



Universidad de Concepción  
Dirección de Postgrado  
Facultad de Agronomía - Programa de Magíster en Ciencias Agronómicas

**EVALUACIÓN DE LAS ZONAS RIPARIANAS SOBRE LA PRODUCCIÓN DE  
N<sub>2</sub>O PROVENIENTE DE LA ACTIVIDAD AGRÍCOLA**

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Agronómicas  
Mención en Suelos

**JAIME ESTEBAN VARGAS GODOY**  
**CHILLÁN-CHILE**  
**2015**

Profesor Guía: Leandro Paulino  
Dpto. de Suelos y Recursos Naturales  
Facultad de Agronomía  
Universidad de Concepción

## EVALUACIÓN DE LAS ZONAS RIPARIANAS SOBRE LA PRODUCCIÓN DE N<sub>2</sub>O PROVENIENTE DE LA ACTIVIDAD AGRÍCOLA

Aprobada por:

Leandro Paulino  
Ing. Forestal, Mg. Cs., Dr.

---

Profesor Guía

Neal Stolpe Lau  
Ing. Agrónomo, M. Sc., Ph. D.

---

Evaluador interno

Marco Sandoval Estrada  
Ing. Agrónomo, Mg. Cs., Dr.

---

Evaluador interno

Inés Figueroa Cares  
Ing. Agrónomo, Mg. Cs., Dr.

---

Directora de Programa



## AGRADECIMIENTOS

La presente investigación se enmarcó dentro del proyecto Fondecyt Regular N° 1110156 “*Evaluation of the native chilean riparian vegetation as a filter for agricultural diffuse pollution: nutrient uptake, sediment removal and denitrification*”.



## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN .....	1
SUMMARY .....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
MATERIALES Y MÉTODOS .....	8
RESULTADOS .....	20
DISCUSIÓN .....	42
CONCLUSIONES .....	50
REFERENCIAS.....	50



## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

		Página
Figura 1	Localización de área de estudio en la zona sur de Chile (arriba) y sitio de estudio cercano a Arroyo Santa Rosa (abajo). Valdivia, Región de Los Ríos.....	10
Figura 2	Transecto transversal del área de estudio y perfil vertical de la vegetación (imagen no está a escala). A: Pradera lechera de <i>L. perenne</i> ; B: Ladera boscosa dominada por <i>N. obliqua</i> ; C: Bosque ripariano dominado por mirtáceas arbóreas ( <i>B. cruckshanksii</i> y <i>M. exsucca</i> ; D: Arroyo Santa Rosa. Adaptado de Ramirez <i>et al.</i> , (1983).....	11
Figura 3	Modelo completo del diseño experimental (Esquema no está a escala).....	12
Figura 4	Variación espacio-temporal de la temperatura (°C) a 30 cm de profundidad del suelo, durante Diciembre 2011 - Enero 2014.....	22
Figura 5	Variación espacio-temporal del contenido de humedad volumétrica (%) a 30 cm de profundidad del suelo, durante Diciembre 2011 – Enero 2014.....	23
Figura 6	Flujos de producción de N <sub>2</sub> O (mg N-N <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ) en un perfil de suelo (30 cm profundidad) durante periodo de estudio (Diciembre 2011 – Enero 2014) en sitios con tratamiento control (C). A: sin adición de acetileno (S); B: con adición de acetileno (Ac).....	25
Figura 7	Flujos de producción de N <sub>2</sub> O (mg N-N <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ) en un perfil de suelo (30 cm profundidad) durante periodo de estudio (Diciembre 2011 – Enero 2014) en sitios con tratamiento fertilizado con purines (F). A: sin adición de acetileno (S); B: con adición de acetileno (Ac).....	27
Figura 8	Relación de los flujos de N <sub>2</sub> O sin acetileno y con acetileno (S:Ac). A: sitios control (C); B: sitios fertilizados con purines (F).....	32
Figura 9	Variación temporal en la concentración de N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup> ) en los distintos usos de suelo, durante periodo	34

	Diciembre 2011 – Enero 2014. A: sitios con tratamiento control (C); B: sitios con tratamiento de aplicación de purines (F).....	
Figura 10	Variación temporal en la concentración de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> kg <sup>-1</sup> ) en los distintos usos de suelo, durante periodo Diciembre 2011 – Enero 2014. A: sitios con tratamiento control (C); B: sitios con tratamiento con aplicación de purines (F).....	35
Figura 11	Mineralización y nitrificación neta en suelos sometidos a incubación en 2 fechas de muestreo. A: mineralización neta, expresado en mg N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ; B: nitrificación neta, expresado en mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> .....	39
Figura 12	Mineralización y nitrificación neta en los distintos usos de suelo sometidos a incubación. A: mineralización neta, expresado en mg N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ; B: nitrificación neta, expresado en mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> .....	40
Figura 13	Mineralización y nitrificación neta de suelos sometidos a incubación, bajo 2 tratamientos (C: control; F: fertilizado). A: mineralización neta, expresado en mg N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ; B: nitrificación neta, expresado en mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> .....	41
Tabla 1	Cronograma de aplicación de purines en sectores de praderas para tratamientos experimentales.....	13
Tabla 2	Propiedades físicas y químicas del suelo de origen volcánico estudiado a 30 cm profundidad.....	21
Tabla 3	Registro de valores de temperatura (°C) a 30 cm de profundidad del suelo, durante Diciembre 2011 - Enero 2014.....	22
Tabla 4	Registro de valores de contenido de humedad volumétrica (%) a 30 cm de profundidad del suelo, durante Diciembre 2011 - Enero 2014.....	24
Tabla 5	Efecto de los usos de suelo en la producción de N <sub>2</sub> O sub-superficial en ensayos sin/con adición de acetileno, en diferentes fechas de evaluación.....	29
Tabla 6	Comparación de flujos de N <sub>2</sub> O (mg N-N <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ) entre tratamientos con/sin fertilización para cada sitio de estudio, sin acetileno (S).....	30

Tabla 7	Comparación de flujos de $\text{N}_2\text{O}$ ( $\text{mg N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) entre tratamientos para cada sitio de estudio, con acetileno (Ac)	31
Tabla 8	Efecto de los usos de suelo en el contenido de N-mineral en diferentes fechas de evaluación.....	36
Tabla 9	Comparación del contenido de $\text{N-NH}_4^+$ entre tratamientos durante periodo Noviembre 2012 – Enero 2014.....	37
Tabla 10	Comparación del contenido de $\text{N-NO}_3^-$ entre tratamientos durante periodo Noviembre 2012 – Enero 2014.....	38
Tabla 11	Matriz de correlación no paramétrica $r_s$ entre los parámetros de desnitrificación del suelo a 30 cm de profundidad con variables físicas, químicas y biológicas del suelo.....	42



## **EVALUACIÓN DE LAS ZONAS RIPARIANAS SOBRE LA PRODUCCIÓN DE N<sub>2</sub>O PROVENIENTE DE LA ACTIVIDAD AGRÍCOLA**

EVALUATION OF RIPARIAN ZONES IN RELATION TO N<sub>2</sub>O PRODUCTION FROM AGRICULTURAL ACTIVITIES

**Palabras índice adicionales:** nitrógeno, desnitrificación in situ, acetileno, purines, andisol

### **Resumen**

Las zonas riparianas (ZR) se desarrollan junto a arroyos y ríos y se consideran una barrera natural que filtra las influencias de los ambientes extra-riparianos antes de ingresar a cursos de agua, causadas por la actividad humana directa e indirecta. Esto ha sido demostrado por diversos estudios, que han reportado alta efectividad de la remoción/retención de nutrientes y sedimentos. Sin embargo, el papel de las ZR en la atenuación de producción de N<sub>2</sub>O y posterior liberación al ambiente, debido a las cargas nitrogenadas provenientes de lugares aledaños, han sido poco estudiadas en esos ambientes. En el presente estudio, las ZR demostraron un bajo aporte en los flujos de N<sub>2</sub>O hacia la atmósfera, incluso al recibir aportes nitrogenados, provenientes de la actividad agrícola. Además, las ZR pueden aportar considerables emisiones en forma de N<sub>2</sub>, de acuerdo a la relación de flujos N<sub>2</sub>O desde incubaciones *in situ* sin:con bloqueo con acetileno. No se observaron diferencias evidentes entre las producciones de N<sub>2</sub>O producidas entre los sectores de pradera lechera, ladera boscosa y planicie de inundación, por lo cual la influencia del suelo de origen volcánico queda de manifiesto en cuanto a procesos conservativos del ciclo del N que operan en estos ambientes.

### **SUMMARY**

The riparian zones (RZ) grow next to streams and rivers and are considered a natural barrier that filter the influence of extra-riparian environments before entering waterways, caused by the direct and indirect human activity. This has



been demonstrated by several studies, which have reported high effectiveness of the removal/retention of nutrients and sediments. However, the role of RZ in mitigating  $N_2O$  production and subsequent release into the environment due to the nitrogen loads from surrounding areas, have been less studied at these environments. In the present study, the RZ demonstrated a low contribution of  $N_2O$  fluxes to atmosphere, even when nitrogen was loaded from agriculture activities. Furthermore, RZ may contribute to considerable emissions of  $N_2$ , according to in site incubations with:without acetylene blocking. No major evident differences were observed in the productions of  $N_2O$  among dairy grassland, forest slope and floodplain areas, thus the influence of the volcanic soil are supported as conservative process of N cycle that operates in such environments.

## INTRODUCCIÓN

Debido al creciente aumento poblacional que ha experimentado el planeta, se ha requerido incrementar las cantidades de fertilizantes utilizados en los cultivos, especialmente nitrogenado, para aumentar la producción de alimentos y satisfacer la demanda de consumo en el mundo (Stuart *et al.*, 2014). Desde mediados de 1950, el uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos a nivel mundial ha aumentado 10 veces, desde  $10 \text{ Tg N año}^{-1}$  ( $1 \text{ Tg} = 10^{12} \text{ g}$ ) hasta aproximadamente  $100 \text{ Tg N año}^{-1}$  en la actualidad, y se proyecta que al año 2020, aumente el consumo mundial alrededor del 20 % (Robertson y Vitousek 2009; Roy *et al.*, 2006). Sin embargo, el uso excesivo de nitrógeno (N) en la agricultura, ha aumentado el riesgo de pérdidas nitrogenadas hacia el medioambiente, pudiendo perderse a través de lixiviación y escorrentía superficial, principalmente como nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), el cual es un anión muy soluble en el agua, que es repelido por las cargas negativas del suelo, siendo altamente móvil (van Cleemput y Boeckx, 2005). De esta forma, puede llegar a contaminar cuerpos de agua y generar episodios de eutrofización en ecosistemas acuáticos (Galloway *et al.*, 2008), además de generar problemas en la salud humana, al ingerir aguas cuyas concentraciones superen los  $11 \text{ mg L}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$  (WHO, 2011). Bajo este ámbito, las Zonas Riparianas (ZR) aparecen como una opción para minimizar la contaminación difusa proveniente de la actividad

agrícola. El término ripariana (*riparian en inglés*), proviene del latín *riparius*, lo que significa *de o perteneciente a la orilla de un río* (Naiman y Decamps, 1997). Las ZR se definen como la interfaz entre componentes terrestres y acuáticos en el paisaje, constituyendo un ambiente natural o antropizado, colindando e interactuando con cuerpos de agua, tales como arroyos, ríos, lagos o humedales (Price y Tubman, 2007). En algunos países, tales como los EE.UU., Nueva Zelanda y Australia, se han evaluado las ZR, para su posterior implementación y conservación, dentro de los planes de regulación ambiental. Las ZR están constituidas por vegetación ripariana (VR), una comunidad vegetal de tipo azonal, adaptada a las condiciones edáficas específicas de las zonas colindantes a los cuerpos de agua (Ramírez, 1982; Subiabre y Rojas, 1994). La vegetación ripariana (VR) no bloquea los flujos hidrológicos hacia ambientes acuáticos colindantes (Casey y Klaine, 2001), sino que regula naturalmente la calidad del agua, a través de la intercepción de nutrientes desde fuentes de contaminación no puntual (Zhao *et al.*, 2013). Se ha demostrado que las ZR proveen una funcionalidad de filtro natural frente a distintos contaminantes provenientes de la actividad agrícola, tales como disminución de cargas nitrogenadas y fosforadas, algunos cationes, sedimentos y pesticidas (Arora *et al.*, 2010; Stutter *et al.*, 2012); además de reducir la escorrentía superficial y erosión, proveer sombra y reducción de temperatura y alimento en beneficio de la biota existente y la creación de corredores biológicos para la vida silvestre (USDA, 2003).

Diversos estudios demuestran la efectividad de las ZR en la remoción de cargas nitrogenadas, a lo largo de vías de flujos de aguas que atraviesan estas zonas, reportando eficiencias de remoción de  $\text{N-NO}_3^-$  alrededor de 60 % hasta cercanos al 100 % (Vellidis *et al.*, 2003; Dhondt *et al.*, 2006; Hoffmann *et al.*, 2006; Cuevas *et al.*, 2014). Entre los mecanismos que le confieren a las ZR el efecto filtro frente a contaminantes nitrogenados, destacan procesos biológicos como la absorción de N por parte de las plantas, desnitrificación, inmovilización por parte de microorganismos (Groffman *et al.*, 1992; Rivett *et al.* 2008), y procesos abióticos como la adsorción de N a las partículas del suelo (Huygens *et al.*, 2007). Sin embargo, la desnitrificación es el mecanismo más eficiente de remoción de N-

$\text{NO}_3^-$  hacia productos finales gaseosos, tales como óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) o nitrógeno atmosférico ( $\text{N}_2$ ), entre otros (Hefting *et al.*, 2006). La desnitrificación es un proceso realizado bajo condiciones anaeróbicas, donde el  $\text{NO}_3^-$  es reducido a  $\text{N}_2$  como producto final. Además, se generan productos intermedios gaseosos como nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), óxido nítrico ( $\text{NO}$ ) y óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ). En la desnitrificación participan bacterias del género *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, entre otras, siendo la mayoría de ellos heterotróficos. El proceso comienza con la reducción del  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$ , por medio de la enzima nitrato reductasa. Luego, por acción de la enzima nitrito reductasa, es transformado a  $\text{NO}$ . Posteriormente, es reducido a  $\text{N}_2\text{O}$  por la enzima óxido nítrico reductasa y, finalmente, transformado a  $\text{N}_2$  por óxido nitroso reductasa. Durante la desnitrificación, los gases nitrogenados generados, a excepción del  $\text{N}_2$ , pueden impactar negativamente a nivel atmosférico, como son  $\text{NO}$  y  $\text{N}_2\text{O}$  (van Cleemput y Boeckx, 2005; Robertson y Vitousek, 2009). Con respecto al  $\text{N}_2\text{O}$ , este es un importante gas efecto invernadero (GEI), de alta longevidad en la atmósfera (alrededor de 120 años), con un potencial de calentamiento global (PCG) de 298 veces mayor al  $\text{CO}_2$  en un periodo de 100 años, relativo a la masa de  $\text{CO}_2$  atmosférico, contribuyendo con alrededor del 6 % al calentamiento global y posee gran importancia en la destrucción de la capa de ozono, aumentando la concentración de dicho GEI en alrededor de 0,26 % año<sup>-1</sup> (Reay *et al.*, 2007; IPCC, 2007; Ravishankara *et al.*, 2009).

Los estudios sobre emisiones de  $\text{N}_2\text{O}$  se han centrado principalmente sobre zonas agrícolas productivas, donde la aplicación de fertilizantes nitrogenados, purines y quema de residuos son consideradas las principales fuentes de producción de  $\text{N}_2\text{O}$  (González, 2009; Heincke y Kaupenjohann, 1999; Saggar *et al.*, 2009). Se ha estimado que entre un 70 - 80 % del  $\text{N}_2\text{O}$  emitido hacia la atmósfera proviene de la actividad agrícola (Dalal *et al.*, 2003; Reay *et al.*, 2012). Sin embargo, las emisiones de  $\text{N}_2\text{O}$  desde las ZR han sido poco estudiadas, siendo hasta la actualidad, discutidos sus efectos positivos o negativos hacia el medioambiente. Algunos autores consideran que las ZR pueden ser una importante fuente de producción de  $\text{N}_2\text{O}$ , debido a su proximidad con zonas

destinadas a actividad agrícola (Hefting *et al.*, 2003; Dhondt *et al.*, 2004), removiendo en la forma de  $N_2O$  la carga nitrogenada que ingresa a la ZR (Galloway *et al.*, 2003). Por otro lado, se puede considerar a las ZR como prestadoras de servicios ecosistémicos (Zedler *et al.*, 2003) ya que son capaces de remover la carga nitrogenada por medio de la desnitrificación, obteniendo como producto final  $N_2$ , considerándose beneficioso desde el punto de vista medioambiental (Bradley *et al.*, 2011). La pregunta que surge es si las ZR, usadas como filtro para proteger ecosistemas acuáticos, son una solución a un problema medioambiental o si sustituyen parcialmente un problema medioambiental por otro, donde pasan a reducir la contaminación de las aguas, en desmedro del aumento en las emisiones de GEI.

Saggar *et al.*, (2013), definió los principales factores que afectan la desnitrificación como factores proximales, los cuales tienen influencia directa en las comunidades desnitrificantes, conduciendo a cambios instantáneos en las tasas de desnitrificación:

**1) Suministro de  $O_2$  y contenido de humedad.** Debido a que la desnitrificación se realiza en condiciones anaeróbicas, la disponibilidad de  $O_2$  es un importante factor que puede llegar a inhibir este proceso en el suelo. La enzima  $N_2O$  reductasa, necesaria para la reducción de  $N_2O$  a  $N_2$ , es altamente sensible a la presencia de  $O_2$ . Pequeñas cantidades de  $O_2$  son suficientes para detener el proceso de desnitrificación, conduciendo a una acumulación de  $N_2O$ , en lugar de la reducción a  $N_2$  (Betlach y Tiedje, 1981; Blicher-Mathiesen y Hoffmann, 1999). Ambientes edáficos saturados con agua, aguas subsuperficiales profundas y ZR, donde el transporte de  $O_2$  por difusión es limitado, pueden potencialmente ser sitios para reducción de  $N_2O$  (Kroeze *et al.*, 2007). El contenido de humedad tiene una alta influencia en la desnitrificación, debido a que limita la disponibilidad de  $O_2$ . Linn y Doran (1984) establecieron que el contenido de humedad de un suelo por sobre el 60 % WFPS, expresado como espacio poroso lleno de agua (del inglés *Water-Filled Pore Space*), promueve la desnitrificación como proceso dominante. Estudios confirman un aumento en las tasas de desnitrificación y disminución de la relación  $N_2O:N_2$  con el aumento del % WFPS (Hutchinson y

Mosier, 1981; Weitz *et al.*, 2001).

**2) Concentración de  $\text{NO}_3^-$ .** Bremner y Blackmer (1978) y Blicher-Mathiesen y Hoffmann (1999), señalaron que altas concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  inhiben la actividad de la enzima  $\text{N}_2\text{O}$  reductasa, involucrada en la generación de  $\text{N}_2$ . La concentración de  $\text{NO}_3^-$  también juega un rol clave en la relación  $\text{N}_2\text{O}:\text{N}_2$ . Esta relación es más alta cuando hay mayor concentración de  $\text{NO}_3^-$  en el medio (Zaman *et al.*, 2007). En la actividad desnitrificadora, Woodward *et al.* (2009), observaron que la tasa de desnitrificación potencial aumenta con la adición de  $\text{NO}_3^-$ , lo cual indica que la desnitrificación es limitada por el suministro de  $\text{NO}_3^-$  cuando las condiciones son propicias para la desnitrificación.

**3) Disponibilidad de carbono (C).** El suministro de C actúa como donador de electrones para la desnitrificación, donde suelos con contenidos bajos de C disminuyen la desnitrificación (Pinay *et al.*, 1993). Un suministro adicional de C de rápida asimilación, puede aumentar la tasa de respiración microbiana, generando disminución de  $\text{O}_2$  en el suelo y proporcionando condiciones anaeróbicas que se requieren para la desnitrificación (Paul y Clark, 1996).

**4) pH del suelo.** La influencia del pH sobre la desnitrificación fue evaluada por Simek y Cooper (2002), quienes concluyeron que los productos gaseosos generados durante dicho proceso son menores en suelos ácidos que en suelos neutros o ligeramente alcalinos. Resultados similares en cuanto a una disminución de la actividad desnitrificadora con bajo pH fueron reportados por van den Heuvel *et al.* (2011). Aunque no en forma clara, se ha verificado que la razón  $\text{N}_2\text{O}:\text{N}_2$  puede variar según el pH del suelo (Paul y Clark, 1996).

**5) Temperatura del suelo.** Se ha evidenciado que las tasas de desnitrificación disminuyen a bajas temperaturas. Richardson *et al.* (2004), encontraron alguna actividad de desnitrificación a 4 °C; en tanto, Bonnett *et al.* (2013) reportaron casi nula actividad desnitrificadora por debajo de 5 °C. Por su parte, Fischer y Whalen (2005), determinaron que en intervalos de temperaturas de 7 °C a 20 °C y de 20 °C a 30 °C, la actividad de desnitrificación aumenta 1,6 y 2,8 veces, respectivamente, calculado como  $Q_{10}$ .

De acuerdo a la combinación de algunos de los factores mencionados

anteriormente, Kroeze *et al.*, (2007) planteó que los lugares del mundo que presenten baja disponibilidad de N, alto contenido de humedad y temperaturas del suelo sobre 5 °C, podrían ser aptos para una desnitrificación completa. Bajo esta premisa, se podría inferir que las ZR ubicadas en el sur de Chile, localizadas dentro de zonas con clima templado-húmedo, podrían aportar bajos niveles de N<sub>2</sub>O hacia la atmósfera, debido a que los aportes nitrogenados antrópicos, tales como NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, son muy limitados, en comparación a países industrializados (Pérez *et al.*, 2003; Vitousek *et al.*, 1997). Además, estos ambientes demuestran un ajustado y conservativo ciclo interno del N, evitando pérdidas nitrogenadas hacia el medio (Huygens *et al.*, 2008). A lo señalado anteriormente, la alta pluviometría en el sur de Chile, genera condiciones de anegamiento en los suelos, tanto en ambientes riparianos como en humedales (Ramírez *et al.*, 1995; San Martín *et al.*, 1999) y temperaturas del suelo por sobre el umbral de 5 °C para procesos de desnitrificación (Dörner *et al.*, 2012; Dörner *et al.*, 2013).

