

DETERMINACIÓN *in vitro* DE LA EMISIÓN DE CO₂ EN MUESTRAS DE MANTILLO

In vitro DETERMINATION OF CO₂ EMISSION IN FOREST LITTER

Edgar Barrales-Brito², J. Dionisio Etchevers-Barra^{1*}, Claudia Hidalgo-Moreno¹, Fernando Paz-Pellat², Vinisa Saynes-Santillán¹

¹Edafología e ²Hidrociencias. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México.

RESUMEN

El mantillo de los bosques emite CO₂ a la atmósfera, pero hay pocos estudios al respecto y generar esta información es importante para mejorar los inventarios gases de efecto invernadero (GEI). Los métodos para cuantificar dicha emisión se realizan *in situ* y por largos periodos de medición y otros requieren de instrumental de alto costo; algunos miden la pérdida de materia orgánica con el tiempo y otros son indirectos y se basan en mediciones dependientes de las condiciones climáticas. El objetivo de este estudio fue generar un protocolo estandarizado de operación (PEO) para medir el potencial de emisión de CO₂ de mantillo *in vitro* mediante el uso de un respirómetro manométrico (OxiTop OC110[®]), en un tiempo máximo de 10 d de incubación. Las muestras de mantillo se recolectaron en un bosque de *Quercus* spp en Tequexquahuac, Estado de México, al inicio de 2012. El diseño experimental fue completamente al azar, los tratamientos fueron incubaciones (a 25 °C) con cuatro porcentajes de humedad del mantillo (20, 40, 60 y 80 % del peso seco) y cuatro tamaños de muestra (5, 10, 20, 40 g), y cada tratamiento se repitió tres veces. Con los datos se realizó un ANDEVA y las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Las variables de respuesta fueron emisión de CO₂, tasa de emisión de CO₂ y porcentaje de carbono oxidado respecto al carbono total al inicio de la incubación. Las condiciones óptimas para la medición fueron 10 g de muestra y una humedad del 60 %. Con estas condiciones se registró la máxima emisión de CO₂ (23 554 mg CO₂ kg⁻¹) y la menor desviación estándar (331 mg CO₂ kg⁻¹), la más baja de los 16 los tratamientos resultantes de combinar tamaños de muestra y porcentaje de humedad. En dicha condición el porcentaje de carbono emitido respecto al carbono inicial fue el mayor (5.26 %). La medición de la respiración en este tipo de ensayo es dependiente de la humedad de la muestra

ABSTRACT

Forest litter emits CO₂ into the atmosphere, but there are few studies on the subject and it is important to generate this information to improve inventories of greenhouse gases (GHGs). Methods to quantify this emission are performed *in situ* during long periods of measurements and others require the use of high cost instruments; some measure the loss of organic matter over time and others are indirect and are based on measurements dependent on weather conditions. The aim of this study was to generate a standardized operation protocol (PEO, its Spanish acronym) to measure the CO₂ emission potential of *in vitro* litter using a manometric respirometer (OxiTop OC110[®]) in a maximum time of 10 d incubation. Litter samples were collected in a *Quercus* spp forest in Tequexquahuac, Estado de Mexico, at the beginning of 2012. The experimental design was completely randomized, treatments were incubations (25 °C) with four litter moisture percentages (20, 40, 60 and 80 % dry weight) and four sample sizes (5, 10, 20, 40 g), and each treatment was replicated three times. Based on the data ANOVA was performed and treatment means were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$). The response variables were: CO₂ emission, CO₂ emission rate and percentage of oxidized carbon compared to total carbon at the start of incubation. The optimum conditions for the measurement were 10 g sample and 60 % humidity. Under these conditions the maximum CO₂ emission was recorded (23 554 mg CO₂ kg⁻¹) as well as the lowest standard deviation (331 mg CO₂ kg⁻¹), the lowest of the 16 treatments resulting from combining sample sizes and moisture percentage. In these conditions the percentage of carbon emitted compared to the initial carbon was the highest (5.26 %). The measurement of respiration in such assay depends on the humidity of the sample and the availability of oxygen present in the system, which is the condition for determining the optimal operating environment using the OxiTop OC. The data generated by OxiTop are indicators of the potential emission of CO₂ by different types of litter and

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: septiembre, 2013. Aprobado: julio, 2014.

Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 48: 679-690. 2014.

y la disponibilidad del oxígeno presente dentro del sistema, condicionante para la determinación del ambiente óptimo de operación utilizando el OxiTop OC. Los datos generados por OxiTop son indicadores de la emisión potencial de CO₂ por distintos tipos de mantillo y tienen un valor similar al de las incubaciones que se realizan para evaluar la mineralización potencial de nitrógeno.

Palabras claves: Respirimetría, CO₂, OxiTop® (R), biogeoquímica, carbono, suelo.

INTRODUCCIÓN

La evaluación de la respiración del suelo y el mantillo en los ecosistemas se realiza mediante métodos directos de medición de los flujos de CO₂ (Black *et al.*, 2007) y para hacer cuantificaciones puntuales se usan cámaras especiales o bolsas de malla rellenas con mantillo o material degradable, depositadas en la superficie o enterradas (Westermann y Crothers, 1980); estas últimas requieren de tiempos prolongado de medición (Báez *et al.*, 2009). La mineralización se determina por la pérdida de materia orgánica en un tiempo determinado (Lusk *et al.*, 2001; Alhamd *et al.*, 2004; Ono *et al.*, 2009). En contraste con estos procedimientos los métodos de laboratorio, como el de absorción alcalina (Carmona *et al.*, 2006), tienen la ventaja de permitir el control de los factores que influyen en el proceso de descomposición (humedad, la temperatura y tiempo) (Acosta *et al.*, 2006; Rodionow *et al.*, 2006; Grigatti *et al.*, 2007).

Los principales factores ambientales que determinan la respiración y descomposición de los componentes orgánicos son la humedad, la temperatura y las propiedades de los residuos orgánicos presente en el suelo y las condiciones edáficas (Jonathan y Bolstad, 2009). Jonnason *et al.* (2004) observaron que la respiración aumentó 33 % al incrementar la temperatura en 2 °C y este aumento fue 23 % al adicionar material orgánico, en relación a una muestra testigo sin materia orgánica y con una temperatura de 10 °C. La adición de materia orgánica que contenga compuestos de fácil descomposición (monosacáridos) promueve la actividad microbiana responsable de la mineralización del carbono, que resulta en la emisión de CO₂ hacia la atmósfera (Guerrero *et al.*, 2012).

El carbono presente en la materia orgánica es parte fundamental de las características del suelo, pues mejora las propiedades químicas, como el pH, y las

have a similar value to that of the incubations performed to evaluate the potential mineralization of nitrogen.

