



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE POSTGRADO

LIXIVIACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO DISUELTO EN SISTEMAS DE ROTACIÓN MAÍZ-CULTIVOS DE CUBIERTA Y FERTILIZACIÓN NITROGENADA INORGÁNICA

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniera Agrónoma y al Grado de
Magíster en Manejo de Suelos y Aguas

LILIANA BALBOA CABRERA

Directores de Tesis
Osvaldo Salazar Guerrero
Miguel Quemada Sáenz-Badillos

Profesores Consejeros
Yasna Tapia Fernández
Oscar Seguel Seguel

SANTIAGO - CHILE
2019

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

LIXIVIACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO DISUELTO EN SISTEMAS DE
ROTACIÓN MAÍZ–CULTIVOS DE CUBIERTA Y FERTILIZACIÓN
NITROGENADA INORGÁNICA

LEACHING OF DISSOLVED ORGANIC CARBON IN MAIZE-COVER CROPS
ROTATION SYSTEMS WITH NITROGEN INORGANIC FERTILIZATION

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de
Ingeniera Agrónoma y al Grado de Magíster en Manejo de Suelos y Aguas

LILIANA PATRICIA BALBOA CABRERA

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
DIRECTORES DE TESIS		
Oswaldo Salazar Guerrero Ingeniero Agrónomo, MS, Ph.D.	7,0	7,0
Miguel Quemada Sáenz-Badillos Ingeniero Agrónomo, Ph.D.	6,5	6,5
PROFESORES CONSEJEROS		
Yasna Tapia Fernández Ingeniero en Alimentos, MS, Ph.D.	6,8	6,8
Oscar Seguel Seguel Ingeniero Agrónomo, MS. Ph.D.	6,6	6,6

Santiago, Chile
2019

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

A mis abuelas, por sus luchas y valores que trenzaron generaciones envueltas en perseverancia, resiliencia y un amor infinito por la vida y la naturaleza.

Tantas lunas escribiendo cuando casi al final del ciclo vuelve a mis recuerdos una larga lista de personas que aún me falta por agradecer, lo primero que pienso es en cantar sus nombres uno a uno, luego me digo, no se me vaya a escapar aunque sea un suspiro. Todo a su momento dicen, más yo me adelanto y les confieso desde ahora y para siempre lo afortunada que me siento de habernos encontrado.

Entre tanto ser especial surge en mí la última mención dedicada a mi padre y mi madre, por su incondicional cariño y dedicación, y a mi hermana, compañera de juegos y de vida, aquí y en cualquier realidad nos espera un mundo de aprendizajes y crecimiento.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
HIPÓTESIS.....	6
OBJETIVOS	6
Objetivo general	6
Objetivos específicos	6
MATERIALES Y MÉTODOS	7
Ubicación del estudio.....	7
Material biológico	7
Tratamientos y diseño experimental	8
Manejo de los experimentos	10
Establecimiento	10
Fechas de manejo y siembra	12
Variables medidas	14
Análisis de lixiviados	14
Caracterización del agua de riego	16
Caracterización inicial del suelo	16
Análisis estadístico.....	16
RESULTADOS.....	17
Experimento 1: Columnas de suelo.....	17
Biomasa.....	17
Concentración de carbono orgánico disuelto lixiviado.....	20
Relación C:N.....	21
Grado de humificación de los lixiviados.....	22
Percolación de agua de riego.....	23
Balance hídrico.....	25
Carga	26
Experimento 2: Parcelas de campo	28
Concentración de carbono orgánico disuelto, relación C:N y grado de humificación de los lixiviados	28
DISCUSIÓN	30

Experimento 1: Columnas de suelo.....	30
Biomasa.....	30
Análisis de lixiviados: Concentración de carbono orgánico disuelto, relación C:N y grado de humificación.....	32
Percolación de agua de riego y balance hídrico	37
Carga	39
Experimento 2: Parcelas de campo	41
Concentración, relación C:N y grado de humificación de los lixiviados.....	41
CONCLUSIONES	43
LITERATURA CITADA.....	44
APÉNDICES.....	54
ANEXOS	66

RESUMEN

Existe actualmente una limitada comprensión y cuantificación de la información asociada al potencial efecto del uso de cultivos de cubierta (CC) en las pérdidas de carbono orgánico disuelto (COD) desde suelos cultivados con maíz bajo condiciones Mediterráneas. El objetivo del estudio es contribuir al conocimiento y parametrización de las consecuencias que involucra la inclusión de CC junto a la fertilización con nitrógeno inorgánico (FN) en las pérdidas de COD desde suelos cultivados, con el fin de reducir su impacto sobre la calidad del agua. El estudio abarcó dos escalas distintas: i) columnas de suelo de PVC (0,2 m de diámetro, 0,5 m de largo) ubicadas en un invernadero con temperatura controlada (25°C); y ii) microparcels (2,65 x 4 m²), ambas situadas en la Estación Experimental Antumapu, Santiago, Chile (33°34'S, 70°38'W), que presenta un suelo clasificado como Entic Haploxeroll. Se analizó un total de 13 tratamientos con 4 repeticiones, donde fue evaluada la lixiviación de COD desde: 1) barbecho permanente (F-F) comparado con CC continuos de *Lolium multiflorum* (Lm) o *Trifolium repens* (Tr) más la aplicación de 0 o 150 kg N ha⁻¹ y; 2) rotaciones de maíz (Zm) compuestas por Zm-F y Zm-CC (Lm y/o Tr) con distintas dosis de FN (250 o 400 kg N ha⁻¹). Se realizó un seguimiento en las columnas de suelo durante un período de 2 años (agosto de 2015 a septiembre de 2017), mientras que las microparcels fueron evaluadas en la temporada invernal 2017. Los resultados obtenidos en las columnas de suelo revelaron que: 1) los tratamientos con Tr presentaron las menores cargas acumuladas de COD (80 kg C ha⁻¹), mientras que F-F mostró la mayor carga acumulada de COD (118 kg C ha⁻¹) en el periodo total de estudio; 2) la rotación Zm_{250N}-F obtuvo la mayor carga acumulada de COD (128 kg ha⁻¹), a diferencia de Zm_{250N}-Lm+Tr que alcanzó una carga de COD significativamente más baja (89 kg C ha⁻¹) al final de tres temporadas de estudio; 3) en las microparcels: Lm_{150N}-Lm generó la concentración más alta de COD (127 mg C L⁻¹), diferenciándose significativamente de Tr_{150N}-Tr (51 mg C L⁻¹) y Lm_{0N}-Lm (46 mg C L⁻¹); la rotación Zm_{400N}-Lm+Tr (72 mg C L⁻¹) superó ampliamente a Zm_{400N}-F (17 mg C L⁻¹). Los resultados obtenidos en las columnas de suelo podrían reflejar el efecto de la mayor acumulación de biomasa sobre la regulación de la cantidad de agua percolada, implicando menores pérdidas de COD por lixiviación. Adicionalmente, en las microparcels la presencia de Lm asociada a una alta dosis de FN por sistema pudo haber estimulado la absorción de N, implicando el aumento del crecimiento vegetal y la traslocación de COD al suelo, reflejando además una alta relación C:N. En conclusión, ante la presencia de CC la lixiviación de COD se ve afectada principalmente por la mayor acumulación de biomasa en respuesta a una correcta combinación de especies y FN, lo cual sugiere el estímulo de la actividad microbiana en beneficio del sistema de cultivo.

Palabras clave: Prácticas sustentables; Contaminación difusa; Sustancias lábiles.

ABSTRACT

There is currently a limited understanding and quantification of the potential effects of cover crops (CC) on losses of dissolved organic carbon (DOC) from soils grown with maize under Mediterranean conditions. The objective of the study is to contribute to the knowledge and parameterization of the consequences involved in the inclusion of CC with inorganic nitrogen fertilization (NF) in the DOC losses from cultivated soils, to reduce its impact on the water quality. The study was carried out in two different scales: i) PVC soil columns (0.2 m in diameter, 0.5 m in length) located in a greenhouse with controlled temperature (25 ° C); and ii) microplots (2.65 x 4.00 m), both located at the Antumapu Experimental Station, Santiago, Chile (33 ° 34'S, 70 ° 38'W), which has a soil classified as Entic Haploxeroll. A total of 13 treatments were analyzed, each with 4 repetitions where DOC leaching was evaluated from: 1) permanent fallow (F-F) compared to continuous CC of *Lolium multiflorum* (*Lm*) or *Trifolium repens* (*Tr*) plus the application of 0 or 150 kg N ha⁻¹ and; 2) maize rotations (*Zm*) composed of *Zm*-F and *Zm*-CC (*Lm* and/or *Tr*) with two different doses of N (250 or 400 kg N ha⁻¹). The soil columns were monitored during a period of 2 years (August 2015 to September 2017), while the microplots were evaluated in the winter season 2017. The results obtained in the soil columns showed that: 1) treatments with *Tr* presented the lowest cumulative loads of DOC (80 kg C ha⁻¹), while F-F showed the highest cumulative load of DOC (118 kg C ha⁻¹) in the total period of study; 2) the rotation *Zm*_{250N}-F obtained the highest cumulative load of DOC (128 kg ha⁻¹), unlike *Zm*_{250N}-*Lm*+*Tr* which showed a significantly lower COD load (89 kg C ha⁻¹) at the end of three seasons of study; 3) in the microplots: *Lm*_{150N}-*Lm* generated the highest concentration of DOC (127 mg C L⁻¹), significantly differentiating from *Tr*_{150N}-*Tr* (51 mg C L⁻¹) and *Lm*_{0N}-*Lm* (46 mg C L⁻¹); the rotation *Zm*_{400N}-*Lm*+*Tr* (72 mg C L⁻¹) greatly exceeded *Zm*_{400N}-F (17 mg C L⁻¹). The results obtained in the soil columns could reflect the effect of the greater accumulation of biomass regulating the amount of percolated water, implying lower losses of DOC by leaching. Additionally, in the microplots the presence of *Lm* associated with a high dose of NF per system, could've stimulated the absorption of N, implying the increase of plant growth and the translocation of DOC to the soil, also reflecting a high C:N ratio. In conclusion, against the presence of CC the leaching of DOC is mainly affected by the greater accumulation of biomass in response to a correct combination of species and NF rate, which suggests the stimulation of microbial activity in favor of the crop system.

Keywords: Sustainable practices; Non-point pollution; Labile substances.

INTRODUCCIÓN

Una de las problemáticas que ha tomado mayor interés en el último tiempo consiste en la implementación apropiada de estrategias, nuevos enfoques e innovación científica y social, para la preservación del medio ambiente y la mitigación del calentamiento global. Este último se ha convertido en una de las amenazas más dañinas para el planeta, afectando directamente la biodiversidad de los ecosistemas a escala local y global (Wall *et al.*, 2012). Al mismo tiempo la capacidad de la población humana para adaptarse al cambio y abordar los desafíos que implica la restricción de su entorno y por consiguiente del bienestar social.

Las actividades antrópicas han influido o transformado gran parte de la superficie terrestre del mundo, siendo uno de los impactos más importantes la transformación de los ecosistemas para el desarrollo de la agricultura y la silvicultura. Se estima que cerca del 24% de las emisiones totales de gases de efecto invernadero (GEI) derivan del sector agrícola y forestal (IPCC, 2014).

Sin embargo, también se ha enfatizado en el gran potencial que posee la agricultura para reducir las emisiones de GEI, al proveer de sumideros de carbono (C) que logran fortalecer los servicios ecológicos y la resiliencia de los ecosistemas ante el cambio climático, aumentando al mismo tiempo la biodiversidad de los suelos (Wall *et al.*, 2012).

Uno de los elementos más abundantes del planeta corresponde al C, el cual cumple un rol fundamental en la regulación del flujo de otras moléculas y la constitución de los organismos vivos. Registros señalan que el suelo corresponde a una de las reservas más importantes C, alcanzando valores que van de los 1500 a 2400 Pg aproximadamente (Schlesinger y Bernhardt, 2013). Este C deriva de la materia orgánica, la cual corresponde a una de las principales entradas de C a un sistema. Al entrar en contacto con el suelo y los organismos que lo habitan, ocurre el particionamiento de la materia orgánica, la cual puede derivar en distintas fracciones, siendo una de ellas la materia orgánica disuelta (MOD). Uno de los componentes de la MOD, corresponde al carbono orgánico disuelto (COD), el cual por definición consiste en un grupo de moléculas orgánicas de diferentes tamaños y estructuras abundantes en C, que logran atravesar un filtro de 0,45 micras de tamaño de poro (Kolka *et al.*, 2008). Estas moléculas son químicamente distintas dependiendo del tipo, especie y edad del material orgánico incorporado al suelo, que a su vez depende del ecosistema, es decir del medioambiente y al tipo de uso concedido al suelo, ya sea como un sistema agrícola, de praderas naturales o forestal (Sanderman *et al.*, 2008).

El flujo de COD comienza con la incorporación de materia orgánica en los horizontes superficiales del suelo (Kaiser y Kalbitz, 2012), donde se encuentra sometido a los mismos procesos fisicoquímicos que determinan la dinámica de la MOD, como la adsorción/desorción, complejación/co-precipitación, descomposición y transformación. Las moléculas de COD que permanecen suspendidas en la solución pueden ser fácilmente lixiviadas hacia fuentes de agua subterráneas, movilizándose posteriormente hacia los ríos que finalmente desembocan en el océano (Schlesinger y Bernhardt, 2013). En ambientes acuáticos el COD puede cambiar la composición del agua, producto de la degradación biológica o fotoquímica que reflejan la capacidad de esta molécula para ser mineralizada,

transformando a las fuentes de agua en un potencial sistema de liberación de metano (CH_4) y/o dióxido de carbono (CO_2) en mayor proporción (Larsen *et al.*, 2011; Lapierre *et al.*, 2013).

Ghani *et al.* (2013), señalaron que el COD al ser una molécula de fácil descomposición, se vuelve rápidamente biodisponible para los microorganismos que residen en el suelo. Sin embargo, la tasa de degradación biótica de los compuestos disueltos depende principalmente de la naturaleza recalcitrante de las moléculas orgánicas y su grado de humificación (Piccolo *et al.*, 2018). Diversos estudios han evidenciado una relación proporcional entre el COD y las sustancias húmicas (SH) (Watanabe *et al.*, 2012; Song *et al.*, 2014), siendo la absorbancia de la luz en el espectro ultravioleta (UV) uno de los métodos comúnmente utilizados para medir el potencial de biodegradación del C (Bolan *et al.*, 2011). Estas SH corresponden a una asociación compleja de moléculas heterogéneas no covalentes que sobreviven a la degradación microbiana, manteniéndose unidas por enlaces de hidrógeno y enlaces electrostáticos intermoleculares que forman con cationes metálicos (Piccolo *et al.*, 2018). Sanderman *et al.* (2008) propusieron que la lixiviación de ácidos orgánicos derivados de raíces y residuos de plantas frescas junto a la producción microbiana de compuestos orgánicos durante la descomposición de sustancias menos solubles, serían las principales fuentes de COD, y que la composición del COD en horizontes profundos se encontraría determinada por la fracción más humificada de la materia orgánica y su intercambio con la fase acuosa.

Otra de las principales características del COD corresponde a la relación directa que posee con el nitrógeno orgánico disuelto (NOD), siendo clave para el proceso de biodegradación, debido a que los suelos con alto contenido de nitrógeno (N) favorecen la descomposición de C, y por lo tanto disminuyen la disponibilidad del mismo (Evans *et al.*, 2008; Shang *et al.*, 2015). Adicionalmente van Kessel *et al.* (2009) expuso que el COD puede ser un aporte importante de energía para bacterias desnitrificantes que reducen el nitrato (NO_3^-) a formas gaseosas como N elemental (N_2) u óxido nitroso (N_2O).

Dentro de las estrategias agrícolas que contribuyen a la mitigación de la contaminación de fuentes de agua, se encuentra la rotación de cultivos, la cual corresponde a un sistema que podría evitar la erosión y la pérdida de nutrientes generada por el monocultivo (Eichler-Löbermann *et al.*, 2008). Los beneficios de las rotaciones de cultivos pueden volverse más intensos si se trabaja en conjunto a otras prácticas agrícolas implicadas en mantener la fertilidad de los suelos y disminuir las pérdidas de nutrientes o contaminantes por lixiviación, como son los cultivos de cubierta (CC) (Thorup-Kristensen *et al.*, 2012). Los CC corresponden a cultivos establecidos para cubrir el suelo cuando este se encuentra sin vegetación, es decir, sin la presencia del cultivo principal o de importancia económica (Ramírez-García, 2014).

Luego del establecimiento de un CC es probable que disminuya la aplicación de fertilizantes, ya que los cultivos subsiguientes logran aprovechar los compuestos derivados de la fertilización previa, reduciendo como consecuencia la lixiviación de elementos tóxicos y otros nutrientes hacia fuentes de aguas subterráneas (Vinther *et al.*, 2006; Montemurro *et al.*, 2013; Gabriel y Quemada, 2011; Gabriel *et al.*, 2012). La inclusión de CC se relaciona positivamente con indicadores biológicos como la biomasa microbiana y la actividad

enzimática. Ambas responden positivamente al establecimiento de CC, debido al aumento del C aprovechable para el desarrollo de los organismos, potenciando la actividad enzimática, ya sea, como formadora de nueva materia orgánica o actuando como bacterias desnitrificantes (Piotrowska y Wilczewski, 2012).

Tomando en cuenta estos antecedentes, la rotación maíz-CC podría ser de gran importancia en Chile, debido a que durante la producción de maíz se usan altas dosis de fertilización nitrogenada (FN). Salazar y Nájera (2011) señalan que la dosis de N incorporada en campos cultivados con maíz va desde 350 a 560 kg N ha⁻¹ en zonas Mediterráneas del país, de las cuales cerca de la mitad no es absorbida por el cultivo durante la temporada de crecimiento, aumentando el riesgo de lixiviación de N. Esta consecuencia se promueve cuando la tasa de fertilización del nutriente no se ajusta a lo que demanda el cultivo, siendo aún mayor si se utiliza un sistema de riego de baja eficiencia (Quemada *et al.*, 2013).

Una de las especies más utilizadas en los sistemas de rotación son las leguminosas, las que particularmente establecen simbiosis con bacterias que fijan N₂ atmosférico, de modo que aumenta el contenido de este nutriente en el suelo y se reduce el requerimiento de FN para el cultivo posterior (Plaza-Bonilla *et al.*, 2017). Estas especies son conocidas además por la baja relación C:N encontrada en sus residuos vegetales, lo cual significa que la inmovilización de N es menor, permaneciendo más tiempo disponible para ser aprovechado por los cultivos subsiguientes (Plaza-Bonilla *et al.*, 2016).

En sistemas de rotación con maíz, la integración de leguminosas se recomienda como método para mejorar la fertilidad del suelo y junto a ello aumentar el rendimiento y el contenido de nutrientes en el grano de maíz (Smith *et al.*, 2016). Sin embargo, diversos estudios señalan que ocurre una mayor lixiviación de COD en praderas y suelos cultivados, debido a la constante incorporación de materia vegetal. Esta situación es más significativa cuando se aplican altas tasas de N, debido a que esta molécula estimula el crecimiento y la actividad de las plantas, en otras palabras, ocurre un estímulo de la exudación radicular y de la biomasa generada e incorporada al suelo, siendo ambas precursoras de la formación de COD, lo cual finalmente explicaría las concentraciones más altas de este elemento en las muestras de lixiviados (Vinther *et al.*, 2006; Ghani *et al.*, 2010).

Por otro lado, la carga de COD en suelos dejados en barbecho es menor comparada a otros sistemas, producto a la baja incorporación de material vegetal nuevo, siendo el COD nativo la principal fuente de abastecimiento para los microorganismos del suelo (Wang *et al.*, 2016).

Los antecedentes proporcionados apuntan a la evaluación de la correcta combinación de estrategias en rotaciones de cultivo con maíz y alta dosis de fertilización inorgánica bajo condiciones de clima mediterráneo, con el propósito de aportar a la mitigación de la contaminación difusa de cuerpos de agua, a fin de conservar la calidad de los suelos para sostener sistemas productivos sustentables y aumentar la resiliencia de la humanidad y todos los organismos naturales frente a distintos escenarios de cambio.

HIPÓTESIS

Cuando se establece una rotación de maíz y cultivos de cubierta (*Lolium multiflorum* y/o *Trifolium repens*) con fertilización nitrogenada, se genera un aumento de la carga de carbono orgánico disuelto, siendo esta expresión mayor si la rotación contempla la especie leguminosa.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de la inclusión de cultivos de cubierta (*Lolium multiflorum* y/o *Trifolium repens*) y de la fertilización nitrogenada al maíz, en la lixiviación de carbono orgánico disuelto en un suelo de textura gruesa bajo escalas de estudio de columnas de suelo y microparcelas.

Objetivos específicos

1. Analizar el efecto de la aplicación de salitre potásico, y de las especies *Lolium multiflorum* y *Trifolium repens* en sistemas de pradera permanente y de rotación maíz–cultivos de cubierta, sobre la lixiviación de carbono orgánico disuelto y su influencia en la relación de nitrógeno inorgánico y orgánico encontrados en los lixiviados.
2. Relacionar el efecto de las praderas permanentes y de la rotación de cultivos en la percolación de agua y su impacto en las cargas de carbono orgánico disuelto.
3. Analizar la absorbancia de las muestras de lixiviados para relacionar el grado de humificación con la concentración de carbono orgánico disuelto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio

El estudio se realizó en la Estación Experimental Antumapu perteneciente a la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicada en la Comuna de La Pintana, Provincia de Santiago, Región Metropolitana (33° 34' S – 70° 37' O). Este trabajo consistió en dos experimentos, disponiendo por lo tanto de dos escenarios distintos que se distinguieron uno del otro tanto en sus condiciones climáticas, en los materiales a utilizar y la escala de trabajo, siendo esta última separada en columnas de suelo y microparcelas. Se realizó un seguimiento de las columnas por un periodo total de dos años, desde principios del 2016 hasta finales del 2017. En el caso de las microparcelas el estudio abarcó el efecto de una temporada de cultivo, correspondiente a otoño-invierno 2017.

El primer experimento (Experimento 1), denominado columnas de suelo, fue montado dentro de un invernadero de policarbonato de 20 m de ancho, 8 m de largo y 9 m de altura aproximadamente, con un sistema de ventilación automática y ventanas semi-móviles, permitiendo la circulación de aire. El segundo experimento (Experimento 2), parcelas de campo, se realizó en un campo experimental de 570 m² aproximadamente, adaptado con un sistema automatizado de riego por cinta y condiciones climáticas no controladas.

El suelo de ambos ensayos provino de un suelo de origen aluvial, perteneciente a la Serie de suelos Santiago, miembro de la Familia franca gruesa sobre arenosa esquelética, mixta, térmica de los Entic Haploxerolls (CIREN, 1996). El clima, de condiciones mediterráneas, característico de la zona, fue registrado por AGRIMED (2017) y categorizado como templado cálido supratermal con régimen de humedad semi árido y precipitación media anual de 371 mm, con un periodo seco de 8 meses, dentro del cual se produce un déficit hídrico en 1.159 mm año⁻¹ y un periodo húmedo de 2 meses que genera un excedente hídrico de 48 mm. Según estimaciones de la misma fuente la temperatura fluctuó entre un máximo de 30,4 °C durante el mes de enero y una mínima de 3,8 °C registrada en junio del mismo año.

Todos los análisis de muestras de suelo y agua se realizaron en el Laboratorio de Química de Suelos y Aguas perteneciente al Departamento de Ingeniería y Suelos de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Material biológico

Las especies utilizadas en el Experimento 1 correspondieron a: maíz de grano (*Zea mays* L.) (variedad tardía 33Y74 – Pioneer), ballica anual (*Lolium multiflorum* Lam.) ('Winter Star II' – ANASAC) y trébol blanco (*Trifolium repens* L.) ('Kopu II' – ANASAC) inoculado comercialmente con rizobios. En el Experimento 2 se dispuso solamente de *L. multiflorum* (*Lm*) y *T. repens* (*Tr*), ya que estas especies coincidieron con la temporada invernal de establecimiento.

La dosis de siembra varió según la especie vegetal y el experimento. En el caso de *Lm* fue de 35 kg ha⁻¹, es decir 120 g de semillas por microparcela y 0,36 g de semillas por columna de suelo. Para *Tr* la dosis de siembra fue de 5 kg ha⁻¹, correspondiendo a 20 g de semillas por microparcela y 0,06 g de semillas por columna. Ambas dosis fueron calculadas en base a la recomendación de la empresa de semillas. En las parcelas de campo, las semillas fueron sembradas a lo largo de la línea de hilera.

En el invernadero (Experimento 1), durante la temporada estival, se depositaron dos semillas de maíz (*Zm*) por columna, dejando luego de la emergencia la planta de mayor vigor. Un caso distinto ocurrió con los tratamientos *Zm*_{250N}-*Lm*+*Tr* y *Zm*_{400N}-*Lm*+*Tr*, ya que al conformarse por una mezcla de especies fue necesario adaptar la densidad de siembra de acuerdo con los hábitos de crecimiento de cada una. Por lo tanto, las semillas fueron mezcladas en una proporción de 70% *Tr* y 30% *Lm*, la cual permitiría alcanzar un rendimiento óptimo para el cultivo de ballica y disminuir la lixiviación de N debido a la influencia de *Tr* (Kramberger *et al.*, 2014; Bergkvist *et al.*, 2011).

Tratamientos y diseño experimental

En los dos experimentos, Experimento 1 y Experimento 2, se evaluó un total de 13 tratamientos distribuidos en dos ensayos presentados en el Cuadro 1. El Ensayo 1 representa la dinámica de N y C derivada de sistemas que cuentan con CC permanentes en un suelo, mientras que el Ensayo 2 representa la dinámica de N y C que se genera al incorporar un CC en una rotación con el cultivo de maíz.

El diseño estadístico utilizado consistió en un diseño en bloques (4 bloques) completamente aleatorizados con estructura de parcela dividida, donde el factor de bloqueo dependió del sitio a evaluar. Para el caso del montaje en invernadero (Experimento 1) este factor correspondió a la disparidad de luz recibida por cada columna, mientras que en el sitio exterior (Experimento 2) dicho factor se acordó de acuerdo con las dimensiones del terreno a modo de facilitar su administración y montaje. La unidad experimental fue la columna de suelo para el Experimento 1 y la microparcela para el Experimento 2, correspondiendo ambas unidades a la parcela principal y las mediciones en el tiempo como subparcela, de acuerdo al modelo estadístico planteado. Los factores abarcaron la rotación de cultivos, dosis de N y el tiempo para ambos casos.