Alrededor del 50 – 60 % de los suelos en el sur de Chile, ubicados entre los paralelos 36° S – 45° S, son derivados de cenizas volcánicas (Besoain y Sepúlveda, 1985). Los suelos del orden Andisol (Soil Survey Staff, 2006) exhiben propiedades naturales muy especiales: cargas variables, alta retención de fosfato, baja densidad aparente, gran volumen de poros a diferentes tensiones de humedad, alta conductividad hidráulica y de aire, alta contracción, pero baja capacidad de expansión, y la formación de agregados estables del suelo (Dorel *et al.*, 2000; Dörner *et al.*, 2009a; Ellies, 1988; Ellies *et al.*, 1997; Shoji *et al.*, 1993). Los Andisoles bien estructurados tienen un gran número de macro y microporos (Dörner *et al.*, 2009b), los cuales pueden configurar condiciones aeróbicas y/o anaeróbicas, en función de las condiciones meteorológicas. A pesar del gran volumen de macroporos y alta permeabilidad al aire, que inducen a los suelos a estar bajo condiciones aeróbicas y bien drenados, la alta pluviometría en el sur de Chile (precipitaciones mayores a 2.000 mm, Amigo y Ramírez, 1998) y el gran volumen de microporos, pueden aumentar el potencial de desnitrificación, debido al aumento del % WFPS en el suelo.

El entorno natural en el sur de Chile aún refleja una de las aproximaciones

más cercanas conocidas de las condiciones de la era preindustrial (Godoy *et al.*, 2003; Weathers *et al.*, 2000). Por el contrario, los ecosistemas del hemisferio norte, donde la mayoría de los estudios sobre las emisiones de  $N_2O$  han sido realizados, son caracterizados por la gran influencia de la deposición atmosférica de nutrientes (Hedin *et al.*, 1995; Lowrance *et al.*, 1995; Hefting *et al.*, 2003; Maljanen *et al.*, 2003; Dhondt *et al.*, 2004).

De acuerdo a los antecedentes expuestos anteriormente, el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad filtro de una ZR en la producción de  $N_2O$  originada por la actividad agrícola colindante, en un suelo de origen volcánico. Los objetivos específicos fueron: (1) evaluar la influencia temporal y del sitio sobre la producción de  $N_2O$ ; (2) evaluar la influencia de la fertilización con purines sobre la producción de  $N_2O$ ; (3) comparar las tasas de desnitrificación, en términos de producción de  $N_2O$ , en ensayos sin y con adición de acetileno; (4) correlacionar la producción de  $N_2O$  del suelo con variables físico, químicas y biológicas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Descripción del sitio de estudio**

La investigación fue desarrollada en la Estación Experimental Agropecuaria Austral, propiedad de la Universidad Austral de Chile ( $39^{\circ} 46' 55''$  S,  $73^{\circ} 13' 24''$  O), 4 km al norte de la ciudad de Valdivia, Región de Los Ríos, en la zona sur de Chile (Figura 1). El clima es templado húmedo (Amigo y Ramírez, 1998; Pezoa, 2003), con un promedio de temperatura anual de  $12^{\circ}C$ , y reducida amplitud termal debido a la proximidad con el Océano Pacífico. El promedio de precipitación anual es 2.500 mm., donde las mayores precipitaciones se concentran entre los meses de junio y agosto.

El suelo corresponde al orden Andisol, serie Valdivia (Duric Hapludand, Ciren 2003 o Petroduri-Silandic Andosol, WRB 2006). En dicha Estación Experimental, la actividad productiva más importante es la ganadería lechera, la cual es apoyada por considerable superficie de pradera artificial, además de contar con una planta para el procesamiento de la leche. El área completa de estudio comprendió 200 m de ancho y 75 m de largo de una porción de terraza aluvial, adyacente a un río de

tercer orden (Arroyo Santa Rosa), conformada por 3 áreas: (1) porción superior cubierta por pradera, con 30 m largo; (2) una pendiente con vegetación boscosa (25 m largo y 35° inclinación) conectada con (3) planicie de inundación, cubierta con vegetación nativa, con un largo de 20 m (Figura 2). La cobertura vegetal de la pradera es mayormente dominada por ballica (*Lolium perenne* L.). En el sector de ladera se encuentra un remanente de bosque nativo de roble (*Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst. var *obliqua*), además de *Chusquea quila* Kunth (quila) y *Heredia helix* L., una enredadera exótica. En el sector de planicie de inundación, es posible encontrar vegetación ripariana propiamente tal, como *Blepharocalyx cruckshanksii* (H. et A.) Nied., *Myrceugenia exsucca* (DC.) Berg y *Drimys winteri* J. R. et G. Forster var. *chilensis* (DC.) A. Este tipo de asociación se denomina localmente como *hualve*. En el sector de planicie de inundación, la lámina de agua alcanza una altura de 40 cm sobre el nivel del suelo durante los meses de mayor intensidad de precipitación, mientras que en verano, el nivel freático no desciende más allá de 60 cm de profundidad.

El periodo total de estudio comprendió desde Diciembre 2011 hasta Enero 2014. La producción de N<sub>2</sub>O fue medida en 8 transectos sobre el suelo de pradera, ladera boscosa y planicie de inundación. Cada transecto estuvo contenido dentro de un área de 25 m de ancho x 30 m de largo (zona de pradera), y a continuación de ella, 25 m ancho x 45 m de largo entre las zonas de ladera y planicie de inundación. De los 8 transectos, 4 de ellos correspondieron a réplicas de un tratamiento con aplicación de purines (fertilizado: F) sobre el suelo de pradera (F1, F2, F3, F4), mientras que los demás transectos (C1, C2, C3, C4) correspondieron a réplicas de un tratamiento control, sin aplicación de purines (Figura 3).

El experimento consideró 2 etapas, las cuales se detallan a continuación:

Etapas: Etapa 1: sin aplicación de purines durante el periodo Diciembre 2011 - Septiembre 2012. Durante esta etapa, todos los sectores de pradera estuvieron privados de la aplicación de purines con el fin de evaluar preliminarmente la línea base de emisiones de gases y su variación solamente por efecto estacional y del uso del suelo, por lo cual se consideraron como tratamientos control (C).



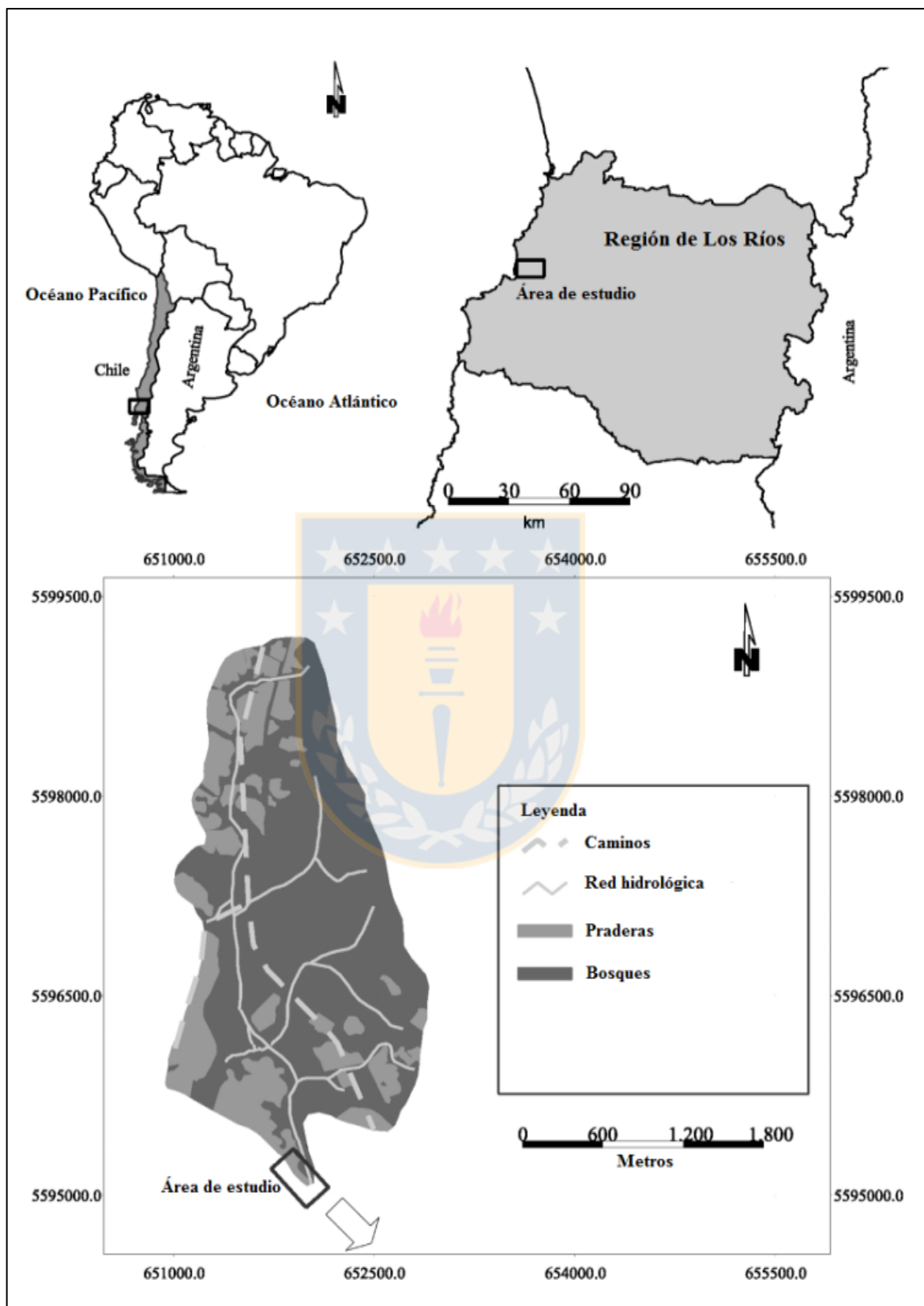


Figura 1. Localización de área de estudio en la zona sur de Chile (arriba) y sitio de estudio cercano a Arroyo Santa Rosa (abajo). Valdivia, Región de Los Ríos.

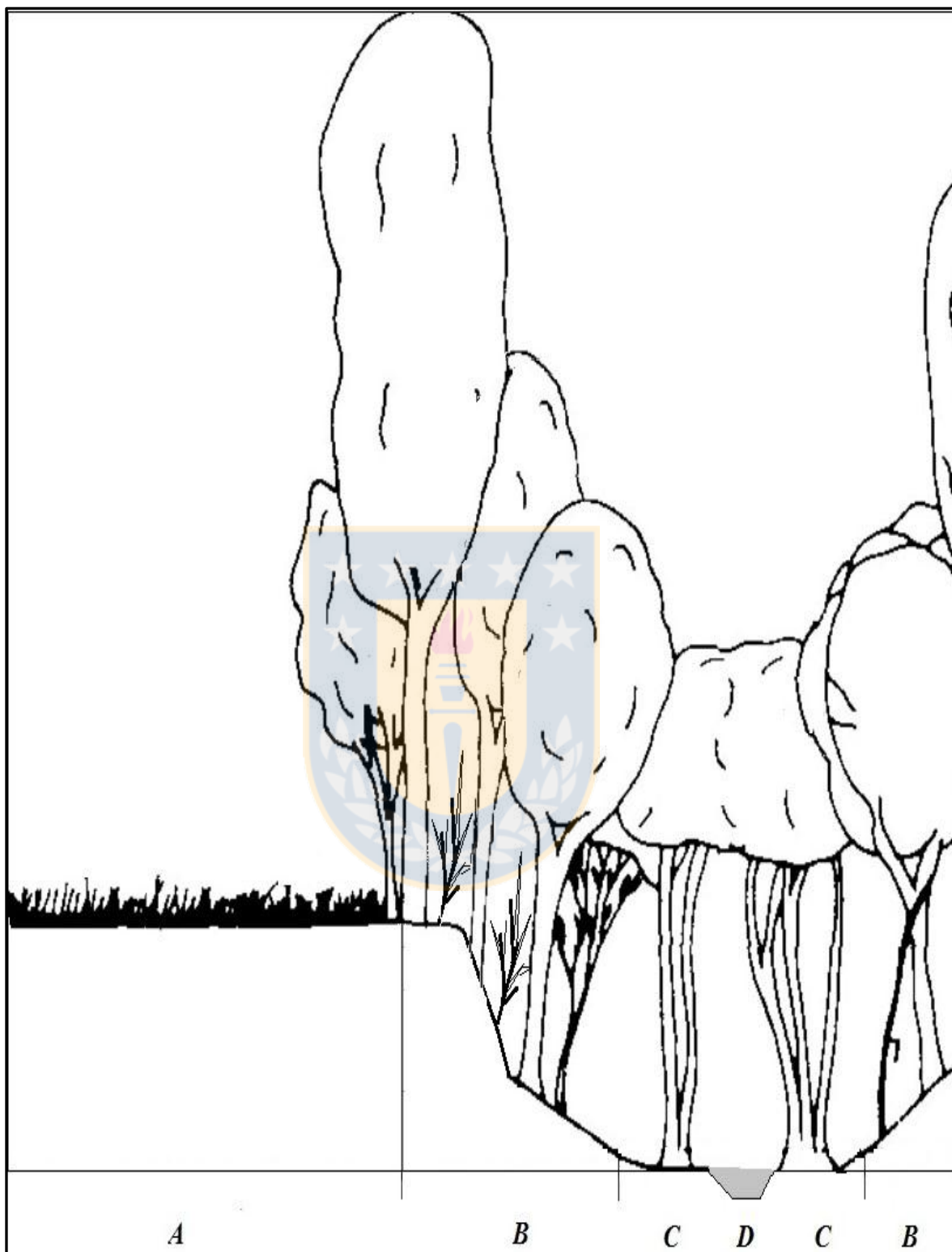


Figura 2. Transecto transversal del área de estudio y perfil vertical de la vegetación (imagen no está a escala): A: Pradera lechera de *L. perenne*; B: Ladera boscosa dominada por *N. obliqua*; C: Bosque ripariano dominado por mirtáceas arbóreas (*B. cruckshanksii* y *M. exsucca*; D: Arroyo Santa Rosa. Adaptado de Ramirez *et al*, (1983).

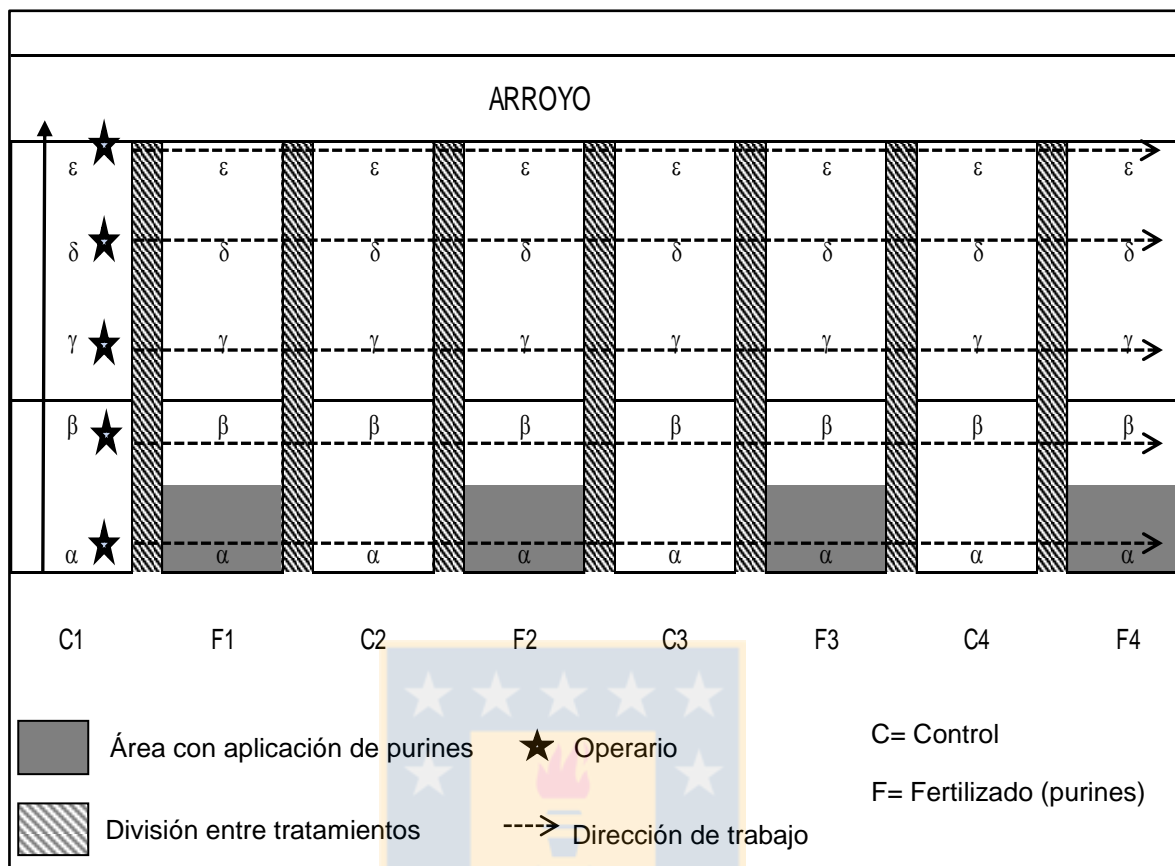


Figura 3. Modelo completo del diseño experimental (Esquema no está a escala).

Etapa 2: con aplicación de purines durante el periodo Noviembre 2012 - Enero 2014. En esta etapa, sólo los sectores designados para aplicación de purines (F), recibieron dichos aportes, dejando sin aplicación a los sectores para tratamientos C. La aplicación de purines fueron realizados solamente en los sitios con pradera. Estos purines fueron obtenidos en el mismo predio, a través de los desechos generados por el ganado lechero. Los purines contenían una mezcla de orina, fecas, leche, agua lluvia, agua de lavado de planta lechera, entre otros contaminantes en fase líquida. La cantidad de purines aplicados fue  $271 \text{ kg N ha}^{-1}$  durante el periodo experimental y parcializado, como se observa en la Tabla 1. Los purines fueron aplicados a través de una manguera conectada a un equipo de bombeo, esparcido sólo en el sector de pradera. En cuanto a los sectores delimitados para tratamientos control, fueron regados con agua proveniente del arroyo, debido a su bajo aporte de nutrientes (Cuevas *et al.*, 2014).

Tabla 1. Cronograma de aplicación de purines en sectores de praderas para tratamientos experimentales.

Fecha de aplicación	N Mineral (kg ha <sup>-1</sup> )	Volumen aplicado (m <sup>3</sup> ha <sup>-1</sup> )
10 - Octubre - 2012	16,8	88,3
27 - Marzo - 2013	21,7	150,6
11 - Junio - 2013	25,1	184,5
21 - Agosto - 2013	26,6	180
24 - Octubre - 2013	87,1	330
12 y 13 - Diciembre - 2013	93,7	330
<b>Total</b>	<b>271</b>	<b>1263,4</b>

### Diseño de muestro

Para observar la influencia temporal en las tasas de producción de N<sub>2</sub>O, las evoluciones gaseosas fueron desarrolladas a través de 10 muestreos, desde Diciembre 2011 hasta Enero 2014, aproximadamente 1 vez en cada estación del año (etapas sin/con aplicación purines).

La evolución gaseosa, para el estudio de la producción de N<sub>2</sub>O *in situ*, fue realizada en 5 puntos de muestreo a lo largo de cada uno de los transectos (n = 8). Para ello, fueron ubicados 2 puntos de muestreo en el sector de pradera ( $\alpha$  en su parte superior y  $\beta$  en el límite entre pradera y ladera boscosa); 1 punto de muestreo en la zona de ladera boscosa  $\gamma$  (corresponde a una zona de transición, la cual está formada por vegetación arbórea y donde el terreno conforma una pendiente fuerte, Figura 2); y 2 puntos de muestreo ubicados en la planicie de inundación,  $\delta$  (sector medio de la ZR), y  $\varepsilon$  (próximo al arroyo Santa Rosa).

En cada punto de muestreo, indicado con las letras griegas en la Figura 3, fueron perforados 2 orificios a 30 cm de profundidad, adyacentes uno del otro, correspondiente a 2 ensayos de evolución gaseosa *in situ*: con adición de acetileno (Ac) y sin adición de acetileno (S). La ubicación de los orificios para los ensayos Ac y S fue alternada en cada punto de muestreo, con la finalidad de evitar la influencia sistemática del sitio sobre dichos ensayos, como sombra de árboles, dirección predominante del viento, pendiente y exposición a la luz solar. El muestreo a 30 cm de profundidad parte del supuesto que la producción de N<sub>2</sub>O en estos suelo, principalmente en condiciones de anegamiento permanente, es más

factible por la menor difusión de  $O_2$  (Kroeze *et al.*, 2007). Aunque la condición de pradera posee un perfil más amplio y normalmente libre de condición de anegamiento, tal como se observa en la planicie de inundación, el muestreo a esta profundidad provee una condición estándar de comparación con los sitios, dado que los suelos derivados de cenizas volcánicas poseen elevada porosidad total (Stolpe, 2006), y por lo tanto facilita la condición de aeración permanente en superficie. Se realizaron 80 orificios en el área de estudio, en cada campaña de muestreo. Los orificios fueron realizados con un barreno de corte liso y plano, necesario para la obtención de muestras inalteradas de suelo. Cada barreno tuvo un tope indicador de la profundidad, de modo de no superar los 30 cm de profundidad. El volumen de suelo retirado en la confección de cada orificio, se conservó como testigos en tubos de PVC, que hicieron la vez de cámaras de la evolución gaseosa, como se describe más adelante.