Keywords: Respirimetry, CO₂, OxiTop® (R), biogeochemistry, carbon, soil.

INTRODUCTION

The evaluation of soil respiration and litter in ecosystems is performed through direct methods of measuring CO₂ fluxes (Black *et al.*, 2007), and to make specific quantifications special cameras or mesh bags filled with litter or degradable material are used, to be deposited on the surface or buried (Westermann and Crothers, 1980); the latter require longer time for measurement (Báez *et al.*, 2009). Mineralization is determined by the loss of organic matter at a given time (Lusk *et al.*, 2001; Alhamd *et al.*, 2004; Ono *et al.*, 2009). In contrast to these procedures, laboratory methods like alkaline absorption (Carmona *et al.*, 2006) have the advantage of allowing the control of the factors influencing the decomposition process (humidity, temperature and time) (Acosta *et al.*, 2006; Rodionow *et al.*, 2006; Grigatti *et al.*, 2007).

The main environmental factors determining the respiration and decomposition of organic components are humidity, temperature and the properties of organic residues in the soil and the soil conditions (Jonathan and Bolstad, 2009). Jonnason *et al.* (2004) found that respiration increased by 33 % as temperature rose 2 °C and this increase was 23 % after adding organic matter, relative to a control sample without organic matter and at a temperature of 10 °C. The addition of organic matter containing readily decomposable compounds (monosaccharides) promotes the microbial activity responsible for carbon mineralization, resulting in the emission of CO₂ into the atmosphere (Guerrero *et al.*, 2012).

The carbon present in organic matter is a fundamental part of the soil characteristics as it improves the chemical properties like the pH, and physical properties such as the soil structure, porosity and moisture retention capacity, among others (García *et al.*, 2006; Grigatti *et al.*, 2007). In addition, the organic matter added to the soil helps to increase carbon stocks, which helps mitigate the effects of increased atmospheric CO₂ and reduce the

propiedades físicas, como la estructura del suelo, la porosidad y la capacidad de retención de humedad, entre otras (García *et al.*, 2006; Grigatti *et al.*, 2007). Además, la materia orgánica adicionada al suelo contribuye a incrementar los reservorios de carbono, lo cual ayuda a mitigar los efectos del incremento del CO₂ atmosférico y reducir el impacto del cambio climático (Cruz-Flores y Etchevers, 2011; Etchevers *et al.*, 2006; Avilés-Hernández *et al.*, 2009; IPCC, 2007).

El mantillo es una capa orgánica superficial en los bosques y otros ecosistemas, generada por el depósito natural de los residuos vegetales. En los estudios de balance y de inventario de GEI se requiere conocer cuanto CO₂ libera este material a la atmósfera cuando se descompone naturalmente. Los métodos tradicionales de medición de evolución de CO₂ en sistemas abiertos o cerrados y su captura en una solución básica, son poco precisos porque sólo representan la situación de un punto en el espacio, sin considerar la enorme variación espacial del mantillo (Carmona *et al.*, 2006). Hay procedimientos modernos de laboratorio para cuantificar el CO₂ proveniente de la descomposición, de manera rápida y eficiente, pero no están debidamente calibrados y los datos obtenidos no pueden ser comparables (Reid *et al.*, 2001; Ahn *et al.*, 2008).

En ecosistemas abiertos la cuantificación de los flujos de CO₂ se puede realizar mediante torres de medición equipadas con instrumentos (*eddy covariance*) que miden velocidad del viento, concentración de gases en la atmósfera y otros parámetros que determinan el movimiento de gases entre la atmósfera y los componentes terrestres de los ecosistemas (Janssens *et al.*, 2001; Black *et al.*, 2007).

El OxiTop OC110 es un instrumento de laboratorio diseñado con un propósito diferente al de medir evolución de CO₂ del suelo, porque es un respirómetro desarrollado por la empresa WTW (<http://www.wtw.de/es/>) para cuantificar la demanda biológica de oxígeno (DBO) necesaria para la degradación de la materia orgánica de aguas residuales. El equipo es un sistema cerrado con botellas de vidrio de 500 mL y mide de manera indirecta el consumo de oxígeno, registrando en intervalos de tiempo la pérdida de presión generada por el consumo de este gas mediante un sensor, y esta pérdida está relacionada con la liberación y captura de CO₂; los datos se descargan mediante un control externo. Este instrumento se usa

impact of climate change (Cruz-Flores and Etchevers, 2011; Etchevers *et al.*, 2006; Avilés-Hernández *et al.*, 2009; IPCC, 2007).

Litter is an existing surface organic layer in forests and other ecosystems, generated by the natural reservoir of plant residues. In studies of balance and GHG inventory it is necessary to learn about how much CO₂ this material releases into the atmosphere when it decomposes naturally. Traditional methods of measuring CO₂ evolution in open or closed systems and its capture in a basic solution are imprecise because they represent only the position of one point in space, without considering the enormous spatial variation of litter (Carmona *et al.*, 2006). Today there are modern laboratory procedures to quantify the CO₂ coming from decomposition, quickly and efficiently, but they are not properly calibrated and the data obtained may not be compared (Reid *et al.*, 2001; Ahn *et al.*, 2008).

In open ecosystems the quantification of CO₂ fluxes can be performed by using measurement towers equipped with instruments (*eddy covariance*) that measure wind speed, gas concentration in the atmosphere and other parameters that determine the movement of gases between the atmosphere and terrestrial ecosystem components (Janssens *et al.*, 2001; Black *et al.*, 2007).

The OxiTop OC110 is a laboratory instrument designed to quantify the biological oxygen demand (BOD) required for the degradation of organic matter from wastewater, and not the soil CO₂ evolution, since it is a respirometer developed by the WTW company (<http://www.wtw.de/es/>). The equipment is a closed 500 mL glass bottle system that indirectly measures oxygen consumption, recording in time intervals the pressure loss generated by the consumption of this gas by a sensor, and this loss is associated with the release and capture of CO₂; data are downloaded with an external control. This instrument is used to study the biodegradability of organic matter dissolved in wastewater, evaluate the remediation of contaminated soils (Haapea and Tuhkanen 2006; Byoung and Scholz 2007), and occasionally the decomposition of organic matter in soils, its respiration and microbial activity (Kalamdhad *et al.*, 2008). Veeken *et al.* (2003) measured CO₂ emissions from different organic wastes at different states of decomposition and determined that it is possible to measure oxygen consumption with this

para estudiar la biodegradabilidad de la materia orgánica disuelta presente en aguas residuales, evaluar remediación de suelos contaminados (Haapea and Tuhkanen 2006; Byoung y Scholz 2007) y, ocasionalmente, la descomposición de la materia orgánica de los suelos, su respiración y la actividad microbiana (Kalamdhad *et al.*, 2008). Veeken *et al.* (2003) midieron las emisiones de CO₂ de diferentes residuos orgánicos con distintos estados de descomposición y determinaron que es posible medir el consumo de oxígeno con este equipo, pero estas emisiones dependerán de las características de la materia orgánica. Sin embargo, no hay antecedentes del uso de este equipo para evaluar la emisión de CO₂ en muestras de mantillos de suelos forestales, con altos contenidos de materia orgánica, por lo cual es importante analizar la factibilidad de su utilización para medir la respiración en dichas muestras.

