

# Informe final publicable de proyecto

## Puentes Verdes de leguminosas invernales en rotaciones agrícolas: Efectos en el balance de N y P del sistema

Código de proyecto ANII: FMV\_1\_2017\_1\_135487

21/05/2021

**PERDOMO, Carlos** (Responsable Técnico - Científico)

**ESPINOZA TRONCOSO, Soledad Mercedes** (Investigador)

**MORI, Cristina** (Investigador)

---

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE AGRONOMÍA (Institución Proponente) \\ FADISOL S.A.

## Resumen del proyecto

Los sistemas agrícolas actuales de Uruguay han evolucionado hacia la agricultura continua bajo siembra directa, predominando los cultivos estivales, donde se han detectado balances negativos de N y afectación de la calidad de los cursos de agua superficiales debido a la aplicación de P en superficie. Para mitigar estos efectos, este trabajo se enfocó en evaluar la residualidad de N y P luego de leguminosas invernales (lupino, trébol alejandrino y encarnado) usadas como cultivos de cobertura. Como control se utilizó barbecho, y como control relativo avena, que es el antecesor más común, así como mezcla de avena y lupino. La masa de N fijado por las leguminosas osciló entre 17 a 72 kgNha<sup>-1</sup>, y se relacionó con el rendimiento de MS de estos cultivos. La residualidad de N no varió significativamente, ni cuando fue evaluada a través de la tasa de mineralización de N, o por la absorción de N y eficiencia de uso del maíz siguiente. Este resultado no excluye que parte del N fijado pueda haber quedado inmovilizado en el suelo. Se observó claramente residualidad de P luego de lupino tanto en ensayos de campo como de invernáculo. En invernáculo PBray1 en el suelo sólo aumentó luego de este antecesor. En campo, sólo luego de lupino no hubo respuesta a P. Esta residualidad se debió a la acidificación de la rizósfera por las raíces, que fue detectada en los ensayos de invernáculo. Estos resultados sugieren que la inclusión de lupino en los cultivos de cobertura sería beneficioso, ya que parte del N fijado quedaría en el sistema. Además, la reducción de la fertilización fosfatada debido a la labilización de P del suelo, podría reducir el impacto ambiental que actualmente tiene la agricultura bajo siembra directa en la calidad del agua superficial.

**Ciencias Agrícolas / Agricultura, Silvicultura y Pesca / Ciencias del Suelo / Fertilidad de Suelos, Técnicas isotópicas**

**Palabras clave: Puentes Verdes, leguminosas, servicios ecosistémicos / / /**

## Introducción

A nivel país, se están ejecutando políticas de estado en materia de conservación de recursos naturales y en particular del suelo, en los cuales se establecen lineamientos sobre el uso y manejo de los suelos de un establecimiento (reglamentación de la Ley Nº 15.239). Al respecto, en Uruguay existe información y experiencia en el uso herramientas agronómicas capaces de cumplir con este objetivo, como por ejemplo la rotación de cultivos y pastura, implementación de sistemas agrícolas diseñados para tener alta cobertura en la mayor parte del año y la inclusión de cultivos con alta producción de materia seca que mejoren el ingreso de carbono al sistema (García Préchac et al. 2004; Ernst, 2006; Morón, 2006; Siri y Ernst, 2012).

La reducción de la erosión asociado al advenimiento de la SD, sin embargo, ha posibilitado que la agricultura se haya vuelto más intensiva, desapareciendo de muchas áreas la rotación con pasturas, pero ha eliminado el ingreso de N por fijación biológica. Sin embargo, la tasa de erosión no es lo suficientemente baja como para que sea sustentable la agricultura continua aún bajo SD. Por tanto, se ha vuelto imperioso implantar cultivos cobertura (CC) entre cultivos comerciales, porque de otra manera los Planes de Uso y Manejo de Suelos exigidos por el MGAP no serían aceptados, ya que se superarían las tasas anuales de erosión. Pero estos CC están compuestos mayormente por gramíneas, por lo cual no habría entrada de N al sistema suelo-planta vía FBN que estaba presente en los sistemas previos de rotación-pastura. Surge entonces la necesidad de investigar en especies o mezclas de especies para ser usadas como CC ó PV que cumplan no sólo con el propósito de proteger al suelo (para prevenir/reducir la erosión), sino también de mejorar el balance de N del sistema, incorporando N fijado. El aporte de N vía fijación biológica de N (FBN) es trascendental para equilibrar el balance de N en los sistemas de producción actual, ya que la intensificación agrícola ha aumentado la tasa de extracción de N del suelo, dejando el sistema agrícola más dependiente del uso de fertilizantes nitrogenados, e incrementando con ello el riesgo de contaminación ambiental (Crews y Peoples, 2004).

Las especies de leguminosas forrajeras tradicionales, como trébol blanco y rojo (*Trifolium pratense* L.) tenían altos requerimientos de PBray 1, con niveles críticos que oscilaban entre 14 a 18 mg kg<sup>-1</sup>. Estas especies tenían además problemas de competencia en mezclas con las gramíneas cuando los niveles de P disminuían (Hart and Jessop 1983; Pederson et al. 2002).