La variable respuesta para el Ensayo 1 se obtuvo utilizando el siguiente modelo lineal mixto (MLM):

$$Y = \mu + R_i + \tau_j + (R\tau)_{ij} + \beta_{ik} + P_i(k) + \varepsilon_{ijk} \quad (1)$$

donde:

Y= variable respuesta; μ = media general; R= factor rotación de cultivos más fertilización; τ = factor tiempo; $R\tau$ = interacción rotación de cultivos y tiempo; β = efecto bloque; P= efecto parcela; ε = error experimental, el cual se asume normalmente distribuido.

La variable respuesta para el Ensayo 2 se consiguió utilizando el siguiente modelo lineal mixto (MLM):

$$Y = \mu + R_i + \tau_j + F_k + (R\tau)_{ij} + (RF)_{ik} + (\tau F)_{jk} + (R\tau F)_{ijk} + \beta_{il} + P_i(l) + \varepsilon_{ijkl} \quad (2)$$

donde:

Y= variable respuesta; μ = media general; R= factor rotación de cultivos; τ = factor tiempo; F= factor dosis de fertilización; $R\tau$ = interacción rotación de cultivos y tiempo; RF= interacción rotación de cultivos y dosis de fertilización; τF = interacción de tiempo y dosis de fertilización; $R\tau F$ = interacción rotación de cultivos, tiempo y dosis de fertilización; β = efecto bloque; P= efecto parcela; ε = error experimental, el cual se asume normalmente distribuido.

Los componentes fijos de ambos modelos correspondieron a la media de los tratamientos (μ), los factores rotación de cultivos (R), tiempo (τ), dosis de fertilización (F) y la interacción de estos últimos, es decir, ($R\tau$) para el Ensayo 1 y ($R\tau$), (RF), (τF) y ($R\tau F$) para el Ensayo 2. Por otro lado, el efecto de los bloques (β) y las parcelas incluidas dentro del bloque (P), en conjunto al error experimental (ε) constituyeron el componente aleatorio del modelo.

Cuadro 1. Tratamientos y ensayos utilizados en el estudio.

Ensayo	Tratamiento ¹	Rotación anual de cultivos	Nitrógeno kg ha ⁻¹
1	F _{0N} -F	Barbecho–barbecho	0
	Lm _{0N} -Lm	<i>L. multiflorum</i> – <i>L. multiflorum</i>	0
	Lm _{150N} -Lm	<i>L. multiflorum</i> – <i>L. multiflorum</i>	150
	Tr _{0N} -Tr	<i>T. repens</i> – <i>T. repens</i>	0
	Tr _{150N} -Tr	<i>T. repens</i> – <i>T. repens</i>	150
2	Zm _{250N} -F	<i>Z. mays</i> –barbecho	250
	Zm _{400N} -F	<i>Z. mays</i> –barbecho	400
	Zm _{250N} -Lm	<i>Z. mays</i> – <i>L. multiflorum</i>	250
	Zm _{400N} -Lm	<i>Z. mays</i> – <i>L. multiflorum</i>	400
	Zm _{250N} -Tr	<i>Z. mays</i> – <i>T. repens</i>	250
	Zm _{400N} -Tr	<i>Z. mays</i> – <i>T. repens</i>	400
	Zm _{250N} -Lm+Tr	<i>Z. mays</i> – <i>L. multiflorum</i> + <i>T. repens</i>	250
	Zm _{400N} -Lm+Tr	<i>Z. mays</i> – <i>L. multiflorum</i> + <i>T. repens</i>	400

¹ F: Barbecho (acrónimo del inglés fallow); Lm: *Lolium multiflorum*; Tr= *Trifolium repens*.

Manejo de los experimentos

Establecimiento

Experimento 1: Columnas de suelo. Este experimento fue establecido en primera instancia entre agosto del 2015 y mayo del 2016. Durante estos meses se montaron las columnas de suelo, dando inicio a la rotación correspondiente a la temporada primavera-verano 2015. Esta etapa fue considerada como prueba, por lo cual no se incluyeron las muestras de lixiviados obtenidas dentro de los resultados del presente estudio. Posteriormente se dio paso a la rotación otoño-invierno durante los primeros días de mayo de 2016 (O-I₂₀₁₆), seguida de la segunda temporada primavera-verano en diciembre del 2016 (P-V_{2016/17}). La segunda rotación otoño-invierno, fue establecida durante los primeros días de mayo del 2017 (O-I₂₀₁₇).

En este experimento se instalaron 52 columnas de suelo dentro del invernadero en agosto de 2015. Estas consistieron en una tubería de polietileno de alta densidad (HDPE) de 50 cm de largo y 20 cm de diámetro (Figura 1) dispuestas en sentido vertical sobre un mesón. Para fijar las columnas al mesón se dispuso de 2 cilindros de acero, los cuales atravesaron las columnas en sentido horizontal, quedando finalmente la estructura columnar perpendicular al mesón.



Figura 1. Ejemplo de columna de suelo y las estructuras utilizadas en el Ensayo 1.

En la base de las columnas se dispuso de embudos que fueron rellenos con arena de cuarzo. Cada embudo contó con un orificio de salida de 2,65 cm de diámetro que, se conectó a un

tubo perforado de PVC de 15 cm de largo recubierto con una malla metálica fina, para obtener una muestra filtrada de agua percolada.

Una vez terminada la estructura, las columnas se rellenaron con el suelo de las parcelas de campo. Este fue depositado entre 0 a 45 cm de profundidad, siguiendo la secuencia de horizontes original en forma de monolito. Los 5 cm remanentes de la columna fueron dejados para permitir la aplicación de cargas de agua y evitar el rebalse.

Para la recolección de las muestras de lixiviados se utilizaron bidones plásticos con capacidad de almacenaje de 3L dispuestos en la base de cada columna, permitiendo de este modo acumular el líquido derivado de la percolación profunda que posteriormente se compiló para su análisis.

Experimento 2: Parcelas de campo. Producto de las dimensiones del espacio total, el terreno fue organizado en 4 bloques de 13 parcelas cada uno, sumando un total de 52 microparcels de 2,65 m de ancho y 4 m de largo.

Este experimento contó con un sistema automatizado de riego por cinta con gotero integrado y un caudal de $1,4 \text{ L h}^{-1}$. Las cintas de riego fueron dispuestas en el terreno con un marco de emisores de $0,2 \times 0,65 \text{ m}$ y un tiempo de riego de 1 h durante los siete días de la semana.

En julio del 2015 y en cada microparcels se instaló un equipo de detección del frente de avance de agua modelo FullStopTM a 50 cm de profundidad y al centro de la parcela, alcanzando de este modo una posición homogénea con respecto al relieve para adquirir una muestra de lixiviación más representativa. Este equipo posee en su base un filtro de malla fina de acero que le permite obtener muestras más limpias, conectándose con la superficie a través de tubos de extensión. La parte superior fue acoplada a una manguera flexible que simplificó la extracción de lixiviados. La toma de muestras fue realizada con ayuda de jeringas de 60 mL, que al conectarse a la manguera flexible extrajeron el agua colectada por los FullStopTM. Para el traslado de las muestras al laboratorio se dispuso de botellas plásticas de 100 mL.

En el bloque 2 de este experimento fueron instalados además de los FullStopTM nueve lisímetros (Figura 2) marca Decagon modelo G3 en las microparcels que recibieron la menor dosis de N (0 y 250 N) a 50 cm de profundidad. Estos consisten de un tubo colector, que recibe el agua en movimiento bajo la zona de raíces, el cual se une mediante una manguera a otro tubo relleno con suelo, acoplado a un filtro de fibra de vidrio y tierra de diatomeas para separar el suelo del colector. El colector se ensambló a otro tubo implementado con un sensor de presión (Decagon modelo CTD) capaz de medir el nivel del agua percolada, conectado a una manguera que sube hasta alcanzar la superficie del equipo. En la superficie la manguera se acopló a una botella colectora y junto a una bomba para ejercer presión fue posible extraer una muestra del lixiviado. Los datos de percolación se almacenaron en un datalogger marca Decagon modelo EM50 conectado a través de cables a dos sensores terminales que miden humedad (Decagon modelos GS1 y EC-5) y temperatura del suelo (Decagon modelo RT-1) (Figura 2).

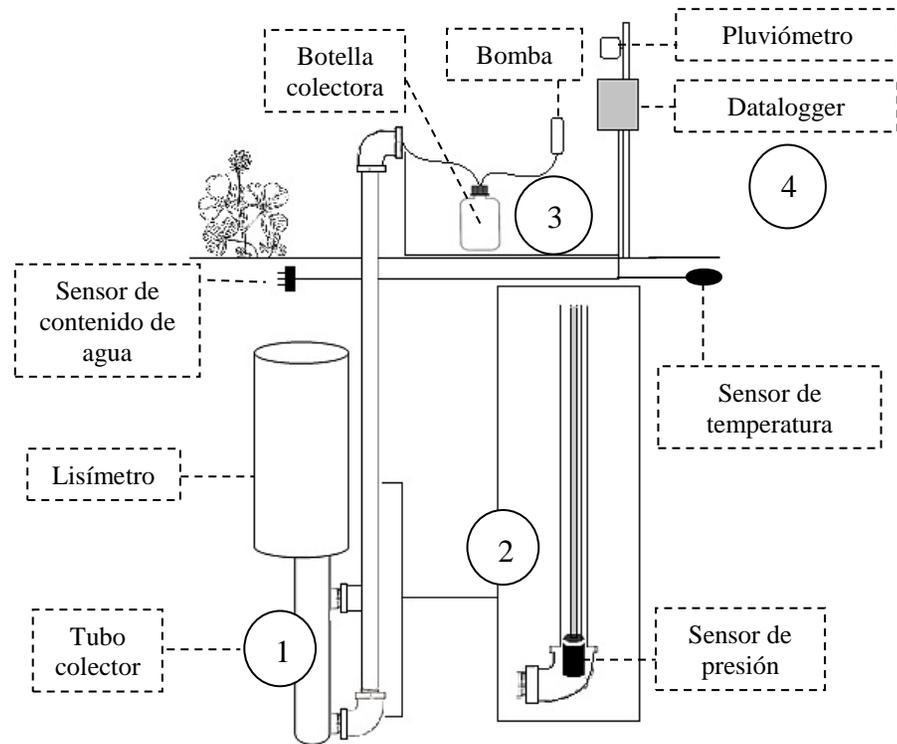


Figura 2. Esquema de los lisímetros instalados en el Experimento 2, con el detalle del sensor de presión (2).

Fechas de manejo y siembra

En diciembre del 2016 se dio inicio a la rotación de P-V_{2016/17}, sembrando las praderas permanentes y el maíz dentro de las columnas de suelo. Posteriormente los tratamientos fueron regados dos veces por semana con un monto total de 0,5 L de agua potable en la temporada invernal y 1,0 L en la temporada estival, dejando un registro de datos con las fechas y montos de riego aplicados necesarios para el cálculo del balance hídrico. La lixiviación fue generada mediante la aplicación de cargas de agua con un monto de 4,0 L, siguiendo como criterio el estado fisiológico de la especie vegetal establecida de acuerdo con la temporada de estudio. Como en el periodo de primavera-verano la especie establecida correspondió al maíz, se estimaron 4 fechas representativas siguiendo la fenología del cultivo, estas contemplaron: estadio de quinta hoja (V5), estadio de octava hoja (V8), floración y madurez fisiológica, buscando de esta manera obtener muestras en las etapas más significativas del cultivo.

Para el periodo O-I₂₀₁₇ y en ambos experimentos, se tomaron como referentes los estados fenológicos de la ballica como criterio de aplicación de cargas de agua. Estos consistieron en: emergencia, inicio de espigadura, inicio de floración y grano harinoso-duro (Teuber y Elizalde, 1992), dando un total de cuatro cargas durante esta temporada. Sin embargo, según

el seguimiento del cultivo, la ballica no alcanzó la etapa de grano harinoso-duro, llegando únicamente hasta floración, por lo tanto, solo fueron generadas un total de 3 cargas de agua.

Por otra parte, en diciembre del 2016 fueron sembrados los CC permanentes y el maíz del Experimento 2 (parcelas de campo), correspondiendo al periodo primavera-verano e iniciándose el riego durante este mismo mes. Sin embargo, en este experimento no se recolectaron muestras para su posterior análisis, y se procedió a calibrar y probar los instrumentos. En mayo del 2017 se inició la rotación de otoño-invierno en las parcelas de campo. Durante este periodo se hizo un seguimiento al cultivo de *Lm* y a los eventos de precipitación. Las fechas importantes fueron registradas continuando con el procedimiento anteriormente descrito atingente al estado fenológico de *Lm*. De este modo fue posible programar la recolección de muestras luego de 24 h ocurrido un evento de lluvia coincidente con uno de los estadios. Como la cantidad de lluvia no fue suficiente para generar percolación profunda, se recurrió a la aplicación de cargas mediante el riego por cintas. Estas se calcularon tomando como referencia la precipitación del equipo, el marco de los emisores y la capacidad de almacenaje del estanque, este último para programar el tiempo de riego que permitiese el llenado del estanque.

Fertilización

La fertilización contempló cuatro dosis de N diferentes según el ensayo. Siendo: 0 y 150 kg ha⁻¹ para el Ensayo 1 y, 250 y 400 kg ha⁻¹ para el Ensayo 2, buscando como objetivo comparar si existieron resultados disímiles dentro de los ensayos entre una dosis de fertilización calculada en base al método racional (Rodríguez, 1993), el cual, considera la demanda del cultivo y el suministro potencial del suelo mediante la mineralización de N (0 y 250 kg ha⁻¹) y no racional, que incluye dosis excesivas de N, siendo 150 kg ha⁻¹ para las praderas permanentes del Ensayo 1 y la dosis suministrada al maíz comúnmente por los agricultores de Chile (400 kg ha⁻¹) en el Ensayo 2 (Salazar y Nájera, 2011). Todos los tratamientos, exceptuando el barbecho (F_{0N-F}), se contrastaron con otro de similares características, pero con distinta dosis de N, cumpliendo con el objetivo de evidenciar y explicar las diferencias producidas debido a la rotación de cultivos y la dosis de fertilizante suministrada.

La fuente nitrogenada utilizada fue salitre potásico (13,5% N y 45,0% K₂O), completando con cloruro de potasio (60,0% K₂O) la demanda por K en los tratamientos que no recibieron salitre potásico. En cuanto al fósforo (P) se eligió súper fosfato triple (46% P₂O₅), de acuerdo a una dosis calculada según la capacidad tampón del suelo para aumentar el P disponible y a los resultados de disponibilidad de P-Olsen. La dosis de N y K se parcializó en dos fechas de aplicación; en el instante de la siembra y en el momento en que el maíz alcanzó su estadio de octava hoja (V8). El detalle de la parcialización se puede observar en el Cuadro 2.

Cosecha

Una vez que el maíz alcanzó la madurez fisiológica se procedió a detener el riego. Posterior a ello se cosecharon las mazorcas y se extrajo la estructura vegetal de la planta. Tanto las mazorcas como las estructuras vegetales fueron pesadas, las primeras en peso seco, para

determinar el rendimiento y las segundas en peso fresco, con el fin de incorporar inmediatamente la mitad del peso total como rastrojo. Los CC permanentes fueron cosechados para medir la biomasa seca total sin ser incorporados, simulando un escenario en el que se utilizan como forraje. Se operó con el mismo procedimiento en ambos experimentos.

Cuadro 2. Suministro parcializado y total de los fertilizantes utilizados en ambos experimentos (N, P₂O₅ y K₂O) según tratamientos y ensayo.

Ensayo	Tratamiento	Primera aplicación			Segunda aplicación			Total		
		N	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
----- kg ha ⁻¹ -----										
1	F _{0N} -F	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lm _{0N} -Lm	0	10	450	0	0	750	0	10	1200
	Lm _{150N} -Lm	150	10	450	0	0	750	150	10	1200
	Tr _{0N} -Tr	0	10	450	0	0	750	0	10	1200
	Tr _{150N} -Tr	150	10	450	0	0	750	150	10	1200
2	Zm _{250N} -F	0	10	450	250	0	750	250	10	1200
	Zm _{400N} -F	150	10	450	250	0	750	400	10	1200
	Zm _{250N} -Lm	0	10	450	250	0	750	250	10	1200
	Zm _{400N} -Lm	150	10	450	250	0	750	400	10	1200
	Zm _{250N} -Tr	0	10	450	250	0	750	250	10	1200
	Zm _{400N} -Tr	150	10	450	250	0	750	400	10	1200
	Zm _{250N} -Lm+Tr	0	10	450	250	0	750	250	10	1200
	Zm _{400N} -Lm+Tr	150	10	450	250	0	750	400	10	1200

Variables medidas

Análisis de lixiviados

Los siguientes procedimientos fueron realizados entre junio del 2016 y octubre del 2017 para el Experimento 1 y entre mayo y octubre de 2017 para el Experimento 2. En el primer experimento (columnas de suelo), se aplicaron 4 L de agua potable en cada columna con tal de asegurar la percolación de agua y la lixiviación de solutos. Las muestras de agua de cada columna se recolectaron luego de 12 h posteriores al riego desde los colectores situados bajo el embudo de las columnas. Posteriormente se pesó en cada colector la cantidad de agua percolada. Luego, con ayuda de recipientes plásticos de 100 mL, se recolectó una muestra de cada solución depositada en su colector correspondiente.

En el experimento de parcelas de campo, la recolección de las muestras se realizó luego de 24 h ocurrido un evento de lluvia que coincidiese con el estado fenológico del cultivo de

ballica. Para simplificar la recolección, las jeringas de 60 mL se conectaron a la manguera plástica superior de los FullStop instalados en cada microparcela. Al realizar la succión con la jeringa se extrajeron las muestras acuosas, que fueron guardadas en frascos de 100 mL a modo de facilitar su transporte al laboratorio. Para determinar la carga de agua de las parcelas, se utilizaron los datos recolectados de los lisímetros instalados en el bloque 2, sin embargo, debido a problemas técnicos esta variable no pudo ser calculada. Cuando no ocurrió un evento de lluvia dentro de la etapa fenológica del cultivo, o bien si la precipitación no alcanzó a generar la percolación del agua bajo los 50 cm de profundidad, se aplicó una carga artificial mediante el sistema de riego automatizado por cinta, aplicando un monto de riego que aseguró la percolación de agua en el subsuelo.

Posteriormente se procedió a analizar en laboratorio la concentración de COD. Para ello, las muestras requirieron ser filtradas utilizando filtros de jeringa (0,45 micras de tamaño de poro), para obtener una muestra clara que permitiese la medición del C de naturaleza soluble.

El COD se calculó a partir de la diferencia entre el C disuelto total (CDT) y el C inorgánico disuelto (CID), mediante:

$$COD = CDT - CID \quad (3)$$

Para determinar el contenido de CDT y CID en las muestras, se utilizó un auto-analizador TOC-L (Shimadzu Corp., Kyoto, Japón) con un módulo TNM-L incorporado para cuantificar el N total (NT). Este equipo realiza la combustión oxidativa de las muestras de solución de suelo, detectando posteriormente el C bajo un sensor de infrarrojo no dispersivo. Para cumplir esta labor, fue necesario generar curvas de calibración en el auto-analizador cada tres meses, para determinar la concentración de CDT y CID utilizando como base estándar el ftalato de potasio ($C_8H_5KO_4$) para el primero y carbonato de sodio (Na_2CO_3) más bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$) para el segundo.

Con los datos de cantidad de agua de riego percolada y concentración de formas disueltas, se procedió a calcular la carga de COD, definida como la cantidad de COD que escapa del sistema por medio de lixiviación, para cada temporada y para el periodo total de estudio, a través de:

$$Carga\ de\ COD = Percolación\ de\ agua\ de\ riego \times Concentración\ de\ COD \quad (4)$$

También se caracterizó el grado de humificación del COD a través de la relación $E_4:E_6$ mediante el análisis de las formas orgánicas de C de alto y bajo peso molecular medido a diferentes longitudes de onda, utilizando el método propuesto por Chen *et al.* (1977). Con este método se cuantificó la absorbancia de las sustancias acuosas medidas a 465 y 665 nm utilizando un espectrofotómetro UV-1280 (Shimadzu Corp.) para estimar la descomposición de la materia orgánica asociada a la fracción de SH, junto a una posible relación con la liberación de COD (Aranda *et al.*, 2011; Traversa *et al.*, 2014). Por lo general, se espera que la relación $E_4:E_6$ disminuya al aumentar el peso molecular y el contenido de anillos aromáticos condensados, mientras que una alta relación $E_4:E_6$ indicaría un bajo grado de condensación aromática y la presencia de una mayor proporción de estructuras alifáticas (Helal *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2017).

Caracterización del agua de riego

Durante el desarrollo del estudio se analizó en tres ocasiones parámetros de calidad de agua para riego, que incluyeron: conductividad eléctrica (CE) y pH con equipos de mesa, la concentración de COD y N disuelto total (NDT) mediante el equipo TOC-L (Shimadzu Corp., Kyoto, Japón) y su módulo integrado para cuantificar N (TNM-L). El NOD resultó de la diferencia entre el N inorgánico (N-NO_3^- y N-NH_4^+) y el TDN.

Caracterización inicial del suelo

En el ensayo de campo se excavó una calicata para obtener una caracterización morfológica del perfil de suelo durante el año 2016 (Anexo 1) de acuerdo a los parámetros establecidos por el USDA (Schoeneberger, 2012). De esta manera se tomaron muestras de los horizontes genéticos para realizar el análisis de las propiedades físicas y químicas del suelo. Los análisis físicos de suelo comprendieron la determinación de textura mediante el método del hidrómetro de Bouyoucos, la densidad real utilizando un picnómetro, la densidad aparente mediante el método del cilindro y la retención de agua a través del método de olla y plato a presión, siguiendo las metodologías propuestas por Sandoval *et al.* (2012) (Anexo 2).

Se evaluó también los niveles de materia orgánica del suelo (MOS) mediante el método de Walkley y Black, el pH en agua y KCl (relación 1:2,5 p/v), además de la CE en extracto de saturación (Sadzawka *et al.*, 2006) y la capacidad de intercambio catiónico determinada con acetato de sodio 1M a pH 8,2 (Dewis y Freitas, 1970). Finalmente se analizó P-Olsen, cationes de intercambio (Ca, K, Mg y Na) y disponibilidad de Cu, Fe, Mn y Zn, según el método descrito por Sadzawka (1990) (Anexos 3 y 4).

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante modelos lineales mixtos (MLM), realizando la prueba de comparaciones múltiples de Fisher ($\alpha=0,05$). Con esta prueba se consideraron diferencias estadísticamente significativas para la interacción de los factores o para los factores de manera independiente. Finalmente, se realizó un análisis de correlaciones múltiples para los parámetros evaluados entre los tratamientos, mediante el coeficiente de correlación lineal de Pearson ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS

Experimento 1: Columnas de suelo

Biomasa

Ensayo 1. Para comparar las medias de biomasa se determinó la materia seca (MS) generada por cada tratamiento al término de cada temporada. Posteriormente se determinó el promedio de las tres temporadas involucradas para representar el periodo total de estudio (Total). Observando los resultados del Cuadro 3, es posible distinguir que durante la primera temporada (O-I₂₀₁₆), el tratamiento Lm_{150N}-Lm fue el que alcanzó los niveles de MS más altos seguidos de Lm_{0N}-Lm. En la siguiente temporada (P-V_{2016/17}) la mayor acumulación de MS la obtuvieron los CC permanentes de trébol Tr_{0N}-Tr y Tr_{150N}-Tr junto con Lm_{150N}-Lm, diferenciándose de Lm_{0N}-Lm que disminuyó su biomasa en 16 Mg MS ha⁻¹ con respecto a la temporada anterior. En O-I₂₀₁₇ destacaron nuevamente los CC de *Tr* con ambas dosis de N, ya que mantuvieron el mayor desarrollo de biomasa a diferencia los CC de *Lm* que acumularon menos MS. En general, la primera temporada de estudio presentó las medias de MS más altas, encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) en comparación a las temporadas siguientes (Apéndice 1).

Por otro lado, al observar el comportamiento de los tratamientos de acuerdo con la temporada de establecimiento, es posible apreciar que ambos CC de *Lm* mostraron una disminución estadísticamente significativa de la biomasa en el tiempo. Por el contrario, en los tratamientos con *Tr* no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre temporadas.

Finalmente, al integrar la información en el periodo Total es posible apreciar que los tratamientos Lm_{150N}-Lm, Tr_{0N}-Tr y Tr_{150N}-Tr generaron una MS promedio significativamente mayor ($p \leq 0,05$) que Lm_{0N}-Lm.

Ensayo 2. En el Cuadro 4, es posible apreciar que durante O-I₂₀₁₆ los tratamientos Zm_{250N}-Lm, Zm_{250N}-Lm+Tr y Zm_{400N}-Lm+Tr alcanzaron las mayores medias de MS, a diferencia de Zm_{250N}-Tr y Zm_{400N}-Tr que promediaron menos MS.

En la siguiente temporada (P-V_{2016/17}) Zm_{250N}-Lm+Tr se mantuvo con los niveles de MS más altos. Sin embargo, según la prueba estadística se encontró en el mismo nivel que los tratamientos Zm_{250N}-Lm, Zm_{400N}-Tr y Zm-F (con ambas dosis de N), pero fue significativamente mayor que Zm₄₀₀-Lm, Zm₂₅₀-Tr y Zm₄₀₀-Lm+Tr.

En O-I₂₀₁₇, al igual que la primera temporada invernal destacaron los tratamientos Zm_{250N}-Lm, Zm_{250N}-Lm+Tr y Zm_{400N}-Lm+Tr con las medias más altas pero esta vez junto a Zm_{400N}-Lm, diferenciándose significativamente de Zm_{250N}-Tr que se posicionó con los valores más bajos (Cuadro 4).

Analizando las tres temporadas en conjunto, es posible distinguir que la mayor generación de biomasa la obtuvieron los tratamientos establecidos en O-I₂₀₁₆, diferenciándose significativamente ($p < 0,0001$) de los periodos siguientes (Apéndice 1).

Es necesario recordar que, durante la época estival el cultivo establecido correspondió a *Zm*, mientras que en los periodos invernales se establecieron los CC.

Cuadro 3. Biomasa promedio y análisis químico del Ensayo 1 para cada temporada de estudio.

