

**ENSAYOS BIOLÓGICOS EN MACETAS CON TRÉBOL SUBTERRÁNEO  
EN SUELOS DEL SECANO COSTERO, VI REGIÓN DE CHILE.  
I. METODOLOGÍA<sup>1</sup>**

**Biological essays in pots with subterranean clover in coastal dryland soils,  
VI Region of Chile. I. Methodology**

**José Domingo Opazo A.<sup>2</sup>, Lorena Fernández S.<sup>2</sup> y M. Adriana Carrasco R.<sup>2</sup>**

**A B S T R A C T**

The pastoral value of coastal dryland pastures in the central zone of Chile could be improved by the sowing and establishment of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). The disappearance of this species after one or two years could be partly related to soil nutrient deficiencies. As an intermediate stage to achieve a short term survey about soil nutrient availability, a biological essay in pots under greenhouse conditions was developed. Two soils from Curanipe and Marchihue series were included and sampled at a 0-20 cm depth as a preliminary stage. Physical and chemical properties and nutrient availability were determined to be compared with data from the biological essays. The proposed method allowed the normal growth of subterranean clover until the end of its vital cycle, and the biological essays confirmed the low soil availability for P but not for S, B and Mo.

**Key words:** soil fertility evaluation, greenhouse experiment, dryland soils.

**INTRODUCCIÓN**

Las técnicas de diagnóstico para el estudio de la fertilidad de los suelos en general son las de síntomas visuales, análisis de tejido de las plantas que crecen en un suelo, el análisis químico de suelos, el uso de pruebas isotópicas y los ensayos biológicos. Los ensayos de invernadero en macetas están dentro de las denominadas técnicas de ensayos biológicos. Sin embargo, todas las técnicas presentan algunas limitaciones, por esta razón es común el empleo de más de una técnica de diagnóstico para evaluar la disponibilidad de nutrientes en los suelos.

Se han desarrollado métodos para las diferentes técnicas que presentan variaciones pero con un mismo objetivo, por ejemplo en el caso de los ensayos en macetas, se hace referencia comúnmente a los métodos propuestos por Mitscherlich como también por Neubauer (Tisdale *et al.*, 1985), y por Chaminade (1964); esta última con ciertas modificaciones se ha denominado método del elemento faltante.

Los métodos de ensayos en macetas implican generalmente el crecimiento de un alto número de plantas en un pequeño volumen de suelo para producir en un corto período de tiempo el agotamiento de los nutrientes deficitarios, el que se corrobora o complementa con el análisis de los nutrientes en la planta completa (Fried y Broeshart, 1967).

Chaminade (1964) propuso un método que establece un tratamiento con todos los nutrientes,

<sup>1</sup>Recepción de originales: 30 de abril de 1998.  
Trabajo financiado por el Proyecto FONDECYT N° 1950757.

<sup>2</sup>Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas,  
Casilla 1004, Santiago, Chile.  
E-mail: jopazo@abello.dic.uchile.cl

denominado fertilización completa, y se consideran, además, tratamientos en los cuales a la formulación completa se le excluye un nutriente. En Chile, Schenkel y Baherle (1971) basados en el método de Chaminade implementaron un método que lo denominaron método del elemento faltante, para la exploración de deficiencias nutritivas en distintos suelos de la zona sur del país.

En Australia, Reddy *et al.* (1981a; 1981b) utilizaron ensayos biológicos en macetas para estudiar los efectos de fósforo, cobre, azufre y molibdeno en trébol subterráneo complementándolos con análisis químico de la planta.

Las praderas del secano de la zona central pueden experimentar un mejoramiento significativo en su calidad nutritiva mediante la siembra de trébol subterráneo, sin embargo, se ha constatado que al establecer trébol subterráneo, éste tiende a disminuir y en algunos casos prácticamente desaparece de la pradera después del tercer año (García, 1996, comunicación personal<sup>3</sup>). A la fecha no se tiene una explicación de este problema; entre las causas que se han postulado está la baja fertilidad de los suelos, expresada en bajos contenidos de nitrógeno, fósforo, azufre y una probable carencia de elementos menores.