Las leguminosas invernales anuales que se quieren evaluar para introducir como PV, en cambio, como algunas especies del género *Lupinus* (L. *Albus* y L. *angustifolius*) tienen menores requerimientos de P (Pearse et al., 2006; Bolland y Brennan, 2008). Además, estas especies tienen la capacidad de solubilizar P de formas no disponibles del suelo, incrementando el suministro de este nutriente para las plantas (Karasawa y Takahashi, 2015).

Efecto de puentes verdes de leguminosa sobre cultivo siguiente

La mejora en el rendimiento del cultivo posterior al PV es principalmente explicada por un aumento en la disponibilidad de N, aunque esta respuesta también puede deberse al efecto de otro factor o a una combinación de varios. En una extensa revisión de trabajos de investigación realizados en Australia en los últimos 30 años, Seymour et al. (2012) reportaron resultados de la respuesta en rendimiento de trigo (*Triticum aestivum* L.) en rotación con leguminosas (*Lupinus angustifolius* L. y *Pisum sativum* L.), no leguminosas (*Brassica napus* L. y *Avena sativa* L.), trigo en rotación con barbecho y trigo continuo. Estos autores observaron una tendencia de mayor rendimiento de trigo sembrado posterior al lupino azul (L. azul), especialmente en ambientes de suelos más pobres.

En Uruguay, Torres y Del Pino (1995) citado por Ernst (2006) trabajaron con una rotación de trigo consociado con trébol rojo (*Trifolium pratense* L.) y maíz (*Zea mays* L.) bajo laboreo convencional. Los aportes de N residual de la leguminosa en el maíz siguiente estimados con el método EF, fueron de aproximadamente de 100 kg N ha<sup>-1</sup>. Ernst (2006), utilizó trébol alejandrino (*Trifolium alexandrinum* L.) puro sembrado como cultivo de cobertura previo a maíz en un sistema bajo siembra directa. Empleando también la metodología EF, el aporte estimado de este PV fue de sólo 24 kg ha<sup>-1</sup>, lo cual determinó que el maíz sufriera una deficiencia del nutriente. Estos resultados señalan que los aportes de N derivados de PV pueden ser muy variables.

Un cultivo que parece promisorio para Uruguay es el lupino, ya que según estudios preliminares de nuestro grupo (zafra 2016), el potencial de fijación de L. azul en la zona agrícola del litoral oeste del país fue de 200 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (datos no publicados), similar al total que fijaban las pasturas en dos o tres años. Además, se destacan su bajo a moderado requerimiento hídrico (Wolko et al., 2011), su capacidad de solubilizar P del suelo (Reeves, 1994; Bolland, 1997, Shane y Lambers, 2005), y su tolerancia a suelos de pH moderadamente ácidos (White, 1990; Wolko et al., 2011). Todas estas características justifican la necesidad de evaluar con más detalle el impacto de la inclusión de ésta y otras especies del género *Lupinus* como PV en una rotación agrícola.

El L. blanco es reconocido por su adaptación a crecer bajo un rango amplio de valores de pH de suelo, desde suelos moderadamente ácidos a moderadamente calcáreos, mientras que el L. azul desde moderadamente ácidos a neutros. Este último, en cambio, es más tolerante a excesos de agua en el suelo (condiciones de anegamiento) y tiene menor requerimiento hídrico que el L. blanco (Wolko et al., 2011). Por otro lado, L. blanco se destaca por su capacidad de desarrollar raíces proteoides ("cluster roots"). El L. azul, sin embargo, pese a no desarrollar este tipo de raíces tiene la capacidad de exudar ácidos orgánicos, como el citrato. (Lambers et al., 2013). Estas especies a su vez presentan diferente tolerancia y susceptibilidad a enfermedades y diferente tolerancia a ingredientes activos en la formulación de herbicidas (Wolko et al. 2011).

Métodos de estimación del N derivado de residuos

La contribución del N derivado de los residuos (N<sub>ddr</sub>) de los PV se puede estimar como el aporte aparente de N (diferencia del N recuperado por cultivo posterior con respecto a un testigo) o como el equivalente Fertilizante de N, que es la diferencia de dosis de N que hay que agregar a un testigo para alcanzar el rendimiento logrado por un cultivo posterior a un PV (Ernst, 2006). También hay métodos isotópicos que permiten realizar esta estimación si se marcan los puentes verdes con <sup>15</sup>N y luego se evalúa directamente la fracción del N que proviene del PV.

En el caso de la técnica isotópica es posible estimar no sólo la eficiencia de recuperación de N extraído por el cultivo sino también conocer la residualidad de <sup>15</sup>N en el suelo. La suma de ambos da una idea de la eficiencia global de recuperación de N del sistema, permitiendo estimar un balance más completo de N al poder deducir las potenciales pérdidas de N.

Resultados esperados

Este proyecto pretende resolver problemáticas específicas relacionadas con los sistemas agrícolas actuales que tienen balances negativos de N y que requieren de aplicaciones superficiales de P, incrementado la necesidad del uso de fertilizantes de origen químico. El uso de CC basados en leguminosas invernales, podría no solo equilibrar el balance de N de las rotaciones sino además solubilizar formas no lábiles de P presentes en el suelo haciéndolas más disponibles para las plantas, reduciendo por tanto la reducción de N y P vía fertilizantes.

## Metodología/diseño del estudio

La investigación fue conducida durante 3 años (abril 2017-abril 2020), a través de una serie de experimentos de invernáculo y de campo. Los de invernáculo, fueron realizados en instalaciones de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República, Montevideo, mientras que los de campo en chacras de productores, ubicados en la región agrícola de la zona sur-oeste de Uruguay (Departamentos de San José y Colonia).