Tratamientos	Biomasa promedio ¹			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	Total
	----- Mg MS ha ⁻¹ -----			
F _{0N} -F	-	-	-	-
Lm _{0N} -Lm	18,72 ± 2,48 abA	3,07 ± 0,51 bB	3,42 ± 0,51 bB	8,40 ± 0,86 b
Lm _{150N} -Lm	21,11 ± 1,04 aA	10,44 ± 1,45 aB	3,69 ± 1,45 bC	11,74 ± 0,76 a
Tr _{0N} -Tr	16,91 ± 1,66 bA	13,19 ± 2,20 aA	11,98 ± 2,20 aA	14,03 ± 1,18 a
Tr _{150N} -Tr	15,17 ± 1,04 bA	12,99 ± 1,45 aA	13,01 ± 1,45 aA	13,72 ± 0,76 a
⁴ <i>p-value</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	Concentración promedio de COD ²			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	Total
	----- mg C L ⁻¹ -----			
F _{0N} -F	14,19 ± 1,86 abA	12,41 ± 1,86 bA	12,40 ± 1,86 bA	13,00 ± 1,45 b
Lm _{0N} -Lm	14,97 ± 3,39 abA	14,86 ± 3,39 abA	18,02 ± 3,39 abA	15,95 ± 2,18 ab
Lm _{150N} -Lm	22,26 ± 3,89 aA	11,17 ± 3,39 bB	19,34 ± 3,39 abA	17,59 ± 2,27 ab
Tr _{0N} -Tr	13,04 ± 2,10 bB	20,40 ± 2,10 aA	22,36 ± 2,10 aA	18,60 ± 1,55 a
Tr _{150N} -Tr	13,13 ± 2,10 bB	9,21 ± 2,10 bB	21,01 ± 2,10 aA	14,45 ± 1,55 b
<i>p-value</i>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0486
	Relación C:N ³			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	Total
	----- kg kg ⁻¹ -----			
F _{0N} -F	0,70 ± 0,08 bB	1,93 ± 1,19 bAB	6,01 ± 1,85 bA	2,88 ± 0,63 c
Lm _{0N} -Lm	23,58 ± 3,49 aA	32,29 ± 5,86 aA	37,52 ± 7,79 aA	31,13 ± 4,72 a
Lm _{150N} -Lm	20,85 ± 3,49 aA	22,36 ± 3,71 aA	26,84 ± 7,79 aA	23,35 ± 2,51 a
Tr _{0N} -Tr	2,30 ± 1,24 bB	19,11 ± 5,86 aA	15,23 ± 7,79 abAB	12,21 ± 2,88 b
Tr _{150N} -Tr	1,89 ± 1,14 bB	4,31 ± 1,19 bB	16,76 ± 7,79 abA	7,65 ± 1,62 b
<i>p-value</i>	<0,0001	0,0002	0,0080	<0,0001

^{1,2,3} Valores promedio de cada variable ± error estándar. Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Letras mayúsculas en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas entre temporadas. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$);

⁴ *p-value* corresponde al efecto de los factores tratamiento y temporada.

Cuadro 4. Biomasa promedio y resultados de análisis químicos del Ensayo 2 para cada temporada de estudio.

Tratamientos	Biomasa promedio ¹			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	Total
	----- Mg MS ha ⁻¹ -----			
Zm _{250N} -F	-	5,67 ± 2,90 ab	-	1,89 ± 1,27 c
Zm _{400N} -F	-	10,81 ± 9,89 ab	-	3,60 ± 3,31 bc
Zm _{250N} -Lm	20,84 ± 1,68 aA	6,25 ± 4,23 abB	6,27 ± 0,67 aB	11,12 ± 1,69 ab
Zm _{400N} -Lm	19,97 ± 2,60 abA	2,14 ± 1,29 bC	9,44 ± 1,86 aB	10,52 ± 1,60 ab
Zm _{250N} -Tr	13,97 ± 1,16 bA	1,95 ± 1,02 bB	2,29 ± 0,08 bB	6,07 ± 0,45 b
Zm _{400N} -Tr	15,22 ± 1,16 bA	8,49 ± 4,79 abB	5,48 ± 1,50 abB	9,73 ± 1,33 ab
Zm _{250N} -Lm+Tr	21,05 ± 2,60 aA	12,08 ± 1,15 aB	6,61 ± 0,77 aB	13,25 ± 0,50 a
Zm _{400N} -Lm+Tr	20,46 ± 1,68 aA	0,71 ± 0,21 bC	7,96 ± 1,05 aB	9,71 ± 1,92 ab
⁴ p-value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	Concentración promedio de COD ²			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	Total
	----- mg C L ⁻¹ -----			
Zm _{250N} -F	15,91 ± 0,74 abA	18,84 ± 2,87 bcA	15,90 ± 2,69 bcA	16,89 ± 2,18 bc
Zm _{400N} -F	12,17 ± 0,74 bAB	16,77 ± 2,87 bcA	11,85 ± 2,69 cB	13,60 ± 2,18 c
Zm _{250N} -Lm	23,27 ± 4,77 aA	19,49 ± 2,41 bA	18,13 ± 2,69 bA	20,29 ± 2,18 ab
Zm _{400N} -Lm	16,91 ± 5,00 abB	26,96 ± 1,84 aA	23,75 ± 2,85 abAB	22,30 ± 2,25 a
Zm _{250N} -Tr	15,00 ± 2,12 abA	15,25 ± 2,27 bcA	15,31 ± 2,69 bcA	15,19 ± 2,18 c
Zm _{400N} -Tr	12,31 ± 2,12 bA	13,40 ± 2,27 cA	16,49 ± 2,69 bA	14,07 ± 2,18 c
Zm _{250N} -Lm+Tr	15,56 ± 2,12 abA	15,80 ± 4,03 bcA	19,71 ± 2,69 bA	17,02 ± 2,18 b
Zm _{400N} -Lm+Tr	20,46 ± 3,29 aAB	17,51 ± 2,41 bcB	24,61 ± 2,69 aA	20,86 ± 2,18 ab
p-value	0,0097	<0,0001	0,0002	0,0004
	Relación C:N ³			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	Total
	----- kg kg ⁻¹ -----			
Zm _{250N} -F	0,68 ± 0,18 aB	21,76 ± 2,32 aA	8,28 ± 1,74 bAB	10,24 ± 0,97 ab
Zm _{400N} -F	0,53 ± 0,25 aB	9,91 ± 2,67 bA	3,36 ± 1,74 bAB	4,60 ± 1,07 b
Zm _{250N} -Lm	2,21 ± 1,49 aB	18,08 ± 1,91 abA	28,34 ± 9,28 abA	16,21 ± 3,18 a
Zm _{400N} -Lm	1,06 ± 0,25 aC	14,27 ± 3,21 abB	31,39 ± 9,28 aA	15,57 ± 3,26 a
Zm _{250N} -Tr	0,53 ± 0,25 aB	11,73 ± 3,21 bA	8,97 ± 1,74 bAB	7,08 ± 1,22 b
Zm _{400N} -Tr	0,35 ± 0,15 aA	8,59 ± 2,10 bA	6,93 ± 1,74 bA	5,29 ± 0,91 b
Zm _{250N} -Lm+Tr	0,27 ± 0,25 aB	21,37 ± 2,67 aA	17,39 ± 9,28 abA	13,01 ± 3,21 ab
Zm _{400N} -Lm+Tr	1,08 ± 0,34 aC	13,48 ± 1,91 bB	36,09 ± 9,28 aA	16,88 ± 3,15 a
p-value	0,2888	0,0034	0,0046	0,0001

^{1,2,3} Valores promedio de cada variable ± error estándar. Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Letras mayúsculas en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas entre temporadas. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$).

⁴ p-value corresponde al efecto de los factores tratamiento y temporada.

Observando nuevamente el Cuadro 4, se distingue que, en la temporada estival, tanto $Zm_{400N-Lm}$ como $Zm_{400N-Lm+Tr}$ alcanzaron las medias más bajas con respecto a las otras temporadas.

En definitiva, los tratamientos $Zm_{250N-Lm}$, $Zm_{400N-Lm}$ y $Zm_{250N-Lm+Tr}$ mostraron en promedio las medias más altas de MS al final de 3 temporadas de estudio (Total), siendo un 83%, 82% y 86%, respectivamente mayores que Zm_{250N-F} , el cual destacó por generar la menor cantidad de MS promedio al término del experimento.

Concentración de carbono orgánico disuelto lixiviado

Ensayo 1. Observando nuevamente el Cuadro 3, es posible apreciar que $Lm_{150N-Lm}$ aparece con la concentración de COD más alta en $O-I_{2016}$, diferenciándose significativamente de los tratamientos que incluyeron CC de Tr . La situación cambia en $P-V_{2016/17}$, ya que en esta temporada Tr_{0N-Tr} se convierte en el tratamiento que obtuvo la media más alta. En la última temporada invernal ($O-I_{2017}$) ambos CC de Tr representan las concentraciones más altas, diferenciándose significativamente de F_{0N-F} .

Al mismo tiempo, es posible notar la influencia de la temporada de estudio sobre algunos tratamientos, como el caso de Lm con aplicación de N, el cual obtuvo una concentración promedio significativamente más alta durante los periodos invernales. Continuando con el análisis temporal, se aprecia que ambos CC de Tr aumentaron la concentración de COD en los lixiviados con el paso del tiempo. La situación es distinta para los tratamientos con F_{0N-F} y Lm_{0N-Lm} , puesto que no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en la concentración promedio a lo largo de los tres periodos de establecimiento. En términos generales $O-I_{2017}$ destacó por alcanzar las medias más altas de COD, diferenciándose significativamente ($p \leq 0,01$) de las temporadas anteriores (Apéndice 1).

Al analizar el periodo Total, la concentración más alta de COD la registró Tr_{0N-Tr} , siendo 5%, 14%, 22% y 30% mayor que $Lm_{150N-Lm}$, Lm_{0N-Lm} , $Tr_{150N-Tr}$ y F_{0N-F} respectivamente, correspondiendo estos dos últimos a los tratamientos que figuraron con las concentraciones promedio de COD más bajas en los lixiviados (Cuadro 3).

Ensayo 2. En $O-I_{2016}$ destacaron dos tratamientos con las medias más altas de COD, $Zm_{250N-Lm}$ y $Zm_{400N-Lm+Tr}$, diferenciándose significativamente de Zm_{400N-F} y $Zm_{400N-Tr}$ que generaron las medias más bajas. En $P-V_{2016/17}$ el tratamiento $Zm_{400N-Lm}$ se posicionó con el nivel más alto de concentración, mientras que $Zm_{400N-Tr}$ mantuvo el mismo comportamiento de la temporada anterior. En la última temporada establecida, destacaron nuevamente $Zm_{400N-Lm+Tr}$ y Zm_{400N-F} por la más alta y baja, concentración de COD en los lixiviados, respectivamente (Cuadro 4).

Por otro lado, no se observaron diferencias estadísticamente entre temporadas ($p > 0,05$) (Apéndice 1).

Por último, en el periodo Total se destacó la rotación $Z_{m400N-Lm}$ por obtener la concentración promedio de COD más alta en los lixiviados (Cuadro 4). Por otro lado, las rotaciones $Z_{m400N-F}$, $Z_{m250N-Tr}$ y $Z_{m400N-Tr}$ concentraron las medias más bajas de COD, encontrándose en un 39%, 32% y 37%, respectivamente, por debajo del tratamiento $Z_{m400N-Lm}$.

Relación C:N

Ensayo 1. Esta relación fue evaluada como el cociente entre el C total y el N total soluble en los lixiviados. En el Cuadro 3, se observa que la relación C:N más alta en $O-I_{2016}$ se asoció a ambas praderas permanentes de *Lm*, diferenciándose de los demás tratamientos. En $P-V_{2016/17}$ continuaron destacando los CC de *Lm* por obtener las medias más altas, pero esta vez junto a Tr_{0N-Tr} . En cuanto a la temporada de $O-I_{2017}$, se observó una tendencia similar a $O-I_{2016}$ para los tratamientos Lm_{0N-Lm} y $Lm_{150N-Lm}$, figurando F_{0N-F} con la menor relación durante todo el periodo de estudio.

Al analizar por temporada, es posible apreciar que los CC de *Lm* mantuvieron el mismo comportamiento a lo largo de los tres periodos evaluados, al igual que F_{0N-F} . Esto cambió en los CC de *Tr*, ya que se distinguió en los tratamientos Tr_{0N-Tr} y $Tr_{150N-Tr}$ un aumento de la relación C:N durante $P-V_{2016/17}$ y $O-I_{2017}$, respectivamente (Cuadro 3). Al igual que en la concentración de COD destacó la temporada $O-I_{2017}$ por alcanzar las medias más altas, diferenciándose significativamente ($p \leq 0,0061$) de la primera temporada invernal (Apéndice 1).

Finalmente, en el periodo Total ambos CC permanentes de *Lm* obtuvieron relaciones C:N promedio más altas, mientras que F_{0N-F} figuró con el menor cociente.

Ensayo 2. Es posible distinguir que en la primera temporada de estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \geq 0,05$) entre tratamientos (Cuadro 4). Por el contrario, en $P-V_{2016/17}$ tanto $Z_{m250N-F}$ como $Z_{m250N-Lm+Tr}$ alcanzaron las medias más altas de C:N. Por último, en $O-I_{2017}$, $Z_{m400N-Lm+Tr}$ fue el tratamiento con la mayor relación y las rotaciones Z_{m-F} y Z_{m-Tr} (ambas dosis de N) como los tratamientos que obtuvieron los valores más bajos.

En el análisis temporal, se advierte que $O-I_{2016}$ estuvo marcada por las medias más bajas con respecto a los otros periodos de estudio, siendo un 94% y 95% inferior a $P-V_{2016/17}$ y $O-I_{2017}$, respectivamente (Apéndice 1).

Por otro lado, en el periodo Total, las relaciones C:N más altas las obtuvieron las rotaciones $Z_{m250N-Lm}$, $Z_{m400N-Lm}$ y $Z_{m400N-Lm+Tr}$, a diferencia de $Z_{m400N-F}$, $Z_{m250N-Tr}$ y $Z_{m400N-Tr}$ que se posicionaron con los valores más bajos.

Grado de humificación de los lixiviados

Ensayo 1. El análisis de la relación E₄:E₆ de los lixiviados fue solamente realizado en P-V_{2016/17} y O-I₂₀₁₇. El Cuadro 5, muestra que el tratamiento Tr_{150N}-Tr generó el menor cociente de absorbancia en P-V_{2016/17}, con respecto a los demás CC de la misma temporada. En el periodo siguiente, O-I₂₀₁₇, destacó Tr_{0N}-Tr por el mayor cociente, diferenciándose significativamente de F_{0N}-F y Lm_{0N}-Lm que se ubicaron con las medias más bajas.

Por otro lado, es posible percibir que en general las medias más altas de la relación E₄:E₆ se encontraron en la temporada de otoño-invierno, siendo mayores en un 37% con respecto al periodo estival (Apéndice 1). No obstante, los únicos tratamientos que se diferenciaron significativamente entre temporadas correspondieron a ambos CC permanentes de *Tr*.

Para el periodo Total (Cuadro 5), destacó Tr_{0N}-Tr por la mayor relación E₄:E₆, de manera opuesta a los tratamientos F_{0N}-F, Lm_{0N}-Lm y Tr_{150N}-Tr, los cuales obtuvieron en promedio los cocientes más bajos.

Cuadro 5. Relación E₄:E₆ por temporada y periodo total de estudio para el Ensayo 1.

Tratamientos	Relación E ₄ :E ₆ ¹								
	P-V _{2016/17}			O-I ₂₀₁₇			Total		
F _{0N} -F	1,79	± 0,29	aA	1,86	± 0,29	bA	1,84	± 0,25	b
Lm _{0N} -Lm	1,68	± 0,18	aA	1,83	± 0,18	bA	1,77	± 0,17	b
Lm _{150N} -Lm	1,60	± 0,45	abA	2,48	± 0,45	abA	2,04	± 0,33	ab
Tr _{0N} -Tr	1,92	± 0,29	aB	3,37	± 0,29	aA	2,66	± 0,24	a
Tr _{150N} -Tr	0,66	± 0,45	bB	2,56	± 0,45	abA	1,61	± 0,33	b
² <i>p</i> -value	0,0037			0,0037			0,0211		

¹ Valores promedio de cada variable ± error estándar. Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Letras mayúsculas en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas entre temporadas. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$);

² *p*-value corresponde al efecto de los factores tratamiento y temporada.

Ensayo 2. En las rotaciones, destacó Zm_{400N}-Lm ya que en ambas temporadas obtuvo el mayor cociente E₄:E₆ (Cuadro 6). En O-I₂₀₁₇, Zm_{250N}-Tr correspondió al tratamiento que generó el menor cociente. A diferencia del Ensayo 1, en este no se percibió influencia temporal, lo cual pudo ser distinguido en la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre ambas temporadas (Apéndice 1).

Para el periodo total de estudio, Zm_{400N}-Lm se mantuvo como el tratamiento que obtuvo la mayor relación E₄:E₆, mientras que Zm_{250N}-Tr figuró con la menor (Cuadro 6).

Cuadro 6. Relación E₄:E₆ por temporada y periodo total de estudio para el Ensayo 2.

Tratamientos	Relación E ₄ :E ₆ ¹								
	P-V _{2016/17}			O-I ₂₀₁₇			Total		
Zm _{250N} -F	1,94	± 0,19	bA	1,84	± 0,22	bA	1,89	± 0,16	b
Zm _{400N} -F	1,88	± 0,19	bA	1,65	± 0,22	bcA	1,76	± 0,16	bc
Zm _{250N} -Lm	2,02	± 0,19	bA	2,19	± 0,22	abA	2,10	± 0,16	ab
Zm _{400N} -Lm	2,52	± 0,21	aA	2,52	± 0,25	aA	2,52	± 0,18	a
Zm _{250N} -Tr	1,73	± 0,19	bA	1,15	± 0,22	cB	1,44	± 0,16	c
Zm _{400N} -Tr	1,51	± 0,21	bA	1,74	± 0,22	bA	1,62	± 0,17	bc
Zm _{250N} -Lm+Tr	1,73	± 0,19	bA	1,91	± 0,22	abA	1,82	± 0,16	bc
Zm _{400N} -Lm+Tr	1,90	± 0,19	bA	2,10	± 0,22	abA	2,00	± 0,16	b
² p-value	0,0396			0,0086			0,0018		

¹ Valores promedio de cada variable ± error estándar. Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Letras mayúsculas en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas entre temporadas. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$);

² p-value corresponde al efecto de los factores tratamiento y temporada.

Percolación de agua de riego

Ensayo 1. En el Cuadro 7 es posible apreciar que F_{0N}-F generó el mayor volumen de percolación acumulada en todas las temporadas evaluadas. Por otro lado, la percolación más baja en O-I₂₀₁₆ estuvo dada por ambos CC de *Lm*, mientras que en las siguientes temporadas por los tratamientos con *Tr*.

Analizando el comportamiento de los tratamientos por temporadas, es posible observar que en P-V_{2016/17} ocurrió un aumento de la percolación por parte de F_{0N}-F, Lm_{0N}-Lm y Lm_{150N}-Lm, mientras que los tratamientos que contienen *Tr* disminuyeron la cantidad de agua percolada durante el mismo periodo. En general la temporada estival estuvo marcada por la mayor percolación acumulada, diferenciándose significativamente de ambos periodos invernales (Apéndice 1).

En síntesis, en el periodo Total se encontró que F_{0N}-F registró la mayor percolación acumulada, seguido de Lm_{0N}-Lm y Lm_{150N}-Lm. Por otro lado, los valores más bajos correspondieron a los tratamientos con presencia de *Tr*.

Ensayo 2. Es posible notar que las rotaciones Zm_{250N}-F y Zm_{400N}-F presentaron el volumen mayor de percolación durante las temporadas invernales (Cuadro 8), pero en el transcurso del periodo estival figuraron con las medias más bajas al comparar entre tratamientos. Contrariamente, los tratamientos que incluyeron a *Lm* (Zm_{250N}-Lm, Zm_{400N}-Lm, Zm_{250N}-Lm+Tr y Zm_{400N}-Lm+Tr) registraron los valores más bajos de agua percolada en periodos invernales, aumentando posteriormente en primavera-verano, cuando el cultivo de maíz fue establecido. En cuanto a las rotaciones Zm_{250N}-Tr, Zm_{400N}-Tr, estas mantuvieron una tendencia similar a lo largo de las tres temporadas de estudio (Cuadro 8).

Cuadro 7. Percolación acumulada promedio del Ensayo 1 para cada temporada de estudio.

Tratamientos	Percolación acumulada ¹²			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	Total
	----- m ³ ha ⁻¹ -----			
F _{0N} -F	2623,18±158,59aB	3659,92±158,59aA	2614,99±158,5aB	8898,09±395a
Lm _{0N} -Lm	1202,68±158,59bC	3214,61 158,59abA	2518,18±158,59aB	6935,48±395b
Lm _{150N} -Lm	1486,0 ±269,19bB	2813,82±269,19bA	2390,95±269,19abA	6690,77±395bc
Tr _{0N} -Tr	2034,70±276,79abA	1126,96±276,79cB	1621,55±276,79bAB	4783,21±395c
Tr _{150N} -Tr	2075,44±269,19abA	1644,59±269,19cB	1770,81±269,19bAB	5490,84±395c
³ p-value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0001

¹ Valores promedio de cada variable ± error estándar;

² Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Letras mayúsculas diferentes en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas entre temporadas. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$);

³ p-value corresponde al efecto de los factores tratamiento y temporada.

Cuadro 8. Percolación acumulada promedio del Ensayo 2 para cada temporada de estudio.

Tratamientos	Percolación acumulada ¹²			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	PT
	----- m ³ ha ⁻¹ -----			
Zm _{250N} -F	2789,40±184,69 aA	2248,62 ±216,01 bA	2832,11±24,43 aA	7870,14 ±354,79a
Zm _{400N} -F	2751,26±184,69 aA	2029,70 ±216,01 bB	2826,47±24,43 aA	7607,42±354,79a
Zm _{250N} -Lm	1196,91±184,69 cB	3116,48 ± 216,01aA	1566,57± 17,41 cB	5879,96±354,79c
Zm _{400N} -Lm	1997,71±184,69 bB	2873,73±216,01abA	1395,91±209,93 cB	6267,34±354,79bc
Zm _{250N} -Tr	2359,43±184,69abA	2724,73±216,01abA	2616,87±209,93 abA	7701,03±354,79a
Zm _{400N} -Tr	2472,73±184,69aA	2345,88±216,01 bA	2254,62±193,11 bA	7073,23±354,79ab
Zm _{250N} -Lm+Tr	1182,73±184,69cB	2870,05±216,01 abA	1541,62±217,41 cB	5594,39±354,79c
Zm _{400N} -Lm+Tr	1347,63±184,69cB	2844,21±216,01 abA	1513,98±119,41 cB	5705,82±354,79c
³ p-value	<0,0001	0,0002	<0,0001	0,0002

¹ Valores promedio de cada variable ± error estándar;

² Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Letras mayúsculas diferentes en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas entre temporadas. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$);

³ p-value corresponde al efecto de los factores tratamiento y temporada.

Al igual que en el Ensayo 1, la temporada estival generó diferencias estadísticamente significativas en comparación a ambos periodos invernales, distinguiéndose por las medias más altas ($p \leq 0,0001$) (Apéndice 1).

Por último, fue posible apreciar que al final de la temporada de estudio los tratamientos que acumularon la mayor cantidad de agua perdida por percolación incluyeron a Zm_{250N}-F, Zm_{400N}-F y Zm_{250N}-Tr. Al contrario, las rotaciones Zm_{250N}-Lm y la mezcla de CC (Zm_{250N}-

Lm-Tr y Zm_{400N}-Lm-Tr) destacaron por conservar los valores más bajos de agua percolada (Cuadro 8).

Finalmente, al comparar entre sistemas (Ensayo 1 y Ensayo 2), se pudo apreciar un comportamiento distinto entre especies acondicionadas a un sistema de CC permanentes y aquellas que se incluyeron dentro de una rotación con maíz. Este es el caso de *Tr* que, para el primer caso, se mantuvo dentro de los tratamientos que percolaron menos agua y en el segundo dentro de los que más.

Balance hídrico

Ensayo 1. Para el cálculo de la evapotranspiración del cultivo (ETc) fue considerada la diferencia entre el agua perdida mediante percolación profunda (PP) y la cantidad de agua aplicada en forma de riegos y cargas.

Luego de tres temporadas de estudio, se observa que Tr_{0N}-Tr presentó la mayor ETc, registrando a la vez la menor percolación. Al contrario, la menor ETc fue alcanzada por F_{0N}-F, siendo a la vez el tratamiento generó la mayor PP (Figura 3).

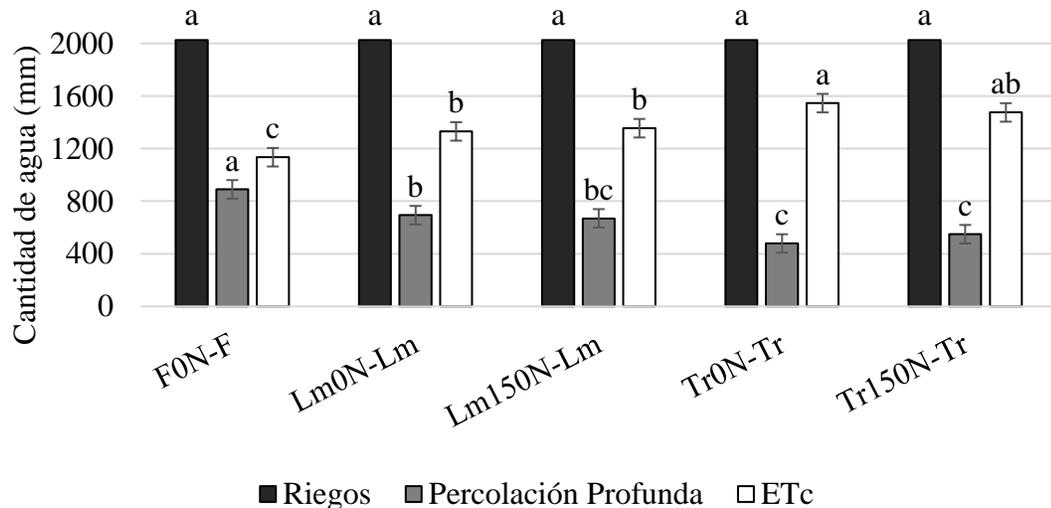


Figura 3. Balance hídrico del periodo Total para las columnas del Ensayo 1.