### **Instalación de cámaras**

Las cámaras de gases estuvieron conformadas por tubos de PVC, cuyas dimensiones fueron 4,5 cm de diámetro interno y 10 cm de largo, además de tapas de PVC de 4,5 cm diámetro interno. La relación altura/base fue adecuada para este tipo de estudio (IAEA, 1992). Cada tubo de PVC fue insertado al suelo a los 30 cm de profundidad en el orificio correspondiente, a través una herramienta con tope de 5 cm de inserción. De esta forma, al interior de cada tubo de PVC quedaron colectados testigos inalterados de suelo con 4,5 cm de diámetro y 5 cm de alto, con un volumen libre de suelo (*headspace*) similar al ocupado por el suelo, de aproximadamente 80 mL. Una vez obtenido el volumen de suelo intacto con ayuda de una herramienta de colecta, la misma fue utilizada para retirar el tubo de PVC del suelo sin perder el volumen colectado. Los tubos con muestras de suelo fueron mantenidos al interior de cada orificio excavado y, a nivel del suelo, fueron cubiertos con una carpeta de nylon hasta el día siguiente. Transcurridas 24 h, los tubos de PVC fueron cerrados, en la parte inferior, con tapas de PVC de 4,5 mm de diámetro interno, previamente tratadas en su parte interna con vaselina para evitar el intercambio gaseoso con el medio externo, así

como la parte superior. La tapa superior de las cámaras estaba provista de un conector donde se insertó una manguera de silicona flexible de 40 cm largo y 4 mm de diámetro interno, con la finalidad de poder colectar muestras gaseosas desde el exterior del orificio. El extremo de la manguera de silicona flexible fue provisto de una llave de tres pasos para controlar la acumulación/extracción de gas en las cámaras. Las cámaras, debidamente tapadas e implementadas con la manguera de acceso externo, fueron reintroducidas manualmente en sus orificios respectivos y cubiertas con el suelo sacado del orificio, para el posterior ensayo de evolución gaseosa.

### **Evolución gaseosa *in situ***

Las evoluciones gaseosas fueron realizadas en condiciones de campo (*in situ*), a partir de cámaras cerradas para producciones pasivas de gases, según aproximaciones metodológicas utilizadas originalmente en laboratorio (Groffman y Tiedje, 1989), asignadas a pradera ( $\alpha, \beta$ ), ladera ( $\gamma$ ) y planicie de inundación ( $\delta, \epsilon$ ), en transectos (n=8) desde pradera hasta planicie de inundación.

El ensayo de evolución gaseosa se realizó con el fin de determinar la tasa de producción de  $N_2O$  en función del tiempo con y sin la presencia de acetileno. El uso de acetileno en ensayos *in situ*, se apoya en la propiedad de este gas de bloquear la enzima óxido nitroso reductasa en la producción de  $N_2$  en la etapa final del proceso de desnitrificación (Groffman y Tiedje, 1989), como se utiliza normalmente en ensayos de desnitrificación potencial en laboratorio. Por lo tanto, la evolución gaseosa con el uso de acetileno, genera muestras cuyo contenido gaseoso resulta de la suma estequiométrica de N en la forma de  $N_2O$  y  $N_2$ , mientras que las muestras obtenidas del muestreo sin acetileno contienen solamente N gaseoso en la forma de  $N_2O$ . Teóricamente, la diferencia cuantitativa entre estos dos flujos de  $N_2O$  (con y sin acetileno), debería representar la producción de  $N_2$ . Sin embargo, debido al gran volumen de este gas a nivel atmosférico, dicha estimación estaría sujeta a un elevado nivel de error, considerando que el contenido de  $N_2O$  producido en el suelo se ubica en niveles traza ( $\mu L L^{-1}$ ) (van Cleemput y Boeckx, 2005). La relación de estos dos flujos será

discutida en esta investigación a través de la razón de los flujos sin:con acetileno, a partir de antecedentes previos de estudios en laboratorio, para ambientes comparables (Maljanen *et al.* 2003 y Hefting *et al.*, 2006).

La saturación atmosférica de la cámara con acetileno, inhibe la producción de  $N_2$ , el cual constituye el producto final del proceso total de desnitrificación. Los flujos de  $N_2O$  fueron estimados a partir de la concentración de este gas luego de 2 y 5 h de incubación. Estos tiempos fueron previamente estimados a partir de una función lineal de incremento en la concentración en dicho intervalo de tiempo en ensayos controlados de laboratorio. Por lo tanto, el intervalo entre 2 y 5 h de incubación provee condiciones de producción lineal de  $N_2O$  en este suelo. El tiempo 2 h fue el tiempo inicial (i) y el tiempo 5 h fue el tiempo final (f) de incubación. El ensayo sin adición de acetileno (S) comenzó inmediatamente después del cierre en la llave de paso, ubicado en el extremo de cada manguera de silicona. En el caso del ensayo con adición de acetileno (Ac), un volumen de 8,5 mL de aire fue extraído desde la cámara, por medio de una jeringa hermética de 10 mL (Nipro ®) conectada a la llave de paso, y el mismo volumen fue restablecido a través de la adición de acetileno puro (99,5 %; Linde Chile S.A.) hacia la cámara, de tal forma a generar una atmósfera saturada al 10 % v/v con acetileno. Luego se homogenizó la atmósfera de la cámara con ayuda de la jeringa, la cual fue accionada 3 veces y posterior a eso, la llave de paso fue cerrada. El periodo inicial de tiempo de 2 h previo al primer muestreo de gases durante la evolución gaseosa, se permite la difusión de acetileno dentro de los poros del suelo (Groffman y Tiedje, 1989). Luego de transcurridas 2 h (i), fueron colectados 30 mL de muestra gaseosa de cada cámara a través de jeringas de 60 mL (Nipro ®), en ambos tratamientos (Ac y S). Estas muestras gaseosas fueron almacenadas en viales de vidrio de 12 mL (Exetainer ®, Labco, UK), con tapa rosca y septo de goma, a los cuales se les efectuó un vacío previo. Para restablecer los volúmenes originales de gas, fueron inyectados 30 mL de Helio (99,99 %; Indura S.A, Chile) a los tratamientos sin adición de acetileno (S), mientras que los tratamientos con acetileno (Ac) recibieron 27 mL de Helio más 3 mL de acetileno, con el fin de recuperar la concentración original de acetileno al

interior de la misma. A las 5 h (f) de iniciada la incubación, se realizó el muestreo final de gas, colectando 30 mL desde ambos tratamientos, siendo almacenados en viales según señalado anteriormente. Luego de la colecta de gas al tiempo 5 h (f), sólo se procedió a retirar las cámaras del interior del suelo. En la presente investigación, se asumió que los suelos incubados *in situ* con y sin acetileno, incubados en forma adyacente en cada punto de muestreo, son similares y representativos de dicho punto. Las muestras de suelo, que se encontraban al interior de las cámaras de PVC de los tratamientos sin acetileno, fueron colectadas en cada muestreo en bolsas plásticas y almacenadas a -18 °C para su posterior análisis de N-mineral en laboratorio ( $\text{N-NH}_4^+$  y  $-\text{NO}_3^-$ ). Todos los muestreos fueron realizados entre 9:00 y 17:00 h, considerando el tiempo entre el cierre de las cámaras y la última colecta de gases. Para cumplir con este tiempo de trabajo, se requirieron 5 operarios, donde cada uno de ellos fue responsable de controlar la evolución gaseosa y muestreo de ellos, además de la colecta de suelo de las cámaras sin acetileno, en cada uno de los puntos de muestreos ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\varepsilon$ ). De esta manera, el avance de muestreo fue sincronizado durante cada campaña (Figura 3).

Las muestras gaseosas obtenidas en terreno y almacenadas en viales, fueron analizadas en el Laboratorio de Investigación y Medio Ambiente, Departamento de Suelos y Recursos Naturales, UdeC, Chillán. Las concentraciones de  $\text{N}_2\text{O}$  fueron estimadas por medio de un cromatógrafo de gas Clarus 600 GC (Pelkin Elmer®, Waltham, Massachusetts, USA), usando un detector de captura de electrones  $^{63}\text{Ni}$  (ECD), equipado con una columna específica Porapak Q para separación de  $\text{N}_2\text{O}$  (Van Cleemput y Boeckx, 2002). La concentración de  $\text{N}_2\text{O}$  en los diferentes tiempos de muestreos, permitió estimar el flujo de producción de  $\text{N}_2\text{O}$  por unidad de masa o superficie del suelo en las muestras incubadas con/sin adición de acetileno. Los resultados fueron expresados en  $\text{mg N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

### **Variables microambientales del suelo**

El contenido volumétrico de agua y temperatura a 30 cm de profundidad fueron continuamente monitoreados en terreno, usando un almacenador de datos Em50,



conectados a sensores 5TM (Decagon Devices, Pullman, Washington, USA), instalados en pradera, ladera y planicie de inundación, ubicadas cercanamente al centro del área de estudio. Los datos colectados fueron utilizados para describir las condiciones microambientales que influenciaron la producción de N gaseoso y para corregir la concentración de N gaseoso después del análisis en cromatógrafo de gas (Saggar *et al.*, 2009), por la siguiente función

$$F_{tc}=F_o*(273/(T+273))$$

donde:  $F_{tc}$  es la temperatura corregida del flujo de N gaseoso ( $\text{mg N ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$ );  $F_o$  es el flujo original de N gaseoso; y  $T$  es la temperatura del suelo a 30 cm profundidad ( $^{\circ}\text{C}$ ). Adicionalmente, análisis físico y químico fueron realizados para caracterizar el suelo, sumado a análisis de contenido de materia orgánica por medio de combustión húmeda del suelo, y el contenido de C y N fue analíticamente determinado por combustión seca en un analizador Leco CN (Sadzawka *et al.*, 2006). El contenido de cationes fue determinado por espectroscopía de absorción atómica y el P-Olsen por el método azul molibdeno (Sadzawka *et al.*, 2006).

La textura del suelo fue estudiada por el método del hidrómetro (Day, 1965). La densidad real por picnómetro (Sandoval *et al.*, 2012) y la densidad aparente fue determinada por el método del cilindro (volumen=  $230 \text{ cm}^3$ ). Los análisis químicos de suelo fueron realizados en el Laboratorio de Suelos de la Facultad de Ciencias Agrarias, UACH, Valdivia.

### **Contenido de nitrógeno mineral del suelo**

Para estimar el contenido de N mineral ( $\text{N-NH}_4^+$  y  $\text{N-NO}_3^-$ ) se utilizaron muestras de suelo provenientes de las cámaras sin la presencia de acetileno durante todo el periodo de estudio (400 muestras en total), las cuales fueron transportadas hasta el laboratorio de Suelo y Medio Ambiente, UdeC, y almacenadas a  $-18 \text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. Se utilizó el método basado en las determinaciones colorimétricas de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), por el cual se pesaron 5 g de suelo seco y se adicionó 25 mL  $\text{K}_2\text{SO}_4$  (1N) en frascos de  $150 \text{ cm}^3$  y se agitaron en un agitador recíproco (GFL<sup>®</sup> modelo 3016, Alemania) durante 60 minutos a 180 rpm. Luego, se filtró con papel filtro (Whatman n<sup>o</sup>5) y se cuantificó el extracto de  $\text{N-NH}_4^+$

mediante nesslerización, leyendo su absorbancia en espectrofotómetro UV/VIS (Thermo Spectronic, Genesys™ 5 modelo 336001, USA) a 490nm (Longeri *et al.*, 1979), además de cuantificar el extracto de  $\text{N-NO}_3^-$  mediante nitración con ácido salicílico, leyendo su absorbancia en espectrofotómetro UV/VIS (Thermo Spectronic, Genesys™ 5 modelo 336001, USA) a 410nm (Robarge *et al.*, 1983). El contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  y  $\text{N-NO}_3^-$  se expresó en  $\text{mg N kg}^{-1} \text{ s.s}^{-1}$  (miligramos de nitrógeno por kilogramos de suelo seco).

### **Transformaciones neta N**

Incubaciones de suelo de corto plazo fueron realizadas en condiciones de laboratorio para estimar las tasas de transformación neta de N: mineralización neta y nitrificación neta, a través de la estimación de concentraciones de N mineral: inicial y después de 5 días de incubación. Esas variables fueron correlacionadas con lo observado en las tasas de producción de  $\text{N}_2\text{O}$ . Para ello, se colectaron muestras de suelo disturbadas representativas de 3 puntos de muestreo ( $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) en un rango de profundidad de 0-20 cm, en 2 fechas de muestreo: Noviembre 2012 y Abril 2013. Las muestras fueron transportadas bajo refrigeración ( $\sim 10^\circ\text{C}$ ) y posteriormente almacenadas a  $-18^\circ\text{C}$  hasta la realización del ensayo en laboratorio. Inicialmente, las muestras de suelo fueron descongeladas por 48 h para luego, con el fin de equilibrar la actividad biológica del suelo a condiciones ambientales y determinar el contenido de humedad gravimétrica con submuestras de suelo mediante el secado en un horno (SL® SHELLAB modelo 1370 GX, USA) a  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24 horas o hasta peso constante (Sandoval *et al.*, 2012). Luego, las muestras fueron incubadas a temperatura controlada ( $20^\circ\text{C}$ ) por 5 días en incubadora FOC 225E (Velp Scientifica, Italy), con su masa en base seca, ajustada a un volumen determinado para reproducir la densidad aparente de campo. El flujo de transformación neta de N mineral fue estimado por la diferencia entre el contenido final e inicial de N mineral en las muestras incubadas de suelo en función del tiempo y se expresó en  $\text{mg N-NH}_4^+$  y  $\text{-NO}_3^- \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$  (miligramos de nitrógeno por kilogramos de suelo seco por día).

## **Análisis de datos**

Con la finalidad de evaluar la influencia de los sitios de estudio (pradera, ladera y planicie de inundación), fechas de muestreo y tratamientos de fertilización sobre el flujo de N gaseoso, la investigación consideró un diseño experimental completamente al azar, con 2 tratamientos (control y fertilizado) y 4 repeticiones de cada uno de ellos. Luego de comprobar supuestos de normalidad, homocedasticidad y posteriores transformaciones para llevarlos a una distribución normal, los datos fueron analizados como no paramétricos, a través de pruebas de Kruskal Wallis, por lo tanto con la evaluación de cada efecto en forma independiente, y la comparación de medias a través de prueba propuesta por Conover (1999). Las correlaciones entre todos los flujos de gases y parámetros del suelo, información de micro-ambiente y transformaciones netas de N, fueron determinadas a través de pruebas no paramétricas de R de Spearman ( $r_s$ ). Los análisis estadísticos fueron llevados a cabo a través del software estadístico InfoStat® (Di Rienzo *et al.*, 2014)

## **RESULTADOS**

### **Variables microambientales del suelo**

En la Tabla 2, se describen propiedades físicas y químicas del suelo, correspondientes al sitio de estudio, muestreado a 30 cm de profundidad. Se observa que la densidad aparente ( $\text{g cm}^{-3}$ ) varía a lo largo del transecto de estudio, siendo relativamente mayor en el sector de pradera ( $0,73 \text{ g cm}^{-3}$ ), en comparación con los otros sitios, valor típico para suelos de origen volcánico (Stolpe, 2006). Un aspecto a destacar es la alta relación C:N (cercano a 17) presente en los 3 sectores, similares entre ellos, y que puede tener influencia en los flujos de  $\text{N}_2\text{O}$  emitidos, toda vez que limita la disponibilidad de N biodisponible del suelo. Los niveles de  $\text{N-NH}_4^+$  en las muestras de suelo, reflejan un aumento en su concentración en el transecto, los cuales son menores en el sector de pradera ( $8,4 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ ), aumentando en el sector de ladera y siendo mayores en el sector de planicie de inundación ( $38,9 \text{ N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ ). En cuanto al  $\text{N-NO}_3^-$ , se observa una mayor acumulación en el sector de planicie de inundación, seguido

por el sector de pradera y finalmente en ladera, aunque en cantidades muy inferiores que  $\text{N-NH}_4^+$   $\text{kg}^{-1}$ .

Tabla 2. Propiedades físicas y químicas del suelo de origen volcánico estudiado a 30 cm profundidad.

Parámetros		Pradera	Ladera boscosa	Planicie de inundación
Arena	(%)	13 ±1,9	53 ±1,5	13 ±0,7
Limo	(%)	59 ±2,8	37 ±2,3	55 ±0,8
Arcilla	(%)	28 ±2,1	10 ±0,9	32 ±0,8
Densidad partícula	(g $\text{cm}^{-3}$ )	2,43 ±0,05	2,63 ±0,01	2,46 ±0,01
Densidad aparente	(g $\text{cm}^{-3}$ )	0,73 ±0,01	0,60 ±0,01	0,68 ±0,01
Materia orgánica	(%)	9,9 ±0,1	2,2 ±0,2	7,5 ±0,3
Carbón total	(%)	4,8 ±0,5	8,0±0,3	6,4±0,8
Nitrógeno total	(%)	0,3±0,2	0,5±0,2	0,4±0,1
C:N		16,7±0,2	17,7±0,2	17,8±0,1
$\text{N-NH}_4^+$	(mg $\text{kg}^{-1}$ )	8,44±6,3	17,20±12,08	38,91±33,01
$\text{N-NO}_3^-$	(mg $\text{kg}^{-1}$ )	2,00±2,89	1,66±1,01	4,40±4,26
$\text{pH}_{\text{water}} (1:2.5)^b$		5,7±0,1	5,5±0,0	5,1±0,1
P-Olsen <sup>b</sup>	(mg $\text{kg}^{-1}$ )	14±1,0	4,4±0,9	7,1±1,3
$\text{K}^{+b}$	(mg $\text{kg}^{-1}$ )	61±3	164±27	209±35
$\text{Na}^{+b}$	(cmol+ $\text{kg}^{-1}$ )	0,07±0,01	0,25±0,05	0,53±0,07
$\text{Ca}^{2+b}$	(cmol+ $\text{kg}^{-1}$ )	3,48±0,47	2,15±0,36	4,35±0,89
$\text{Mg}^{2+b}$	(cmol+ $\text{kg}^{-1}$ )	0,4±0,01	1,43±0,42	3,2±0,61
Suma de bases <sup>b</sup>	(cmol+ $\text{kg}^{-1}$ )	4,1±0,48	4,26±0,83	8,64±1,65
$\text{Al}^{3+b}$	(cmol+ $\text{kg}^{-1}$ )	0,1±0,01	0,65±0,05	1,17±0,19
CEC a pH = 7.0 <sup>b</sup>	(cmol+ $\text{kg}^{-1}$ )	40,7±3,4	52,3±3,8	52,8±4,4
Saturación $\text{Al}^{3+b}$	(%)	2,4±0,5	13,8±1,4	14,1±3,6

<sup>b</sup> Muestreado entre 0-20 cm profundidad (promedio ± DE) ; CEC: Capacidad intercambio cationes.

La temperatura del suelo a 30 cm de profundidad, durante todo el periodo de evaluación, arrojó valores entre 7,1 - 22,9 °C en el sector de pradera; 6,3 -18,2 °C en el sector de ladera; y desde 8,8 - 17,3 °C en el sector de planicie de inundación (Tabla 3).

En general, se observó un comportamiento similar en la fluctuación de las temperaturas en los distintos sitios a través del tiempo, pero con distintas magnitudes. Se registró un aumento en las temperaturas desde Agosto,

alcanzando las mayores temperaturas durante los meses más cálidos (Diciembre - Enero), para decaer gradualmente desde Febrero y llegar a las menores temperaturas en los meses más fríos (Junio – Julio). Esto se puede observar en la Figura 4, donde queda reflejado un marcado y repetido patrón estacional en el tiempo.

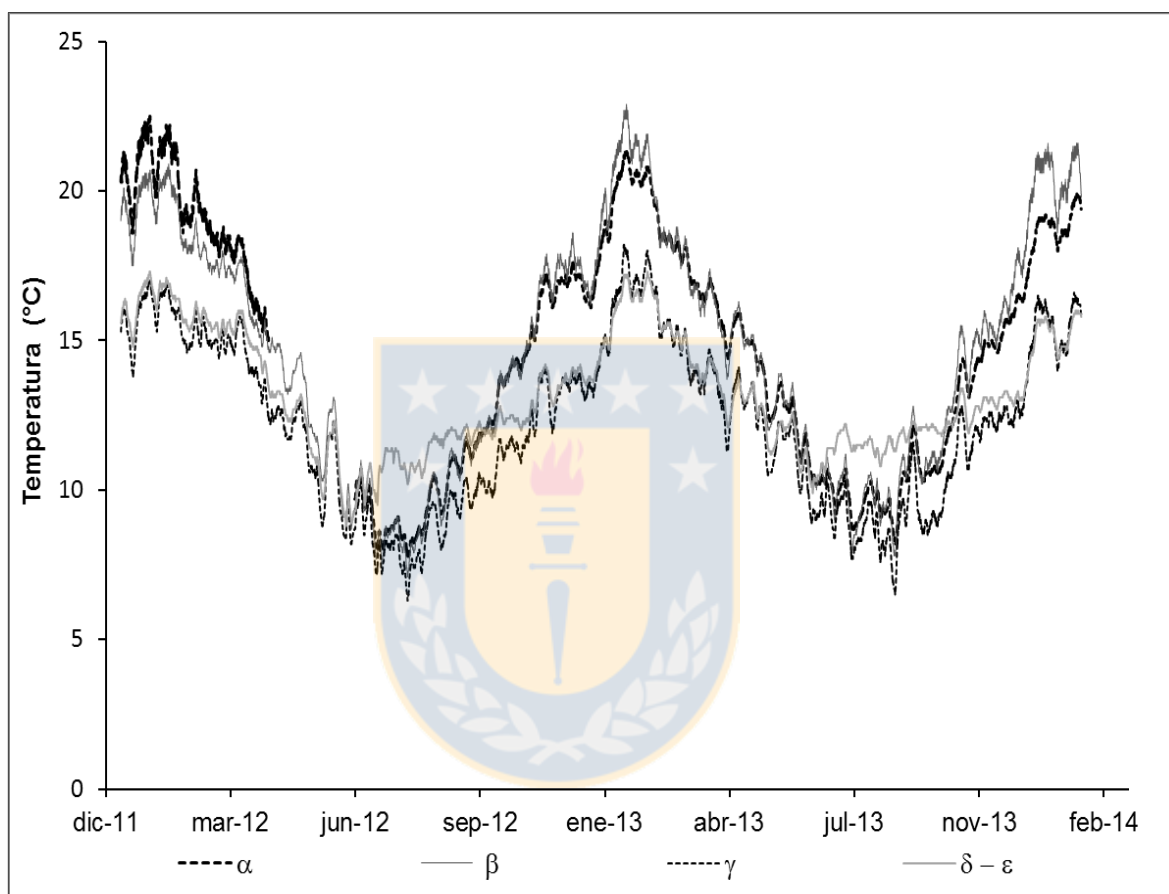


Figura 4. Variación espacio-temporal de la temperatura (°C) a 30 cm de profundidad del suelo, durante Diciembre 2011 - Enero 2014.