El objetivo de este estudio fue implementar un método de ensayo en macetas, en condiciones controladas de invernadero, empleando como planta indicadora el trébol subterráneo (*Trifolium subterraneum* L.) con el fin de evaluar la disponibilidad de los elementos aniónicos fósforo (P), azufre (S), boro (B) y molibdeno (Mo), en los suelos del secano costero de la VI Región de Chile.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para implementar el método se consultaron principalmente los trabajos realizados con trébol subterráneo por Reddy *et al.* (1981a; 1981b) y Gilbert y Robson (1984) ya que no se encontró información publicada en Chile de ensayos de invernadero que utilizaran como planta indicadora el trébol subterráneo.

Se seleccionaron dos suelos de la Provincia Cardenal Caro en la VI Región, y se tomaron muestras compuestas a la profundidad (0-20 cm) de la capa arable en dos sitios de muestreo. El Sitio 1, ubicado en la localidad de Pichilemu (34°16' Lat. S. y 71°56' Long. O.), está en una posición de terraza marina, secano costero y corresponde al suelo Asociación Curanipe, clasificado como Alfisol. El Sitio 2, ubicado en la localidad de Marchihue (34°20' Lat. S. y 71°34' Long. O.), en una posición de llano en el secano interior y corresponde al suelo Serie Marchihue, clasificado como Inceptisol.

Cada muestra compuesta por Sitio provenía de 16 muestras y se consideró la profundidad de 0-20 cm debido a la alta densidad de raíces de la vegetación herbácea observada hasta los 20 ó 25 cm en los perfiles de los suelos estudiados. Las muestras se tamizaron a la humedad de campo con un tamiz de 6 mm. La humedad de las muestras en el momento del ensayo era de 5,6 y 1,9%, para los suelos de los sitios 1 y 2, respectivamente.

### Análisis físicos y químicos de los suelos

Para los análisis físicos y químicos una parte de la muestra tomada en cada Sitio, se tamizó a 2 mm.

**Análisis físicos:** a) distribución del tamaño de partículas (granulometría) por el método de Boyoucos, y b) retención de humedad a 33 y 1500 kPa, por los métodos del plato y olla a presión, respectivamente. Los métodos están descritos en Hernández *et al.* (1991).

<sup>3</sup>Guillermo García Díaz, Ingeniero Agrónomo, Profesor Titular, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Producción Animal, Casilla 1004, Santiago, Chile.

### Análisis químicos

- pH en agua: método potenciométrico en el sobrenadante de una suspensión de suelo: agua en una relación de 1:2,5 (Sadzawka, 1990).
- Materia orgánica: método de oxidación por vía húmeda, de Walkley y Black (Nelson y Sommers, 1982).
- Nitrógeno inorgánico: método de Bremner y Keeney (Keeney y Nelson, 1982).
- Fósforo disponible: extracción por el método de Olsen y determinación colorimétrica según Murphy y Riley (Olsen y Sommers, 1982).
- Potasio disponible: extracción con acetato de amonio 1 M a pH 7,0 y determinación por foto-metría de llama (Dewis y Freitas, 1970).
- Azufre disponible: extracción con  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M y determinación por espectrometría de emisión atómica de plasma por acoplamiento inductivo (Sadzawka, 1993).
- Boro disponible: método del agua caliente (Bingham, 1982).
- Molibdeno soluble en agua: se usó el método de Miller y McFee (1983) empleando una relación suelo:agua de 1:5.
- Acidez intercambiable ( $\text{H}^+ + \text{Al}^{+3}$ ) por intercambio con una solución de KCl 1 M (Sadzawka, 1990).
- Aluminio de intercambio: extracción con KCl 1 M (Sadzawka, 1990).
- Acidez extraíble o total: método del  $\text{BaCl}_2$ -TEA tamponado a pH 8,2 (Peech, 1965).
- Capacidad de intercambio catiónico (CIC) y cationes básicos intercambiables, Ca, Mg, Na y K (Dewis y Freitas, 1970).