Ensayo 2. Las rotaciones Zm_{250N}-Lm, Zm_{250N}-Lm+Tr y Zm_{400N}-Lm+Tr registraron la mayor ETc en el periodo total de estudio, siendo al mismo tiempo, parte de los tratamientos que generaron menor cantidad de percolación profunda, junto a Zm_{400N}-Lm (Figura 4).

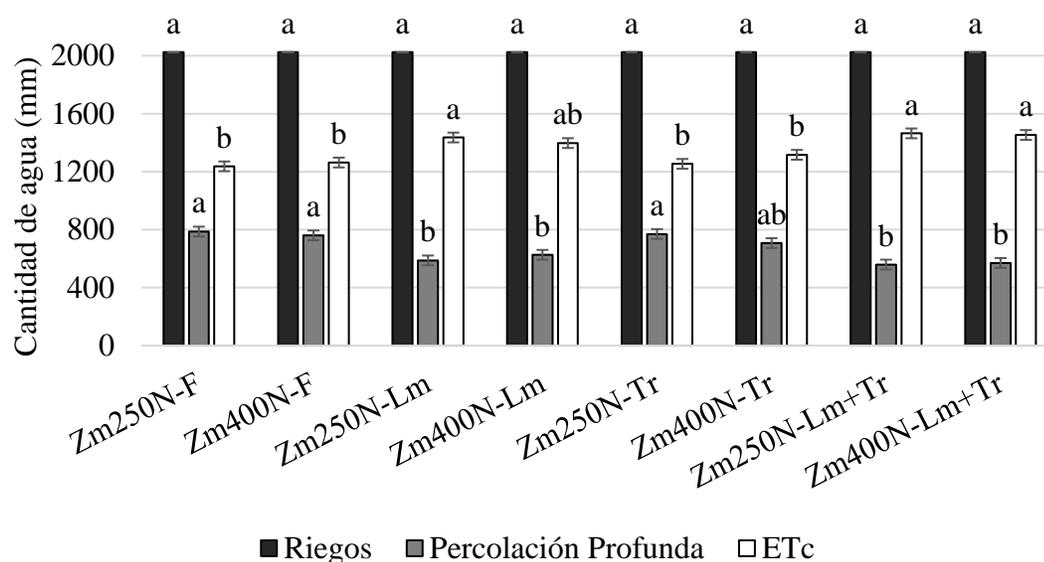


Figura 4. Balance hídrico del periodo Total para las columnas del Ensayo 2.

Carga

Ensayo 1. En el Cuadro 11, es posible apreciar que F_{0N-F} acumuló la carga más alta de COD en las temporadas de O-I₂₀₁₆ y P-V_{2016/17}, produciendo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. En el periodo estival, destacan además Lm_{150N-Lm} y ambas CC de *Tr* por obtener los menores valores de carga de COD. En cuanto al segundo periodo invernal, Lm_{0N-Lm} se convirtió en el tratamiento que acumuló la mayor carga, diferenciándose significativamente de F_{0N-F} y de las praderas permanentes conformadas por *Tr*.

Cuadro 9. Carga acumulada de COD por temporada y periodo Total del Ensayo 1.

Tratamientos	Carga de COD ¹²			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	Total
	----- kg COD ha ⁻¹ -----			
F_{0N-F}	38,22 ± 4,57 aA	45,94 ± 4,57 aA	33,33 ± 3,96 bA	117,49 ± 8,93 a
Lm _{0N-Lm}	21,73 ± 5,79 bB	45,56 ± 5,79 abA	45,71 ± 3,96 aA	113,00 ± 21,25 ab
Lm _{150N-Lm}	33,32 ± 18,26 abA	33,02 ± 4,72 bA	41,16 ± 3,96 abA	107,49 ± 26,27 ab
Tr _{0N-Tr}	28,08 ± 4,57 abA	22,28 ± 4,57 bA	29,56 ± 3,96 bA	79,93 ± 6,62 b
Tr _{150N-Tr}	30,64 ± 5,79 abA	20,46 ± 5,79 bA	28,40 ± 3,96 bA	79,49 ± 6,62 b
³ p-value	0,0209	0,0209	0,0343	0,0027

¹ Valores promedio de cada variable ± error estándar;

² Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Letras mayúsculas diferentes en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas entre temporadas. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$);

³ p-value corresponde al efecto de los factores tratamiento y temporada.

Por otro lado, también es posible observar que el único tratamiento que varió significativamente entre temporadas fue $Lm_{0N}-Lm$, el cual exclusivamente en $O-I_{2016}$ registró la menor carga (Cuadro 9). Aun así, no se encontraron diferencias significativas entre las medias de las tres temporadas analizadas (Apéndice 1).

En el periodo total del estudio, el $F_{0N}-F$ correspondió al tratamiento que mayor carga generó, diferenciándose de ambos CC de Tr que se finalmente produjeron las cargas más bajas de COD.

Ensayo 2. En el periodo de $O-I_{2016}$ se destaca la rotación $Zm_{250N}-F$ por obtener la mayor carga de COD entre tratamientos, cambiando la situación en $P-V_{2016/17}$ donde pasa a formar parte de los tratamientos que menor carga acumularon junto a $Zm_{400N}-F$ y $Zm_{400N}-Tr$. Por otro lado, en la última temporada, $O-I_{2017}$, $Zm_{250N}-Lm$ alcanzó los valores más altos con respecto a los demás tratamientos, diferenciándose de $Zm_{400N}-F$ y las rotaciones que incluyeron la especie Lm (Cuadro 10).

Al analizar la situación por temporada, es posible distinguir la influencia del periodo de establecimiento sobre algunos tratamientos, siendo el caso de $Zm_{250N}-F$ que registró una mayor carga de COD en el último periodo de estudio y la menor durante el periodo estival. De manera distinta actuaron $Zm_{250N}-Lm$, $Zm_{400N}-Lm$ y $Zm_{400N}-Lm+Tr$, ya que resultaron en una menor carga acumulada en las temporadas invernales y la mayor en el periodo estival, similar a lo ocurrido con la percolación. Por otra parte, tanto $Zm_{400N}-F$ como las rotaciones conformadas por $Zm_{250N}-Tr$ y $Zm_{400N}-Tr$ maíz no se vieron afectadas por la temporada de establecimiento (Cuadro 10).

Cuadro 10. Carga acumulada de COD por temporada y periodo Total del Ensayo 2.

Tratamientos	Carga de COD ¹²							
	O-I ₂₀₁₆		P-V _{2016/17}		O-I ₂₀₁₇		Total	
	----- kg COD ha ⁻¹ -----							
$Zm_{250N}-F$	46,95	± 6,30 aAB	30,59	± 1,81 bB	50,88	± 6,84 aA	128,42	± 8,51 a
$Zm_{400N}-F$	35,70	± 6,30 abA	30,44	± 0,90 bA	32,98	± 5,68 bA	99,12	± 9,00 b
$Zm_{250N}-Lm$	26,56	± 6,30 bB	57,19	± 7,74 aA	25,84	± 5,68 bB	109,58	±10,90ab
$Zm_{400N}-Lm$	34,18	± 6,30 abB	55,88	± 14,21abA	20,82	± 11,10bB	110,88	±29,00ab
$Zm_{250N}-Tr$	37,61	± 6,30 abA	38,07	± 7,74 abA	33,81	± 6,84abA	109,49	±10,90ab
$Zm_{400N}-Tr$	33,03	± 6,30 bA	30,34	± 1,81 bA	36,94	± 6,84abA	100,32	± 8,51 b
$Zm_{250N}-Lm+Tr$	20,06	± 6,30 bB	39,48	± 6,71 abA	29,06	± 4,11bAB	88,60	± 8,51 b
$Zm_{400N}-Lm+Tr$	21,69	± 6,30 bB	46,63	± 3,83 abA	26,84	± 4,11 bB	95,17	± 6,09 b
³ <i>p-value</i>	0,0108		0,0023		0,0420		0,0014	

¹ Valores promedio de cada variable ± error estándar;

² Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Letras mayúsculas diferentes en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas entre temporadas. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$);

³ *p-value* corresponde al efecto de los factores tratamiento y temporada.

En general, P-V_{2016/17} destacó por concentrar las cargas de COD más altas en relación a los periodos invernales (Apéndice 1).

Finalmente, Zm_{250N}-F generó la mayor carga de COD en el periodo Total, mientras que Zm_{400N}-F, Zm_{400N}-Tr, Zm_{250N}-Lm+Tr y Zm_{400N}-Lm+Tr figuraron como los tratamientos que concentraron menores montos de carga acumulada.

Experimento 2: Parcelas de campo

Concentración de carbono orgánico disuelto, relación C:N y grado de humificación de los lixiviados

Ensayo 1. En el Cuadro 11, se aprecia que la mayor concentración de COD estuvo dada por el tratamiento Lm_{150N}-Lm, mientras que Lm_{0N}-Lm y Tr_{150N}-Tr concentraron las medias más bajas. Del mismo cuadro se desprende que la mayor relación C:N fue generada por la pradera permanente Lm₀-Lm, la cual se diferenció significativamente de los demás tratamientos. Por otro lado, es posible apreciar que Tr_{0N}-Tr logró la mayor relación E₄:E₆, sin embargo, el análisis no fue significativo, demostrando que no existen diferencias entre tratamientos.

Cuadro 11. Formas disueltas de COD en lixiviados de las parcelas de campo del Ensayo 1.

Tratamientos	Concentración COD FullStop ¹			C:N ²			E ₄ :E ₆ ³		
	----- mg C L ⁻¹ -----			----- kg kg ⁻¹ -----					
F _{0N} -F	61,33	±	22,10 bc	2,14	±	4,33 b	3,61	±	3,02 a
Lm _{0N} -Lm	45,55	±	18,02 c	53,27	±	4,33 a	4,15	±	3,02 a
Lm _{150N} -Lm	127,37	±	17,65 a	13,80	±	5,48 b	7,00	±	4,27 a
Tr _{0N} -Tr	87,83	±	17,63 b	16,00	±	5,81 b	10,87	±	2,46 a
Tr _{150N} -Tr	51,20	±	22,78 c	12,23	±	4,75 b	3,18	±	2,46 a
⁴ p-value	<0,0001			0,0019			0,3365		

¹²³ Valores promedio de cada variable ± error estándar; Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$);

⁴ p-value corresponde al efecto de los factores tratamiento.

Ensayo 2. En el Cuadro 12, se observa que Zm_{400N}-Lm+Tr representa la rotación que obtuvo la mayor concentración de COD en los lixiviados, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos.

Por otro lado, la media más baja la generó Zm_{400N}-F, sin embargo, este se encontró al mismo nivel que todas las rotaciones distintas de Zm_{400N}-Lm+Tr. Adicionalmente Zm_{250N}-F, Zm_{400N}-F, Zm_{400N}-Lm y Zm_{400N}-Tr obtuvieron las relaciones C:N más bajas, diferenciándose de Zm_{250N}-Lm que provocó los cocientes más altos. En cuanto a la relación de absorbancia,

es posible notar que el tratamiento con mayor concentración de COD generó al mismo tiempo la relación E₄:E₆ más alta, sin embargo, este análisis careció de significancia.

Cuadro 12. Formas disueltas de COD en lixiviados de las parcelas de campo del Ensayo 2.

Tratamientos	Concentración COD FullStop ¹		C:N ²		E ₄ :E ₆ ³	
	----- mg C L ⁻¹ -----		----- kg kg ⁻¹ -----			
Zm ₂₅₀ N-F	18,17	± 13,69 b	3,24	± 1,10 b	4,81	± 2,88 b
Zm ₄₀₀ N-F	17,39	± 9,56 b	5,36	± 3,35 b	6,33	± 4,98 ab
Zm ₂₅₀ N-Lm	43,56	± 5,65 b	33,40	± 11,54 a	8,42	± 2,88 ab
Zm ₄₀₀ N-Lm	39,62	± 8,79 b	6,82	± 1,25 b	6,26	± 2,88 b
Zm ₂₅₀ N-Tr	29,75	± 7,72 b	16,97	± 3,73 ab	5,17	± 2,88 b
Zm ₄₀₀ N-Tr	30,82	± 7,43 b	2,11	± 1,24 b	5,82	± 2,88 b
Zm ₂₅₀ N-Lm+Tr	24,83	± 8,46 b	23,11	± 10,32 ab	8,39	± 2,88 ab
Zm ₄₀₀ N-Lm+Tr	72,10	± 9,43 a	22,50	± 11,53 ab	15,46	± 2,88 a
⁴ <i>p-value</i>	0,0191		0,0005		0,2832	

¹²³ Valores promedio de cada variable ± error estándar. Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, según prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$);

⁴ *p-value* corresponde al efecto de los factores tratamiento.

DISCUSIÓN

Experimento 1: Columnas de suelo

Biomasa

Ensayo 1. La biomasa aérea recolectada desde los tratamientos constituye una variable de notable importancia, la cual puede proporcionar un nexo entre la acumulación de MOS y los procesos de descomposición y flujos de agua y C en el suelo, que finalmente intervienen en la lixiviación de COD. Al mismo tiempo, otorga una mayor comprensión sobre la influencia que ejercen los factores FN, tipo de CC y sistema estudiado en el crecimiento de las especies vegetales y su acondicionamiento ante formas distintas de establecimiento y otros factores ambientales como la temperatura.

Es relevante destacar que en la primera temporada invernal (O-I₂₀₁₆) se registraron temperaturas dentro del invernadero por sobre 25 °C, anomalía que habría estimulado el crecimiento (biomasa) de los CC, aumentando la MS acumulada. Como resultado, los rendimientos obtenidos al término de esta temporada podrían encontrarse sobrestimados, divergiendo ampliamente de los estándares establecidos por la empresa de semillas y otros ensayos para este mismo periodo. En este sentido, la ficha técnica de ballica Winter Star II sugiere un rendimiento de 15 Mg MS ha⁻¹ año⁻¹, con su máxima producción durante la temporada estival (12 Mg MS ha⁻¹) y la menor durante el periodo invernal (3 Mg MS ha⁻¹). Integrando esta información, es posible establecer que los rendimientos potenciales de los CC permanentes de ballica del ensayo fueron similares a los esperados, exceptuando a la temporada O-I₂₀₁₆, por los motivos anteriormente expuestos, y a Lm_{0N}-Lm, que redujo considerablemente su MS en el periodo estival.

Cabe señalar que a comienzos del experimento, la biomasa promedio de ambos CC de *Lm* fue un 19% superior al promedio de los CC de *Tr* (Cuadro 3), situación que se invirtió en las temporadas siguientes. Al mismo tiempo, la prueba de contraste señaló que Lm_{0N}-Lm generó en promedio un 29% menos de biomasa que Lm₁₅₀-Lm y que en promedio las praderas permanentes de *Lm* obtuvieron alrededor de un 27% menos de MS que los CC de *Tr* al final del experimento (Apéndice 2). Es probable que estas diferencias se encuentren relacionadas con el agotamiento de las reservas de N por parte de las especies *poaceae*, las cuales no cuentan con un mecanismo de fijación de N atmosférico. Esto concuerda con el estudio de Kramberger *et al.* (2009), quienes atribuyeron la disminución del N mineral disponible en el tiempo a la incorporación de CC compuesto por *poaceae*.

Por otro lado, fue posible observar que no existieron diferencias significativas de biomasa entre los CC permanentes de *Tr* con distinta dosis de fertilización (Apéndice 2). El principal motivo que explicaría este comportamiento se fundamenta en la capacidad que poseen las leguminosas de establecer una simbiosis con bacterias fijadoras de N atmosférico, las cuales se alojan en los nódulos de sus raíces, confiriéndoles un mayor potencial para crecer en suelos carentes de N (Dixon y Tilston, 2010). Adicionalmente, se ha evidenciado que las praderas de trébol logran abastecerse con sobre un 80% de N generado mediante fijación simbiótica

de N₂, compensando la demanda por este nutriente (Oberson *et al.*, 2013; Anglade *et al.*, 2015; Louarn *et al.*, 2015).

El incremento de las temperaturas durante el primer periodo invernal también intervino en el resultado final del rendimiento de las especies *Tr*. En este sentido, diversas pruebas realizadas en la Región Metropolitana indicaron que el trébol blanco alcanzó tasas máximas de crecimiento hacia fines de primavera e inicios de verano (sobre 80 kg MS ha⁻¹ día⁻¹), disminuyendo a valores inferiores a 20 kg MS ha⁻¹ día⁻¹ en el periodo invernal (Squella, 2011). Como se detalla en el Apéndice 3, ambos CC de *Tr* superaron ampliamente el promedio esperado para la temporada de otoño-invierno en los dos periodos equivalentes, alcanzando diferencias de hasta un 77%. Es probable que las condiciones de ambiente controlado sean la principal causa de los altos rendimientos obtenidos para los tratamientos de este ensayo al eliminar la incidencia negativa de factores externos que puedan perjudicar el desarrollo de los cultivos.

Ensayo 2. Cuando se establecen rotaciones de cultivos, es necesario determinar los requerimientos tanto nutricionales como de radiación y espacio que poseen las distintas especies involucradas, con el fin de disminuir la competencia por recursos entre ellas. La combinación correcta de dosis de fertilización y especie sería determinante al momento de evaluar la sustentabilidad y productividad de un sistema rotativo en el tiempo. En este sentido, algunos autores han indicado que las pasturas conformadas por poblaciones vegetales heterogéneas generan una mayor cantidad de biomasa en comparación a los monocultivos (Marquard *et al.*, 2009; Mommer *et al.*, 2010; van Moorsel *et al.*, 2018). Simultáneamente, la acumulación de patógenos en ambientes de baja diversidad, promueve la mortalidad de especies que es dependiente de la densidad (efecto Janzen-Connell), limitando la productividad debido a la alta presión de patógenos específicos (Petermann *et al.*, 2008; Kulmatiski *et al.*, 2012). Estos antecedentes permitirían suponer que la inserción de CC compuestos por la mezcla de especies resultaría en mayores beneficios para un sistema de rotación en términos de rendimiento. No obstante, los únicos contrastes significativos se dieron entre el promedio de Zm-F y Zm-CC, como era de esperarse debido a la ausencia de MS por parte de las rotaciones con barbecho en las temporadas invernales y entre Zm-Tr y Zm-Lm+Tr, independiente de la dosis de FN; adicionalmente, Zm-Lm+Tr en promedio superó en un 33% al promedio de rotaciones con *Tr* (Apéndice 2).

Considerando que Zm_{250N}-Lm+Tr se compone de una mayor diversidad de especies el efecto de este sistema sobre los rendimientos de los CC y el maíz resultó positivo, en la medida que se asoció a una correcta dosis de FN. El principio se basa en la complementariedad de especies en el uso de los recursos, a través del particionamiento de la materia orgánica del suelo (MOS) y/o la ocupación de variados nichos ecológicos a partir de diferencias en la profundidad de raíces que promueven el consumo de los nutrientes en distintos horizontes (Roscher *et al.*, 2008; Mueller *et al.*, 2013).

Al mismo tiempo pueden existir efectos adversos en cuanto al rendimiento de maíz establecido luego de especies *poaceae* producto del agotamiento de los nutrientes en el suelo (Justes, 2017; Kramberger *et al.*, 2014). Sin embargo, en el ensayo los rendimientos de *Zm* luego de la temporada de O-I₂₀₁₆ fueron menores, independiente de la especie vegetal

anteriormente establecida (Cuadro 4). Similarmente, algunos autores expusieron que el efecto de los CC sobre el rendimiento de maíz no fue significativo, pero sí la absorción de N por parte del maíz al ser establecido luego de especies *fabaceae* (Gabriel y Quemada, 2011; Gabriel *et al.*, 2016). Kramberger *et al.* (2009) encontraron que el rendimiento de *Zm* en rotaciones con leguminosas excedió significativamente a los rendimientos de *Zm-F* y *Zm-Lm*. Sin embargo, este resultado tampoco coincidió con la investigación actual debido a la alta variabilidad de las medias obtenidas en el periodo estival.

Adicionalmente, la MS de todos los CC del Ensayo 2 establecidos durante periodos invernales, fue altamente contrastante de un año a otro (Apéndice 1). Esta variación, podría esclarecerse debido a las mismas razones que explicarían la variabilidad de la biomasa en el Ensayo 1, es decir a la influencia del factor temperatura que habría estimulado el crecimiento de las especies vegetales.

Finalmente fue posible establecer que las especies del Ensayo 1 superaron los rendimientos de las especies del Ensayo 2 en casi un 30% ($p < 0,05$), según la prueba de contrastes (Apéndice 2), lo cual podría asociarse a una menor cantidad de biomasa incorporada y a mayores disturbios en la preparación del suelo para establecer nuevos cultivos, conduciendo a pérdidas más significativas de C por oxidación que, por consiguiente, afectarían la sustentabilidad de los suelos para producir rendimientos más altos (Majumder *et al.*, 2018).

Análisis de lixiviados: Concentración de carbono orgánico disuelto, relación C:N y grado de humificación

Ensayo 1. Los aportes orgánicos generados por la incorporación de residuos derivados de plantas vasculares podrían explicar la diferencia promedio de 22% para la concentración de COD entre los CC y el barbecho continuo del Ensayo 1 (Apéndice 4). Esto se basa en que una importante fracción del COD presente en el suelo se origina a partir de las entradas de materia orgánica en horizontes superficiales, la solubilización de la MOS y el aporte de restos de raíces y exudados radiculares (Kaiser y Kalbitz, 2012; Xu *et al.*, 2018). Sin embargo, el análisis de correlación lineal entre MS y concentración COD no mostró una relación significativa (Apéndice 5), sugiriendo que la formación y dinámicas que experimenta el COD en el suelo involucraría a más factores, tales como la actividad microbiana, que es capaz de regular los procesos de despolimerización e ionización, aumentando la solubilidad y reactividad de moléculas previamente no polares (Kleber *et al.*, 2015); la estabilización de la MOS por parte de la sorción inducida por las superficies minerales y/o complejación con cationes metálicos (Kaiser y Kalbitz, 2012) y; las propiedades hidráulicas del suelo asociadas a un cambio en la estructura suscitada por las entradas de materia orgánica y distinta arquitectura de raíces (Fageria y Moreira, 2011), registrándose beneficios en la agregación y junto con ello la capacidad de retención de agua al incluir CC (Hubbard *et al.*, 2013; Basche *et al.*, 2016).

Otros estudios han establecido una relación inversamente proporcional entre el COD y el NO_3^- (Evans *et al.*, 2008; Cheng *et al.*, 2017), cuyo principio se basa en la desnitrificación, impulsada por el estímulo de los microorganismos anaeróbicos del suelo que ven en el COD

una fuente energética fácilmente disponible para generar este proceso y para la mantención de sus necesidades metabólicas (Xu *et al.*, 2011a) y al pH del suelo como un regulador de la actividad microbiana y disociador de compuestos orgánicos que finalmente pueden incurrir variaciones en la generación de COD (Xiao *et al.*, 2013).

Pese a ello, el único contraste estadísticamente significativo fue encontrado al comparar ambos CC permanentes de *Tr*, donde la concentración de COD en Tr_{0N} -*Tr* superó en un 22% a Tr_{150N} -*Tr*. En cuanto a *Lm* no se encontraron diferencias significativas para el factor FN (Apéndice 4).

Adicionalmente, se ha descrito una relación proporcional entre el COD y el NOD, los cuales son liberados desde la misma fuente, es decir la MOD (Liu *et al.*, 2016). Sin embargo, en este estudio se obtuvieron correlaciones lineales bajas que fueron aumentando en el tiempo, pero en todos los casos la prueba careció de significancia (Apéndice 5).

Para entender mejor las fluctuaciones en la concentración de COD que experimentaron los tratamientos, es preciso establecer un vínculo con la relación C:N de las formas disueltas, la cual representa en parte la cantidad de C presente en las estructuras vegetales de las especies estudiadas. Kindler *et al.* (2011), encontraron una asociación positiva entre el COD y la relación C:N. Sin embargo y pese a que ambas variables se asociaron proporcionalmente en este ensayo, la prueba de correlación lineal no fue significativa (Apéndice 5).

Por otro lado, se ha descrito que una relación C:N aproximada de 25:1 correspondería al umbral que determina el proceso de mineralización/inmovilización de N, bajo el cual la descomposición de residuos de plantas vasculares ocurriría sin inducir la inmovilización de N (Paul, 2015). Siguiendo esta lógica, es probable que los tratamientos con leguminosas junto a F_{0N} -F, favorecieran la mineralización de N a lo largo de las tres temporadas estudiadas, expresada en menores relaciones C:N (Cuadro 3). En el caso del tratamiento de barbecho la falta de asimilación de N por parte de un cultivo podría estar promoviendo la mayor pérdida de nitrógeno inorgánico disuelto (NID). Al mismo tiempo, la mineralización de N para F_{0N} -F durante O-I₂₀₁₆ y P-V_{2016/17} podría encontrarse mediada principalmente por las altas temperaturas registradas dentro del invernadero. En este sentido, Miller y Geissler (2018) encontraron que el incremento de la temperatura afectó positivamente la actividad microbiana y en respuesta a ello la mineralización neta de N.

De acuerdo a Kramberger *et al.* (2009), los residuos de especies *fabaceae* poseen una menor relación C:N en comparación a los residuos de *Lm*, liberando cantidades más altas de N mineralizado. En este sentido, Lm_{150N} -*Lm* indujo el proceso de inmovilización de N, lo cual es consistente con las mayores relaciones C:N de los lixiviados y la menor concentración de NID (Apéndice 6). Con estos antecedentes es posible inferir que *Lm* posee una mayor capacidad para absorber N inorgánico, coincidiendo con Valkama *et al.* (2016), quienes luego del establecimiento de CC del género *Lolium* lograron reducir la lixiviación de NID en un 35%.

Ensayo 2. Si bien fue descrita anteriormente una relación inversamente proporcional entre el COD y el NO_3^- , en este ensayo no se distinguieron diferencias estadísticamente

significativas para la concentración de COD entre las rotaciones con distinta dosis de FN (Apéndice 4). Camino-Serrano *et al.* (2016) reportaron efectos positivos en la adición de N en la lixiviación de COD, mientras que otros autores han evidenciado efectos contrarios (Hagedorn *et al.*, 2012; Lu *et al.*, 2013) e incluso neutros (Lovett *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2016), manifestando declaraciones variables en cuanto al comportamiento del COD frente a la adición de N. Estas diferencias pueden ser vinculadas con la incidencia de las distintas formas de N sobre el pH del suelo, la adsorción de COD por la superficie mineral, los efectos del desarrollo de biomasa en las plantas y la descomposición de los residuos vegetales, interviniendo sobre un amplio espectro de procesos de competencia que generan y consumen el COD (Evans *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2016).

