

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**SOLUBILIZACION DE FOSFORO
POR LUPINO (*L. albus* y *L. angustifolius*)
EN 4 SUELOS CONTRASTANTES EN CONDICIONES
DE INVERNACULO**

por

Andrea BENTOS GUIMARAES

**Trabajo final de grado
presentado como uno de los
requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo**

MONTEVIDEO

URUGUAY

2023

Trabajo final de grado aprobado por:

Director/a:

Ing. Agr. Cristina Morí, MSc.

Tribunal:

Ing. Agr. Cristina Morí, MSc.

Ing. Agr. Amabelia del Pino, PhD.

Ing. Agr. Juan Pablo Viera

Fecha:

09 de noviembre de 2023

Estudiante:

Andrea Bentos Guimaraes

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora de tesis Cristina Mori por su orientación, apoyo y colaboración en todas las etapas de la tesis.

Al profesor jubilado de la cátedra de Fertilidad de Suelos de FAGRO-UDELAR, Ing. Agr. (Ph.D) Carlos Perdomo, quién contribuyó en el enfoque de análisis de los resultados de este trabajo.

Al profesor de la cátedra de Biometria/Estadística, Ing. Agr. (Ph.D) Pablo González por su ayuda en el análisis estadístico de los datos evaluados en este estudio

A los integrantes del Laboratorio de Suelos y a la empresa FADISOL S.A. que aportó las semillas de las especies evaluadas en esta tesis.

A mi familia, amigos y compañeros que estuvieron presentes, apoyando en cada momento de la carrera.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
Página de Aprobación.....	2
Agradecimientos.....	3
Lista de Figuras y Tablas.....	4
RESUMEN.....	8
SUMMARY	9
1. Introducción.....	10
1.1 Objetivos.....	11
2. Revisión Bibliográfica	13
2.1. Fósforo.....	13
2.1.1. <i>Formas del Fosforo en el Suelo y sus Relaciones</i>	13
2.1.2. <i>Fosforo Orgánico e Inorgánico</i>	14
2.1.2.1. Fósforo Orgánico.....	14
2.1.2.2. Fósforo Inorgánico.	17
2.1.3. <i>Retención de Fosforo por los Suelos</i>	18
2.2. Aportes de los cultivos de Cobertura a la Sostenibilidad de la Producción Agrícola.....	20
2.2.1 <i>Aumento de la Disponibilidad de P en el Suelo por Efecto de las Plantas</i> 22	
2.2.1.1. Modificaciones en la Arquitectura de las Raíces y Asociación con Micorrizas.	23
2.2.1.2. Cambios químicos y biológicos en la rizósfera del suelo.	25
2.3. Características Generales de las Especies Evaluadas	28
2.3.1 <i>Lupino</i>	28
2.3.1.1 Lupino albus.....	31
2.3.1.2 Lupinus Angustifolius.....	32
2.3.1.3 Aporte de N y de P del Lupino en la Rotación.	33
2.3.2 <i>Avena strigosa</i>	36
2.4 Hipótesis Generales	37
3. Materiales y Métodos.....	38
3.1 Ubicación y Descripción del Experimento	38
3.2 Actividades Previas a la Instalación del Experimento	38
3.3. Diseño e Instalación del Experimento.....	41

3.4. Muestras en Suelo y Planta	41
3.5. Trabajo de Laboratorio	44
3.5.1. <i>Procesamiento de las Muestras de Suelo y Determinaciones Analíticas</i>	44
3.5.2. <i>Procesamiento de las Muestras de Planta y Determinaciones Analíticas</i>	44
3.6. Clima.....	45
3.7. Análisis Estadístico	46
4. Resultados.....	48
4.1. Caracterización de los Suelos	48
4.2. Efecto de la Especie, del Suelo y del Momento de Muestreo en la Concentración de P Bray1	49
4.3. Efecto de la Especie y del Tipo de Suelo sobre otras Propiedades Químicas del Suelo a los 87 dds.....	53
4.4. Efecto de la Especie y del Tipo de Suelo en el Rendimiento de Materia Seca y Estatus Nutricional de los CC a Cosecha.	56
4.4.1. <i>Rendimiento de Materia Seca y de P Absorbido por los CC</i>	56
4.4.2. <i>Concentración de Ca, Mg, K y Micronutrientes (Fe y Mn)</i>	59
4.4.3. <i>Biomasa de N y cantidad N fijado por las especies de lupino</i>	62
4.4.4. <i>Relaciones C/N de los cultivos de cobertura</i>	63
4.5. Relaciones entre Parámetros de Suelos y Plantas.....	64
5. Discusión.....	68
5.1. Cambios en la Concentración PBray1 en el Suelo a través del Ciclo de Crecimiento de los Cultivos.....	68
5.2. Cambio de PBray1-inicial y Δ PBray1 _{Lup-Av} a la Terminación de los CC y a los 103 dds.	68
5.3. Cambios en la Acidez relativos al pH inicial y al pH del Suelo con el Cultivo de Referencia y su Relación con la Disponibilidad de PBray1.....	70
5.4. Evaluación del Rendimiento de Biomasa, del Estatus Nutricional de los CC y la Relación de estas Variables con las Propiedades Químicas del Suelo. 73	
5.5. Rendimiento de NT y N Fijado por las Especies de Lupino y las Relaciones C/N y N/P de las Especies Evaluadas.	77
6. Conclusiones.....	80
7. Bibliografía.....	82

Lista de Figuras y Tablas

Figura 1. <i>Diagrama conceptual de pools y rutas en el ciclo del P en el sistema suelo-planta</i>	14
Figura 2. <i>Especiación de iones ortofosfato en solución en función del pH</i>	17
Figura 3. <i>Representación esquemática del movimiento de fosfato por flujo másico y difusión desde un gránulo de fertilizante soluble de fósforo</i>	20
Figura 4. <i>Raíces proteoides de <i>Lupinus albus</i> L.</i>	24
Figura 5. <i>Hifas de hongo micorrízico arbuscular con esporas adheridas en un parche de material orgánico</i>	24
Figura 6. <i>Valores de pH de la rizósfera según especie y nivel de P</i>	28
Figura 7. <i>Principales regiones de producción de lupino (toneladas) en los últimos 50 años (1969-2019)</i>	30
Figura 8. <i>Mapa con ubicación de los sitios desde donde se colectaron los suelos usados en el experimento macetero</i>	39
Figura 9. <i>Valores de temperaturas promedio, mínima y máxima diaria registrada en el invernáculo durante el período de crecimiento de las especies evaluadas</i>	46
Figura 10. <i>Evolución de la concentración de PBray1 durante el crecimiento dos leguminosas (<i>L. albus</i> y <i>L. angustifolius</i>) y una gramínea (<i>Avena strigosa</i>), según tipo de suelo (paneles a, b, c y d)</i>	51
Figura 11. <i>Valores promedio de concentración de PBray1 según especie a través de los suelos evaluados (paneles a, b, c y d) dada la interacción significativa entre estos factores a los 103 dds</i>	53
Figura 12. <i>Valores de pH del suelo a los 87 dds según especie y tipo de suelo</i>	55
Figura 13. <i>Relación C/N de las dos leguminosas (<i>L. albus</i> y <i>L. angustifolius</i>) y la gramínea (<i>Avena strigosa</i>) en los cuatro sitios evaluados de plantas cosechadas a los 87 dds</i>	64
Figura 14. <i>Relaciones entre ΔpH-inicial y ΔPBray1-inicial según especie</i>	65
Tabla 1. <i>Información acerca de las unidades cartográficas, suelos dominantes, material geológico y textura de los suelos colectados en 4 sitios del Uruguay.</i>	40
Tabla 2 <i>Fechas de muestreo y tipo de análisis en suelo y planta</i>	43
Tabla 3. <i>Localización, clasificación, caracterización física y contenido de materia orgánica de los suelos utilizados en el estudio</i>	48
Tabla 4. <i>Concentración inicial de PBray1, N mineral, bases intercambiables, Al intercambiable y pH al inicio del experimento</i>	49
Tabla 5. <i>ANOVA de medidas repetidas para la concentración de PBray1 en el suelo</i>	50
Tabla 6. <i>Valores promedio de pH del suelo a los 48 y 87 dds y la diferencia de este último con el pH inicial en función de la especie y el suelo</i>	54

Tabla 7. Valores promedio de la biomasa aérea, la concentración de P y N de la planta, el contenido de P y N de la planta y la relación N:P de las especies según tipo de suelo.	58
Tabla 8. Concentración promedio de Ca, Mg, K, Mn y Fe en la biomasa área según especies y tipo de suelo	61
Tabla 9. Valores promedio de proporción de N fijado (% FBN), Biomasa de N y cantidad de N fijado según especie y suelo	63
Tabla 10. Correlación de Pearson (r) para todas las combinaciones de especies y suelos a los 87 dds.....	67

RESUMEN

La mayor parte del fósforo (P) en el suelo no está disponible para ser absorbidas por las plantas. Algunas especies pueden mejorar la disponibilidad de P a partir de formas de P poco solubles. Los objetivos de este ensayo fueron: i) evaluar la disponibilidad de P en el suelo (PBray1) comparando dos especies de Lupino, *L. albus* y *L. angustifolius*, con un cultivo control de avena (*Avena strigosa* L.), ii) Cuantificar los cambios de PBray1 y de pH en cuatro suelos con lupino en comparación a suelos con avena y con los valores iniciales de estos parámetros en cada suelo. iii) Evaluar los efectos especie y tipo de suelo sobre el rendimiento de biomasa aérea y la tasa de fijación biológica de nitrógeno (BNF), así como su contribución de P y N como cultivo antecesor. Las plantas se cultivaron en macetas en cuatro suelos contrastantes en textura, contenido de materia orgánica, acidez y disponibilidad de P. A cosecha se midió el peso seco de la biomasa aérea, el contenido de P y N en la biomasa aérea y la fijación de N de los lupinos. Los suelos de lupino tuvieron mayor concentración de PBray1 en comparación a los suelos con avena, de 0,9 a 5,4 mg kg⁻¹ ($p < 0,0001$), dependiendo de la especie lupino, el momento del muestreo y el tipo de suelo. La acidificación del suelo inducida por el lupino no explicó íntegramente este aumento de P. La concentración de manganeso (Mn), medida indirecta de la exudación de ácidos orgánicos, fue alta en la biomasa aérea de ambas especies de lupino; pero tuvieron respuestas divergentes a la acidez y disponibilidad de P del suelo. La cantidad de N fijado varió según la especie de lupino (105-240 mg maceta⁻¹) y el tipo de suelo (60-240 mg maceta⁻¹). *Lupinus albus* tuvo mayor capacidad de movilizar P no lábil y de aporte de N a través de BNF, posicionándolo como un cultivo adecuado para diversificar los sistemas de rotación agrícolas.

Palabras Clave: lupinos, ciclo de fósforo, adquisición de P por las plantas

SUMMARY

A substantial amount of phosphorus (P) in soil is not readily available for plant uptake. Certain species may enhance P availability from poorly soluble P forms. The objectives of this greenhouse essay were as follows: i) to assess soil P availability (PBray1) by comparing two Lupine species, *L. albus*, and *L. angustifolius*, with a control crop of oats (*Avena strigosa* L.), ii) to evaluate accessible P levels and soil pH in four soil types with lupine to oat-containing soil and their baseline values. iii) to investigate how plant species and soil type affect shoot biomass, biological nitrogen fixation (BNF) rate, and potential P and nitrogen (N) contributions of two lupine species as precursor crops. Plants were cultivated in pots in four soils with varying textures, organic matter content, acidity and P availability. At harvest, various parameters were assessed, including shoot dry weight, plant P and N content, as well as lupine nitrogen fixation. Lupine soils showed PBray1 concentrations from 0.9 to 5.4 mg kg⁻¹ ($p < 0.0001$), depending on species, sampling time, and soil type, when compared to soils containing oats. Interestingly, lupine-induced soil acidification did not fully explain this P increase. Manganese (Mn) concentration, an indirect measurement of organic acid exudation, was high in both lupine species' shoot biomass; however, these legumes had divergent responses to soil acidity and P availability. Nitrogen fixed quantity varied by Lupine species (105-240 mg pot⁻¹) and soil type (60-240 mg pot⁻¹). *Lupinus albus* had higher ability to mobilize non-labile P and give N through BNF, positioning it as a suitable crop for diversifying Uruguay's agricultural crop rotation systems.

Keywords: lupine genus, phosphorus-cycling soil, plant phosphorus-acquisition

1. Introducción

Este trabajo se realizó en el año 2019 enmarcado en el proyecto ANII (FMV_1_2017_1_135487) titulado “Puentes verdes de leguminosas invernales en rotaciones agrícolas: Efectos en el balance de N y P del sistema”.

En Uruguay, los sistemas agrícolas se han intensificado, sustituyéndose la rotación típica de cultivo-pastura por cultivos continuos, siendo el principal cultivo la soja (*Glycine max* (L.) Merr.). En algunos casos, si bien no se ha eliminado totalmente el período de pastura, el tiempo que ocupa la misma en la rotación se ha reducido considerablemente. Según el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP, 2021), en la encuesta agrícola 2021, la superficie de cultivos de invierno asociados con praderas fue de 25.577 hectáreas, valor prácticamente igual al de la zafra anterior. Para el caso específico del cultivo de trigo, las pasturas asociadas se estimaron en 18 mil hectáreas, lo cual representaría menos de un 8 % del área total sembrada con este cultivo de invierno. El porcentaje de praderas asociadas con cultivos de invierno en los últimos 15 años ha mostrado una caída importante pasando del 28 % en 2005 al 4 % en la zafra 2021. Si bien la exclusión de la fase de pasturas aumentó la producción de granos, estudios recientes han confirmado brechas persistentes en el rendimiento del trigo en Uruguay (Ernst et al., 2016), que no pueden explicarse por una deficiencia de nutrientes ni tampoco pueden cerrarse corrigiendo esas deficiencias. Por tanto, el problema es más grave, porque la calidad del suelo se ha visto comprometida (Beretta-Blanco et al., 2019; Ernst et al., 2018).

Bajo este escenario, existe considerable preocupación en relación al impacto de la permanencia de un balance negativo de N, por lo cual, la inclusión de cultivos de cobertura (CC) o puentes verdes (PV) de leguminosas anual invernal del género lupino, pueden ser una estrategia clave para revertir este proceso. En el caso de P, empero se ha incrementado la cantidad de fertilizante fosfatado debido a la intensificación de los sistemas bajo cultivos continuos, la disponibilidad de P suele ser baja en la mayoría de los suelos, y la eficiencia del uso de P para la mayoría de los cultivos suele oscilar entre el 15 y el 30 % (Syers et al., 2008). Adicionalmente, a pesar de que esta baja eficiencia en el uso de P conlleva a un incremento del P residual en el suelo, estas formas de P son escasamente disponibles para las plantas. No obstante, algunas especies tienen la capacidad de solubilizar y hacer disponible esas formas de P. El género lupino puede ser capaz de movilizar P residual a través de los exudados radiculares,

liberación de fosfatasas, acidificación de la rizósfera y secreción de quelatos (carboxilatos), beneficiando no sólo su propio crecimiento sino también el de cultivos sucesores (Kamh et al., 2002). Sin embargo, este género aún no ha sido utilizado en las rotaciones de cultivos en Uruguay, que suelen incluir cultivos de cereales en invierno (principalmente trigo y cebada) y soja o maíz en la producción de verano. Pero además, la entrada de N y P se realiza predominantemente mediante la práctica de fertilización superficial en sistemas de cultivo bajo siembra directa, incrementando el riesgo de las pérdidas de P particulado y soluble por escorrentía y con ello el peligro de eutrofización. Una alternativa para disminuir las aplicaciones excesivas o no apropiadas de N y P es introducir cultivos con capacidad no sólo de fijar N de la atmósfera sino también de solubilizar P del suelo desde formas no disponibles. Un cultivo promisorio con estas características es el Lupino, una leguminosa de grano de ciclo invernal, con relativamente bajos requerimientos de P (Bolland & Brennan, 2008) y que se cultiva con diversos fines de producción (Islam & Ma, 2016). Esta leguminosa anual invernal, a través de la actividad de sus raíces, podría ser una fuente de carbono (C) para la materia orgánica del suelo (MOS), contribuyendo no sólo a las propiedades químicas sino también a la conservación de las propiedades físicas del suelo, como la estructura (macro y microporos).

Debido al creciente interés en diversificar las opciones de cultivo en los sistemas de rotación agrícola y reducir el uso de fertilizantes, ha surgido la oportunidad de evaluar el cultivo de lupino. Las especies de lupino blanco (*L. albus*) y de hoja estrecha o lupino azul (*L. angustifolius*) son bien conocidas en las regiones de Australia y Chile como fijadores de N y solubilizadores de P, y muy adaptadas para crecer en suelos arenosos y ácidos (Mera, 2016). En consecuencia, se planteó la hipótesis de que los suelos cultivados con lupino aumentan la disponibilidad de P para las plantas mediante la acidificación de la rizósfera, mejorando el acceso a fuentes de P del suelo escasamente disponibles. Este aumento en la disponibilidad de P de las plantas también mejoraría el rendimiento de materia seca (MS) y el contenido de biomasa de P y N del lupino y tendría un efecto residual potencial en los siguientes cultivos.

1.1 Objetivos

En la evaluación del lupino como posible especie para cultivos de cobertura los objetivos de trabajo fueron:

- i) Evaluar la capacidad de dos especies de Lupino: *L. albus* y *L. angustifolius* de incrementar el P disponible del suelo (PBray N°1) asociado al crecimiento de estas dos especies de lupino en comparación a un cultivo de avena usado como testigo.
- ii) Cuantificar los cambios de PBray N°1 y los cambios de pH en cuatro tipos de suelo contrastantes después de la cosecha de lupino en comparación con el suelo que contiene avena y con los valores iniciales de estos parámetros en cada suelo.
- iii) Evaluar los efectos especie y el tipo de suelo sobre el rendimiento de biomasa y la tasa de fijación biológica de N (BNF), así como su potencial contribución de P y N como cultivo antecesor.

2. Revisión Bibliográfica

2.1. Fósforo

2.1.1. *Formas del Fosforo en el Suelo y sus Relaciones*

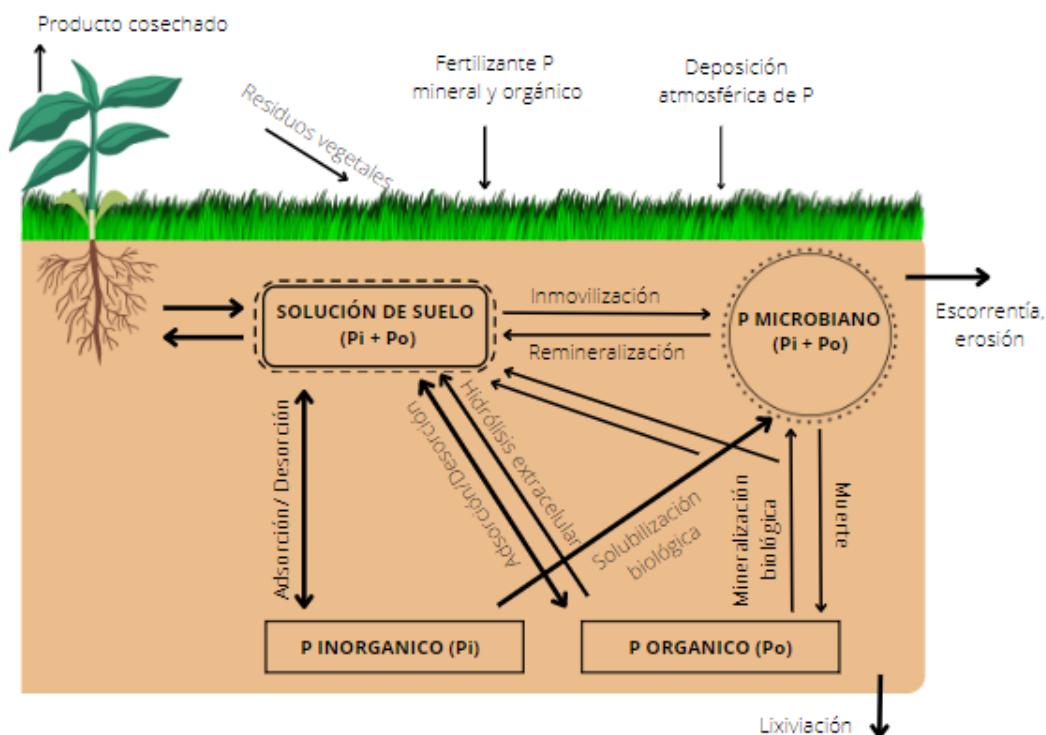
El fósforo (P) se clasifica como macronutriente, a pesar de que su contenido en planta es siempre menor comparado con el N y potasio. Sin embargo, la manifestación de deficiencias de P dependerá de la intensificación del uso del suelo por la agricultura; serán mayores en cultivos que se instalan sobre suelos en campo natural y menores cuando tienen historia de fertilización (Hernández, 2013).

El P total de los suelos sin fertilización está generalmente compuesto por un 50% de formas inorgánicas y un 50% de formas orgánicas (Hernández, 2013). El P es relativamente estable en los suelos, lo que determina la baja solubilidad de los compuestos fosfatados, y esta constituye la causa inmediata de deficiencia de P para las plantas (Hernández, 2013). Estas deficiencias de P en el sistema limitan la productividad de los cultivos (Bünemann, 2015), pero cantidades excesivas aumentan su pérdida desde sistema a través de los procesos de escorrentía y erosión (Arenberg & Arai, 2019).

Este nutriente en el suelo puede clasificarse en tres pools (Figura 1): el P presente en la solución del suelo, el P bajo forma de compuestos inorgánicos; y el P en forma de materiales orgánicos y humus del suelo (Bünemann, 2015). Hernández (2013) señalan que los compuestos fosfatados tanto el pool de P orgánico como el P inorgánico se caracterizan por su gran heterogeneidad. Están integrados por un gran número de compuestos de diferente naturaleza y estructura química no muy definidas. Este mismo trabajo describe también los compuestos y las características de esas formas de P del suelo. Dentro del pool de P orgánico e inorgánico se puede clasificar una fracción correspondiente a compuestos más lábiles (de menor estabilidad química, más solubles con mayor posibilidad de contribuir a la nutrición de las plantas), de aquellos compuestos menos lábiles (mayor estabilidad química). Esta fracción de P inorgánico del suelo que está más disponible a la absorción de la planta se la denomina como “disponible” o “asimilable”. Por otro lado, dentro del pool de P inorgánico, la fracción de P no lábil se la conoce como P fijado, ya que los mismos están integrados por compuestos muy estables. Dentro del pool orgánico se pueden separar tres fracciones: el P presente en el humus del suelo; el P presente en los restos vegetales y excreciones animales; y el P presente en la biomasa microbiana (Hernández, 2013).

Figura 1

Diagrama conceptual de pools y rutas en el ciclo del P en el sistema suelo-planta



Nota. Tomado de Bünemann (2015).

2.1.2. Fosforo Orgánico e Inorgánico

2.1.2.1. Fósforo Orgánico.

Las proporciones de formas P orgánicas e inorgánicas varían ampliamente entre suelos y usos del suelo. El P orgánico tiende a oscilar junto con el contenido de materia orgánica, y su contenido en los suelos ronda en el 50% del contenido total, variando entre 15 y 80 % (Tisdale et al., 1985). En los suelos de Uruguay provenientes de diferentes materiales de origen, bajo campo natural sin fertilizar, se encontró un valor promedio del 51%, con un rango de variación entre 33 y 67%. Estos valores están relacionados con los procesos de formación de los suelos del Uruguay (Hernández, 2013).

Los materiales orgánicos generalmente contienen cantidades significativas de P que se mineraliza durante su descomposición y se libera ortofosfato en la solución del suelo. De hecho, una gran proporción de P en los residuos vegetales es soluble en agua y, por tanto, se libera fácilmente durante la descomposición (McLaughlin et al., 2011). No obstante, en algunas circunstancias, gran parte de este P puede ser inmovilizado por la biomasa microbiana que está descomponiendo el residuo (McLaughlin & Alston, 1986). En general, una relación

C/P de residuos < 100 conlleva a una mineralización neta, mientras que una relación C/P > 300 a una inmovilización neta de P (Haynes & Mokolobate, 2001). Sin embargo, la mineralización de P orgánico es difícil de predecir, dado que la estequiometría observada entre C y P no es tan estrecha como lo es entre C y N, lo cual limitaría el uso de relaciones de C/P críticas para predecir la mineralización de P desde residuos orgánicos (McLaughlin et al., 2011). En relación a esta limitación de la relación C/P, estos autores explican que gran parte del P que está presente en las plantas verdes o senescentes es P inorgánico y no P orgánico, por lo que una parte de liberación de P no derivaría de una verdadera mineralización provocada por la acción microbiana y, por lo tanto, esta liberación no sería regulada por una relación C/P crítica. Por otro lado, el trabajo previamente mencionado también señala que, a diferencia del N, los microorganismos pueden almacenar P inorgánico en sus células como compuestos de fosfato condensado (polyphosphate y metaphosphate), si la disponibilidad es alta, por lo cual la liberación de P inorgánico por encima de una relación C/P crítica para el crecimiento de los microorganismos es muy variable.

Según Damon et al. (2014), cuando se produce una liberación neta de P durante la descomposición de un rastrojo vegetal, el P puede ser adsorbido rápidamente, aumentando así la proporción de sitios de adsorción ocupados por este elemento. Al mismo tiempo, a medida que los sitios de adsorción se saturan el P recientemente mineralizado es menos adsorbido por los compuestos del suelo de en comparación al P liberado en etapas previas. Trabajos previos mencionados por Damon et al. (2014) han observado que el agregado de residuos al suelo con concentraciones de P inferiores a 0,3% (aserrín, paja de trigo y tallos de maíz), incrementan la adsorción de P, porque el P previamente adsorbido fue inmovilizado para descomponer los residuos. En cambio, para residuos que tuvieron concentraciones de P superiores al 0,3% (residuos de alfalfa, estiércol de aves) la capacidad de adsorción de P del suelo disminuye significativamente.

