis, este resultado podría indicar un aumento en la reabsorción de K en otoño, previo a la estación fría, mientras que en primavera la reabsorción de K disminuye, cuando la nueva estación de crecimiento y fotosíntesis está por iniciar. Por otra parte, previo al invierno, las hojas ya han acumulado celulosa y el N se diluye, resultando en proporciones N:K más bajas antes de empezar la nueva estación de crecimiento (Schlesinger & Bernhardt, 2013). A nivel de ecosistema, el papel del K es complejo, pero una revisión amplia del tema indica una fuerte relación con el N (Tripler, Kaushal, Likens, & Walter, 2006), lo que coincide completamente con este estudio. Al respecto, se ha propuesto que los pulsos paralelos de K y nitratos en los arroyos de las cuencas indican la fuerte relación de estos elementos (Tripler et al., 2006). Aunque la temperatura media de ambos sitios es similar, los días con temperaturas bajo cero son mayores en JO (Núñez-García et al., 2020). De hecho, hay un pulso más marcado de reabsorción de K, indicado por la proporción N:K en JO, lo que coincide con la mayor frecuencia de heladas en este sitio (Núñez-García et al., 2020).

## Conclusiones

Los resultados de este estudio son una línea base útil para detectar cambios en la funcionalidad futura de los bosques alpinos. Los bosques de los cerros Jocotitlán y



- Mexico basin (Mexico city), central Trans-Mexican volcanic Belt. *Journal of Maps*, 15(2), 320–332. doi: 10.1080/17445647.2019.1593251
- Binkley, D., & Fisher, R. (2020). *Ecology and management of forest soils* (5th ed.). UK: Wiley-Blackwell.
- Bray, R. H., & Kurtz, L. (1945). Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science*, 59(1), 39–46. doi: 10.1097/00010694-194501000-00006
- Bremner, J. M. (1965). Total nitrogen. In C. A. Black (Ed.), *Methods of soil analysis. Part 2: Chemical and microbial properties* (1049–1178). Madison, WI, USA: American Society of Agronomy.
- Cheng, C.-H., Lee, C.-Y., Lee, H.-R., Chen, C.-P., & Menyailo, O. V. (2020). Effects of typhoon disturbances on seasonal and interannual patterns of litterfall on coniferous and broadleaf plantations in Xitou, central Taiwan. *Journal of Forest Research*, 25(3), 155–162. doi: 10.1080/13416979.2020.1762026
- Correa-Díaz, A., Gómez-Guerrero, A., Vargas-Hernández, J. J., Rozenberg, P., & Horwath, W. (2020). Long-term wood micro-density variation in alpine forests at Central México and their spatial links with remotely sensed information. *Forests*, 11(4), 452. doi: 10.3390/f11040452
- Correa-Díaz, A., Silva, L., Horwath, W., Gómez-Guerrero, A., Vargas-Hernández, J., Villanueva-Díaz, J., ...Velázquez-Martínez, A. (2020). From trees to ecosystems: Spatiotemporal scaling of climatic impacts on montane landscapes using dendrochronological, isotopic, and remotely sensed data. *Global Biogeochemical Cycles*, 34(3), e2019GB006325. doi: 10.1029/2019GB006325
- Fitzmaurice, G. M., Laird, N. M., & Ware, J. H. (2004). *Applied longitudinal analysis*. USA Wiley.
- Frank, D. A., Pontes, A. W., & McFarlane, K. J. (2012). Controls on soil organic carbon stocks and turnover among North American ecosystems. *Ecosystems*, 15(4), 604–615. doi: 10.1007/s10021-012-9534-2
- García, E. (2004). *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (Para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana)* (5.ª ed.). México: Instituto de Geografía UNAM.