Adicionalmente, también se observó la influencia de los aportes de materia orgánica vegetal, donde las concentraciones de COD en las rotaciones Zm-CC fueron en promedio un 17% superior a los tratamientos Zm-F independiente de la dosis de fertilización (Apéndice 4), probablemente debido a la mayor cantidad de material biológico incorporado al suelo. Lo mismo ocurrió al realizar una comparación entre especies de CC, donde en promedio las concentraciones de COD de las rotaciones Zm-Lm y Zm-Lm+Tr fueron un 31% y 23% superior, respectivamente, al promedio de Zm-Tr (Apéndice 4), lo cual estaría asociado a diferencias en la cantidad de biomasa generada y la disminución en la concentración de NID (Apéndice 8) al incorporar a *Lm* al sistema. Contrariamente, el contraste no significativo entre las rotaciones Zm-Lm y Zm-Lm+Tr (Apéndice 4) estaría simulando que no existieron diferencias para la concentración de COD entre ambas, lo cual coincide con la comparación de medias para MS (Apéndice 2).

Pese a estos antecedentes, sólo fue posible encontrar un análisis de correlación lineal significativo entre MS y concentración de COD para la última la temporada invernal evaluada (Apéndice 7). Por lo tanto, y al igual que en el Ensayo 1, es probable que se requiera de la evaluación de la actividad microbiana, así como la adsorción de COD por parte de las arcillas, para aproximarse a una comprensión más asertiva con respecto al comportamiento del COD dentro del suelo y solución suelo.

Por otra parte, los resultados obtenidos al visualizar la relación C:N, sugirieron que durante la primera temporada de establecimiento todos los tratamientos se encontraron promoviendo el proceso de mineralización de N, lo cual se observó en mayores concentraciones de NID (Apéndice 8) y que podría estar asociado con el aumento de la temperatura dentro del invernadero. En este sentido, se ha evidenciado una relación proporcional entre tasa de mineralización de N y la temperatura del suelo, la cual es más intensa al alcanzar temperaturas entre 25°C y 35°C (Song *et al.*, 2018; Guntiñas *et al.*, 2012). Esto podría interpretarse debido a un rápido consumo de la materia orgánica, producto de una mayor despolimerización de la misma en respuesta a una actividad más intensa de las enzimas catalizadoras generadas por los microorganismos (Lawrence *et al.*, 2009). Estas enzimas generan unidades monoméricas libres, tales como azúcares y aminoácidos, en respuesta al incremento de la temperatura, aumentando de este modo la velocidad de descomposición de la MOS en comparación a temperaturas más bajas (Conant *et al.*, 2011).

En cuanto a la correlación entre la concentración de COD y la relación C:N fue posible establecer una asociación lineal positiva y significativa para los periodos invernales, no así

para el periodo estival (Apéndice 7). De esta información es posible inferir que los CC al conformarse por distintas especies y por lo tanto tipos de tejidos, ejercen diferencias más notorias que el maíz en el resultado final de COD. A diferencia del Ensayo 1, se encontró una correlación lineal significativa entre el COD y el NOD (Apéndice 7), lo cual estaría validando la relación proporcional que existe entre ambas variables en sistemas de rotaciones.

Por otro lado, la menor relación C:N experimentada por los tratamientos Zm_{400N}-F, Zm_{250N}-Tr y Zm_{400N}-Tr podría traducirse en una mayor acumulación de NID (Apéndice 8) y menor de COD, donde posiblemente el proceso de mineralización fue más intenso o bien ocurrió una menor traslocación de C a la solución suelo. Al contrario, Zm_{250N}-Lm, Zm_{400N}-Lm y Zm_{400N}-Lm+Tr que destacaron por las relaciones C:N más altas, obtuvieron concentraciones menores de NID y más altas de COD. Esto puede explicarse debido a las mayores tasas de reparto de C hacia las raíces, evidenciadas principalmente en praderas con mixtura de especies, seguidas de cereales, leguminosas y oleaginosas en orden descendente (Mathew, *et al.*, 2017) y a la reducción de hasta en un 35% de las pérdidas de NID vía lixiviación al incluir CC de especies del género *Lolium* (Valkama *et al.*, 2015). A diferencia, las leguminosas aumentarían la cantidad de N en el suelo, que potencialmente podría permanecer disponible para el cultivo siguiente (Quemada *et al.*, 2013).

Es posible inferir que tanto la concentración de COD como la relación C:N de los CC estudiados en este ensayo se encontrarían principalmente reguladas por la especie vegetal que determina la cantidad de MS generada, el N mineralizado y el momento de medición, predominando generalmente las mayores medias en las rotaciones donde prevalecieron las especies gramíneas.

Finalmente, al comparar entre sistemas adaptados a praderas permanentes y rotaciones, se pudo distinguir que en contraste los CC de *Lm* del Ensayo 1 se mantuvieron en promedio un 21% inferior a las rotaciones Zm-Lm del Ensayo 2 (Apéndice 4). Esta información podría revelar que la incorporación de *Lm* al sistema de rotación aumentaría la cantidad de COD traslocada a la solución suelo al existir una mayor cantidad de especies gramíneas con alto contenido de C en su estructura (Mathew *et al.*, 2017). La misma prueba realizada con *Tr* entre ambos ensayos no mostró diferencias estadísticamente significativas, indicando que el trébol blanco supondría una especie que no provoca fluctuaciones significativas de COD en la solución suelo frente al cambio de sistema.

Grado de humificación. Diversos autores han investigado sobre la existencia de una relación entre la concentración de COD y la absorbancia de la luz en el espectro ultravioleta (UV), siendo utilizada comúnmente para identificar cambios en la proporción de C hidrofóbico (C de naturaleza aromática, recalcitrante) (Dawson *et al.*, 2009; Bolan *et al.*, 2011; Piccolo *et al.*, 2018). Este tipo de análisis posee una amplia gama de aplicaciones, como por ejemplo en ambientes acuáticos es comúnmente utilizado para medir el potencial de biodegradación de COD (Kwak *et al.*, 2013). Adicionalmente, se ha descrito que biomoléculas con mayor grado de hidrofobicidad (alquilo de cadena larga o compuestos aromáticos) presentes en la solución suelo, son degradadas a una tasa más lenta (Piccolo *et al.*, 2018).

Los altos cocientes de absorbancia encontrados en la pastura de Tr_{0N} -Tr del Ensayo 1 y las rotaciones Zm_{250N} -Lm y Zm_{400N} -Lm del Ensayo 2 podrían indicar la abundancia de formas disueltas en los lixiviados de menor tamaño molecular y mayor presencia de estructuras alifáticas por sobre las aromáticas (Xu *et al.*, 2018). Sin embargo, Song *et al.* (2014) percibieron que la relación $E_4:E_6$ estuvo relacionada directamente con el aumento de las fracciones de C orgánico en el suelo y las SH. Es probable que estas sustancias, al ser más estables químicamente, sean degradadas por los microorganismos a una tasa más lenta, logrando almacenarse durante décadas en el suelo, contribuyendo positivamente a la capacidad de intercambio catiónico y al secuestro de C que, posteriormente reduciría las concentraciones de CO_2 atmosférico (Theng, 2012; Song *et al.*, 2014).

Otros estudios han descrito que el COD, al ser un compuesto lábil, podría estabilizarse biótica o abióticamente de manera más rápida a través de la síntesis de polímeros de mayor complejidad que el material originario (Ghani *et al.*, 2013). Por otro lado, también se ha propuesto que el peso molecular correspondería a una de las principales características que determinan la capacidad de degradación del COD, donde las sustancias de menor peso se asimilan a una tasa más rápida en comparación con los polímeros de alto peso molecular (Jan *et al.*, 2009; Walker *et al.*, 2016), determinando a su vez la resistencia a la descomposición del material orgánico (Ogle *et al.*, 2012). Sin embargo, la materia orgánica de mayor antigüedad puede contener sustancias de menor peso molecular, como proteínas y polisacáridos, derivadas de los microorganismos, siendo capaces de persistir en el suelo durante los procesos de descomposición y humificación, resguardando a la vez la teoría que emplaza a la actividad microbiana como el principal agente estabilizador de la MOS (Chabbi y Rumpel, 2009).

Por otro lado, existen evidencias de una fuerte correlación entre las SH y el COD (Xu *et al.*, 2011b), al igual que una relación inversa entre el cociente $E_4:E_6$ y el peso molecular de las SH (Chen *et al.*, 1977), con lo cual se podría relacionar la abundancia de compuestos de bajo peso molecular con altos índices de absorbancia $E_4:E_6$. No obstante, el análisis de correlación lineal, entre la concentración de COD y la relación $E_4:E_6$, aunque demostró una tendencia proporcional, no fue significativo en ninguno de los periodos analizados para ambos ensayos (Apéndices 5 y 7). Por lo tanto, es posible asociar que la mayor presencia de compuestos lábiles en los tratamientos que igualmente obtuvieron altos cocientes $E_4:E_6$ se encontrarían relacionados principalmente a la abundancia de materia orgánica en proceso de humificación independiente de la especie y dosis de FN.

Si bien es probable que la relación de absorbancia se encuentre mediada por la constitución C:N de los tejidos vegetales incorporados al suelo, solo fue posible encontrar una correlación lineal significativa al evaluar el periodo total de estudio en el Ensayo 2 (Apéndice 7).

En síntesis, es posible establecer que en ambos ensayos los tratamientos con mayor relación $E_4:E_6$ y concentración de COD poseen las siguientes características: (i) abundan las formas lábiles de C orgánico, es decir partículas de menor peso molecular; (ii) los compuestos se encontrarían más disponibles para los microorganismos y por lo tanto más expuestos a ser procesados y participar de la formación de sustancias más complejas; (iii) los lixiviados corresponderían a un humus en proceso de humificación; (iv) al ser compuestos altamente

reactivos existe una mayor capacidad de adsorción de estos materiales por parte de los minerales del suelo, beneficiando el secuestro de C.

Percolación de agua de riego y balance hídrico

Ensayo 1. La principal causa por la cual el tratamiento de barbecho continuo habría generado la mayor percolación acumulada, correspondería a la ausencia de vegetación que a través de sus raíces son capaces de absorber agua y nutrientes disponibles en el suelo para generar el proceso de fotosíntesis. Esto puede ser respaldado mediante la prueba de contrastes, donde la percolación acumulada del tratamiento F_{0N-F} fue un 33% superior a los CC (Apéndice 9), lo cual es a la vez es demostrado por las menores salidas de agua mediante ET_c (Fig. 3). Las diferencias entre estos tratamientos se pueden explicar debido a la existencia de una relación inversamente proporcional entre la MS y la percolación (Fig. 5). Adicionalmente en todas las temporadas estudiadas se produjo una alta correlación lineal positiva entre la MS y la ET_c (Apéndice 5), lo cual, podría validar el supuesto de que mientras más biomasa acumulan las especies vegetales mayor es la tendencia de generar una alta ET_c (de Almeida *et al.*, 2018; Greenwood *et al.*, 2009).

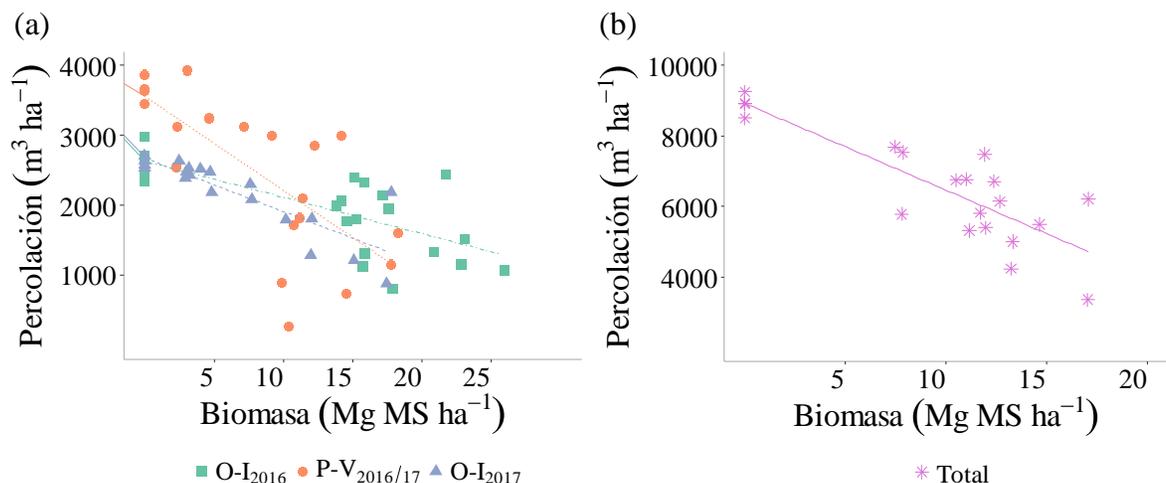


Figura 5. Regresión lineal entre biomasa y percolación para cada temporada de estudio del Ensayo 1. Ecuación de la recta y coeficiente de determinación (R^2) de acuerdo con la temporada estudiada, (a) O-I₂₀₁₆: $y = -51,981x + 2631,7$, $R^2 = 0,4784$ ($p = 0,0007$); P-V_{2016/17}: $y = -134,78x + 3561,7$, $R^2 = 0,5254$ ($p = 0,0003$); O-I₂₀₁₇: $y = -76,305x + 2673$, $R^2 = 0,7159$ ($p < 0,0001$) y (b) Total: $y = -82,334x + 8925,3$, $R^2 = 0,7208$ ($p < 0,0001$).

Por otro lado, no se observaron diferencias estadísticamente significativas para el factor FN (Apéndice 9), pese a que estudios detallaron un incremento en el peso y el largo de las raíces a mayores tasas de FN, favoreciendo la cantidad de sitios explorados para extraer agua (Fageria y Moreira, 2011). Sin embargo, sí se encontraron diferencias para el factor CC, destacando a la especie *Lm* que registró en promedio un 25% más de percolación acumulada que los CC de *Tr* (Apéndice 9), como consecuencia de una menor cantidad de MS acumulada total para las praderas gramíneas en comparación a las leguminosas.

Finalmente, fue posible corroborar la existencia de una correlación lineal alta y negativa entre la percolación y la ETc, debido a que ambas se encuentran estrechamente relacionadas con las entradas y salidas de agua desde un sistema (Allen *et al.*, 1998).

Ensayo 2. En este ensayo también fue posible observar una relación inversamente proporcional para las variables biomasa y percolación (Fig. 6), lo cual, al mismo tiempo, pudo corroborarse mediante el análisis de correlación lineal, indicando una asociación lineal negativa entre ambas y significativa para todas las temporadas evaluadas (Apéndice 7). Adicionalmente, el desarrollo de MS implicó un aumento de la ETc, lo que pudo expresarse a través de una alta correlación lineal positiva entre dichas variables. Esto puede fundamentarse en que los CC, al aumentar la producción de biomasa, estimularían también la superficie de raíces y la eficiencia de estas mismas para extraer agua. Por consiguiente, la transpiración aumentaría, llegando a alcanzar cifras de hasta un 85% de agua liberada mediante esta vía (Greenwood *et al.*, 2009). Así mismo, el análisis demostró una relación inversamente proporcional entre la ETc y la percolación (Apéndice 7).

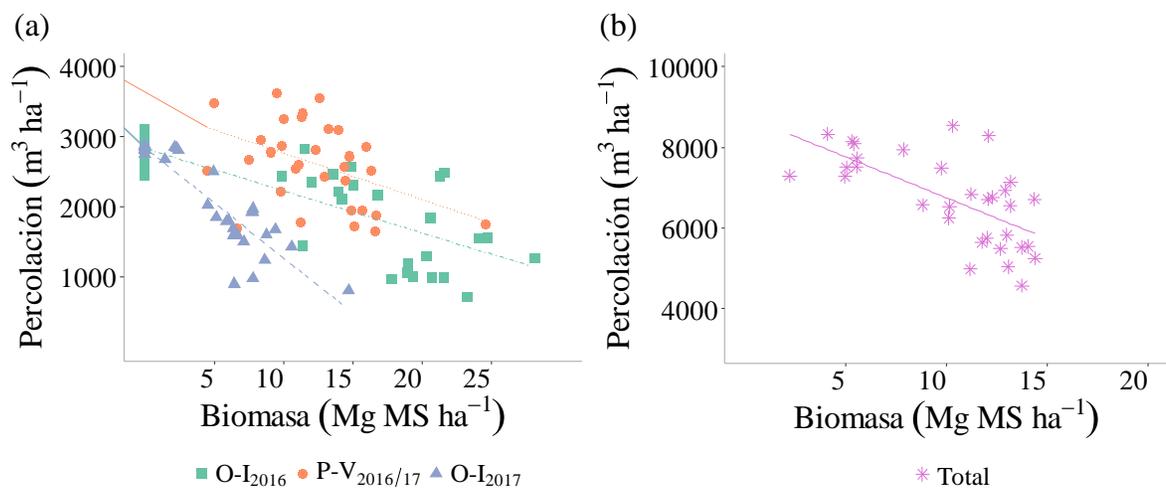


Figura 6. Regresión lineal entre biomasa y percolación para cada temporada de estudio del Ensayo 2. Ecuación de la recta y coeficiente de determinación (R^2) de acuerdo con la temporada estudiada, (a) O-I₂₀₁₆: $y = -60,36x + 2832$, $R^2 = 0,5553$ ($p < 0,0001$); P-V_{2016/17}: $y = -53,637x + 2982,9$, $R^2 = 0,3097$ ($p = 0,0032$); O-I₂₀₁₇: $y = -156,83x + 2841,2$, $R^2 = 0,8018$ ($p < 0,0001$) y (b) Total: $y = -179,65x + 8136,3$, $R^2 = 0,4905$ ($p < 0,0001$).

Por otro lado, no se distinguió una influencia directa del factor FN sobre el resultado final de percolación (Apéndice 9), pero sí del factor CC, distinguiéndose contrastes significativos entre los tratamientos que incluyeron al barbecho dentro de la rotación y aquellos donde se mantuvo la cobertura vegetal, siendo consistente con la relación inversa entre biomasa y percolación. Al mismo tiempo, *Tr* mantuvo contrastes significativos con respecto a las demás rotaciones, observándose además que los CC de *Tr* del Ensayo 1 percolaron menos agua con respecto a las rotaciones Zm-Tr del Ensayo 2 (Apéndice 9).

Esto podría explicarse debido a que las praderas, al generar más MS en el Ensayo 1, lograrían disminuir el contenido de agua de los primeros 30 cm incluso a tensiones inferiores a -1,5 MPa (Horne y Scotter, 2016). Además, la mayor variedad de especies con sistemas radiculares distintos en el Ensayo 2, pudo haber suscitado más cambios estructurales en el suelo. Según Qiao *et al.* (2015), las raíces de maíz se concentran alrededor de los 60 cm de profundidad, lo cual les permite una mayor exploración del suelo, pero a la vez se encontrarían generando canales preferenciales que aumentan el drenaje de agua. Adicionalmente, el disturbio ocurrido durante la preparación del suelo para establecer nuevos cultivos, puede conducir a pérdidas más significativas de C por oxidación, afectando la sustentabilidad de los suelos para producir rendimientos más altos (Majumder *et al.*, 2018).

Al contrario de *Tr*, *Lm* se distingue por su rápido establecimiento, alta generación de macollos y una densa arquitectura radicular (Loges *et al.*, 2018; Squella, 2011), la cual se concentra en los primeros 25 cm, que comúnmente es donde se encuentra la mayor disponibilidad de nutrientes (Malcolm *et al.*, 2015). Estas características podrían explicar la disminución de la cantidad de agua percolada en las rotaciones que incluyeron a *Lm* en comparación a *Tr*, evitando así importantes fugas de agua en los periodos invernales.

En cuanto al incremento de la percolación durante el periodo estival con respecto a las temporadas invernales, es probable que se deba al mayor número de cargas aplicadas para generar lixiviación, siendo independiente de la cantidad de riegos recibidos (Apéndice 12b).

Finalmente, es posible relacionar que aquellos tratamientos que generaron la menor cantidad de MS, es decir, Zm_{250N-F} , Zm_{400N-F} y $Zm_{250N-Tr}$, consiguieron los valores más altos de agua perdida por percolación y se ubicaron dentro de las rotaciones que obtuvieron en promedio las medias más bajas de ETc. En cambio, las rotaciones que produjeron más MS, es decir, $Zm_{250N-Lm}$ y $Zm_{250N-Lm+Tr}$ y $Zm_{400N-Lm+Tr}$, acumularon menos agua percolada, aumentando al mismo tiempo la cantidad de agua evapotranspirada.

Carga

Ensayo 1. Es posible identificar que los tratamientos con mayor carga de COD también alcanzaron los valores de percolación más altos, exceptuando a F_{0N-F} en O-I₂₀₁₇. Se describió anteriormente que la carga consistía de dos variables para su cálculo, estas son: concentración y percolación, por lo cual ambas suponen ser las variables que más influencia ejercen sobre la carga de COD. Sin embargo, la prueba de correlación lineal expuso una dependencia directa entre carga y concentración de COD, siendo significativa solo en la primera temporada evaluada (Apéndice 5). Por otro lado, el mismo análisis entre carga y percolación mostró una correlación lineal media para las temporadas invernales y alta para el periodo estival (Apéndice 5), en todos los casos significativa, lo cual puede asociarse a la diferencia en el número de cargas aplicadas durante ambos periodos (Apéndice 12a). Es posible que además de las variables anteriores existan otras que intervengan en el comportamiento de la carga de COD, como la MS y la ETc, ya que ambas se correlacionaron negativamente con esta variable, dada la alta influencia que ejercen sobre la percolación (Apéndice 7).

Considerando los antecedentes anteriores, la ausencia de MS en el tratamiento F₀-F condujo a altas cantidades de agua percolada, lo que habría repercutido en la mayor carga acumulada de COD durante los primeros periodos estudiados. Contrario a esto y Vinther *et al.* (2006) obtuvieron cargas de COD más bajas en suelos de barbecho en relación a los tratamientos con praderas permanentes, pero también postularon que esta diferencia podría asociarse a una mayor lixiviación de COD hacia horizontes más profundos, que por lo tanto habría disminuido su concentración en las estratas más superficiales.

Al contrario del barbecho continuo, en general la especie *Tr* provocó la menor percolación total (Cuadro 7), la cual puede asociarse a una mayor estabilidad temporal de la generación de MS, como efecto de la fijación simbiótica de esta especie independiente de la FN. Además, los CC de *Lm* condujeron a una mayor carga acumulada de COD que los CC de *Tr* (Apéndice 10), posiblemente debido a la mayor cantidad de percolación generada por las especies gramíneas (Apéndice 9).

Es probable que la mayor incorporación de biomasa aérea al suelo junto a una creciente actividad de las raíces habrían contribuido a la concentración de COD a través de exudados radiculares y la misma descomposición de raíces finas (Wang *et al.*, 2016).

No obstante, tanto la concentración de COD como la relación E₄:E₆, fueron significativamente más altas para el tratamiento Tr_{0N}-Tr. Esto último indicaría que la pastura de *Tr* sin fertilizar generaría una acumulación de MOS de mayor calidad y con una alta presencia de compuestos lábiles, los cuales lograrían mantenerse en el sistema sin ser exportados en cantidades significativas hacia otros ambientes.

Ensayo 2. En este ensayo la percolación y concentración de COD también mantuvieron una estrecha relación con la carga, lo cual pudo ser apreciado en el análisis de correlación lineal. En este se observó una asociación positiva entre la carga y las variables percolación y concentración de COD para todas las temporadas evaluadas (Apéndice 7). Esto es consecuente con la literatura, donde se ha propuesto que la lixiviación total de COD se encuentra controlada principalmente por la cantidad de C incorporado, la naturaleza lábil de la MOD y la velocidad de flujo del agua, registrándose oportunidades favorables para la adsorción y la degradación de moléculas orgánicas cuando menor es la percolación (Sparling *et al.*, 2016). Adicionalmente, la MS se correlacionó negativamente con la carga, aunque solo durante las temporadas invernales fue significativa, lo cual podría asociarse a la alta variabilidad que presentaron los datos de rendimiento de maíz durante el periodo estival. Por otro lado, en todos los periodos existieron correlaciones significativas entre la carga y la ETc, probablemente debido a la estrecha relación que poseen ambas con la percolación y la MS.

Los análisis anteriores permitirían generar un vínculo entre la mayor carga de COD que figuró Zm_{250N}-F en el periodo total y la alta percolación de agua acumulada. Por otra parte, la baja carga derivada de las rotaciones Zm_{400N}-F, Zm_{400N}-Tr, Zm_{250N}-Lm+Tr y Zm_{400N}-Lm+Tr podría explicarse debido a las menores concentraciones de COD por parte de las dos primeras y los menores montos de percolación que generaron las mezclas de especies. En general, las rotaciones que incluyeron la mezcla de CC alcanzaron la menor carga en las temporadas invernales, es decir, en su periodo correspondiente de establecimiento,

destacando por la alta productividad de MS que consecuentemente habría disminuido la percolación. Por otro lado, los menores registros de carga asociados a las rotaciones Zm-F con ambas dosis de N y Zm_{400N}-Tr en el periodo estival, podrían deberse a las bajas concentraciones de COD en los lixiviados producto de la menor acumulación de materia orgánica en el tiempo.

En general se pudo distinguir montos más altos de carga de COD en el periodo estival, lo cual además del mayor número de cargas aplicadas podría asociarse a cambios estructurales en el suelo generados por el cultivo de *Zm*. En este sentido, He *et al.* (2017), encontraron que, en los primeros años de rotación, durante el ciclo de *Zm*, aumentó el drenaje del suelo debido a la distorsión de la estructura inicial del sistema provocada por las raíces de esta especie, generando grietas y como consecuencia un aumento en la lixiviación de COD. Adicionalmente, Manninen *et al.* (2018) predijeron una mayor exportación de COD durante eventos con alto flujo, dando un espacio relativamente nulo para el proceso de adsorción. Sin embargo, para corroborar este suceso se requiere la evaluación de más temporadas estivales.

Si bien se ha propuesto que la lixiviación de COD es mayor en ecosistemas de praderas permanentes que en suelos cultivados (Kindler *et al.*, 2011), en este ensayo no se logró encontrar diferencias significativas entre sistemas. Al contrario, la cantidad de COD perdido por lixiviación en ambas rotaciones de *Zm-Lm* superaron al promedio de *Zm-Tr*, lo cual podría definir que las rotaciones entre especies gramíneas estarían aportando y lixivando más COD que las rotaciones gramínea-leguminosa.