En consecuencia, el objetivo de este estudio fue generar un protocolo estandarizado de operación (PEO) para medir *in vitro* el potencial de emisión de CO₂ de mantillo mediante el uso de un respirómetro manométrico (OxiTop OC110).

MATERIALES Y MÉTODOS

Para las pruebas se recolectó únicamente hojarasca de bosque de *Quercus* spp (mantillo), en Tequexquihuac, Estado de México. El lugar de muestreo se ubica a 2800 m de altitud, la temperatura media es 15.6 °C, la precipitación media anual es 614 mm al año, y los meses más lluviosos son de mayo-septiembre, con temperatura media de 17.6 y 430 mm de precipitación, mientras que de octubre-abril, la temperatura media es de 12.5 °C y una precipitación de 35.5 mm (García, 1981). En el sitio predomina principalmente la especie del género *Quercus* spp, por lo cual el mantillo está formado principalmente por la hojarasca de esta especie y en menor proporción con *Pinus pseudostrobus*.

El material recolectado tenía 4 % de humedad al momento del muestreo, se secó 24 h a 60 °C, trituro y tamizó a través de una malla con abertura de 2 mm. Para determinar la densidad del mantillo triturado se llenó una probeta de 100 mL y se pesó su contenido. La medición se repitió cinco veces. El pH del mantillo se determinó con un potenciómetro, empleando una relación mantillo/agua de 1:5. El porcentaje de carbono (C) del material se midió directamente con un analizador automático de carbono (TOC 5050 Shimadzu) y el nitrógeno (N) con el método de Kjeldahl (Bremmer, 1965). Los contenidos de celulosa, hemicelulosa y lignina, se analizaron mediante el método de fibra detergente ácida y neutra (Segura *et al.*, 2007). Con estos

equipo, but these emissions will depend on the characteristics of organic matter. However, there is no history of the use of this equipment to assess the CO₂ emission in forest soil litter samples with high content of organic matter; so it is important to analyze the feasibility of their use for measuring respiration in these samples.

Consequently, the aim of this study was to generate a standardized operation protocol (PEO, its Spanish acronym) to measure *in vitro* the potential CO₂ emission of litter by using a manometric respirometer (OxiTop OC110).

MATERIALS AND METHODS

For testing we collected only *Quercus* spp forest litter in Tequexquihuac, State of Mexico. The sampling site is located at 2800 m above sea level, the average temperature is 15.6 °C, average annual rainfall is 614 mm and the wettest months are from May to September with an average temperature of 17.6 °C and 430 mm precipitation, while from October to April, the average temperature is 12.5 °C, and 35.5 mm precipitation (García, 1981). The *Quercus* spp genus prevails at the site, so litter is formed mostly by litter from this species and to a lesser extent by *Pinus pseudostrobus*.

The material collected had 4% humidity at the time of sampling, then was dried for 24 h at 60 °C, ground and sieved through a mesh opening of 2 mm. To determine the density of the shredded litter we filled a 100 mL test tube, and its content was weighed. The measurement was repeated five times. The litter pH was determined using a potentiometer and a litter/water ratio of 1: 5. The percentage of carbon (C) of the material was measured directly with an automated carbon analyzer (TOC 5050 Shimadzu), and nitrogen (N) with the Kjeldahl method (Bremmer, 1965). The contents of cellulose, hemicellulose and lignin were analyzed by the method of acid and neutral detergent fiber (Segura *et al.* 2007). With these data we calculated the C/N and lignin/N relations of the experimental material.

To define the parameters of sample quantity and optimal humidity percentage in order to measure litter respiration with OxiTop®, we tested sizes 5, 10, 20 and 40 g of dry biomass of *Quercus* litter which were wetted to reach 20, 40, 60 and 80 % of their dry weight. Therefore, the treatments were 16: combination of four levels of humidity and four sample sizes; and each treatment was replicated three times. Treatment samples were incubated for 10 d at 25 °C (±1 °C) in a MAPSA EC-669 incubator. The wet samples were placed in OxiTop flasks, capped with the sensor heads of the instrument, to which 2.5 g of CO₂ absorbent (sodalime) were added in a tank having its head inside to absorb

datos se calcularon las relaciones C/N y lignina/N del material experimental.

Para definir los parámetros de cantidad de muestra y porcentaje de humedad óptimo para medir la respiración del mantillo con el OxiTop, se probaron tamaños de 5, 10, 20 y 40 g de biomasa seca del mantillo de *Quercus* los cuales se humedecieron para alcanzar 20, 40, 60 y 80 % de su peso seco. Por lo tanto los tratamientos fueron 16: combinación de cuatro niveles de humedad y cuatro tamaños de muestra; y cada tratamiento se repitió tres veces. Las muestras de los tratamientos se incubaron 10 d a 25 °C (±1°C) en una incubadora MAPSA EC-669. Las muestras humedecidas se colocaron en los frascos del OxiTop, se taparon con los cabezales sensores del instrumento, en los cuales se había adicionado 2.5 g de absorbente de CO₂ (Sodalime) en un depósito que posee el cabezal en su interior para absorber el CO₂ generado. El equipo midió la pérdida de presión dentro de los frascos mediante un sensor localizado en el cabezal del equipo; esta pérdida se debe al consumo de oxígeno requerido para la descomposición de la materia orgánica. La descarga de los datos se hizo con un control electrónico externo diseñado para tal efecto.

El diseño experimental fue totalmente al azar. Con los datos de las mediciones de pérdida de presión en el OxiTop se realizó un análisis de variancia (ANDEVA) y las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$; Grigatti *et al.* 2007).

El consumo de oxígeno (mg L⁻¹) se calculó con la Ecuación 1 derivada de la ley general de los gases, considerando la temperatura, la constante universal de los gases, el peso molecular del oxígeno, la cantidad de muestra, el volumen libre de muestra y la pérdida de presión registrada (Veeken *et al.* 2003):

$$Rs = \frac{PM(O_2)}{R * T} * x \frac{V\hat{\sigma}}{mBt} * x |\Delta P| \quad (1)$$

donde Rs es la respiración del suelo (mg L⁻¹), PM(O₂) es el peso molecular del oxígeno (31 998 mg**mol*), R es la constante universal de los gases (83,14 L hPa /K *mol*), T es la temperatura de incubación en grados Kelvin, *Vfr* es el volumen libre de muestra (L), *mBt* es la masa de mantillo (kg), |ΔP| es el cambio de presión en hPa registrado por el sensor localizado en el cabezal de los frascos.