- Gavinet, J., Ourcival, J.-M., & Limousin, J.-M. (2019). Rainfall exclusion and thinning can alter the relationships between forest functioning and drought. *New Phytologist*, 223(3), 1267–1279. doi: 10.1111/nph.15860
- Ge, J., & Xie, Z. (2017). Leaf litter carbon, nitrogen, and phosphorus stoichiometric patterns as related to climatic factors and leaf habits across Chinese broad-leaved tree species. *Plant Ecology*, 218(9), 1063–1076. doi: 10.1007/s11258-017-0752-8
- Gómez-Guerrero, A., & Doane, T. (2018). The response of forest ecosystems to climate change. In W. R. Horwath & K. Yakov (Eds.), *Climate change impacts on soil processes and ecosystem properties* (vol. 35, pp. 185–206). Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-444-63865-6.00007-7
- González-Rodríguez, H., Domínguez-Gómez, T. G., Cantú-Silva, I., Gómez-Meza, M. V., Ramírez-Lozano, R. G., Pando-Moreno, M., & Fernández, C. (2011). Litterfall deposition and leaf litter nutrient return in different locations at Tláloc differed in the production of acicula and flow of nutrients. The Jocotitlán forest, less productive in components maderables (v. g. area basal), had greater acicula fall. The N:K relation in acicula fall is more relevant than what was thought, because it showed more marked seasonal variation, highlighting the importance of the balance of these macronutrients in the litter. The change in climate could lead to nutritional and hydric stress of the forests, for this reason, the investigations on the production of leaf fall and its chemical composition can be important indicators to value the effects on the vegetation and propose conservation strategies. This stoichiometry of leaf fall provides crucial information to understand the biogeochemistry of the alpine forests.
- Agradecimientos**
- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de posgrado asignada a la primera autora. A la Unión de Ejidos de la Montaña y autoridades municipales de Jocotitlán del Estado de México, por el permiso de acceso a sus áreas forestales.
- Fin de la versión en español**
- =====
- Northeastern Mexico. *Plant Ecology*, 212(10), 1747. doi: 10.1007/s11258-011-9952-9
- González-Rodríguez, H., Ramírez-Lozano, R. G., Cantú-Silva, I., Gómez-Meza, M. V., Estrada-Castillón, E., & Arévalo, J. R. (2018). Deposition of litter and nutrients in leaves and twigs in different plant communities of northeastern Mexico. *Journal of Forestry Research*, 29(5), 1307–1314. doi: 10.1007/s11676-017-0553-x
- González de Andrés, E. (2019). Interactions between climate and nutrient cycles on forest response to global change: The role of mixed forests. *Forests*, 10(8), 609. doi: 10.3390/f10080609
- González de Andrés, E., Blanco, J. A., Imbert, J. B., Guan, B. T., Lo, Y. H., & Castillo, F. J. (2019). ENSO and NAO affect long-term leaf litter dynamics and stoichiometry of Scots pine and European beech mixedwoods. *Global Change Biology*, 25(9), 3070–3090. doi: 10.1111/gcb.14672
- Kobe, R. K., Lepczyk, C. A., & Iyer, M. (2005). Resorption efficiency decreases with increasing green leaf nutrients in a global data set. *Ecology*, 86(10), 2780–2792. doi: 10.1890/04-1830
- Körner, C. (2012). *Alpine treelines: functional ecology of the global high elevation tree limits*. Springer Science & Business Media. doi: 10.1007/978-3-0348-0396-0
- Kotowska, M. M., Leuschner, C., Triadiati, T., & Hertel, D. (2016). Conversion of tropical lowland forest reduces nutrient return through litterfall, and alters nutrient use efficiency and seasonality of net primary production. *Oecologia*, 180(2), 601–618. doi: 10.1007/s00442-015-3481-5

- Lehtonen, A., Lindholm, M., Hokkanen, T., Salminen, H., & Jalkanen, R. (2008). Testing dependence between growth and needle litterfall in Scots pine - a case study in northern Finland. *Tree Physiology*, 28(11), 1741–1749. doi: 10.1093/treephys/28.11.1741
- López-Escobar, N. F., Gómez-Guerrero, A., Velázquez-Martínez, A., Fierros-González, A. M., Castruita-Esparza, L. U., & Vera-Castillo, J. A. (2018). Reservorios y dinámica de nutrientes en dos rodales bajo aprovechamiento de *Pinus montezumae* Lamb. en Tlaxcala, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 24(1), 115–129. doi: 10.5154/r.rchscfa.2017.09.055
- Mantero-García, H. D., Gómez-Guerrero, A., Gavi-Reyes, F., Zamora-Morales, B. P., & Ramírez-Ayala, C. (2019). ¿Es sustentable el aprovechamiento de tierra de hoja en bosques de encino? *Madera y Bosques*, 25(3), e2531807. doi: 10.21829/myb.2019.2531807