Experimento 2: Parcelas de campo

Concentración, relación C:N y grado de humificación de los lixiviados

Este experimento, a diferencia de las columnas de suelo, no contó con un balance hídrico debido a problemas técnicos que se presentaron en los lisímetros instalados en algunas microparcels. Como consecuencia, tampoco pudo realizarse el cálculo de las cargas de COD, por lo cual únicamente se evaluaron las variables concentración, relación C:N y absorbancia E₄:E₆ de los lixiviados recolectados de los FullStop. Al mismo tiempo se conservaron los CC de las microparcels pensando en ensayos posteriores, por lo cual la biomasa seca no pudo ser comparada en detalle.

Ensayo 1. La ausencia de aportes de materia orgánica en F_{0N}-F explicaría la baja traslocación de C al suelo. No obstante, esta aseveración no se cumple del todo al poner atención en la concentración de COD, posicionándose por sobre Lm_{0N}-Lm y Tr_{150N}-Tr (Cuadro 11). Al mismo tiempo, Lm_{150N}-Lm, que concentró los valores más altos de COD, condujo a una reducción del NID (Anexo 5a), lo cual condicionaría a su vez la baja relación C:N. Por otro lado, los tratamientos Lm_{0N}-Lm y Tr_{150N}-Tr, si bien destacaron por las medias más bajas de COD, se caracterizaron a la vez por concentrar los menores montos de NID (Anexo 5a), que en el caso de la ballica respondería a la ausencia de FN y un mayor consumo de N por esta especie en relación a la leguminosa (Quemada *et al.*, 2013).

Por otro lado, la baja relación C:N en F_{0N} -F estaría respondiendo a altas tasas de NID que pudieron ser derivadas desde microparcels aledañas. Es probable que los principales factores físicos que influyeron en las fluctuaciones de NID entre tratamientos con y sin FN, sean la escorrentía superficial y el flujo lateral experimentados luego de la aplicación de cargas de agua para promover la lixiviación. Esto habría afectado principalmente a las microparcels de F_0 -F, las cuales concentraron las mayores cantidades de NID (Anexo 5a), el cual pudo ser derivado de la fertilización anterior de otros tratamientos. Contrariamente, Tr_{150N} -Tr pudo haber experimentado altas fugas de NID (Anexo 5a).

En términos generales al igual que en las columnas de suelo se distinguió una relación proporcional entre el COD y el NOD e inversamente proporcional entre el COD y el NID, sin embargo, la prueba no fue significativa (Apéndice 11). Con respecto a la absorbancia $E_4:E_6$, un aumento del periodo de evaluación en tiempo podría ser requerido para lograr establecer una relación entre las concentraciones de COD y esta variable.

Ensayo 2. En este ensayo fue posible notar el efecto de la ausencia de MS incorporada al suelo durante la temporada invernal en las rotaciones Zm_{250N} -F y Zm_{400N} -F, lo cual se traduce en bajas concentraciones de COD y relaciones C:N. Se propuso que la generación de COD se asoció positivamente con la relación C:N, sin embargo, el análisis de correlación no demostró una relación significativa entre ambas variables (Apéndice 11). Por otro lado, la alta relación C:N provocada por Zm_{250N} -Lm podría ser a causa de la combinación entre la concentración media de COD y baja de NID (Anexo 5b).

Por otro lado, la correlación entre el COD y NID respondió de manera contraria a la lógica sugerida por Evans *et al.* (2008) y Cheng *et al.* (2017), quienes observaron una relación inversamente proporcional entre ambas moléculas (Apéndice 11). De esta información se desprende que las parcelas de este ensayo habrían experimentado los mismos sucesos físicos ocurridos en el Ensayo 1 de parcelas de campo, es decir flujos de C y N entre tratamientos. Al mismo tiempo, es posible inferir que la alta concentración de COD encontrada en los lixiviados de Zm_{400N} -Lm+Tr se haya generado en respuesta a una continua cobertura vegetal, que al igual que en el Ensayo 2 del Experimento 1, estaría provocando un aumento del COD, una relación C:N intermedia y una baja concentración de NID (Anexo 5b). De la misma forma, la relación $E_4:E_6$ volvió a entregar un resultado no significativo, por lo cual independiente del valor alcanzado por Zm_{400N} -Lm+Tr no fue posible determinar diferencias entre tratamientos.

Existen antecedentes para suponer que tanto Lm_{150N} -Lm del Ensayo 1 como Zm_{400N} -Lm+Tr del Ensayo 2 de este experimento, corresponderían a los tratamientos que poseen un mayor riesgo de lixiviación de COD, basándose en las altas concentraciones de esta molécula en los lixiviados. Sin embargo, es pertinente señalar que, debido al impedimento de medir la percolación en los lisímetros no fue posible corroborar esta hipótesis. Por lo tanto, se propone que la existencia de diferencias y posibles relaciones entre los componentes de los lixiviados, deben ser evaluadas a una mayor escala temporal, incluyendo un balance hídrico y la carga total de COD.

CONCLUSIONES

En las columnas de suelo, el establecimiento de cultivos de cubierta (CC) conformados por la mezcla de *Lolium multiflorum* (*Lm*) y/o *Trifolium repens* (*Tr*) en el ensayo de rotaciones permitió disminuir significativamente la lixiviación de carbono orgánico disuelto (COD), contrario a la siembra de maíz y barbecho con menor dosis de fertilización (Zm_{250N-F}), indicando altas exportaciones de COD desde esta combinación.

Por otro lado, en el ensayo de CC permanentes, *Tr* redujo considerablemente la carga de COD en comparación a *Lm* y al barbecho continuo, encontrándose estos dos últimos más expuestos a las pérdidas por lixiviación de COD.

En las parcelas de campo, se pudo establecer un alto riesgo de lixiviación de COD desde de las praderas permanentes de *Lm* con fertilización de N ($Lm_{150N-Lm}$) y las rotaciones que incluyeron al maíz junto con la mezcla de CC y alta dosis de FN ($Zm_{400N-Lm+Tr}$).

El análisis de correlación lineal permitió confirmar la influencia de la percolación y la concentración de COD sobre la carga de este mismo, siendo ambas proporcionales a la variable estimada. Al mismo tiempo, se pudo establecer una relación inversamente proporcional entre la biomasa generada y la percolación de agua, mientras que la primera fue directamente proporcional con la concentración de COD en la mayoría de los casos, la segunda manifestó una asociación inversa. El mismo análisis demostró una dependencia inversamente proporcional entre el COD y el nitrógeno inorgánico disuelto (NID), exceptuando a las rotaciones de cultivo establecidas en las parcelas de campo, mientras que directamente proporcional entre el nitrógeno orgánico disuelto (NOD) y el COD en ambos experimentos.

La aplicación de fertilización nitrogenada (FN) como salitre potásico tuvo un efecto positivo en el crecimiento de *Lm* establecido en sistemas de CC permanentes, no así con la especie *Tr*, la cual mantuvo una estrecha diferencia en el desarrollo de biomasa aérea ante la variación de aportes de N, principalmente por su capacidad de fijación simbiótica de N atmosférico. Independiente de la FN, las pasturas de *Tr* contrarrestaron la percolación y la carga de COD, lo cual se relacionó con un mayor desarrollo de biomasa aérea. Por otro lado, en el ensayo de rotaciones prevalecieron los rendimientos más altos al aumentar la biodiversidad de especies y aplicar la dosis de FN por método racional, lo cual condujo a la reducción de la percolación y la carga de COD.

Con respecto al grado de humificación, fue posible observar una relación proporcional entre la absorbancia $E_4:E_6$ de los lixiviados y el COD en ambos experimentos. Esto sugiere que en los lixiviados de los tratamientos donde se obtuvo la mayor concentración de COD, abundan compuestos de menor peso molecular y predominan estructuras alifáticas, indicando al mismo tiempo un humus en proceso de humificación. Sin embargo, el análisis estadístico de la relación $E_4:E_6$ no fue significativo para el experimento de parcelas de campo, por lo cual se propone un mayor periodo de seguimiento y evaluación para verificar una posible asociación entre el grado de humificación y el COD en parcelas bajo condiciones de clima no controlado.

LITERATURA CITADA

- AGRIMED. 2017. Atlas agroclimático de Chile. Tomo III: Regiones de Valparaíso, Metropolitana, O'Higgins y del Maule. Universidad de Chile y Fundación para la Innovación Agraria (FIA), Santiago, Chile. Disponible en <http://www.agrimed.cl/atlas/tomo3.html> (Consultado en diciembre de 2017).
- Allen, R. G., L. S. Pereira, D. Raes and M. Smith. 1998. FAO Irrigation and Drainage Paper N°56, Crop Evapotranspiration: Guidelines for Computing Crop Water Requirements. FAO, Roma, Italia.
- Anglade, J., G. Billen, and J. Garnier. 2015. Relationships for estimating N₂ fixation in legumes: Incidence for N balance of legume-based cropping systems in Europe. *Ecosphere* 6(3): 1–24.
- Aranda, V., M.J. Ayora-Cañada, A. Domínguez-Vidal, J.M. Martín-García, J. Calero, R. Delgado, et al. 2011. Effect of soil type and management (organic vs. conventional) on soil organic matter quality in olive groves in a semi-arid environment in Sierra Mágina Natural Park (S Spain). *Geoderma* 164(1): 54–63.
- Basche, A. D., T. C. Kaspar, S. V. Archontoulis, D. B. Jaynes, T. J. Sauer, T. B. Parkin, et al. 2016. Soil water improvements with the long-term use of a winter rye cover crop. *Agricultural Water Management* 172(1): 40–50.
- Bergkvist, G., M. Stenberg, J. Wetterlind, B. Båth and S. Elfstrand. 2011. Clover cover crops under-sown in winter wheat increase yield of subsequent spring barley—Effect of N dose and companion grass. *Field Crops Research* 120(2): 292–298.
- Bolan, N. S.; D. C. Adriano; A. Kunhikrishnan; T. James; R. McDowell and N. Senesi. 2011. Dissolved organic matter: biogeochemistry, dynamics, and environmental significance in soils. p. 1–75. *In*: Sparks, D. (ed). *Advances in Agronomy*, Vol. 110. Academic Press, Burlington, USA.
- Camino-Serrano, M., E. Graf Pannatier, S. Vicca, S. Luysaert, M. Jonard, P. Ciais, et al. 2016. Trends in soil solution dissolved organic carbon (DOC) concentrations across European forests. *Biogeosciences* 13(19): 5567–5585.
- Chabbi, A. and C. Rumpel. 2009. Guest editors' introduction. Organic matter dynamics in agro-ecosystems—the knowledge gaps. *European Journal of Soil Science* 60(2): 153–157.
- Chen, Y., N. Senesi, and M. Schnitzer. 1977. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. *Soil Science Society of America Journal* 41(2): 352–358.

- Cheng, J., Y. Chen, T. He, R. Liao, R. Liu, M. Yi, et al. 2017. Soil nitrogen leaching decreases as biogas slurry DOC/N ratio increases. *Applied Soil Ecology* 111(3): 105–113.
- CIREN (Centro de Información de Recursos Naturales). 1996. Estudio agrológico. Descripción de suelos materiales y símbolos: VI Región. (Publicación N° 114).
- Conant, R.T., M.G. Ryan, G.I. Agren, H.E. Birge, E.A. Davidson, P.E. Eliasson, et al. 2011. Temperature and soil organic matter decomposition rates—synthesis of current knowledge and a way forward. *Global Change Biology* 17(11): 3392–3404.
- Dawson, J. J. C., I. A. Malcolm, S. J. Middlemas, D. Tetzlaff and C. Soulsby. 2009. Is the composition of dissolved organic carbon changing in upland acidic streams?. *Environmental Science and Technology* 43(20): 7748–7753.
- de Almeida, W. S., E. Panachuki, P. T. S. de Oliveira, R. da Silva Menezes, T. A. Sobrinho and D. F. de Carvalho. 2018. Effect of soil tillage and vegetal cover on soil water infiltration. *Soil and Tillage Research* 175(1): 130–138.
- Dewis, J. and P. Freitas. 1970. *Physical and Chemical Methods of Soil and Water Analysis*. FAO.10. Rome, Italy.
- Dixon, G., and E. Tilston. 2010. *Soil Microbiology and Sustainable Crop Production*. Springer Science+Business Media. London, U.K.
- Eichler-Löbermann, B., S. Köhne, B. Kowalski and E. Schnug. 2008. Effect of catch cropping on phosphorus bioavailability in comparison to organic and inorganic fertilization. *Journal of Plant Nutrition* 31(4): 659–676.
- Evans, C., C. Goodale, S. Caporn, N. Dise, B. Emmett, I. Fernandez, et al. 2008. Does elevated nitrogen deposition or ecosystem recovery from acidification drive increased dissolved organic carbon loss from upland soil? A review of evidence from field nitrogen addition experiments. *Biogeochemistry* 91(1): 13–35.
- Fageria, N. K., and A. Moreira. 2011. The role of mineral nutrition on root growth of crop plants. *Advances in Agronomy* 110: 251–331.
- Gabriel, J. L. and M. Quemada. 2011. Replacing bare fallow with cover crops in a maize cropping system: Yield, N uptake and fertiliser fate. *European Journal of Agronomy* 34(3): 133–143.
- Gabriel, J. L., R. Muñoz-Carpena and M. Quemada. 2012. The role of cover crops in irrigated systems: Water balance, nitrate leaching and soil mineral nitrogen accumulation. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 155(1): 50–61.
- Gabriel, J. L., M. Alonso-Ayuso, I. García-González, C. Hontoria and M. Quemada. 2016. Nitrogen use efficiency and fertiliser fate in a long-term experiment with winter cover crops. *European Journal of Agronomy* 79(1): 14–22.

- Ghani, A., K. Müller, M. Dodd and A. Mackay. 2010. Dissolved organic matter leaching in some contrasting New Zealand pasture soils. *European Journal of Soil Science* 61(4): 525–538.
- Ghani, A., U. Sarathchandra, S. Ledgard, M. Dexter and S. Lindsey. 2013. Microbial decomposition of leached or extracted dissolved organic carbon and nitrogen from pasture soils. *Biology and Fertility of Soils* 49(6): 747–755.
- Greenwood, K. L., A. R. Lawson and K. B. Kelly. 2009. The water balance of irrigated forages in northern Victoria, Australia. *Agricultural Water Management* 96(5): 847–858.
- Gutiñas, M. E., M. C. Leirós, C. Trasar-Cepeda, and F. Gil-Sotres. 2012. Effects of moisture and temperature on net soil nitrogen mineralization: A laboratory study. *European Journal of Soil Biology* 48(1): 73–80.
- Hagedorn, F., A. Kammer, M.W.I. Schmidt, C.L. Goodale. 2012. Nitrogen addition alters mineralization dynamics of ¹³C-depleted leaf and twig litter and reduces leaching of older DOC from mineral soil. *Global Change Biology* 18(4): 1412–1427.
- He, Y., E. Lehndorff, W. Amelung, R. Wassmann, M. Alberto, G. von Unold, et al. 2017. Drainage and leaching losses of nitrogen and dissolved organic carbon after introducing maize into a continuous paddy-rice crop rotation. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 249(1): 91–100.
- Helal, A., G.A. Murad, A.A. Helal. 2011. Characterization of different humic materials by various analytical techniques. *Arabian Journal of Chemistry* 4(1): 51–54.
- Horne, D. J. and D. R. Scotter. 2016. The available water holding capacity of soils under pasture. *Agricultural Water Management* 177(1): 165–171.
- Hubbard, R. K.; T. C. Strickland and S. Phatak. 2013. Effects of cover crop systems on soil physical properties and carbon/nitrogen relationships in the coastal plain of southeastern USA. *Soil and Tillage Research* 126(1): 276–283.
- IPCC. 2014. Resumen para responsables de políticas. En: Cambio climático 2014: Mitigación del cambio climático. Contribución del Grupo de trabajo III al Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático [Edenhofer, O., R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlömer, C. von Stechow, T. Zwickel y J.C. Minx (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido y Nueva York, Estados Unidos de América.
- Jan, M.T., P. Roberts, S.K. Tonheim, and D.L. Jones. 2009. Protein breakdown represents a major bottleneck in nitrogen cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 41(11): 2272–2282.

- Justes, E. 2017. *Cover Crops for Sustainable Farming*. Springer. Dordrecht, Netherlands.
- Kaiser, K., and K. Kalbitz. 2012. Cycling downwards—dissolved organic matter in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 52(1): 29–32.
- Kindler, R., J. Siemens, K. Kaiser, D. Walmsley, C. Bernhofer, C., N. Buchmann, et al. 2011. Dissolved carbon leaching from soil is a crucial component of the net ecosystem carbon balance. *Global Change Biology* 17(2): 1167–1185.
- Kleber, M., K. Eusterhues, M. Keiluweit, C. Mikutta, R. Mikutta, and P. Nico. 2015. Mineral-Organic associations: formation, properties, and relevance in soil environments. *Advances in Agronomy* 130: 1–140.
- Kolka, R., P. Weishampel and M. Fröberg. 2008. Measurement and Importance of Dissolved Organic Carbon. p. 171–176. *In*: Hoover, C. M. (eds). *Field Measurements for Forest Carbon Monitoring: A Landscape-Scale Approach*. Springer, Durham, USA.
- Kramberger, B., A. Gselman, M. Janzekovic, M. Kaligarić and B. Bracko. 2009. Effects of cover crops on soil mineral nitrogen and on the yield and nitrogen content of maize. *European Journal of Agronomy* 31(2): 103–109.
- Kramberger, B., A. Gselman, J. Kristl, M. Lešnik, V. Šuštar, M. Muršec, et al. 2014. Winter cover crop: The effects of grass-clover mixture proportion and biomass management on maize and the apparent residual N in the soil. *European Journal of Agronomy* 55(1): 63–71.
- Kulmatiski, A., K. H. Beard and J. Heavilin. 2012. Plant-soil feedbacks provide an additional explanation for diversity-productivity relationships. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279(1740): 3020–3026.
- Kwak, J., B. Khang, E. Kim and H. Kim. 2013. Estimation of biochemical oxygen demand based on dissolved organic carbon, UV absorption, and fluorescence measurements. *Journal of Chemistry* 2013(1): 1–9.
- Lapierre J., F. Guillemette, M. Berggren and P. del Giorgio. 2013. Increases in terrestrially derived carbon stimulate organic carbon processing and CO₂ emissions in boreal aquatic ecosystems. *Nature Communications* 4(1): 1–7.
- Larsen, S., T. Andersen and D. O. Hessen. 2011. Climate change predicted to cause severe increase of organic carbon in lakes. *Global Change Biology* 17(2): 1186–1192.
- Lawrence, J., C. Neff and J.P. Schimel. 2009. Does adding microbial mechanisms of decomposition improve soil organic matter models? A comparison of four models using data from a pulsed rewetting experiment Corey R. *Soil Biology & Biochemistry* 41(9): 1923–1934.

- Liu, M., D. Ussiri and R. Lal. 2016. Soil organic carbon and nitrogen fractions under different land uses and tillage practices. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 47(12): 1528–1541.
- Loges, R., I. Bunne, T. Reinsch, C. Malisch, C. Kluß, A. Herrmann, et al. 2018. Forage production in rotational systems generates similar yields compared to maize monocultures but improves soil carbon stocks. *European Journal of Agronomy* 97(1): 11–19.
- Louarn, G., E. Pereira-Lopès, J. Fustec, B. Mary, A. Voisin, P. de Faccio Carvalho, et al. 2015. The amounts and dynamics of nitrogen transfer to grasses differ in alfalfa and white clover-based grass-legume mixtures as a result of rooting strategies and rhizodeposit quality. *Plant and Soil* 389(1–2): 289–305.
- Lovett, G.M., M.A. Arthur, K.C. Weathers, R.D. Fitzhugh, P.H. Templer. 2013. Nitrogen addition increases carbon storage in soils, but not in trees, in an eastern U.S. Deciduous forest. *Ecosystems* 16(6): 980–1001.
- Lu, X., F. Gilliam, G. Yu, L. Li, Q. Mao, H. Chen, et al. 2013. Long-term nitrogen addition decreases carbon leaching in a nitrogen-rich forest ecosystem. *Biogeosciences* 10(6): 3931–3941.
- Majumder, S. P., A. Krishna Chaitanya, A. Datta, D. Padhan, S. Badole and B. Mandal. 2018. Dynamics of Carbon and Nitrogen in Agricultural Soils: Role of Organic and Inorganic Sources. p. 151–169. *In: Muñoz M. Á. and R. Zornoza (eds.) Soil Management and Climate Change: Effects on Organic Carbon, Nitrogen Dynamics, and Greenhouse Gas Emissions.* Academic Press, London, U.K.
- Malcolm, B. J., J. L. Moir, K. C. Cameron, H. J. Di and G. R. Edwards. 2015. Influence of plant growth and root architecture of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) and tall fescue (*Festuca arundinacea*) on N recovery during winter. *Grass and Forage Science* 70(4): 600–610.
- Manninen, N., H. Soenne, R. Lemola, L. Hoikkala and E. Turtola. 2018. Effects of agricultural land use on dissolved organic carbon and nitrogen in surface runoff and subsurface drainage. *Science of the Total Environment* 618(1): 1519–1528.
- Marquard, E., A. Weigelt, V. M. Temperton, C. Roscher, J. Schumacher, N. Buchmann, et al. 2009. Plant species richness and functional composition driveoveryielding in a six-year grassland experiment. *Ecology* 90(12): 3290–3302.
- Mathew, I., H. Shimelis, M. Mutema and V. Chaplot. 2017. What crop type for atmospheric carbon sequestration: Results from a global data analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 243(1): 34–46.
- Miller, K. S. and D. Geisseler. 2018. Temperature sensitivity of nitrogen mineralization in agricultural soils. *Biology and Fertility of Soils* 54(7): 853–860.

- Mommer, L., J. van Ruijven, H. de Caluwe, A. Smit-Tiekstra, C. Wagemaker, N. Joop, et al. 2010. Unveiling below-ground species abundance in a biodiversity experiment: A test of vertical niche differentiation among grassland species. *Journal of Ecology* 98(5): 1117–1127.
- Montemurro, F., A. Fiore, F. Tittarelli, L. Ledda and S. Canali. 2013. Organic fertilization, green manure, and vetch mulch to improve organic zucchini yield and quality. *Horticultural Science* 48(8): 1027–1033.
- Mueller, K. E., D. Tilman, D. A. Fornara and S. E. Hobbie. 2013. Root depth distribution and the diversity-productivity relationship in a long-term grassland experiment. *Ecology* 94(4): 787–793.
- Oberson, A., E. Frossard, C. Bühlmann, J. Mayer, P. Mäder and A. Lüscher. 2013. Nitrogen fixation and transfer in grass-clover leys under organic and conventional cropping systems. *Plant and Soil* 371(1–2): 237–255.
- Ogle, S. M., A. Swan and K. Paustian. 2012. No-till management impacts on crop productivity, carbon input and soil carbon sequestration. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 149(1): 37–49.
- Paul, E. A. 2015. *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry*. 4th edition. Academic Press. Fort Collins, Colorado, USA.
- Petermann, J. S., A. J. F. Fergus, L. A. Turnbull and B. Schmid. 2008. Janzen-Connell effects are widespread and strong enough to maintain diversity in grasslands. *Ecology* 89(9): 2399–2406.
- Piccolo, A., R. Spaccini, M. Drosos, G. Vinci and V. Cozzolino. 2018. The molecular composition of humus carbon: recalcitrance and reactivity in soils. p. 87–124. *In*: Garcia C., P. Nannipieri and T. Hernandez (eds.) *The Future of Soil Carbon*. Elsevier Inc., San Diego, California, USA.
- Piotrowska, A. and E. Wilczewski. 2012. Effects of catch crops cultivated for green manure and mineral nitrogen fertilization on soil enzyme activities and chemical properties. *Geoderma* 189(1): 72–80.
- Plaza-Bonilla, D., J.M. Nolot, S. Passot, D. Raffaillac and E. Justes. 2016. Grain legume-based rotations managed under conventional tillage need cover crops to mitigate soil organic matter losses. *Soil and Tillage Research* 156(1): 33–43.
- Plaza-Bonilla, D., J.M. Nolot, D. Raffaillac and E. Justes. 2017. Innovative cropping systems to reduce N inputs and maintain wheat yields by inserting grain legumes and cover crops in southwestern France. *European Journal of Agronomy* 82(2): 331–341.

- Qiao, Y., S. Miao, N. Li, Y. Xu, X. Han, and B. Zhang. 2015. Crop species affect soil organic carbon turnover in soil profile and among aggregate sizes in a Mollisol as estimated from natural ^{13}C abundance. *Plant and Soil* 392(1–2): 163–174.
- Quemada, M., M. Baranski, M. Nobel-de Lange, A. Vallejo and J. Cooper. 2013. Meta-analysis of strategies to control nitrate leaching in irrigated agricultural systems and their effects on crop yield. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 174(1): 1–10.
- Ramírez-García, J. 2014. Evaluation of cover crops based on characteristics of nitrogen use, and aerial and root growth. Doctoral dissertation. España: Universidad Politécnica de Madrid. 87 h.
- Rodríguez, J. 1993. La fertilización de los cultivos: un método racional. Colección en Agricultura, Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.
- Roscher, C., S. Thein, B. Schmid and M. Scherer-Lorenzen. 2008. Complementary nitrogen use among potentially dominant species in a biodiversity experiment varies between two years. *Journal of Ecology* 96(1): 477–488.
- Sadzawka, A. 1990. Métodos de análisis de suelos. Serie La Platina N°.16, Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile.
- Sadzawka, A., A. Carrasco, R. Grez, M. Mora, H. Flores y A. Neaman. 2006. Métodos de análisis recomendados para los suelos de Chile. Manual INIA y CNA de la Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. Centro regional de investigación La Platina, Santiago de Chile.
- Salazar, O. y F. Nájera. 2011. Contaminación de las aguas por el uso de fertilizantes nitrogenados y enmiendas orgánicas. *Boletín de la Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo* 24: 147–152.
- Sanderman, J., J.A. Baldock and R. Amundson. 2008. Dissolved organic carbon chemistry and dynamics in contrasting forest and grassland soils. *Biogeochemistry* 89(2): 181–198.
- Sandoval, M., J. Dörner, O. Seguel, J. Cuevas y D. Rivera. 2012. Métodos de Análisis Físicos de Suelos. Universidad de Concepción, Publicaciones del Departamento de Suelos y Recursos Naturales N°. 5. Chillán, Chile.
- Schlesinger, W. M. and E. S. Bernhardt. 2013. *Biogeochemistry: An analysis of global change*. Academic Press. New York, USA.
- Schoeneberger, P. J. 2012. Field book for describing and sampling soils. National Soil Survey Center. Natural Resources Conservation Service. U.S. Department of Agriculture.