La variable *Vfr* se determina midiendo el volumen de aire dentro del frasco de incubación, para lo cual se usó la Ecuación 2. El volumen total del sistema (*V_T*) fue el volumen del frasco (500 mL) menos el volumen ocupado por la muestra (*V_m*) y el dispositivo (*V_d*) que contiene el absorbente (Sodalime):

$$Vfr = V_T - (Vd + Vm) \quad (2)$$

the CO₂ generated. The equipment measured the pressure loss inside the flasks through a sensor located in the equipment head; this loss is due to the consumption of oxygen required for the decomposition of organic matter. Data downloading was done with an external electronic control designed for this purpose.

The experimental design was completely randomized. With the measurement data of pressure loss in OxiTop we performed an analysis of variance (ANOVA) and compared treatment means using the Tukey test ($p \leq 0.05$; Grigatti *et al.* 2007).

Oxygen consumption (mg L⁻¹) was calculated with Equation 1 derived from the general gas law, considering temperature, the universal gas constant, the molecular weight of oxygen, the amount of sample, the free volume of sample, and the loss of pressure recorded (Veeken *et al.* 2003).

$$Rs = \frac{PM(O_2)}{R * T} * x \frac{V\hat{\sigma}}{mBt} * x |\Delta P| \quad (1)$$

where Rs is the soil respiration (mg L⁻¹), PM (O₂) is the molecular weight of oxygen (31 998 mg**mol*), R is the universal gas constant (83,14 L hPa /K *mol*), T is the incubation temperature in Kelvin degrees, *Vfr* is the free volume of the sample (L), *mBt* is the litter mass (kg), |ΔP| is the hPa pressure change registered by the sensor located in the head jars.

The *Vfr* variable was determined by measuring the volume of air within the incubation flask, for which Equation 2 was used. The system total volume (*V_T*) was the volume of the flask (500 mL) minus the volume occupied by the sample (*V_m*) and the device (*V_d*) containing the absorbent (Sodalime):

$$Vfr = V_T - (Vd + Vm) \quad (2)$$

where *V_T* is the system total volume, *V_d* is the volume occupied by the absorbent and absorbent devices, and *V_m* is the volume occupied by the sample obtained with the mass of the sample litter and its density value. The *V_m* variable is necessary to determine *Vfr*.

Treatments with larger sample amounts (20 and 40 g) and higher humidity content (60 and 80 %) have a higher value *V_m* and lower value of *Vfr*, whereby oxygen availability was a limiting factor in these treatments as every 12 h the oxygen was consumed by respiration; therefore, two vents were made every day to each flask in the treatments. The treatments with fewer litter (5 and 10 g) and lower humidity content (20 and 40 %) also required vents every other day.

The CO₂ was indirectly calculated from the oxygen consumed by the decomposition of the sample through an

donde V_T es el volumen total del sistema, V_d es el volumen ocupado por absorbente y dispositivos del absorbente, y V_m es el volumen ocupado por la muestra obtenido con la masa del mantillo de la muestra y su valor de la densidad. La variable V_m es necesaria para determinar la V_f :

Los tratamientos con mayor cantidad de muestra (20 y 40 g) y mayor porcentaje de humedad (60 y 80 %) tienen una V_m de mayor valor y un menor valor de V_f , por lo cual la disponibilidad de oxígeno fue una limitante en estos tratamientos, ya que cada 12 h el oxígeno se consumía por la respiración; por lo tanto, se hicieron dos ventilaciones cada día a cada frasco en estos tratamientos. En los tratamientos con menor cantidad de mantillo (5 y 10 g) y porcentaje de humedad (20 y 40 %), también requirieron ventilaciones cada tercer día.

El CO_2 se calculó indirectamente a partir del oxígeno consumido por la descomposición de la muestra mediante una operación basada en la estequiometría de la ecuación en la que participan el oxígeno, carbono y el bióxido de carbono, los cuales componen la fórmula química de la respiración. La formación de una molécula de CO_2 requiere una molécula de C y una molécula de O_2 . A partir del oxígeno consumido se calculó la cantidad de CO_2 emitido por la descomposición (Ecuación 3) y para este cálculo se usaron los pesos equivalentes del O_2 (8 eq g) y del CO_2 (22 eq g). El cálculo de la cantidad de CO_2 se realizó con base en la cantidad de muestra en cada tratamiento y se extrapoló a unidades de mg kg^{-1} de muestra:

$$\text{CO}_2 = \left[\frac{\text{O}_2}{\text{PE O}_2 (\text{eq gr})} \right] / \text{PE}(\text{CO}_2) (\text{eq gr}) \quad (3)$$

donde (O_2) es la cantidad de oxígeno consumido en la incubación (mg kg^{-1}), PE O_2 es el peso equivalente del oxígeno, PE CO_2 es el peso equivalente del bióxido de carbono.

La tasa de respiración diaria se determinó con base en las líneas de tendencia generadas con la cantidad de CO_2 emitido en los 10 d de incubación. El porcentaje de C convertido en CO_2 en el tiempo de incubación, se calculó de la cantidad total de C en el mantillo al iniciar el experimento. La tasa de respiración diaria y el porcentaje de C se emplearon como los indicadores de las mejores condiciones de humedad y cantidad de muestra de mantillo necesarias para obtener el valor de la mayor respiración, medida por el OxiTop con la menor variación en los resultados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El mantillo de *Quercus* molido tuvo densidad de 0.34 g cm^{-3} y pH de 4.9. La concentración de C

operation based on the stoichiometry of the equation in which the oxygen, carbon and carbon dioxide comprising the chemical formula of respiration are involved. The formation of a molecule of CO_2 requires a C molecule and an O_2 molecule. As of the amount of oxygen consumed CO_2 emitted by decomposition (Equation 3) was calculated using equivalent weights of O_2 (8 eq g) and CO_2 (eq 22 g). The amount of CO_2 was calculated based on the amount of sample in each treatment, and extrapolated to units of mg kg^{-1} sample:

$$\text{CO}_2 = \left[\frac{\text{O}_2}{\text{PE O}_2 (\text{eq gr})} \right] / \text{PE}(\text{CO}_2) (\text{eq gr}) \quad (3)$$

where (O_2) is the amount of oxygen consumed in the incubation (mg kg^{-1}), PE O_2 is the equivalent weight of oxygen, CO_2 PE is the equivalent weight of carbon dioxide.

