

# INVESTIGACIONES

## ENSAYOS BIOLÓGICOS EN MACETAS CON TRÉBOL SUBTERRÁNEO EN SUELOS DEL SECANO COSTERO, VI REGIÓN DE CHILE. II. EXPLORACIÓN DE DISPONIBILIDAD DE FÓSFORO, AZUFRE, BORO, MOLIBDENO Y SU RELACIÓN CON LA NODULACIÓN<sup>1</sup>

Biological tests in pots with subterranean clover in Coastal Dry Land soils, VI Region of Chile. II. Survey of available phosphorus, sulfur, boron and molybdenum and their relation to nodulation

José Domingo Opazo A.<sup>2</sup>, Lorena Fernández S.<sup>3</sup> y María Adriana Carrasco R.<sup>2</sup>

### ABSTRACT

The productivity and quality of native dry land pasture of the Coastal Range of the VI Region of Chile, the major feed resource for the livestock of this zone and main source of economic income for its population, could be improved increasing the proportion of better forage species, such as subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). However, the adequate establishment of subterranean clover has been impeded probably due to nutrient deficiencies. The objective of this study was to validate a method of pot assays under greenhouse conditions as a quick method for evaluating nutrient deficiencies of P, S, B and Mo. Curanipe (Alfisol) and Marchihue (Inceptisol) series were used. The treatments applied to each pot containing 2 kg of soil and six plants of subterranean clover cv. Trikkala were as follows: the control (T), complete fertilization (FC), FC-S, FC-B and FC-Mo. The plants were cut 79 days after sowing. Aerial dry matter (MSA) yield and the number of nodules were affected by a severe P deficiency, an acid pH (5.1) and exchangeable Al (0.09 cmol (+) kg<sup>-1</sup>). Aerial dry matter was not affected by B and Mo application. According to the soil fertility degradation, the dry matter increased by two to six times under experimental conditions. Sulfur mineralization and possible SO<sub>2</sub> foliage absorption should be considered for S availability interpretation.

**Key words:** *Trifolium subterraneum* L., missing element method, dry land soil, Coastal Range.

### INTRODUCCIÓN

El principal uso de los suelos de secano en la VI Región es la pradera natural, en algunos casos mejorada con la introducción de especies de mayor valor forrajero. En la provincia Cardenal Caro su

superficie es de 366.648 hectáreas, según INE (1995).

La pradera mediterránea anual se extiende desde la zona mediterránea árida hasta la zona mediterránea subhúmeda, entre las coordenadas 29° y 38° de Lat. S. Esta pradera se caracteriza por poseer una estrata arbórea-arbustiva donde predomina el espino (*Acacia caven* L.) y una estrata herbácea compuesta principalmente por gramíneas anuales, presentándose leguminosas (fabáceas) en cantidad reducida (Silva y Lozano, 1982).

<sup>1</sup>Recepción de originales: 14 de mayo de 1999.

Trabajo financiado por proyecto FONDECYT N° 1950757.

<sup>2</sup>Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Casilla 1004, Santiago, Chile.

E-mail: jopazo@uchile.cl acarrasc@uchile.cl

<sup>3</sup>Servicio Agrícola y Ganadero, Avda. Bulnes 140, Complejo Lo Aguirre, Santiago, Chile.

E-mail: loaguirr@sag.minagri.gob.cl

La productividad de la pradera es muy variable en relación con las precipitaciones, propiedades de los suelos y el historial de manejo. Según Olivares (1985), el principal factor que afecta la productividad de la pradera mediterránea anual es el clima, particularmente la oportunidad de las precipitaciones y la cantidad de agua disponible para el crecimiento de la comunidad pratense. Las lluvias se concentran en 4 a 5 meses y presentan una gran variación estacional entre años. En relación con la productividad, Ovalle y Squella (1988) señalan rendimientos de materia seca anual que varían entre 200 y 4.000 kg ha<sup>-1</sup>.

El trébol subterráneo (*Trifolium subterraneum* L.) constituye una especie que permitiría mejorar el valor forrajero de la pradera, pero existen causas que no han permitido su adecuado establecimiento, hecho que se presenta de manera generalizada en el secano de la Cordillera de la Costa de la VI Región, aun cuando en algunos predios se ha mantenido presente en la pradera, particularmente bajo la canopia o circundando los espinos (Opazo, no publicado).