### 1. Experimentos de invernáculo

En invernadero y bajo condiciones temperatura ambiente y de luz natural se establecieron 2 ensayos maceteros independientes.

1.1 Ensayo 1: Estimación del valor B de 5 especies de leguminosas anuales invernales.

A inicios del 2do trimestre 2018 se estableció este experimento macetero bajo invernadero. El objetivo fue estimar el valor B (valor de abundancia de  $^{15}\text{N}$  de la leguminosa en estudio creciendo en un medio sin N) de dos especies del género *Lupinus* (*L. angustifolius* y *L. albus*) y dos del género *Trifolium* (*T. incarnatum* y *T. alexandrinum*), usando la misma variedad e inoculante que fueron utilizados luego en otros experimentos (tanto de invernadero como de campo). Conocer el valor B es necesario para poder estimar FBN por la metodología isotópica de abundancia natural.

El medio de crecimiento utilizado fue una mezcla de arena: vermiculita (1:1 v/v). Las plantas fueron regadas semanalmente con una solución nutritiva libre de Nitrógeno (solución nutritiva JENSEN, pH 6,25). El momento de corte de las plantas coincidió con el momento del ciclo del cultivo de máxima FBN.

Ensayo 2: Cuantificar la capacidad de incrementar el P disponible del suelo de dos especies del género *Lupinus* en 4 suelos contrastantes de Uruguay

Este experimento macetero fue dividido en dos etapas:

Etapa 1: El objetivo fue evaluar el efecto del tipo de suelo en el rendimiento y la tasa de FBN de dos especies de lupino, así como en el cambio de P disponible del suelo (P Bray 1) asociado al crecimiento de estas dos especies de lupino en comparación a un cultivo de avena usado como testigo.

Etapa 2: El objetivo fue evaluar la respuesta en MS y P absorbido de un cultivo siguiente de moha (*Setaria italica*) sembrado sobre los suelos cultivados en la Etapa 1.

Para la Etapa 1, se obtuvieron previamente muestras de 4 suelos agrícolas de distintas zonas del país con valores contrastantes de pH en agua (entre 4,8 y 5,6), textura, materia orgánica y PBray1. Las macetas fueron sembradas con dos especies del género lupino (*L. angustifolius* y *L. albus*), utilizando avena (*A. strigosa*) como testigo. El diseño experimental fue de parcelas al azar con 4 repeticiones, y los tratamientos surgieron de un arreglo factorial de 4suelos\*3 especies.

Las plantas fueron regadas con un sistema automático por goteo. A los 48, 76, 87, y 103 días de crecimiento, se hicieron muestreos de suelo para evaluar el cambio de PBray1.

En la Etapa 2, a los 103 días de iniciada la Etapa 1, se sembró moha. Las macetas no sólo contenían el suelo sino también los residuos radiculares de la etapa previa, ya que la parte aérea ya había sido cosechada y retirada. Para evitar posibles deficiencias de N, el cultivo de moha fue fertilizado con una dosis de 90 kg N/ha.

Procesamiento de las muestras y determinaciones analíticas de los exp. De invernadero:

? Determinaciones en suelo: textura, pH (H<sub>2</sub>O), PBray N°1, Nmineral

? Determinaciones en las muestras foliares: MS, %N, delta<sup>15</sup>N foliar, % P.

## 2. Experimentos de campo

Los experimentos de campo fueron ejecutados en tres zafras 2017-2018, 2018-2019 y 2019-2020 en las localidades de Ombúes de Lavalle-Colonia (Zafra 1: 33°59'05.4S 57°43'42.7"W y Zafra 3: 33°59'00.7S 57°50'59.7"W) y en Libertad-San José (Zafra 2: 34°38'25.3 S 56°36'12.1"W).

En las Zafras 2 y 3, se instaló una estación meteorológica de la empresa METER-GROUP (registro horario: lluvia, temperatura, humedad y presión del aire y humedad y temperatura del suelo).

Las actividades de estos ensayos de campo se ejecutaron en dos etapas.

### 2.1 Etapa 1: Establecimiento de los PV invernales

El objetivo fue estimar en condiciones más cercanas a la realidad productiva la tasa de FBN de los PV leguminosas y evaluar el efecto de la fertilización fosfatada sobre el rendimiento de MS, N absorbido y N fijado de los PV. Esta estimación se realizó con la información generada en el ensayo 1 de invernadero. Las leguminosas evaluadas fueron: *Lupinus angustifolius* L., *Trifolium alexandrinum* L., *Trifolium incarnatum* L., una especie no leguminosa como referencia (*Avena strigosa* L.) y un cultivo mezcla de *L. angustifolius* y avena en proporción 60:40.

Cada bloque fue subdividido en dos partes, por lo tanto el área de cada parcela fue de aprox. 238m<sup>2</sup> (6.6 de ancho \* 38 de largo). En tres de estos sub-bloques se estableció el Ensayo 1 donde se evaluó la residualidad de N y, en los otros 3 el Ensayo 2, donde se evaluó la residualidad de P. Esta partición del bloque se hizo en la Etapa 1, ya que en el área destinada para el Ensayo 1 se fertilizó con una dosis de P no limitante, mientras que en el Ensayo 2 no se fertilizó con este nutriente. El diseño experimental fue de bloques divididos con 3 repeticiones, donde el factor 1 fue presencia o ausencia de CC, cruzado espacialmente con el factor 2 fertilización fosfatada (0 y 60 unidades de P).