The daily respiration rate was determined based on the trend lines generated with the amount of CO_2 emitted in the 10 d of incubation. The percentage of C converted into CO_2 during incubation was calculated from the total amount of C in the litter at the start of the experiment. The daily respiration rate and the percentage of C were used as indicators of the best humidity conditions and sample amount of litter needed to obtain the value of the greater respiration, measured by OxiTop® with less variation in the results.

RESULTS AND DISCUSSION

Ground *Quercus* litter had density of 0.34 g cm^{-3} and pH of 4.9. The concentration of total C was 45 % and total N 0.8 %, similar values to those reported by Gómez-Díaz *et al.* (2012). The C/N ratio of litter was 52, indicating a high amount of C resulting from the incipient mineralization of organic matter (Carmona *et al.*, 2006). The litter analyzed showed a higher concentration of cellulose (52 %) than hemicellulose (9 %) and lignin (1.1 %) and lignin /N ratio was 0.95, indicating a low level of litter decomposition (Yanni *et al.*, 2011).

CO_2 emission

The CO_2 emission of *Quercus* litter registered by the OxiTop® team for the four sample sizes and four percentages of humidity is presented in Table 1. The emission of this greenhouse gas for the different sample sizes of litter was significantly different at the tenth day of incubation. The humidity

total fue 45 % y de N total 0.8 %, valores similares a los reportados por Gómez-Díaz *et al.* (2012). La relación C/N del mantillo fue 52, indicando una cantidad alta de C producto de una incipiente mineralización del material orgánico (Carmona *et al.*, 2006). El mantillo analizado presentó una mayor concentración de celulosa (52 %) que de hemicelulosa (9 %) y lignina (1.1 %) y la relación lignina/N fue 0.95, lo cual indica un nivel bajo de descomposición del mantillo (Yanni *et al.*, 2011).

Emisión de CO₂

La emisión de CO₂ del mantillo de *Quercus*, registrada por el equipo OxiTop para los cuatro tamaños de muestras y cuatro porcentajes de humedad, se presenta en el Cuadro 1. La emisión de este gas de efecto invernadero por los distintos tamaños de muestra de mantillo fue significativamente diferente al décimo día de incubación. El porcentaje de humedad no incidió en la emisión de CO₂ (consumo de oxígeno) en los primeros 7 d de incubación; sin embargo, en los tres últimos días, hubo diferencias significativas entre tratamientos por efecto de los niveles de humedad, como se explica más adelante en esta sección. La mayor emisión de CO₂ la presentó el tamaño de muestra de 10 g de mantillo con 60 y 80 % de humedad.

percentage did not affect the emission of CO₂ (oxygen consumption) in the first 7 d of incubation; however, in the last three days, there were significant differences between treatments due to the effect of moisture, as explained later in this section. The 10 g litter sample with 60 and 80 % humidity recorded the highest CO₂ emission.

Figure 1 shows the effect of the sample size and humidity content of *Quercus* litter on cumulative CO₂ emissions. Samples of 40 g recorded lower CO₂ emissions than those of 5 and 10 g, as well as those with 20 % humidity; however there was interaction with humidity. It is likely that at a smaller proportion of substrate the microorganisms responsible for degradation compete more effectively for the available power source, releasing more CO₂.

Increased microbial activity would require more water, which would explain the fact that the treatments with 40 and 60 % had the highest CO₂ emission. This would be supported by the interaction observed between these two variables (Figure 1).

When 40 g of litter were used with 80 % humidity, CO₂ emission was less than half that of the best treatment (10 g and 60 % humidity) and this difference was attributed to the larger volume occupied by the sample (40 g treatment) in the incubation flasks (*V_m*), which reduced the amount of oxygen available and consequently the CO₂ released.

Cuadro 1. Emisión acumulada de CO₂ proveniente de mantillo de *Quercus* incubado en el equipo OxiTop.
Table 1. Accumulated emission of CO₂ *Quercus* litter incubated in the OxiTop equipment.

Variable		Días de incubación CO ₂ acumulado (mg kg ⁻¹)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Peso (g)	5	1517 B [†]	3535 B	5253 B	6616 B	8144 B	9543 B	10805 B	11887 B	12919 B	14245 B
	10	1599 B	4374 A	7850 A	9171 A	11633 A	13374 A	14806 A	16229 A	17663 A	19046 A
	20	1752 A	3057 C	3176 C	3448 C	5328 C	7058 C	8702 C	9741 C	10330 C	10539 C
	40	1333 C	1970 D	2655 C	3032 C	3837 D	4238 D	4919 D	5965 D	6597 D	7156 D
	DMS [‡]	119	370	618	524	583	636	739	893	1063	1222
Humedad (%)	20	450 C	1068 C	1957 C	2488 C	3297 C	3999 C	4655 C	5207 D	5695 D	6167 D
	40	1368 B	3053 B	4295 B	5237 B	6707 B	8036 B	9386 B	10603 C	11709 C	12910 C
	60	2206 A	4446 A	6469 A	7435 A	9646 A	11321 A	12941 A	14484 A	15688 A	16586 A
	80	2178 A	4369 A	6214 A	7107 A	9293 A	10857 A	12248 A	13528 B	14419 B	15324 B
	DMS	119	370	618	524	583	6369	739	893	1063	1222

[†]Medias con letra diferente son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) ♦ Means with different letter are statistically different.

[‡]DMS: Diferencia mínima significativa ♦ DMS: Least significant difference.

La Figura 1 muestra el efecto de el tamaño de la muestra y el porcentaje de humedad del mantillo de *Quercus* sobre la emisión de CO_2 acumulada. Las muestras de 40 g tuvieron menor emisión de CO_2 que las de 5 y 10 g, así como aquellas con 20 % de humedad, aunque hubo interacción con la humedad. Es probable que a una menor proporción de sustrato los microorganismos encargados de la degradación compiten más efectivamente por la fuente de energía disponible, liberando mayor cantidad de CO_2 . Una mayor actividad microbiana demandaría mayor cantidad de agua, lo cual explicaría que los tratamientos con 40 y 60 % tuvieran la mayor emisión de CO_2 . Esto estaría avalado por la interacción observada entre estas dos variables (Figura 1).

Cuando se empleó 40 g de mantillo con 80 % de humedad, la emisión de CO_2 fue menos de la mitad de la alcanzada con el mejor tratamiento (10 g y 60 % humedad) y esta diferencia se atribuyó al mayor volumen que ocupaban esta muestra (tratamiento de 40 g) en los frascos de incubación (V_m), lo cual disminuía el volumen de oxígeno disponible y en consecuencia el CO_2 liberado. De igual forma, las muestras de tamaño de 20 g no generaban señales electrónicas adecuadas al aparato que mide el consumo de oxígeno, lo que se tradujo en bajas emisiones de CO_2 . Así, es evidente que a mayor porcentaje de humedad había mayor emisión de CO_2 , pero con porcentajes altos de humedad (80 %) hubo

Similarly, samples of 20 g size did not generate the appropriate electronic signals to the device that measures oxygen consumption, which resulted in low CO_2 emissions. Therefore, it is obvious that the higher the humidity content, the higher the CO_2 emission, but the high percentages of humidity (80 %) led to low CO_2 emissions due to saturation of the sample pores that would limit the oxygen available. Ahn *et al.* (2008) measured oxygen consumption in different composts with different humidity contents and found that oxygen consumption decreased with percentages close to 80 %. These authors concluded that with values close to the humidity saturation point of samples respiration diminished. In materials with high content of organic matter, the rate of oxygen consumption depends on humidity and temperature conditions and properties of the plant material (Guerrero *et al.*, 2012).