Claro (1980) señala que a mediados del siglo XX la siembra de trébol subterráneo tuvo un gran auge, sin embargo, el desconocimiento de un manejo adecuado significó la desaparición casi total de esta especie al cabo de pocos años. Campillo (1991) y Romero y Rojas (1993) han estudiado más recientemente el manejo de la pradera de festuca y trébol subterráneo en la IX Región, bajo condiciones de clima y suelo diferentes a las del secano central de la Cordillera de la Costa, aunque ambas zonas tienen una estación seca estival.

Campillo (1991), en un experimento de campo, encontró que el fósforo aplicado incrementó significativamente la producción de la pradera de festuca y trébol subterráneo ( $P \leq 0,01$ ), la que el autor ajustó a una función cuadrática, pero, prácticamente es una respuesta de tipo lineal a la aplicación de P, lo que prueba la sensibilidad del trébol subterráneo a bajos

contenidos de P disponible en el suelo. Opazo *et al.* (1999), en experimentos en macetas, corroboran para los suelos del secano de la Cordillera de la Costa de la VI Región un significativo efecto del P en la producción de materia seca del trébol subterráneo. La especie asociada puede variar, ya que en el secano central de la Cordillera de la Costa, el trébol subterráneo comúnmente se siembra asociado con falaris (López, 1988).

Soto (1997) señala que entre los factores que afectan el establecimiento del trébol subterráneo destacan la baja fertilidad de los suelos y la insuficiente disponibilidad hídrica, observándose que se establece mejor en sectores con balance hídrico favorable, como ocurre en el secano costero comparado con el secano interior de la Cordillera de la Costa.

El análisis de suelo, los ensayos de macetas en invernadero y el análisis de planta son métodos que permiten realizar una prospección rápida de los nutrientes limitantes o de las propiedades de los suelos. Estos métodos se usan en una primera etapa en la exploración o prospección de la fertilidad de los suelos, ya que los ensayos de campo tienen un alto costo y son de difícil manejo.

El ensayo en invernadero es una técnica muy útil para detectar deficiencias nutricionales en un cultivo específico. Postulando que las deficiencias de nutrientes aniónicos podrían explicar la no persistencia del trébol subterráneo, los autores implementaron un método de ensayo en invernadero con trébol subterráneo, para explorar la disponibilidad de nutrientes aniónicos, cuya metodología está descrita en Opazo *et al.* (1999).

El objetivo de este estudio corresponde a la segunda etapa de implementación de un método de ensayo en macetas en invernadero para explorar la disponibilidad de elementos aniónicos (P, S, B y Mo) en suelos del secano de la Cordillera de la Costa, VI Región.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Ante la falta de información sobre métodos de ensayo en macetas en condiciones controladas de invernadero, que se hubieran aplicado en el país, utilizando como planta indicadora el trébol subterráneo (*Trifolium subterraneum* L.), se procedió a probar e implementar un método descrito en una publicación anterior (Opazo *et al.*, 1999), el cual se basó en las experiencias de los investigadores australianos Reddy *et al.* (1981a, 1981b) y de Gilbert y Robson (1984). Además, se consideraron los métodos publicados por Chaminade (1964) y también por Schenkel y Baherle (1971), no obstante que ellos utilizaron como planta indicadora la ballica (*Lolium perenne* L.). Por otra parte es necesario señalar que para el trébol subterráneo es fundamental considerar las condiciones ambientales, ya que es sensible a las altas temperaturas, la cual tiene influencia en la floración, por tanto este factor se controló varias veces en el día, manteniendo una temperatura ambiente de 20 a 22°C.

Se tomaron muestras de suelo compuestas en dos sitios a la profundidad de la capa arable. El Sitio 1 corresponde a la Asociación Curanipe, clasificado como Alfisol, 20 km al norte de la ciudad de Pichilemu por la costa, en el predio Centinela; es un suelo de textura franca, en posición de terraza marina en el secano costero. El Sitio 2 corresponde a la Serie Marchihue, clasificado como Inceptisol, 5 km al norte del pueblo de Marchihue, en el predio Los Maitenes; es un suelo de textura franco arenosa que está en una posición de llano en el secano interior. La caracterización morfológica de los suelos se encuentra en Soto (1997) y las series se describen en CIREN (1996).