La inmovilización y mineralización del P influyen en la biodisponibilidad de P en el suelo. La inmovilización aumenta la estabilidad y retención de las diferentes formas de P. Los compuestos orgánicos de P sintetizados por los microorganismos pueden ser estabilizados mediante los procesos de adsorción con minerales del suelo o incorporación a sustancias húmicas que conllevan a su acumulación (Arenberg & Arai, 2019). Los microorganismos y las enzimas fosfatasas llevan a cabo la mineralización del P orgánico catalizando la hidrólisis de enlaces éster-fosfato y la liberación de ortofosfato (Nannipieri et al., 2011). En

resumen, los procesos de inmovilización y mineralización pueden tener lugar en forma simultánea dentro del sistema suelo-planta. Sin embargo, las tasas de mineralización y de inmovilización de las formas de P en el suelo difieren en el tiempo.

Estudios recientes han confirmado que la mineralización e inmovilización de P en el suelo dependen de una variedad de factores. Un estudio realizado por Harrison (1982), como se cita en Arenberg y Arai (2019), demostró que los suelos desarrollados a partir de material parental calcáreo tuvieron mayores tasas de mineralización de P, y esto puede explicarse por el hecho de que el calcio mejora la estructura del suelo a través de la formación de agregados y concomitantemente promueve la actividad microbiana. Este mismo trabajo encontró que el aumento de pH de 3.9 a 7.1 incrementó las tasas de mineralización por un factor de 10. En otro estudio, los aumentos en la mineralización de P solo fueron significativos cuando el suelo fue encalado y el pH se elevó a 6,5, en comparación a los suelos donde no se aplicó la caliza. Por encima de pH 8, los fosfatos de calcio precipitan, disminuyendo la disponibilidad de P para las plantas. Por otro lado, a valores de pH más bajos, se forman fosfatos adsorbidos a compuestos de hierro (Fe^{+2}) y de aluminio (Al^{+3}) que también limitan su disponibilidad para las plantas y microorganismos. Por lo tanto, la inmovilización o absorción por las plantas es óptima en el mismo rango de pH que aumenta la disponibilidad de P, que generalmente se encuentra entre pH 6 y 7.

La humedad y la aireación del suelo también juegan un rol importante en la mineralización e inmovilización de P. La humedad es esencial para la producción de fosfatasas y la supervivencia de microorganismos (Arenberg & Arai, 2019). La mineralización de P se ha constatado en condiciones de un amplio rango de humedad, pudiendo ocurrir tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas (Arenberg & Arai, 2019). Bajo condiciones de menor contenido de humedad en el suelo, es probable que la difusión de P y, posteriormente, la absorción microbiana se enlentezca. Por otro lado, la inmovilización de P puede ser inhibida por condiciones de anegamiento prolongado (Bitton, 2005 como se cita en Arenberg & Arai, 2019).

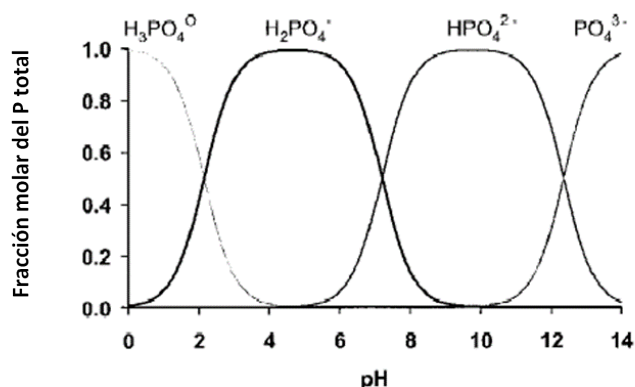
2.1.2.2. Fósforo Inorgánico.

De acuerdo a Hernández (2013), el P inorgánico del suelo va aumentando con relación al P total en el suelo a medida a que este es cultivado y existe el agregado de fertilizante fosfatado. Este aumento no significa que todo el P agregado quedará altamente disponible siempre, sino que a medida que transcurre el tiempo el P del fertilizante va reaccionando con constituyentes del suelo y formando compuestos insolubles, reduciendo su disponibilidad. Este fenómeno es conocido como retención, fijación o adsorción de P por parte del suelo.

La característica general de los compuestos inorgánicos de P en el suelo es su bajo grado de solubilidad (Hinsinger, 2001). Esta baja solubilidad de los compuestos fosfatados en los suelos, conlleva a que el contenido de fósforo en solución sea muy bajo. En condiciones de campo natural sin fertilizar se presentan valores mayores a los 0.05 mg kg^{-1} en tanto que en suelos con fertilizaciones medias estos valores pueden alcanzar los 0.1 a 0.2 mg kg^{-1} (Hernández, 2013). En sistemas intensivos con altas fertilizaciones o en líneas en siembra directa es de esperar valores del orden de los 0.3 a 0.5 mg kg^{-1} (Hernández, 2013). La reserva de P soluble consta de las formas más reactivas y disponibles para las plantas y está compuesta predominantemente por aniones ortofosfato. Dentro del rango de pH más común para la mayoría de los suelos, los iones H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} son los dominantes (Hinsinger, 2001), siendo este último la principal especie de fosfato a pH por encima de 7,2 (Figura 2). Esta forma de P soluble constituye solo una porción muy pequeña del P total en el suelo, a menudo menos del 1%.

Figura 2

Especiación de iones ortofosfato en solución en función del pH



Nota. Tomado de Hinsinger (2001).

Los fertilizantes fosfatados solubles, cuando se agregan al suelo, presentan una alta solubilidad, pero, al entrar en contacto con algunos constituyentes del suelo se forman compuestos de baja solubilidad. A lo largo del tiempo, se forman compuestos de alta estabilidad química y muy baja solubilidad (baja Kps) (Hernández, 2013). De acuerdo al mismo autor, los primeros productos de reacción del P con el suelo, aunque son insolubles comparado con la forma aplicada, son compuestos metaestables, presentando valores altos de Kps. Estos compuestos son los que mantienen los niveles de P en la solución del suelo. Esta fracción es el P del inorgánico lábil del suelo, y se puede definir como aquella fracción del P del suelo que responde rápidamente a un descenso en la concentración de P en la solución, tendiendo a reponer ese P en la solución. El concepto lábil queda referido a los compuestos meta estables, de baja cristalinidad, y, por tanto, de alta reactividad química (Hernández, 2013). Según Hinsinger (2001), estas formas lábiles de P en el suelo se encuentran en sitios de intercambio o en minerales relativamente solubles, y cuando ocurre la absorción o disminución de estas formas de P soluble, las formas lábiles de P del suelo pueden reemplazarlas a través de procesos como desorción, disolución y mineralización.

Hansen et al. (2002) señalan que las formas de P menos reactivas, a menudo denominadas fijas, constituyen la porción más grande del P del suelo, no están biológicamente disponibles y están formadas por compuestos orgánicos e inorgánicos ocluidos, son insolubles y se adsorben fuertemente a diferentes compuestos del suelo. Además, estos mismos autores indican que las formas inorgánicas de P que constituyen la reserva estable y de menor reactividad son predominantemente compuestos cristalinos de aluminio (Al^{+3}) y hierro (Fe^{+2}) o compuestos de calcio (Ca^{+2}).

2.1.3. Retención de Fosforo por los Suelos

Cuando se agrega al suelo un fertilizante fosfatado soluble en agua, este desaparece rápidamente de la solución del suelo. Este fenómeno es conocido como retención, fijación o adsorción de P por parte del suelo. La causa de esta desaparición es su reacción con cationes como Al^{+3} , Fe^{+2} o Ca^{+2} , o superficies de alta reactividad química, formando producto de muy baja solubilidad (Hernández, 2013).

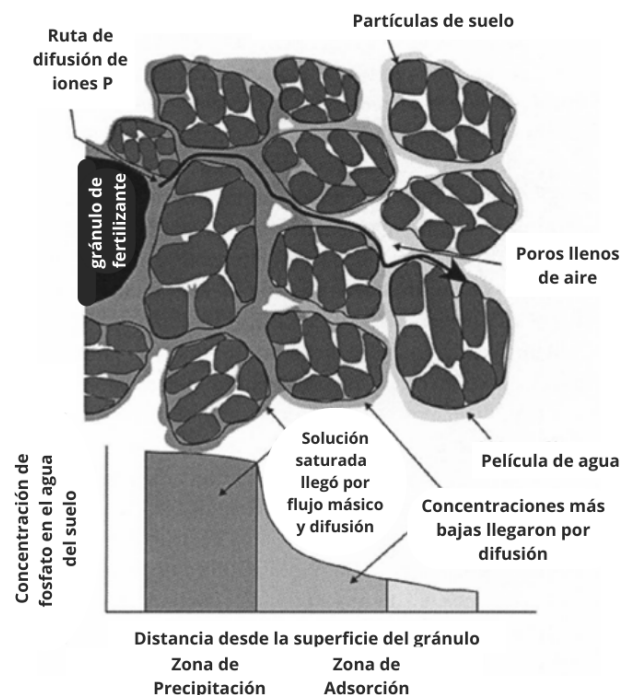
Los mecanismos por los que el fósforo es retenido en los suelos se conocen como precipitación y adsorción. Los equilibrios de adsorción/desorción y precipitación/disolución controlan la concentración de P en la solución del suelo, tanto su movilidad química como su biodisponibilidad (Hinsinger, 2001). Aparte de la concentración de iones P, los principales factores que determinan esos equilibrios, así como la especiación del P del suelo son (i) el pH, (ii) las concentraciones de aniones que compiten con los iones P por las reacciones de intercambio ligante y (iii) las concentraciones de metales (Ca^{+2} , Fe^{+2} y Al^{+3}) que pueden coprecipitar con iones fosfato (Hinsinger, 2001).

La precipitación es un proceso que se da en la solución del suelo. El mismo se da cuando en la solución están presentes Ca^{+2} , Al^{+3} y posiblemente Fe^{+2} . La adsorción es un proceso de retención aniónica que se da en la superficie de los óxidos, hidróxidos y carbonatos. Se da una reacción llamada de intercambio ligante, donde el anión entra en coordinación con oxígenos ligados al metal (Hernández, 2013). Las reacciones de precipitación en fósforo soluble implican la creación de nuevas fases sólidas a partir de iones en solución, y pueden observarse alrededor de los gránulos de fertilizante o zonas de inyección de fertilizantes líquidos (Figura 3) (McLaughlin et al., 2011). En suelos ácidos y neutros, los óxidos hidratados de Al y Fe reaccionan con soluciones de P altamente concentradas para formar fases minerales Al-P o Fe-P (McLaughlin et al., 2011).

Los procesos de fijación y de precipitación, como se mencionó previamente, tienen alta dependencia del pH y del tipo de suelo. Los suelos de Uruguay oscilan en valores de pH neutros a moderadamente ácidos. El P se encuentra en su forma más disponible cuando el pH del suelo está entre 6 y 7, a valores mayores el P puede precipitar con el calcio, mientras que a valores menores tiende a ser retenido por compuestos de hierro y aluminio (Hernández, 2013).

Figura 3

Representación esquemática del movimiento de fosfato por flujo másico y difusión desde un gránulo de fertilizante soluble de fósforo



Nota. Tomado de McLaughlin et al. (2011).

La adsorción de P a las partículas del suelo se puede reducir en gran medida mediante la aplicación de sustancias orgánicas. Los ácidos húmicos contienen grupos carboxilos e hidroxilos que compiten fuertemente por los sitios de adsorción con P. El estiércol también puede cambiar el pH del suelo y, por lo tanto, alterar la disponibilidad de P en el suelo (Shen et al., 2011).

2.2. Aportes de los cultivos de Cobertura a la Sostenibilidad de la Producción Agrícola

La intensificación de los sistemas de producción, que actualmente tienden a la agricultura continua con un diseño de baja diversidad de cultivos y alta frecuencia de soja, amenaza la sostenibilidad de la calidad del recurso suelo y la del sistema agrícola en su conjunto. Esta forma de producción se estableció a inicios del siglo XXI (zafras 2002-2003), ya que durante el siglo precedente los sistemas agrícola ganaderos de Uruguay se basaron en rotaciones de cultivos anuales con pasturas perennes en proporciones casi equivalentes (Morón 2003, como se cita en Ernst & Siri-Prieto, 2009).

La adopción del actual esquema de producción agrícola en Uruguay, plantea interrogantes para el aseguramiento de la sostenibilidad del sistema en

diferentes dimensiones (económico, productivo, ambiental y social), pero también a escala predial y extra-predial. Son de particular preocupación los balances negativos de C (Studdert, 2006; Mazzilli et al., 2014) y N (Ernst, 2006), y la falta de cobertura sobre el suelo en determinados períodos del año (Mazzilli et al., 2014; Studdert, 2006). Este manejo y uso del suelo ha conllevado a la pérdida de la fertilidad del suelo y al desbalance de nutrientes, pero también a la aparición de otros impactos negativos como la degradación física de los suelos (Ernst et al., 2018) dentro del sitio y a la contaminación del aire y cuerpos de agua dentro y fuera del sitio. Es necesario, entonces, trabajar en alternativas que diversifiquen el sistema, aumentando la entrada de C y N al mismo y reduciendo al máximo los períodos en los que el suelo se encuentra con baja cobertura por residuos, y, por tanto, más susceptible a los procesos de escorrentía superficial del agua y de erosión (García-Préchac et al., 2004). Las buenas prácticas agrícolas que conlleven al mejoramiento de la calidad o la conservación del suelo evitando la degradación del mismo son pasos fundamentales para asegurar la sostenibilidad de este recurso finito, así como del ecosistema en su conjunto. La inclusión de diversos grupos funcionales de cultivos acrecienta los servicios ofrecidos al sistema de producción (Tribouillois et al., 2016), siendo una práctica actualmente promovida en la zona de mayor influencia agrícola de Uruguay. Esto es un enfoque frecuentemente utilizado con cultivos de cobertura, de los cuales los grupos funcionales más comunes son gramíneas, brasicáceas y leguminosas (Griffiths et al., 2022). Entre estos grupos funcionales de cultivos utilizados como cultivos de cobertura (CC) se destacan aquellos que se siembran con el objetivo principal de mantener el suelo cubierto, minimizando las pérdidas de suelo por erosión, y la pérdida de nutrientes en sedimentos o por lavado (Ahunchain et al., 2022). Además, pueden mejorar el balance de C del suelo mediante su aporte de C por la parte aérea y raíces. En el caso de incorporar leguminosas se pretende, además, lograr un ingreso adicional de N al sistema. Otros potenciales beneficios dependerán de las características intrínsecas de la especie utilizada o especies utilizadas en el caso de usar CC mezcla, de su interacción con el medio edafo-climático, y del manejo agronómico que se realice (Reiss & Drinkwater, 2022).

En términos generales, las especies más utilizadas como CC en nuestro país, son gramíneas anuales (avena o raigrás), reconocidas por su precocidad o por poseer altas tasas de crecimiento durante el invierno. Por otra parte, el empleo de leguminosas anuales o especies del género *Raphanus* ha sido menos relevante. En este sentido, cabe señalar que todos ellos poseen atributos y

funciones diferenciales que deben conocerse para saber cuál podrá ser su impacto en el sistema.

El área actual de soja en Uruguay más que duplica la suma del área de los cultivos de invierno para grano (trigo, cebada, colza) (MGAP, 2021). Esto determina que se generen períodos de barbecho largos, con alto riesgo de erosión entre cultivos de verano y más precisamente entre la cosecha de los cultivos de soja de segunda y la soja o maíz de primera. Surge entonces, que el principal problema a solucionar en el corto plazo, es la generación de cobertura rápida, durante el invierno, para proteger al suelo del efecto de la gota de lluvia. Es este entonces, desde el punto de vista del control de la erosión, el período más indicado para instalar un CC (Tribouillois et al., 2016). Pero además de proteger el suelo, los CC aportan C necesario para la conservación de la calidad del suelo, ya que este elemento controla procesos (biológicos, químicos y físicos) que regulan servicios ecosistémicos (capacidad buffer, reserva de nutrientes, retención del agua, etc.) de vital importancia para la sostenibilidad de los sistemas productivos (Reiss & Drinkwater, 2020). Otros nutrientes, tales como N y P, ya sea derivado del reciclaje de los CC o también de la fijación biológica como en el caso del N, permiten reducir las necesidades de fertilizantes comerciales a aplicar al cultivo renta siguiente e incrementar así la eficiencia de uso de los nutrientes. La habilidad combinada del género lupino de acceder a formas de P no lábil o escasamente disponibles y de fijar simbióticamente N_2 atmosférico lo hace un cultivo promisorio para ser usado como cultivo de servicio en el ecosistema. Esta capacidad del cultivo de lupino le otorgaría un valor medioambiental, que se cuantificaría dentro de la rotación en la mejora en los balances de N y de P del sistema, disminución del consumo de fertilizantes que aporten estos nutrientes, mejora en el control natural de plagas, enfermedades y malezas gramíneas de ciclo invernal, así como otros efectos sobre las propiedades físicas y biológicas del suelo. La reducción en la necesidad (o el uso) de fertilizantes conduce a mitigar el riesgo de contaminación del suelo y el agua, fortaleciendo además la resiliencia al cambio climático al reducir indirectamente la cantidad de gases de efecto invernadero que se producen durante el proceso de su fabricación.

2.2.1 Aumento de la Disponibilidad de P en el Suelo por Efecto de las Plantas

El P soluble disponible para las plantas puede agotarse rápidamente en la rizósfera por la absorción de las raíces debido a su baja solubilidad y movilidad en el suelo. A pesar de que el contenido de P total del suelo excede en gran

medida los requerimientos de la planta, la baja movilidad del P del suelo puede restringir su disponibilidad para las plantas. El P soluble en la solución del suelo de la rizósfera debe ser reemplazado de 20 a 50 veces por día para cumplir con la demanda de la planta (Lynch et al., 2012). Por tanto, la dinámica de P en la rizósfera está controlada principalmente a través de dos procesos: 1- La disponibilidad espacial y la adquisición de P en función de la arquitectura de la raíz de la planta y/o la asociación con micorrizas, y 2- la biodisponibilidad y adquisición de P desde la rizósfera a través de procesos químicos y biológicos (Lambers et al., 2006).

2.2.1.1. Modificaciones en la Arquitectura de las Raíces y Asociación con Micorrizas.

Las plantas pueden responder a la falta de P cambiando la arquitectura de sus raíces, incluida la longitud, el diámetro, el área superficial, y su patrón de distribución. Aumentos en la relación raíces/parte aérea, en la ramificación y el alargamiento de la raíz, y la presencia de pelos radiculares se observan comúnmente en plantas deficientes en P, mientras que la formación de raíces especializadas ocurre en un número limitado de especies (Shen et al., 2011).

Se ha observado que la deficiencia de P reduce el crecimiento de las raíces primarias y aumenta la longitud y la densidad de los pelos radiculares y las raíces laterales en muchas especies de plantas. Algunas especies como el lupino blanco (*Lupinus albus*), puede desarrollar raíces laterales en racimo, denominadas raíces proteoideas (Figura 4). Por lo tanto, la arquitectura de las raíces de las plantas juega un papel importante en la eficiencia de uso de P porque los sistemas radiculares con mayor área superficial exploran un determinado volumen de suelo de forma más efectiva. Los cambios adaptativos del crecimiento y la arquitectura de las raíces bajo la deficiencia de P están relacionados con una distribución alterada de los carbohidratos entre las raíces y la parte aérea, y estos cambios pueden ser causados por hormonas vegetales, azúcares, etc. Las simbiosis con micorrizas pueden aumentar la disponibilidad espacial de P, extendiendo la superficie de absorción de nutrientes por formación de hifas micorríticas (Figura 5). En la simbiosis, los nutrientes son transferidos por la micorriza a través de su extenso micelio a las plantas mientras que a cambio los hongos reciben compuestos carbonados (energía) de la planta Figura 4. Raíces proteoides de *Lupinus albus* L. (Lambers et al., 2013; Mera, 2016).

Figura 4

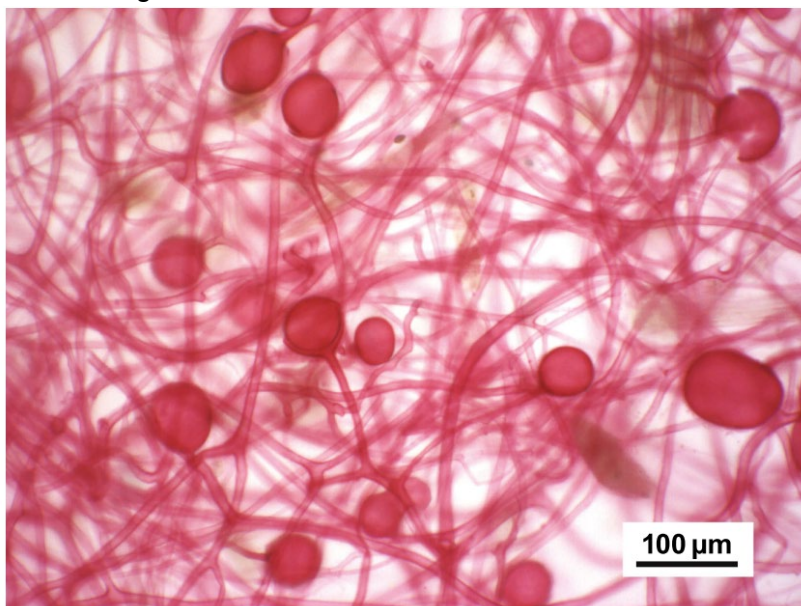
Raíces proteoides de Lupinus albus L.



Nota. (a) Tomado de Mera (2016). (b) Tomado de Lambers et al. (2013).

Figura 5

Hifas de hongo micorrícico arbuscular con esporas adheridas en un parche de material orgánico



Nota. Tomado de Hodge y Storer (2015).

2.2.1.2. Cambios químicos y biológicos en la rizósfera del suelo.

Los cambios químicos y biológicos inducidos por las raíces en el ambiente rizosférico juegan un valioso rol en la mejora de la biodisponibilidad del P del suelo (Hinsinger, 2001). En estos cambios inducidos por las raíces están implicados la liberación de protones que acidifican el medio circundante, la exudación de carboxilatos para movilizar el P escasamente disponible mediante acidificación, quelatación, o reacciones de intercambio ligante, y la secreción de fosfatasas o fitasas en la hidrólisis enzimática de ésteres de fosfato orgánicos pobremente solubles (Zhang et al., 2010).

La acidificación inducida por la raíz puede disminuir el pH de la rizósfera en 2 a 3 unidades en comparación al resto del suelo, lo que conlleva a una disolución sustancial P del suelo escasamente disponible (Neumann & Romheld, 2012). De acuerdo a Lambers et al. (2006), la acidificación mejora la solubilidad del P inorgánico en suelos alcalinos; sin embargo, en suelos ácidos, cuando el fosfato se une a compuestos de Al o Fe, la solubilidad del fosfato no sería incrementada por una disminución del pH en la rizósfera, ya que bajo estas condiciones aumenta la fijación de P. En ese mismo trabajo también se señala, que los quelatos orgánicos, incluyendo el citrato y el malato, pueden formar complejos con los elementos responsables de la insolubilidad de los fosfatos en suelos ácidos (Fe^{+2} , Fe^{+3} y Al^{+3}) como alcalinos (Ca^{+2}), liberando de esta forma a los fosfatos adsorbidos a estos cationes metálicos. Los procesos de acidificación (en suelos alcalinos) y quelatación (todos los suelos) mejoran el gradiente de concentración de P inorgánico entre el suelo y la superficie radicular (Lambers et al., 2006).

La forma de suministro de N (asimilación de NO_3 , NH_4 y N_2) también juega un rol clave en las relaciones catión-anión y, por lo tanto, en el pH de la rizósfera (Kirkby et al., 2009). Es bien sabido que las leguminosas fijadoras de N molecular tienen un pH rizosférico más bajo que las no leguminosas cuya principal fuente de N es la nítrica. Al igual que las plantas que asimilan amonio, las leguminosas que fijan N atmosférico pueden acceder mejor a fuentes escasamente solubles de P y micronutrientes, particularmente en suelos de pH neutro y alcalino. Esta mejora en la absorción de P por las leguminosas, es debido a que durante el proceso de la fijación biológica de N se generan protones que acidifican la rizósfera del suelo, lo cual conlleva además a un aumento en la absorción de cationes relativa a la de aniones para mantener el equilibrio de cargas

de la solución del suelo (Lambers & Oliveira, 2019). En el caso de las plantas no leguminosas, se ha demostrado que el suministro de N en forma de amonio acidifica la rizósfera, mientras que en forma de nitrato se alcaliniza. La absorción de nitrato está relacionada con la entrada (absorción) de 2H^+ por molécula de NO_3^- , de modo que los H^+ se eliminan del medio rizósferico aumentando así su pH. Los iones NH_4^+ , en cambio, durante la absorción compiten fuertemente con los otros cationes minerales, mientras que los aniones (H_2PO_4^- , SO_4^{2-} y Cl^-) se ven favorecidos, aunque no lo suficiente para lograr el equilibrio, por lo cual se liberan protones a la rizósfera para mantener el balance de cargas o neutralidad eléctrica dentro de las plantas (Perdomo et al., 2008). Es por ello que la nutrición amoniacal reduce la absorción de cationes, mientras que la nítrica limita la de aniones.

Las especies varían ampliamente en su capacidad para acceder al P escasamente disponible, y tal variación ofrece potencial para el mejoramiento de la productividad de los cultivos, por ejemplo, mediante la planificación y /o el diseño de las rotaciones o mezcla de cultivos. El *Lupinus albus*, que desarrolla raíces proteoides tiene la capacidad de liberar 40, 20 y 5 veces más ácido cítrico, málico y succínico, respectivamente, que las raíces de lupino en las que el desarrollo de raíces proteoides es suprimida por suministro de P (Lambers & Oliveira, 2019). Por otro lado, aunque la especie *L. angustifolius* no forma raíces proteoideas, esta especie es capaz de incrementar la exudación de carboxilatos en comparación a otras especies como por ejemplo el trigo (Pearse et al., 2006). Por ello, en un estudio comparativo de requerimientos de P entre *L. angustifolius*, canola y trigo, se observó que para producir el 90% del rendimiento máximo de grano, el lupino requirió ~67% menos P que el trigo, la canola requirió ~40% menos P que el trigo, pero ~75% más P que el lupino (Bolland & Brennan, 2008).