**Unidades experimentales.** La unidad experimental fue la maceta. Se emplearon macetas de poliestireno expandido (plumavit) forradas interiormente con una bolsa de polietileno perforada en la parte inferior y colocadas sobre un platillo. La cantidad de suelo por maceta fue de 2 kg base suelo seco; se empleó una cantidad algo menor que la propuesta por Reddy *et al.* (1981a; 1981b), quienes utilizaron una cantidad de suelo entre 2,5 a 3,0 kg. Se optó por un peso algo

menor con el objeto de usar más eficientemente la superficie de los invernaderos al trabajar en ensayos con un mayor número de muestras.

**Tratamientos.** Los tratamientos fueron seis: testigo (T) sin fertilizar; fertilización completa (FC); FC-P; FC-S; FC-B y FC-Mo. En la fertilización completa se aplicaron los macronutrientes N, K, P, S, Mg, Ca, y los micronutrientes Mn, Cu, Zn, Fe, B, Mo.

Las dosis y los compuestos químicos usados para estas formulaciones se determinaron en base a referencias extranjeras para ensayos en maceta que utilizaron como planta indicadora trébol subterráneo. En el Cuadro 1 se indican las dosis usadas para los macro y micronutrientes.

Las sales sólidas y las soluciones se aplicaron al suelo de cada maceta extendido sobre un plástico, se mezclaron bien con una espátula y se devolvieron a la maceta.

**Siembra.** Se usó *Trifolium subterraneum* L. cv. Trikkala. Se sembraron 20 semillas por maceta, retirando una cantidad de suelo para obtener una profundidad de siembra que correspondió a un cm; se aplicó agua antes de sembrar en la cantidad suficiente para tener en el suelo una humedad equivalente a capacidad de campo (33 kPa), se colocaron las semillas, se cubrió con el suelo que se había retirado y se emparejó con una tablilla en forma suave.

Antes de sembrar, las semillas fueron tratadas con el inoculante comercial, *Rhizobium trifolii* C. 113-116 de PROBICAL, empleando 0,06 g de inoculante por 10 g de semilla, dosis indicada por el fabricante, y con el fungicida Metalaxil, del grupo químico de las acilaninas (APRON, fabricado por CIBA-GEIGY S.A.) 0,03 g de APRON por 10 g de semilla. Las semillas se trataron con el inoculante y el fungicida en una placa petri en una solución con una pequeña cantidad de azúcar, unos 60 minutos antes de la siembra, después fueron tomadas de la placa

**Cuadro 1. Dosis de macro y micronutrientes por maceta y compuestos químicos usados en el ensayo de invernadero**

**Table 1. Macro and micronutrients rates per pot and chemicals used in greenhouse experiments**

Elemento	Dosis	Compuesto químico <sup>1</sup>
Macronutriente (mg maceta <sup>-1</sup> )		
K	150,0	KNO <sub>3</sub> 0,196 M
N	54,3	Aportado por el KNO <sub>3</sub>
P	100,0	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> x H <sub>2</sub> O
S	35,0	CaSO <sub>4</sub> x 2 H <sub>2</sub> O
Mg	10,0	MgCl <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O 0,205 M
Micronutriente (mg L <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>		
Mn	585	MnCl <sub>2</sub> x 4 H <sub>2</sub> O
Cu	318	CuCl <sub>2</sub> x 2 H <sub>2</sub> O
Zn	239	ZnCl <sub>2</sub>
Fe	210	Sequestrene 138Fe (6% Fe)
B	140	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>
Mo	50	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> x 4 H <sub>2</sub> O

<sup>1</sup>Para compensar el Ca en los tratamientos que no llevan Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> x H<sub>2</sub>O o CaSO<sub>4</sub> x 2 H<sub>2</sub>O se utilizó CaCl<sub>2</sub> y no se optó por el CaCO<sub>3</sub> para no modificar el pH del suelo.