Los análisis de las propiedades físicas y químicas de los suelos así como también la descripción de las unidades experimentales, la siembra y otras prácticas de manejo en relación con el método se indican en Opazo *et al.* (1999). Las unidades experimentales fueron macetas de polies-

tireno expandido con 2 kg de suelo (base peso seco) y seis plantas del cv. Trikkala.

**Tratamientos.** Los tratamientos fueron seis: testigo (T) sin fertilización; fertilización completa (FC); FC-P; FC-S; FC-B y FC-Mo. En la fertilización completa se aplicaron los macronutrientes N, K, P, Mg, Ca y los micronutrientes Mn, Cu, Zn, Fe, B, Mo. Las dosis y los compuestos químicos empleados en los tratamientos se señalan en Opazo *et al.* (1999).

**Época de corte.** Al inicio de la formación de canastillos se cortaron las plantas desde la corona incluyendo toda la parte aérea. La siembra se realizó el 8 de agosto y se cosechó el 26 de octubre, es decir 79 días de siembra a cosecha.

**Rendimiento de materia seca.** El rendimiento de materia seca por maceta se determinó luego de secar el material vegetal, parte aérea y raíces, en una estufa con ventilación forzada a 65°C por 48 h.

**Número de nódulos.** Los nódulos por maceta se contaron con una lupa luego de separar las raíces mediante agua en un balde y usando tamices de 2 mm (N° 10) y 0,25 mm (N° 60) de la Serie US Standard Sieve Service. La operación de separación de las raíces debe ser cuidadosa para evitar pérdidas y el deterioro de los nódulos.

**Análisis de las plantas.** Se realizó análisis químico del tejido de las plantas incluyendo la corona para nitrógeno, azufre, fósforo, boro y molibdeno. Se obtuvo una muestra compuesta de las tres repeticiones, ya que en algunos tratamientos la cantidad de materia seca fue muy pequeña. Los métodos de análisis químico fueron: nitrógeno por método de digestión Kjeldahl según Muller (1961) modificado; azufre por digestión húmeda con ácido perclórico y ácido nítrico según Johnson y Ulrich (1959) modificado y determinación por espectrometría de emisión atómica de plasma de acoplamiento inductivo según Watson e Isaac (1990). Para P, B y Mo, se realizó una calcinación de la muestra

a 550°C y las cenizas se disolvieron en ácido clorhídrico; el fósforo se determinó por colorimetría con ácido vanadomolibdico; el boro por colorimetría con Azometina-H y el molibdeno por espectrometría de absorción atómica con llama de acetileno y óxido nítrico. La técnica de fósforo fue la de Lott *et al.* (1956) modificada; boro y molibdeno se determinaron según Sadzawka (no publicado para análisis de planta). Los análisis de N, P y B se realizaron en el Laboratorio de Análisis Foliar de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, y los de S y Mo en el Laboratorio de Diagnóstico Nutricional del Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación La Platina.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Propiedades físicas y químicas de los suelos

El suelo Curanipe presenta una retención de agua y una capacidad de intercambio catiónico más altas que el suelo Marchihue, como resul-

tado del mayor contenido de arcilla y materia orgánica (Cuadro 1). Además, presentó una mayor fertilidad que el suelo Marchihue, si se consideran sus valores más altos de fósforo, potasio, boro y azufre disponibles (Cuadro 2).

Los resultados coinciden con lo señalado por Soto (1997) al caracterizar los suelos en 15 sitios. Sin embargo, el suelo Curanipe tiene un valor de pH más ácido (5,1) lo cual puede constituir un factor limitante para el crecimiento del trébol subterráneo, particularmente si se usan fertilizantes amoniacales. En la zona, comúnmente se han aplicado fertilizantes amoniacales (urea y fosfato de amonio) tanto en la siembra como en las fertilizaciones posteriores (fertilización de mantención) de las praderas y, en las siembras de trigo cuando se realiza una rotación pradera-trigo. La acidificación también es un resultado de la pérdida de bases en el tiempo, como sería el caso del suelo Marchihue donde la pradera no había sido fertilizada, de acuerdo con los antecedentes históricos de manejo.