Luego del muestreo de suelo y en simultáneo con la siembra se realizó la fertilización base de toda el área experimental con dosis no limitante de K y S. En el área de residualidad de N (Fig. 1), se fertilizó con P utilizando un fertilizante fosfatado soluble de fórmula 0-45/47-0 a razón de 130 kgha<sup>-1</sup>. Luego de esa aplicación inicial, no se realizaron otras aplicaciones de nutrientes.

La siembra de los PV se realizó el 6/6/2017, el 26/04/2018 y el 9/07/2019 en las zafras 1, 2 y 3, respectivamente,

sembrando a chorrillo con 13 líneas de siembra y una distancia entre hileras de 17 cm. La densidad utilizada fue de 150-200, 15 y 80 kg/ha para lupino, para las dos especies de trébol (*T. alexandrinum* y *T. incarnatum*) y avena, respectivamente. La densidad de lupino y avena en el cultivo mezcla en zafrá 1 fue de 95 y 65 kg/ha, en la 2 fue de 160 y 65 y en la 3 fue de 180 y 60, respectivamente. El aumento en la cantidad de semilla de lupino en la mezcla de las zafras 2 y 3 se debió a que con las dosis de siembra utilizadas en la zafrá 1 se había logrado una baja proporción de plantas de lupino en la mezcla (menos del 30%).

El período de crecimiento en las zafras 1, 2 y 3 fue de 124, 164 y 119 días, respectivamente.

La terminación de los PV, fue a inicio de llenado de grano de lupino. Ese día se determinó en el campo el peso fresco total de las muestras de plantas de cada tratamiento, cosechando un área de 4,6 m<sup>2</sup> (1.15 \* 4 m) con cortadora mecánica.

**2.2 Etapa 2: Evaluación de la residualidad de N y de P de los PV invernal sobre cultivo siguiente de maíz**

La Etapa 2 comenzó con la siembra de maíz, en las mismas unidades experimentales donde habían sido producidos los PV invernales, a los 48, 60 y 58 días después de la terminación de esas coberturas con aplicación de glifosato, en las zafras 1, 2 y 3, respectivamente. En esta etapa y en cada ensayo independiente (Ensayo 1 y 2), se dividieron las parcelas principales, para poder incluir otro factor de estudio que se describe más adelante. El arreglo de los tratamientos fue de parcelas divididas en bloques completos al azar, con tres repeticiones. Los tratamientos principales (parcela grande) fueron los rastrojos de todos los antecesores establecidos en la Etapa 1. El maíz fue sembrado en siembra directa a una profundidad de 3.5 cm, con una distancia entre filas de 0.5 m y entre plantas de 0.2 m, para lograr una población de 60000-65000 plantas/ha.

**Ensayo 1**

**Objetivo:** Evaluar la residualidad y la eficiencia de uso del N derivado de los cultivos antecesores.

En el área experimental destinada a este ensayo se aplicaron dosis no limitantes de P y K. En todas las zafras, el diseño experimental fue de bloques completos aleatorizados con un arreglo de tratamientos en parcelas divididas con tres repeticiones.

La respuesta a N fue estudiada en las sub-parcelas o parcelas chicas, sobre cada PV antecesor. La fuente de N fue urea, fraccionada en dos momentos del ciclo de maíz, un tercio a la siembra y el resto en V6. En la zafrá 1 y 3 se aplicaron 4 niveles de N (0, 50, 100 y 150 kg ha<sup>-1</sup>) mientras que en la zafrá 2 sólo 2 dosis (0 y 100 kg ha<sup>-1</sup>).

Durante todo el ciclo de crecimiento del cultivo de maíz se cuantificó la mineralización neta de N (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) del suelo in situ. La estimación fue basada en la metodología propuesta por Raison et al. 1987. Para esto, se insertaron tubos de PVC en el suelo a 15 cm de profundidad en los tratamientos 0N de las parcelas chicas.

La residualidad de N se evaluó tanto con técnicas convencionales como isotópicas. La técnica convencional se basó en evaluar la respuesta diferencial al agregado de N del maíz sembrado luego de los diferentes cultivos antecesores. Mientras que la técnica isotópica, consistió en evaluar la eficiencia de recuperación de <sup>15</sup>N por el cultivo de maíz así como el <sup>15</sup>N remanente en el suelo. El experimento isotópico se estableció dentro del ensayo convencional.

Finalmente, conociendo los datos de recuperación de N por la planta y el N aplicado remanente en el suelo se estimó el balance global de <sup>15</sup>N, deduciendo por diferencia las pérdidas de N del sistema.

**Ensayo 2**

**Objetivo:** Evaluar el efecto de diferentes cultivos antecesores sobre la disponibilidad de P del suelo en el cultivo de maíz.

Previo a la siembra se aplicaron dosis no limitantes de N y K. El diseño experimental y el arreglo de los tratamientos fue igual al del Ensayo 1, pero en este caso se estudió la respuesta a P, asignado a las parcelas chicas en dos niveles: 0 y 60 kg/ha P<sub>205</sub> en forma de supertriple. Este ensayo fue realizado en las zafras 1 y 2.