<sup>2</sup>Para los macronutrientes el KNO<sub>3</sub> y MgCl<sub>2</sub> x 6 H<sub>2</sub>O se aplicaron como soluciones. En los micronutrientes se prepararon tres soluciones: una con todos los micronutrientes señalados en el Cuadro 1 y otras dos que no contenían boro o molibdeno, respectivamente. De estas soluciones de micronutrientes se aplicaron 20 mL por maceta de acuerdo al tratamiento respectivo.

petri al momento de sembrar. A los 21 días después de la siembra, luego de formada la primera hoja, se dejaron seis plantas por maceta, que fue la densidad de planta definitiva.

**Control del ensayo.** La frecuencia de los riegos se determinó pesando las macetas para mantener la humedad a 33 kPa y no bajar de 2/3 del contenido de agua a 33 kPa.

A los 70 días después de la siembra y 63 días después de la germinación comenzó la floración.

Al inicio de la formación de canastillos (cabezuelas florales) se cortaron las plantas desde la corona, incluyendo toda la parte aérea; el material se secó en estufa con ventilación forzada a 65°C, por 48 h para determinar materia seca (MS).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para establecer relaciones entre las propiedades químicas, físicas y de fertilidad de los suelos con los resultados del ensayo biológico se analizaron algunas de estas propiedades (Cuadro 2).

El suelo Marchihue se destaca por una capacidad de retención de agua y contenido de materia orgánica bajos y un valor de CIC muy baja; ello se debe a su alto contenido de arena. El pH fue fuertemente ácido en la Serie Curanipe y moderadamente ácido en la Serie Marchihue, según las categorías dadas por el Soil Survey Division Staff (1993). En relación al pH el Instituto de Investigación de Recursos Naturales (1982) señala que el pH óptimo para trébol subterráneo varía en el rango de 5,6 a 6,5. Por otra parte, el Al intercambiable es menor de 1,0 cmol (+) kg<sup>-1</sup>, contenido que no afectaría al trébol subterráneo, según Hodge y Lewis (1989).

**Cuadro 2. Algunas propiedades físicas y químicas de los suelos****Table 2. Some physical and chemical properties of soils studied**

Suelo	Retención de agua		Granulometría			pH	MO <sup>1</sup>	Al inter.	CIC <sup>2</sup>	Acidez total
	33kPa	1500kPa	Arena	Limo	Arcilla					
	----- % -----								----- cmol(+) kg <sup>-1</sup> -----	
Curanipe	24,6	11,9	49,4	28,7	21,9	5,1	3,8	0,09	17,3	18,8
Marchihue	10,8	4,3	73,1	17,4	9,5	5,6	1,1	0,04	4,2	4,9

<sup>1</sup>MO = materia orgánica.<sup>2</sup>CIC = capacidad de intercambio catiónico.

La información de cationes y la acidez intercambiable se presenta en el Cuadro 3. Se indica que el Ca de intercambio óptimo para trébol corresponde a un valor sobre 1,6 cmol(+) kg<sup>-1</sup> (Burnett *et al.*, 1994), por lo tanto, ambos suelos tienen contenidos de Ca intercambiable adecuados.

El contenido de potasio de intercambio corresponde a una disponibilidad media en el suelo Marchihue y alta en el suelo Curanipe, según los estándares indicados por Rodríguez (1993). Por otra parte, Meissner y Clarke (1977) señalan para suelos del sureste de Australia una concentración crítica para K de intercambio de 80 mg kg<sup>-1</sup>, y por tanto los suelos tienen niveles adecuados de K para el crecimiento del trébol subterráneo.

Los resultados del análisis de la disponibilidad de nutrientes (Cuadro 4) indican que los suelos presentaban bajos contenidos de nitrógeno, fósforo, azufre y molibdeno; el suelo Marchihue presentó también bajo contenido de boro, por lo que se esperaría tener una respuesta a la aplicación de estos nutrientes. Los contenidos de molibdeno determinados corresponden a un valor muy bajo según los antecedentes presentados por Reddy *et al.* (1981a). No ha sido definido un nivel crítico adecuado para Mo (Alston 1999, comunicación personal<sup>4</sup>).