Cuadro 1. Algunas propiedades físicas y químicas de los suelos estudiados

Table 1. Some physical and chemical properties of the studied soils

Suelo	Retención de agua		Granulometría			pH	MO %	Al interc.	CIC	Acidez total
	33 kPa	1500 kPa	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	10,3	18,8
Marchihue	10,8	4,3	73,1	17,4	9,5	5,4	1,1	0,04	2,9	4,9

Cuadro 2. Disponibilidad de nutrientes en los suelos

Table 2. Soil nutrient availability

Suelo	N <sub>Inorgánico</sub>	P <sub>d</sub>	K <sub>d</sub>	S <sub>d</sub>	B <sub>d</sub>	Mo <sub>d</sub>
	----- mg kg <sup>-1</sup> -----					µg kg <sup>-1</sup>
Curanipe	17	7	376	4,43	0,64	2,4
Marchihue	10	1	124	0,69	0,04	3,1

**Rendimiento de materia seca aérea y de raíces**

Al comparar los rendimientos del tratamiento testigo (T), tanto para materia seca aérea (MSA) y materia seca de raíces (MSR) en las Figuras 1 y 2, el suelo Curanipe presentó un rendimiento de materia seca mayor que el suelo Marchihue ( $P \leq 0,05$ ), lo cual se explica por la diferencia en la fertilidad que presentan ambos suelos. Los rendimientos del tratamiento FC-P no fueron diferentes respecto del tratamiento T ( $P \leq 0,05$ ), lo que significa que el fósforo es el principal nutriente aniónico que limita el rendimiento. Este resultado es coincidente con los bajos niveles de fósforo disponible encontrados en ambos suelos (Cuadro 1). Además, las diferencias

en MSA del tratamiento T (Figura 1) confirman que la fertilidad natural del suelo es uno de los factores limitantes, particularmente la deficiencia de P, que corregida puede incrementar la productividad del trébol subterráneo, tal como lo demuestra la MSA producida en el tratamiento con fertilización completa (FC).

En ambos suelos los rendimientos de MSA para los tratamientos FC, FC-S, FC-B y FC-Mo fueron mayores de 5,6 g por maceta (Cuadro 3), no así el rendimiento para el tratamiento FC-P que fue menor. Este resultado indica que, además de existir una baja capacidad de suministro de P en estos suelos, el método de Olsen fue efectivo para diferenciar niveles deficientes de P.

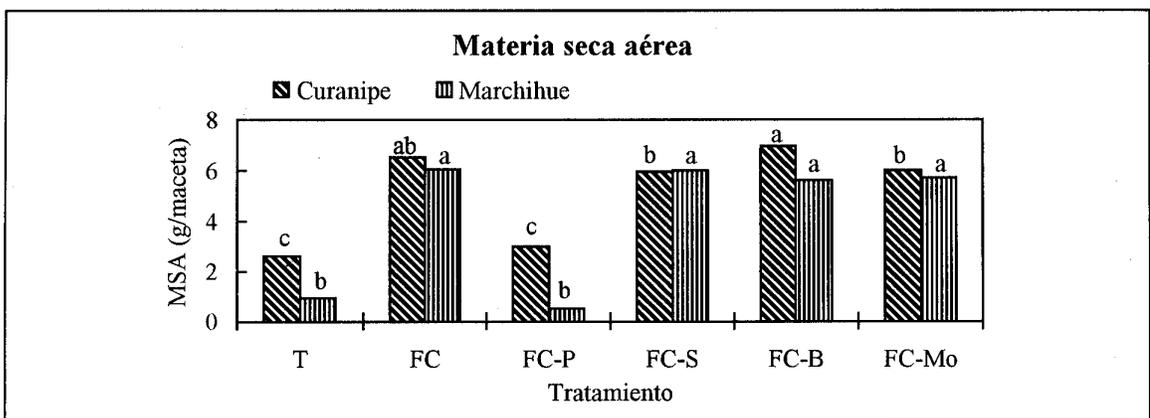


Figura 1. Rendimiento de materia seca aérea (MSA) para los distintos tratamientos.  
Figure 1. Aerial dry matter (ADM) yields for the different treatments.