Inmediatamente previo a la aplicación de los tratamientos, se realizaron muestreos de suelo para evaluar P<sub>Bray1</sub> a dos profundidades (0-7 y 7-15 cm). Posteriormente se realizaron en forma periódica (siembra hasta la madurez fisiológica del cultivo de maíz) 4 muestreos de suelo a las mismas profundidades. Los procedimientos de muestreo de plantas, secado y molienda fueron similares a los descritos en el Ensayo 1 de campo. El área de cosecha también fue igual al de este ensayo.

**Determinaciones analíticas:**

? En suelo: Textura, humedad gravimétrica, N<sub>t</sub> y C<sub>T</sub>, pH (H<sub>2</sub>O), B<sub>T</sub>, N mineral y P Bray N<sup>o</sup>1, at.%<sup>15</sup>N del N<sub>t</sub> en 4 intervalos del perfil del suelo .

? En muestras foliares: %N y delta<sup>15</sup>N de los PV, MS biomasa aérea en distintos estadios del maíz, rendimiento de grano, %P, %N y at.%<sup>15</sup>N de distintos componentes de la planta de maíz (marlo, chala, grano, hojas y tallos)

## **Resultados, análisis y discusión**

Experimentos de invernáculo

Ensayo 1: Estimación del valor B de 5 especies de leguminosas anuales invernales.

El medio de crecimiento (arena vs arena+vermiculita) no afectó significativamente el valor B de las especies de lupino

evaluadas. Resultados similares para medios de crecimiento fueron obtenidos por Unkovich & Pate (2000). Los valores B de las especies y variedades creciendo en el mismo medio de crecimiento (arena+ vermiculita) difirieron significativamente (Tabla 1). Los B de las 2 variedades de *L. albus* fueron más negativos que el resto. Unkovich & Pate, 2000, en cambio, no observaron diferencias significativas entre estas mismas especies de lupino. Pero es posible que estas diferencias de valor B se deban a diferencias de estadio fisiológico al momento de cosecha de estas especies, y no a diferencias de la especie en sí (Unkovich et al. 1994, 2008).

Tabla 1: Valor B de diferentes leguminosas invernales creciendo en sustrato mezcla de arena+vermiculita

Especie ?15N (‰) Test: Tukey

Alfa=0,05

*L. albus* 25 -1.61 a

*L. albus* 18 -1.41 a

*T. alejandrino* -0.99 b

*T. encarnado* -0.61 c

*L. angustifolius* -0.60 c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Los valores B de lupino encontrados por nosotros estuvieron dentro de rangos citados para esta especie sólo en *L. angustifolius*, para *L. albus* nuestro valor fue más negativo. En el caso de los tréboles, los valores B estimados por nosotros estuvieron muy cercanos a los obtenidos por Büchi et al. (2015).

Ensayo 2: Cuantificar la capacidad de dos especies del género *Lupinus* (*L. azul* y *L. blanco*) de incrementar la disponibilidad de P del suelo bajo diferentes niveles de acidez del suelo.

Los suelos utilizados fueron contrastantes en clase textural, contenido de materia orgánica, P Bray1 inicial y pH (Tabla1).

Tabla 1: Caracterización Físico-química de los suelos evaluados

Suelos MO Arena Limo Arcilla pH Textura P Bray N°1 inicial

% mgkg<sup>-1</sup>

Colonia 4,8 16,3 38,8 44,9 5.17 Arcilloso 13,7

Fagro 3,7 19,3 52,3 28,4 6.0 Arcilloso 10,3

Treinta tres 3,6 23,5 44,2 32,3 5.32 Franco arcilloso 15,6

Rivera 1,37 84,7 1,4 13,9 4.50 Arenoso franco 5,8

Etapa1: Objetivo: Evaluar el incremento de P Bray1 debido al cultivo de 2 especies de lupino en 4 suelos.

A cosecha, la diferencia de los valores de P Bray1 entre el promedio de las 2 especies de lupino y avena fue positiva (Tabla 2), indicando una solubilización del P del suelo por parte de lupino. También existió diferencia significativa entre estas dos especies de lupino ( $p$ -valor= 0.0003), pero sólo en el muestreo 1, luego estas diferencias desaparecieron.

Tabla 2: Valores promedio de P Bray1 en 3 momentos de muestreo de suelo (48, 76 y 87 días después de la siembra de lupino)

Días desde la siembra

48 76 87

Especie P Bray1 (mgkg<sup>-1</sup>)

*L. angustifolius* 15 a 11a 10 b

*L. albus* 20 b 11 a 11 b

*A. strigosa* 15 a 8 a 8 a

Medias en la misma columna con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En los suelos con lupino se observó un aumento de la acidez, lo que habría facilitado la solubilización de formas de P no lábil.

Etapa 2: Objetivo: Evaluar la residualidad de P Bray1 luego del cultivo de 2 especies de lupino en 4 suelos a través de un cultivo posterior de moha.

Luego de una estación de crecimiento de 2 especies de lupino y de avena, se evaluó el rendimiento de MS y de P absorbido de moha en 4 suelos. Existieron efectos significativos de suelo (menores rendimientos en suelo de Rivera) y de cultivo previo (mayor sobre lupino que sobre avena) sobre el rendimiento de MS de la moha. Un efecto similar se observó cuando se analizó el P absorbido por la moha (Figura 1).