Tabla 3. Registro de valores de temperatura (°C) a 30 cm de profundidad del suelo, durante Diciembre 2011 - Enero 2014.

Temperatura (°C)	Pradera $\alpha$	Pradera $\beta$	Ladera $\gamma$	Planicie de inundación $\delta - \epsilon$
<b>Máxima</b>	22,5	22,9	18,2	17,3
<b>Mínima</b>	7,7	7,1	6,3	8,8
<b>Promedio</b>	14,8	14,8	12,2	13,2
<b>Delta (max - min)</b>	14,8	15,8	11,9	8,5

El contenido volumétrico de humedad (%) a 30 cm de profundidad estuvo en un rango entre 28,5 - 64,4 % en el sector de pradera, con una máxima ligeramente mayor en el sector  $\alpha$ ; mientras que en el sector de ladera, el rango de humedad volumétrica varió entre 29,3 - 41,8 %; y en el sector de planicie de inundación ( $\delta$ ), los valores de humedad volumétrica fueron los más altos, en un rango entre 57,8 - 76,4 % (Tabla 4). Alto % de humedad en la planicie de inundación se debe a una saturación hídrica del ambiente edáfico en este sector, debido a la proximidad a un curso de agua, el cual aumenta sus niveles hídricos mayormente en los meses de Septiembre. Los sectores de pradera  $\beta$  y ladera, tuvieron un comportamiento similar a  $\alpha$  en el tiempo. Sin embargo, esta última presentó mayores niveles de contenido de humedad. En general, los mayores valores de contenido de humedad se presentaron desde invierno hasta principios de la época primaveral, y mínimos valores en verano, con frecuentes aumentos luego de las precipitaciones (Figura 5), coincidiendo con los patrones de precipitación del sur de Chile.

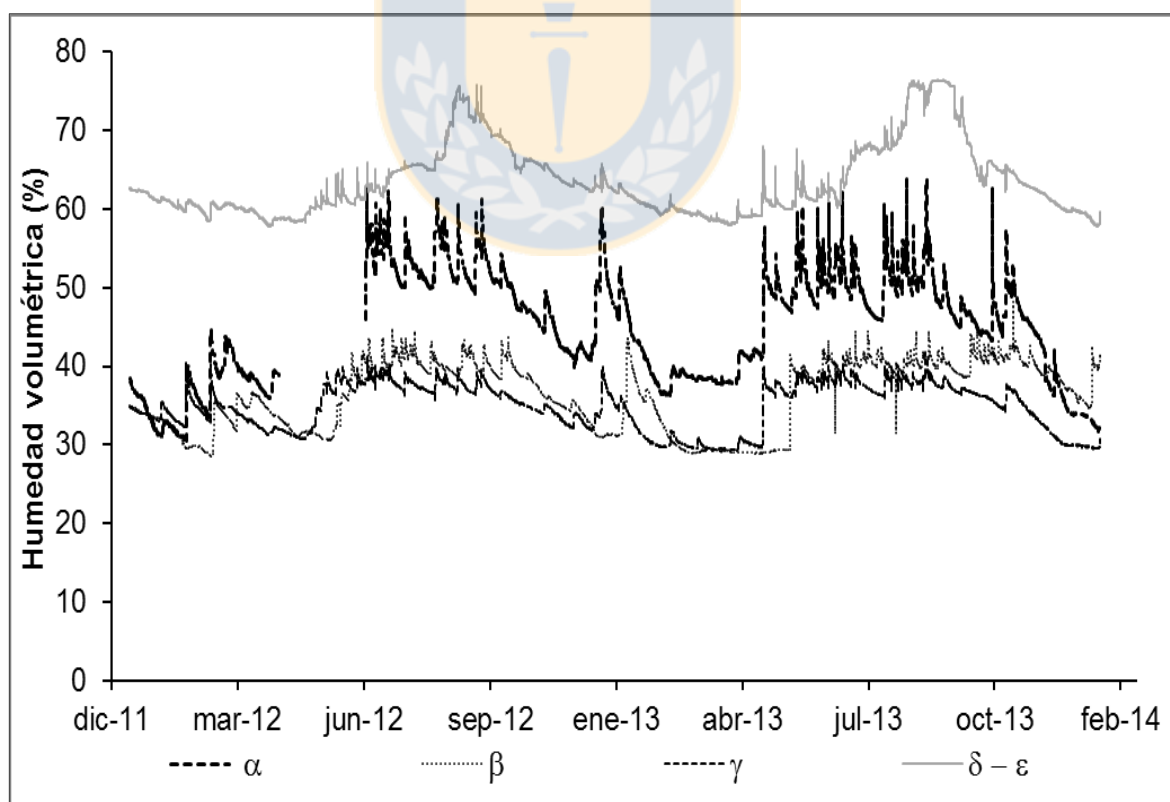


Figura 5. Variación espacio - temporal del contenido de humedad volumétrica (%) a 30 cm de profundidad del suelo, durante Diciembre 2011 - Enero 2014.

Tabla 4. Registro de valores de contenido de humedad volumétrica (%) a 30 cm de profundidad del suelo, durante Diciembre 2011 - Enero 2014.

<b>Humedad volumétrica (%)</b>	<b>Pradera <math>\alpha</math></b>	<b>Pradera <math>\beta</math></b>	<b>Ladera <math>\gamma</math></b>	<b>Planicie de inundación <math>\delta - \varepsilon</math></b>
<b>Máxima</b>	64,4	48,3	41,8	76,4
<b>Mínima</b>	30,5	28,5	29,3	57,8
<b>Promedio</b>	45	36,3	34,9	63,5
<b>Delta (máx - min)</b>	33,9	19,8	12,6	18,6

### Variación temporal de la producción de N<sub>2</sub>O

Los flujos de producción de N<sub>2</sub>O fueron evaluados en el tiempo, según el uso del suelo ( $\alpha$  y  $\beta$ , ubicados en sector de pradera;  $\gamma$  en sector de ladera;  $\delta$  y  $\varepsilon$  en planicie de inundación), y cuya variación temporal se puede observar en las Figuras 6 y 7.

En el tratamiento control (C) sin adición de acetileno (S) (Figura 6 A), en el punto de muestreo  $\alpha$ , los flujos más altos fueron obtenidos en Septiembre 2012, con 35,69 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), mientras que los valores más bajos fueron observados en Abril 2012, Diciembre 2013, Septiembre 2013 y Enero 2014, con 14,63, 13,98, 13,77 y 10,78 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente. Los flujos más altos del tratamiento C con adición de acetileno (Ac) (Figura 6 B), se obtuvieron en Noviembre 2012, Diciembre 2011, Septiembre 2012 y Abril 2013, con flujos de 22,52, 22,55, 22,14 y 19,55 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente; mientras que los menores flujos de N<sub>2</sub>O se observaron en Septiembre 2013 y Enero 2014, con valores de 11,25 y 9,08 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente. En el tratamiento de adición de purines (F) con ensayo S (Figura 7 A), en el punto de muestreo  $\alpha$ , los mayores flujos se obtuvieron en Abril 2012, con 21,06 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), mientras que los valores más bajos se obtuvieron en Enero 2014 y Diciembre 2013, con 14,86 y 11,29 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente. Los flujos en el tratamiento F con ensayo Ac (Figura 7 B), no mostraron diferencias significativas a lo largo del periodo de estudio ( $p > 0,05$ ), en el punto de muestreo  $\alpha$ .

En el tratamiento C con ensayo S (Figura 6 A), en el punto de muestreo  $\beta$ , los flujos más altos fueron obtenidos en Abril 2013, Septiembre 2012 y Noviembre

2012, con 23,50, 32,23 y 21,37 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente; y los valores más bajos fueron registrados en Septiembre 2013, con 12 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ). Los flujos máximos en el tratamiento C con ensayo Ac (Figura 6 B) se obtuvieron en Diciembre 2011, con 22,47 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), y los valores mínimos se registraron en Enero 2014, con 10,02 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ). En el tratamiento F con ensayo S (Figura 7 A), en el punto de muestreo  $\beta$ , no se evidenciaron diferencias significativas a lo largo del periodo de estudio ( $p > 0,05$ ). Los mayores flujos en el tratamiento F con ensayo Ac (Figura 7 B) se observaron en Abril 2013, con 21,45 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ); y los menores flujos en Enero 2014, con 10,73 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ).

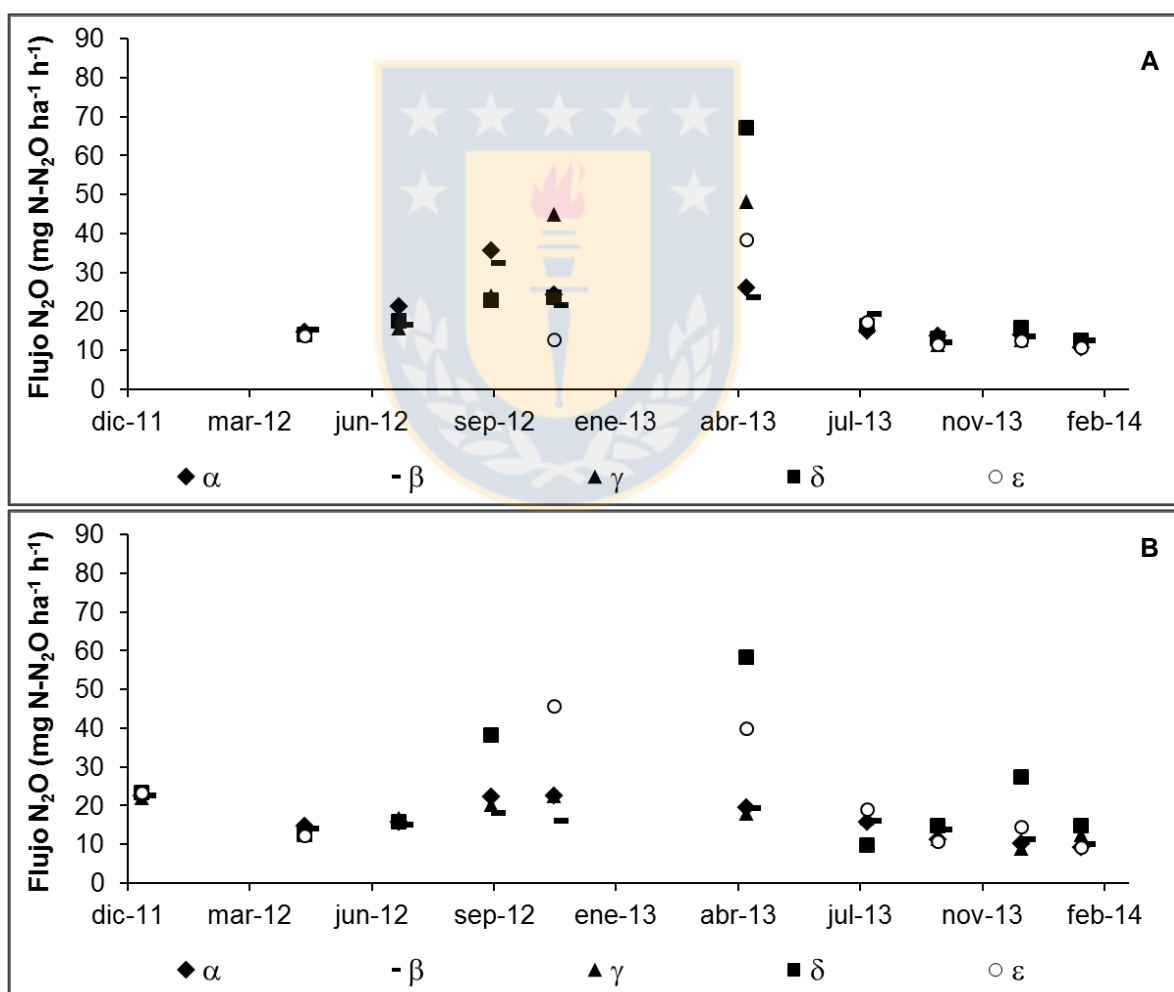


Figura 6. Flujos de producción de N<sub>2</sub>O (mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) en un perfil de suelo (30 cm profundidad) durante periodo de estudio (Diciembre 2011 – Enero 2014) en sitios con tratamiento control (C). A: sin adición de acetileno (S); B: con adición de acetileno (Ac).



En el tratamiento C con ensayo S (Figura 6 A), en el punto de muestreo  $\gamma$ , los flujos más altos fueron obtenidos en Noviembre 2012, Abril 2013 y Septiembre 2012, con 44,93, 48,03 y 23,97 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente; mientras que los valores más bajos fueron observados en Septiembre 2013, Diciembre 2013 y Enero 2014, con 11,43, 12,80 y 12,43 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente. Los flujos más altos de  $\gamma$  en el tratamiento C con ensayo Ac (Figura 6 B), se obtuvieron en Diciembre 2011, con flujos de 21,96 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ); mientras que los menores flujos de N<sub>2</sub>O se observaron en Diciembre 2013, con 8,79 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ). En el tratamiento F con ensayo S (Figura 7 A), en el punto de muestreo  $\gamma$ , los mayores flujos se obtuvieron en Noviembre 2012 y Abril 2013, con flujos de 32,42 y 23,30 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente; mientras que los valores más bajos se obtuvieron en Septiembre 2013 y Enero 2014, con 13,98 y 13,73 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente. Los flujos en el tratamiento F con ensayo Ac (Figura 7 B), no mostraron diferencias significativas a lo largo del periodo de estudio ( $p > 0,05$ ), en el punto de muestreo  $\gamma$ .

En el tratamiento C con ensayo S (Figura 6 A), en el punto de muestreo  $\delta$ , los flujos más altos fueron obtenidos en Septiembre 2012, Noviembre 2012 y Abril 2013, con 22,81, 23,37 y 67,11 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente; mientras que los valores más bajos fueron observados en Septiembre 2013 y Enero 2014, con 12,98 y 12,38 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente. Los flujos más altos del tratamiento C con ensayo Ac (Figura 6 B) se obtuvieron en Diciembre 2011, Septiembre 2012, Abril 2013 y Diciembre 2013, con 23,12, 38,19, 58,20 y 27,38 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectivamente ( $p < 0,05$ ); y el menor flujo de N<sub>2</sub>O se observó en Julio 2013, con 9,66 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ). En el tratamiento F con ensayo S (Figura 7 A), en el punto de muestreo  $\delta$ , los mayores flujos se obtuvieron en Abril 2013, con flujos de 71,86 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ); mientras que los valores más bajos se obtuvieron en Septiembre 2013, Diciembre 2013 y Enero 2014, con 14,74, 12,88 y 12,30 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente.

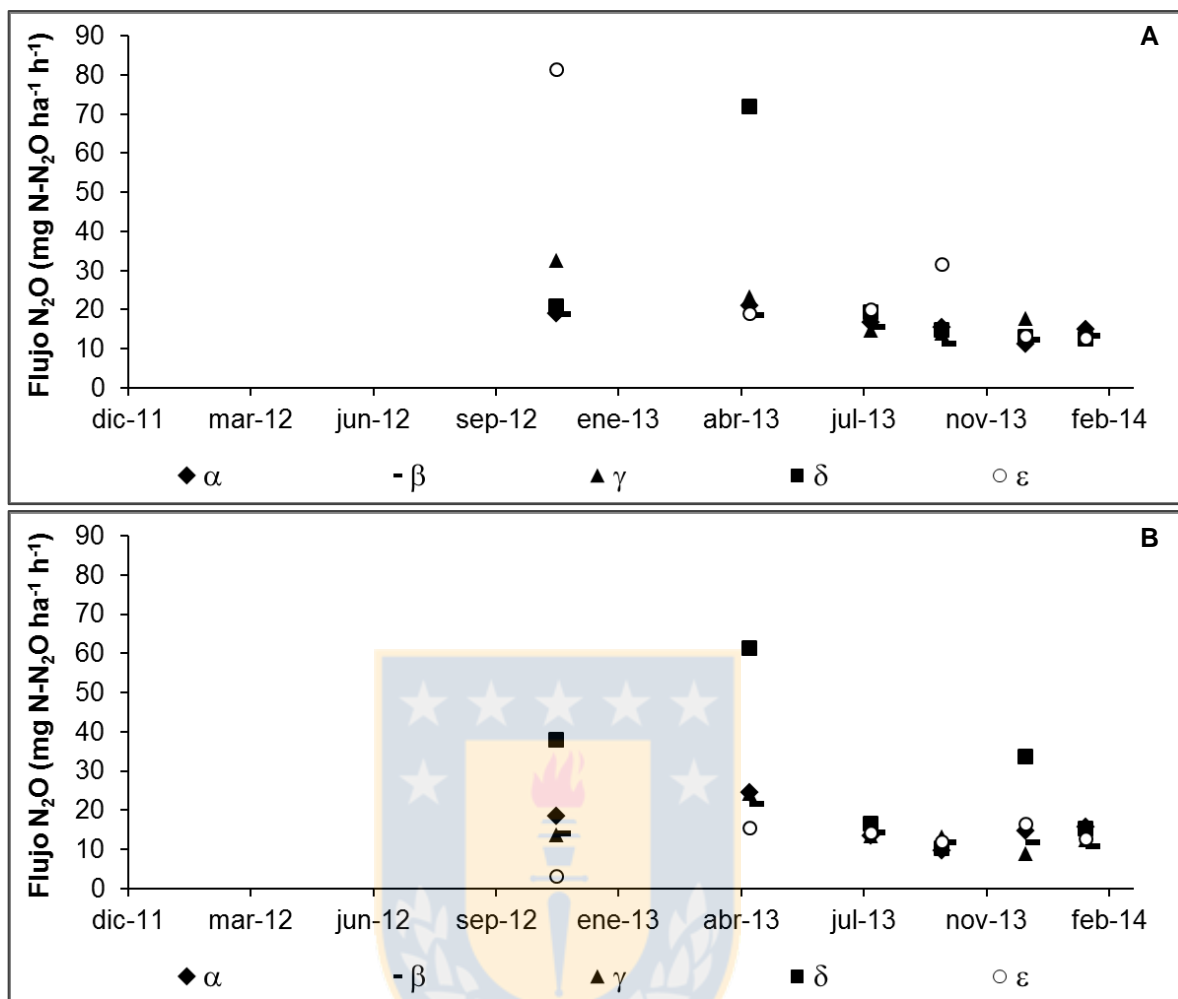


Figura 7. Flujos de producción de N<sub>2</sub>O (mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) en un perfil de suelo (30 cm profundidad) durante periodo de estudio (Diciembre 2011 – Enero 2014) en sitios con tratamiento fertilizado con purines (F). A: sin adición de acetileno (S); B: con adición de acetileno (Ac).

Los mayores flujos en el tratamiento F (Figura 7 B) con ensayo Ac se observaron en Noviembre 2012 y Abril 2013, con 37,95 y 61,35 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectivamente ( $p < 0,05$ ); y el menor flujo en Septiembre 2013, con 10,07 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ).

En el tratamiento C con ensayo S (Figura 6 A), en el punto de muestreo ε, los flujos más altos fueron obtenidos en Abril 2013 y Julio 2013, con 38,23 y 17,24 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente; y los menores flujos en Noviembre 2012, Septiembre 2013, Diciembre 2013 y Enero 2014, con 12,61, 11,47, 12,32 y 10,62 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente. Los más alto del tratamiento

C con ensayo Ac (Figura 6 B) se obtuvieron en Diciembre 2011, Noviembre 2012 y Abril 2013, con 23,18, 45,69 y 39,73 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente; y los menores flujos de N<sub>2</sub>O se observaron en Septiembre 2013 y Enero 2014, con 10,67 y 9,20 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), respectivamente. En tanto, los flujos en el tratamiento F, en ensayos S y Ac (Figuras 7 A-B), no mostraron diferencias significativas a lo largo del periodo de estudio ( $p > 0,05$ ), en el punto de muestreo  $\varepsilon$ .

### **Efectos del uso del suelo sobre la producción de N<sub>2</sub>O**

En los sitios con tratamiento C y ensayo S, el efecto del uso de suelo sobre la producción de N<sub>2</sub>O fue significativo sólo en el muestreo realizado en Julio 2012 ( $p < 0,05$ ; Tabla 5, Figura 6 A), donde el sitio  $\alpha$  (pradera alta), registró la mayor producción de N<sub>2</sub>O, con 21,28 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, mientras que los valores más bajos se registraron en  $\beta$  y  $\gamma$  (pradera baja colindante con bosque de *Nothofagus* y ladera boscosa, respectivamente), con 16,45 y 15,71 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectivamente. Los flujos registrados en el sitio  $\delta$ , se ubicaron entre los flujos máximos y mínimos, con 17,49 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. En las restantes fechas de muestreo, no se observaron diferencias significativas entre usos de suelo ( $p > 0,05$ ; Tabla 5).

En los sitios con tratamiento control (C) y con adición de acetileno (Ac), los distintos usos de suelo tuvieron una influencia significativa en los meses de Abril 2012, Julio 2012 y Enero 2014 ( $p < 0,05$ ; Tabla 5, Figura 6 B) mientras que en las demás fechas de muestreo, no se observaron diferencias significativas entre los usos ( $p > 0,05$ ).

En Abril 2012, se observaron diferencias significativas en la producción de N<sub>2</sub>O entre los distintos usos de suelo, donde el sitio  $\alpha$  registró la mayor producción de N<sub>2</sub>O, con 14,58 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ) y los menores valores se obtuvieron en los sitios  $\gamma$ ,  $\delta$  y  $\varepsilon$ , con 13,33, 12,35 y 12,26 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectivamente; y los flujos obtenidos en el sitio  $\beta$  fueron intermedios entre los máximos y mínimos, con 13,81 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Figura 6 B). En el muestreo realizado en Julio 2012, se observó la mayor producción de N<sub>2</sub>O en el sitio  $\gamma$ , con 16,73 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>

( $p < 0,05$ ), mientras que flujos menores pero similares entre ellos, se obtuvieron en los sitios  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$ , con 15,73, 14,93 y 15,76 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 6 B). En Enero 2014, las mayores producciones de N<sub>2</sub>O se observaron en el sitio  $\delta$ , con 14,75 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), flujos intermedios se obtuvieron en el sitio  $\gamma$ , con 12,52 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, mientras que en los sitios  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\varepsilon$  se obtuvieron los valores más bajos, con 9,08, 10,02 y 9,20 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectivamente ( $p < 0,05$ ) (Figura 6 B).