- Shang, F., S. Ren, P. Yang, C. Li, and N. Ma. 2015. Effects of different fertilizer and irrigation water types, and dissolved organic matter on soil C and N mineralization in crop rotation farmland. *Water Air and Soil Pollution* 226 (12): 396–421.
- Smith, A., S. Snapp, J. Dimes, C. Gwenambira and R. Chikowo. 2016. Doubled-up legume rotations improve soil fertility and maintain productivity under variable conditions in maize-based cropping systems in Malawi. *Agricultural Systems* 145(1): 139–149.
- Song, X., S. Liu, Q. Liu, W. Zhang and C. Hu. 2014. Carbon sequestration in soil humic substances under long-term fertilization in a wheat-maize system from North China. *Journal of Integrative Agriculture* 13(3): 562–569.
- Song, Y., C. Song, A. Hou, J. Ren, X. Wang, Q. Cui, et al. 2018. Effects of temperature and root additions on soil carbon and nitrogen mineralization in a predominantly permafrost peatland. *Catena* 165(1): 381–389.
- Sparling, G. P., E. J. Chibnall, J. Pronger, S. Rutledge, A. M. Wall, D. I. Campbell, et al. 2016. Estimates of annual leaching losses of dissolved organic carbon from pastures on Allophanic Soils grazed by dairy cattle, Waikato, New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 59(1): 32–49.
- Squella, F. 2011. Praderas de siembra para el territorio mediterráneo de la VI región. INIA. Disponible en http://www2.inia.cl/medios/raihuen/Descargas/cap_06_praderas.pdf (Consultado en diciembre de 2017).
- Teuber, N. y H. Elizalde. 1992. Efecto del corte en diferentes estados fenológicos de la ballica perenne en la evolución de una pradera de ballica con trébol blanco. *Agricultura Técnica (Chile)* 52(1): 38–47.
- Theng, B.K.G. 2012. Humic Substances. p. 391–456. *In*: Theng B.K.G. (ed.) *Developments in Clay Science Volume 4*. Elsevier, Oxford, UK.
- Thorup-Kristensen, K., D.B. Dresbøll and H.L. Kristensen. 2012. Crop yield, root growth, and nutrient dynamics in a conventional and three organic cropping systems with different levels of external inputs and N re-cycling through fertility building crops. *European Journal of Agronomy* 37(1): 66–82.
- Traversa, A., V. D’Orazio, G. Natale Mezzapesa, E. Bonifacio, K. Farrag, N. Senesi, et al. 2014. Chemical and spectroscopic characteristics of humic acids and dissolved organic matter along two Alfisol profiles. *Chemosphere* 111(1): 184–194.
- Valkama, E., R. Lemola, H. Känkänen and E. Turtola. 2015. Meta-analysis of the effects of undersown catch crops on nitrogen leaching loss and grain yields in the Nordic countries. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 203(1): 93–101.

- Valkama, E.; K. Rankinen; P. Virkajärvi; T. Salo; P. Kapuinen and E. Turtola. 2016. Nitrogen fertilization of grass leys: Yield production and risk of N leaching. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 230(1): 341–352.
- van Kessel, C., T. Clough and J.W. van Groenigen. 2009. Dissolved organic nitrogen: an overlooked pathway of nitrogen loss from agricultural systems? *Journal of Environmental Quality* 38(1): 393–401.
- van Moorsel, S. J., M. W. Schmid, T. Hahl, D. Zuppinger-Dingley and B. Schmid. 2018. Selection in response to community diversity alters plant performance and functional traits. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 33(1): 51–61.
- Vinther, F. P., E. M. Hansen and J. Eriksen. 2006. Leaching of soil organic carbon and nitrogen in sandy soils after cultivating grass-clover swards. *Biology and Fertility of Soils* 43(1): 12–19.
- Walker, B. D., F. W. Primeau, S. R. Beupré, T. P. Guilderson, E. R. M. Druffel, and M. D. McCarthy. 2016. Linked changes in marine dissolved organic carbon molecular size and radiocarbon age. *Geophysical Research Letters* 43(19): 10,385–10,393.
- Wall, D. H., R. D. Bardgett, V. Behan-Pelletier, J. E. Herrick, T. H. Jones, K. Ritz, et al. 2012. *Soil Ecology and Ecosystem Services*. Oxford University Press. Oxford, U.K.
- Wang, X., C. Li, Y. Luo, K. Hua and M. Zhou. 2016. The impact of nitrogen amendment and crop growth on dissolved organic carbon in soil solution. *Journal of Mountain Science* 13(1): 95–103.
- Watanabe, A., K. Moroi, H. Sato, K. Tsutsuki, N. Maie, L. Melling, et al. 2012. Contributions of humic substances to the dissolved organic carbon pool in wetlands from different climates. *Chemosphere* 88 (10): 1265–1268.
- Xiao, K., J. Zhou, X. Liu, J. Wu, and J. Xu. 2013. Leaching of Dissolved Organic Carbon (DOC) as Affected by Plant Residue Composition and Soil pH. p. 475–478. *In*: Xu J., J. Wu and Y. He (eds). *Functions of Natural Organic Matter in Changing Environment*. Springer, Dordrecht, Netherlands.
- Xu, M., Y. Lou, X. Sun, W. Wang, M. Baniyamuddin, and K. Zhao. 2011a. Soil organic carbon active fractions as early indicators for total carbon change under straw incorporation. *Biology and Fertility of Soils* 47(7): 745–752.
- Xu, N., T. Ye, D.P. Li, C.Y. Hu, Y.L. Lin, S.J. Xia, et al. 2011b. Measurement of dissolved organic nitrogen in a drinking water treatment plant: Size fraction, fate, and relation to water quality parameters. *Science of The Total Environment* 409(6): 1116–1122.
- Xu, Y., B. Seshadri, B. Sarkar, C. Rumpel, D. Sparks and N. Bolan. 2018. Microbial Control of Soil Carbon Turnover. p. 165–194. *In*: Garcia C., P. Nannipieri and T. Hernandez (eds.) *The Future of Soil Carbon*. Academic Press, San Diego, California, USA.

Zhao, X., X. He, B. Xi, R. Gao, W. Tan, H. Zhang, et al. 2017. Response of humic-reducing microorganisms to the redox properties of humic substance during composting. *Waste Management* 70(1): 37–44.

APÉNDICES

Apéndice 1. Comparación de medias de las variables evaluadas entre temporadas evaluadas en el Experimento 1: Columnas de suelo.

Temporadas ¹	Biomasa ²		Concentración de COD ³	
	Mg MS ha ⁻¹		mg C L ⁻¹	
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 1	Ensayo 2
O-I ₂₀₁₆	17,97 ± 0,83a	13,95 ± 1,15a	15,60 ± 0,56b	16,45 ± 1,81a
P-V _{2016/17}	9,92 ± 0,76b	6,01 ± 1,37b	13,97 ± 0,93b	18,04 ± 1,83a
O-I ₂₀₁₇	8,02 ± 0,76b	4,75 ± 0,41b	18,62 ± 1,28a	18,10 ± 1,83a
<i>p-value</i>	<0,0001	<0,0001	0,0143	0,3429
	Relación C:N ⁴		Relación E ₄ :E ₆ ⁵	
	kg kg ⁻¹			
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 1	Ensayo 2
O-I ₂₀₁₆	9,86 ± 2,19b	0,84 ± 0,20b	-	-
P-V _{2016/17}	16,00 ± 2,19ab	14,90 ± 0,90a	1,53 ± 0,15b	1,90 ± 0,12a
O-I ₂₀₁₇	20,47 ± 2,19a	17,59 ± 2,35a	2,43 ± 0,15a	1,89 ± 0,11a
<i>p-value</i>	0,0061	<0,0001	0,0003	0,8761
	Percolación ⁶		Carga de COD ⁷	
	m ³ ha ⁻¹		kg C ha ⁻¹	
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 1	Ensayo 2
O-I ₂₀₁₆	1884,40±104,28b	1994,69±76,41b	30,40 ± 4,52a	31,97 ± 3,40b
P-V _{2016/17}	2491,98±104,28a	2631,67±76,41a	33,45 ± 2,82a	41,08 ± 3,40a
O-I ₂₀₁₇	2183,29±104,28b	2068,52±76,41b	35,63 ± 2,82a	32,15 ± 3,40b
<i>p-value</i>	<0,0001	<0,0001	0,4836	0,0003

¹ *p-value* ≤ 0,05 indica diferencias estadísticamente significativas entre temporadas;

^{2,3,4,5,6,7} Valores corresponden al promedio de la de las variables medidas de cada temporada de estudio ± error estándar.

Apéndice 2. Pruebas de contrastes para biomasa promedio.

Tratamientos ¹		Pruebas de contrastes ^{2,3}	
		Biomasa	<i>p-value</i>
		Mg MS ha ⁻¹	
Lm	vs. Tr	-3,49 ± 1,24	0,0073
Lm ₀	vs. Lm ₁₅₀	-3,35 ± 1,15	0,0063
Tr ₀	vs. Tr ₁₅₀	0,30 ± 1,40	0,8296
P ₀	vs. P ₁₅₀	-1,21 ± 1,24	0,3342
Zm-F	vs. Zm-CC	-7,32 ± 1,01	<0,0001
Zm-Lm	vs. Zm-Tr	3,14 ± 1,72	0,0717
Zm-Lm	vs. Zm-Lm+Tr	-0,63 ± 1,70	0,7123
Zm-Tr	vs. Zm-Lm+Tr	-3,77 ± 1,74	0,0331
R ₂₅₀	vs. R ₄₀₀	-0,06 ± 1,22	0,9609
P	vs. R	3,59 ± 1,23	0,0040

¹ Lm: *Lolium multiflorum*, Tr: *Trifolium repens*, P: prasturas del Ensayo 1, Zm: *Zea mays*, CC: cultivos de cubierta, R: rotaciones de cultivos del Ensayo 2. Subíndices representan la dosis de N expresada en kg N ha⁻¹;

² Valores corresponden al promedio del contraste ± error estándar;

³ *p*-value $\leq 0,05$ indica diferencias estadísticamente significativas para el contraste.

Apéndice 3. Tasa de crecimiento promedio de los tratamientos del Ensayo 1.

Tratamiento	Tasa de crecimiento ¹		
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇
	----- kg MS ha ⁻¹ día ⁻¹ -----		
Lm ₀ N-Lm	114,79	20,33	21,38
Lm ₁₅₀ N-Lm	129,45	69,14	23,06
Tr ₀ N-Tr	103,68	87,35	74,88
Tr ₁₅₀ N-Tr	93,01	74,50	81,31

¹ Valores corresponden al promedio de la tasa de crecimiento estimada para cada temporada de estudio.

Apéndice 4. Pruebas de contrastes para concentración promedio de COD y relación C:N.

Tratamientos ¹		Variables a contrastar ^{2,3}				
		Concentración promedio de COD		<i>p</i> -value	C:N	<i>p</i> -value
		mg C L ⁻¹			kg kg ⁻¹	
CC	vs. F	3,64 ± 1,40	0,0127	-15,71 ± 1,69	<0,0001	
Lm	vs. Tr	0,23 ± 1,77	0,8966	17,31 ± 3,14	<0,0001	
Lm ₀	vs. Lm ₁₅₀	-1,61 ± 3,06	0,6010	7,78 ± 5,34	0,1522	
Tr ₀	vs. Tr ₁₅₀	4,15 ± 1,77	0,0234	4,56 ± 3,30	0,1744	
P ₀	vs. P ₁₅₀	1,27 ± 1,77	0,4757	6,17 ± 3,14	0,0556	
Lm	vs. Zm-Lm	-4,50 ± 1,96	0,0236	11,35 ± 3,75	0,0059	
Tr	vs. Zm-Tr	1,90 ± 1,17	0,1064	3,75 ± 3,75	0,3281	
Zm-F	vs. Zm-CC	-3,11 ± 0,96	0,0019	-4,92 ± 1,31	0,0004	
Zm-Lm	vs. Zm-Tr	6,67 ± 1,57	0,0001	9,71 ± 2,40	0,0002	
Zm-Lm	vs. Zm-Lm+Tr	2,36 ± 1,70	0,1702	0,95 ± 3,20	0,7689	
Zm-Tr	vs. Zm-Lm+Tr	-4,32 ± 1,23	0,0008	-8,76 ± 2,37	0,0005	
R ₂₅₀	vs. R ₄₀₀	-0,36 ± 1,01	0,7224	1,05 ± 1,68	0,5358	
P	vs. R	-1,61 ± 0,84	0,0571	2,14 ± 1,39	0,0541	

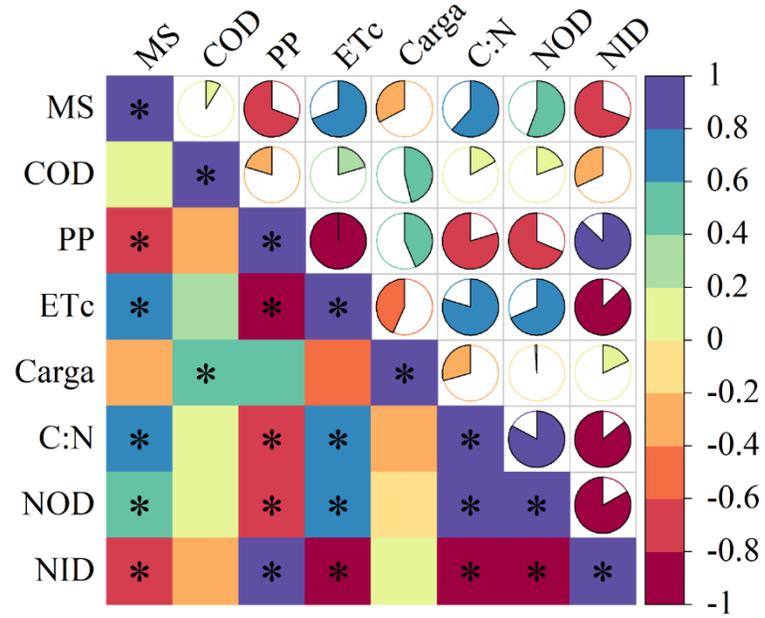
¹ Lm: *Lolium multiflorum*, Tr: *Trifolium repens*, P: praderas del Ensayo 1, Zm: *Zea mays*, CC: cultivos de cubierta, R: rotaciones de cultivos, subíndices representan la dosis de N expresada en kg N ha⁻¹;

² Valores corresponden al promedio del contraste ± error estándar;

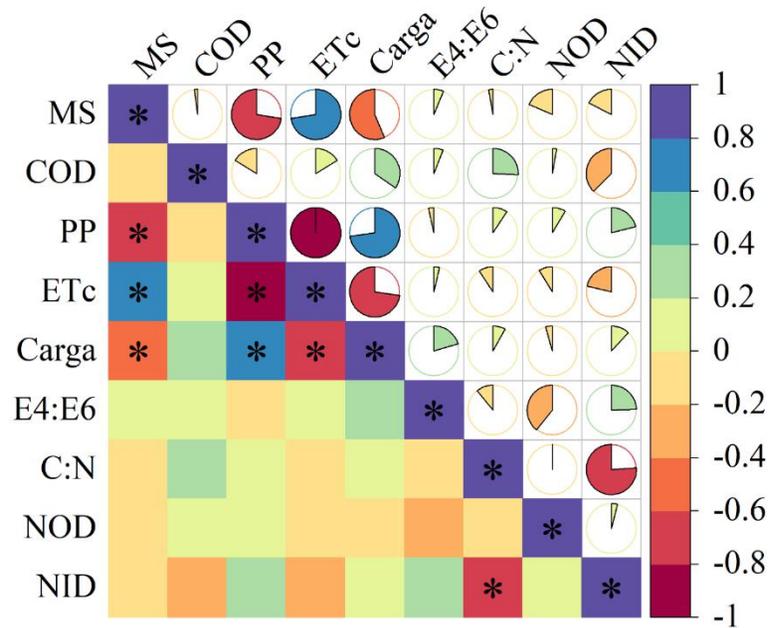
³ *p*-value $\leq 0,05$ indica diferencias estadísticamente significativas para el contraste.

Apéndice 5. Coeficientes de correlación de Pearson del Ensayo 1 del Experimento 1 para todos los periodos estudiados. (a): O-I₂₀₁₆, (b): P-V_{2016/17}; (c): O-I₂₀₁₇, (d): Total.

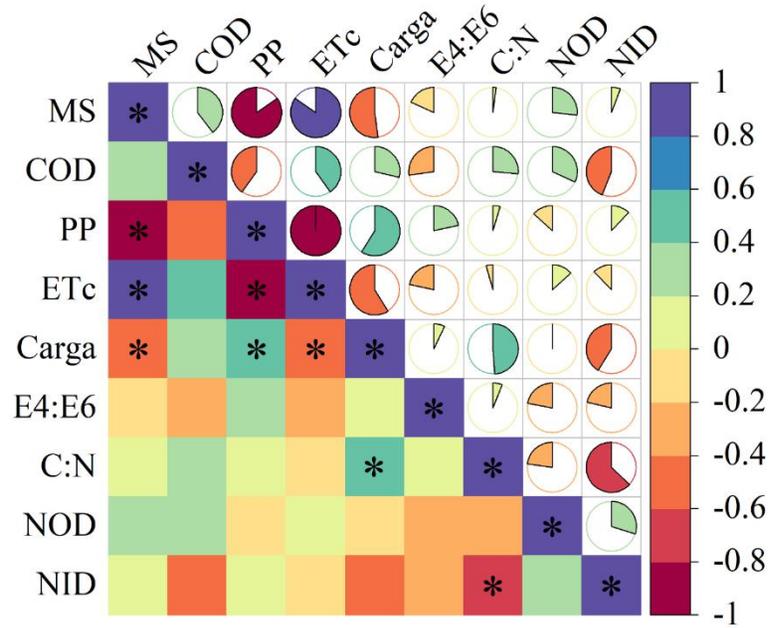
(a)



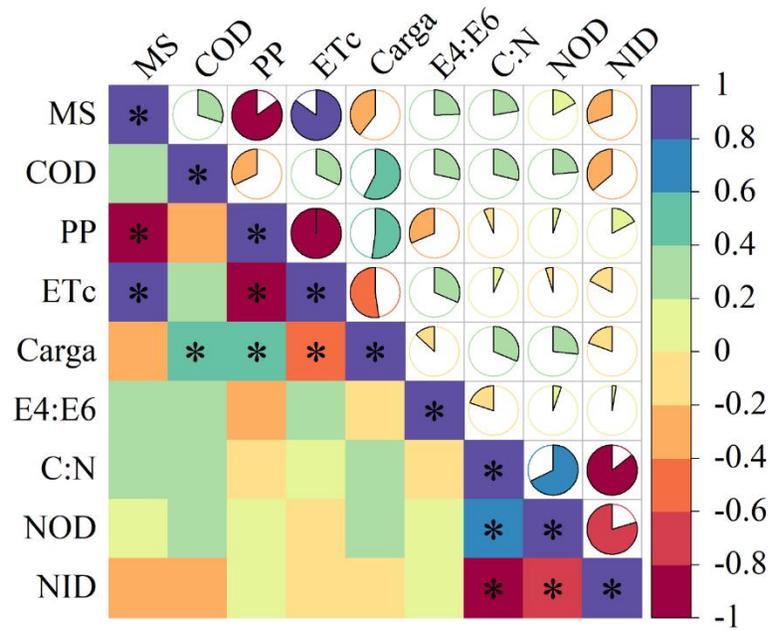
(b)



(c)



(d)



* Indica existencia de correlación lineal significativa entre variables para el coeficiente de correlación de Pearson ($p < 0,05$). MS, materia seca; COD, carbono orgánico disuelto; PP, percolación profunda; ETc, evapotranspiración del cultivo; Carga, carga de COD; E4:E6, relación de absorbancia E₄:E₆; C:N, relación carbono nitrógeno; NOD, nitrógeno orgánico disuelto; NID, nitrógeno inorgánico disuelto.

Apéndice 6. Formas disueltas de N en los lixiviados del Ensayo 1 en el Experimento 1: Columnas de suelo.

Tratamientos	Concentración de NOD ¹			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	Total
	----- mg N L ⁻¹ -----			
F _{0N} -F	0,16 ± 0,43 b	1,56 ± 0,42 b	0,00 ± 0,63 a	0,53 ± 0,45 b
Lm _{0N} -Lm	28,90 ± 1,62 a	1,47 ± 0,46 bc	0,23 ± 0,13 a	10,35 ± 0,45 a
Lm _{150N} -Lm	44,39 ± 7,56 a	0,44 ± 0,42 c	0,53 ± 0,31 a	15,01 ± 2,53 a
Tr _{0N} -Tr	1,91 ± 0,52 b	0,43 ± 0,46 c	1,85 ± 0,90 a	1,71 ± 0,67 b
Tr _{150N} -Tr	2,59 ± 2,25 b	3,67 ± 0,54 a	1,67 ± 0,41 a	1,57 ± 0,67 b
³ p-value	<0,0001	0,0036	0,0600	0,0007

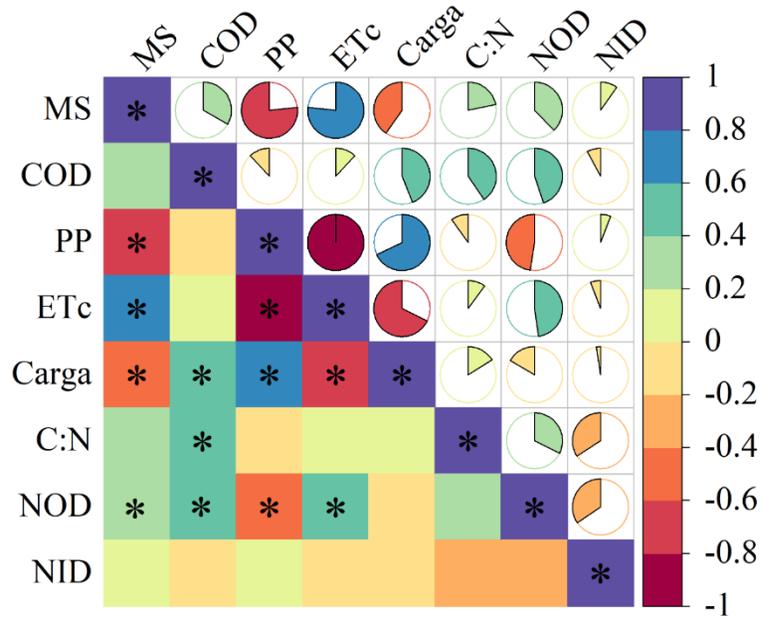
Tratamientos	Concentración de NID ²			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	Total
	----- mg N L ⁻¹ -----			
F _{0N} -F	27,56 ± 4,50 a	20,62 ± 2,47 a	16,59 ± 1,91 a	23,73 ± 0,86 a
Lm _{0N} -Lm	8,76 ± 4,50 b	6,12 ± 2,47 c	1,48 ± 0,78 b	5,45 ± 1,25 bc
Lm _{150N} -Lm	10,17 ± 4,50 b	6,99 ± 2,47 bc	2,08 ± 0,96 b	3,88 ± 1,37 c
Tr _{0N} -Tr	13,21 ± 4,50 b	8,60 ± 2,47 bc	14,18 ± 4,82 a	12,17 ± 2,66 b
Tr _{150N} -Tr	22,87 ± 4,50 ab	12,55 ± 2,47 b	11,01 ± 4,63 ab	15,98 ± 5,26 ab
³ p-value	0,0080	0,0020	<0,0001	<0,0001

¹² Valores promedio de cada variable ± error estándar; Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$);

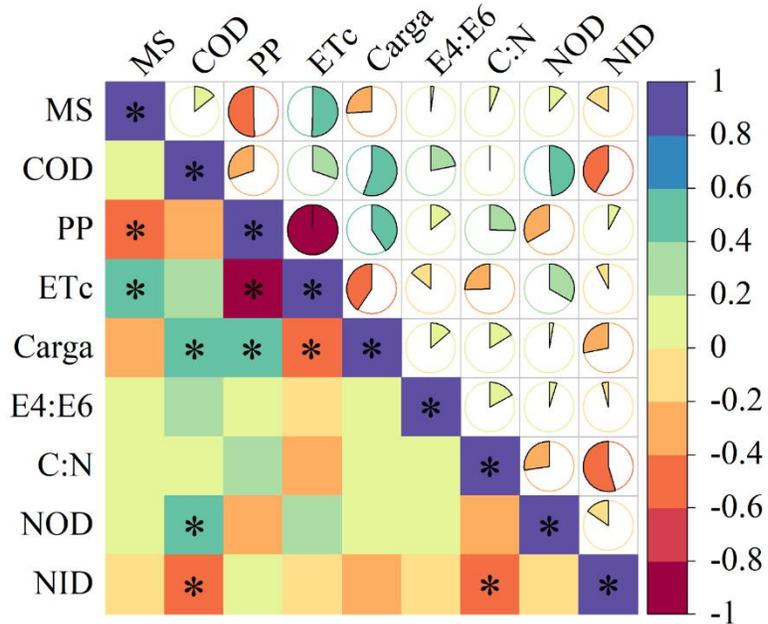
³ p-value corresponde al efecto de los factores tratamiento.

Apéndice 7. Coeficientes de correlación de Pearson del Ensayo 2 del Experimento 1 para todos los periodos estudiados. (a): O-I₂₀₁₆, (b): P-V_{2016/17}; (c): O-I₂₀₁₇, (d): Total.