Figura 1: Rendimiento de MS y de P absorbido por cultivo de moha sembrado luego de 2 especies de lupino y de avena

## Resultados y discusión de los Ensayos de Campo

### Etapa 1:

Objetivo: Cuantificar la tasa y la cantidad de N fijado por varias especies de leguminosas anuales invernales, tanto puros como en mezcla con gramíneas.

En las tres zafras, la proporción de N derivado de FBN de *L. angustifolius* osciló entre 60-79%, y la masa de N fijado estuvo entre 17-72 kgNha<sup>-1</sup>; esta variación estuvo asociada a la variación de rendimiento de MSha-1 alcanzada por este PV, que fue de 1000 kgha<sup>-1</sup> en las zafras 1 y 3 y de 3750 kgha<sup>-1</sup> en la zafra 2. Los menores rendimientos fueron obtenidos con siembras tardías (junio y julio), mientras que el mayor con lupino sembrado en la fecha óptima (25/04/2018). En el caso de alejandrino (sembrado sólo en las zafras 2 y 3), la proporción de N derivado de FBN osciló entre 76-82%, y la masa de N fijado entre 44-58 kgNha<sup>-1</sup>, asociado a rendimientos promedio de 2540-2183 kgha<sup>-1</sup> en las zafras 2 y 3, respectivamente. Para este PV los rendimientos fueron muy similares entre zafras, pese a la menor ventana de crecimiento (40 días menos) en la zafra 3. Finalmente, otro PV leguminosa evaluado fue el trébol encarnado en la zafra 3, pero el rendimiento de MS fue muy bajo, menor a los 300 kgha<sup>-1</sup>.

### Etapa 2- Ensayo 1

Objetivo: Evaluar la residualidad y la eficiencia de uso del N derivado de los cultivos antecesores.

#### Mineralización de N in situ

La tasa de mineralización de N del suelo (TMNS) durante el cultivo de maíz fue significativamente afectada por el cultivo antecesor en las zafras 1 y 2, pero el orden no fue el esperado, ya que en la zafra 1 la TMNS de barbecho y lupino fueron similares mientras que en mezcla y avena fueron inferiores. En la zafra 2, la mayor tasa se observó en barbecho, y no luego de lupino como sería esperable. En cambio, en la zafra 3 los resultados siguieron la tendencia esperada, siendo la TMNS mayor en aquellos tratamientos con antecesores de leguminosas (alejandrino, encarnado y lupino), siguiendo luego el barbecho y la mezcla con valores muy similares, y por último la avena. Por tanto, en la zafra 1 la residualidad de la leguminosa no produjo ningún efecto neto, en la zafra 2 indujo inmovilización neta y sólo en la 3 una débil mineralización neta. Pero de acuerdo a lo esperado, los antecesores con gramínea siempre promovieron inmovilización neta (Tabla 1).

Tabla 1: Tasas de mineralización del N del suelo (TMNS) según cultivo antecesor en cada zafra evaluada

Si en las 3 zafras se excluye el barbecho, y se analiza sólo la diferencia de TMNS entre leguminosas y gramíneas por contrastes ortogonales, se observa que este parámetro siempre fue mayor en los antecesores con leguminosas. Estos resultados estarían indicando que cuando el antecesor fue leguminosa el efecto de aporte de N fue neutro o menos negativo, mientras que las gramíneas decrecieron la capacidad del suelo de aportar N al maíz.

Cabe destacar que, tanto los valores de mineralización o de inmovilización neta observados en las 3 zafras fueron bajos o muy bajos, no permitiendo explicar de dónde absorbió el N el maíz durante su ciclo de crecimiento, ya que en estas parcelas no se agregó fertilizante nitrogenado. Posiblemente la metodología utilizada fue afectada por pérdidas de N dentro de los tubos, posiblemente por desnitrificación, ya que contrariamente a lo que postulaban Raison et al., (1987), quienes desarrollaron esta técnica, estas serían mínimas. Cuando se analizan los rendimientos de maíz y los valores de absorción de N luego de estos cultivos antecesores, resulta evidente que los suelos mineralizaron N a tasas mucho mayores que las estimadas con esta metodología. De todas maneras, aun analizando los resultados con estos indicadores tampoco existieron diferencias significativas ni de rendimiento ni de absorción de N provocadas por los cultivos antecesores. Cabe aclarar sin embargo, que si se detectaron algunas diferencias en absorción de N por el maíz al principio de la estación de crecimiento, pero más adelante en el ciclo estas desaparecieron. Además, la respuesta en rendimiento y N absorbido del cultivo de maíz al agregado de N fue similar a través de los distintos antecesores.

Los resultados de los ensayos isotópicos de estimación de eficiencia de uso de N (EUN) con <sup>15</sup>N, en todas las zafras, revelaron que la EUN fue menor cuando el antecesor fue avena, apoyando la idea de que las gramíneas siempre provocaron de acuerdo a lo esperado inmovilización neta de N, lo cual es consistente con los otros resultados. Además, los mayores valores de EUN siempre se obtuvieron cuando el antecesor fue barbecho, indicando que aún las leguminosas provocaron en alguna zafra cierta inmovilización. Aunque esto no ocurrió en la zafra 3, la magnitud del efecto neto en esta zafra fue casi 0 en todos los tratamientos, por lo cual tampoco existe en realidad discrepancia.