OxiTop equipment is highly sensitive to pressure changes within the incubation flasks; however, we observed that the continuous opening required for the renewal of oxygen was not a problem for measurement, because the instrument measures changes in pressure and not pressure itself. The abnormalities observed in the measurements of treatments with 20 and 40 g of litter resulted from the fact that with this sample size, the volume occupied by the samples of litter in the incubation bottle caused a reduction 18 and 35 % of the total

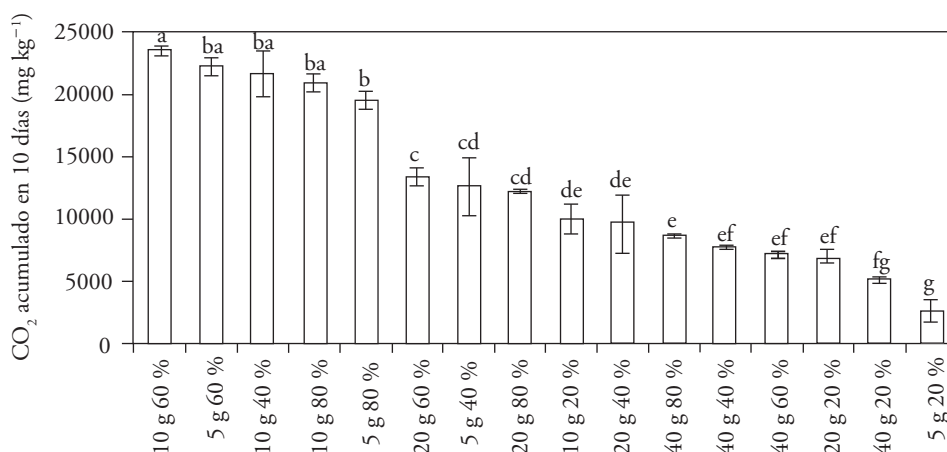


Figura 1. Emisión de CO_2 por los tratamientos. Las barras verticales representan el valor de la desviación estándar. Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Figure 1. Emission of CO_2 by the treatments. Vertical bars represent the standard deviation value. Means with different letter are statistically different ($p \leq 0.05$).

bajas emisiones de CO₂ debido a una saturación de los poros de la muestra que limitaría el oxígeno disponible. Ahn *et al.* (2008) midieron el consumo de oxígeno en distintas compostas con diferentes contenidos de humedad y observaron que el consumo de oxígeno disminuía con porcentajes cercanos a 80 %. Estos autores concluyeron que con valores cercanos al punto de saturación de humedad de las muestras la respiración disminuye. En materiales con contenido alto de materia orgánica, la tasa de consumo de oxígeno es función de las condiciones de humedad y temperatura y de las propiedades del material vegetal (Guerrero *et al.*, 2012).

El equipo OxiTop posee una alta sensibilidad a los cambios de presión en el interior de los frascos de incubación; sin embargo, la apertura continua requerida para la renovación de oxígeno no fue un problema para la medición, porque el instrumento mide los cambios de presión y no la presión absoluta. Las anomalías observadas en las mediciones de los tratamientos con 20 y 40 g de mantillo se debió a que con ese tamaño de muestra, el volumen que ocupan la muestras de mantillo en el frasco de incubación causan una reducción de 18 y 35 % del total del volumen inicial del frasco (500 mL) para las muestras de 20 y 40 g, alterando así el volumen programado para el cálculo. En contraste, en los tratamientos con 5 y 10 g sólo 5 y 10 % del volumen inicial total disponible en el frasco es ocupado por mantillo, por lo cual el volumen libre de muestra fue más cercano al teórico.

Tasas de emisión de CO₂

La tasa de emisión de CO₂ (mg CO₂ kg⁻¹ d⁻¹) por la descomposición del mantillo se muestra en el Cuadro 2. El comportamiento de esta variable fue el mismo observado para la emisión de CO₂ (Figura 1), esto es, el peso y el porcentaje de humedad de la muestra influyeron en la tasa diaria de emisión de CO₂ del mantillo. La mayor tasa de emisión de CO₂ se presentó con 10 g de mantillo con 60 % de humedad y en todos los tratamientos la tasa aumentaba hasta alcanzar 60 % de humedad, pero se reducía con 80 % de humedad. En consecuencia, con más de 60 % la humedad se alcanza una situación cercana a al punto de saturación de humedad, lo que repercute en el oxígeno disponible en la muestra (Cuadro 2).

initial volume of the flask (500 mL) for samples of 20 and 40 g, thus altering the volume programmed for calculation. In contrast, in treatments with 5 and 10 g only 5 to 10 % of the initial total volume available in the bottle was filled by litter, whereby the free volume was closer to the theoretical.

CO₂ emission rates

The emission rate of CO₂ (mg CO₂ kg⁻¹ d⁻¹) from the decomposition of litter is shown in Table 2. The behavior of this variable was the same observed in CO₂ emissions (Figure 1), that is, weight and humidity content of the sample influenced the daily CO₂ emission rate of litter. The highest rate of CO₂ was observed in 10 g of compost with 60 % humidity and in all treatments the rate increased to reach 60 % humidity, but declined with 80 % humidity. Consequently, with more than 60 % humidity a situation close to the moisture saturation point was reached, which affected the oxygen available in the sample (Table 2).

Cuadro 2. Tasa de emisión de CO₂ de mantillo de *Quercus* incubado en OxiTop y C oxidado con respecto al total inicial.

Table 2. Rate of CO₂ emission of *Quercus* litter incubated in OxiTop and oxidized C respect to the initial total.

Tamaño de muestra (g)	Humedad (%)	Tasa de emisión de CO ₂ mg CO ₂ kg ⁻¹ d ⁻¹		C inicial oxidado %	
		Media	DE*	Media	DE
5	20	261	±33	0.58	±0.20
	40	1259	±72	2.81	±0.53
	60	2227	±184	4.97	±0.16
	80	1950	±68	4.35	±0.17
10	20	1003	±78	2.24	±0.27
	40	2166	±77	4.83	±0.41
	60	2355	±238	5.26	±0.07
	80	2094	±15	4.67	±0.15
20	20	689	±120	1.54	±0.12
	40	965	±234	2.15	±0.52
	60	1338	±12	2.99	±0.17
	80	1223	±13	2.73	±0.03
40	20	512	±29	1.14	±0.06
	40	774	±53	1.73	±0.03
	60	713	±27	1.59	±0.06
	80	863	±89	1.93	±0.03

*DE: Desviación estándar ♦ DE: Standard deviation.