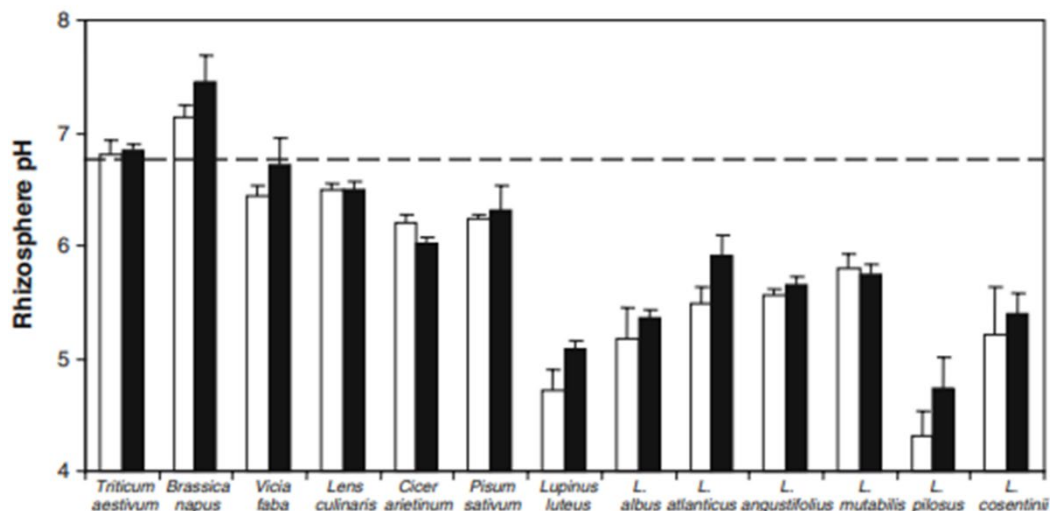
La capacidad de excretar compuestos acidificantes y/o quelantes no está restringida a especies con estructuras morfológicas como las raíces proteoides. Especies de la familia Brassicaceae también excretan ácido cítrico, mejorando así la capacidad de solubilizar la roca fosfórica. Algunas especies tienen la capacidad de inducir tasas más rápidas de disolución de fosfato no lábil que las de absorción de P por la planta, lo que conduce a la acumulación de P inorgánico en la rizósfera (Hinsinger, 1998 como se cita en Lambers & Oliveira, 2019). Las plantas vecinas, así como un cultivo posterior pueden beneficiarse de estas especies con capacidad de liberar P inorgánico desde formas de P no lábiles.

En un experimento macetero se comparó la capacidad de 13 especies de modificar cambios en el pH y la concentración y composición de carboxilatos a

nivel rizosférico, bajo dos niveles de P contrastantes (3 o 300 μM) (Pearse et al., 2006). Las especies evaluadas en este estudio incluyeron diversas familias: una poáceas, una brassicácea, y 11 leguminosas de grano (*Triticum aestivum*, *Brassica napus*, *Cicer arietinum*, *Lens culinaris*, *Pisum sativum*, *Vicia faba*, *L. albus*, *L. angustifolius*, *L. atlanticus*, *L. cosentinii*, *L. luteus*, *L. mutabilis*, *L. pilosus*), dentro de éste último grupo 7 especies correspondieron al género *Lupinus* (L.). Un segundo objetivo fue comparar entre especies de lupino que desarrollan “cluster roots” (raíces en racimo) la asociación entre esta característica morfológica y la actividad fisiológica asociada con la adquisición y estatus de P en la planta. Los resultados revelaron que todas las especies del género *Lupinus* acidificaron el pH de la rizósfera y la magnitud de cambio fue mayor que las otras especies (Figura 6). La disminución promedio del pH fue de 6.7 (control sin plantas) a 4,3 con *Lupinus pilosus* L. y a 5,9 con *Lupinus atlanticus* L.; *B. napus* mantuvo la rizosfera más alcalina, en promedio cercano a 7.4 en el tratamiento con 300 μM de P (Pearse et al., 2006). Las concentraciones de carboxilatos de la rizósfera variaron entre especies, y para algunas especies entre los niveles de P; para la mayoría de las especies se encontró menor acumulación de carboxilatos cuánto mayor fue el suministro de P. Las concentraciones más bajas de carboxilatos se observaron con *T. aestivum*, *B. napus*, *V. faba* y *L. culinaris* que para las otras especies. *P. sativum* liberó aproximadamente la misma cantidad de carboxilatos que las especies del género *Lupinus*. Los carboxilatos fueron principalmente citrato y malato para todas las especies, a excepción de *L. culinaris* y *C. arietinum*, que produjeron principalmente citrato y malonato. Las especies del género *Lupinus* variaron tanto en la absorción de P y en la sensibilidad al suministro externo de P, así como en la formación y el desarrollo de las raíces proteideas. (Pearse et al., 2006). Los autores señalaron que las diferencias entre especies del género *Lupinus* abren la posibilidad de seleccionar especies con alta plasticidad frente al suministro de P. Es decir, seleccionar especies que presenten una más pronunciada retroalimentación negativa entre el status de P de la planta y el costo energético invertido en la adquisición de P, reduciendo así los costos de carbono, y mejorando la tasa de crecimiento potencial de los cultivos en suelos con más P disponible. Las especies más promisorias en este aspecto fueron *L. atlanticus* y *L. pilosus*.

Figura 6

Valores de pH de la rizósfera según especie y nivel de P



Nota. La línea discontinua indica el pH del medio (tratamiento control sin plantas) donde crecieron las plantas. Los niveles de P fueron: 3 μM , barra blanca y 300 μM , barra negra. Tomado de Pearse et al. (2006).

2.3. Características Generales de las Especies Evaluadas

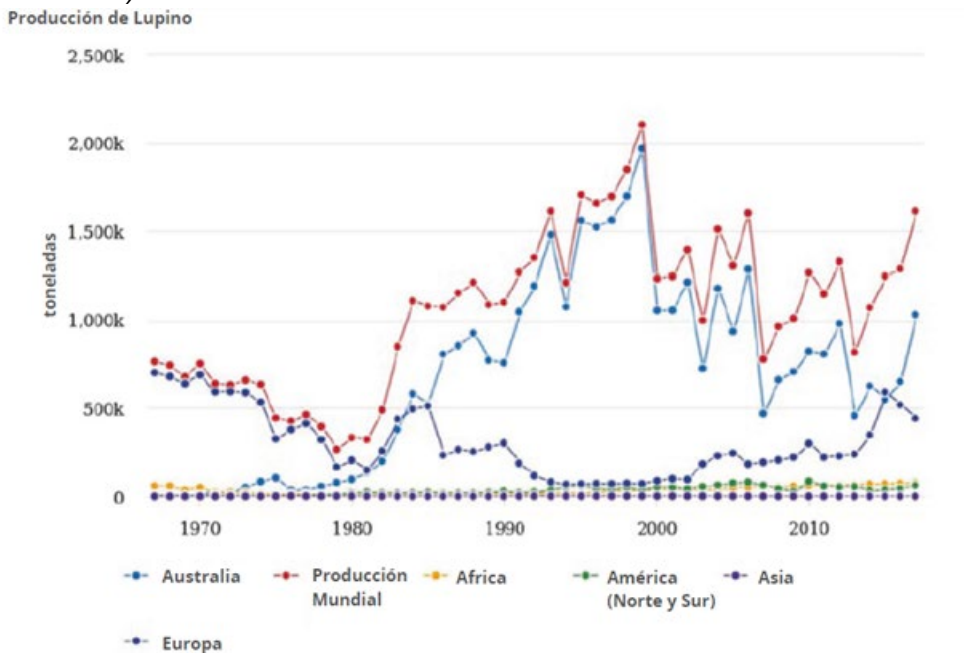
2.3.1 *Lupino*

El lupino es un género amplio de la familia Fabaceae, que abarca desde plantas herbáceas, hasta especies de árboles pequeños (Islam & Ma, 2016). Visvanathan et al. (2020) señalan que los lupinos herbáceos incluyen entre 200 y 500 especies anuales y perennes que se utilizan principalmente como cultivos leguminosos de grano. Este mismo trabajo indica que las especies de lupino se clasifican en dos grupos según su región de origen, las especies del Viejo Mundo (Mediterráneo y regiones africanas) y las del Nuevo Mundo (América del Norte y el altiplano andino). Las especies del Nuevo Mundo abarcan más del 90% del total de las especies las cuáles están distribuidas desde Alaska hasta el sur de Argentina y Chile. Las especies del viejo mundo, en tanto, incluyen 13 especies de lupinos, que son anuales, herbáceas y de semillas grandes. Tres de las especies del Viejo Mundo, *L. albus* L. (blanco), *L. angustifolius* L. (lupino de hoja estrecha/lupino dulce australiano) y *L. luteus* L. (amarillo) y una especie del Nuevo Mundo, *L. mutabilis* (amargo), son las que principalmente se cultivan para el consumo humano y animal. Algunas otras especies se utilizan como abono verde, forraje, y ornamentales (Islam & Ma, 2016).

Según Visvanathan et al. (2020), la producción mundial de grano de lupino alcanzó su punto máximo durante la última década del siglo XX, en gran medida como resultado de la expansión de este cultivo en varios países de Europa y en Australia (Figura 7). Sin embargo, la producción disminuyó casi de manera similar en las mismas regiones a principios del siglo XXI por varias razones, entre ellas, el precio persistentemente bajo del grano de lupino que se utiliza como alimento para animales. Esta caída tiende a revertirse (Figura 7) a medida que el lupino ingresa a nuevos mercados enfocados en la nutrición y salud humana (industria farmacéutica) y en la acuicultura, donde puede obtener una mejora sustancial en el valor agregado del grano de lupino y subproductos del mismo (Lucas et al., 2015). La producción promedio de lupino a nivel mundial alcanzó en la zafra 2021 a 1,4 millones de toneladas. Los 10 principales países productores de lupino para ese año fueron Australia (alrededor de 866 mil t), seguido por Polonia (alrededor de 221 mil t), Rusia (70 mil t), Marruecos (57 mil t), Alemania (53 mil t), Chile, Ucrania, Francia, Perú y Sudáfrica (Visvanathan et al., 2020). Este mismo trabajo menciona que Australia ha sido el principal productor de lupino durante los últimos 30 años, representando alrededor del 80-85 % del total de la producción mundial de lupino, seguido por Europa (Fig. 7). Las principales especies de lupino cultivadas en Australia son *L. angustifolus* y *L. albus*, representando la primera más del 80% de la superficie total sembrada en dicho país. Las variedades típicas europeas y sudamericanas son *L. luteus* y *L. albus*, respectivamente. En Chile, la especie *L. mutabilis*, también conocido como 'tarwi' es la que se cultiva en los Andes desde hace 3000 años (Wolko et al., 2011).

Figura 7

Principales regiones de producción de lupino (toneladas) en los últimos 50 años (1969-2019)



Nota. Tomado de Visvanathan et al. (2020).

De acuerdo a Mera (2016), todas las variedades modernas de lupino han sido mejoradas por su 'dulzura', lo que significa que contienen niveles muy reducidos de alcaloides en las semillas. El mejoramiento genético desarrollado principalmente por Sengbush en Alemania, Gladstones en Australia y Baer en Chile han llevado al establecimiento de variedades de lupino dulce con bajos contenido de alcaloides (son aquellos en que el contenido de alcaloides es menor a 0,05%). Dentro de las plantas leguminosas el lupino destaca por sobre los granos de arveja, lenteja, garbanzo y poroto, cuyos contenidos de proteína fluctúan entre 21 y 25%. Dependiendo de la especie, el lupino se acerca al contenido proteico del grano de soja, que está alrededor de 39%, e incluso puede superarlo (Mera, 2016).

Los lupinos tienen un requerimiento de rizobios relativamente específico, siendo nodulados principalmente por las cepas de *Bradyrhizobium* sp. *Lupinus* (Wolko et al., 2011). Sin embargo, se ha informado que este género de leguminosa presenta alto grado de promiscuidad al ser infectado por una diversidad de cepas de rizobios, que incluso podrían pertenecer a varias especies del género *Bradyrhizobium*. La simbiosis *Lupinus-Bradyrhizobium* ha sido descrita como relativamente tolerante a los estreses abióticos (Fernández-Pascual et al., 2007).

En Uruguay se han introducido las especies de origen mediterráneo producidas en Australia y Chile, enfocándose actualmente su mayor investigación en su uso como suplemento alimenticio de novillos, flashing en ovinos, engorde de ganado de carne, tanto para recría de terneros como para la terminación de los feedlot (Beretta et al., 2019). En relación al uso del *Lupinus angustifolius*, en Uruguay se comenzó a difundir en 2017-2018, obteniendo rendimientos muy variables, dependiendo de la zona y el manejo (en particular fecha de siembra). Los rendimientos promedio han oscilado entre 1500 a 1800 kg/ha, con un pico de 2600 kg/ha obtenido en chacras con fechas de siembra temprana (J. P. Viera, comunicación personal, s.f.).

La caracterización de los ambientes de producción de lupino sugiere que el rendimiento es limitado por la cantidad de fotoasimilados disponibles (fuente), los sitios que permiten una maduración más tardía devuelven mayores rendimientos, lo que refleja una mayor acumulación de biomasa bajo ciclos de crecimiento más largos (Berger et al., 2012). En este contexto, hacer coincidir la fenología del cultivar con la máxima duración del ciclo de crecimiento que el ambiente permita, es esencial para maximizar el potencial de los cultivos. En base a la reciente experimentación en Uruguay, en chacras agrícolas del litoral oeste (C. Mori, comunicación personal, 15 de marzo, 2020) se ha observado que la fecha de siembra más adecuada para *L. angustifolius* var. Lavalle es el más temprano en torno a mediados y fines de abril y la primera quincena de mayo, fechas más tardías afectaron en forma muy pronunciada la biomasa acumulada y por ende el potencial de rendimiento del cultivo.

2.3.1.1 Lupino albus.

La especie de *L. albus* es generalmente reconocida por su amplia adaptación y buena calidad de semilla. El contenido de proteína de la semilla varía de 33 a 47% y el contenido de aceite de 6 a 13% dependiendo del genotipo y del ambiente (Wolko et al., 2011). En cuanto al modo de reproducción, es una especie fundamentalmente autógama, si bien se han reportado tasas de cruzamiento entre 8 y 10%.

Wolko et al. (2011) señalaron que el crecimiento y desarrollo de esta especie es óptimo en condiciones climáticas frescas a moderadamente cálidas, presentando una buena tolerancia a condiciones de frío. Crece bien en suelos ligeramente ácidos a levemente calcáreos y en suelos de textura arenosa franca y franca, sin embargo, es muy intolerante al encharcamiento. En algunos suelos

calcáreos se ha identificado germoplasma con buena tolerancia al estrés abiótico que se induce bajo tales condiciones edáficas, como por ejemplo deficiencia de hierro. El desarrollo de las raíces en forma de racimo permite una absorción eficiente de P, y se caracteriza por tener una alta acumulación de manganeso (Mn), por lo cual podría ser un cultivo promisorio en suelos con niveles tóxicos de Mn (Mera, 2016). Esta especie en particular produce raíces denominadas proteoides (Figura 4), cuyo desarrollo es inducido en respuesta a bajos niveles de P y Fe en el suelo (Lambers et al., 2013). Estas raíces proteoides permiten que *L. albus* absorba casi cinco veces más P por unidad de longitud de raíz que soja, que no los forma (Watt & Evans, 2003 como se cita en Wolko et al., 2011).

En relación a la tolerancia a herbicidas, esta especie de lupino presenta moderada tolerancia a simazina y diflufenican, es susceptible a metribuzin pero muy tolerante a graminicidas selectivos (Wolko et al., 2011). En relación a esto, los mismos autores señalan que cuando se siembra un cultivo de hoja ancha, como en el caso del lupino, un principio básico que se explota en el control de malezas de la rotación, es mejorar el control de malezas gramíneas, ya que ofrece la oportunidad de utilizar graminicidas más eficaces que los utilizados en cultivos cerealeros.

El mejoramiento genético en *L. albus* se inició en 1950, y se llevó a cabo principalmente por científicos europeos (Wolko et al., 2011). Estos autores indican que la selección se enfocó particularmente en las características relacionadas con el tiempo de floración y el hábito de crecimiento o arquitectura de la planta, a partir de ideotipos adecuados a diferentes épocas de crecimiento (otoño/invierno o primavera). En la actualidad, en tanto, la mejora genética de lupino blanco está centrada en mejorar la resistencia a la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), una enfermedad que limita los rendimientos en la mayoría de los países donde se cultiva (Wolko et al., 2011).

2.3.1.2 Lupinus Angustifolius.

Se la considera una especie autógama, y la autopolinización ocurre generalmente antes de que se abran los pétalos. Las tasas de cruzamiento que han sido reportadas oscilan en un rango muy bajo (de 0 al 2%) con un reporte máximo de 12%. La mejora genética de esta especie comenzó en Alemania, Polonia y también en Rusia, con el descubrimiento de semillas con bajos contenido en alcaloides (Gladstones, 1970, 1998, Kurlovich, 2002a como se cita en Wolko

et al., 2011), y fue seguido por un intenso trabajo en Australia, comenzando a fines de la década de 1950, junto con trabajos paralelos y colaborativos en EE. UU.

En Australia, este cultivo ha jugado un papel muy importante en los sistemas de rotación agrícola desde principios de la década de 1980, como alimento para ovejas, cerdos y aves de corral (Mera, 2016). En la actualidad, también se cultiva a escala comercial en Polonia, Bielorrusia, los países Bálticos, Rusia, Sudáfrica y Chile, dada su moderada resistencia a enfermedades, buen rendimiento y moderada adaptación a crecer en diversos ambientes. El mejoramiento genético de esta especie en los últimos 20 años, ha desarrollado líneas de mayor rendimiento, mayor índice de cosecha y con bajo contenido de alcaloides. Esta última característica, sin embargo, es la que explicaría la mayor susceptibilidad del cultivo al ataque de insectos y de algunas enfermedades. Luego de esta fase inicial de domesticación de la especie, la mejora genética en *L. angustifolius* en Australia se ha enfocado en la incorporación de genes de resistencia a enfermedades a partir de selección de germoplasma silvestre (Wolko et al., 2011).

Al igual que *L. albus*, *L. angustifolius* tolera bien la acidez del suelo en torno a pH 5,0 e incluso inferior (Mera, 2016). Este comportamiento se explicaría en parte, a que los rizobios que se asocian a estas especies de lupino soportan mejor la acidez que los asociados a otras leguminosas (Wood & Cooper, 1985). Además, presentan buena tolerancia al aluminio presente bajo condiciones de acidez, adaptándose incluso hasta niveles de saturación de Al de 40%, aunque en suelos con adecuado nivel de P (Mera, 2016). En relación a las necesidades hídricas, *L. angustifolius* ha mostrado tener bajos y menores requerimientos en comparación a *L. albus* (Wolko et al., 2011).

2.3.1.3 Aporte de N y de P del Lupino en la Rotación.

La entrada de N atmosférico a través de la fijación simbiótica es el beneficio más conocido del lupino. A mayor rendimiento de MS y de grano, mayor será el N residual en el suelo luego de un cultivo de lupino. En los sistemas donde el grano de lupino se cosecha, una gran proporción de N fijado sale del sistema, pero en el suelo permanecen raíces, tallos, hojas y paredes de vainas. El uso de leguminosas anuales fijadoras de N como el lupino permite incorporar cuotas de N al sistema en un corto período de tiempo y tienen un efecto antecesor que se

manifiesta a corto plazo en el cultivo siguiente. Este ingreso de N al sistema puede llegar a sustituir al fertilizante nitrogenado (Hesterman et al., 1992).

En un trabajo de revisión por Unkovich et al. (1997), se reporta que la fijación de N₂ por *Lupinus angustifolius* L. oscila entre 30± 283 kg N ha⁻¹, con un promedio de 165 kg N ha⁻¹, o 229 kg N ha⁻¹ si se incluye el aporte de N de las raíces de 28 % (Russell & Fillery, 1996a como se cita en Unkovich & Pate, 2000). Para la especie de lupino blanco (*L. albus* L.), la fijación de N₂ estimada en la biomasa aérea oscila en un rango de 44 a 95 %, o 147 ± 400 kg N ha⁻¹. El mayor rendimiento de MS y de N en lupino blanco se expresaría porque este tiende a cultivarse en ambientes de mayor precipitación que el lupino australiano, aunque %N derivado de la fijación puede ser inferior debido a que además se cultiva en suelos más fértiles. Para un cultivo de *L. angustifolius* establecido a campo, Unkovich et al. (1994) reportan una tasa máxima de fijación de N de 3,9 kg N ha⁻¹ día⁻¹ en la biomasa aérea.

Un estudio realizado en Chile (Espinoza et al., 2012) reportó importantes beneficios en el cultivo de trigo, al incorporar un CC leguminosa a la rotación agrícola. Los objetivos del estudio fueron cuantificar y comparar las entradas de N fijado por 4 leguminosas de grano, de las cuales 3 fueron especies de lupino (*L. angustifolius*, *L. luteus*, *L. albus*), y una de *Pisum (P. sativum)*, y (b) determinar el impacto posterior estas leguminosas sobre el rendimiento de grano y de N absorbido por un cultivo de trigo en dos regiones pluviométricas diferentes. Los resultados revelaron que la cantidad de N fijado por las diferentes leguminosas, incluyendo el N derivado de las raíces fue mayor a la cantidad de N extraído con la semilla cosechada, lo cual indicaría que todas las leguminosas de grano resultaron en un balance neto positivo de N. Por otro lado, la mayor entrada neta de N (estimación luego de sustraído el N del grano cosechado) fue aportada por *P. sativum* (en promedio 190 kg N ha⁻¹), y la menor por *L. angustifolius* (promedio 40 kg N ha⁻¹). El incremento de rendimiento de grano de trigo que osciló entre 0,74–2,75 t ha⁻¹ por efecto de las leguminosas de grano como cultivo antecesor se estimó en comparación con la secuencia avena-trigo en ausencia de aplicaciones de fertilizante N, representando un aumento de rendimiento de grano de entre 23 y 152% (media 76%) (Espinoza et al., 2012).

En otra publicación basada 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 y no leguminosas comparados con los de trigo

continuo y trigo en rotación con período largo de barbecho. Las especies evaluadas en este estudio fueron dos leguminosas de grano anuales, lupino azul (*Lupinus angustifolius* L.) y arveja (*Pisum sativum* L.); una oleaginosa, canola (*Brassica napus* L.) y la avena (*Avena sativa* L.). En este estudio se encontró que el incremento promedio de respuesta en rendimiento fue de 0,60, 0,45, 0,40, 0,35 y 0,30 t ha⁻¹ para trigo sembrado después de lupino, arveja, canola, avena y barbecho largo, respectivamente, respecto a trigo continuo. En este mismo estudio se observó que en los sitios con rendimientos de grano de L. azul superior a 1,5 Mg ha⁻¹, el incremento de rendimiento de trigo después de lupino en relación a trigo continuo fue significativamente superior ($P=0,03$) que el incremento observado en los sitios con rendimiento de lupino inferior a 1,5 Mg ha⁻¹. Esta diferencia entre estos grupos de alto y bajo rendimiento de lupino azul podría ser simplemente el resultado de una mayor entrada de N al sistema ó de varios factores involucrados en el “efecto rotación”. Estos resultados sugieren que cuando se estudian los efectos de cultivos antecesores es importante incluir también especies no leguminosas como antecesores, para poder discriminar el efecto de la contribución de N de otros efectos (Kirkegaard et al., 2008 como se cita en Seymour et al., 2012).

El uso de cultivos consociados se ha visto que también mejora los mecanismos de adquisición de N y de P, y que según Schwerdtner y Spohn (2022) esta sería la razón que explica el aumento en la absorción de N y P y en la biomasa del cultivo de maíz consociado principalmente a los cultivos de soja y lupino. En este estudio se evaluaron 5 tratamientos: un monocultivo de maíz y 4 maíces consociados, de los cuáles tres fueron leguminosas (*Lupinus angustifolius* L., *Glycine max* y *Vicia Faba* L.) y una crucífera, la mostaza blanca (*Sinapis alba* L.). Los autores concluyeron que la mejora en la adquisición de N en maíz consociado con leguminosas fue asociada con la transferencia del N fijado por estas especies, mientras que el aumento en la adquisición de P sería explicado por un aumento en la actividad de la enzima fosfatasa y con cambios en el pH de la rizósfera. Los cultivos de lupino y de soja mejoraron significativamente la adquisición P del maíz, lo que indicaría que estos fueron menos competitivos (con menor requerimientos de P) que la vicia. En este estudio, además, el cultivo de lupino no acidificó su rizósfera (los cambios de pH fueron menores que en la rizósfera de maíz) por lo cual la mejora en la adquisición de P fue explicada por la exudación de carboxilatos así como la mineralización del P orgánico a través de las fosfatasas (Schwerdtner & Spohn, 2022). La mejora en la adquisición de P no sólo ha sido

constatada en cultivos consociados también fue observada en trigo (*Triticum aestivum*) en rotación con lupino blanco (*Lupinus albus*) en un suelo con bajo contenido de P disponible. El trigo se benefició del cultivo antecesor (el lupino blanco), que solubilizó formas de P no lábil aumentando la disponibilidad de P del suelo (Kamh et al., 2002 como se cita en Lambers & Oliveira, 2019).

2.3.2 Avena strigosa

La *Avena strigosa* o avena negra es una gramínea invernal de ciclo anual, de porte erecto, hojas y tallos finos de color verde intenso, bajo rendimiento en grano, semilla pequeña de color oscuro a negro y gran precocidad. Se caracteriza dentro de las avenas por un ciclo muy corto, escaso macollaje y de floración temprana, dando una producción temprana y de alto potencial de forraje al sistema. Es capaz de crecer a temperaturas bajas a moderadas, adaptándose a un amplio rango de suelos, con suficiente humedad y bien drenados (Carámbula, 2007). Salvo en suelos muy arenosos o muy pobres, la avena es capaz de crecer en la mayoría de los suelos siendo preferibles los arcillo-húmicos de reacción débilmente ácida y de fertilidad media-alta, y pH 5,2-5,0. Los requerimientos de N de la avena son cubiertos por aportes de N desde el suelo, pero en muchos casos también se deben complementar con aportes de N derivado de los fertilizantes (Carámbula, 2007).

Según Sawchik et al. (2015), la precocidad y la alta tasa de crecimiento, ubican a la avena negra como el CC más utilizado por los productores uruguayos. Carámbula (2007) menciona que el destacado vigor inicial les proporciona una muy buena precocidad en el otoño, característica que se ve maximizada con siembras tempranas, estos atributos vuelven a la avena una especie ideal para CC, ya que permite cubrir el suelo rápidamente y así evitar pérdidas de nutrientes y erosión. Todas estas características de la avena explicarían por qué es la especie más difundida como CC en Uruguay.