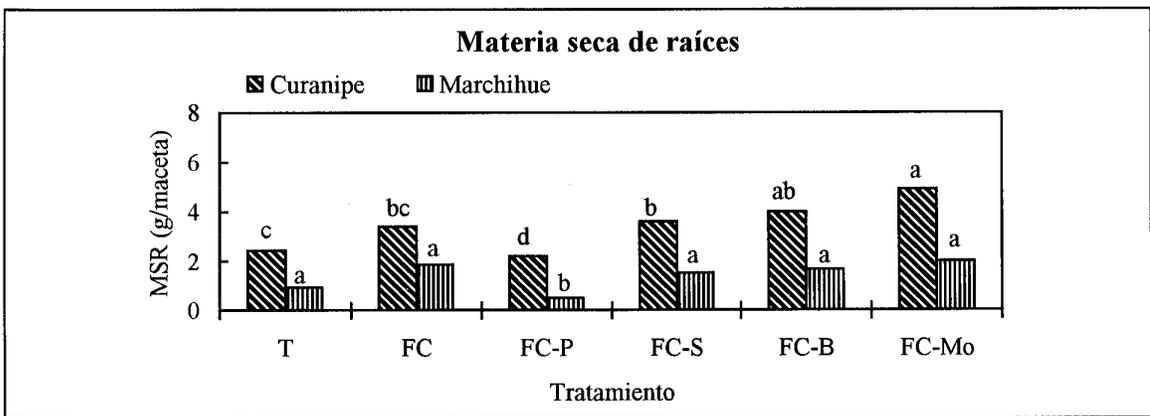


Figura 2. Rendimiento de materia seca de raíces (MSR) para los distintos tratamientos.  
Figure 2. Root dry matter (RDM) yields for the different treatments.

Aun cuando los niveles de S y B disponibles (Sd y Bd) en el suelo Marchihue eran deficientes (Cuadro 2), de acuerdo con los estándares informados para trébol subterráneo y citados en Carrasco *et al.* (1999), los rendimientos de materia seca aérea para FC-S y FC-B no fueron significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ) a los del tratamiento FC. No obstante este resultado, se sabe que el S y el B favorecen la fijación simbiótica del N y la calidad de la proteína, parámetros que no fueron evaluados en esta investigación.

La falta de relación entre un bajo nivel de Sd y la no respuesta en materia seca al comparar FC-S con FC en el suelo Marchihue, se podría explicar por una posible mineralización del S orgánico durante el crecimiento de las plantas, la cual se ve favorecida durante su desarrollo (Murphy, 1980). Sin embargo, dado el bajo contenido de materia orgánica en el suelo Marchihue, la falta de efecto en el tratamiento FC-S podría ser atribuida a absorción foliar de  $SO_2$  atmosférico en el área donde se realizó el ensayo. En Inglaterra, Cowling *et al.* (1973), encontraron respuesta a la aplicación de S en trébol rosado (*Trifolium pratense* L.) y en ballica (*Lolium perenne* L.) sólo al utilizar una cámara de crecimiento con aire filtrado para

eliminar el  $SO_2$ , comprobando con ello que el  $SO_2$  atmosférico es una fuente de S que es absorbida por las hojas o bien puede difundir en el medio poroso del suelo.

Los cultivos pueden absorber entre 8 y 10  $kg\ ha^{-1}$  de S, en forma de  $SO_2$  atmosférico cuando los contenidos en la atmósfera son del orden de 35 a 40  $mg\ m^{-3}$  (Murphy, 1980; Kamprath y Jones, 1986). De acuerdo a mediciones de  $SO_2$  atmosférico hechas por el Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente (SESMA), su concentración en la comuna de La Pintana, donde se realizó el ensayo, varía entre 10 y 20  $mg\ m^{-3}$ , lo cual indica que perfectamente el  $SO_2$  pudo ser una fuente de S.