Tabla 5. Efecto de los usos de suelo en la producción de N<sub>2</sub>O sub-superficial en ensayos sin/con adición de acetileno, en diferentes fechas de evaluación.

Fecha	Sin acetileno (S)		Con acetileno (Ac)	
	Sin fertilización (C)	Con fertilización (F)	Sin fertilización (C)	Con fertilización (F)
	Valor - p		Valor - p	
Dic - 2011	sd	sd	0,57	sd
Abr - 2012	0,09	sd	0,04*	sd
Jul - 2012	<0,01*	sd	0,01*	sd
Sept - 2012	0,13	sd	0,10	sd
Nov - 2012	0,41	0,60	0,74	0,11
Abr - 2013	0,75	0,06	0,63	0,22
Jul - 2013	0,81	0,66	0,09	0,85
Sept - 2013	0,98	0,26	0,20	0,46
Dic - 2013	0,85	0,22	0,22	0,35
Ene - 2014	0,83	0,98	0,04*	0,40

\*  $p < 0,05$ , diferencia significativa (Prueba no-paramétrica Kruskal Wallis); sd = sin datos.

En tanto, para los tratamientos con suministro de purines en las praderas altas (F), no se verificó un efecto significativo del uso del suelo en los flujos de N<sub>2</sub>O generados en los ensayos S y Ac (Tabla 5; Figuras 7 A y B).

### Influencia de la aplicación de purines sobre la producción de N<sub>2</sub>O

El efecto de la aplicación de purines en el sector de pradera sobre la producción de N<sub>2</sub>O a lo largo de todo el transecto, entre Noviembre 2012 hasta Enero 2014, se observan en las Tablas 6 y 7. De acuerdo a la comparación entre tratamientos C y F, para ensayos S (Tabla 6), no se observaron diferencias significativas entre los flujos de N<sub>2</sub>O entre ambos tratamientos, en los sitios de muestreo ( $p > 0,05$ ),

donde en términos generales, el sector de pradera (sitios  $\alpha$  -  $\beta$ ), promediaron 17,01 y 15,42 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, para tratamientos C y F, respectivamente. En el sector de ladera (sitio  $\gamma$ ), promediaron 21,61 y 18,97 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, para tratamientos C y F, respectivamente, y en el sector de planicie de inundación (sitios  $\delta$  -  $\epsilon$ ), se presentaron flujos promedio de 20,16 y 26,19 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, para tratamientos C y F, respectivamente.

Tabla 6. Comparación de flujos de N<sub>2</sub>O (mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) entre tratamientos con/sin fertilización para cada sitio de estudio, sin acetileno (S).

<b>Sin acetileno (S) mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>					
<b>Noviembre 2012</b>					
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\epsilon$
C	24,20	21,37	44,93	23,37	12,61
F	18,97	18,76	32,42	20,69	81,43
Valor - p	0,80	>0,99	>0,99	0,40	>0,99
<b>Abril 2013</b>					
C	25,88	23,50	48,03	67,11	38,23
F	21,06	18,53	23,30	71,86	19,04
Valor - p	0,49	0,40	0,20	0,51	0,62
<b>Julio 2013</b>					
C	14,93	19,10	17,52	16,14	17,24
F	16,78	15,46	14,80	19,11	20,02
Valor - p	>0,99	0,34	0,89	0,34	0,27
<b>Septiembre 2013</b>					
C	13,77	12	11,43	12,98	11,47
F	15,52	11,10	13,98	14,74	31,55
Valor - p	0,51	0,49	0,86	0,63	0,34
<b>Diciembre 2013</b>					
C	13,98	13,49	12,80	15,76	12,32
F	11,29	12,07	17,69	12,88	13,22
Valor - p	0,23	0,86	0,11	0,63	0,49
<b>Enero 2014</b>					
C	10,78	12,48	12,43	12,38	10,62
F	14,86	13,17	13,73	12,30	12,60
Valor - p	0,34	0,80	0,69	0,69	0,51

\* p < 0,05 diferencia significativa (Prueba no-paramétrica Kruskal Wallis). C: control; F: fertilizado con purines.

Por otro lado, al comparar flujos de N<sub>2</sub>O entre tratamientos C y F, para ensayos Ac (Tabla 7), no se observaron diferencias significativas entre ambos

tratamientos ( $p > 0,05$ ), arrojando flujos promedio en el sector de pradera de 14,02 y 14,77 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, para tratamientos C y F, respectivamente. En el sector de ladera, se observaron flujos promedio de 14,40 y 14,22 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, para tratamientos C y F, respectivamente; y los flujos promedio en el sector de planicie de inundación fueron 23,95 y 21,44 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> para tratamientos C y F, respectivamente.

Tabla 7. Comparación de flujos de N<sub>2</sub>O (mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) entre tratamientos para cada sitio de estudio, con acetileno (Ac).

<b>Con acetileno (Ac) mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>					
<b>Noviembre 2012</b>					
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\epsilon$
C	sd	sd	sd	sd	sd
F	sd	sd	sd	sd	sd
Valor - p	sd	sd	sd	sd	sd
<b>Abril 2013</b>					
C	19,55	19,11	17,96	58,20	39,73
F	24,53	21,45	24,15	61,35	15,56
Valor - p	0,89	>0,99	0,40	0,86	0,23
<b>Julio 2013</b>					
C	15,81	15,97	16,68	9,66	18,93
F	13,40	14,16	13,34	16,37	14,29
Valor - p	0,06	0,23	0,20	0,06	0,40
<b>Septiembre 2013</b>					
C	11,25	13,78	11,53	14,57	10,67
F	9,54	11,62	13,22	10,07	12,03
Valor - p	>0,99	0,40	0,63	0,06	0,63
<b>Diciembre 2013</b>					
C	10,25	11,29	8,79	27,38	14,52
F	14,63	11,68	8,97	33,44	16,56
Valor - p	0,70	0,89	>0,99	0,53	0,89
<b>Enero 2014</b>					
C	9,08	10,02	12,52	14,75	9,20
F	15,81	10,73	12,49	15,26	12,57
Valor - p	0,23	0,89	0,34	0,86	0,80

\*  $p < 0,05$ , diferencia significativa (Prueba no-paramétrica Kruskal Wallis). C: control; F: fertilizado con purines. sd = sin datos.

### **Efecto del uso de acetileno en el ensayo de desnitrificación *in situ***

En una proporción importante de los datos, hubo una producción de N<sub>2</sub>O similar entre los flujos generados entre ensayos *in situ* sin uso de acetileno (S),

comparado con los ensayos con adición de acetileno (Ac). Sin embargo, algunos patrones pueden ser contemplados en la razón de flujos sin:con acetileno (S:Ac) de la Figura 8. En los sitios con tratamiento C (sin aplicación de purines), fue común observar una concentración de los datos entre las razones 1 a 2 en la mayoría de los sitios durante todos los meses observados, especialmente en las praderas y ladera (Figura 8 A). Este patrón no es diferente para los sitios fertilizados con purines (Figura 8 B) con una amplia variación entre los sitios (praderas, bosque de ladera y de planicie de inundación).

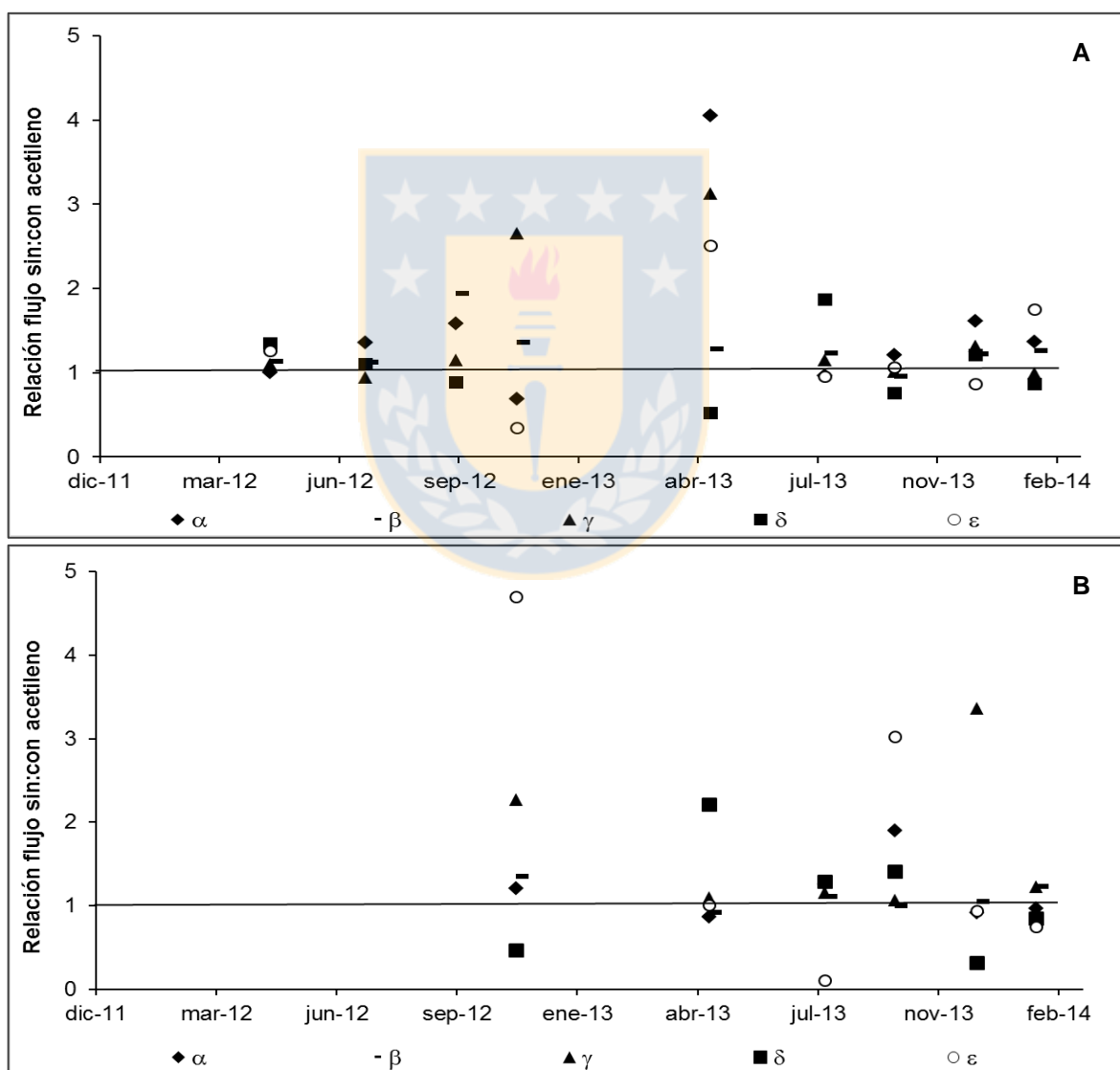


Figura 8. Relación de los flujos de N<sub>2</sub>O sin acetileno y con acetileno (S:Ac). A: sitios control (C); B: sitios fertilizados con purines (F).

No obstante, en los sitios de zona ripariana ( $\delta$  y  $\varepsilon$ ), se observó en varias mediciones que los flujos de  $\text{N}_2\text{O}$  provenientes de ensayos Ac fueron mayores que S (cuociente menor que 1), tanto en áreas control, como en áreas fertilizadas, sin un patrón estacional claro (Figuras 8 A y B). Esto se observó en Septiembre y Noviembre 2012 y Septiembre 2013 (primavera) y Julio 2013 (invierno).

### **Variación temporal del contenido de $\text{N-NH}_4^+$ y $\text{N-NO}_3^-$ en el suelo**

La concentración de  $\text{N-NH}_4^+$  y  $\text{N-NO}_3^-$  fue medida en el tiempo, de acuerdo al uso del suelo, y cuya variación temporal se pueden observar en las Figuras 9 y 10.

En el tratamiento C, los niveles de  $\text{N-NH}_4^+$  en el punto de muestreo  $\alpha$  más altos se presentaron en Julio 2012, con  $15,55 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$  y los niveles más bajos en Abril 2012 y Julio 2013, con valores de  $1,19$  y  $2,45 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ , respectivamente (Figura 9 A). En el punto de muestreo  $\beta$ , los niveles más altos se registraron en Julio 2012, con  $25,15 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ , mientras que los contenidos más bajos se registraron en Julio 2013, con  $2,43 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ . En el punto de muestreo  $\gamma$ , los niveles más altos se registraron en Julio 2012, Septiembre 2012 y Julio 2013, con  $26,7$ ,  $24,5$  y  $21,79 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ , respectivamente; y los niveles más bajos se observaron en Abril 2012, Septiembre 2013, Diciembre 2013 y Diciembre 2014, con  $8,11$ ,  $10,53$ ,  $10,10$  y  $10,33 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ , respectivamente. En el punto de muestreo  $\delta$ , no se registraron diferencias significativas en la concentración de  $\text{NH}_4^+$  durante el periodo de muestreo. En cuanto al punto de muestreo  $\varepsilon$ , los niveles más altos se registraron en Julio 2013, Diciembre 2013 y Enero 2014, con  $77,64$ ,  $87,24$  y  $70,77 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ , respectivamente; en tanto que los niveles más bajos se detectaron en Abril 2012, con  $38,18 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ .

En el tratamiento F, los niveles de  $\text{N-NH}_4^+$  durante el tiempo de muestreo, sólo presentaron diferencias significativas en los puntos de muestreo  $\alpha$ , donde las mayores concentraciones se registraron en Noviembre 2012, con  $7,53 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ ; mientras que los más bajos se registraron en Abril, Julio y Septiembre 2013, con  $1,26$ ,  $2,65$  y  $2,96 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ , respectivamente (Figura 9 B).

En el tratamiento C, los niveles más altos de  $\text{N-NO}_3^-$  en el punto de muestreo  $\alpha$  se observaron en Julio 2012, con  $3,86 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ , mientras que los niveles



más bajos en Septiembre 2013, con  $0,26 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$  (Figura 10 A). En el punto de muestreo  $\beta$ , los niveles más altos se registraron en Julio 2012, con  $6,35 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ ; mientras que los niveles más bajos estuvieron en Septiembre 2013, con  $0,31 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ . En el punto de muestreo  $\gamma$ , Julio 2012 y Noviembre 2012 registraron los valores más altos, con  $2,54$  y  $3,08 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ , respectivamente, mientras que los niveles más bajos en Septiembre 2013, con  $0,87 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ .

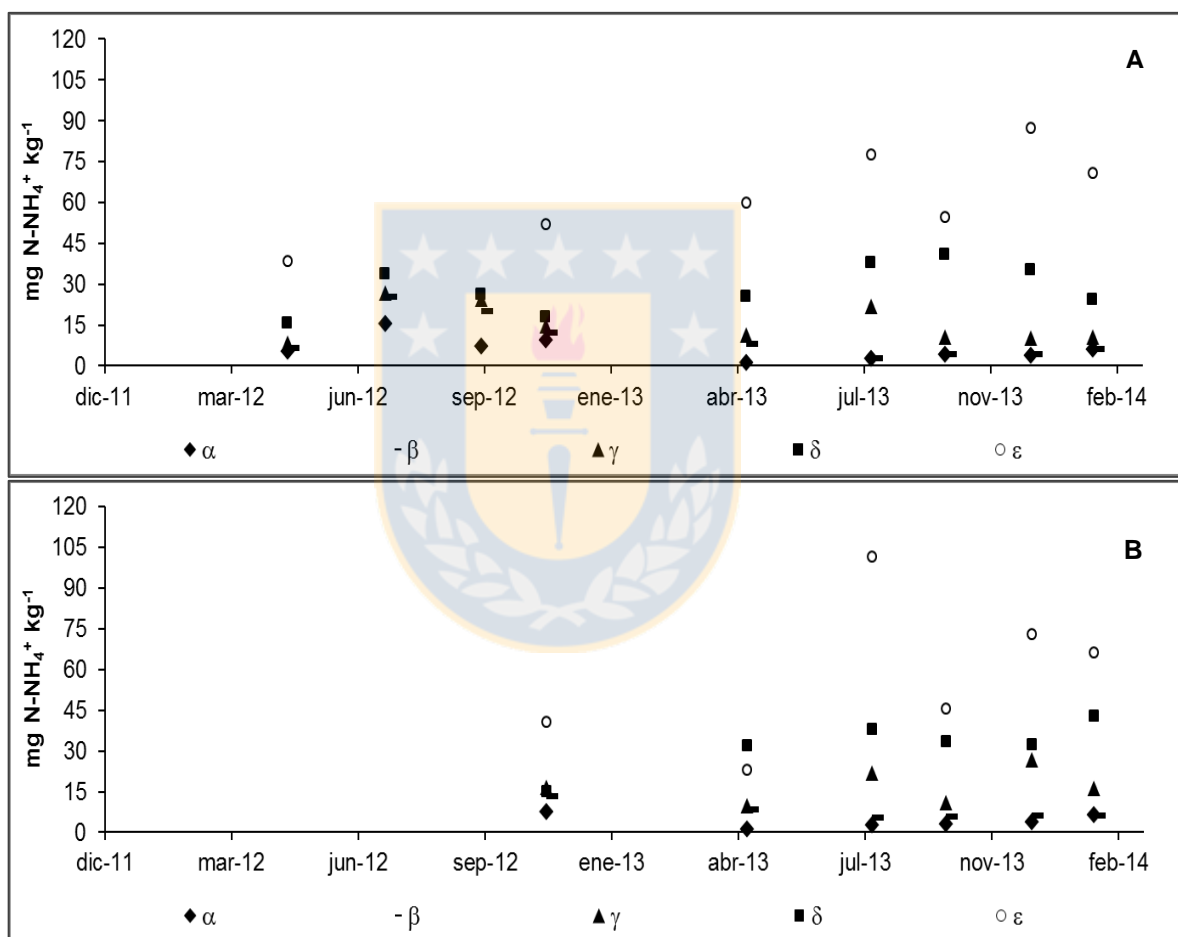


Figura 9. Variación temporal en la concentración de  $\text{N-NH}_4^+$  ( $\text{mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$ ) en los distintos usos de suelo, durante periodo Diciembre 2011 – Enero 2014. A: sitios con tratamiento control (C); B: sitios con tratamiento de aplicación de purines (F).

En el punto  $\delta$ , la concentración fue más alta en Abril 2012, con  $5,6 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ , y la más baja en Diciembre 2013, con  $1,97 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ . En  $\epsilon$ , los valores más altos se registraron en Noviembre 2012, Abril 2013 y Septiembre 2013, con

7,69, 7,26 y 7,39 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup>, respectivamente, mientras que los valores más bajos se registraron en Abril 2012, con 2,67 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup>.

En el tratamiento F, los niveles de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> durante el tiempo de muestreo, sólo presentaron diferencias significativas en los puntos de muestreo β, donde las mayores concentraciones se registraron en Noviembre 2012, con 2,11 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup>; mientras que los más bajos se observaron en Septiembre 2013, con 0,22 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> (Figura 10 B)

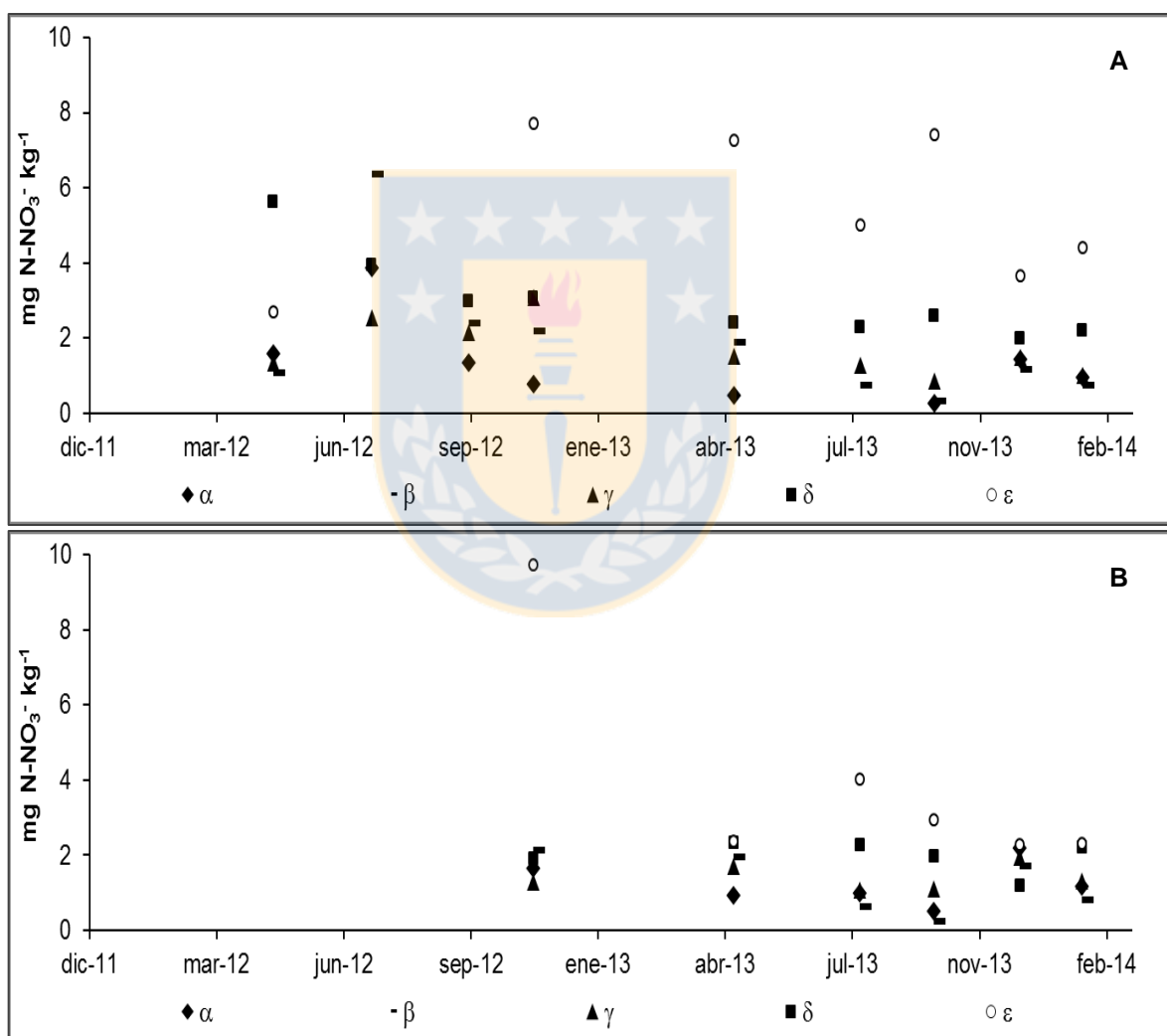


Figura 10. Variación temporal en la concentración de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup>) en los distintos usos de suelo, durante periodo Diciembre 2011 – Enero 2014. A: sitios con tratamiento control (C); B: sitios con tratamiento con aplicación de purines (F).