Como lo menciona Kaspary et al. (2020), una densidad de siembra óptima es fundamental para lograr un buen número de plantas viables y así lograr cubrir el suelo rápidamente. Estos autores determinaron una densidad de siembra óptima de 50 kg ha⁻¹ al voleo y así lograr un buen control de malezas, en especial las especies que necesitan luz para germinar. En su uso como verdeo normalmente se utilizan densidades de siembra entre 100-120 kg ha⁻¹ y entre 40-

80 kg ha⁻¹ de semilla cuando se siembra pura o en mezcla. Estos valores se ajustan según el tamaño de la semilla y capacidad de macollaje para cada cultivar.

2.4 Hipótesis Generales

En la evaluación del lupino como posible especie para cultivos de cobertura las hipótesis de trabajo fueron:

- 1) Las dos especies de lupino (*L. albus* y *L. angustifolius*) incrementan el P lábil del suelo en magnitud similar.
- 2) Las dos especies de lupino (*L. albus* y *L. angustifolius*) acidifican la rizósfera del suelo.
- 3) El incremento de P lábil con la presencia de lupino se asocia con un descenso del pH del suelo.
- 4) La cantidad de N fijado no varía entre especies de lupino pero si difiere entre suelos.

3. Materiales y Métodos

3.1 Ubicación y Descripción del Experimento

El trabajo de investigación fue establecido en el año 2019, a través de un experimento macetero realizado en uno de los invernaderos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República, Montevideo (34°50'18.20"S, 56°13'16.36"O).

El área del experimento macetero fue de 6m². Se utilizaron 48 macetas de 3 litros de capacidad, con dimensiones de 15 cm de diámetro y 20 cm de altura, dispuestas sobre el piso del invernadero con una separación de aproximadamente 10 cm entre ellas.

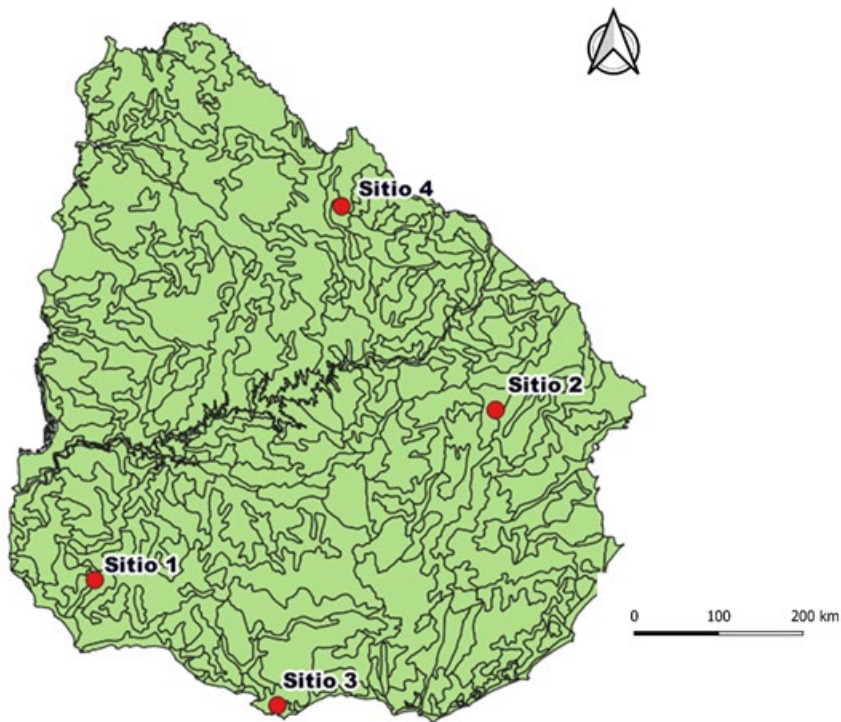
3.2 Actividades Previas a la Instalación del Experimento

Se colectaron muestras de suelo de cuatro zonas agroecológicas del país bajo diferente uso del suelo: 1- Colonia- uso agrícola; 2- Treinta y Tres- ganadería sobre campo natural; 3-Montevideo- campo natural y 4- Rivera- uso forestal ver Figura 8 y Tabla 1), con valores contrastantes de pH en agua, textura, MO y PBray1.

1. Colonia: 33°59'05.4"S, 57°43'42.7" E
2. Treinta y Tres: 32°49'1.20"S 54°25'28.27"O,
3. Montevideo: 34°50'15.61"S, 56°13'21.62"O
4. Rivera: 31°23'43.44" S, 55°41'39.37" O

Figura 8

Mapa con ubicación de los sitios desde donde se colectaron los suelos usados en el experimento macetero



Nota. Mapa generado en Sutton et al. (2023) con las coordenadas: Sitio 1: 33°59'05.4"S, 57°43'42.7" E; Sitio 2: 32°49'1.20"S 54°25'28.27"O; Sitio 3: 34°50'15.61"S, 56°13'21.62"O; Sitio 4: 31°23'43.44" S, 55°41'39.37" O.

Cada suelo se tamizó a través de un tamiz con un tamaño de malla de 1 cm para homogeneizar el tamaño de los agregados y descartar el material vegetal grueso. Luego de este tamizado, se tomó una submuestra de cada tipo de suelo para hacer la caracterización química (MO, pH, bases intercambiables, PBray1, N total y N mineral) y conocer su composición granulométrica (textura). Luego de preparar y acondicionar las muestras de suelo, estas fueron distribuidas en las macetas, 12 macetas por cada tipo de suelo.

Tabla 1

Información acerca de las unidades cartográficas, suelos dominantes, material geológico y textura de los suelos colectados en 4 sitios del Uruguay

Sitio (Localidad)	Unidad Cartográfica [†]	Suelos según los sistemas de Clasificación de USDA & Uruguay		Material geológico	Textura [§]
		USDA [‡]	Uruguay		
Sitio 1 (Colonia)	LC	PA	Brunosol Eútrico Típico	Sedimento limo arcilloso/ Basamento cristalino	Ac
Sitio 2 (T. y Tres)	SA	TD	Litosol Sub éútrico melánico	Basamento Cristalino	FAC
Sitio 3 (Montevideo)	T	TA	Brunosol Éútrico Típico	Sedimento limo arcilloso de Libertad	FACL
Sitio 4 (Rivera)	TC	TH	Acrisol Ocrico Albico	Coluviones (Arenosos)/ Areniscas de Tacuarembó	ArF

Nota. [†]Unidad Cartográfica: LC= La Carolina; T= Toledo; TC= Tres Cerros; SA: Sierra de Aiguá. [‡]USDA: United States Department of Agriculture (Natural Resources Conservation Service): PA= Pachic Argiudoll; TA= Typic Argiudolls; TH= Typic Hapludults; D= Typic Dystruptepts. [§]Textura: Ac= Arcilloso; FACL= Franco Arcillo Limoso; ArFr= Arenoso; Franco; FAC= Franco arcilloso.

3.3. Diseño e Instalación del Experimento

El ensayo con macetas fue realizado con un diseño completamente aleatorizado (DCA) con 4 repeticiones, dónde los tratamientos surgieron de un arreglo factorial de 2 factores (4 suelos * 3 especies).

Los cuatro suelos utilizados (Tabla 1) serán explicitados de aquí en más de la siguiente manera: Sitio 1 (Colonia), Sitio 2 (T. y Tres), Sitio 3 (Montevideo) y Sitio 4 (Rivera). Por otro lado, las especies evaluadas fueron: dos leguminosas del género lupino (*Lupinus angustifolius* L., variedad Lavalley y *Lupinus albus* L., variedad Blu 25), y además una gramínea, la avena negra (*Avena strigosa* L., var. Agroplanalto). La avena se utilizó como testigo relativo para estimar la fijación biológica de N y también para evaluar el incremento de fósforo del suelo por parte del Lupino. Las semillas de ambas especies de lupino fueron inoculadas con un inoculante comercial (*Bradyrhizobium* sp., Cepas U-612 + U620) no específico, pero ya evaluado como eficientes para dichas especies (M. Lage, comunicación personal, s.f.). Las semillas, así como los inoculantes de las leguminosas fueron suministradas por la empresa Fadisol S.A. La siembra de este experimento se realizó el 10 de julio de 2019, sembrando 2 o 3 semillas de lupino por maceta para dejar luego de emergencia sólo 1 planta por maceta. La densidad de plantas de avena fue de aproximadamente 10 plantas por maceta.

Las plantas fueron regadas semanalmente mediante riego automático con agua proveniente de la red de agua potable según requerimiento y una vez por semana durante el primer mes del experimento también se regaron con una solución nutritiva (solución Hornum: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCl_2 \cdot 6H_2O$, FeEDTA + microelementos) libre de N y de P.

Las actividades durante el experimento consistieron en cuatro muestreos de suelo y uno de planta al momento de cosecha definido coincidente con el inicio de llenado de grano de lupino.

3.4. Muestreos en Suelo y Planta

Se tomó una submuestra de cada suelo previo a la instalación del experimento con el objetivo de conocer algunos parámetros químicos relacionados con la disponibilidad y dinámica de P en el suelo. Luego, a los 48, 76, 87 y 103 días de crecimiento, se hicieron los muestreos de suelo para evaluar el cambio en las propiedades del suelo (Tabla 2). El primer muestreo fue el

03/09/2019 luego de dos meses del inicio del experimento, el cultivo se encontraba en estado vegetativo. El segundo muestreo fue el 02/10/2019 a mediados de floración, el tercero fue el 14/10/2019 a inicio de llenado de grano de las vainas de lupino y momento de cosecha del experimento y el último fue el 30/10/19. La toma de las muestras de suelo se realizó con calador manual de 1,9 cm de diámetro, extrayendo las mismas a una profundidad de 0-10 cm.

El muestreo de las plantas a cosecha (87 días post siembra) se realizó con tijera de poda a ras del suelo. En este momento del muestreo, las plantas de avena habían alcanzado la madurez completa, mientras que *L. angustifolius* estaba en la fase inicial de llenado de grano y *L. albus* estaba en la etapa final de floración e inicio de las vainas. Las vainas de *L. angustifolius* estaban en una fase más avanzada de desarrollo que las de *L. albus* y representando aproximadamente el 10% de la absorción de P de la biomasa aérea. En consecuencia, las vainas de *L. angustifolius* se separaron del resto de la parte aérea de la planta. En este trabajo, no se fue posible realizar análisis de estos componentes de la vaina, excepto la concentración de P, debido a que el tamaño de la muestra fue insuficiente para realizarlos. El peso seco de la biomasa aérea se expresó en g/maceta o se estimó su equivalente en kg/ha en base a la superficie de la maceta.

Tabla 2*Fechas de muestreo y tipo de análisis en suelo y planta*

Fecha	Etapa (dds [†])	Suelo					Planta						
		pH _{H2O}	PBray1	Al int.	Cl [‡]	Nmin [§]	BA [#]	PT ^{††}	Ca, Mg y K	Fe y Mn	C ^{‡‡}	N ^{§§}	FBN ^{###}
			mg kg ⁻¹	cmol _c kg ⁻¹		mg kg ⁻¹	Kg	%	mg g ⁻¹	mg kg ⁻¹	g kg ⁻¹	%	
17/07/19	0	X	X	X	X	X							
03/09/19	48	X	X										
02/10/19	76		X										
14/10/19	87	X	X	X			X	X	X		X	X	
30/10/19	103		X										

Nota. [†]dds: días después de la siembra; [‡]Cl: Cationes intercambiables: Ca, Mg, K y Na; [§]Nmin: Nitrógeno mineral (N-NO₃+N-NH₄); [#]BA.: Biomasa aérea; ^{††}PT: Fósforo total; ^{‡‡}C: Concentración de Carbono; ^{§§}N: Concentración de Nitrógeno; ^{###}FBN: Fijación biológica de Nitrógeno

3.5. Trabajo de Laboratorio

3.5.1. *Procesamiento de las Muestras de Suelo y Determinaciones Analíticas*

Las muestras de suelo se secaron en una estufa de aire forzado a 40°C, durante 48 hs. hasta peso constante. Luego del secado, las muestras fueron molidas en un molino de cuchillas hasta un tamaño de tamiz 2 mm. En la caracterización de estos suelos se determinaron los siguientes parámetros: materia orgánica (MO), pH, P lábil (PBray1), N mineral (amonio y nitrato), los cationes intercambiables (Ca, Mg, K y Na), la acidez intercambiable, la conductividad eléctrica y la composición granulométrica.

La MO se determinó por el método de Walkley-Black (Nelson & Sommers, 1996), mientras que los cationes intercambiables Ca y Mg se determinaron por absorción atómica, y K y Na por espectrofotometría de llama, previa extracción con Acetato de amonio 1M a pH 7 (Thomas, 1982). El pH del suelo se midió en agua (relación 1:2,5 de suelo: agua) con electrodo de pH Orion Research 701. El contenido de P lábil ó P disponible se midió mediante el método de extracción Bray N° 1 (Lajtha et al., 1999) que es el más utilizado en Uruguay por evaluar aceptablemente la disponibilidad de P para las plantas en la mayoría de los suelos del país (Hernández, 2013). La determinación de N-NO₃⁻ fue realizada a través del método de Griess-Ilosvany citado por (Keeney & Nelson, 1982) y la de N-NH₄⁺ con el método colorimétrico citado por Weatherburn (1967). Las lecturas de P, NH₄⁺ y N-NO₃⁻ fueron realizadas en espectrofotómetro a longitudes de onda de 880, 650 y 540nm, respectivamente, utilizando para los dos primeros analitos el lector de microplacas mrc, mientras que para el nitrato se utilizó el espectrofotómetro UNICAM. La composición granulométrica del suelo se analizó por el método del hidrómetro de acuerdo a Gee y Bauder (1979).

3.5.2 *Procesamiento de las Muestras de Planta y Determinaciones Analíticas*

Para la determinación del rendimiento de MS por maceta de las muestras foliares cosechadas, se registró primeramente el peso fresco de cada una las muestras. Luego, estas muestras fueron secadas en estufa de aire forzado a 65°C hasta peso constante y pesadas nuevamente. Posteriormente, se estimó el rendimiento de MS por maceta y luego en algunos casos se expresó este dato a rendimiento por hectárea, estimado como: nutriente en biomasa por área de maceta (0.018 m²) *10.000 m². Luego del secado, las muestras fueron molidas

primero con un molino de cuchillas fijas y móviles (Marca Marconi, Modelo MA-580) hasta pasar por malla de 2 mm y luego en un molino rotatorio (Marca SampleTek, Modelo 200 vial Rotator), hasta alcanzar el tamaño granulométrico mínimo requerido para análisis isotópico.

A las muestras foliares de los lupinos y la avena se les determinó la concentración de C y de N y la composición isotópica de ^{15}N por el método Dumas mediante espectrometría de masa. La composición isotópica de ^{15}N de las muestras foliares se determinó por espectrometría de masa en un laboratorio de EEUU (<https://csi.unm.edu>). Esta información fue utilizada para estimar la fijación biológica de N (FBN) de las especies de lupino con el método de abundancia natural. La avena se utilizó como cultivo de referencia. Otro parámetro clave para la estimación de la FBN es el valor B; este fue determinado con la misma variedad y la misma cepa de Rhizobio que la empelada en este trabajo, pero creciendo en un medio sin N y bajo condiciones de invernadero (datos no mostrados).

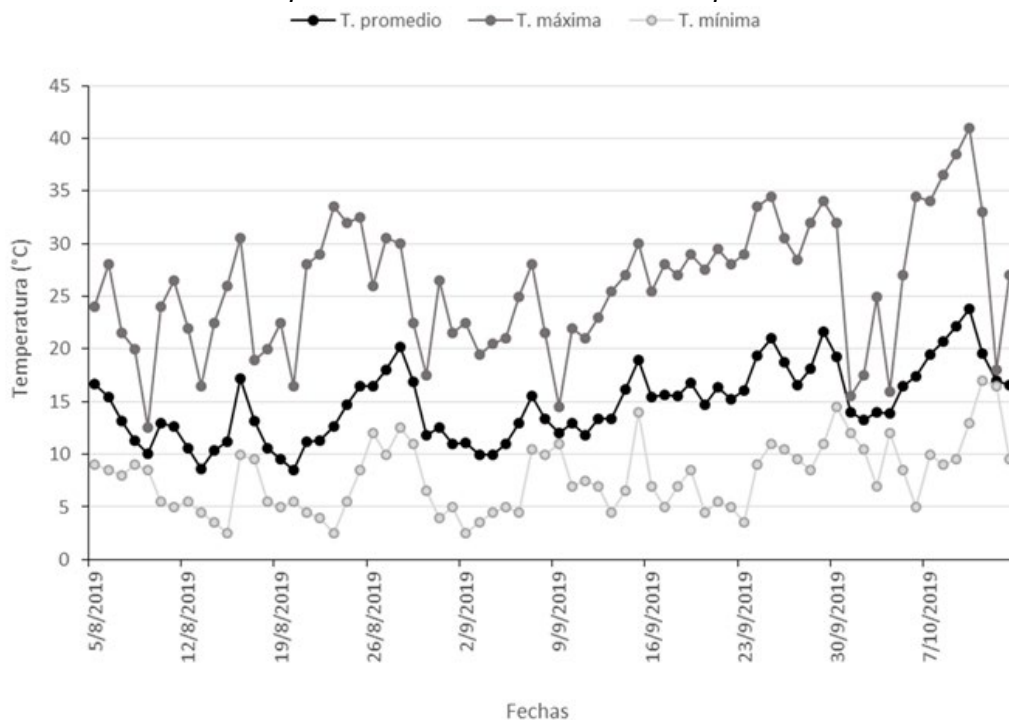
Finalmente, se determinó la concentración de los otros dos macronutrientes primarios, P, calcio (Ca), Mg (Mg) y potasio (K) y de los micronutrientes Mn, Fe. Para esto se calcinaron las muestras a 550 °C y se disolvieron con HCl diluido (20% v/v) según Jones y Case (1990). La concentración de P total se determinó mediante el método del ácido ascórbico (Murphy & Riley, 1962). El resto de los elementos (K, Fe y Mn) se determinó por espectrometría en los extractos foliares de cenizas.

3.6. Clima

En relación a las variables climáticas, sólo se registró la temperatura diaria a nivel de las macetas dentro del invernadero con sensores digitales (Figura 9). La temperatura mínima registrada fue de 2,5 °C en tres fechas (hasta el 2/9), mientras que la máxima de 42, 5 °C se registró en una sola fecha (10/10). La temperatura promedio para el período correspondiente hasta el 13/9 fue de 12,8 °C y desde el 14/9 hasta la última fecha registro fue de 17,6 °C.

Figura 9

Valores de temperaturas promedio, mínima y máxima diaria registrada en el invernáculo durante el período de crecimiento de las especies evaluadas



3.7. Análisis Estadístico

La variación en la disponibilidad de PBray1 en el suelo se evaluó mediante un análisis de varianza de medidas repetidas utilizando el procedimiento MIXED de SAS. En este modelo, los factores entre sujetos fueron la especie y el suelo, el factor dentro del sujeto (repetición) fue el tiempo de muestreo (48, 76, 87 y 103 dds), con una estructura de covarianza de tipo “Unstructured” (la elección de estructura se realizó en base al menor valor AIC).

Si el efecto de interacción triple (especie x suelo x tiempo de muestreo) fue significativo en $p < 0,05$, se realizó un análisis estadístico para cada momento de muestreo. Dentro de cada tiempo de muestreo, por lo tanto, se utilizaron ANOVA de dos vías para estudiar los efectos principales del suelo, las especies y su interacción. En este ANOVA, las especies y el tipo de suelo se consideraron factores fijos. Estos efectos se evaluaron también sobre el pH del suelo, y sobre variables de planta a cosecha (87 dds) como el peso seco de la biomasa aérea, , contenido de P, N total y N fijado de la biomasa aérea, y la concentración de nutrientes en la biomasa aérea (P, N, K, Mn y Fe) usando el Proc GLM de SAS con comparaciones de medias según la prueba de Tukey. En todos los análisis, un valor de p de 0,05 se consideró estadísticamente significativo y un valor de

tendencia de p de 0,1 se consideró marginalmente significativo. Además, se realizaron contrastes ortogonales (C1: Lupino vs. Avena, C2: *L. albus* vs. *L. angustifolius*) para identificar posibles diferencias entre los grupos de interés en nuestro estudio. Se generaron matrices de correlación de Pearson y se realizaron regresiones lineales para describir y explicar la asociación entre distintas variables. Todos los análisis se realizaron con el uso del software estadístico SAS versión 9.04 (SAS Institute) y el software R. A partir de los datos recopilados para PBray1 y los valores de pH, se estimaron y analizaron dos variables adicionales. Una de éstas fue la diferencia entre PBray1 o pH medido en un momento específico y el valor al inicio del experimento del parámetro correspondiente (Δ PBray1-inicial and Δ pH-inicial). La otra variable fue la diferencia entre muestras de suelo con lupino y las muestras de suelo con avena para PBray1 y pH (Δ PBray1_{Lup-Av} and Δ pH_{Lup-Av}, respectivamente).

4. Resultados

4.1. Caracterización de los Suelos

Los suelos utilizados para el experimento fueron contrastantes en los valores de textura y materia orgánica (Tabla 3) así como en pH en agua y otros datos analíticos (Tabla 4). Los suelos localizados de los Sitios 1 y 3 presentaron alta fertilidad natural (mayor suma total de bases intercambiables y contenido de materia orgánica) y textura más fina (mayor contenido de arcilla) respecto a los Sitios 2 y 4, siendo este último el suelo más ácido, pero con bajo nivel de Al intercambiable.

Tabla 3

Localización, clasificación, caracterización física y contenido de materia orgánica de los suelos utilizados en el estudio

Sitio (Localidad)	Suelos según los sistemas de Clasificación USDA [†] & Uruguay		MO	Arena	Limo	Arcilla	Textura [‡]
			%				
Sitio 1 (Colonia)	PA	Brunosol Eútrico Típico	4,8	16,3	38,8	44,9	Ac
Sitio 2 (T. y Tres)	TD	Litosol Sub éútrico melánico	3,7	23,5	44,2	32,3	FAC
Sitio 3 (Montevideo)	TA	Brunosol Éútrico Típico	1,7	19,3	52,3	28,4	FACL
Sitio 4 (Rivera)	TH	Acrisol Ocrico Albico	1,4	84,7	1,4	13,9	ArF

Nota. [†]USDA: United States Department of Agriculture (Natural Resources Conservation Service): PA= Pachic Argiudoll; TA= Typic Argiudolls; TH= Typic Hapludults; D= Typic Dystrupts.; [‡]Textura: Ac= Arcilloso; FACL= Franco Arcillo Limoso; ArFr= Arenoso; Franco; FAC= Franco arcilloso.

Tabla 4

Concentración inicial de PBray1, N mineral, bases intercambiables, Al intercambiable y pH al inicio del experimento

Sitio (Tipo de suelo)	PBray1	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺³	pH
	mg kg ⁻¹			cmol _c kg ⁻¹					
Sitio 1 (Pachic Argiudoll)	12,0	16,4	21,9	14,5	3,0	1,0	0,2	0,05	5,17
Sitio 2 (Typic Dystrutepts)	15,6	25,7	0,3	4,6	1,2	0,3	0,1	0,05	5,32
Sitio 3 (Typic Argiudoll)	10,3	7,8	0,9	17,7	2,8	1,4	0,2	0,02	6,00
Sitio 4 (Typic Hapludults)	5,8	10,9	12,1	1,4	0,5	0,1	0,1	0,16	4,50

4.2. Efecto de la Especie, del Suelo y del Momento de Muestreo en la Concentración de P Bray1

La evolución de PBray1 se analizó a través de un modelo mixto de medidas repetidas en el tiempo (Tabla 5). En este análisis los efectos principales especie y suelo fueron muy significativos ($p < 0,001$) pero la interacción entre estos factores no fue significativa ($p = 0,256$). El efecto especie sobre PBray1 se manifestó en promedio con los mayores valores en los tratamientos con lupino y de éstos los mayores valores se encontraron con la especie *L. albus* (Figura 10). En relación al factor suelo, su efecto sobre PBray1 reflejó en promedio las concentraciones de P inicial correspondiente a cada suelo (Tabla 4) y esto se observó a partir de los 76 dds, momento a partir del cual la concentración tendió a estabilizarse. A los 103 dds, sin embargo, se observaron cambios diferentes de P según especie y suelo, que fueron demostrados por la existencia de interacción triple (Suelo x Especie x Tiempo) significativa ($p = 0,0133$) (Figura 10).

La concentración de PBray1 del suelo a través del tiempo disminuyó significativamente ($P = < 0,0001$) en todos los suelos y bajo todas las especies, observándose, por tanto, los mayores valores de PBray1 en el primer momento de muestreo.

El análisis de contrastes para la interacción triple en la concentración de PBray1 del suelo (Anexo A) reveló que a los 48 dds el C1 (Lupinos vs Avena) fue muy significativo, pero sólo en el Sitio 1 ($p=0,0029$), mientras que el C2 (*L. albus* vs *L. angustifolius*) fue significativo en este sitio ($p=0,0028$) y también en el Sitio 3 ($p=0,0445$). A los 76 dds ambos contrastes fueron no significativos en todos los suelos, es decir las diferencias entre especies desaparecieron. A la cosecha, sólo el C1 fue significativo en los suelos del Sitio 3 ($p= 0,0331$) y Sitio 4 ($p=0,029$) y muy significativo en el Sitio 2 ($p<0,0001$). A los 14 días de cosechada la parte aérea de las plantas (103 dds), el C1 fue muy significativo en el Sitio 1 ($p=0,0008$), Sitio 2 ($p=0,0009$) y Sitio 4 ($p=0,0009$) y significativo en el Sitio 3 ($p=0,034$). El C2 en tanto, fue significativo en todos los sitios excepto en el Sitio 4, en este caso no existió diferencia significativa entre las especies de lupino (Figura 10).

En la Figura 10 también se representa gráficamente el valor de concentración de PBray1 inicial. Primeramente, es pertinente aclarar que es dable esperar que el valor de análisis de PBray1 obtenido al inicio del experimento no haya sido constante en el tiempo, es decir que pudo haber cambiado en el transcurso del experimento. Pese a que no se midieron estas potenciales variaciones, ya que no se incluyó un tratamiento como testigo absoluto (suelo sin CC), se utilizaron los datos de PBray1 inicial como referencia para evaluar el cambio de PBray1 a la cosecha de los CC respecto a ese valor inicial.