Por tanto, estos resultados en conjunto parecen indicar, que al menos para este conjunto de ensayos, el aporte de N residual de los cultivos de leguminosas usados como PV, no impactaron ni en la tasa de mineralización de los suelos ni el rendimiento de los cultivos.

#### Ensayo 2

Objetivo: Evaluar el efecto de diferentes cultivos antecesores sobre la disponibilidad de P del suelo en el cultivo de maíz. Los resultados de análisis de P disponible en el suelo para las plantas por el método de PBray1 a través del ciclo de crecimiento de los antecesores invernales así como durante el cultivo de maíz observados en el campo indican que el lupino no aumentó significativamente la disponibilidad de PBray1 del suelo.

Sin embargo, cuando el cultivo antecesor fue lupino no existió respuesta significativa de rendimiento de MS de maíz al agregado de P como fertilizante, pero sí existió respuesta cuando los antecesores fueron avena o barbecho (Figura 1). Además, el rendimiento obtenido en el testigo de maíz sin fertilización sobre lupino fue alto, y no significativamente diferente a los máximos rendimientos obtenidos con fertilización P luego de avena o barbecho. Por tanto, es evidente que al igual que lo ocurrido en invernáculo, el cultivo previo de lupino incrementó la disponibilidad de P para el cultivo siguiente, lo que no ocurrió con los otros dos antecesores.

Figura 1: Rendimiento de MS y fósforo absorbido en plantas de maíz en floración. Ensayo 2017-2018 (Ombués de Lavalle-Colonia).

Esta información confirma que el uso de lupino como PV no sólo aportaría N vía FBN sino que también haría más disponible el P que ya estaba previamente presente en el propio suelo.

### Conclusiones y recomendaciones

Los ensayos de invernadero posibilitaron determinar valores B locales; en 3 zafra la masa de N fijado en campo osciló entre 17 a 72 kgNha<sup>-1</sup> para lupino y 44 a 58 kgNha<sup>-1</sup> para trébol alejandrino, donde las mayores cantidades se asociaron a rendimientos superiores de MS. Sin embargo, las tasas de mineralización de N del suelo (TMNS) durante el maíz posterior a las leguminosas (lupino, trébol alejandrino y trébol encarnado) fueron menores o iguales a barbecho, aunque sí mayores que en avena, donde siempre existió inmovilización neta. La mezcla de lupino y avena tuvo un efecto similar a avena pura, debido a que la gramínea tendió a ser la especie dominante en la mezcla. La residualidad de N evaluada a través del N absorbido y del rendimiento de maíz, así como por medio de la respuesta a N o la eficiencia de uso de N evaluada con 15N, también evidenciaron que los antecesores no cambiaron el N disponible para el cultivo siguiente. Es posible, sin embargo, que parte del N fijado por las leguminosas haya quedado inmovilizado en el suelo, y por lo tanto sirva para equilibrar el balance de N de los suelos agrícolas. Sin embargo, la evaluación de este efecto con 15N aún no se ha podido realizar.

Pese a esta ausencia aparente de residualidad de N, se detectó tanto en invernáculo como en campo una clara residualidad de P luego de lupino, explicada por la capacidad de sus raíces de solubilizar formas fijadas de P en el suelo, acidificando la zona radicular.

Por tanto, la inclusión de lupino en los cultivos de cobertura sería recomendable, ya que parte del N fijado quedaría inmovilizado en el suelo y disponible para cultivos futuros, y además la solubilización de P asociada reduciría la necesidad de fertilización fosfatada, que incrementa el riesgo de eutrofización de los cuerpos hídricos superficiales.

En trabajos futuros se debería estudiar los factores que limitan el rendimiento de lupino, optimizando la fecha de siembra, emparejando las especies con los tipos de suelos que maximizan su potencial de rendimiento, y sincronizando la época de terminación de lupino y otros cultivos de cobertura que permitan una mejor sincronización entre la liberación de N del rastrojo y la absorción de N por el cultivo siguiente. Así mismo, se debería estudiar en forma más profunda la magnitud del N fijado que queda inmovilizado en el suelo, ya que este proceso conserva el N fijado en el suelo para futuras generaciones.