En relación con los resultados de la disponibilidad de nutrientes, a partir del análisis químico de los suelos, estos indican, de acuerdo a lo informado en CONICYT (1998) para la zona de estudio, lo siguiente:

**Cuadro 3. Cationes y acidez de intercambio****Table 3. Exchangeable cations and acidity**

Suelo	Cationes de intercambio				Acidez Interc.	CIC efectiva
	Ca	Mg	K	Na		
	----- cmol(+) kg <sup>-1</sup> -----					
Curanipe	5,87	2,92	0,91	1,09	1,0	11,8
Marchihue	2,09	1,44	0,27	0,28	1,7	5,8

<sup>4</sup>Dr. Angus M. Alston, Department of Soil and Water, University of Adelaide, South Australia.

**Cuadro 4. Disponibilidad de nutrientes en los suelos****Table 4. Soil nutrients availability**

Suelo	N inorg.	P -Olsen	K disp.	B disp.	S disp.	Mo
						$\mu\text{g kg}^{-1}$
----- mg kg <sup>-1</sup> -----						
Curanipe	17	7	376	0,64	4,43	2,4
Marchihue	10	1	124	0,04	0,69	3,1

Suelo Curanipe: B, K alta; N, P, S y Mo baja.  
Suelo Marchihue: K media; N, P, S, B y Mo baja.

El bajo contenido de nitrógeno se asume por los contenidos bajos a medios de MO y de N inorgánico. Estos índices asociados a la baja CIC corroboran la baja fertilidad descrita para estos suelos (Rodríguez, 1993).

Según los estándares señalados para la disponibilidad de fósforo (Jones *et al.*, 1972; Rodríguez, 1993), los contenidos de P disponible ( $P_d$ ) en ambos suelos son bajos. Jones *et al.* (1972) y Jones (1974) señalan para el método de extracción con bicarbonato de sodio (P-Olsen) un nivel crítico de  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  para praderas y se señalan los siguientes estándares: bajo:  $< 10 \text{ mg kg}^{-1}$ ; medio:  $10 \text{ a } 20 \text{ mg kg}^{-1}$  y alto:  $> 20 \text{ mg kg}^{-1}$ . Sobre  $40 \text{ mg kg}^{-1}$  de P-Olsen se recomienda no aplicar fósforo. Con respecto a la disponibilidad de molibdeno, no habría una certeza al respecto, por lo indicado anteriormente en relación al análisis de suelos para este nutriente.

**Ensayo biológico**

En el Cuadro 5 se presentan los resultados del ensayo en invernadero. Los rendimientos de MS en los tratamientos testigo y sin aplicación de fósforo fueron significativamente inferiores a la fertilización completa (FC) en ambos suelos: Curanipe y Marchihue.

**Cuadro 5. Materia seca (MS) parte aérea por maceta (seis plantas)****Table 5. Aerial dry matter per pot (six plants)**

Tratamiento <sup>1</sup>	Suelo	Suelo
	Curanipe	Marchihue
----- g maceta <sup>-1</sup> -----		
FC	6,51ab <sup>2</sup>	6,05a
FC-P	3,01c	0,53b
FC-S	5,98b	6,02a
FC-B	6,94a	5,64a
FC-Mo	5,99b	5,71a
Testigo	2,62c	0,95b

<sup>1</sup>FC= fertilización completa; los otros corresponden a la formulación de FC sin el nutriente indicado y el testigo corresponde al tratamiento sin fertilización.

<sup>2</sup>Letras iguales en una misma columna indica que los valores no difieren estadísticamente ( $P \leq 0,05$ ).