### Efectos del uso del suelo sobre el contenido de $\text{N-NH}_4^+$ y $\text{N-NO}_3^-$

La concentración de N inorgánico ( $\text{N-NH}_4^+$  y  $\text{N-NO}_3^-$ ) fue evaluada en los distintos tipos de uso de suelo durante el periodo de estudio (Tabla 8). Los niveles  $\text{N-NH}_4^+$  medidos en el tratamiento C, tuvieron diferencias significativas entre los sitios ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ) en todas las fechas de muestreo. En cuanto a las concentraciones de  $\text{N-NH}_4^+$  bajo tratamiento F, se observaron diferencias significativas entre sitios en la mayoría de las fechas de muestreo, excepto en Noviembre 2012 (Tabla 8).

Por otro lado, los niveles de  $\text{N-NO}_3^-$  evaluados en el tratamiento C, presentaron diferencias significativas entre los sitios, excepto en Septiembre 2012; mientras que las concentraciones de  $\text{N-NO}_3^-$  bajo tratamiento F, solamente se evidenció diferencias significativas entre sitios en el muestreo realizado en Septiembre 2013 (Tabla 8).

Tabla 8. Efecto de los usos de suelo en el contenido de N-mineral en diferentes fechas de evaluación.

Fecha	$\text{N-NH}_4^+$		$\text{N-NO}_3^-$	
	Sin fertilización	Con fertilización	Sin fertilización	Con fertilización
	Valor - p		Valor - p	
<b>Dicembre 2011</b>	sd	sd	sd	sd
<b>Abril 2012</b>	<0,01*	sd	<0,01*	sd
<b>Julio 2012</b>	0,01*	sd	<0,01*	sd
<b>Septiembre 2012</b>	<0,01*	sd	0,11	sd
<b>Noviembre 2012</b>	0,04*	0,06	0,02*	0,08
<b>Abril 2013</b>	0,01*	0,03*	<0,01*	0,12
<b>Julio 2013</b>	0,02*	<0,01*	0,04*	0,07
<b>Septiembre 2013</b>	0,02*	0,02*	0,01*	0,02*
<b>Diciembre 2013</b>	<0,01*	0,01*	0,06	0,53
<b>Enero 2014</b>	0,01*	0,02*	0,01*	0,08

\*  $p < 0,05$ , diferencia significativa (Prueba no-paramétrica Kruskal Wallis). sd = sin datos.

### Influencia de la aplicación de purines en la pradera sobre la concentración de N-mineral del suelo

El efecto de la aplicación de purines en el sector de pradera sobre la concentración de N inorgánico a lo largo de todo el transecto, entre Noviembre 2012 hasta Enero 2014, se observan en las Tablas 9 y 10. Las comparaciones

entre tratamientos C y F, entre puntos de muestreo y para cada fecha en las concentraciones de  $\text{N-NH}_4^+$ , no arrojaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). En tanto, las concentraciones de  $\text{N-NO}_3^-$  entre tratamientos C y F, entre puntos de muestreo y para cada fecha, solamente se observaron diferencias significativas en Abril 2013, donde el tratamiento C arrojó valores superiores al tratamiento F en el punto de muestreo  $\epsilon$ , con  $7,26 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ , frente a  $2,35 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ ; y en Diciembre 2013, en el cual el tratamiento C arrojó valores mayores que en el tratamiento F, con  $1,97 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ , contra  $1,19 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ , en el punto de muestreo  $\delta$ .

Tabla 9. Comparación del contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  entre tratamientos durante periodo Noviembre 2012 – Enero 2014.

<b><math>\text{N-NH}_4^+</math> mg <math>\text{kg}^{-1}</math></b>					
<b>Noviembre 2012</b>					
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\epsilon$
<b>C</b>	9,54	11,90	14,62	17,85	51,81
<b>F</b>	7,53	13,26	16,47	15,12	40,68
<b>Valor - p</b>	0,70	0,70	>0,99	0,70	0,70
<b>Abril 2013</b>					
<b>C</b>	1,19	7,79	11,09	25,48	59,72
<b>F</b>	1,26	8,42	9,89	31,79	22,79
<b>Valor - p</b>	>0,99	0,49	>0,99	>0,99	0,13
<b>Julio 2013</b>					
<b>C</b>	2,46	2,43	21,79	37,97	77,64
<b>F</b>	2,65	5,32	21,84	38,03	101,37
<b>Valor - p</b>	0,86	>0,99	>0,99	0,86	0,70
<b>Septiembre 2013</b>					
<b>C</b>	4,12	4,12	10,53	41,05	54,59
<b>F</b>	2,96	5,45	10,75	33,58	45,53
<b>Valor - p</b>	0,40	0,80	>0,99	>0,99	0,70
<b>Diciembre 2013</b>					
<b>C</b>	3,85	3,93	10,07	35,29	87,28
<b>F</b>	3,69	6,11	26,60	32,48	72,83
<b>Valor - p</b>	0,86	0,11	0,06	0,86	0,86
<b>Enero 2014</b>					
<b>C</b>	6,12	5,88	10,33	24,25	70,77
<b>F</b>	6,41	5,82	15,97	42,69	66,05
<b>Valor - p</b>	>0,99	>0,99	0,10	0,70	>0,99

\*  $p < 0,05$ , diferencia significativa (Prueba no-paramétrica Kruskal Wallis). C: control; F: fertilizado con purines.

Tabla 10. Comparación del contenido de  $\text{N-NO}_3^-$  entre tratamientos durante periodo Noviembre 2012 – Enero 2014.

<b><math>\text{N-NO}_3^- \text{ mg kg}^{-1}</math></b>					
<b>Noviembre 2012</b>					
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\epsilon$
<b>C</b>	0,77	2,17	3,08	3,06	7,69
<b>F</b>	1,64	2,11	1,27	1,92	9,71
<b>Valor - p</b>	0,70	0,70	0,20	0,10	0,40
<b>Abril 2013</b>					
<b>C</b>	0,48	1,89	1,51	2,38	7,26
<b>F</b>	0,93	1,94	1,70	2,33	2,35
<b>Valor - p</b>	0,46	0,69	0,89	0,89	0,03*
<b>Julio 2013</b>					
<b>C</b>	sd	0,74	1,28	2,25	5,00
<b>F</b>	sd	0,61	1,06	2,26	4,00
<b>Valor - p</b>	sd	0,67	0,69	>0,99	0,70
<b>Septiembre 2013</b>					
<b>C</b>	0,26	0,31	0,87	2,56	7,39
<b>F</b>	0,51	0,22	1,09	1,96	2,92
<b>Valor - p</b>	0,49	0,66	0,89	0,89	0,20
<b>Diciembre 2013</b>					
<b>C</b>	1,42	1,15	1,47	1,97	3,66
<b>F</b>	2,19	1,70	1,93	1,19	2,27
<b>Valor - p</b>	0,34	0,34	0,34	0,03*	0,40
<b>Enero 2014</b>					
<b>C</b>	0,95	0,72	1,02	2,19	4,40
<b>F</b>	1,15	0,80	1,32	2,21	2,29
<b>Valor - p</b>	0,63	0,89	0,11	>0,99	0,20

\*  $p < 0,05$ , (Prueba no-paramétrica Kruskal Wallis). C: control; F: fertilizado con purines.

## Mineralización y nitrificación en muestras de suelo sub-superficial incubadas en laboratorio

### Influencia temporal sobre la mineralización y nitrificación neta

Los valores promedio de las tasas de producción neta de  $\text{N-NH}_4^+$  y  $\text{N-NO}_3^-$ , relacionadas a los procesos de mineralización y nitrificación en el suelo, entre todos los sitios, se observan para los meses de Noviembre de 2012 y Abril de 2013, en la Figura 11. Las tasas de producción neta de  $\text{NH}_4^+$  (mineralización neta), no mostraron diferencias significativas entre ambas fechas de muestreo ( $p > 0,05$ ), obteniendo promedios de 3,82 y 2,94  $\text{mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , respectivamente (Figura 11 A), mientras que las tasas de producción neta de  $\text{NO}_3^-$  (nitrificación neta), no se

observaron diferencias significativas entre Noviembre 2012 y Abril 2013 ( $p > 0,05$ ), registrándose promedios de  $-0,07$  y  $-0,02$   $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , respectivamente (Figura 11 B). Según estos datos, se observa una tendencia general de consumo neto de nitrato en ambas fechas, aunque más acentuada al final de la primavera de 2012 en los suelos estudiados.

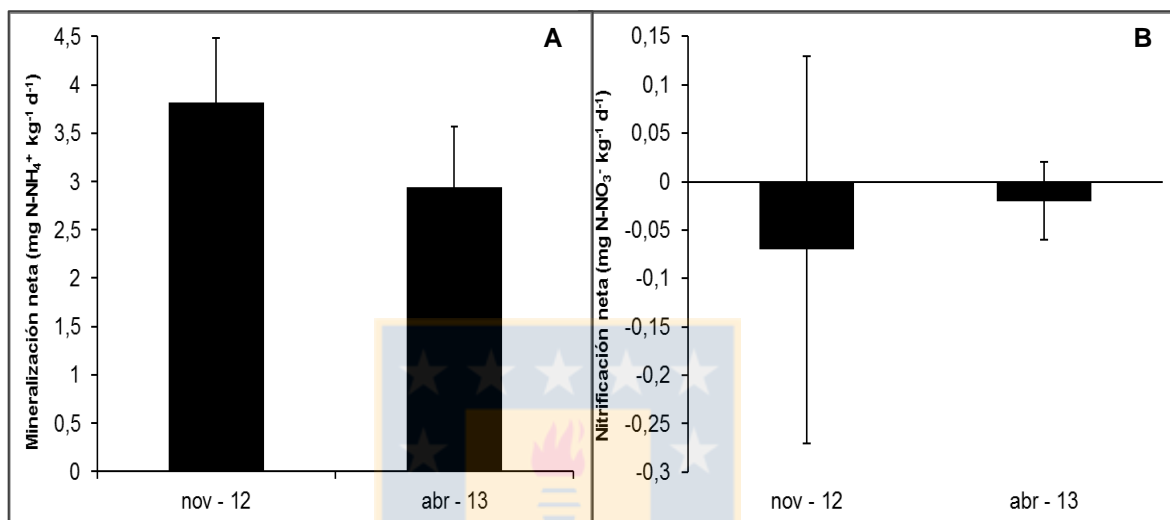


Figura 11. Mineralización y nitrificación neta en suelos sometidos a incubación en 2 fechas de muestreo. A: mineralización neta, expresado en  $\text{mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ; B: nitrificación neta, expresado en  $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Barras en gráfico indican  $\pm$  error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) de los promedios entre sitios.

### Efecto del uso del suelo sobre los procesos de mineralización y nitrificación neta

Las tasas de mineralización y nitrificación neta en los distintos usos del suelo (pradera, ladera boscosa y planicie de inundación), según los promedios entre Noviembre de 2012 y Abril de 2013, se observan en la Figura 12. El proceso de mineralización neta mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los distintos usos de suelo, siendo mayor en el sector de planicie, seguido de ladera boscosa y finalmente pradera de inundación, con valores promedio de  $6,52$ ,  $2,55$  y  $0,88$   $\text{mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , respectivamente (Figura 12 A), mientras que la nitrificación neta evidenció diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre el sector de pradera con un promedio de  $0,37$   $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , en comparación con los sectores de ladera y

planicie. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en la nitrificación neta entre las muestras de suelo de ladera y planicie, los cuales presentaron valores negativos de transformación neta de  $\text{NO}_3^-$  ( $-0,14$  y  $-0,36$   $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , respectivamente) indicando un consumo neto de nitrato entre estos sectores (Figura 12 B).

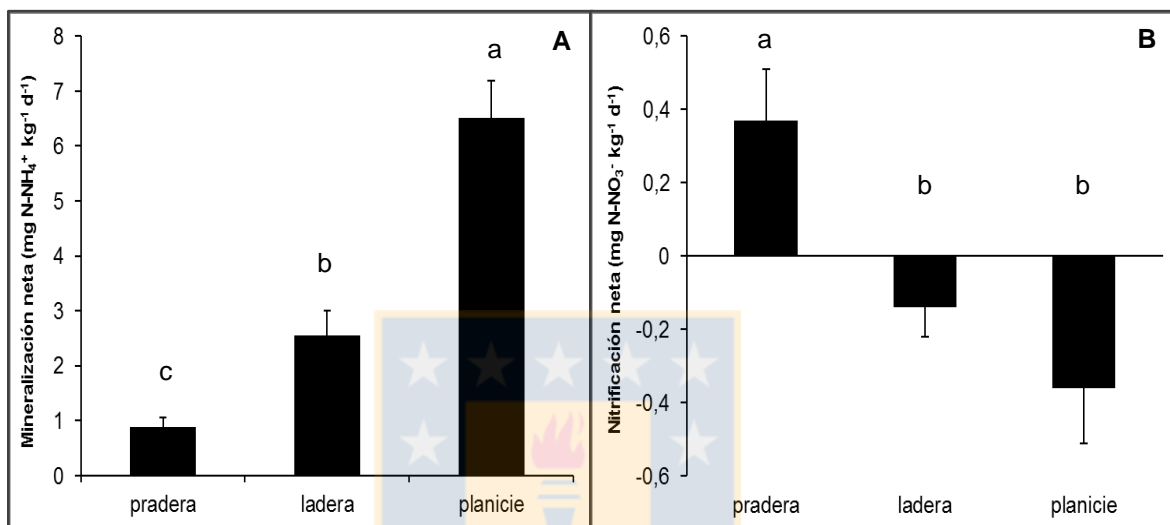


Figura 12. Mineralización y nitrificación neta en los distintos usos de suelo sometidos a incubación. A: mineralización neta, expresado en  $\text{mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ; B: nitrificación neta, expresado en  $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Barras en gráfico indican  $\pm$  error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) de los promedios entre sitios.

### Influencia de la aplicación de purines en los procesos de mineralización y nitrificación

El efecto de la fertilización con purines en el sector de pradera, sobre los procesos de mineralización y nitrificación neta, se observan en la Figura 13. No se observó un efecto significativo ( $p > 0,05$ ) de la aplicación de purines ( $16,8 \text{ kg N mineral ha}^{-1}$  en Octubre de 2012 y  $21,7 \text{ kg N mineral ha}^{-1}$  en Marzo de 2013) sobre los procesos de mineralización y nitrificación neta, en comparación con sitios control, en los meses de noviembre de 2012 y abril de 2013. Las tasas promedio de mineralización neta fueron de  $3,68 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$  en los sitios control y  $2,95 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$  en los sitios fertilizados (Figura 13 A), mientras que las tasas promedio de nitrificación neta fueron de  $-0,05 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$  en los sitios

control y  $-0,03 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$  en los sitios fertilizados (Figura 13 B), ratificando una tendencia de consumo neto de nitrato en ambos tratamientos.

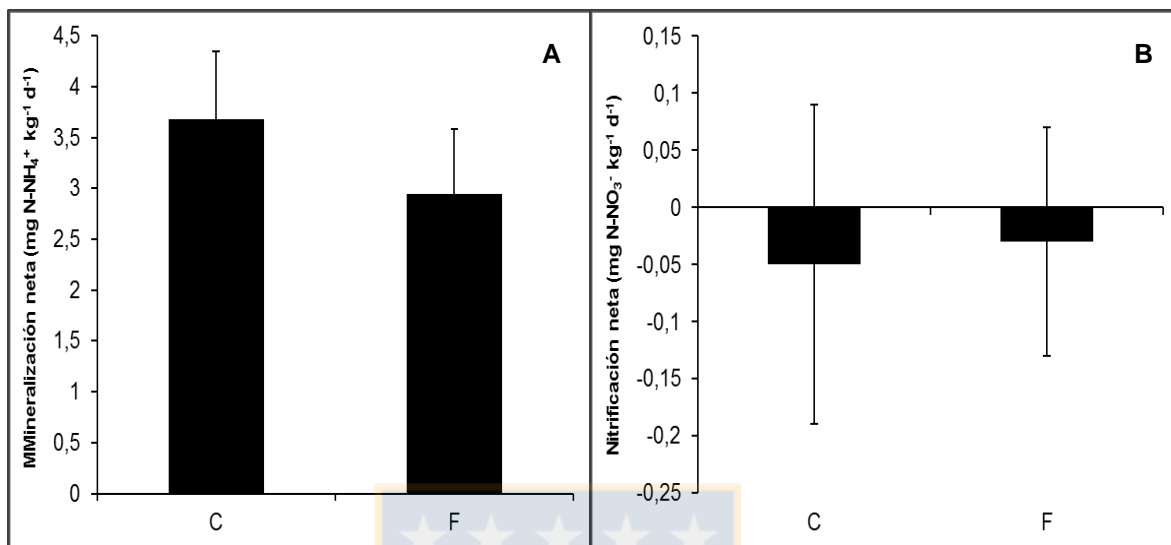


Figura 13. Mineralización y nitrificación neta de suelos sometidos a incubación, bajo 2 tratamientos (C: control; F: fertilizado). A: mineralización neta, expresado en  $\text{mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ; B: nitrificación neta, expresado en  $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Barras en gráfico indican  $\pm$  error estándar.

### Correlación entre flujos de N<sub>2</sub>O variables microambientes del suelo

Las variables físicas, químicas y biológicas del suelo, y su correlación con los flujos de N<sub>2</sub>O, en ensayos S y Ac, se observan en la Tabla 11.

Los parámetros físicos de humedad volumétrica, temperatura del suelo y parámetros físico-biológicos como % WFPS, no lograron explicar los flujos de N<sub>2</sub>O por medio de la correlación no paramétrica de Spearman, en los ensayos sin y con acetileno (Tabla 11). Los parámetros biológicos, como mineralización y nitrificación neta N, presentaron distinta influencia, en relación a la correlación de Spearman (Tabla 11). La mineralización neta N explica parcialmente la producción de N<sub>2</sub>O, a través de la generación de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> como producto final, tanto en ensayos sin acetileno ( $r_s$  0,59;  $p$  0,04) como en ensayos con acetileno ( $r_s$  0,59;  $p$  0,06). La nitrificación neta N no presentó una correlación significativa con los flujos de producción de N<sub>2</sub>O *in situ* ( $p > 0,1$ ). En cuanto al contenido de N mineral del suelo, tanto la concentración de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> como de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no pudieron explicar la variación



de los flujos de  $N_2O$  en forma significativa ( $p > 0,1$ ) a través de estos análisis (Tabla 11).

Tabla 11. Matriz de correlación no paramétrica  $r_s$  entre los parámetros de desnitrificación del suelo a 30 cm de profundidad con variables físicas, químicas y biológicas del suelo.

Parámetro	DN sin acetileno		DN con acetileno	
	$r_s$	P	$r_s$	P
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,06	0,59	0,10	0,39
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,19	0,11	0,18	0,12
Mineralización neta N	0,59	<b>0,04</b>	0,59	<b>0,06</b>
Nitrificación neta N	-0,09	0,78	-0,12	0,73
Temperatura	-0,03	0,80	0,10	0,43
Humedad volumétrica	0,06	0,67	0,20	0,11
%WFPS	0,05	0,71	0,21	0,10

Valor entre paréntesis significa probabilidad de P ( $\alpha$ ). Valor en negro, significa  $p < 0,1$ .

## DISCUSIÓN

### Desnitrificación y flujos de $N_2O$

Los flujos de la producción de  $N_2O$  desde los suelos son notoriamente variables en tiempo y espacio, pudiendo ser observados a distintas escalas, tales como en horas, días, estaciones del año e incluso durante el año (Saggar *et al.*, 2009; Laville *et al.*, 2011). En el presente estudio, se encontraron diferencias al comparar flujos de  $N_2O$  entre fechas para un mismo sitio de estudio ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ) y, en términos globales, se observó una ligera tendencia de aumentar los flujos de  $N_2O$  en todos los sitios, en comparación al resto de las fechas de mediciones, en los meses de Noviembre 2011 y Abril 2013, correspondiendo a periodos de primavera y otoño, respectivamente. A pesar de ello, no se observó una variabilidad temporal consistente, donde los flujos gaseosos siguieran un patrón de emisión comparable entre periodos de tiempo similares. Fisher *et al.*, (2014), al evaluar emisiones de  $N_2O$  en zonas agrícolas y ZR sobre suelos de orden Inceptisol, Entisol y Molisol, coinciden con la presente investigación, al reportar altas fluctuaciones en el tiempo, donde las variaciones estacionales en la zona agrícola fueron atribuidas a aplicaciones de fertilizante nitrogenado, mientras que las variaciones en la ZR fueron asignadas a periodos de inundación. Por otro lado,

Choudhary *et al.*, (2002), observaron una marcada variación estacional en los flujos de N<sub>2</sub>O desde un suelo de orden Alfisol con características ándicas (Typic andoaqualf), utilizado para pradera de ganado ovino, donde los flujos gaseosos de N<sub>2</sub>O durante invierno fueron estadísticamente similares a los obtenidos en otoño, aunque ambos fueron estadísticamente superiores que los de verano. Dichas variaciones estacionales se explicaron mayormente por los cambios en el contenido de humedad en el suelo, donde las mayores precipitaciones fueron desde finales de otoño y durante el invierno, lo que contribuyó a una mayor humedad del suelo y condiciones favorables para la desnitrificación. Por otro lado, (Muñoz *et al.*, 2011) en un estudio de flujos de N<sub>2</sub>O en un cultivo de rotación trigo-avena bajo sistema cero labranza en el sur de Chile, sobre un suelo de origen volcánico (Typic Haploxerands), no observaron variaciones temporales en los flujos de N<sub>2</sub>O durante el año, con un promedio de 108 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en las estaciones del año. Sin embargo, los flujos de N<sub>2</sub>O no fueron explicados por los niveles de humedad del suelo, como en el estudio anterior, sino que débilmente por los niveles de N-mineral en el suelo, lo que coincide parcialmente con los resultados de la presente investigación, ya que si bien se observaron diferencias entre las distintas fechas de muestreo, no se observó un patrón definido de flujos de N<sub>2</sub>O durante el periodo de estudio.