Tabla 5

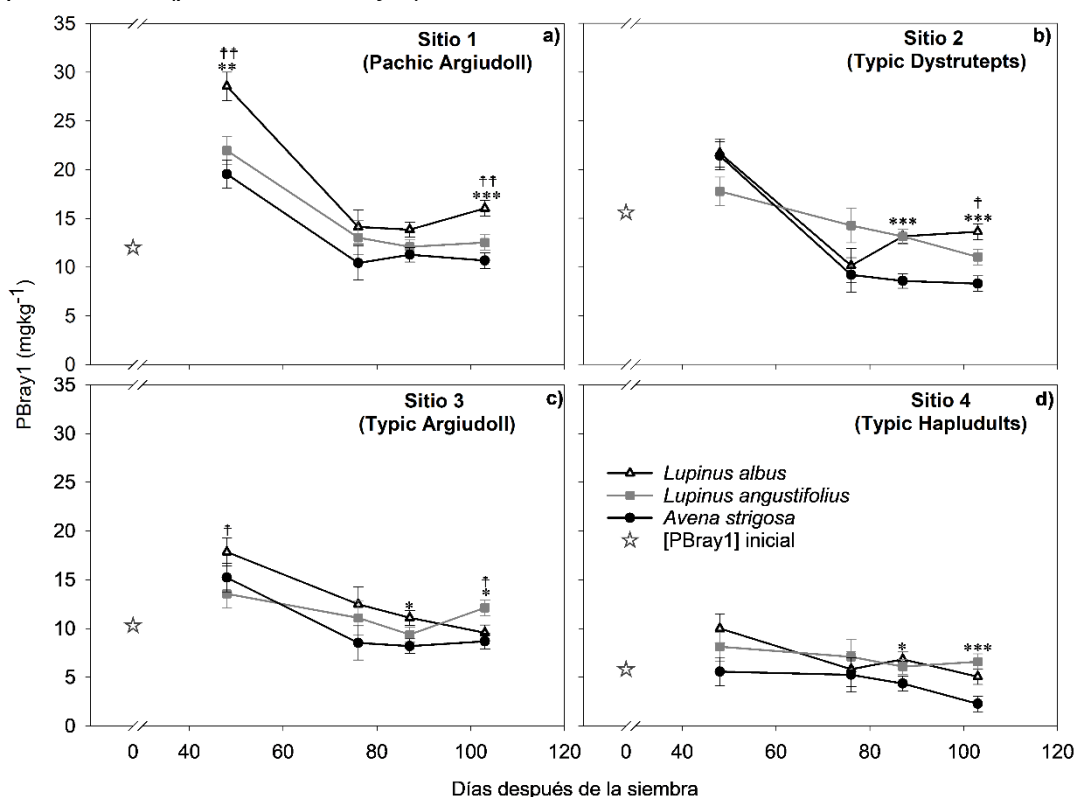
ANOVA de medidas repetidas para la concentración de PBray1 en el suelo

Efecto del tratamiento	Gl	Valor F	Pr > F [†]
Especies	2	23,05	<0,0001
Tipo de suelo	3	101,56	<0,0001
Especie x Tipo de suelo	6	1,36	0,2564
Tiempo de muestreo	3	91,85	<0,0001
Especie x tiempo de muestreo	6	2,29	0,0518
Tipo de suelo x tiempo de muestreo	9	6,66	<0,0001
Especie x tipo de suelo x tiempo de muestreo	18	2,17	0,0133

Nota. [†]Los efectos significativos ($P<0,05$) están en negrita.

Figura 10

Evolución de la concentración de PBray1 durante el crecimiento dos leguminosas (*L. albus* y *L. angustifolius*) y una gramínea (*Avena strigosa*), según tipo de suelo (paneles a, b, c y d)



Nota. Las barras verticales indican el error estándar y los símbolos “*” y “†” indican los momentos en los que el contraste 1 (Lupino vs. avena) y el contraste 2 (*Lupinus albus* vs *Lupinus angustifolius*) fueron significativos (*† $p < 0.05$; **†† $p < 0.01$; ***††† $p < 0.001$), respectivamente. El símbolo “☆” indica la concentración de PBray1 en cada suelo al inicio del ensayo.

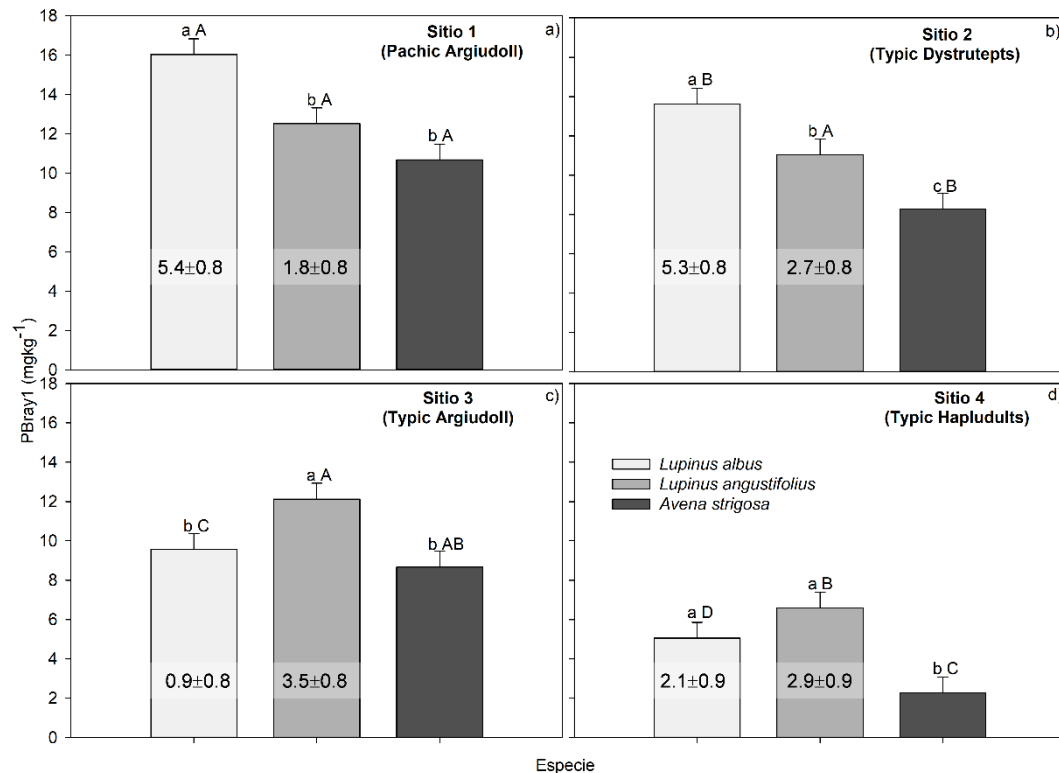
Se realizaron también ANOVAS por fecha de muestreo para evaluar los efectos de especie, suelo y la interacción de éstos sobre PBray1 puntualmente a la terminación de los CC (87 dds) y a los 103 dds. A la terminación de los CC (87 dds) el ANOVA manifestó efecto significativo de los factores principales Especie y Suelo, pero no de la interacción entre estos (Anexo B). El análisis de contraste entre Lupino vs. Avena (C1) fue significativo, siendo la diferencia estimada de 2,6 mg kg⁻¹, mientras que el contraste entre las especies de lupino (C2) no fue significativo en esta fecha de muestreo. Las comparaciones múltiples de las medias según método Tukey reveló que existió diferencia significativa de cada leguminosa con la avena en 3,1 ($p < 0,0001$) y 2,1 mg kg⁻¹ ($p = 0,0004$), respectivamente. Para este momento de muestreo, el cambio de Δ PBray1-inicial

fue casi nulo en los suelos con lupino; con avena en tanto, se registró una disminución promedio de 2,8 mg kg⁻¹. Se observaron también diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de PBray1 entre suelos, reflejando en gran medida los valores de análisis de P de los suelos en estudio, previo a la instalación del experimento. La concentración de PBray1 no fue estadísticamente diferente entre los Sitios 1 y 2, siendo además los niveles de P en estos suelos mayores y significativamente diferentes a los demás suelos ($P < 0,05$). Para este momento de muestreo, el Δ PBray1-inicial fue muy bajo en los suelos de textura pesada y en el Sitio 4; en tanto, con el suelo del Sitio 2 se registró una disminución promedio de 4,0 mg kg⁻¹. Los efectos de la especie y de la interacción Suelo*Especie no fueron significativos sobre el cambio de PBray1 relativo a la avena (cultivo de referencia, datos no mostrados). Entre suelos, sin embargo, se constataron diferencias significativas, siendo el mayor incremento entorno al 57% en el Sitio 2, lo cual significó una concentración promedio de 4,6 mg kg⁻¹. Además, en los suelos de textura más pesada (Sitios 1 y 3) se registraron algunas variaciones de cambio negativas, es decir mayores valores de PBray1 en suelo con avena que con lupino, en cambio, en los suelos arenosos los valores siempre fueron mayores con lupino.

El ANOVA a los 103 dds, en cambio, manifestó efecto significativo de los factores principales ($p < 0,0001$) pero también de la interacción Suelo x Especie ($p = 0,0048$) (Figura 11 y Anexo C). El C1 fue significativo en todos los suelos, siendo la diferencia de 4,0; 3,6; 3,6 y 2,2 mg kg⁻¹ en Sitio 2, Sitio 1, Sitio 4 y Sitio 3, respectivamente. El C2 también fue significativo en este momento en tres suelos, destacándose *L. albus* en los suelos del Sitio 1 y del Sitio 2, con una diferencia respecto a la avena de 5,3 mg kg⁻¹. El otro suelo donde se observó diferencia significativa entre especies de lupino fue en el Sitio 3, pero en este suelo *L. angustifolius* se destacó por sobre *L. albus*, con una diferencia respecto a la avena de 3,4 mg kg⁻¹. En tanto, en este suelo la diferencia de *L. albus* respecto a la avena fue no significativa y estimada en 0,9 mg kg⁻¹. En síntesis, las variaciones de Δ PBray1_{Lup-Av} dependieron de la especie y el suelo y oscilaron en el rango de 0,9 (diferencia no significativa) a 5,4 mg kg⁻¹ ($p < 0,0001$). Además, mediante el análisis de comparación de medias (análisis no mostrado) se constató diferencia significativa de ambas especies de lupino respecto a la avena sólo en los suelos de textura arenosa y menor fertilidad natural (Sitio 2 y Sitio 4). En los otros suelos, en tanto, Δ PBray1_{Lup-Av} fue significativo sólo en una especie de lupino, ésta fue *L. albus* en Sitio 1 y *L. angustifolius* en Sitio 3.

Figura 11

Valores promedio de concentración de PBray1 según especie a través de los suelos evaluados (paneles a, b, c y d) dada la interacción significativa entre estos factores a los 103 dds



Nota. Las barras verticales indican el error estándar. Dentro de cada efecto suelo, letras diferentes indican diferencias significativas entre especies, según test de Tukey con un nivel de $P=0,05$. Los valores representan los incrementos de concentración promedio relativos a la avena ($\Delta PBray1_{Lup-Av}$) \pm error estándar.

4.3. Efecto de la Especie y del Tipo de Suelo sobre otras Propiedades Químicas del Suelo a los 87 dds.

El pH del suelo a cosecha fue significativamente diferente en los suelos que tuvieron lupino respecto a la avena, observándose una diferencia promedio de 0,5 unidades de pH (Tabla 6). En comparación con la medida de pH a los 48 dds, los valores fueron menores a cosecha, aunque esta disminución se observó sólo en suelos con lupino, ya que con avena se observó un leve aumento (0,1 unidad de pH). Finalmente, cuando se comparó ΔpH -inicial, se constató una disminución de pH con ambas especies de lupino, pero sin diferencias estadísticas entre ellas; con avena, en tanto, se registró un aumento promedio de pH de 0,25 unidades (Tabla 6). En relación al efecto suelo sobre el pH se observa que este

fue también muy significativo, registrándose un incremento promedio de 0,57 unidades en el Sitio 4 y una disminución de similar magnitud (-0,62 unidades) en el suelo del Sitio 2. La interacción Suelo x Especie fue significativa ($p= 0,0365$) para la variable de pH medida a cosecha (Tabla 6), y como se puede ver en la Figura 12, los menores valores de acidez siempre fueron registrados en suelos con avena. Además, el pH del suelo con esta especie fue significativamente diferente al que tenía lupino en todos los suelos, con excepción del Sitio 1 dónde las diferencias entre especies fueron no significativas (Figura 12).

Tabla 6

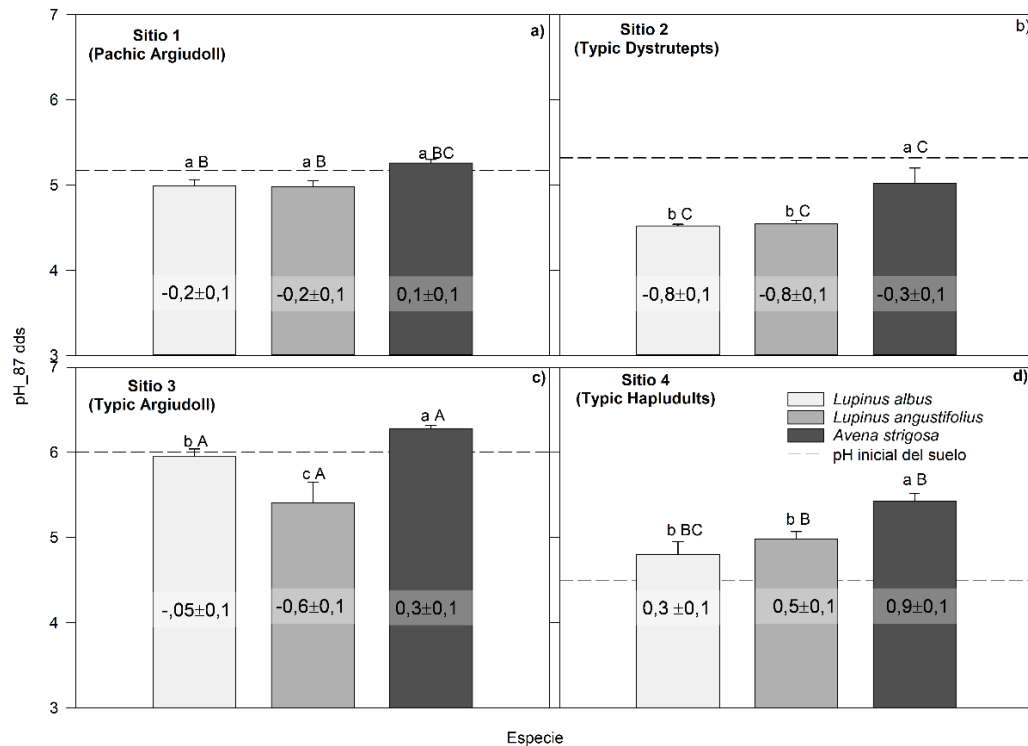
Valores promedio de pH del suelo a los 48 y 87 dds y la diferencia de este último con el pH inicial en función de la especie y el suelo

Especie	pH 48 dds [†]	pH 87 dds [‡]	Δ pH-inicial [§]
<i>L. albus</i>	5,20 (0,05)b	5,07 (0,05) b	-0,18 (0,05) b
<i>L. angustifolius</i>	5,37 (0,05) a	4,98 (0,05) b	-0,27 (0,05) b
Avena	5,40 (0,05) a	5,50 (0,05) a	0,25 (0,05) a
Suelo (Sitio)			
1	5,39 (0,06) b	5,08 (0,06) b	-0,10 (0,06) b
2	4,77 (0,06) d	4,69 (0,06) c	- 0,62 (0,06) c
3	6,12 (0,06) a	5,88 (0,06) a	-0,12 (0,06) b
4	5,12 (0,06) c	5,07(0,06) b	0,57 (0,06) a
ANOVA			
Factor	Pr > F [#]		
Especie	0,0040	< 0,0001	< 0,0001
Suelo	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
SueloxEspecie	0,5673	0,0365	0,0365

Nota. Los valores representan el promedio \pm Error estándar (valor entre paréntesis). Diferentes letras en una variable dada bajo cada factor (Especie/Suelo) indica diferencias significativas ($p<0,05$).; [†]pH 48 dds: pH medido a los 48 días desde la siembra; [‡]pH 87 dds: pH medido a cosecha; [§] Δ pH-inicial: la diferencia entre pH 87 dds y el pH inicial de cada suelo; [#] Significativo al nivel de probabilidad 0.05.

Figura 12

Valores de pH del suelo a los 87 dds según especie y tipo de suelo



Nota. Letras minúsculas diferentes, indican diferencias entre especies dentro de un sitio. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias entre suelos dentro de una especie. Según test de Tukey ($p < 0,05$). Los valores representan las diferencias promedio de pH a cosecha con el pH inicial de cada suelo (ΔpH -inicial \pm error estándar).

El análisis de contraste entre los grupos de interés Lupino vs. Avena (C1) fue significativo en todos los suelos, siendo la diferencia de -1,2; -1,1; -1,0 y -0,6 unidades de pH en los Sitios 3, 4, 2 y 1, respectivamente (Anexo D). El C2 también fue significativo, pero sólo en el suelo del Sitio 3, destacándose *L. angustifolius* con una disminución de pH respecto al valor inicial de -0,6 unidades por sobre *L. albus* que fue de -0,05 unidades (Figura 12). En síntesis, de acuerdo a este análisis de contrastes $\Delta\text{pH}_{\text{Lup-Av}}$ fueron estadísticamente diferentes en todos los suelos, y ΔpH -inicial osciló en un rango de valores más negativo para las especies de lupino, de -0,8 a 0,5 y en uno más positivo para la avena, entre -0,3 y 0,9 (Figura 12). En relación a la variable $\Delta\text{pH}_{\text{Lup-Av}}$ ninguno de los efectos fue estadísticamente significativo (especie, suelo e interacción Suelo x Especie, datos no mostrados), revelando que la magnitud de acidificación por los lupinos no fue

estadísticamente diferente entre especies de lupino, entre suelos y a través de los suelos.

Por otro lado, los valores de acidez intercambiable se correspondieron con los de pH, es decir cuando disminuyó el pH incrementó la acidez del suelo, pero este aumento de acidez no estuvo directamente asociado con un aumento del aluminio Intercambiable (el mayor incremento promedio de Al intercambiable respecto a la concentración inicial se registró en T. y Tres y este fue de 0,09 cmol_c kg⁻¹, alcanzando a los 87 dds un valor de 0,14 cmol_c kg⁻¹, Anexo E) sino con un aumento en la concentración de hidrogeniones. Además, los mayores valores de acidez fueron observados en los suelos arenosos del Sitio 2 y 4 dónde la magnitud de cambio de pH por efecto de la especie también fue mayor. En relación a esto, se constató también que en el suelo del Sitio 4, dónde fue mayor el ΔpH-inicial, fue también dónde se expresó la mayor diferencia significativa de acidez intercambiable entre suelo con lupino vs. suelo con avena. En el suelo del Sitio 4, en cambio, la acidez intercambiable del suelo con avena fue diferente estadísticamente respecto sólo a la del suelo con *L. albus*. En los Sitios 1 y 3, en cambio, la acidez intercambiable del suelo entre las especies evaluadas fue estadísticamente no significativa.

4.4. Efecto de la Especie y del Tipo de Suelo en el Rendimiento de Materia Seca y Estatus Nutricional de los CC a Cosecha.

4.4.1. Rendimiento de Materia Seca y de P Absorbido por los CC

De acuerdo a los resultados del ANOVA, los efectos principales de Especie y Suelo, así como su interacción afectaron significativamente las variables de biomasa aérea y el contenido de P en la biomasa (Tabla 7). El mayor rendimiento de MS fue observado con la avena, luego *L. albus* y finalmente *L. angustifolius*. En relación a los suelos, el menor rendimiento fue observado en el Sitio 4, intermedio en los suelos de textura más pesada y el mayor en el Sitio 2, el cuál fue tres veces mayor al obtenido en el Sitio 4. El rendimiento de cada especie, a su vez, fue afectado diferencialmente por el tipo de suelo (interacción Suelo X Especie significativa; $p < 0,0001$). La avena rindió más que los lupinos, excepto en el Sitio 3, mientras que *L. albus* rindió alrededor de dos veces más que *L. angustifolius* en todos los suelos. En relación a la concentración de P, las diferencias entre sitios dentro de cada especie fueron menores que entre especies con excepción del Sitio 4, donde las concentraciones fueron, en promedio, la mitad

de las registradas en los otros sitios, cualquiera sea la especie considerada. La avena mostró la mayor variación en términos de contenido de P entre sitios (Tabla 7). En suelos con lupino, en tanto, estas diferencias entre suelos disminuyeron, aunque en el sitio 4 el contenido de P de esta especie fue sustancialmente menor que en los demás sitios. El componente vaina de *L. angustifolius* no fue incluido en los datos mostrados en la Tabla 7. Sin embargo, cuando éste componente se incluyó en el análisis, el efecto de las especies ya no fue significativo, no existiendo diferencia en el contenido de P alcanzado por las especies de lupino en los sitios 1, 2 y 4. En el sitio 3, en tanto, el contenido de P en plantas de *L. albus* persistió siendo superior al de *L. angustifolius*. En promedio, la concentración de P de las plantas de *L. angustifolius* en los sitios 1, 2 y 3, con y sin vainas, fue de 1.6 y 1.4 mg g⁻¹ de MS, respectivamente.

Tabla 7

Valores promedio de la biomasa aérea, la concentración de P y N de la planta, el contenido de P y N de la planta y la relación N:P de las especies según tipo de suelo.

Sitio	Especies	Biomasa aérea	Concentración	Concentración de	Contenido de	Contenido de	Relación N:P
		(bs)	de P en planta	N en planta	P en planta	N en planta	
		g maceta ⁻¹	mg g ⁻¹ peso seco		mg maceta ⁻¹		
1	<i>Lupinus albus</i>	12,5 a A	1,3 a AB	29,3 a ns	15,5 a A	366,5 a A	23,4 a B
	<i>Lupinus angustifolius</i>	6,7 b A	1,4 a A	26,1 a ns	9,0 b A	174,4 b A	19,5 a B
	<i>Avena strigosa</i>	14,5 a B	1,2 b AB	5,7 b B	16,8 a B	81,9 c B	4,9 b B
2	<i>Lupinus albus</i>	13,9 b A	1,4 a A	31,9 a ns	19,5 a A	436,9 a A	22,6 a B
	<i>Lupinus angustifolius</i>	7,8 c A	1,4 a A	24,5 b ns	10,6 b A	189,8 b A	18,2 b B
	<i>Avena strigosa</i>	27,0 a A	0,9 b B	8,4 c AB	23,5 a A	222,1 b A	9,5 c B
3	<i>Lupinus albus</i>	14,0 a A	1,1 c BC	28,8 a ns	15,4 a A	402,4 a A	26,7 a AB
	<i>Lupinus angustifolius</i>	7,0 b A	1,5 a A	29,4 a ns	10,7 b A	203,6 b A	19,3 a B
	<i>Avena strigosa</i>	8,1 b C	1,3 b A	6,5 b B	10,2 b C	52,9 c B	5,3 b B
4	<i>Lupinus albus</i>	6,5 b B	0,8 a C	27,5 a ns	5,6 ns B	180,7 a B	32,8 b A
	<i>Lupinus angustifolius</i>	1,7 c B	0,6 b B	30,2 a ns	1,1 ns B	38,1 b B	76,0 a A
	<i>Avena strigosa</i>	11,0 a BC	0,5 b C	10,2 b A	5,3 ns D	111,8 ab B	21,4 c A
Efecto del tratamiento							
Especies		<,0001	0,0004	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
Tipo de suelo		<,0001	<,0001	0,3286	<,0001	<,0001	<,0001
Especie*tipo de suelo		<,0001	0,0017	0,0088	0,0062	0,0009	<,0001

Nota. Los efectos significativos ($p < 0,05$) están en negrita. Diferentes letras minúsculas dentro de una columna indican diferencias entre especies dentro de cada tipo de suelo, y diferentes letras mayúsculas dentro de una columna indican diferencias entre sitios a través de especies que son significativas a un nivel de p de 0.05. ns: significa que no hay diferencia significativa

Las cantidades de PT absorbidas no fueron estadísticamente diferentes entre avena y *L. albus* (Tabla 7), aunque a través de los suelos, sólo en el Sitio 3, *L. albus* mostró mayor absorción de P que la avena. La absorción de P, al igual que el rendimiento de MS entre especies de lupinos fue significativamente diferente, observándose los menores valores en *L. angustifolius*. El análisis de contraste entre los grupos de interés Lupino vs. Avena (C1) fue significativo sólo en los Sitios 1 y 2 (Anexo F), siendo la cantidad de P absorbido por la avena mayor a la especie lupino en éstos suelos. El C2, en cambio, fue significativo en todos los suelos, destacándose *L. albus* por sobre *L. angustifolius* en la cantidad de P absorbido (Anexo F).

4.4.2. Concentración de Ca, Mg, K y Micronutrientes (Fe y Mn)

El análisis de Anova para la concentración de otros nutrientes en planta reveló que sólo la concentración de K fue similar entre especies, pero sobre el resto de los nutrientes existieron diferencias significativas entre especies (Tabla 8). En los cationes, por ejemplo, se observaron variaciones significativas en los niveles de calcio (Ca) y magnesio (Mg) entre especies, y *L. angustifolius* presentó consistentemente mayor concentración en todos los tipos de suelo evaluados.

Para los micronutrientes Mn y Fe, se registraron las mayores concentraciones en *L. angustifolius*, mientras para las otras especies las concentraciones fueron más bajas y sin diferencias estadísticas entre sí, con excepción del Mn que fue significativamente mayor en *L. angustifolius* que en la avena. El efecto especie, a su vez, sobre la concentración foliar de nutrientes fue diferente según el tipo de suelo (interacción significativa Suelo x Especie), con excepción del K. Este nutriente sólo mostró diferencias promedio entre suelos, con mayores valores de concentración cuando las plantas crecieron en suelo en el Sitio 3 y menores cuando crecieron en el Sitio 4. Las concentraciones de Mn y Fe presentaron diferencias entre suelos, observándose los valores mayores de Mn en plantas que crecieron en el suelo del Sitio 2 y los mayores de Fe en el Sitio 4. A su vez, cuando se compararon las concentraciones de Mn según especie a través de los suelos, los valores menores y sin diferencias estadísticamente significativas fueron observados en avena a través de todos los suelos; con *L. albus*, en cambio, se observó mayor concentración en las plantas que crecieron en el suelo del Sitio 3, mientras que con *L. angustifolius* en plantas del Sitio 2 (Tabla 8). En relación al Fe, cuando se compararon las concentraciones según especie a través de los suelos, los valores mayores

fueron observados en ambas especies de lupino a través de todos los suelos, con excepción del Sitio 4 dónde la concentración en avena fue estadísticamente mayor a la de los lupinos.