En el suelo Curanipe la no aplicación de S o de Mo significó rendimientos de MS algo inferiores a la FC, pero diferencias no significativas, resultados que indicarían que los niveles de S y Mo serían adecuados para el trébol subterráneo, o bien estos elementos se encuentran en una forma disponible de liberación lenta que los métodos respectivos no la miden. El tratamiento FC-B no afectó el rendimiento de MS.

En el suelo Marchihue los tratamientos FC-B y FC-Mo implicaron rendimientos de MS inferiores a la FC, pero las diferencias tampoco fueron significativas. Sin embargo, en el tratamiento sin B, se observó en las plantas una coloración

rosada marginal en las hojas poco antes de la cosecha, síntoma que correspondería a una deficiencia de B, corroborando el bajo contenido de B disponible en el suelo, considerando un nivel crítico de  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$  para el método de extracción usado.

Según los resultados de MS aérea (Cuadro 5), ambos suelos son deficientes en fósforo. La no aplicación de azufre, boro y molibdeno en la fertilización no afectaron significativamente los rendimientos de MS. El rendimiento de MS más bajo correspondió al tratamiento sin P del suelo Marchihue lo cual corrobora el contenido muy bajo de P disponible ( $1 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

En el suelo Curanipe el boro mostró un ligero efecto detrimental, lo que indicaría que se debería bajar la dosis de boro en la fertilización completa al aplicar este método en los suelos en estudio.

Al comparar los rendimientos de MS de la parte aérea entre suelos (Cuadro 6), se observa que el suelo Marchihue tuvo un rendimiento más bajo de MS en los tratamientos FC-P, FC-B y T. Estos resultados se asocian a lo detectado por el análisis químico de disponibilidad de los nutrientes.

El ensayo en macetas es un método de prospección de deficiencias nutricionales, de acuerdo a lo señalado por Schenkel y Baherle (1971), quienes además señalan que es un excelente método para estudiar las deficiencias nutricionales de los suelos, esto es, establecer si la disponibilidad de nutrientes permite sostener un crecimiento óptimo de la planta indicadora, como se concibió desde los inicios de su uso. Además, estos investigadores señalan que el ensayo en macetas tiene una menor variabilidad en comparación con los ensayos de campo, ya que existe un mejor control y uniformidad de los factores de crecimiento. No obstante, los análisis químicos y los resultados de estos ensayos en macetas dan una información que debe ser validada en condiciones de campo.

El análisis de planta en trébol subterráneo ha sido un método de diagnóstico de problemas nutricionales muy común en diferentes países (Jones *et al.*, 1972; Drlica y Jackson, 1979; Bouma y Dowling, 1982; Dowling y Bouma, 1985; Bolland *et al.*, 1995) y lo relacionan con ensayos biológicos en macetas o en campo.

**Cuadro 6. Comparación del rendimiento de materia seca parte aérea, entre suelos para los diferentes tratamientos, correspondientes a seis plantas por maceta**

**Table 6. Comparison of aerial dry matter among soils for different treatments corresponding to six plants per pot**

Suelo	Tratamiento <sup>1</sup>					Testigo
	FC	FC-P	FC-S	FC-B	FC-Mo	
	----- g maceta <sup>-1</sup> -----					
Curanipe	6,51a <sup>2</sup>	3,01a	5,98a	6,94a	5,99a	2,62a
Marchihue	6,05a	0,53b	6,02a	5,64b	5,71a	0,95b

<sup>1</sup>FC = fertilización completa; los otros corresponden a la formulación de FC sin el nutriente indicado y el testigo corresponde al tratamiento sin fertilización.

<sup>2</sup>Letras iguales en una misma columna indica que los valores no difieren estadísticamente ( $P \leq 0,05$ ).

## CONCLUSIONES

El método biológico propuesto permite alcanzar un desarrollo normal de las plantas de trébol subterráneo y por tanto observar las diferencias producidas por las deficiencias nutricionales.

La deficiencia más severa en los suelos estudiados fue fósforo, observándose concordancia entre los resultados del ensayo de invernadero y el análisis químico de la disponibilidad de fósforo en los suelos.