En cuanto al uso del suelo, las emisiones de N<sub>2</sub>O que se puedan obtener, pueden estar influenciadas directamente por el manejo del suelo y a las condiciones ambientales en el área (Maljanen *et al.*, 2003; Li y Cao, 2010). Bajo esa perspectiva, el presente estudio que consideró 3 usos de suelo (pradera, ladera boscosa y planicie de inundación), observó diferencias significativas de emisiones de N<sub>2</sub>O entre sitios sólo en fechas puntuales, donde los mayores flujos de N<sub>2</sub>O se obtuvieron en el sitio de pradera en Abril 2012 y Julio 2012; ladera boscosa en Julio 2012; y planicie de inundación en Enero 2014 (Tabla 5; Figura 6), donde todas estas diferencias fueron encontradas en tratamientos control C. Resultados similares al presente estudio fueron reportados por DeSimone *et al.*, (2010) quienes realizaron mediciones de N<sub>2</sub>O sobre un suelo con órdenes de suelo Luvisol, Cambisol y Gleysol en un transecto, el cual incluyó 3 zonas: un área

límite entre actividad agrícola (cultivo de soya y aplicación de fertilizante sintético y purines) y ZR; una ZR independiente; y un sector de ribera de río, donde los resultados no indican diferencias significativas en las emisiones de  $N_2O$  entre los 3 sitios, a pesar de que los niveles de  $NO_3^-$  fueron superiores en el área límite entre actividad agrícola – ZR y menores hacia el interior de la ZR, mientras que las variables de temperatura del suelo y aire explicaron mayormente los flujos de  $N_2O$  en dicho estudio. Sin embargo, Kim *et al.*, (2009) y Fisher *et al.*, (2014) informaron diferencias en emisiones de  $N_2O$  entre zonas agrícolas y ZR. Kim *et al.*, (2009) evaluó los flujos de  $N_2O$  entre los años 2006 - 2007 en 3 ZR con distinta vegetación y todas ellas circundantes a un área de actividad agrícola (rotación maíz – soya), la cual recibió aportes nitrogenados y al igual que las ZR, se evaluó sus emisiones gaseosas, mostrando resultados que arrojaron flujos de  $N_2O$  similares entre las 3 ZR, con promedio de  $1,8 \text{ kg N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$  ( $205 \text{ mg N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) en 2006 y  $4 \text{ kg N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$  ( $457 \text{ mg N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) en 2007. Sin embargo, estos flujos fueron significativamente menores que los obtenidos en el sector de actividad agrícola, con valores de  $7,2 \text{ kg N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$  ( $821 \text{ mg N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) en 2006 y  $16,8 \text{ kg N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$  ( $1.918 \text{ mg N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) en 2007. En dicho estudio, se concluyó que no solo el suministro nitrogenado, proveniente de lugares adyacentes a las ZR, explican los flujos de  $N_2O$ , sino que también procesos de rehumedecimiento de suelos y derretimiento de suelos congelados. Fisher *et al.*, (2014), evaluó los flujos de  $N_2O$  a 2 ZR de distinta composición vegetacional (arbórea vs herbácea), y ambas ZR rodeadas de una zona de actividad agrícola, con cultivo de maíz, a la cual también se le evaluó los flujos de  $N_2O$ , donde los resultados arrojaron los mayores valores de  $N_2O$  en la zona de cultivos ( $893$  y  $727 \text{ mg N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) frente a la ZR ( $493$  y  $118 \text{ mg N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ). Además, entre ambas ZR se observaron diferencias significativas, las cuales fueron atribuidas a la geomorfología y probabilidad de anegamiento.

Por otro lado, la fertilización nitrogenada en ecosistemas agrícolas, provee el sustrato para los procesos involucrados en la producción de  $N_2O$  en los suelos (Ruser y Schulz, 2015), y puede tener distintos efectos, tanto sobre cultivos agrícolas como en ZR. En el presente estudio, los flujos de  $N_2O$  entre tratamientos

C y F no mostraron diferencias, independientemente si fue en ausencia o presencia de acetileno, durante el periodo de comparación Noviembre 2012 – Enero 2014. Estos resultados contrastan con los reportado por Lin *et al.*, (2011), donde señalan que las aplicaciones nitrogenadas, incluso en mayores cantidades, aumentan la cantidad de N<sub>2</sub>O formado desde el suelo hacia la atmósfera. En ese mismo sentido, Hyde *et al.*, (2006) evaluaron las emisiones de N<sub>2</sub>O sobre una pradera de ballica (*Lolium perenne* L.) con 3 dosis de nitrógeno (0, 225 y 390 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>), reportándose mayores emisiones de N<sub>2</sub>O a mayor dosis de fertilizante nitrogenado, con valores de 507, 1.425 y 2.368 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectivamente. Walker *et al.*, (2002) midieron flujos de N<sub>2</sub>O en 2 ZR (sin y con actividad ganadera circundante), mostrando flujos de N<sub>2</sub>O de 2.761 y 2.796 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, en ZR sin y con actividad productiva cercana, respectivamente. En dicho estudio, los flujos de N<sub>2</sub>O fueron explicados por la concentración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en el suelo. Soosaar *et al.*, (2011), demostró que la aplicación de purines en suelos adyacente a una ZR, afecta la emisión de N<sub>2</sub>O desde el suelo donde el flujo de N<sub>2</sub>O en la ZR cercana al suelo no fertilizado fue de 46 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, mientras que el flujo de la ZR próxima al suelo fertilizado fue de 80 mg N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

El patrón general de la producción N<sub>2</sub>O observado en esta investigación, y frente a todos los antecedentes discutidos, permite plantear que estos procesos no son mayormente influenciados por las transformaciones de N en estos tipos de ambientes colindantes a actividad productiva, sobre suelo derivado de cenizas volcánicas. La variación temporal de las emisiones observadas fue más bien puntual y menos relacionada con un patrón estacional claro, a diferencia de lo que se ha detectado en otras investigaciones, a raíz de la no significativa correlación con parámetros microambientales observados en el presente trabajo (Tabla 11). Esto indica que suelos derivados de cenizas volcánicas son efectivos reguladores de pérdidas nitrogenadas, tal como se ha indicado con los actuales paradigmas del ciclo N en investigaciones recientes para ambientes naturales en andisoles del sur de Chile (Perakis *et al.*, 2005; Huygens *et al.*, 2008). Los ambientes riparianos estudiados responden a la dinámica de N en el suelo en puntos y momentos de

actividades (*spatio-temporal hotspots*) que reúnen condiciones sitio-específicas para regular las pérdidas nitrogenadas.

Considerando que el acetileno bloquea la actividad enzimática de la óxido nitroso reductasa para la producción de  $N_2$  durante la desnitrificación, flujos similares entre los ensayos S y Ac (sin y con bloqueo de acetileno), es decir, una relación S:Ac cercana a 1, fueron obtenidos en varias ocasiones en el presente estudio. Esto indicaría que la generación de  $N_2$  es virtualmente nula y solamente  $N_2O$  es formado en el proceso (Maljanen *et al.*, 2003). En otros casos, flujos superiores durante los ensayos Ac frente a ensayos S, indicarían la producción de  $N_2$  durante el proceso (S:Ac < 1). Finalmente, si los flujos del ensayo S son superiores (S:Ac > 1), la producción de  $N_2O$  no sólo estaría siendo verificada por la desnitrificación normal, sino que también durante el proceso de nitrificación, tal como supone el modelo conceptual del “orificio en el tubo” (*hole in the pipe*) propuesto por Bouwman (1998), en el cual el  $N_2O$  puede ser producido en forma significativa en el suelo bajo condiciones especiales de temperatura y disponibilidad de N mineral. No obstante, en los sitios de zona ripariana ( $\delta$  y  $\varepsilon$ ), se observó en varias mediciones que los flujos de  $N_2O$  provenientes de ensayos Ac, fueron mayores que sin acetileno (cuociente menor que 1), tanto en áreas control, como en áreas fertilizadas, sin un patrón estacional claro (Figura 8). Es así como se observaron relaciones que indican la producción de más del 50 % de  $N_2$  como producto final de la desnitrificación en primavera de 2012 (Septiembre y Noviembre) y 2013 (Septiembre) e invierno de 2013 (Julio). Este patrón no es diferente para los sitios fertilizados con purines (Figura 8 B) con una amplia variación entre los sitios (praderas, ladera boscosa y de planicie de inundación). Al respecto, Maljanen *et al.*, (2003), reportaron que entre 1,5 a 5% del  $N_2O$  generado en el suelo ocurrió a través del proceso de nitrificación neta, mientras que la otra porción fue generada por proceso de desnitrificación. Este patrón indica un aspecto poco discutido anteriormente para estos ambientes riparianos, donde normalmente la producción de N gaseoso parece depender de procesos anóxicos como la desnitrificación, por la gran cantidad de humedad edáfica. Sin embargo, en los ambientes riparianos sobre suelos derivados de cenizas volcánicas, la alta

porosidad y baja densidad aparente, sugieren una tendencia equilibrada de generar gases de nitrógeno por procesos aeróbicos como la nitrificación, mientras que la producción de  $N_2$  es factible durante la desnitrificación en momentos espacio-temporales sitio-específicos.

La evaluación microambiental del espacio-tiempo indicó que los parámetros de humedad y temperatura del suelo no lograron explicar la variación de los flujos de  $N_2O$  (Tabla 11). Estos resultados contrastan con los reportados por Vilain *et al.*, (2010) y Hayakawa *et al.*, (2012), donde concluyeron que el contenido de humedad del suelo influye significativamente en los flujos de  $N_2O$ . Kachenchart *et al.*, (2012) concluyeron que los flujos de  $N_2O$  fueron mayores en periodos de estación húmeda frente a estación seca, en términos de % WFPS, en ambientes riparianos. En cuanto a la influencia de la temperatura del suelo, DeSimone *et al.*, (2010), evidenciaron que tuvo una marcada influencia en los flujos de  $N_2O$  en ambientes riparianos. Por otro lado, la producción neta de amonio en el suelo, expresó una clara acumulación en el sector de planicie de inundación (Figura 12 A), lo que reflejó una mayor cantidad de  $N-NH_4^+$  producida que la consumida por actividades microbianas en el ambiente predominantemente saturado con agua en el suelo. Igual respuesta se observó en sectores de ladera y pradera, pero en menor proporción. Con ello, se demostró que sectores con mayor humedad pueden evidenciar una alta actividad de mineralización. Al respecto, altas tasas de mineralización también fueron demostradas por Guntiñas *et al.*, (2012), en sitios con alta saturación hídrica. Por otro lado, la nitrificación neta presentó tasas negativas en los sectores de planicie de inundación y ladera, reflejando que la cantidad de  $N-NO_3^-$  utilizada por microorganismos fue mayor que la generada, provocando balances negativos de esa forma nitrogenada. Sin embargo, las tasas de nitrificación fueron positivas en el sector de pradera, donde la producción de  $N-NO_3^-$  fue mayor que la consumida por actividad microbiana. Aunque los flujos negativos en la nitrificación neta indiquen un consumo que puede estar asociado a la producción de N gaseoso durante la desnitrificación, la baja correlación observada entre estos flujos en esta investigación puede ser inferida como otro flujo posible en condiciones anóxicas en sectores de ladera y planicie de

inundación, como por ejemplo el proceso biótico facultativo de reducción disasimilatoria de nitrato a amonio (RDNA). Este proceso fue demostrado en bosques del sur de Chile, sobre suelos de origen volcánico, en un estudio realizado por Huygens *et al.*, (2008), donde los flujos de N son redirigidos hacia  $\text{NH}_4^+$ , reduciendo la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en el suelo, y por ello, el sustrato para pérdidas tanto por lixiviación, como por desnitrificación. Esto explicaría además la variada relación entre flujos sin y con acetileno, como una sugerencia de que una parte importante de la producción de  $\text{N}_2\text{O}$  ocurrió a través de la nitrificación como se puede suponer en la pradera a través de estos resultados.

Los contenidos de  $\text{N-NH}_4^+$ , medidos en todas las muestras de suelo que se realizaron incubaciones gaseosas, no lograron explicar los flujos de  $\text{N}_2\text{O}$ , a través de la correlación de Spearman, donde se observó importantes concentraciones, especialmente en la ZR, tanto en tratamientos C y F. Por otro lado, el contenido de  $\text{N-NO}_3^-$ , al igual que el contenido de  $\text{N-NH}_4^+$ , fueron medidos en todas las muestras de suelo, arrojando correlaciones estadísticamente no significativas ( $p > 0,1$ ). Sin embargo, los contenidos de  $\text{N-NO}_3^-$  explicarían débilmente los flujos de  $\text{N}_2\text{O}$ , puesto que el valor - p resultante es levemente superior al valor - p determinado para la correlación ( $p > 0,1$ ), tanto en ensayos S ( $r_s$  0,19;  $p$  0,11) como en Ac ( $r_s$  0,18;  $p$  0,12). Esto tiene sentido, ya que varios estudios demuestran que el contenido de  $\text{N-NO}_3^-$  en el suelo es un importante factor en la producción de  $\text{N}_2\text{O}$ , lo cual ha sido demostrado por Hefting *et al.*, (2003).

En términos globales, la única variable que tuvo una correlación significativa frente a los flujos de  $\text{N}_2\text{O}$  fue la mineralización neta N. Sin embargo, se debe considerar que los ensayos de mineralización (y nitrificación neta N), se realizaron solamente en 2 fechas de muestreo (Noviembre 2012 y Abril 2013), por lo cual provee una visión general del proceso frente a los 80 puntos permanentes de muestreo de gases durante todo el periodo de estudio (Diciembre 2011 a Enero 2014). Aunque los contenidos de  $\text{N-NH}_4^+$  no están relacionados directamente con los flujos de  $\text{N}_2\text{O}$ , a pesar de arrojar una correlación entre ambas variables, dichos resultados sólo demuestran que tanto la mineralización neta N como los flujos de  $\text{N}_2\text{O}$ , están ocurriendo en forma simultánea. No obstante, hay estudios que han

demostrado que el  $\text{N-NH}_4^+$  puede ser un sustrato importante para la producción de N gaseoso, en la forma de  $\text{N}_2$ , a través de un proceso llamado anammox (oxidación anaeróbica de amonio), donde las bacterias usan el  $\text{NO}_2^-$  como aceptor de electrón, para convertir el  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{N}_2$  bajo condiciones estrictamente anaeróbicas (van de Graaf *et al.*, 1997). Estudios han demostrado su actividad en muchos ecosistemas marinos y ZR construidas con fines de depuración de agua (Dalsgaard *et al.*, 2003; Pei *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2012), lo cual pudiese ser una situación aplicable a ZR en ambientes naturales, debido a las condiciones edáficas que la caracterizan.

Los flujos de  $\text{N}_2\text{O}$  en promedio en nuestro estudio, reportaron 18,43, 19,45 y 21,65 mg N- $\text{N}_2\text{O}$   $\text{ha}^{-1} \text{h}^{-1}$ , en los sectores de pradera, ladera y planicie de inundación, respectivamente. Dicha producción es menor, al ser comparada con otros flujos provenientes desde ZR, donde se han registrado flujos de  $\text{N}_2\text{O}$  que variaron entre 297 mg N- $\text{N}_2\text{O}$   $\text{ha}^{-1} \text{h}^{-1}$  (McLain y Martens, 2006), 553 – 1.005 mg N- $\text{N}_2\text{O}$   $\text{ha}^{-1} \text{h}^{-1}$  (Weller *et al.*, 1994), 331 mg N- $\text{N}_2\text{O}$   $\text{ha}^{-1} \text{h}^{-1}$  (Kim *et al.*, 2009) y hasta 33.333 mg N- $\text{N}_2\text{O}$   $\text{ha}^{-1} \text{h}^{-1}$ , reportado por Hefting *et al.*, (2003). Estos bajos flujos de  $\text{N}_2\text{O}$ , en comparación con otros estudios, pueden deberse, por un lado, a la alta relación C:N exhibida en los sectores de pradera, ladera y planicie de inundación, los que fluctuaron en una relación C:N entre 16 a 18 (Tabla 2). Esto es respaldado por investigaciones realizadas por Klemetsson *et al.*, (2005), donde a través de un modelamiento matemático, previa revisión de diversos estudios realizados en suelos boscosos del orden Histosol en Europa, concluyeron que los flujos de  $\text{N}_2\text{O}$  en suelos con una relación C:N > 25, son prácticamente nulas. Igual relación fue reportada por Hunt *et al.*, (2007), en suelos dentro de zonas riparianas. Finalmente, vale destacar el rol que pueden desempeñar los Andisoles en el control de pérdidas N en ambientes naturales y húmedos, lo que ha generado discusión sobre cambios de paradigmas del ciclo N en la última década (Perakis *et al.*, 2005; Huygens *et al.*, 2008). Un suelo de origen volcánico en ambientes riparianos presenta un gran potencial de filtro de N biodisponible y contaminantes de origen antropogénico o derivados de actividad biogeoquímica



del perfil del suelo, toda vez que contribuye a la generación de N gaseoso inerte como N<sub>2</sub>.

## CONCLUSIONES

- 1) Las zonas riparianas ubicadas en la zona sur de Chile, conocidas como hualves, producen N<sub>2</sub>O en menor proporción comparado con patrones globalmente conocidos.
- 2) El manejo agronómico representado por la aplicación de purines en áreas de pradera colindantes a estos ambientes riparianos del sur de Chile, no aportan incrementos importantes en la producción de N<sub>2</sub>O, tanto en las praderas lecheras como a lo largo del transecto hacia el bosque ripariano.
- 3) La relación de flujo sin y con acetileno, para el monitoreo de desnitrificación *in situ*, deja en evidencia la zona ripariana como una fuente de emisión potencial de N<sub>2</sub> en condiciones espacio-temporales muy específicas, especialmente en periodo primaveral y otoñal.
- 4) Las variables microambientales investigadas de N biodisponible, físicas y biológicas del suelo, relacionadas con el ciclo N, no explican los flujos de N<sub>2</sub>O producidos en un patrón general, indicando que un estudio más enfocado a los puntos sitio-específicos requieren ser investigados para explicar los patrones de emisión N<sub>2</sub>O.
- 5) El presente trabajo ratifica a los suelos de origen volcánico con su importante rol en la disminución de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, por acción de procesos conservativos del ciclo del N.
- 6) Mayores estudios de producción de N<sub>2</sub>O *in situ* en zonas riparianas aledañas a zonas agrícolas deben ser realizadas e incluir evaluaciones de flujos de N<sub>2</sub> y caracterización de población microbiana.

## REFERENCIAS

1. Amigo, J., Ramirez, C., 1998. A bioclimatic classification of Chile: woodland communities in the temperate zone. *Plant Ecol.* 136: 9-26.

2. Arora, K., S.K. Mickelson, M.J. Helmers and J.L. Baker. 2010. Review of pesticide retention processes occurring in buffer strips receiving agricultural runoff. *Journal of the American Water Resources Association* 46(3): 618–647.
3. Besoain, E. y G. Sepúlveda. 1985. Minerales secundarios, in: Tosso, J. (Ed.), *Suelos Volcánicos de Chile*. INIA, Santiago, Chile, pp. 153–214.
4. Betlach, M.R. and J.M. Tiedje. 1981. Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide during bacterial denitrification. *Applied and Environmental Microbiology* 42(6): 1074–1084.
5. Blicher-Mathiesen, G. and C.C. Hoffmann. 1999. Denitrification as a sink for dissolved nitrous oxide in a freshwater riparian fen. *Journal of Environment Quality* 28(1): 257-262.
6. Bonnett, S.A.F., M.S.A. Blackwell, R. Leah, V. Cook, M.O. O'Connor and E. Maltby. 2013. Temperature response of denitrification rate and greenhouse gas production in agricultural river marginal wetland soils. *Geobiology* 11(3): 252–267.
7. Bouwman, A.F. 1998. Environmental science: nitrogen oxides and tropical agriculture. *Nature* 392: 866-867
8. Bradley, R.L., J. Whalen, P.-L. Chagnon, M. Lanoix and M.C. Alves. 2011. Nitrous oxide production and potential denitrification in soils from riparian buffer strips: influence of earthworms and plant litter. *Applied Soil Ecology* 47(1): 6–13.
9. Bremner, J.M. and A.M. Blackmer. 1978. Nitrous oxide: emission from soils during nitrification of fertilizer nitrogen. *Science* 199(4326): 295-296.
10. Casey, R.E. and S.J. Klaine. 2001. Nutrient attenuation by a riparian wetland during natural and artificial runoff events. *Journal of Environmental Quality* 30(5): 1720–1731.
11. Choudhary, M.A., A. Akramkhanov and S. Saggar. 2002. Nitrous oxide emissions from a New Zealand cropped soil: tillage effects, spatial and seasonal variability. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 93(1): 33–43.
12. CIREN. 2003. Estudio agrológico X Región, Tomo 2. Centro de Recursos Naturales, Santiago, Chile.
13. Conover, W.J. (1999). *Practical Nonparametric Statistics*. John Wiley & Sons, Inc., New York.