Tabla 8

Concentración promedio de Ca, Mg, K, Mn y Fe en la biomasa área según especies y tipo de suelo

Sitio	Especie	Concentración de	Concentración	Concentración	Concentración	Concentración
		Ca en planta	de Mg en planta	de K en planta	de Mn en planta	de Fe en planta
		mg g ⁻¹			mg kg ⁻¹	
1	<i>Lupinus albus</i>	9,8 b A	2,5 b A	14,9 ns B	448,7 b B	94,8 b BC
	<i>Lupinus angustifolius</i>	26,5 a ns	4,5 a ns	16,2 ns ns	1067,0 a B	214,2 a ns
	<i>Avena strigosa</i>	3,1 c B	1,2 c B	15,5 ns ns	216,7 b ns	36,9 b B
2	<i>Lupinus albus</i>	3,9 b B	1,1 b B	13,7 ns B	537,6 b B	54,0 ab C
	<i>Lupinus angustifolius</i>	22,5 a ns	4,4 a ns	14,7 ns ns	3161,0 a A	142,1 a ns
	<i>Avena strigosa</i>	2,9 b B	1,5 b B	13,0 ns ns	214,9 b ns	28,7 b B
3	<i>Lupinus albus</i>	7,2 b AB	2,0 b AB	17,1 ns A	1191,2 a A	165,3 a AB
	<i>Lupinus angustifolius</i>	26,7 a ns	4,5 a ns	17,4 ns ns	791,9 a B	214,6 a ns
	<i>Avena strigosa</i>	4,4 b AB	1,0 b B	15,1 ns ns	209,8 b ns	47,7 b B
4	<i>Lupinus albus</i>	4,3 b B	1,2 b B	13,2 ns B	628,6 ab B	189,0 b A
	<i>Lupinus angustifolius</i>	12,0 a ns	3,1 a ns	10,8 ns ns	1021,5 a B	218,6 b ns
	<i>Avena strigosa</i>	8,4 a A	2,9 a A	10,6 ns ns	268,3 b ns	477,2 a A
Efecto del tratamiento						
Especies		<,0001	<,0001	0,7014	<,0001	0,0342
Tipo de Suelo		0,1651	0,4564	0,0453	<,0001	<,0001
Especie* Tipo de suelo		0,0237	0,0026	0,4818	<,0001	<,0001

Nota. Los efectos significativos ($P < 0,05$) están en negrita. Diferentes letras minúsculas dentro de una columna indican diferencias entre especies dentro de cada tipo de suelo, y diferentes letras mayúsculas dentro de una columna indican diferencias entre sitios entre especies que son significativas a un nivel p de 0,05. ns: significa que no hay diferencia significativa

4.4.3. Biomasa de N y cantidad N fijado por las especies de lupino

La cantidad de N cosechada por hectárea por las especies de lupino, al igual que el rendimiento de MS y el P absorbido, fue significativamente diferente entre especies y entre suelos, registrándose los valores más bajos con *L. angustifolius* en todos los suelos.

Los resultados de ANOVA revelaron que no existió diferencia significativa entre especies en la proporción de N fijado del aire, pero si la hubo en N total en biomasa y cantidad de N fijado (Tabla 9), registrándose los mayores valores en *L. albus*, en promedio de 196 y 134 kg N ha⁻¹, respectivamente dado el mayor rendimiento de MS alcanzado con esta especie de lupino (Tabla 7). En relación al efecto de suelo, se constató que este fue significativo sobre las tres variables antes mencionadas (Tabla 9), constatándose los valores más bajos en el Sitio 4 y los mayores en el Sitio 3. La relación entre el Rendimiento de materia seca (MS) y el N fijado fue alta y significativa, rindiendo alrededor de 20 kg N fijado por tonelada de MS producida en ambas especies de lupino.

Tabla 9

Valores promedio de proporción de N fijado (% FBN), Biomasa de N y cantidad de N fijado según especie y suelo

Especie	FBN	Biomasa N	N fijado
	%	Kgha ⁻¹	
<i>L. albus</i>	66,2 (2) a	195,8 (10) a	134,1 (9) a
<i>L. angustifolius</i>	60,3 (3) a	83,4 (11) b	60,2 (11) b
Suelo			
Sitio 1	71,7 (3) b	152,8 (14) a	111,3 (12) a
Sitio 2	59,4 (3) c	179,3 (15) a	107,5 (13) a
Sitio 3	82,5 (3) a	171,2 (14) a	138,3 (12) a
Sitio 4	39,3 (5) d	55,3 (15) b	31,5 (19) b
ANOVA			
Factor		Pr> F [†]	
Especie	<0,1206	<0,0001	<0,0001
Suelo	<0,0001	<0,0033	0,0015
SueloxEspecie	<0,0644	0,8163	0,9060

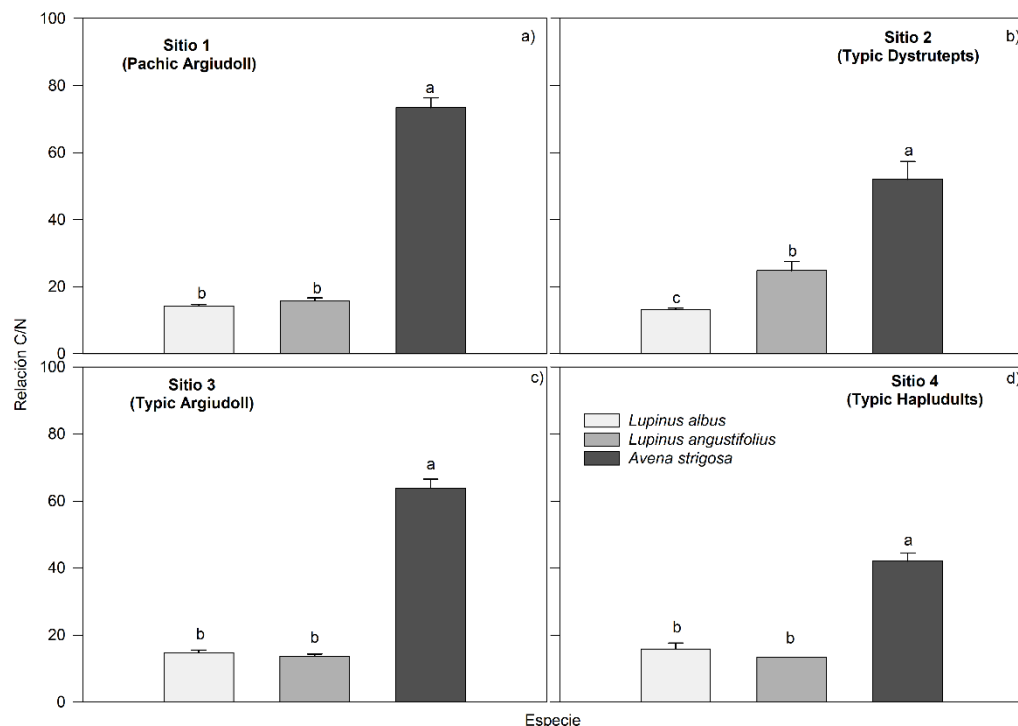
Nota. Los valores representan el promedio \pm Error estándar (valor entre paréntesis). Diferentes letras en una variable dada bajo cada factor (Especie/Suelo) indica diferencias significativas ($p < 0,05$).; [†] Significativo al nivel de probabilidad 0,05.

4.4.4. Relaciones C/N de los cultivos de cobertura

Los resultados de ANOVA revelaron que las proporciones C/N de las coberturas fueron estadísticamente diferentes entre especies, los mayores valores se observaron en avena y los menores con lupino, en promedio las relaciones fueron de 58 y 16, respectivamente (Figura 13). En relación al efecto suelo, se constató que este fue significativo, los menores valores se constataron en el Sitio 4 y los mayores en el Sitio 1, en promedio de 24 y 34, respectivamente. El efecto de la interacción también fue significativo, los mayores valores de relación C/N se registraron con avena creciendo en suelos de textura más pesada y los menores con lupinos en suelos de textura arenosa. El análisis de contraste entre los grupos de interés Lupino vs. Avena (C1) fue muy significativo en todos los suelos. El C2, en cambio, fue significativo sólo en el Sitio 2, observándose una mayor relación C/N en *L. angustifolius* respecto a *L. albus* (Anexo F).

Figura 13

Relación C/N de las dos leguminosas (L. albus y L. angustifolius) y la gramínea (Avena strigosa) en los cuatro sitios evaluados de plantas cosechadas a los 87 dds



Nota. Las barras verticales indican el error estándar. También se muestra el resultado de ANOVA para los factores Especie, Suelo, y la interacción SueloxEspecie (y los contrastes para este efecto de interacción). Dentro de cada efecto suelo, letras diferentes indican diferencias significativas entre especies, según test de Tukey con un nivel de $p=0,05$.

Vale la pena señalar además que se observó una asociación positiva y significativa entre la relación C/N y el rendimiento de MS, pero sólo con avena y data particionada por textura de suelo; la correlación de Pearson para suelos de textura pesada fue de $r=0,81$ ($p=0,015$) y para los de textura liviana fue de $r=0,74$ ($p=0,037$). También se constató una asociación alta y positiva entre la relación C/N y la concentración de P foliar ($r=0,69$; $p=0,003$), aunque esto también sólo con la especie avena. No se observó asociación alguna de estos parámetros (C/N-rendimiento de MS y C/N-%P) para las leguminosas.

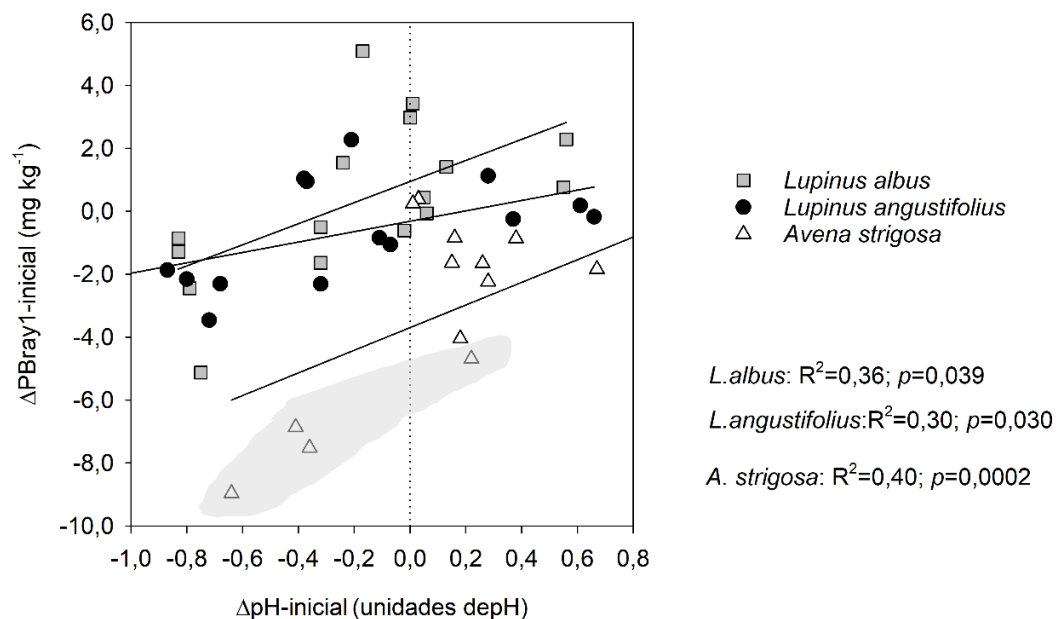
4.5. Relaciones entre Parámetros de Suelos y Plantas

Las correlaciones entre variables de planta (Tabla 10) revelaron que existió una asociación media pero positiva y muy significativa ($p<0,0001$) entre el

contenido de N y P de la biomasa y cuando se segregó esta asociación según especie, aumentó a 0,90 ($p < 0,0001$) y a 0,65 ($p = 0,0068$) para las leguminosas y la avena, respectivamente. Estas variables también se relacionaron positivamente con la disponibilidad de PBray1 del suelo a los 48 y 87 dds (Tabla 10) y negativamente con ΔpH -inicial, revelando que cuando el pH disminuyó relativo a su valor inicial (diferencia negativa), la absorción de N y P aumentó. La biomasa aérea de lupinos y avena se asoció con la disponibilidad de PBray1 en el suelo a los 48 dds, como se muestra en la Tabla 10. Además, la relación entre ΔpH -inicial y Δ PBray1-inicial representada para cada especie en la Figura 14 mostró una asociación positiva, indicando que cuando el pH disminuyó a su valor inicial (acidificación del suelo), la disponibilidad de PBray1 del suelo a la cosecha disminuyó respecto su valor inicial. Este resultado podría explicarse por la asociación negativa ($-0,59$, $p < 0,001$) entre el contenido de P de la planta y la diferencia de pH inicial (Tabla 10).

Figura 14

Relaciones entre ΔpH -inicial y ΔPBray1 -inicial según especie



Nota. ΔpH -inicial: diferencia entre pH del suelo a cosecha y pH del suelo al inicio del experimento y ΔPBray1 -inicial: diferencia entre PBray1 del suelo a cosecha y PBray1 del suelo al inicio del experimento. La línea de puntos indica valores negativos (acidificación del suelo) y valores positivos (alcalinización). El área sombreada en gris encierra los datos del sitio 2 con avena.

Se detectó también una correlación negativa y significativa entre la concentración de Fe foliar y las variables PBray1 y biomasa de P y positiva muy significativa con $\Delta\text{Ph-inicial}$. Estas últimas asociaciones indicarían que cuánto más P disponible había en el suelo y mayor fue el rendimiento de P menor fue la concentración de Fe foliar, a su vez éste último fue mayor cuando incrementó el pH del suelo respecto al inicial (Tabla 10). La concentración de Mn en la planta, sin embargo, tuvo una relación negativa con $\Delta\text{Ph-inicial}$, lo que indica que la solubilidad del Mn en el suelo aumentó con la acidificación del suelo en el rango de pH de los suelo evaluados que fue entre 4,5 y 6,4 unidades (Tabla 10).

Tabla 10*Correlación de Pearson (r) para todas las combinaciones de especies y suelos a los 87 dds*

	pH_87dds	Δ pH- inicial	PBray1- 48dds	PBray1- 87dds	Biomasa aérea (bs*)	Contenido N planta	Contenido P planta	Relación N/P	Conc. Fe planta
Δ pH-inicial	0,53 ***								
PBray1-48dds	-0,22	-0,56 ***							
PBray1-87dds	-0,24	-0,61 ***	0,76 ***						
Biomasa aérea (bs*)	-0,09	-0,24	0,39 **	0,06					
Contenido N planta	-0,29	-0,56 ***	0,49 ***	0,50 ***	0,32 *				
Contenido P planta	-0,15	-0,59 ***	0,66 ***	0,45 **	0,83 ***	0,54 ***			
Relación N/P	-0,32 *	0,05	-0,21	-0,08	-0,37 *	0,41 **	-0,42 **		
Conc. Fe planta	0,11	0,53 ***	-0,57 ***	-0,42 **	-0,36 *	-0,17	-0,61 ***	0,43 **	
Conc. Mn planta	-0,27	-0,36 *	0,02	0,36 *	-0,28	0,14	-0,13	0,24	0,15

Nota. Significativa en * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.; *bs: base seca.

5. Discusión

5.1. Cambios en la Concentración PBray1 en el Suelo a través del Ciclo de Crecimiento de los Cultivos

La concentración de PBray1 disponible varió a través del ciclo de crecimiento de las plantas (Figura 10). En la primera fecha de muestreo (48 dds) aumentó en forma considerable para luego decrecer en los siguientes muestreos y llegar a niveles de P similares a los valores iniciales de cada uno de los suelos evaluados (Figura 10). Ese incremento a los 48 dds pudo haber estado particularmente relacionado con la mineralización del P orgánico del suelo, dada la perturbación inicial del mismo al inicio del experimento. La magnitud de este aumento de P disponible se explicaría por los niveles de MO de cada uno de los suelos (Tabla 3), observándose los mayores aumentos en los sitios 1 y 2 y los menores en los sitios 2 y 4. A partir de los 76 dds el nivel de P disponible del suelo empezó a llegar a los niveles de equilibrio, es decir a los valores de P previo al inicio del experimento. Los cambios en PBray1 del suelo en los distintos momentos de muestreo estuvieron explicados en parte por los procesos de mineralización de P en los distintos suelos, pero también por el efecto propio de las especies para cubrir sus necesidades de P relativas a la disponibilidad de P inorgánico. Esta mineralización de P estaría asociada a factores biológicos de suelo (actividad biológica), los cuáles influyen en la solubilidad (accesibilidad) de formas de P orgánico, y también bioquímicos, ya que la demanda de P relativa a la disponibilidad de P del suelo es controlada por las tasas de hidrólisis realizadas por enzimas fosfatasas extracelulares (Condrón et al., 2005). Otros factores físicos, como por ejemplo los cambios en las condiciones de humedad y de secado del suelo y/o cambios en la estabilidad de los agregados, pueden haber promovido la mineralización de P orgánico (Condrón et al., 2005). Esto podría explicar en parte el aumento inicial de PBray1 a los 48 dds en los suelos con mayor contenido de materia orgánica, que fueron los Sitios 1 y 3 (Figura 10, Tabla 3).

5.2. Cambio de PBray1-inicial y Δ PBray1_{Lup-Av} a la Terminación de los CC y a los 103 dds.

La especie y el suelo mostraron tener efecto muy significativo sobre la disponibilidad de PBray1 medido en el suelo a los 87 dds, estando ausente el efecto de interacción de dichos factores. El valor promedio de PBray1 en este momento fue significativamente ($P < 0,0001$) superior en los suelos dónde creció lupino que dónde creció avena ($10,7$ vs $8,1$ mg kg⁻¹, respectivamente).

Por otro lado, en suelos con lupino se observó que ΔP_{Bray1} -inicial fue insignificante agrónomicamente, pero con avena disminuyó en $2,8 \text{ mg kg}^{-1}$, magnitud que fue similar a la diferencia entre lupino y avena indicada en el párrafo anterior. Esto revelaría que la especie de lupino solubilizó formas P residual no disponible que fueron absorbidas durante el crecimiento de los cultivos, y esas formas disponibles se mantendrían en un nivel de equilibrio que no disminuyó por lo absorbido por las plantas, por el contrario, con la avena el P disponible se redujo. Al comparar entre suelos se observó que los valores de P disponible a cosecha respecto a los niveles iniciales fueron similares en la mayoría de los suelos, con excepción del suelo del Sitio 2 que disminuyó $4,0 \text{ mg kg}^{-1}$. El menor cambio de P_{Bray1} en los Sitios 1 y 3 podría explicarse por el mayor poder buffer de estos suelos (mayor contenido de arcilla y mayor capacidad de intercambio catiónico). En el Sitio 4, en tanto, el escaso cambio podría deberse a la mala performance de todos los cultivos, en particular de *L. angustifolius* que tuvo el menor rendimiento de biomasa aérea y menor contenido de P en biomasa (Tabla 7). En relación a $\Delta P_{Bray1}_{Lup-Av}$, las diferencias entre especies de lupino, así como éstas a través de los suelos no fueron estadísticamente significativas. En tanto, las diferencias entre suelos fueron significativas ($p < 0,0001$), observándose el mayor cambio de P_{Bray1} relativo a la avena en los suelos arenosos de los sitios 2 y 4. El mayor cambio en el suelo del Sitio 2 se explicaría en parte a la mayor remoción de P por las especies en este suelo (Tabla 7).

A los 103 dds el efecto de la interacción suelo*especie fue significativa ($p = 0,0290$), a diferencia de los 87 días donde sólo los factores principales fueron significativos. Esta interacción fue revelada porque ocurrió un comportamiento diferencial del lupino según tipo de suelo, observándose en los suelos de textura pesada (sitios 1 y 3)), que la diferencia en P_{Bray1} de lupino vs avena fue significativa sólo con una especie de lupino, ésta fue *L. albus* en el Sitio 1 y *L. angustifolius* en el Sitio 3 (Figura 11). En los suelos de textura arenosa, en cambio, se constató diferencia significativa de ambas especies del género lupino respecto a la avena, manifestando la mayor capacidad de la especie de modificar el P disponible en suelos de menor poder buffer para este nutriente. Este resultado revelaría que el efecto del lupino en la disponibilidad de P_{Bray1} varió con el tipo de suelo, así como con el tiempo de muestreo.

Los valores de $\Delta P_{Bray1}_{Lup-Av}$ dependieron de la especie y el suelo y oscilaron en el rango de 0,9 (diferencia no significativa) a $5,4 \text{ mg kg}^{-1}$ ($p < 0,0001$). Si consideramos un valor de equivalente fertilizante promedio de 10

kg ha⁻¹ de P₂O₅, el aumento de P disponible por efecto del lupino estaría representando el equivalente a 54 kg ha⁻¹ de P₂O₅ o a 230 kg ha⁻¹ superfosfato común, es decir un aporte muy significativo para sistemas de producción con alta intensificación agrícola y con alta participación de cultivos extractivos como el maíz y la soja. Cabe señalar que este máximo efecto ocurrió en el suelo arenoso del Sitio 2 con la especie *L. albus* y fue manifiesto a los 103 dds (Figura 11). Sin embargo, el efecto de la especie también se vio afectado por el tipo de suelo, ya que las plantas de lupino crecieron mejor en sitios con mayor disponibilidad de PBray1 (Sitios 1, 2 y 3) y mayor fertilidad del suelo (alta MO y cationes intercambiables). Aunque la disponibilidad de PBray1 en el suelo varió entre los Sitios 1, 2 y 3, no hubo diferencias significativas en la biomasa aérea a través de estos suelos dentro de cada especie de lupino. Sin embargo, para la avena, estos sitios exhibieron diferencias significativas en la biomasa aérea y el contenido de N y P de las plantas, lo que indica que un factor adicional (la disponibilidad de N) afectó el rendimiento de esta especie según el tipo de suelo.

5.3. Cambios en la Acidez relativos al pH inicial y al pH del Suelo con el Cultivo de Referencia y su Relación con la Disponibilidad de PBray1

Se encontró una alta asociación negativa y muy significativa entre el PBray1 disponible a cosecha y la Δ pH-inicial (-0,61, p<0,0001) (Tabla 10). Esto revelaría que cuánto mayor fue la acidificación (disminución de pH a cosecha respecto al inicial) mayor fue la disponibilidad de PBray1 en el suelo. Este resultado sería contrario a lo esperado en suelos ácidos, considerando la conocida capacidad creciente de adsorción de P de los óxidos de Fe y Al con la disminución del pH (Hernández, 2013). Existen algunos estudios, sin embargo, que han demostrado que la disminución del pH del suelo de los suelos ácidos también puede conducir a un aumento de la solubilidad del P del suelo (Hinsinger, 2001). La explicación propuesta es que la adsorción competitiva de iones de sulfato aumentaría considerablemente con la disminución del pH, resultando en una mayor concentración de P en equilibrio a un pH ácido de alrededor de 4-5 que a un pH de 6-7. En relación a esto, cuando se analizan los datos según tipo de suelo se constató que existieron diferencias de magnitud y dirección de cambio de pH entre los mismos (Figura 12). En el Sitio 4, se observó un aumento promedio de pH de 0,57 unidades (siendo de 0,94 sólo con avena), en el Sitio 2, en cambio fue dónde más se acidificó el suelo con una disminución promedio de -0,62 (Tabla 6). En los suelos de textura pesada la magnitud de cambio fue insignificante, en

promedio (sin discriminar por especie) de -0,10 y -0,12 unidades de pH, en los sitios 1 y 3, respectivamente. Estas diferencias de cambio de pH entre suelos se asociaron con niveles de concentración de PBray1 bajos en el Sitio 4 (4,3 a 6,6 mg kg⁻¹ con avena y lupino, respectivamente), intermedios en suelos de textura pesada (de 9,7 a 11,7 mg kg⁻¹ con avena y lupino, respectivamente) e intermedios a muy altos (de 8,6 a 13,3 mg kg⁻¹ con avena y lupino, respectivamente) en el suelo del Sitio 2. La disponibilidad de PBray1 promedio en todos los suelos fue superior cuando hubo lupino; sin embargo, este aumento de P por efecto de la especie no pudo ser explicado íntegramente por los cambios en el pH o acidez del suelo. Con respecto a esta cuestión, es crucial reconocer que las variaciones en la disponibilidad de P del suelo y en la capacidad de adquisición de P pueden atribuirse a características inherentes a cada especie. Por ejemplo, en el proceso de exudación de ácidos orgánicos en la rizosfera, la secreción de estos aniones puede estar acompañada de una liberación concomitante de iones H⁺ o K⁺ como contra-iones (Hinsinger, 2001). En consecuencia, la acidificación de la rizósfera del suelo puede ocurrir si los iones H⁺ en lugar de K⁺ son los que acompañan la exudación de los ácidos orgánicos con el propósito de balancear las cargas. Además, la variación en la capacidad de adquisición del P también puede verse influenciada por cambios en las condiciones de oxidación-reducción de la rizósfera, como fue reportado por Lambers et al. (2015). Por otro lado, las modificaciones morfológicas en la arquitectura de las raíces y el desarrollo de estructuras especializadas como las raíces proteoides o en racimos también pueden contribuir a las diferencias en la capacidad de adquisición de P entre especies (Pearse et al., 2006; Watt & Evans, 2003). En nuestro estudio aunque no se midió la contribución y composición de los exudados radiculares de ácidos orgánicos, se consideró este rasgo indirectamente en base a la concentración de Mn en plantas, la cual ha sido propuesta como un índice de la concentración de carboxilatos en la rizosfera en condiciones de baja disponibilidad de P en el suelo (Hallama et al., 2019). La siguiente sección de este artículo profundizará en este tema.