El rendimiento de MSA del tratamiento FC-Mo no tuvo diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) con respecto del tratamiento FC (Figura 1), pero sí las hubo en el rendimiento de MSR en el suelo Curanipe (Figura 2), el cual tenía menos Mo disponible que el suelo Marchihue (Cuadro 3). Los contenidos de Mo extraídos con agua, indican que ambos suelos tendrían suficiente Mo para suplir los requerimientos del trébol subterráneo. Jones *et al.* (1972), en un ensayo en macetas con trébol subterráneo,

**Cuadro 3. Materia seca aérea y de raíces por maceta (seis plantas) en ambos suelos**

**Table 3. Aerial dry matter and root yield per pot (six plants) in both soils**

Tratamiento	Suelo Curanipe		Suelo Marchihue	
	Aérea	Raíces	Aérea	Raíces
Testigo	2,62c <sup>1</sup>	2,44cd	0,95b	0,92ab
FC	6,51ab	3,41bc	6,05a	1,85a
FC-P	3,01c	2,20d	0,53b	0,50b
FC-S	5,98b	3,61b	6,02a	1,53ab
FC-B	6,94a	4,01ab	5,64a	1,69a
FC-Mo	5,99b	4,93a	5,71a	2,01a

<sup>1</sup>Letras iguales en la columna indican que no hay diferencia estadística. ( $P \leq 0,05$ ).

FC: Fertilización completa. -P: menos fósforo. -S: menos azufre. -B: menos boro. -Mo: menos molibdeno.

realizado en California, con un suelo franco arenoso, pH 5,9, obtuvieron rendimientos muy similares de MSA, alrededor de 6,0 g por maceta, con un tiempo de siembra a cosecha de 118 días, lo que avala y corrobora los niveles de productividad obtenidos en este ensayo, que duró 79 días. Por lo tanto, el único de los nutrientes estudiados claramente deficitario sería el fósforo.

#### Concentración de nutrientes en las plantas

El análisis de planta es una técnica de diagnóstico apropiada para cultivos forrajeros tomando ciertas consideraciones (Kelling y Matocha, 1990).

**Nitrógeno.** Las concentraciones de nitrógeno (Cuadro 4) no presentan grandes diferencias

entre suelos; en el tratamiento FC sus valores fueron 28,8 y 29,3 g kg<sup>-1</sup> en los suelos Curanipe y Marchihue, respectivamente, muy similares a los encontrados por Evans *et al.* (1990) en Australia, donde éstos variaron entre 29,0 y 30,7 g kg<sup>-1</sup>.

La menor disponibilidad de B afectó la fijación simbiótica de N en el suelo Marchihue, ya que la concentración de N en el tratamiento FC-B fue de 19,3 g kg<sup>-1</sup> mientras que en los otros tratamientos sus valores fluctuaron entre 28 y 41,2 g kg<sup>-1</sup> (Cuadro 4).

Las altas concentraciones de N en los tratamientos FC-P (Cuadro 4) indican que probablemente S, B y Mo favorecieron la fijación simbiótica, ya que las concentraciones de N en los testigos

**Cuadro 4. Concentración de nutrientes aniónicos en plantas de trébol subterráneo<sup>1</sup>**

**Table 4. Anionic nutrient concentration in subterranean clover**

Tratamiento	Nutriente <sup>1</sup>				
	N	P	S	B	Mo
	----- g kg <sup>-1</sup> -----			----- mg kg <sup>-1</sup> -----	
	Suelo Curanipe				
Testigo	22,7	1,9	2,2	24	0,3
FC	28,8	2,1	3,2	49	0,4
FC-P	37,6	1,9	n.a. <sup>2</sup>	61	n.a.
FC-S	29,3	2,0	2,8	48	n.a.
FC-B	29,9	1,9	n.a.	24	n.a.
FC-Mo	23,8	1,9	n.a.	52	0,3
	Suelo Marchihue				
Testigo	28,0	1,4	1,8	21	bld <sup>3</sup>
FC	29,3	3,6	3,8	197	0,8
FC-P	41,2	1,4	n.a.	360	n.a.
FC-S	28,5	3,7	1,7	103	n.a.
FC-B	19,3	3,2	n.a.	10	n.a.
FC-Mo	29,0	3,8	n.a.	246	bld

<sup>1</sup>Muestra compuesta de las tres repeticiones debido a la baja cantidad de MS en algunos tratamientos.