Porcentaje de carbono oxidado en el proceso de incubación

El porcentaje de carbono emitido durante el proceso de incubación con respecto al contenido total de presente en el mantillo de *Quercus* antes de la incubación, tuvo el mismo comportamiento reportado para la emisión de CO₂ (Figura 1) y las tasas de descomposición (Cuadro 2). La cantidad de 10 g con 60 % de humedad fue el tratamiento con mayor porcentaje de emisión por las mejores condiciones de humedad y disponibilidad de oxígeno. Además, los tratamientos con 40 g del mantillo, independientemente del contenido de humedad de la muestra (20, 40, 60 y 80 %), presentaron los menores porcentajes de carbono emitido, debido al tamaño de la muestra y la limitación del oxígeno en la incubación, cómo ya se explicó anteriormente.

Las emisiones de CO₂ obtenidas con el OxiTop son similares a las de otros estudios en los cuales se mide la emisión de CO₂ por la capa de mantillo con métodos distintos al actual. Así, Carmona *et al.* (2006) midieron emisiones de CO₂ en mantillo de bosques templados de Chile por el método de absorción alcalina, observando valores de 1200 a 1600 mg CO₂ por g de muestra durante 12 d de incubación. Los datos reportados en este estudio (Cuadro 1) son mayores, debido principalmente a que las muestras de mantillo se trituraron para homogeneizar la muestra y se humedecieron uniformemente, lo cual incrementó las emisiones de CO₂.

Ajay *et al.* (2008) midieron el consumo de oxígeno en compostas con diferentes valores de relación C/N. Los valores de la evolución de CO₂ fueron de 3000 a 3500 mg g⁻¹ d⁻¹ para muestras con valores de relación C/N de 30 y 38, muy cercanos al resultado de este indicador en el mantillo de *Quercus* utilizado en el presente experimento.

CONCLUSIONES

El equipo OxiTop OC fue útil para medir de la emisión de CO₂ de muestras de mantillo de especies forestales. Sin embargo es necesario controlar la cantidad y condiciones de humedad de la muestra con objetivo de alcanzar una oxidación alta con el nivel de oxígeno disponible en el recipiente cerrado del equipo.

Percentage of oxidized carbon in the incubation process

The percentage of carbon emitted during the incubation process with respect to the total content present in *Quercus* litter before incubation reflected the same behavior reported for CO₂ emissions (Figure 1) and decay rates (Table 2). The amount of 10 g with 60 % humidity was the treatment with the highest percentage emission due to the optimum conditions of humidity and oxygen availability. In addition, treatments with 40 g of litter, regardless of the sample's humidity content (20, 40, 60 and 80 %) had the lowest percentages of carbon emitted due to sample size and limited oxygen during incubation, as previously explained.

The CO₂ emissions obtained with the OxiTop equipment are similar to other experiments in which the emission of CO₂ is measured examining the litter layer with methods other than the current one. Thus, Carmona *et al.* (2006) measured CO₂ emissions of litter from temperate forests in Chile by using the alkaline absorption method, recording values of 1200 to 1600 mg CO₂ per g of sample during 12 d of incubation. The data reported in this study (Table 1) are higher mainly because litter samples were ground to homogenize the sample, and wetted uniformly, which increased CO₂ emissions.

Ajay *et al.* (2008) measured the oxygen consumption in composts with different values of C/N ratio. The values of CO₂ evolution were 3000-3500 mg g⁻¹ d⁻¹ for samples with values of C/N ratio of 30 and 38, very close to the result of this indicator in the *Quercus* litter used in the present study.

CONCLUSIONS

The OxiTop OC equipment was useful for measuring the CO₂ emission from litter samples of forest species. However, it is necessary to control the amount and water content of the sample in order to achieve high oxidation with the oxygen available in the closed container of the equipment.

In samples with carbon contents near 50 %, as in the litter of forest species, the use of small amounts of sample for 500 mL flasks is critical. The sample must not occupy more than 10 % of the total volume of the bottle so that the measure does not suffer any alteration due to oxygen limitation.

En muestras con contenidos de carbono cercanos a 50 %, como en el mantillo de especies forestales, se debe usar cantidades pequeñas de muestra para los frascos de 500 mL del equipo. La muestra no debe de ocupar más de 10 % del volumen total del frasco para que la medición no sufra una alteración por la limitación de oxígeno. Se recomienda pesar 10 g de mantillo con un contenido de humedad del 60 % para eliminar interferencias en la medición de CO₂ emitido por la descomposición del mantillo.

La metodología desarrollada sirve para comparar la emisión relativa de CO₂ por descomposición del mantillo y capas orgánicas de diferentes suelos forestales. Las tasas de descomposición medidas en corto tiempo fueron muy parecidas a las reportadas en otros estudios realizados con diferentes métodos. Además, la generación de datos es sencilla, lo cual facilitaría obtener información de las emisiones reales de GEI una vez calibrado con datos de campo.

The recommendation is to weigh 10 g of litter with 60 % humidity to eliminate interferences in the measurement of CO₂ released by the decomposition of litter.

The methodology employed is useful to compare the relative CO₂ emissions from the decomposition of litter and organic layers of different forest soils. The decomposition rates obtained in a short time were very similar to those reported by other studies using different methods. In addition, data generation is simple, which may facilitate access to information on actual GHG emissions once calibrated with field data.