Otro aspecto que podría explicar las variaciones observadas en el pH del suelo durante el experimento es el proceso de FBN. Este proceso podría explicar la acidificación del suelo inducida por el lupino. En consecuencia, las plantas que dependen de la fijación de N₂ pueden acceder a fuentes poco solubles de P y micronutrientes, tal como se observó en nuestro estudio, en relación con las concentraciones de Mn, que fueron considerablemente mayores en las plantas de

lupino que en las de avena. Las leguminosas además absorben más cationes que aniones, lo que resulta en la exudación de protones y acidificación de la rizósfera. Por ejemplo, se ha reportado que la deficiencia de P en *Lupinus albus* estimula la liberación de protones y exudación de citrato por las raíces proteoides de esta especie, en asociación con una inhibición de la absorción de nitrato (Neumann et al., 1999). El menor valor de pH del suelo con lupino relativo a la avena (Figura 12) fue consistente con los resultados de otras investigaciones respecto a que las leguminosas tienen mayor poder de acidificación de la rizósfera del suelo que las gramíneas, no observándose diferencias significativas entre las especies de lupino a través de los suelos, excepto en el Sitio 3 con *L. albus*. En el Sitio 3, *L. albus* tuvo una influencia mínima sobre el pH del suelo. Esta discrepancia podría atribuirse a diferencias inherentes a la especie, como se indicó anteriormente. *L. albus* es una leguminosa que forma raíces en racimo y crece bien desde suelos fuertemente ácidos a suelos levemente ácidos a neutros. *Lupinus angustifolius*, por el contrario, no forma raíces en racimo y es poco tolerante a crecer en suelos calcáreos, mostrando preferencia por condiciones de suelo ácidos. Además, la exudación de ácidos orgánicos de los lupinos puede o no estar relacionada con la acidificación del suelo, ya que estos procesos se autorregulan de forma independiente (Lambers et al., 2006). En consecuencia, el crecimiento de *L. angustifolius* en el suelo del Sitio 3 puede haber inducido cambios en su rizósfera que resultaron en una disminución del pH del suelo, en promedio de 0.6 unidades en comparación con el pH inicial del suelo. Esta disminución del pH debido a una liberación neta de protones puede haber tenido lugar como mecanismo compensatorio para contrarrestar la elevada absorción de cationes, que fue más pronunciada en esta especie de lupino en particular (Tabla 8). La alta concentración de cationes observada en la biomasa aérea de *L. angustifolius* fue consistente con la reportada en estudios previos (Brand et al., 1999; Kerley et al., 2001).

El pH de del suelo incrementó con la presencia de avena, y esto fue observado en todos los sitios (con excepción del Sitio 2 en tres de cuatro repeticiones), siendo la magnitud de dicho aumento cercano a una unidad de pH en el suelo del Sitio 4. Este aumento de pH fue reportado también en un experimento realizado con rizotrones (Wang et al., 2016) en dónde se estudió la liberación de aniones orgánicos de diferentes especies en suelos agrícolas con disponibilidad de P contrastante. Este estudio reveló que en los suelos con baja disponibilidad de P y con *Avena sativa* el pH del suelo incrementó respecto al

suelo control (sin plantas), y pese a que tuvo la menor actividad de fosfatasas ácidas, la avena fue capaz de absorber similar cantidad de P que otras especies con alta actividad de enzimas fosfatasas y disminución del pH de la rizósfera. La alta absorción de P por parte de la avena fue en parte explicada por la extensa masa radicular lograda y el alto nivel de colonización de micorrizas arbusculares (Wang et al., 2016). En nuestro estudio no analizamos la morfología ni otros aspectos de las raíces, pero las tendencias de cambio de pH en los suelos con avena podrían en parte explicarse por las formas de N mineral disponible en el suelo, que en el caso del suelo del Sitio 2 fue predominantemente N amoniacal (Tabla 4). La forma de N juega un rol clave en las relaciones catión-anión y, por lo tanto, en el pH de la rizósfera (Kirkby et al., 2009). Los iones NH_4^+ durante la absorción compiten fuertemente con los otros cationes minerales, mientras que la absorción de los aniones (como el H_2PO_4^-) se ve favorecida para mantener el balance de cargas o neutralidad eléctrica dentro de las plantas (Perdomo et al., 2008). El amonio fue la forma de N predominante en el suelo del Sitio 2 y por ende la principal forma de N absorbida por la avena, lo cual explicaría la acidificación del suelo con esta especie. En tanto, el aumento de pH con avena en el suelo ácido del Sitio 4, sería explicado por una mayor absorción de N en forma de nitrato acompañada con cationes, lo cual estimularía una absorción de H^+ lo que conllevaría por ende a la alcalinización del suelo.

5.4 Evaluación del Rendimiento de Biomasa, del Estatus Nutricional de los CC y la Relación de estas Variables con las Propiedades Químicas del Suelo.

El efecto de interacción suelo x especie fue significativo sobre las variables de rendimiento de biomasa aérea, y contenido de P y N en la biomasa, indicando que las especies se comportaron diferentes a través de los suelos. Con respecto a las concentraciones de P en planta, cualquiera que sea la especie considerada, existieron diferencias significativas entre sitios, siendo las concentraciones en el sitio 4, en promedio, la mitad de las registradas en los otros sitios. En este estudio, la concentración de P de plantas de *L. angustifolius* se evaluó durante la fase de crecimiento de las vainas, muchas de las cuales estaban en inicio de llenado de grano (87 dds). Las concentraciones de P registradas para esta especie fueron acordes a la concentración crítica de P en biomasa aérea, reportada por Bolland y Brennan (2008), la cual fue de $1,75 \text{ mg g}^{-1}$, y definida como la concentración crítica necesaria para alcanzar el 90% del rendimiento máximo

de grano. En investigaciones previas, el contenido crítico de P reportado para ambas especies de lupino en cuestión fue de 2,2 y 2,3 mg g⁻¹ para *L. albus* y *L. angustifolius*, respectivamente (Kerley et al., 2001; Pearse et al., 2006). Sin embargo, estas concentraciones críticas se determinaron en muestras de plantas cosechadas a los 56 dds, antes del inicio de la floración, en una etapa de crecimiento comparativamente más temprana que en nuestro estudio. Tomando como base los valores presentados por Bolland y Brennan (2008), particularmente para plantas de *L. albus*, la concentración de P estuvo por debajo del umbral crítico de P necesario para un crecimiento óptimo. Sin embargo, la concentración de P registrada para esta especie de lupino estuvo por debajo de 2,0 mg g⁻¹ (valor umbral) a partir del cual se estimularía la formación de raíces proteoides (Li et al., 2008). En relación con la avena, las concentraciones de P de las plantas parecieron alcanzar niveles adecuados para su estado de madurez, las cuales oscilarían entre 1.0- 1.5 mg g⁻¹ (Mengel et al., 2001). Cabe señalar, además, que todas las concentraciones de P fueron inferiores a 2,0 mg g⁻¹ de peso seco. Este resultado indicaría que la concentración de P de todas las especies estaría por debajo del nivel umbral de concentración crítica a partir del cual se promovería la mineralización neta de P en el suelo a través de la descomposición de dichas plantas como residuos. Por tanto, se puede inferir que la descomposición de estos residuos realizará una contribución limitada en la disponibilidad de P en el suelo desde una perspectiva agronómica debido a la potencial inmovilización de P en la biomasa microbiana, como fue discutido por Hallama et al. (2019).

En el Sitio 4 se registraron los menores contenidos de P y de N en la biomasa, y particularmente con las especies de lupino, también se constató el crecimiento más restringido de las plantas. Aunque las especies de lupino se han adaptado a crecer en suelos ácidos, el suelo del Sitio 4 tuvo varias limitaciones que afectaron su crecimiento, imposibilitando que prosperara tan bien como lo hizo en los otros sitios. En el caso de *L. angustifolius* fue notorio el reducido crecimiento de las plantas acompañado de una senescencia acelerada, y además en ambas especies de lupino como en avena las concentraciones más bajas de P y K en planta se registraron en el Sitio 4. Las diferencias en P absorbido entre especies, podría conllevar a pensar que cuánto mayor fue éste menor fue la disponibilidad de P en el suelo a cosecha. Sin embargo, las cantidades de P absorbidas por *L. albus* fueron, en la mayoría de los casos, comparables y en algunos casos superiores a las absorbidas por la avena. Como se muestra en la Tabla 7, aunque no hubo diferencias en el contenido de P en la biomasa de *L. albus* y avena en los

suelos del Sitio 1, Sitio 2 y Sitio 4, hubo diferencias significativas y una mayor cantidad en la disponibilidad de PBray1 en el suelo al momento de la cosecha en los suelos donde creció *L. albus* que en los suelos donde creció avena. Por tanto, podemos inferir que las diferencias de PBray1 observadas no son debidas a diferencias en P absorbido sino al “efecto rizósfera” inducido o estimulado por el lupino, en particular de *L. albus*. Este resultado de mayor efecto de *L. albus* en el aumento en la disponibilidad de PBray1 es coincidente con lo reportado en la bibliografía (Neumann et al., 1999). En relación a esto, diferentes estudios han indicado que esta especie utiliza al menos tres mecanismos para cubrir sus requerimientos de P en situaciones de deficiencia de este nutriente. Uno de los más notorios es que esta especie exuda alta concentración de ácidos orgánicos (cítrico y málico), suficiente como para movilizar cantidades significativas de fuentes de P escasamente disponibles (fosfatos de Ca, Al y Fe), principalmente mediante quelatación de los cationes unidos al P, o por competencia por los sitios de adsorción de P en la matriz del suelo. El segundo mecanismo es que la exudación de ácido cítrico por las raíces proteoides de esta especie de lupino se asocia con una marcada acidificación de la rizósfera, lo cual puede mejorar la solubilidad de los fosfatos unidos al Ca. Finalmente, el tercer mecanismo estaría relacionado con la movilización efectiva de P inorgánico desde formas de P orgánico mediante la actividad de las fosfatasas ácidas secretadas por las raíces de *L. albus*.

La relación negativa entre la cantidad de biomasa de P y el ΔpH -inicial indicó que la absorción de P aumentó con el grado de acidificación. En promedio, el contenido de P en planta fue mayor en *L. albus* y avena (14 mg maceta⁻¹) que en *L. angustifolius* (7,9 mg maceta⁻¹), debido principalmente al bajo rendimiento de biomasa de esta especie. Además, las cantidades acumuladas de N y P se asociaron positivamente con la disponibilidad de PBray1 ($r=0.50$ y 0.45 , respectivamente) en la cosecha (87dap) y negativamente con el ΔpH -inicial ($r= -0.56$ y -0.59 , respectivamente), lo que sugiere que la absorción de N y P aumentó con el P disponible en el suelo y con la acidificación del suelo (Tabla 10). Esta última asociación explica la correlación negativa entre el ΔpH -inicial y el PBray1 disponible en el suelo ($r= -0.61$, $p=0.0001$); es decir, los valores de ΔpH -inicial más bajos se asociaron con concentraciones más altas de P disponible en la cosecha, siendo más alta esta asociación en los suelos donde creció la avena (Figura 14).

Por otro lado, se encontró también una mayor concentración de Mn foliar en ambas especies de lupino en comparación a la avena, registrándose para *L.*

albus y *L. angustifolius* valores promedio de 710 y 1510 mg kg⁻¹, respectivamente, mientras que para avena de 228 mg kg⁻¹ (Tabla 8). Estas altas concentraciones de Mn en la especie de lupino fueron también constatadas en otros estudios. Según la bibliografía, las plantas que utilizan una estrategia de movilización de P basada en la liberación de carboxilatos tienden a tener altas concentraciones de Mn en las hojas (Lambers et al., 2015). Las concentraciones de Mn fueron significativamente mayores en ambas especies de lupino que en la avena (Tabla 8) debido a una absorción más eficiente de Mn mediante quelatación por parte de dichos carboxilatos o a un aumento en su disponibilidad a través de cambios en las condiciones de oxidación/reducción o simplemente de acidificación de la rizosfera. Investigaciones previas han establecido una correlación negativa entre la exudación de citrato y el status de P en la planta, claramente observado en plantas pertenecientes a la especie *L. albus* (Dessureault-Rompré et al., 2007). De acuerdo con esto, en nuestro estudio y excluyendo el suelo que manifestó varios factores limitantes de crecimiento (Sitio 4), la mayor concentración de Mn en *L. albus* se asoció con aquellas plantas que tuvieron la menor concentración de P y que crecieron en el suelo del Sitio 3, que tuvo una menor disponibilidad de PBray1 que los sitios 1 y 2 (Tabla 4 y Figura 11). Por el contrario, las plantas de *L. angustifolius* que tenían la mayor concentración de Mn fueron las que crecieron en el suelo del Sitio 2 que tuvo la mayor concentración de PBray1. Los resultados de este estudio son consistentes con los reportados por Monei et al. (2022), quienes también notaron una respuesta divergente entre las dos especies de lupino en cuestión. Específicamente, esos autores encontraron que *L. albus* presentó una alta liberación de carboxilatos en condiciones de deficiencia de P, mientras que *L. angustifolius* respondió con una mayor liberación de carboxilatos en suelos con alto suministro de P. En base a lo anteriormente expuesto, *L. albus* exhibiría una relación de retroalimentación negativa más fuerte entre el estado de P de la planta y el costo de energía asociado con la adquisición de P, que también regularía la disponibilidad de P en el suelo. Si bien no hubo una relación clara entre las concentraciones de P y Mn de la biomasa aérea en el estudio actual, hubo una asociación significativa entre el pH del suelo a la cosecha y la concentración de Mn; sin embargo, fue notablemente opuesto entre las especies de lupino. La correlación entre estas últimas variables fue estadísticamente significativa y positiva ($r=0.66$, $p=0.006$) para *L. albus* y negativa (-0.76 , $p=0.011$) para *L. angustifolius* (Anexo G). Trabajos previos confirmarían estos resultados (Dessureault-Rompré et al., 2007; Monei et al., 2022), en los cuáles se comprobó que la exudación de aniones de ácidos orgánicos de los lupinos puede o no estar

relacionada con la acidificación del suelo, dado que estos procesos se autorregulan de forma independiente (Lambers et al., 2006).

En relación a las diferencias en morfología de las raíces de lupinos, se constató que, aunque *L. angustifolius* no desarrolló raíces proteoides, esta especie fue capaz de acumular alta concentración de Mn. Según Lambers et al. (2015) esto sería explicado no sólo por la exudación de carboxilatos sino también por cambios en las condiciones de óxido-reducción de la rizósfera. Estas altas concentraciones de Mn foliar podrían ser tóxicas para otras especies o microorganismos, pero son bien toleradas por la especie de lupino.

En cuanto a la absorción de cationes, *L. angustifolius* tuvo mayor concentración en comparación a *L. albus* (Kerley et al., 2001), aunque, para K, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las especies dentro de cada sitio. La concentración total de cationes en la biomasa área dentro de cada especie también difirió entre los suelos evaluados. Sin embargo, tales diferencias se observaron únicamente con *L. albus*, registrándose la menor concentración en las plantas cultivadas en los sitios 2 y 4, cuyos suelos correspondieron dentro del tipo de suelos fuertemente desaturados-lixiviados, aunque estos suelos difirieron ampliamente en su valor de pH y contenido de MO. En nuestro experimento, la concentración de cationes observada en la biomasa área de los lupinos y tomando como base lo reportado en trabajos previos (Kerley et al., 2001; Martínez-Alcalá et al., 2009), indicaría que la nutrición de las plantas fue adecuada en los sitios 1, 2, y 3, pero insuficiente para cubrir los requerimientos de esta especie en el Sitio 4.

5.5 Rendimiento de NT y N Fijado por las Especies de Lupino y las Relaciones C/N y N/P de las Especies Evaluadas.

El análisis de la relación entre rendimiento de MS (x) y N fijado (y) para todos los suelos analizados en forma segregada según especie de lupino (n=16) reveló una relación lineal y estadísticamente significativa ($P < 0,0001$) entre las variables y en ambas especies. El valor de la pendiente no mostró diferencia estadística entre especies (23 y 21 kg N fijado t MS⁻¹ para *L. albus* y *L. angustifolius*, respectivamente) y fue muy similar (21,4 kg N fijado t MS⁻¹) al obtenido en Chile por Espinoza et al. (2012), pero algo mayor que el encontrado en Australia para *L. angustifolius* por Unkovich et al. (2010), que fue de 14 kg N fijado t MS⁻¹. El análisis de homogeneidad de pendientes indicó que las relaciones lineales derivadas para cada especie no fueron estadísticamente diferentes. El

intercepto del modelo de regresión no fue significativamente diferente de cero, y el coeficiente de determinación R^2 fue alto para ambas especies de lupino (de 0,85 y 0,73 para *L. albus* y *L. angustifolius*, respectivamente). La proporción y la cantidad de N medido en biomasa aérea derivado del aire para la especie *L. albus* constatados en nuestro trabajo están dentro del rango de valores reportados, que oscilaron entre 44 a 95% y entre 147 a 400 kg ha⁻¹, respectivamente (Unkovich et al., 2010). También existen reportes de que la cantidad de N fijado ha sido en la mayoría de los casos mayor en *L. albus* que en *L. angustifolius*, como en nuestro estudio. La cantidad de N fijado varió significativamente entre suelos (30- 140 kg N ha⁻¹, $p= 0,0015$) y entre especies (60 - 130 kg N ha⁻¹, $p= <0,0001$). La cantidad de N derivado de la FBN es un beneficio adicional (además del de solubilizar formas de P no lábiles) del género lupino; este aporte de N al sistema permitiría balancear las pérdidas de N que ocurren durante los ciclos agrícolas.

En cuanto a las relaciones C/N de las especies evaluadas se constató que los mayores valores se registraron con avena creciendo en suelos de textura más pesada y los menores con lupinos en suelos de textura arenosa. Como se indicó previamente, se observó una asociación positiva y significativa entre la relación C/N y el rendimiento de MS, pero sólo con avena y data particionada por textura de suelo. Se constató además y también sólo con avena, una asociación alta y positiva entre la relación C/N y la concentración de P foliar. No se observó asociación alguna de estos parámetros (C/N-rendimiento de MS y C/N-%P) con las leguminosas. Esta consideración es valiosa ya que condiciona los aportes de materia orgánica y la disponibilidad de nutrientes (en particular la sincronización entre oferta y demanda de N) para los siguientes cultivos. En base a estos resultados, se recomendaría trabajar con mezclas de gramíneas y leguminosas, para lograr una relación C/N más apropiada para una liberación sincronizada de nutrientes para un cultivo posterior (Ruffo & Bollero, 2003). Este planteo de elegir un CC mezcla de grupos funcionales (leguminosas y gramíneas) sería además una opción de manejo más robusto, en particular dadas las condiciones de suelo contrastantes a escala temporal (entre años) o a escala espacial (suelos diferentes en una misma chacra).

En base a los resultados de performance alcanzados por las especies de lupino evaluadas en este estudio, se recomendaría usar en suelos de fertilidad moderada y alta la especie *L. angustifolius*, que tuvo comparativamente mayores requerimientos de nutrientes que *L. albus*. En tanto, cabe destacar que la principal desventaja de este cultivo fue su baja biomasa aérea y su escasa habilidad de

regular el metabolismo de exudación de carboxilatos al variar la disponibilidad de P del suelo, como lo reportaron Monei et al. (2022). Por el contrario, la particular estrategia de adquisición de P mostrada por *L. albus* fue notoria al evaluar la respuesta divergente en Mn absorbido por esta especie en comparación a *L. angustifolius* cuando creció en suelos con menor disponibilidad de P. Además, el rendimiento de biomasa aérea alcanzado por *L. albus* fue más del doble que el de *L. angustifolius*. Finalmente, cabe señalar que la concentración de P de la biomasa aérea de todas las especies evaluadas fue inferior al umbral crítico para promover mineralización neta de P en el suelo, limitando la contribución de este nutriente desde una perspectiva agronómica dada la potencial inmovilización de P en la biomasa microbiana, como se mencionó anteriormente.

6. Conclusiones

Este estudio demostró que existieron diferencias entre las especies de lupino (*L. albus* y *L. angustifolius*) y entre éstas con la avena strigosa en suelos de textura y fertilidad contrastante, en particular en términos de cambios en la disponibilidad de PBray1. La diferencia de PBray1 entre lupino y avena dependiendo de la especie y el suelo osciló en el rango de 0,9 (diferencia no significativa) a 5,4 mg kg⁻¹ ($p < 0,0001$). El máximo aumento de P disponible por efecto del lupino representaría un equivalente a 54 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (cálculo basado en un valor de equivalente fertilizante de 10 kg ha⁻¹ de P₂O₅), es decir un aporte muy significativo para sistemas de producción con alta intensificación agrícola y con alta participación de cultivos extractivos como el maíz y la soja. Los resultados de este estudio sustentan la hipótesis 1 relacionada con que ambas especies de lupino (*L. albus* y *L. angustifolius*) incrementan el P lábil del suelo en magnitud similar, aunque los incrementos variaron a través de los suelos. La disponibilidad de PBray1 promedio en todos los suelos fue superior cuando hubo lupino, pero fue mayor con *L. albus* en los suelos del Sitio 1 y 2 y con *L. angustifolius* en el Sitio 3, aunque la absorción de P fue mayor por *L. albus* en todos los suelos.

Los menores valores de pH del suelo con presencia de lupino (relativo a la avena) soportan la hipótesis 2, de que ambas especies de lupino (*L. albus* y *L. angustifolius*) acidifican la rizósfera del suelo. Además, la magnitud de acidificación por los lupinos no fue estadísticamente diferente entre especies de lupino, entre suelos y a través de los suelos. El incremento en acidez intercambiable no estuvo directamente asociado con un aumento del aluminio Intercambiable (el mayor incremento promedio de Al intercambiable respecto a la concentración inicial se registró en el Sitio 2 y este fue de 0,09 cmol_c kg⁻¹, alcanzando a los 87 dds un valor de 0,14 cmol_c kg⁻¹, cuya concentración no implica restricciones a nivel de productivo).

La presencia de lupino incrementó la disponibilidad de P en todos los tipos de suelo. El aumento de PBray1 debido a la acidificación del suelo inducida por el lupino fue insuficiente para explicar completamente el aumento en la disponibilidad de P, ya que no hubo una asociación clara entre el aumento del P lábil y una disminución del pH del suelo. Estos resultados, por tanto, no soportan la hipótesis 3. Otro mecanismo es el que explicaría el aumento observado en la disponibilidad de P del suelo y la absorción de micronutrientes, como el Mn. En base a los resultados se sugiere que este mecanismo fue la exudación de ácidos orgánicos

en la rizósfera de lupino. La inferencia se basa en investigación empírica la cual confirmó una asociación directa entre las concentraciones de Mn en las plantas y las concentraciones de carboxilato en la rizosfera. En el presente estudio, las plantas de lupino mostraron una mayor absorción de Mn en comparación con la avena. Por el contrario, los suelos en donde creció la avena tendieron a mantener o incluso aumentar el pH en comparación con los valores originales, y no hubo diferencias en la absorción de Mn por la avena entre suelos.

La peor performance en crecimiento y desarrollo de las plantas, así como en la cantidad de P y N absorbido se observó en el Sitio 4, particularmente con las especies de lupino. Comparando entre lupinos, *L. angustifolius* fue la especie que peor comportamiento mostró en todos los suelos, principalmente dado su bajo rendimiento en biomasa aérea. Por ello, la cantidad de N fijado también varió significativamente entre suelos (30- 140 kg N ha⁻¹, p= 0,0015) y entre especies (60 – 130 kg N ha⁻¹, p= <0,0001). Estos resultados respaldan en forma parcial la cuarta y última hipótesis de este estudio. La cantidad de N derivado de la FBN es un beneficio adicional (además del de solubilizar formas de P no lábiles) del género lupino; este aporte de N al sistema permitiría balancear las pérdidas de N que ocurren durante los ciclos agrícolas. Con respecto al aporte potencial de P de lupino como residuo y dadas sus concentraciones de P, todas inferiores a 2,0 mg g⁻¹ de peso seco, se puede predecir que la descomposición de dichos rastrojos suscitará la inmovilización bruta de P del suelo por la biomasa microbiana. Por tanto, desde una perspectiva agronómica la contribución mediante el ciclaje de P en el sistema en el corto plazo será limitado.

Los resultados y la información generados en este estudio son valiosos para comprender que existen diferencias en la movilización de P y la absorción de P entre especies y entre suelos contrastantes en textura, disponibilidad de P y fertilidad natural, y nos permite concluir sobre la promisoría utilización de la especie de lupino en movilizar formas de P no lábil y mejorar la productividad de los cultivos siguientes en una rotación agrícola. Además, permitiría bajar la presión de fertilizantes fosfatados lo cual disminuiría el potencial riesgo de pérdida de P y consiguiente contaminación de cursos de agua.

7. Bibliografía

- Ahunchain, J., Felló, L., & Soba, M. (2022). *Cobertura del suelo, captura y uso de la radiación y el agua, por vicia y centeno como antecesores de soja* [Trabajo final de grado, Universidad de la República]. Colibrí.
<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/32807/1/AhunchainCrusichJuan.pdf>
- Arenberg, M., & Arai, Y. (2019). Uncertainties in soil physicochemical factors controlling phosphorus mineralization and immobilization processes. *Advances in Agronomy*, 154, 153-200.
<https://doi.org/10.1016/bs.agron.2018.11.005>
- Beretta, V., Simeone, A., Bergos, I., Errandonea, J., Garcia Pintos, J., Burjel, M. V., Casanova, D., & Zabalveytia, N. (2019). Uso de DDGS y lupino en la recría de terneros pastoreando verdeos de invierno ¿mejores o peores suplementos que el grano de sorgo? En Unidad de Producción Intensiva de Carne (Ed.), *21ª Jornada anual de la Unidad de Producción de Carne: Un medio campo para ganar el partido de la rentabilidad* (pp. 44-53).
- Beretta-Blanco, A., Pérez, O., & Carrasco-Letelier, L. (2019). Soil quality decrease over 13 years of agricultural production. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 114, 45-55. <https://doi.org/10.1007/s10705-019-09990-3>
- Berger, J., Buirchell, B., Lockett, D., Palta, J., Ludwig, C., & Liu, D. (2012). How has narrow-leafed lupin changed in its 1st 40 years as an industrial, broad-acre crop? A G×E-based characterization of yield-related traits in Australian cultivars. *Field Crops Research*, 126, 152-164.
<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.10.006>
- Bolland, M., & Brennan, R. (2008). Comparing the phosphorus requirements of wheat, lupin, and canola. *Australian Journal of Agricultural Research*, 59(11), 983-998. <https://doi.org/10.1071/AR07430>
- Brand, J., Tang, C., & Rathjen, A. (1999). Adaptation of *Lupinus angustifolius* L. and *L. pilosus* Murr. to calcareous soils. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50(6), 1027-1034. <https://doi.org/10.1071/AR98177>
- Bünemann, E. (2015). Assessment of gross and net mineralization rates of soil organic phosphorus: A review. *Soil Biology & Biochemistry*, 89, 82-98.
- Carámbula, M. (2007). *Verdeos de invierno*. Hemisferio Sur.