<sup>2</sup>n.a. = no analizado, por justificarse sólo en algunos tratamientos por el costo de la determinación analítica.

<sup>3</sup>bld = bajo límite de detección.

FC: Fertilización completa. -P: menos fósforo. -S: menos azufre. -B: menos boro. -Mo: menos molibdeno.

fueron menores; por tanto, en las plantas de los tratamientos FC-P el nitrógeno se acumuló por un menor crecimiento debido a la deficiencia de P.

**Fósforo.** De acuerdo a los niveles de P en las plantas propuestos como adecuados por Jones *et al.* (1980) y Bolland *et al.* (1995), de 2,0 a 2,8 g kg<sup>-1</sup> y de 2,0 a 3,0 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente, sólo las plantas del tratamiento FC y FC-S en el suelo Curanipe estaban en torno al valor mínimo del rango adecuado (Cuadro 4), no obstante, las plantas de los otros tratamientos presentaron valores muy próximos (1,9 g kg<sup>-1</sup>), mientras que en el suelo Marchihue solamente las plantas de los tratamientos T y FC-P presentaron niveles no adecuados, menores de 2 g kg<sup>-1</sup> de P.

El trébol subterráneo es muy sensible a los niveles bajos de P disponible (Pd) en los suelos, tanto para su establecimiento como para su persistencia; al respecto, referencias de los últimos años coinciden en esta característica (Campillo, 1991; Paynter, 1992; Burnett *et al.*, 1994; Bolland y Paynter, 1994; Bolland *et al.*, 1995; Opazo *et al.*, 1999). Las concentraciones más altas de P en planta en los tratamientos con P en el suelo Marchihue indican que la absorción fue mayor y está asociada a un suelo de textura más arenosa.

**Azufre.** Las concentraciones de S en planta (Cuadro 4) están sobre el nivel adecuado señalado por Jones *et al.* (1970) de 1,2 a 1,6 g kg<sup>-1</sup>. De acuerdo con Drlica y Jackson (1979), que señalan un nivel crítico de 2,0 g kg<sup>-1</sup> de S, sólo el tratamiento T en el suelo Marchihue presenta un valor no adecuado, lo cual se relaciona con su muy bajo contenido de S disponible (Cuadro 2). Estos resultados corroboran la hipótesis de que el SO<sub>2</sub> atmosférico fue una fuente de S para las plantas.

**Boro.** Los contenidos de B en planta, con excepción del tratamiento FC-B del suelo Marchihue, son superiores a 20 mg kg<sup>-1</sup> (Cuadro 4). Las

plantas pueden alcanzar contenidos de B hasta de 60 mg kg<sup>-1</sup>. Jones (1974) señala que es muy rara la deficiencia de B en tréboles anuales en California, por tanto no hace referencia a niveles críticos. En cambio, Sherrell (1983) señala un nivel crítico de 16 mg kg<sup>-1</sup> de B para trébol blanco (*Trifolium repens* L.). Por otra parte, Gupta (1993b) indica un rango adecuado entre 21 a 45 mg kg<sup>-1</sup> para trébol rosado (*Trifolium pratense* L.) en el estado de floración y sostiene que un nivel sobre 59 mg kg<sup>-1</sup> puede causar toxicidad.

Las altas concentraciones de B en planta encontradas en los tratamientos FC, FC-P, FC-S y FC-Mo en el suelo Marchihue (Cuadro 4) con bajo contenido de materia orgánica y deficiencia de B (Cuadro 1), evidencian que el B aplicado como H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> fue absorbido muy fácilmente, alcanzándose niveles de hasta 360 mg kg<sup>-1</sup>, sin observarse síntomas de toxicidad en las plantas. Esta fácil absorción de B se relaciona con la textura franco arenosa (73,1% de arena) del suelo Marchihue, y discrepa en parte con lo señalado por Loué (1988), quien indica que una concentración excesiva de B está sobre los 100 mg kg<sup>-1</sup> y se asocia a síntomas de quemadura en las hojas. Según los resultados de este estudio la dosis de B en ensayos en macetas debería ser del orden de 0,6 mg de B por kg de suelo para alcanzar concentraciones entre 20 a 60 mg kg<sup>-1</sup>, esta dosis corresponde a un 25% de la dosis aplicada en este estudio.