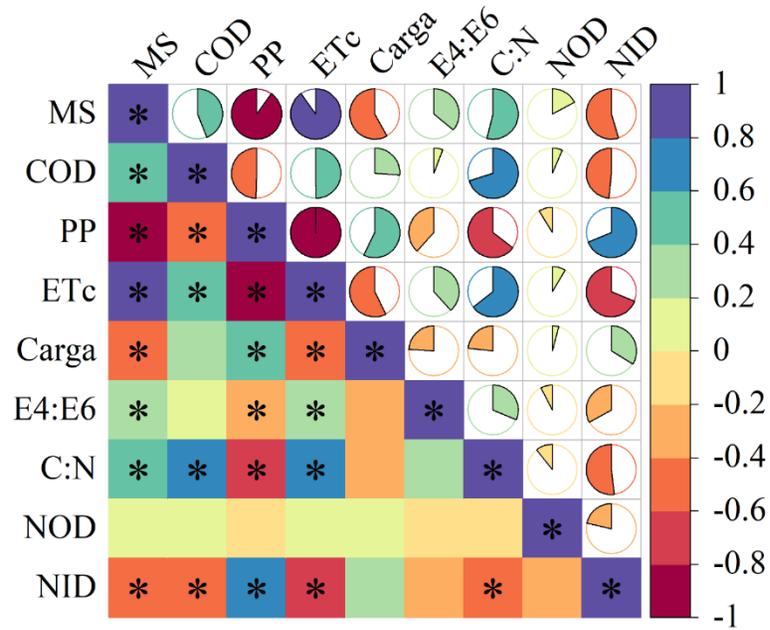
(a)



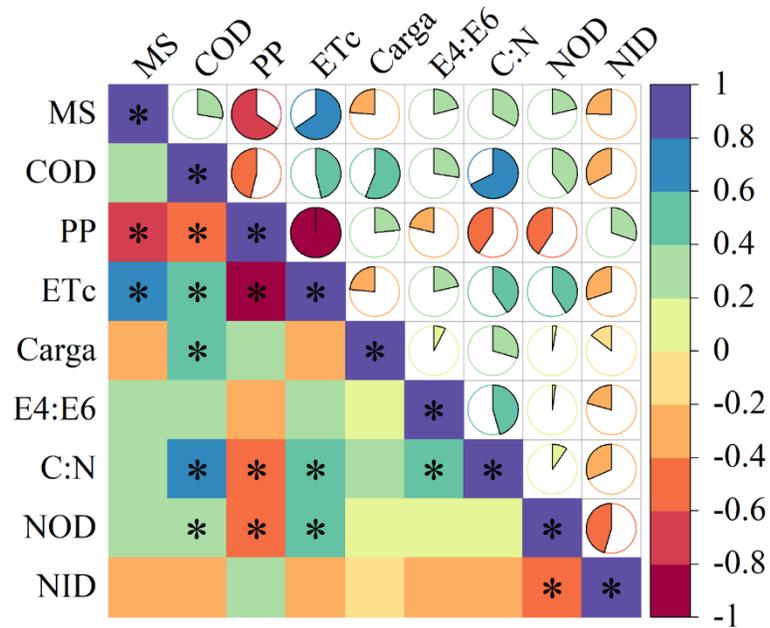
(b)



(c)



(d)



* Indica existencia de correlación lineal significativa entre variables para el coeficiente de correlación de Pearson ($p < 0,05$). MS, materia seca; COD, carbono orgánico disuelto; PP, percolación profunda; ETc, evapotranspiración del cultivo; Carga, carga de COD; E4:E6, relación de absorbancia E₄:E₆; C:N, relación carbono nitrógeno; NOD, nitrógeno orgánico disuelto; NID, nitrógeno inorgánico disuelto.

Apéndice 8. Formas disueltas de N en los lixiviados del Ensayo 2 en el Experimento 1: Columnas de suelo.

Tratamientos	Concentración de NOD ¹			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	Total
	----- mg N L ⁻¹ -----			
Zm _{250N} -F	0,69 ± 2,68b	2,06 ± 0,88ab	0,00 ± 0,08b	1,46 ± 0,94b
Zm _{400N} -F	1,39 ± 0,95b	2,51 ± 0,97ab	0,00 ± 0,08b	2,04 ± 1,03b
Zm _{250N} -Lm	14,49 ± 1,25a	2,12 ± 0,97ab	0,66 ± 0,51ab	5,98 ± 0,62a
Zm _{400N} -Lm	1,14 ± 0,95b	2,64 ± 0,90a	0,69 ± 0,43ab	1,84 ± 0,47b
Zm _{250N} -Tr	3,12 ± 2,76b	1,83 ± 0,84b	0,00 ± 0,09b	2,35 ± 0,94b
Zm _{400N} -Tr	1,31 ± 2,58b	2,49 ± 0,91ab	0,00 ± 0,09b	1,19 ± 0,62b
Zm _{250N} -Lm+Tr	3,37 ± 2,59b	2,01 ± 0,87ab	1,24 ± 0,25a	2,28 ± 0,94b
Zm _{400N} -Lm+Tr	17,32 ± 4,81a	1,66 ± 0,87b	0,38 ± 0,09b	4,19 ± 2,03ab
³ p-value	0,0050	0,0600	0,0200	<0,0001
Tratamientos	Concentración de NID ²			
	O-I ₂₀₁₆	P-V _{2016/17}	O-I ₂₀₁₇	Total
	----- mg N L ⁻¹ -----			
Zm _{250N} -F	41,60 ± 7,53b	6,87 ± 1,96b	12,74 ± 0,34a	28,40 ± 2,01a
Zm _{400N} -F	54,82 ± 7,53ab	16,79 ± 3,53a	13,90 ± 1,66a	33,98 ± 2,01a
Zm _{250N} -Lm	30,49 ± 7,53b	8,04 ± 2,43b	0,80 ± 0,26c	13,12 ± 1,77b
Zm _{400N} -Lm	51,25 ± 8,7ab	9,55 ± 3,92ab	1,91 ± 0,34b	25,75 ± 0,60a
Zm _{250N} -Tr	49,41 ± 7,53ab	10,56 ± 3,53ab	17,45 ± 1,75a	27,80 ± 1,77a
Zm _{400N} -Tr	55,23 ± 8,7ab	17,22 ± 3,93a	11,06 ± 3,56a	36,65 ± 6,39a
Zm _{250N} -Lm+Tr	71,14 ± 7,53a	7,33 ± 1,99b	1,28 ± 0,26bc	29,35 ± 1,64a
Zm _{400N} -Lm+Tr	49,22 ± 8,7ab	8,26 ± 3,85ab	1,14 ± 0,28c	17,49 ± 3,47b
³ p-value	0,0600	0,0273	<0,0001	<0,0001

¹² Valores promedio de cada variable ± error estándar; Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$);

³ p-value corresponde al efecto de los factores tratamiento y temporada.

Apéndice 9. Pruebas de contrastes para percolación acumulada.

Tratamientos ¹		Variables a contrastar ^{2 3}		
		Percolación acumulada m ³ ha ⁻¹		<i>p</i> -value
F	vs. CC	2923,01	± 441,62	<0,0001
Lm	vs. Tr	1676,10	± 395,00	0,0007
Lm ₀	vs. Lm ₁₅₀	244,71	± 558,61	0,6676
Tr ₀	vs. Tr ₁₅₀	-707,63	± 558,61	0,2246
P ₀	vs. P ₁₅₀	-231,46	± 395,00	0,5666
Lm	vs. Zm-Lm	739,48	± 370,77	0,0531
Tr	vs. Zm-Tr	-2250,10	± 370,77	<0,0001
Zm-F	vs. Zm-CC	1368,48	± 289,68	0,0001
Zm-Lm	vs. Zm-Tr	-1313,48	± 354,79	0,0011
Zm-Lm	vs. Zm-Lm+Tr	423,54	± 354,79	0,2442
Zm-Tr	vs. Zm-Lm+Tr	1737,02	± 354,79	0,0001
R ₂₅₀	vs. R ₄₀₀	97,93	± 250,87	0,6997
P	vs. R	-152,74	± 211,37	0,4742

¹ Lm: *Lolium multiflorum*, Tr: *Trifolium repens*, P: praderas del Ensayo 1 (subíndice representa dosis de N expresada en kg N ha⁻¹), Zm: *Zea mays*, R: rotaciones de cultivos del Ensayo 2 (subíndice representa dosis de N expresada en kg N ha⁻¹);

² Valores corresponden a promedio del contraste ± error estándar;

³ *p*-value ≤0,05 indica diferencias estadísticamente significativas para el contraste.

Apéndice 10. Prueba de contrastes para carga total de COD

Tratamientos ¹		Carga de COD ²		
		kg C ha ⁻¹		<i>p</i> -value ³
F	vs. CC	22,51	± 15,49	0,1669
Lm	vs. Tr	30,54	± 13,86	0,0436
P ₀	vs. P ₁₅₀	2,97	± 13,86	0,8331
Lm	vs. Zm-Lm	6,01	± 16,67	0,7205
Tr	vs. Zm-Tr	-2,65	± 13,02	0,8397
Zm-F	vs. Zm-CC	6,65	± 15,11	0,6640
Zm-Lm	vs. Zm-Tr	-17,33	± 5,22	0,0029
Zm-Lm	vs. Zm-Lm+Tr	-9,89	± 7,06	0,1740
Zm-Tr	vs. Zm-Lm+Tr	7,44	± 6,40	0,2566
R ₂₅₀	vs. R ₄₀₀	-7,65	± 8,38	0,3701
P	vs. R	-1,09	± 8,46	0,8979

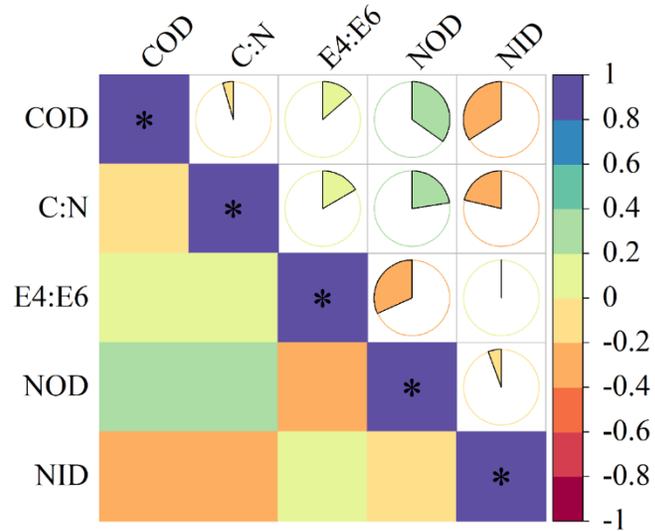
¹ Lm: *Lolium multiflorum*, Tr: *Trifolium repens*, P: praderas del Ensayo 1, Zm: *Zea mays*, CC: cultivos de cubierta, R: rotaciones de cultivos, subíndices representan la dosis de N expresada en kg N ha⁻¹;

² Valores corresponden al promedio del contraste ± error estándar;

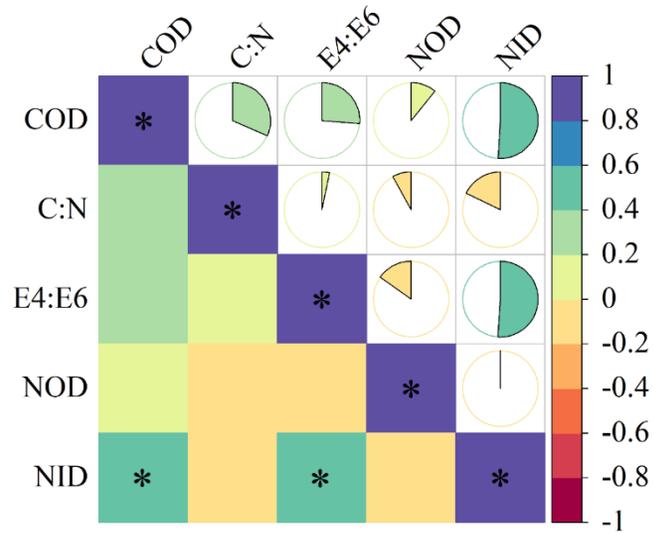
³ *p*-value ≤0,05 indica diferencias estadísticamente significativas para el contraste.

Apéndice 11. Análisis de correlación lineal Experimento 2: Parcelas de campo. (a) Ensayo 1, (b) Ensayo 2.

(a)



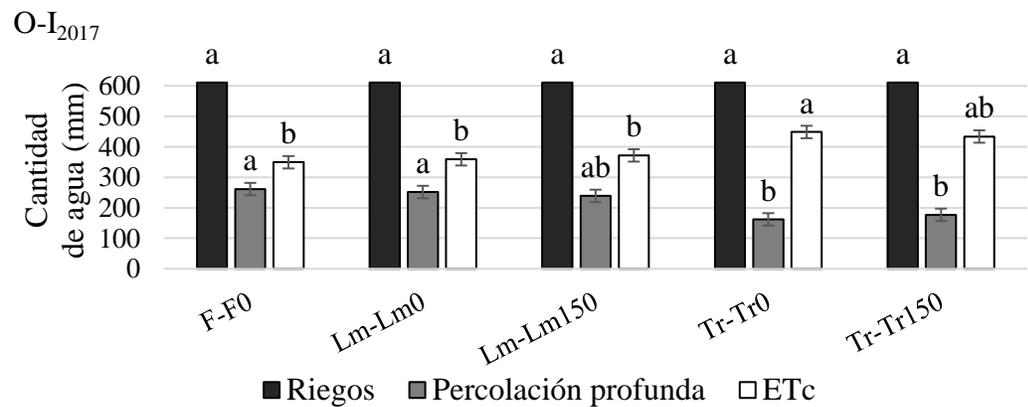
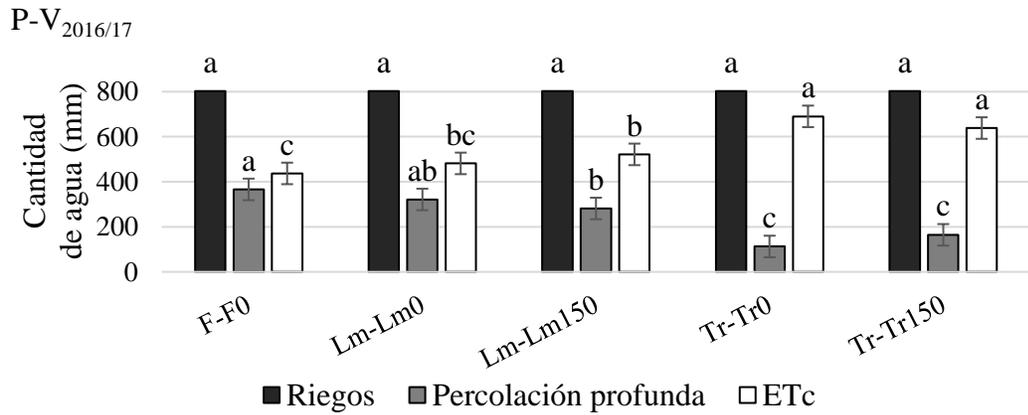
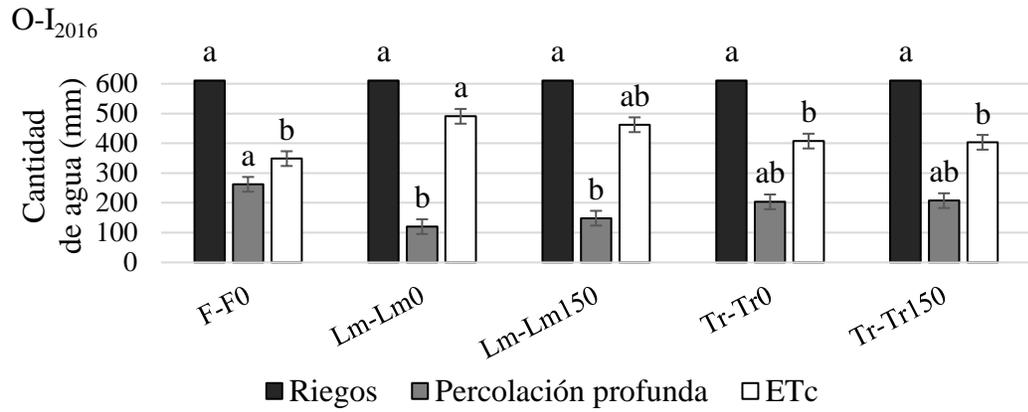
(b)



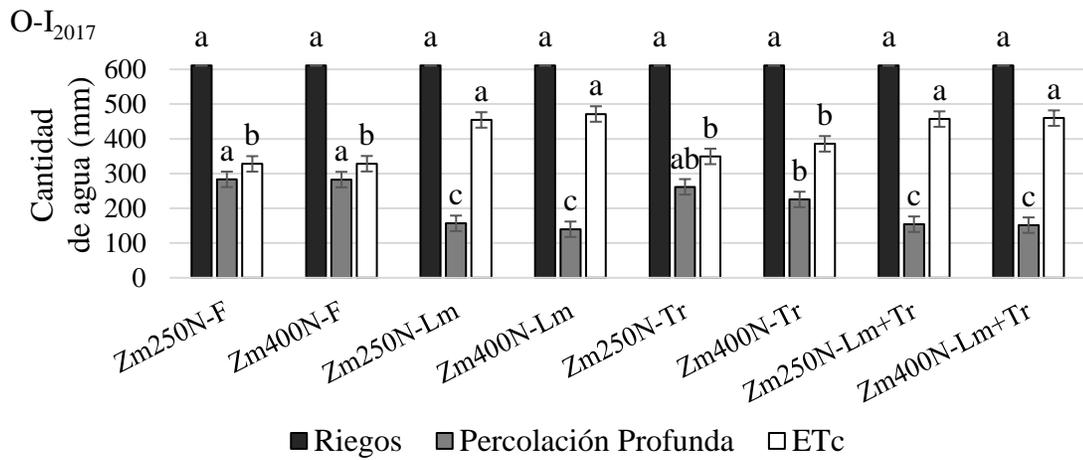
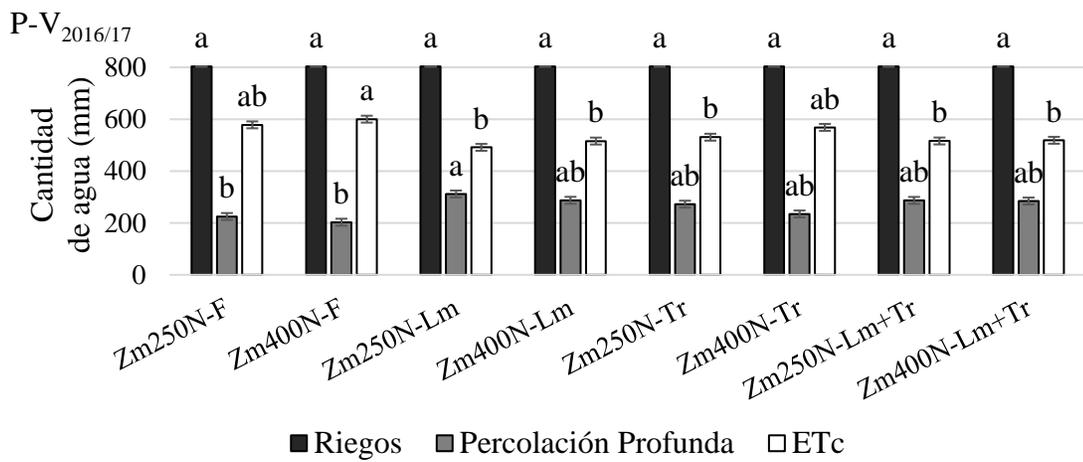
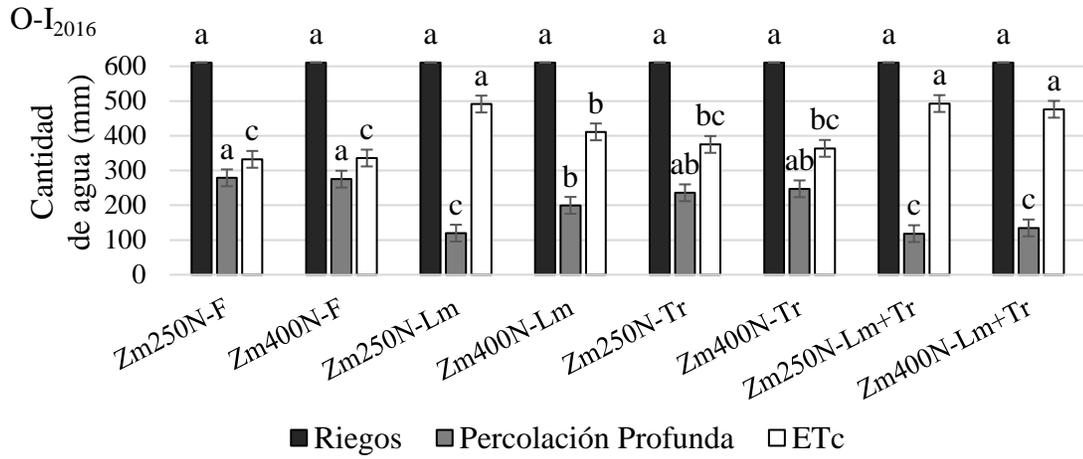
* Indica existencia de correlación lineal significativa entre variables para el coeficiente de correlación de Pearson ($p < 0,05$). COD, carbono orgánico disuelto; C:N, relación carbono nitrógeno; E4:E6, relación de absorbancia E₄:E₆; NOD, nitrógeno orgánico disuelto; NID, nitrógeno inorgánico disuelto.

Apéndice 12. Detalle del balance hídrico de Experimento 1 por temporadas. (a) Ensayo 1, (b) Ensayo 2.

(a)



(b)



ANEXOS

Anexo 1. Descripción morfológica del sitio de estudio.

Comuna de La Pintana, Provincia de Santiago, Región Metropolitana (33° 34' S – 70° 37' O, altitud 454 msnm).

Horizonte	Profundidad (cm)	Descripción morfológica
A _p	0–37	Pardo oscuro (10 YR 3/3); franco arcillo limosa; muy plástico; muy adhesivo; bloques subangulares medios y gruesos moderados; poros finos y medios abundantes; raíces finas y medias comunes; gravas angulares y redondeadas escasas (<5%); fuerte reacción al HCl; límite lineal abrupto.
C	37–55	Variegado; arenosa; no plástico; no adhesivo; bloques subangulares medios y finos débiles; poros muy finos abundantes; raíces finas y medias escasas; reacción moderada al HCl; límite lineal abrupto.
2C	55–65+	Pardo amarillento oscuro (10 YR 3/4); arcillo limosa; muy plástico; muy adhesivo; maciza; poros muy finos abundantes; raíces medias y finas comunes; fuerte reacción al HCl.

Anexo 2. Caracterización de propiedades físicas del sitio de estudio.

Horiz. (prof.)	Propiedades físicas e hidráulicas del suelo ^{1,2}											
	Textura			CT	Da	Dr	Contenido volumétrico					K _{sat}
	A	L	a				33 kPa	1500 kPa	PDR	PDL	AA	
	--- % ---				--- Mg m ⁻³ --		-----cm ³ cm ⁻³ -----					cm h ⁻¹
A _p (0–42)	20,9	44,7	34,4	F	1,42 ±0,02	2,40	0,30 ±0,02	0,15 ±0,00	0,10 ±0,02	0,06 ±0,00	0,15 ±0,02	11,88 ± 13,32
C (42–70)	5,3	26,9	77,8	aF	1,38 ±0,03	2,65	0,20 ± 0,02	0,06 ±0,01	0,21 ±0,02	0,07 ±0,00	0,14 ±0,03	17,64 ± 13,32
2C (70–90)	25,1	42,9	32,0	F	1,31 ±0,06	2,72	0,28 ± 0,02	0,17 ±0,01	0,12 ±0,01	0,11 ±0,00	0,11 ±0,00	–

¹ Valores corresponden a promedio ± error estándar (n = 3)

² CT, clase textural; Da, densidad aparente; Dr, densidad real; PDR, poros de drenaje rápido; PDL, poros de drenaje lento; AA, agua aprovechable; K_{sat}, conductividad hidráulica a saturación (n = 13).

Anexo 3. Caracterización de propiedades químicas del sitio de estudio.

Horizonte / Profundidad	Propiedades químicas del suelo								
	MO	CE	pH (1:2,5 p/v)		CDT	COT	NDT	C:N	
			H ₂ O	KCl					
	Cm	%	dS m ⁻¹	----- mg kg ⁻¹ -----					
	A _p (0–42)	1,12	0,97	8,99	7,56	115,38	103,72	19,99	6
	C (42–70)	0,19	1,10	8,10	7,70	28,51	15,07	9,22	3
	2C (70–90)	0,52	1,82	8,74	7,58	23,20	11,39	6,60	4

Anexo 4. Caracterización de propiedades químicas del sitio de estudio (continuación).

Horizonte / Profundidad	Propiedades químicas del suelo									
	Nutrientes disponibles					Cationes de intercambio				
	Cu	Fe	Mn	P-Olsen	Zn	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	
cm	----- mg kg ⁻¹ -----					----- cmol (+) kg ⁻¹ -----				
Ap (0-22)	4,04	5,99	5,56	12,6	1,38	-	-	0,20	2,20	
C (42-70)	0,80	4,41	1,24	0,50	0,33	21,3	2,30	0,50	0,60	
2C (70-90)	2,06	6,99	2,03	1,50	0,63	19,5	2,10	0,70	0,50	

Anexo 5. Contenido y formas de N en los lixiviados del Experimento 2: Parcelas de campo.
(a) Ensayo 1 , (b) Ensayo 2

(a)

Ensayo 1	Formas disueltas en lixiviados del periodo O-I ₂₀₁₇ ¹²			
	NOD		NID	
	----- mg L ⁻¹ -----			
F _{0N} -F	0,22	± 1,25c	106,04	± 16,78a
Lm _{0N} -Lm	2,02	± 1,04bc	4,65	± 2,60b
Lm _{150N} -Lm	4,89	± 1,25ab	81,9	± 73,90ab
Tr _{0N} -Tr	5,67	± 1,04a	15,48	± 1,03b
Tr _{150N} -Tr	1,06	± 1,25bc	1,32	± 16,78b
³ p-value	0,0400		0,0050	

¹ Valores promedio de cada variable ± error estándar;² Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$)³ p-value corresponde al efecto del factor tratamiento.

(b)

Ensayo 2	Formas disueltas en lixiviados del periodo O-I ₂₀₁₇ ¹²			
	NOD		NID	
	----- mg L ⁻¹ -----			
Zm _{250N} -F	3,30	± 1,53a	5,70	± 0,76b
Zm _{400N} -F	0,00	± 0,14a	45,44	± 9,64a
Zm _{250N} -Lm	6,23	± 5,87a	6,66	± 4,20b
Zm _{400N} -Lm	5,85	± 2,65a	26,36	± 11,05ab
Zm _{250N} -Tr	4,71	± 2,35a	4,85	± 0,76b
Zm _{400N} -Tr	0,32	± 0,20a	73,33	± 24,91a
Zm _{250N} -Lm+Tr	1,09	± 0,62a	6,82	± 1,28b
Zm _{400N} -Lm+Tr	1,83	± 1,83a	8,63	± 3,13b
³ p-value	0,0600		<0,0001	

¹ Valores promedio de cada variable ± error estándar;² Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. En base a la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$)³ p-value corresponde al efecto del factor tratamiento.