## Referencias bibliográficas

- Boddey, R.; Peoples, M.; Palmer, B.; P. Dart. 2000. Use of the  $^{15}\text{N}$  natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutr Cycl Agroecosyst* 57: 235–270
- Boddey, R.; De Oliveira, O.; Alves, B.; S. Urquiaga. 1995. Field application of the  $^{15}\text{N}$  isotope dilution technique for the reliable quantification of plant-associated biological nitrogen fixation. *Fertilizer Res* 42: 77-87
- Bolland, M.; R. Brennan. 2008. Comparing the phosphorus requirements of wheat, lupin, and canola. *Australian Journal of Agricultural Research*, , 59, 983-998
- Bolland, M. 1997. Comparative phosphorus requirement of four lupin species. *Journal of Plant Nutrition*, 20:10, 1239-1253, DOI: 10.1080/01904169709365332
- Constantin, J.; Mary, B.; Laurent, F.; Aubrion, G.; Fontaine, A.; Kerveillant, P.; N. Beaudoin. 2010. Effects of catch crops, no till and reduced nitrogen fertilization on nitrogen leaching and balance in three long-term experiments, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Volume 135 (4): 268-278.
- Crews, T.; M. Peoples. 2005. Can the synchrony of nitrogen supply and crop demand be improved in legume and fertilizer-based agroecosystems? A review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 72:101–120
- Crews, T.; M. Peoples. 2004. Legume versus fertilizer sources of nitrogen: ecological tradeoffs and human needs. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 102 (3): 279–297.
- Danso, S.; Palmason, F.; G. Hardarson. 1993. Is nitrogen transferred between field crops? Examining the question through a sweet-blue lupin (*Lupinus angustifolius* L.)-oats (*Avena sativa*) intercrop. *Soil Biol Biochem* 25 (8): 1135 - 1137.
- Ernst, O.; Siri-Prieto, G.; Ackermann, P.; N. Gasparri. 2012. Balance aparente de N, P y K en función de la intensidad de uso del suelo por la agricultura. *Cangué N* 32. Nota técnica.
- Ernst, O. 2006. Efecto de una leguminosa invernal como cultivo de cobertura sobre rendimiento en grano y respuesta a nitrógeno de maíz sembrado sin laboreo. *Agrociencia*, Uruguay, V.: 10: 25-35.
- Fontaine, S.; Henault, C.; Aamor, A.; Bdioui, N.; Bloor, J.; Maire, V.; Mary, B.; Revalliot, S.; P. Maron. 2011: Fungi mediate long term sequestration of carbon and nitrogen in soil through their priming effect. *Soil Biol Biochem* 43: 86–96.
- García- Préchac, F.; Ernst, O.; Arbeletche, P.; Pérez-Bidegain, M.; Pritsch, C.; Ferenczi, A.; M. Rivas. 2010. Intensificación agrícola: Oportunidades y amenazas para un país productivo y natural. CSIC, Colección Artículo 2, Montevideo. 126 pp.
- García-Préchac F.; O. Ernst; Siri-Prieto, G.; J. Terra. 2004. Integrating no-till into crop–pasture rotations in Uruguay. *Soil and Tillage Research* 77:1-13.
- Hart, A.; D. Jessop (1983) Phosphorus fractions in trifoliolate leaves of white clover and lotus at various levels of phosphorus supply. *NZ J Agric Res* 26:357–361
- Hood, R.; Merckx, R.; Steen Jensen, E.; Powlson, D.; Matijevic, M.; G. Hardarson. 2000. Estimating crop N uptake from organic residues using a new approach to the  $^{15}\text{N}$  isotope dilution technique. *Plant and Soil* 223: 33–44.
- Khanna, P.; R. Raison. 2013. In situ core methods for estimating soil mineral-N fluxes: Re-evaluation based on 25 years of application and experience. *Soil Biol. Biochem* 64:203-210
- Karasawa, T.; S. Takahashi. 2015. Introduction of various cover crop species to improve soil biological P parameters and P uptake of the following crops. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*103:15–28
- Kirkegaard, J.; Christen, O.; Krupinsky, J.; D. Layzell. 2008. Break crop benefits in temperate wheat production. *Field Crops Research* 107, Issue 3:185-195

Lambers H, Clements JC, Nelson MN. How a phosphorus-acquisition strategy based on carboxylate exudation powers the success and agronomic potential of lupines (*Lupinus*, Fabaceae). *Am J Bot*. 2013 Feb;100(2):263-88. doi: 10.3732/ajb.1200474. Epub 2013 Jan 24. PMID: 23347972.

Pearse, S.; Veneklaas, E.; Cawthray, G.; Bolland, M.; H. Lambers. 2006. Carboxylate release of wheat, canola and 11 grain legume species as affected by phosphorus status. *Plant and Soil* 288:127–139.

Pederson, G.; G. Brink; T. Fairbrother. 2002. Nutrient uptake in plant species of sixteen forages fertilized with poultry litter: nitrogen, phosphorus, potassium, copper and zinc. *Agron. J.* 94:895-904.

Raison, R.; M. Connell and P. K. Khanna. 1987. Methodology for studying fluxes of soil mineral-N in situ. *Soil Biol. Biochem.* 19 (5): 521-530.

Reeves, D. 1994. Cover crops and rotations. *Advances in Soil Science: Crops Residue Management*, 125-172.

Seymour, M.; Kirkegaard, J.; Peoples, M.; White, P.; R. French. 2012. Break-crop benefits to wheat in Western Australia - insights from over three decades of research. *Crop & Pasture Science*, 63:1 - 16.

Shane, M.; H. Lambers. 2005. Cluster roots: A curiosity in context. *Plant and Soil* 274:101–125

Siri-Prieto, G.; O. Ernst. 2012. Effect of legume or grass cover crops and nitrogen application rate on soil properties and corn productivity. *Agrociencia (Uruguay)*, v.: 16 (3): 294 - 301

Unkovich, M.; Baldock, J.; M. Peoples, 2010. Prospects and problems of simple linear models for estimating symbiotic N<sub>2</sub> fixation by crop and pasture legumes. *Plant and Soil* 329: 75-89.

Wolko, B.; Clements, J.; Naganowska, B.; Nelson, M.; C. Yang 2011. Chapter 9. Lupinuns. In: Kole (ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Legume Crops and Forages*, 153-206.

## **Licenciamiento**

Reconocimiento 4.0 Internacional. (CC BY)