En el suelo granítico, Suelo Marchihue, no concordó su baja disponibilidad de boro al análisis químico de suelos y el resultado del ensayo biológico, no obstante el rendimiento de materia seca fue menor en comparación con el Suelo Curanipe con una mayor disponibilidad de boro.

Los métodos usados para medir la disponibilidad de S y Mo en los suelos no son coincidentes con los resultados de los ensayos biológicos, por tanto deberían probarse otros métodos de diagnóstico que permitieran un mayor marco de discernimiento.

## RESUMEN

Las praderas del secano costero de la zona central presentarían un mejoramiento significativo en su calidad mediante la siembra y permanencia del trébol subterráneo (*Trifolium subterraneum* L.). La no permanencia del trébol subterráneo luego de uno o dos años, podría deberse, por una parte, a las deficiencias de algunos nutrientes en los suelos. Para realizar una prospección rápida de la disponibilidad de nutrientes, como una etapa intermedia, se implementó una metodología para realizar ensayos en macetas con esta especie en condiciones de invernadero. En la etapa inicial se consideraron dos suelos, Cu-

ranipe y Marchihue, a la profundidad de 0-20 cm. Se determinaron en las muestras algunas propiedades físicas, químicas, y disponibilidad de nutrientes para relacionarlas con los resultados del ensayo biológico. La metodología propuesta permitió el normal crecimiento del trébol subterráneo hasta completar su ciclo vital. El ensayo biológico corroboró la baja disponibilidad de P, pero no así la de S, B y Mo.

**Palabras claves:** fertilidad de suelos, invernadero, suelos del secano.

## LITERATURA CITADA

- BINGHAM, F. 1982. Boron. In: Page, A. L. (Ed.) Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2<sup>nd</sup> ed. Agronomy. Serie 9. ASA, SSSA. Madison, Wisconsin, USA. p. 431-447.
- BOLLAND, M. D. A.; CLARKE, M. F. AND YEATES, J. S. 1995. Critical phosphorus concentration for subterranean clover in the high rainfall areas of south-western Australia. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 26: 1427-1440.
- BOUMA, D. AND DOWLING, E. J. 1982. Phosphorus status of subterranean clover: a rapid and simple leaf test. Aust. J. Agric. Anim. Husb. 22: 428- 436.
- BURNETT, V.; COVENTRY, D.; HIRTH, J. AND GREENHALGH, F. 1994. Subterranean clover decline in permanent pasture in north eastern Victoria. Plant and Soil 164: 231-241.