14. Cuevas, J., J. Huertas, C. Leiva, L. Paulino, J. Dörner and J. Arumí. 2014. Nutrient retention in a microcatchment with low levels of anthropogenic pollution. *Bosque* 35(1): 75–88.
15. Dalal, R.C., W. Wang, G.P. Robertson and W.J. Parton. 2003. Nitrous oxide emission from Australian agricultural lands and mitigation options: a review. *Australian Journal of Soil Research* 41(2): 165–195.
16. Dalsgaard, T., D.E. Canfield, J. Petersen, B. Thamdrup and J. Acuña-González. 2003. N<sub>2</sub> production by the anammox reaction in the anoxic water column of Golfo Dulce, Costa Rica. *Nature* 422(6932): 606–608.
17. Day, R.P. 1965. Pipette method of particle size analysis. In: *Methods of soil analysis*. Agronomy 9.ASA USA.p. 553-562.
18. DeSimone, J., M.L. Macrae and R.A. Bourbonniere. 2010. Spatial variability in surface N<sub>2</sub>O fluxes across a riparian zone and relationships with soil environmental conditions and nutrient supply. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 138(1-2): 1–9.
19. Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
20. Dorel, M., J. Roger-Estrade, J. Manichon and B. Delvaux. 2000. Porosity and soil water properties of Caribbean volcanic ash soils. *Soil Use. Manage.* 16: 133-140.
21. Dörner, J., D. Dec, X. Peng and R. Horn. 2009a. Change of shrinkage behavior of an Andisol in southern Chile: Effects of land use and wetting/drying cycles. *Soil Till. Res.* 106: 45–53.
22. Dörner, J., D. Dec, X. Peng and R. Horn. 2009b. Efecto del cambio de uso en la estabilidad de la estructura y la función de los poros de un Andisol (Typic Hapludand) del sur de Chile. *R. C. Suelo Nutr. Veg.* 9: 190-209.
23. Dörner, J., D. Dec, E. Feest, N. Vásquez and M. Díaz. 2012. Dynamics of soil structure and pore functions of a volcanic ash soil under tillage. *Soil Till. Res.* 125: 52–60.
24. Dörner, J., F. Zúñiga and I. López. 2013. Short-term effects of different pasture improvement treatments on the physical quality of an andisol. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 13: 381-399.
25. Dhondt, K., P. Boeckx, G. Hofman and O. van Cleemput. 2004. Temporal and spatial patterns of denitrification enzyme activity and nitrous oxide fluxes in

- three adjacent vegetated riparian buffer zones. *Biology and Fertility of Soils* 40 (4): 243–251.
26. Dhondt, K., P. Boeckx, N.E.C. Verhoest, G. Hofman and O. van Cleemput. 2006. Assessment of temporal and spatial variation of nitrate removal in riparian zones. *Environmental Monitoring and Assessment* 116(1-3): 197–215.
  27. Ellies, A., 1988. Mechanical consolidation in volcanic ash soils. In: Drescher, J., Horn, R., De Boodt, M. (Eds), *Impact of Water and External Forces on Soil Structure*, Suppl. 11. Catena Verlag, Reiskirchen, Germany, pp. 87-92.
  28. Ellies A, R. Grez and C. Ramirez. 1997. La conductividad hidráulica en fase saturada como herramienta para el diagnóstico de la estructura del suelo. *Agro Sur* 25(1): 51-56.
  29. Fischer, E.N. and S.C. Whalen. 2005. Rates and controls on denitrification in an agricultural soil fertilized with liquid lagoonal swine waste. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 71: 271–287.
  30. Fisher, K., P.A. Jacinthe, P. Vidon, X. Liu and M.E. Baker. 2014. Nitrous oxide emission from cropland and adjacent riparian buffers in contrasting hydrogeomorphic settings. *Journal of Environment Quality* 43(1): 338–348.
  31. Galloway, J.N., J.D. Aber, J.W. Erisman, S.P. Seitzinger, R.W. Howarth, E.B. Cowling and B.J. Cosby. 2003. The nitrogen cascade. *BioScience* 53(4): 341-356.
  32. Galloway, J.N., A.R. Townsend, J.W. Erisman, M. Bekunda, Z. Cai, J.R. Freney, L. A. Martinelli, S.P. Seitzinger and M.A. Sutton. 2008. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science* 320:(5878): 889–892.
  33. Godoy, R., L. Paulino, C. Oyarzún and P. Boeckx. 2003. Atmospheric N deposition in central and southern Chile. An overview. *Gayana Bot.* 60: 47-53.
  34. González, S. 2009. Inventarios anuales de gases de efecto invernadero de Chile. Serietemporal 1984/2003 para sectores no energía. Boletín INIA n° 185. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Santiago, Chile.
  35. Groffman, P.M. and J.M. Tiedje. 1989. Denitrification in north temperate forest soils: relationships between denitrification and environmental factors at the landscape scale. *Soil Biology and Biochemistry* 21(5): 621-626.
  36. Groffman, P.M., A.J. Gold and R.C. Simmons. 1992. Nitrate dynamics in riparian forests: microbial studies. *Journal of Environment Quality* 21(4): 666–671.

37. Guntiñas, 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: 73–80.
38. Hayakawa, A., M. Nakata, R. Jiang, K. Kuramochi and R. Hatano. 2012. Spatial variation of denitrification potential of grassland, windbreak forest, and riparian forest soils in an agricultural catchment in eastern Hokkaido, Japan. *Ecological Engineering* 47(3): 92–100
39. Hedin, L., J. Armesto and A. Johnson. 1995. Patterns of nutrient loss from unpolluted old-growth temperate forests: evaluation of biogeochemical theory. *Ecology* 76: 493-509.
40. Hefting, M.M., R. Bobbink and H. de Caluwe. 2003. Nitrous oxide emission and denitrification in chronically nitrate-loaded riparian buffer zones. *Journal of Environmental Quality* 32(4): 1194–1203.
41. Hefting, M.M., R. Bobbink and M.P. Janssens. 2006. Spatial variation in denitrification and N<sub>2</sub>O emission in relation to nitrate removal efficiency in a N-stressed riparian buffer zone. *Ecosystems* 9 (4): 550–563.
42. Heincke, M. and M. Kaupenjohann. 1999. Effects of soil solution on the dynamics of N<sub>2</sub>O emissions: a review. *Nutrients Cycling in Agroecosystems* 55: 133-157.
43. Hoffmann, C.C., P. Berg, M. Dahl, S.E. Larsen, H.E. Andersen and B. Andersen. 2006. Groundwater flow and transport of nutrients through a riparian meadow - field data and modelling. *Journal of Hydrology* 331(1-2): 315–335.
44. Hunt, P.G., T.A. Matheny and K.S. Ro. 2007. Nitrous oxide accumulation in soils from riparian buffers of a coastal plain watershed carbon/nitrogen ratio control. *Journal of Environmental Quality* 36(5): 1368–1376.
45. Hutchinson, G.L. and A.R. Mosier. 1981. Improved soil cover method for field measurement of nitrous oxide fluxes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45(2): 311-316.
46. Huygens, D., T. Rütting, P. Boeckx, O. van Cleemput, R. Godoy and C. Müller. 2007. Soil nitrogen conservation mechanisms in a pristine south chilean nothofagus forest ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 39(10): 2448–2458.
47. Huygens, D., P. Boeckx, P. Templer, L. Paulino, O. van Cleemput, C. Oyarzún, C. Müller and R. Godoy. 2008. Mechanisms for retention of bioavailable nitrogen in volcanic rainforest soils. *Nature Geoscience* 1(8): 543–548.
48. Hyde, B.P., M.J. Hawkins, A.F. Fanning, D. Noonan, M. Ryan, P. OToole and O.T. Carton. 2006. Nitrous oxide emissions from a fertilized and grazed

- grassland in the south east of Ireland. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 75(1-3): 187–200.
49. IAEA. 1992. Manual on measurement of methane and nitrous oxide emissions from agriculture. Vienna, Austria. p88.
  50. IPCC, 2007: Cambio climático 2007: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático [Equipo de redacción principal: Pachauri, R.K. y Reisinger, A. (directores de la publicación). IPCC, Ginebra, Suiza, pp104.
  51. Kachenchart, B., D.L. Jones, N. Gajaseneni, G. Edwards-Jones and A. Limsakul. 2012. Seasonal nitrous oxide emissions from different land uses and their controlling factors in a tropical riparian ecosystem. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 158(3): 15–30.
  52. Kim, D.-G., T.M. Isenhardt, T.B. Parkin, R.C. Schultz, T.E. Loynachan and J.W. Raich. 2009. Nitrous oxide emissions from riparian forest buffers, warm-season and cool-season grass filters, and crop fields. *Biogeosciences Discussions* 6(1): 607–650.
  53. Klemmedtsson, L., K. von Arnold, P. Weslien and P. Gundersen. 2005. Soil CN ratio as a scalar parameter to predict nitrous oxide emissions. *Global Change Biology* 11(7): 1142–1147.
  54. Kroeze, C., L. Bouwman and C.P. Slomp. 2007. Sinks for nitrous oxide at the Earth's surface. pp: 227-242. In: D.S. Reay, C.N. Hewitt, K.A. Smith and J. Grace (Eds.). *Greenhouse gas sinks*. CAB International. Wallingford, UK.
  55. Laville, P., S. Lehuger, B. Loubet, F. Chaumartin and P. Cellier. 2011. Effect of management, climate and soil conditions on N<sub>2</sub>O and no emissions from an arable crop rotation using high temporal resolution measurements. *Agricultural and Forest Meteorology* 151(2): 228–240.
  56. Li, Y. and W. Cao. 2010. Estimates of nitrous oxide emission fluxes from different land uses/covers in China. 2010. 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, iCBBE 2010, 1–4.
  57. Lin, S., J. Iqbal, R. Hu, J. Wu, J. Zhao, L. Ruan and S. Malghani. 2011. Nitrous oxide emissions from rape field as affected by nitrogen fertilizer management: a case study in Central China. *Atmospheric Environment* 45 (9): 1775–79.
  58. Linn, D.M. and J.W. Doran. 1984. Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and nontilled soils. *Soil Science Society of America Journal* 48(6): 1267–1272.

59. Longeri, L., J. Etchevers and J. Venegas. 1979. Metodología de perfusión para estudios de nitrificación en suelos. *Cienc. Inv. Agr.* 6, 295-299.
60. Lowrance, R., G. Vellidis and R.K. Hubbard. 1995. Denitrification in a Restored Riparian Forest Wetland. *J. Environ. Qual.* 24: 808-815.
61. Maljanen, M., A. Liikanen, J. Silvola and P.J. Martikainen. 2003. Nitrous oxide emissions from boreal organic soil under different land-use. *Soil Biology and Biochemistry* 35(5): 689–700. .
62. McLain, J.E.T. and D.A. Martens. 2006. Moisture controls on trace gas fluxes in semiarid riparian soils. *Soil Science Society of America Journal* 70(2): 367-377.
63. Muñoz, C., L. Paulino, J. Vera and E. Zagal. 2011. CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O emissions from an Andisol in Chile under a no-till system using non-fixed closed chambers. *Chilean Journal of Agricultural Research* 71(2): 275–282.
64. Naiman, R.J. and H. Decamps. 1997. The ecology of interfaces: riparian zones. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28: 621–58.
65. Paul, E.A. and F.E. Clark. 1996. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Second edition. Academic Press, London.
66. Pei, Y., J. Wang, Z. Wang and B. Tian. 2011. Anammox bacteria community and nitrogen removal in a strip-like wetland in the riparian zone. *Journal of Environmental Science and Health. Part A: Toxic/hazardous Substances and Environmental Engineering* 46(7): 715–722.
67. Perakis, S., J. Compton and L. Hedin. 2005. Nitrogen retention across a gradient of <sup>15</sup>N additions to an unpolluted temperate forest soil in Chile. *Ecology* 86: 96-105.
68. Pérez, C., M. Carmona and J. Armesto. 2003. Non-symbiotic nitrogen fixation, net nitrogen mineralization and denitrification in evergreen forests of Chiloé Island, Chile: a comparison with other temperate forests. *Gayana Bot.* 60: 25-33.
69. Pezoa, L., 2003. Recopilación y análisis de la variación de las temperaturas (período 1965–2001) y las precipitaciones (período 1931–2001) a partir de la información de estaciones meteorológicas de Chile entre los 33° y 53° de latitud sur. For. Eng. thesis. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
70. Pinay, G., L. Roques and A. Fabre. 1993. Spatial and temporal patterns of denitrification in a riparian forest. *Journal of Applied Ecology* 30(4): 581–591.
71. Price, P. and W. Tubman. 2007. Structure and characteristics of riparian lands.

- pp: 1-12. In: S. Lovett and P. Price (Eds.). Principles for riparian lands management. Land & Water Australia. Canberra, Australia.
72. Ramírez, C. 1982. Pasado, presente y futuro: la vegetación nativa del sur de Chile. *Creces* 3(6/7): 40-45.
  73. Ramírez, C., F. Ferriere y H. Figueroa. 1983. Estudio Fitosociológico de los Bosques Pantanosos Templados del Sur de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 56: 11-26.
  74. Ramírez, C., C. San Martín y J. San Martín. 1995. Estructura de los bosques pantanosos de Chile sur-central. In: Armesto, J., Villagrán, C., Arroyo, M.K. (Eds), *Ecología de los bosques nativos de Chile*. Editorial Universitaria, Santiago, Chile, pp. 215-234.
  75. Ravishankara, A.R., J.S. Daniel and R.W. Portmann. 2009. Nitrous oxide (N<sub>2</sub>O): the dominant ozone-depleting substance emitted in the 21<sup>st</sup> century. *Science* 326: 123-125.
  76. Reay, D.S., C.N. Hewitt and K.A. Smith. 2007. Nitrous oxide: importance, sources and sinks. pp: 201-206. In: D.S. Reay, C.N. Hewitt, K.A. Smith and J. Grace (Eds.). *Greenhouse gas sinks*. CAB International. Wallingford, UK.
  77. Reay, D.S., E.A. Davidson, K.A. Smith, P. Smith, J.M. Melillo, F. Dentener and P. J. Crutzen. 2012. Global agriculture and nitrous oxide emissions. *Nature Climate Change* 2(6): 410–416.
  78. Richardson, W.B., E.A. Strauss, L.A. Bartsch, E.M. Monroe, J.C. Cavanaugh, L. Vingum and D.M. Soballe. 2004. Denitrification in the upper Mississippi River: rates, controls and contribution to nitrate flux. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1112: 1102–1112.
  79. Rivett, M.O., S.R. Buss, P. Morgan, J.W.N. Smith and C.D. Bement. 2008. Nitrate attenuation in groundwater: a review of biogeochemical controlling processes. *Water Research* 42 (16): 4215–4232.
  80. Robertson, G.P. and P.M. Vitousek. 2009. Nitrogen in agriculture: balancing the cost of an essential resource. *Annual Review of Environment and Resources* 34(1): 97–125.
  81. Robarge, W.P., A. Edwards and B. Johnson. 1983. Water and waste water analysis for nitrate via nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 14(12): 1207-1215.
  82. Roy, R.N., A. Finck, G.J. Blair and H.L.S. Tandon. 2006. *Plant Nutrition for Food Security*. FAO Fertilizer and plant nutrition bulletin 16. Rome, Italy.



83. Ruser, R. and R. Schulz. 2015. The effect of nitrification inhibitors on the Nitrous Oxide (N<sub>2</sub>O) release from agricultural soils- a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 178(2): 171–188.
84. Sadzawka, A., Carrasco, M., Grez, R., Mora, M., Flores, H., Neaman, A., 2006. *Métodos de análisis recomendados para los suelos de Chile. Serie Actas INIA No. 34.* Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago, Chile.
85. Saggar, S., Luo, J., Giltrap, D.L., Maddena, M., 2009. Nitrous oxide emissions from temperate grasslands: processes, measurements, modeling and mitigation, in: Sheldon, A.I., Barnhart, E.P. (Eds.), *Nitrous oxide emissions research progress. Environmental Science, Engineering and Technology Series.* Nova Science Publishers, New York, USA, pp. 1-66.
86. Saggar, S., N. Jha, J. Deslippe, N.S. Bolan, J. Luo, D.L. Giltrap, D.-G. Kim, M. Zaman and R. W. Tillman. 2013. Denitrification and N<sub>2</sub>O: N<sub>2</sub> production in temperate grasslands: processes, measurements, modelling and mitigating negative impacts. *Science of the Total Environment* 465: 173–195.
87. Sandoval, M., J. Dörner, O. Seguel, J. Cuevas y D. Rivera. 2012. Contenido de agua gravimétrica. pp: 17-20. En: *Métodos de análisis físicos de suelos. Publicaciones Departamento de Suelo y Recursos Naturales N°5.* Universidad de Concepción. Facultad de Agronomía. Chillán, Chile.
88. San Martín, C., C. Ramírez and P. Ojeda. 1999. Distribución de macrófitos y patrones de zonación ribereña en la cuenca del río Valdivia, Chile. *Revista Geográfica de Valparaíso* 29: 117-126.
89. Shoji, S., M. Nanzyo and R.A. Dahlgren. 1993. *Volcanic Ash Soils – Genesis, Properties and Utilization.* Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
90. Simek, M. and J.E. Cooper. 2002. The influence of soil ph on denitrification : progress towards the understanding of this interaction over the last 50 years. *European Journal of Soil Science* 53: 345–354.
91. Soil Survey Staff, 2006. *Keys to Soil Taxonomy, 10th ed. Agric. Handbook 436.* NRCS, Washington DC, USA.
92. Soosaar, K., Ü. Mander, M. Maddison, A. Kanal, A. Kull, K. Lõhmus, J. Truu and J. Augustin. 2011. Dynamics of gaseous nitrogen and carbon fluxes in riparian alder forests. *Ecological Engineering* 37(1): 40–53.
93. Stolpe, N. 2006. *Descripciones de los principales suelos de la VIII Región de Chile. Publicaciones del Departamento de Suelos y Recursos Naturales N°1.* Universidad de Concepción. Facultad de Agronomía. Chillán, Chile.

94. Stuart, D., R.L. Schewe and M. McDermott. 2014. Reducing nitrogen fertilizer application as a climate change mitigation strategy: understanding farmer decision-making and potential barriers to change in the US. *Land Use Policy* 36: 210–218.
95. Stutter, M.I., W.J. Chardon and B. Kronvang. 2012. Riparian buffer strips as a multifunctional management tool in agricultural landscapes: Introduction. *Journal of Environment Quality* 41(2): 297-303.
96. Subiabre, A. y C. Rojas. 1994. *Geografía física de la Región de Los Lagos*. Ediciones Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
97. USDA (USA). 2003. National water quality handbook. [en línea]. United State Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service. <[http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_DOCUMENTS/stelprdb1044775.pdf](http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/stelprdb1044775.pdf)>.
98. van Cleemput, O. and P. Boeckx. 2002. Measurement of greenhouse gas fluxes from soil, in: Lal, R. (Ed.), *Encyclopedia of Soil Science* vol 63. Marcel Dekker, New York, USA, pp. 1-4.
99. van Cleemput, O. and P. Boeckx. 2005. Alteration of nitrogen cycling by agriculture activities, and its environmental and health consequences. *Gayana Bot.* 62(2): 98-109.
100. van de Graaf, A.A., P. de Bruijn, L.A. Robertson, M.S.M. Jetten, and J.G. Kuenen. 1997. Metabolic pathway of anaerobic ammonium oxidation on the basis of  $^{15}\text{N}$  studies in a fluidized bed reactor. *Microbiology* 143(7): 2415–2421.
101. van den Heuvel, R.N., S.E. Bakker, M.S.M. Jetten and M.M. Hefting. 2011. Decreased  $\text{N}_2\text{O}$  reduction by low soil pH causes high  $\text{N}_2\text{O}$  emissions in a riparian ecosystem. *Geobiology* 9: 294–300.
102. Vellidis, G., R. Lowrance, P. Gay and R.K. Hubbard. 2003. Nutrient transport in a restored riparian wetland. *Journal of Environmental Quality* 32(2): 711–726.
103. Vilain, G., J. Garnier, G. Tallec and P. Cellier. 2010. Effect of slope position and land use on nitrous oxide ( $\text{N}_2\text{O}$ ) emissions (Seine Basin, France). *Agricultural and Forest Meteorology* 150(9): 1192–1202.
104. Vitousek, P.M., J. Aber, R.W. Howarth, G. Likens, P.A. Matson, D.W. Schindler, W.H. Schlesinger and G.D. Tilman. 1997. Human alteration of the global N cycle: causes and consequences. *Issues Ecol.* 1: 1-6.
105. Walker, J.T., C.D. Geron, J.M. Vose and W.T. Swank. 2002. Nitrogen trace gas emissions from a riparian ecosystem in southern Appalachia. *Chemosphere* 49(10): 1389–98.

106. Wang, S., G. Zhu, Y. Peng, M.S.M. Jetten and C. Yin. 2012. Anammox bacterial abundance, activity, and contribution in riparian sediments of the Pearl River Estuary. *Environmental Science and Technology* 46(16): 8834–8842.
107. Weathers, K., G. Lovett, G. Likens and N. Caraco. 2000. Cloudwater input of nitrogen to forest ecosystems in southern Chile: forms, fluxes, and sources. *Ecosystems* 3: 590-595.
108. Weitz, A.M., E. Linder, S. Frolking, P.M. Crill and M. Keller. 2001. N<sub>2</sub>O emissions from humid tropical agricultural soils: effects of soil moisture, texture and nitrogen availability. *Soil Biology and Biochemistry* 33(7-8): 1077–1093.
109. Weller, D.E., D.L. Correll and T.E. Jordan. 1994. Denitrification in riparian forests receiving agricultural discharges. *Global Wetlands: Old World and New* 117–131.
110. WHO (World Health Organization). 2011. Guidelines for drinking water quality. 4<sup>th</sup> edition. Switzerland. WHO Press.
111. Woodward, K. Benjamin, C.S. Fellows, C.L. Conway and H.M. Hunter. 2009. Nitrate removal, denitrification and nitrous oxide production in the riparian zone of an ephemeral stream. *Soil Biology and Biochemistry* 41(4): 671–680.
112. WRB. 2006. World reference base for soil resources, 2nd ed. World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome, Italy.
113. Zaman M, M.L. Nguyen, F. Matheson, J.D. Blennerhassett and B.F. Quin. 2007. Can soil amendments (zeolite or lime) shift the balance between nitrous oxide and dinitrogen emissions from pasture and wetland soils receiving urine or urea-N?. *Soil Research* 45: 543–553.
114. Zedler, J.B. 2003. Wetlands at your service: reducing impacts of agriculture at the watershed scale. *Frontiers in Ecology and the Environment* 1: 65–72.
115. Zhao, P., B. Xia, Y. Hu and Y. Yang. 2013. A spatial multi-criteria planning scheme for evaluating riparian buffer restoration priorities. *Ecological Engineering* 54: 155–164.