- Marín, L. E., Escolero-Fuentes, O., & Trinidad-Santos, A. (2002). Physical geography, hydrogeology, and forest soils of the basin of Mexico. In M. E. Fenn, L. I. de Bauer, & T. Hernandez-Tejeda (Eds.), *Urban Air Pollution and Forests* (pp. 44–67). USA: Springer. doi: 10.1007/978-0-387-22520-3
- Moreno Valdez, M. E., Domínguez Gómez, T. G., Alvarado, M. d. S., Colín, J. G., Corral Rivas, S., & González Rodríguez, H. (2018). Aporte y descomposición de hojarasca en bosques templados de la región de El Salto, Durango. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 9(47), 70–93. doi: 10.29298/rmcf.v9i47.180
- Neumann, M., Ukonmaanaho, L., Johnson, J., Benham, S., Vesterdal, L., Novotný, R., ...Michopoulos, P. (2018). Quantifying carbon and nutrient input from litterfall in European forests using field observations and modeling. *Global Biogeochemical Cycles*, 32(5), 784–798. doi: 10.1029/2017GB005825
- Núñez-García, A., Gómez-Guerrero, A., Terrazas-Salgado, T. M., Vargas-Hernández, J. J., & Villanueva-Díaz, J. (2020). Analysis of basal area increment of *Pinus hartwegii* Lindl. at different elevations and aspects on Jocotitlán Mountain, State of Mexico. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 27(1), 77–88. doi: 10.5154/r.rchscfa.2019.10.074
- Pérez-Suárez, M., Arredondo-Moreno, J., Huber-Sannwald, E., & Vargas-Hernández, J. (2009). Production and quality of senesced and green litterfall in a pine-oak forest in central-northwest Mexico. *Forest Ecology and Management*, 258(7), 1307–1315. doi: 10.1016/j.foreco.2009.06.031
- R Core Team. (2020). A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <https://www.R-project.org/>
- Rocha-Loredo, A. G., & Ramírez-Marcial, N. (2009). Producción y descomposición de hojarasca en diferentes condiciones sucesionales del bosque de pino-encino en Chiapas, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 84, 1–12. doi: 10.17129/botsoci.2287
- Sardans, J., Alonso, R., Janssens, I. A., Carnicer, J., Vereseoglou, S., Rillig, M. C., ...Penuelas, J. (2016). Foliar and soil concentrations and stoichiometry of nitrogen and phosphorous across European *Pinus sylvestris* forests: relationships with climate, N deposition and tree growth. *Functional Ecology*, 30(5), 676–689. doi: 10.1111/1365-2435.12541
- SAS Institute Inc. (SAS). (2011). SAS/ETS 9.3 User's Guide. Cary, NC, USA: Author.
- Sayer, E. J., Roldassana, C., Sheldrake, M., Bréchet, L. M., Ashford, O. S., Lopez-Sangil, L., ...Wright, S. J. (2020). Revisiting nutrient cycling by litterfall—Insights from 15 years of litter manipulation in old-growth lowland tropical forest. In A. J. Dumbrell, E. C. Turner, & T. M. Fayle (Eds.), *Advances in ecological research* (vol. 62, pp. 173–223). Elsevier. doi: 10.1016/bs.aecr.2020.01.002
- Schlesinger, W. H., & Bernhardt, E. S. (2013). *Biogeochemistry: an analysis of global change* (3rd ed.). San Diego, California, USA: Academic Press.
- Silva, L. C., Gómez-Guerrero, A., Doane, T. A., & Horwath, W. R. (2015). Isotopic and nutritional evidence for species-and site-specific responses to N deposition and elevated CO<sub>2</sub> in temperate forests. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 120(6), 1110–1123. doi: 10.1002/2014JG002865
- Tripler, C. E., Kaushal, S. S., Likens, G. E., & Walter, M. T. (2006). Patterns in potassium dynamics in forest ecosystems. *Ecology Letters*, 9(4), 451–466. doi: 10.1111/j.1461-0248.2006.00891.x
- Wood, T. E., Lawrence, D., & Clark, D. A. (2006). Determinants of leaf litter nutrient cycling in a tropical rain forest: soil fertility versus topography. *Ecosystems*, 9(5), 700–710. doi: 10.1007/s10021-005-0016-7
- Zar, J. H. (2010). *Biostatistical analysis: Pearson new international edition* (5th ed.). New Jersey, USA: Prentice Hall.
- Zhang, H., Yuan, W., Dong, W., & Liu, S. (2014). Seasonal patterns of litterfall in forest ecosystem worldwide. *Ecological Complexity*, 20, 240–247. doi: 10.1016/j.ecocom.2014.01.003
- Zhu, X., Zou, X., Lu, E., Deng, Y., Luo, Y., Chen, H., & Liu, W. (2021). Litterfall biomass and nutrient cycling in karst and nearby non-karst forests in tropical China: A 10-year comparison. *Science of the Total Environment*, 758, 143619. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143619