- CONICYT. 1998. Proyecto FONDECYT N° 1950757. Retención y disponibilidad de elementos aniónicos (P, S, B, Mo) en suelos de la Cordillera de la Costa de la zona central del país. Informes. Santiago, Chile. s.p.
- CHAMINADE, R. 1964. Diagnostic des carences minerales du sol par l' experimentation en petits vases de végétation. Science du Sol. Deuxième Semestre. p. 157-168.
- DEWIS, J. Y FREITAS, F. 1970. Métodos físicos y químicos de análisis de suelo y agua. Roma, Italia. FAO. Boletín de Suelos N° 10. 252 p.
- DRLICA, D. M. AND JACKSON, T. L. 1979. Effects of stage of maturity on P and S critical levels in subterranean clover. Agron. J. 71: 824-828.
- DOWLING, E. J. AND BOUMA, D. 1985. Field evaluation of a leaf test for assessment of the phosphorus status of subterranean clover and prediction of its response to phosphorus. Aust. J. Exp. Agric. 25: 331-336.
- FRIED, M. AND BROESHART, H. 1967. The soil and plant system in relation to inorganic nutrition. Academic Press Inc. New York, USA. 358 p.
- GILBERT, M. A. AND ROBSON, A. D. 1984. Studies on competition for sulfur between subterranean clover and annual ryegrass. II. Interaction of nitrogen supply and soil temperature. Aust. J. Agric. Res. 35: 65-73.
- HERNÁNDEZ, J.; ESCOPPINICHI, R. Y LEÓN, R. 1991. Determinaciones físicas del suelo. *In*: Manual operativo del laboratorio de suelo y agua. La Paz, Bolivia. Universidad Autónoma de Baja California Sur, Área Interdisciplinaria de Ciencias Agropecuarias, Laboratorio de Suelo y Agua. Manuales Universitarios p. 28-54.
- HODGE, T. J. V. AND LEWIS, D. C. 1989. A description of acid soils and the relationships between properties of acid soils and nutrient status of grazed in the south east of South Australis. Aust. J. Soil Res. 27: 149-159.
- INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE RECURSOS NATURALES. 1982. Manual de forrajeras y cultivos industriales, requerimientos: clima, suelo, especies y variedades. Santiago, Chile. 63 p.
- JONES, M. B.; RUCKMAN, J. E. AND LAWLER, P. W. 1972. Critical levels of P in subclover. Agron. J. 64: 695-698.
- JONES, M. B. 1974. Fertilization on annual grasslands of California and Oregon. *In*: Mays, D. A. (Ed.) Forage fertilization. ASS. Madison, Wisconsin, USA. 621 p.
- KEENEY, D. AND NELSON, D. 1982. Nitrogen-inorganic forms. *In*: Page, A. L. (Ed.) Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2<sup>nd</sup> ed. Agronomy. Serie 9. ASA, SSSA. Madison, Wisconsin, USA. p. 643-698.
- MEISSNER, A. P. AND CLARKE, A. L. 1977. Response of mown pasture to potassium fertilizer in south-eastern South Australia. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb. 17: 765-775.
- MILLER, W. Y MCFEE, W. 1983. Distribution of cadmium, zinc, copper and lead in soils of Industrial Northwestern Indiana. Journal Environmental Quality 12 (1): 21-33.
- NELSON, D. AND SOMMERS, L. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. *In*: Page, A. L. (Ed.) Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2<sup>nd</sup> ed. Agronomy. Serie 9. ASA, SSSA. Madison, Wisconsin, USA. p. 539-579.

- OLSEN, S. AND SOMMERS, L. 1982. Phosphorus. *In*: Page, A. L. (Ed.) Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2<sup>nd</sup> ed. Agronomy. Serie 9. ASA, SSSA. Madison, Wisconsin, USA. p. 403-430.
- PEECH, M. 1965. Hydrogen ion activity. *In*: Black, C. A. (Ed.) Methods of soil analysis. ASA. Madison, USA. p. 914-926.
- REDDY, G. D.; ALSTON, A. M. AND TILLER, K. G. 1981a. Effects of fertilizer on concentration of copper, molybdenum, and sulfur in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb. 21: 491-497.
- REDDY, G. D.; ALSTON, A. M. AND TILLER, K. G. 1981b. Seasonal changes in the concentrations of copper, molybdenum and sulfur in pasture plants. Aust. J. Agric. Anim. Husb. 21: 498-505.
- RODRÍGUEZ, J. 1993. Manual de fertilización. Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. Colección en Agricultura. 362 p.
- SADZAWKA, A. 1990. Métodos de análisis de suelos. Santiago, Chile, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Centro Regional de Investigación La Platina. Serie La Platina Nº 16. 130 p.
- SADZAWKA, A. 1993. Aplicación de la espectrometría de emisión atómica de plasma por acoplamiento inductivo (EEA-PAI) en el análisis de azufre disponible en el suelo. Agricultura Técnica (Chile) 53: 75-77.
- SOIL SURVEY DIVISION STAFF. 1993. Soil Survey Manual. United States Department of Agriculture. Washington, D.C., USA. 437 p.
- SCHENKEL, G. Y BAHERLE, P. 1971. Exploración de deficiencias nutritivas con suelos en macetas. II. Método usado. Agricultura Técnica (Chile) 31: 9-24.
- TISDALE, S. L., NELSON, W. L. AND BEATON; J. D. 1985. Soil fertility and fertilizers. Macmillan Publishing Company, Inc. New York, USA. 754 p.