- Condrón, L., Turner, B., & Cade-Menun, B. (2005). Chemistry and dynamics of soil organic phosphorus. En J. T. Sims & A. N. Sharpley (Eds.), *Phosphorus: Agriculture and the Environment* (pp. 87-121). Wiley.
<https://doi.org/10.2134/agronmonogr46.c4>
- Damon, P., Bowden, B., Rose, T., & Rengel, Z. (2014). Crop residue contributions to phosphorus pools in agricultural soils: A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 74, 127-137.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.03.003>
- Dessureault-Rompré, J., Nowack, B., Schulin, R., & Luster, J. (2007). Spatial and temporal variation in organic acid anion exudation and nutrient anion uptake in the rhizosphere of *Lupinus albus* L. *Plant and Soil*, 301, 123-134. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9427-x>
- Ernst, O. R. (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)*, 10(1), 25-35.
<https://doi.org/10.31285/agro.10.937>
- Ernst, O. R., Dogliotti, S., Cadenazzi, M., & Kemanian, A. (2018). Shifting crop-pasture rotations to no-till annual cropping reduces soil quality and wheat yield. *Field Crop Research*, 218, 180-187.
- Ernst, O. R., Kemanian, A. R., Mazzilli, S. R., Cadenazzi, M., & Dogliotti, S. (2016). Depressed attainable wheat yields under continuous annual no-till agriculture suggest declining soil productivity. *Field Crops Research*, 186, 107-116. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.11.005>
- Ernst, O. R., & Siri-Prieto, G. (2009). Impact of perennial pasture and tillage systems on carbon input and soil quality indicators. *Soil and Tillage Research*, 105(2), 260-268.
- Espinoza, S., Ovalle, C., Zagal, E., Matus, I., Tay, J., Peoples, M., & Del Pozo, A. (2012). Contribution of legumes to wheat productivity in Mediterranean environments of central Chile. *Field Crops Research*, 133, 150-159.
<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.03.006>
- Fernández-Pascual, M., Pueyo, J., De Felipe, R., Golvano, M., & Lucas, M. (2007). Singular features of the Bradyrhizobium-Lupinus symbiosis. *Dynamic Soil, Dynamic Plant*, 1(1), 1-16.

- García-Préachac, F., Ernst, O., Siri-Prieto, G., & Terra, J. A. (2004). Integrating no-till into crop-pasture rotations in Uruguay. *Soil and Tillage Research*, 77(1), 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.still.2003.12.002>
- Gee, W., & Bauder, J. (1979). Particle size analysis by hydrometer: A simplified method for routine textural analysis and a sensitivity test of measurements of parameters. *Soil Science Society of American Journal*, 43(5), 1004-1007. <https://doi.org/10.2136/sssaj1979.03615995004300050038x>
- Griffiths, M., Delory, B., Jawahir, V., Wong, K., Bagnall, G., Dowd, T., Nusinow, D., Miller, A., & Topp, C. (2022). Optimisation of root traits to provide enhanced ecosystem services in agricultural systems: A focus on cover crops. *Plant, Cell & Environment*, 45(3), 751-770. <https://doi.org/10.1111/pce.14247>
- Hallama, M., Pekrun, C., Lambers, H., & Kandeler, E. (2019). Hidden miners – the roles of cover crops and soil microorganisms in phosphorus cycling through agroecosystems. *Plant and Soil*, 434, 7-45. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3810-7>
- Hansen, N., Daniel, T., Sharptey, A., & Lemunyon, J. (2002). The fate and transport of phosphorus in agricultural systems. *Journal of Soil and Water Conservation*, 57(6), 408-417. <https://stormwater.ucf.edu/fileRepository/docs/chemicaltreatment/documents/Hansen%20et%20al.,%202002.pdf>
- Haynes, R., & Mokolobate, M. (2001). Amelioration of Al toxicity and P deficiency in acid soils by additions of organic residues: A critical review of the phenomenon and the mechanisms involved. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 59(1), 47-63. <https://doi.org/10.1023/A:1009823600950>
- Hernández, J. (2013). *Fósforo*. Facultad de Agronomía.
- Hesterman, O., Griffin, T., Williams, P., Harris, G., & Christenson, D. (1992). Forage legume-small grain intercrops: Nitrogen production and responses of subsequent corn. *Journal Production Agriculture*, 5(3), 340-348.
- Hinsinger, P. (2001). Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes. *Plant and Soil*, 237, 173-195. <https://doi.org/10.1023/A:1013351617532>

- Hodge, A., & Storer, K. (2015). Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: Implications for individual plants through to ecosystems. *Plant and Soil*, 386, 1-19.
<https://doi.org/10.1007/s11104-014-2162-1>
- Islam, S., & Ma, W. (2016). Lupine. En B. Caballero, P. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 579-585). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00432-3>
- Jones, J., & Case, V. (1990). Sampling, handling, and analyzing plant tissue samples. En R. Westerman (Ed.), *Soil testing and plant analysis* (3^a ed., pp. 389-427). Soil Science Society of America.
<https://doi.org/10.2136/sssabookser3.3ed.c15>
- Kamh, M., Abdou, M., Chude, V., Wiesler, F., & Horst, W. J. (2002). Mobilization of phosphorus contributes to positive rotational effects of leguminous cover crops on maize grown on soils from northern Nigeria. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 165(5), 566-572.
[https://doi.org/10.1002/1522-2624\(200210\)165:5<566::AID-JPLN566>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/1522-2624(200210)165:5<566::AID-JPLN566>3.0.CO;2-O)
- Kaspary, T., García, A., Jorajuria, P., & Cabrera, M. (2020). Uso de avena negra y rolado en el manejo de malezas. *Revista INIA*, (61), 47-51.
- Keeney, D., & Nelson, D. (1982). Nitrogen-inorganic forms. En A. L. Page (Ed.), *Methods of soil analysis: Part 2 Chemical and microbiological properties* (pp. 643-698). Soil Science Society of America.
<https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c33>
- Kerley, S., Shield, I., & Huyghe, C. (2001). Specific and genotypic variation in the nutrient content of lupin species in soils of neutral and alkaline pH. *Australian Journal of Agricultural Research*, 52(1), 93-102.
<https://doi.org/10.1071/AR00060>
- Kirkby, E., Le Bot, J., Adamowicz, S., & Römheld, V. (2009). *Nitrogen in physiology: An agronomic perspective and implications for the use of different nitrogen forms*. International Fertiliser Society.
- Lajtha, K., Driscoll, C., Jarrell, W., & Elliott, E. (1999). Soil phosphorus: Characterization and total element analysis. En G. Robertson, D. Coleman, C. Bledsoe, & P. Sollins (Eds.), *Standard soil methods for long-term ecological research* (pp. 115-142). Oxford University Press.

- Lambers, H., Clements, J. C., & Nelson, M. N. (2013). How aphosphorus-acquisition strategy based on carboxylate exudation powers the success and agronomic potential of lupines (*Lupinus*, Fabaceae). *American Journal of Botany*, *100*(2), 263-288. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200474>
- Lambers, H., & Oliveira, R. (2019). *Plant physiological ecology*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-29639-1>
- Lambers, H., Patrick, E., Laliberté, E., Oliveira, R., & Turner, B. (2015). Leaf manganese accumulation and phosphorus-acquisition efficiency. *Trends in Plant Science*, *20*(2), 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.10.007>
- Lambers, H., Shane, M., Cramer, M., Pearse, S., & Veneklaas, E. (2006). Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: Matching morphological and physiological traits. *Annals of Botany*, *98*(4), 693-713.
- Li, H., Shen, J., Zhang, F., Tang, C., & Lambers, H. (2008). Is there a critical level of shoot phosphorus concentration for cluster-root formation in *Lupinus albus*? *Functional Plant Biology*, *35*(4), 328-336. <https://doi.org/10.1071/FP07222>
- Lucas, M. M., Stoddard, F. L., Annicchiarico, P., Frías, J., Martínez-Villaluenga, C., Sussmann, D., Duranti, M., Seger, A., Zander, P. M., & Pueyo, J. J. (2015). The future of lupin as a protein crop in Europe. *Frontiers in Plant Science*, *6*, Artículo e705. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00705>
- Lynch, J., Marschner, P., & Rengel, Z. (2012). Effect of internal and external factors on root growth and development. En P. Marschner (Ed.), *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (3rd ed., pp. 331-346). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00013-3>
- Martínez-Alcalá, I., Clemente, R., & Bernal, M. (2009). metal availability and chemical properties in the rhizosphere of *Lupinus albus* L. growing in a high-metal calcareous soil. *Water, Air, and Soil Pollution*, *201*, 283-293. <https://doi.org/10.1007/s11270-008-9944-0>
- Mazzilli, S. R., Kemanian, A. R., Ernst, O. R., Jackson, R. B., & Piñeiro, G. (2014). Priming of soil organic carbon decomposition induced by corn compared to soybean crops. *Soil Biology and Biochemistry*, *75*, 273-281. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.04.005>

- McLaughlin, M., & Alston, A. (1986). The relative contribution of plant residues and fertiliser to the phosphorus nutrition of wheat in a pasture cereal system. *Soil Research*, 24(4), 517-526.
<https://doi.org/10.1071/SR9860517>
- McLaughlin, M., McBeath, T., Smernik, R., Stacey, S., Ajiboye, B., & Guppy, C. (2011). The chemical nature of P accumulation in agricultural soils- implications for fertilizer management and design: An Australian perspective. *Plant and Soil*, 349(1), 69-87.
- Mengel, K., Kirkby, E., Kosegarten, H., & Appel, T. (Eds.). (2001). *Principles of plant nutrition* (5th ed.). Springer. <http://dx.doi.org/10.1007/978-94-010-1009-2>
- Mera, M. (2016). Especies de lupino y su utilización. En M. Mera (Ed.), *Lupino dulce y amargo producción en Chile* (pp. 8-26). INIA.
[https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/6507/Bolet%
c3%a4n%20INIA%20N%
c2%b0%20326?sequence=1&isAllowed=y](https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/6507/Bolet%c3%a4n%20INIA%20N%c2%b0%20326?sequence=1&isAllowed=y)
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2021, 7 de octubre). *DIEA presenta los resultados de la Encuesta Agrícola "Invierno 2021"*
<https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/estadisticas/diea-presenta-resultados-encuesta-agricola-invierno-2021>
- Monei, N., Hitch, M., Heim, J., Pourret, O., Heilmeyer, H., & Wiche, O. (2022). Effect of substrate properties and phosphorus supply on facilitating the uptake of rare earth elements (REE) in mixed culture cropping systems of *Hordeum vulgare*, *Lupinus albus* and *Lupinus angustifolius*. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 57172-57189.
<https://doi.org/10.1007/s11356-022-19775-x>
- Murphy, J., & Riley, A. (1962). Modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27(3), 31-36. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5)
- Nannipieri, P., Giagnoni, L., Landi, L., & Renella, G. (2011). Role of phosphatase enzymes in soil. En E. Bünemann, A. Oberson, & E. Frossard (Eds.), *Phosphorus in action: Biological processes in soil phosphorus cycling* (pp. 215-243). Springer. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-15271-9_9

- Nelson, D., & Sommers, L. (1996). Total carbon, organic carbon, and organic matter. En D. Sparks, A. Page, P. Helmke, R. Loeppert, P. Soltanpour, M., Tabatabai, C., Johnston, & M. Sumner (Eds.), *Methods of soil analysis: Part 3 chemical methods* (pp. 961-1010). Soil Science Society of America; American Society of Agronomy.
- Neumann, G., Massonneau, A., Martinoia, E., & Romheld, V. (1999). Physiological adaptations to phosphorus deficiency during proteoid root development in white lupin. *Environmental Science*, *208*, 373-382.
- Neumann, G., & Romheld, V. (2012). Rhizosphere chemistry in relation to plant nutrition En P. Marschner (Ed.), *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (3rd ed., pp. 347-368). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00014-5>
- Pearse, S., Veneklaas, E., & Cawthray, G. (2006). Carboxylate release of wheat, canola and 11 grain legume species as affected by phosphorus status. *Plant and Soil*, *288*(1), 127-139.
- Perdomo, C., Barbazán, M., & Durán, J. (2008). *Nitrógeno*. Facultad de Agronomía.
- Reiss, E., & Drinkwater, L. (2020). Ecosystem service delivery by cover crop mixtures and monocultures is context dependent. *Agronomy Journal* *112*(5), 4249-4263. <https://doi.org/10.1002/agj2.20287>
- Reiss, E., & Drinkwater, L. (2022). Promoting enhanced ecosystem services from cover crops using intra- and interspecific diversity. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *323*, Artículo e107586. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107586>
- Ruffo, M., & Bollero, G. (2003). Modeling rye and hairy vetch residue decomposition as a function of degree-days and decomposition-days. *Agronomy Journal*, *95*(4), 900-907.
- Sawchik, J., Siri, G., Ayala, W., Barrios, E., Bustamante, M., Ceriani, M., Gutiérrez, F., Mosqueira, J., Otaño, C., Pérez, M., Piñeiro, G., Pinto, P., Terra, J., & Zarza, R. (2015). El sistema agrícola bajo amenaza: ¿Qué aportan los cultivos de cobertura y/o las pasturas cortas? En A. Ribeiro & M. Barbazán (Eds.), *IV Simposio Nacional de Agricultura* (pp. 149-168). INIA. <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/5164/1/Simposio-Nacional-Agricultura-2015-Sawchik-p.149-168.pdf>

- Schwerdtner, U., & Spohn, M. (2022). Plant species interactions in the rhizosphere increase maize N and P acquisition and maize yields in intercropping. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22, 3868-3884.
- Seymour, M., Kirkegaard, J., Peoples, M., White, P., & French, R. (2012). Break-crop benefits to wheat in Western Australia – insights from over three decades of research. *Crop and Pasture Science*, 63(1), 1-16.
- Shen, J., Yuan, L., Zhang, J., Li, H., Bai, Z., Chen, X., Zhang, W., & Zhang, F. (2011). Phosphorus dynamics: From soil to plant. *Plant Physiology*, 156(3), 997-1005.
- Studdert, G. (2006). *Rotaciones de cultivos en el sudeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina): Una herramienta para el manejo de la dinámica del nitrógeno y del carbono en el suelo* [Disertación doctoral, Universitat de Lleida]. TDX. <https://www.tdx.cat/handle/10803/8334>
- Sutton, T., Dassau, O., Sutton, M., Nsibandé, L., & Mthombeni, S. (2023). QGIS (version 3.28.12) [Software]. Equipo desarrollador QGIS. <https://qgis.org/es/site/forusers/download.html#>
- Syers, J. K., Johnston, A. E., & Curtin, D. (2008). *Efficiency of soil and fertilizer phosphorus use: Reconciling changing concepts of soil phosphorus behaviour with agronomic information*. FAO.
- Thomas, G. (1982). Exchangeable cations. En A. Page (Ed.), *Methods of soil analysis: Part 2 chemical and microbiological properties* (pp.159-165). American Society of Agronomy; Soil Science Society of America. <https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c9>
- Tisdale, S., Nelson, W., & Beaton, J. (1985). *Soil fertility and fertilizers*. Macmillan.
- Tribouillois, H., Dürr, C., Demilly, D., Wagner, M., & Justes, E. (2016). Determination of germination response to temperature and water potential for a wide range of cover crop species and related functional groups. *PLOS ONE*, 11(8), Artículo e0161185. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161185>

- Unkovich, M., Baldock, J., & Peoples, M. (2010). Prospects and problems of simple linear models for estimating symbiotic N₂ fixation by crop and pasture legumes. *Plant and Soil*, 329, 75-89.
<https://doi.org/10.1007/s11104-009-0136-5>
- Unkovich, M., & Pate, J. (2000). An appraisal of recent field measurements of symbiotic N₂ fixation by annual legumes. *Field Crops Research*, 65(2-3), 211-228.
- Unkovich, M., Pate, J., Sanford, P., & Armstrong, E. (1997). Nitrogen fixation by annual legumes in Australian Mediterranean agriculture. *Crop and Pasture Science*, 48(3), 267-293. <https://www.publish.csiro.au/cp/A96099>
- Unkovich, M., Pate, J., & Hamblin, J. (1994). The nitrogen economy of broadacre lupin in southwest Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 45(1), 149-164. <https://doi.org/10.1071/AR9940149>
- Visvanathan, R., Madhujith, T., Gamage, A., & Zhang, N. (2020). Lupin. En A. Manickavasagan & P. Thirunathan (Eds.), *Pulses: Processing and product development* (pp. 169-203). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41376-7_10
- Wang, Y., Krogstad, T., Clarke, J., Hallama, M., Øgaard, A., Eich-Greatorex, S., Kandeler, E., & Clarke, N. (2016). Rhizosphere organic anions play a minor role in improving crop species' ability to take up residual phosphorus (P) in agricultural soils low in P availability. *Frontiers in Plant Science*, 7, Artículo e1664. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01664>
- Watt, M., & Evans, J. (2003). Phosphorus acquisition from soil by white lupin (*Lupinus albus* L.) and soybean (*Glycine max* L.), species with contrasting root development. *Plant and Soil*, 248, 271-283.
<https://doi.org/10.1023/A:1022332700686>
- Weatherburn, M. (1967). Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 39(8), 971-974.
- Wolko, B., Clements, J., Naganowska, J., Nelson, M., & Yang, H. (2011) Lupinus. En C. Kole (Ed.), *Wild crop relatives: Genomic and breeding resources: Legume crops and forages* (pp. 153-206). Springer.
- Wood, M., & Cooper, J. (1985). Screening clover and lotus rhizobia for tolerance of acidity and aluminium. *Soil Biology and Biochemistry*, 17(4), 493-497.

Zhang, F., Shen, J., Zhang, J., Zuo, Y., Li, L., & Chen, X. (2010). Rhizosphere processes and management for improving nutrient use efficiency and crop productivity: Implications for China. *Advances in Agronomy*, 107, 1-32.

8. Anexos

Anexo A

Contrastes ortogonales para la concentración de PBray1 en el suelo

Tiempo de muestreo	Sitios	Contraste	Pr > t
48 dds	1		0,0029
	2	C1: Avena vs. Lupinos	0,3519
	3		0,7903
	4		0,0582
	1		0,0028
	2	C2: <i>L. albus</i> vs. <i>L. angustifolius</i>	0,065
	3		0,0445
	4		0,3706
76 dds	1		0,1523
	2	C1: Avena vs. Lupinos	0,1725
	3		0,1393
	4		0,5767
	1		0,6625
	2	C2: <i>L. albus</i> vs. <i>L. angustifolius</i>	0,1068
	3		0,5814
	4		0,6117
87 dds	1		0,0762
	2	C1: Avena vs. Lupinos	<,0001
	3		0,0331
	4		0,029
	1		0,1097
	2	C2: <i>L. albus</i> vs. <i>L. angustifolius</i>	0,9866
	3		0,1169
	4		0,4926
103 dds	1		0,0008
	2	C1: Avena vs. Lupinos	0,0002
	3		0,034
	4		0,0009
	1		0,0039
	2	C2: <i>L. albus</i> vs. <i>L. angustifolius</i>	0,0290
	3		0,0301
	4		0,1849

Nota. Los efectos significativos ($p < 0,05$) se indican en negrita.

Anexo B

ANOVA para la concentración de PBray1 en el suelo a los 87 dds

Factor	gl	Valor de F	P > F†
Especie	2	17,77	< 0,0001
C1: Lupino vs. avena	1		< 0,0001
C2: L. albus vs. L. angustifolius	1		0,0556
Tipo de suelo	3	46,40	< 0,0001
Tipo de suelo x Especie	6	1,32	0,2721

Nota. †Significativo al nivel de probabilidad de 0,05. Para este modelo se consideraron como factores fijos la especie y el tipo de suelo.

Anexo C

ANOVA para la concentración de PBray1 en el suelo a los 103 dds.

Efecto del tratamiento	gl	Valor F	Pr > F [†]
Especies	2	23,40	<0,0001
Tipo de suelo	3	60,09	<0,0001
Especie x Tipo de suelo	6	3,81	0,0048
C1: Lupino vs. Avena en Sitio 1	1		0,0008
C1: Lupino vs. Avena en Sitio 2	1		0,0002
C1: Lupino vs. Avena en Sitio 3			0,0340
C1: Lupino vs. Avena en Sitio 4	1		0,0009
C2: <i>L. albus</i> vs <i>L. angustifolius</i> en Sitio 1	1		0,0039
C2: <i>L. albus</i> vs <i>L. angustifolius</i> en Sitio 2	1		0,0290
C2: <i>L. albus</i> vs <i>L. angustifolius</i> en Sitio 3	1		0,0301
C2: <i>L. albus</i> vs <i>L. angustifolius</i> en Sitio 4	1		0,1849

Nota. [†] Los efectos significativos ($p < 0,05$) se indican en negrita. Para este modelo se consideraron como factores fijos la especie y el tipo de suelo.

Anexo D

ANOVA para pH del suelo a 87 dds.

Efecto del tratamiento	gl	Valor F	Pr > F [†]
Especies	2	28,25	<0,0001
Tipo de suelo	3	65,05	<0,0001
Especie x Tipo de suelo	6	2,56	0,0365
C1: Lupino vs. Avena en Sitio 1	1		0,0372
C1: Lupino vs. Avena en Sitio 2	1		0,0005
C1: Lupino vs. Avena en Sitio 3			<,0001
C1: Lupino vs. Avena en Sitio 4	1		0,0001
C2: <i>L. albus</i> vs <i>L.angustifolius</i> en Sitio 1	1		0,9322
C2: <i>L. albus</i> vs <i>L.angustifolius</i> en Sitio 2	1		0,8250
C2: <i>L. albus</i> vs <i>L.angustifolius</i> en Sitio 3	1		0,0017
C2: <i>L. albus</i> vs <i>L.angustifolius</i> en Sitio 4	1		0,2385

Nota. [†] Los efectos significativos ($p < 0,05$) se indican en negrita. Para este modelo se consideraron como factores fijos la especie y el tipo de suelo

Anexo E

Valores promedio de acidez y aluminio intercambiable del suelo según especie y tipo de suelo

Sitio	Especies	Acidez intercambiable		Aluminio intercambiable	
		cmol _c kg ⁻¹			
Sitio 1	<i>Lupinus albus</i>	0,07	ns C	0,01	ns C
	<i>Lupinus angustifolius</i>	0,08	ns C	0,04	ns ns
	<i>Avena strigosa</i>	0,07	ns BC	0,04	ns AB
Sitio 2	<i>Lupinus albus</i>	0,69	a A	0,18	ns A
	<i>Lupinus angustifolius</i>	0,56	a A	0,10	ns ns
	<i>Avena strigosa</i>	0,33	b A	0,13	ns A
Sitio 3	<i>Lupinus albus</i>	0,08	ns C	0,06	ns BC
	<i>Lupinus angustifolius</i>	0,05	ns C	0,06	ns ns
	<i>Avena strigosa</i>	0,03	ns C	0,03	ns B
Sitio 4	<i>Lupinus albus</i>	0,32	a B	0,11	ns AB
	<i>Lupinus angustifolius</i>	0,23	ab B	0,10	ns ns
	<i>Avena strigosa</i>	0,17	b B	0,08	ns AB
		Valor de p			
Especies		0,0008		0,6089	
Tipo de suelo		<,0001		0,0008	
Especie*tipo de suelo		0,0179		0,6339	

Nota. Los efectos significativos ($p < 0,05$) se indican en negrita. Diferentes letras minúsculas dentro de una columna indican diferencias entre especies dentro de cada tipo de suelo, y diferentes letras mayúsculas dentro de una columna indican diferencias entre suelos a través de especies que son significativas a un nivel de p de 0,05. ns: significa que no hay diferencia significativa.

Anexo F*Contrastes ortogonales para parámetros medidos en Biomasa área*

Contraste	Biomasa aérea (en bs*)	Conc. de P en planta	Biomasa de P	Conc. de N en planta	Biomasa de N	Relación N:P	Relación C/N
C1: Avena vs lupino en Sitio 1	0,0058	0,2001	0,0201	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
C1: Avena vs lupino en Sitio 2	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0173	<,0001	<,0001
C1: Avena vs lupino en Sitio 3	0,1525	0,6802	0,1277	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
C1: Avena vs lupino en Sitio 4	0,0005	0,0399	0,3391	<,0001	0,9579	<,0001	<,0001
C2:L.albus vs L. angustifolius en Sitio 1	0,0046	0,4438	0,0040	0,0853	<,0001	0,0977	0,6541
C2:L.albus vs L. angustifolius en Sitio 2	0,0032	0,7289	0,0002	0,0002	<,0001	0,0624	0,0014
C2:L.albus vs L. angustifolius en Sitio 4	0,0009	0,0008	0,0354	0,7395	<,0001	0,0026	0,7717
C2:L.albus vs L. angustifolius en Sitio 4	0,0491	0,0876	0,0906	0,336	0,0394	<,0001	0,6324

Nota. Los efectos significativos ($p < 0,05$) se indican en negrita. *bs: base seca.

Anexo G

Coeficientes de correlación de Pearson (r) dentro de cada especie en los cuatro tipos de suelo

Variables		<i>L. albus</i>	<i>L. angustifolius</i>	<i>A. strigosa</i>
Δ pH-inicial	Biomasa aérea (en bs*)	-0,61 *	-0,75 *	-0,71 **
Δ pH-inicial	Contenido de N en planta	-0,72 **	-0,71 *	-0,42
Δ pH-inicial	Contenido de P en planta	-0,75 **	-0,71 *	-0,91 ***
Δ pH-inicial	Relación NP	0,53 *	0,59	0,70 **
pH_87dap	Plant Mn concentration	0,66 **	-0,76 *	-0,06
PBray1-48dds	Relación NP	-0,47	-0,67 *	-0,76 **
PBray1-87dds	Relación NP	-0,60 *	-0,75 *	-0,77 **
PBray1-87dds	Concentración de Fe en planta	-0,54 *	-0,08	-0,72 **
PBray1-87dds	Concentración de Mn en planta	-0,01	0,68 *	-0,56 *
Biomasa aérea (en bs*)	Relación NP	-0,54 *	-0,68 *	-0,09
Contenido de N en planta	Contenido de P en planta	0,94 ***	0,93 ***	0,65 **
Contenido de N en planta	Relación NP	-0,49	-0,61	0,23
Contenido de P en planta	Relación NP	-0,71 **	-0,79 **	-0,54 *

Nota. Significativo en *p <0,05; **p<0,01; ***p <0,001 luz. *bs: base seca