—End of the English version—

-----*-----

LITERATURA CITADA

- Acosta, Y., J. Cayama, E. Gómez, N. Reyes, D. Rojas, y H. García. 2006. Respiración microbiana y prueba de fitotoxicidad en el proceso de compostaje de una mezcla de residuos orgánicos. *Multiciencias* 6: 220-227.
- Ahn, H. K., T.L. Richard, and T. D. Glanville. 2008. Optimum moisture levels for biodegradation of mortality composting envelope materials. *Waste Manage.* 28: 1411-1416.
- Alhamd, L., S. Arakaki, and A. Hagihara. 2004. Decomposition of leaf litter of four tree species in a subtropical evergreen broad-leaved forest, Okinawa Island, Japan. *For. Ecol. Manage.* 202: 1-11.
- Ajay, S. K., M. Pasha, and A. A. Kazmi. 2008. Stability evaluation of compost by respiration techniques in a rotary drum composter. *Resources Conserv. Recycl.* 52: 829-834.
- Avilés-Hernández, V., A. Velázquez-Martínez, G. Angeles-Pérez, J. Etchevers-Barra, H. De los Santos-Posadas, y T. Llanderal. 2009. Variación en almacenes de carbono en suelos de una toposecuencia. *Agrociencia* 43: 457-464.
- Báez P., A., J. D. Etchevers B., M. Haulon, G. Werner, G. Flores, y C. I. Hidalgo M. 2009. Pérdida de carbono por erosión hídrica y emisiones de CO₂ en tepetates habilitados para la agricultura. *In: Gallardo L., J. F. (coord). Emisiones de Gases con Efecto Invernadero en Ecosistemas Iberoamericanos. Sociedad Iberoamericana de Física y Química Ambiental.* pp: 25-48.
- Black, K., T. Bolger, T. Davis, M. Nieuwenhuis, B. Reidy, G. Saiz, B. Tobin, and B. Osborne. 2007. Inventory and eddy covariance-based estimates of annual carbon sequestration in a Sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr) forest ecosystem. *Eur. J. For. Res.* 126: 178.
- Bremmer, J. M. 1965. Total nitrogen. *In: Black, C. A. (ed). Methods of Soil Analysis part 2 agronomy.* 9: 1149-1178. American Society of Agronomy, Madison Wisconsin.
- Byoung-Hwa, L., and M. Scholz. 2007. What is the role of *Phragmites australis* in experimental constructed wetland filters treating urban runoff? *Ecol. Eng.* 29: 87-95.
- Carmona, R.M., M. Aguilera, C. Pérez A., e I. Serey. 2006. Actividad respiratoria en el horizonte orgánico de suelos de ecosistemas forestales del centro y sur de Chile. *Gayana Bot.* 63: 1-12.
- Cruz-Flores, G., y J. D. Etchevers-Barra. 2011. Contenidos de carbono de suelos someros en pinares y abetales de áreas protegidas de México. *Agrociencia* 45: 849-862.
- Etchevers B., J. D., O. Masera, C. Ballbontín, D. Gómez D., A. Monterroso, R. Martínez, M. Acosta, M. Martínez, and C. Ortiz. 2006. Soil carbon sequestration in Mexico and Central America (Biome A). *In: Lal, R., C. C. Cerri, M. Bernoux, J. Etchevers and E. Cerri (eds). Carbon Sequestration in Soils of Latin America.* Howarth Press, Inc. New York, USA. pp. 119-146.
- García, E. 1981. Modificación al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 3ra edición, Ed. Indianápolis. 243 p.
- García R., S., S. Espinoza B., E. García C., y F. Gallardo L. 2006. Reservas de carbono orgánico y de fracciones húmicas en vertisol sometido a siembra directa. *Terra Latinoam.* 24: 241-251.
- Gómez-Díaz, J. D. A. Monterroso-Rivas, J. Tinoco-Rueda, y J. D. Etchevers-Barra. 2012. Almacenes de carbono en el piso forestal de dos tipos de bosque. *Terra Latinoam.* 30: 177-187.
- Grigatti, M., M. Dios P., B. Wim J. C. Ciavatta, and A. Veeken. 2007. A standardized method for the determination of the intrinsic carbon and nitrogen mineralization capacity of natural organic matter sources. *Soil Biol. Biochem.* 39: 1493-1503.
- Guerrero O., P.L., R. Quintero L., V. Espinosa H., G. S. Benedicto V., y M. J. Sánchez C. 2012. Respiración de CO₂ como indicador de la actividad microbiana en abonos orgánicos de *Lupinus*. *Terra Latinoam.* 30: 355-362.

- Haapea, P., and T. Tuhkanen. 2006. Integrated treatment of PAH contaminated soil by soil washing, ozonation and biological treatment. *J. Hazardous Materials* 136: 244-250.
- IPPC. 2007. Cambio climático 2007: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio, IPCC. Ginebra, Suiza. 104 p.
- Janssens, A.I., A. Kowalski S., and R. Ceulemans. 2001. Forest floor CO₂ fluxes estimated by eddy covariance and chamber-based model. *Agric. For. Meteorol.* 106: 61-69.
- Jonasson, S., A. Castro, and A. Michelsen. 2004. Litter, Warming and plants affect respiration and allocation of soil microbial and plant C, N and P in arctic mesocosms. *Soil Biol. Biochem.* 36: 1129-1139.
- Jonathan, G. M., and P. Bolstad V. 2009. Variation of soil respiration at the three spatial scales: components within measurements, intra-site variation and patterns on the landscape. *Soil Biol. Biochem.* 41: 530-543.
- Kalamdhad, A. S., A. Muner P., and A. Kazmi. 2008. Stability evaluation of compost by respiration techniques in a rotary drum composter. *Resources, Conserv. Recycl.* 52: 829-834.
- Lusk, H. C., C. Donoso, M. Jiménez, C. Moya, G. Oyarce, R. Reinoso, A. Saldaña, P. Villegas y F. Matus. 2001. Descomposición de hojarasca de *Pinus radiata* y tres especies arbóreas nativas. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 705-710.
- Ono, K., H. Keizo, M. Sayaka, O. Kenji, and H. Syuntaro. 2009. Organic carbon accumulation processes on a forest floor during an early humification stage in a NMR and their decomposition rates from litter bag experiment. *Geoderma* 151: 351-356.
- Reid J. B., J. A. MacLeod, H. P. Lee, W. J. A. Morris, D. J. Stokes, and T. K. Semple. 2001. A simple ¹⁴C-respirometric method for assessing microbial catabolic potential and contaminant bioavailability. *FEMS Microbiol. Lett.* 196:141-146.
- Rodionow A., H. Flessa, O. Kazansky, and G. Guggenberger. 2006. Organic matter composition and potential trace gas production of permafrost soils in the forest tundra in northern Siberia. *Geoderma* 135: 49-62.
- Segura S. F., F. R. Echeverri, L. A. Patiño C., y A. I. Mejía G. 2007. Descripción y discusión acerca de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* 14: 72-81.
- Veeken, A. H. M., V. Wilde, and H. V. M. Hamelers 2003. OxiTop® measuring system for standardised determination of the respiration rate and N mineralization rate of organic matter in waste material, compost and soil. Department of Environmental Technology, Wageningen University & NMI, Netherlands.
- Westermann, D. T., and E. Crothers S. 1980. Measuring soil nitrogen mineralization under field condition. *Agron. J.* 72:1009-1012.
- Yanni, F. S., J. Whalen K., M. Simpson J., and H. Henry J. 2011. Plant lignin and nitrogen contents control carbon dioxide production and nitrogen mineralization in soils incubated with Bt and no Bt Corn residues. *Soil Biol. Biochem.* 43: 63-69.