**Molibdeno.** En cuanto a Mo, con una dosis equivalente a 1 kg ha<sup>-1</sup> de Mo en el tratamiento FC se lograron concentraciones de 0,4 a 0,8 mg kg<sup>-1</sup> de Mo en las plantas (Cuadro 4). Dawson y Bhella (1972), en un estudio para determinar los efectos de la aplicación de Mo en trébol subterráneo, realizado en Oregon, EE.UU., con muestras tomadas de 0 a 15 cm de profundidad, encontraron una alta respuesta en rendimiento a la aplicación de 0,44 kg ha<sup>-1</sup> de Mo, obteniendo concentraciones en la planta entre 0,05 y 0,52 mg kg<sup>-1</sup> de Mo.

Las concentraciones óptimas de Mo en la planta de trébol subterráneo se encuentran en el rango de 0,5 a 1,0 mg kg<sup>-1</sup> y no superior a 5,0 mg kg<sup>-1</sup> que se considera un nivel excesivo. Petrie y Jackson (1982) señalan un nivel crítico de 0,1 mg kg<sup>-1</sup>, por tanto la disponibilidad de Mo fue suficiente sólo en el suelo Curanipe, ya que en el suelo Marchihue la concentración no alcanzó el límite de detección (Cuadro 4). En el tratamiento FC se alcanzaron concentraciones de Mo adecuadas en las plantas.

#### **Fósforo disponible (Pd) y su efecto en el trébol subterráneo**

Los investigadores extranjeros coinciden en emplear tanto el análisis de suelo como el de planta para manejar la fertilización en una pradera mixta que incluya alguna especie de trébol. Hodged y Lewis (1989) señalan 20 mg kg<sup>-1</sup> de P-Olsen como nivel crítico en suelo, y mientras no se tenga una calibración para los suelos del país tendría que emplearse este valor como nivel crítico. Datos obtenidos en la zona de estudio, aún no publicados por los autores, indican una alta respuesta al P en todos los suelos con niveles de Pd entre 0 y 14 mg kg<sup>-1</sup>, lo que confirmaría el nivel crítico de Pd señalado (20 mg kg<sup>-1</sup>).

El rendimiento de MSA y MSR en el suelo Marchihue, con un nivel de P disponible muy bajo, 1 mg kg<sup>-1</sup> (Cuadro 3), se incrementó en 1.142 y 370%, respectivamente, al aplicar P. Estos resultados corroboran la importancia del P en el rendimiento del trébol subterráneo, la cual ha sido demostrada en diferentes partes del mundo (Jones *et al.*, 1972). Los suelos del secano costero e interior de la VI Región tienen baja disponibilidad de fósforo. Opazo y Carrasco (1995) al analizar los contenidos de Pd en 14 suelos del secano costero e interior en la VI Región, encontraron un valor promedio de 7 mg kg<sup>-1</sup> de 0-20 cm y de 5 mg kg<sup>-1</sup> de 20 a 40 cm de profundidad, y un 33% de los suelos tenían niveles bajos a muy bajos de Pd.

En los dos suelos del presente estudio, un mes después de la siembra, las plantas de los tratamientos T y FC-P presentaban menor crecimiento y una coloración rojiza en torno a las venas centrales de cada folíolo, característica de la deficiencia de fósforo. Al respecto, Fernández (1996) describe el mismo síntoma en un ensayo con soluciones nutritivas, señalando que al decimocuarto día se presentó la deficiencia, observando además una coloración verde levemente más oscura, peciolo alargado y delgado y una coloración rojiza alrededor de la vena central de cada folíolo.

#### **Azufre disponible y su efecto en el trébol subterráneo**

El contenido de S disponible (Sd) en ambos suelos fue bajo (Cuadro 2), por tanto, se esperaba un incremento en el rendimiento de materia seca al aplicar S; sin embargo, el rendimiento de MSA no presentó diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre los tratamientos FC y FC-S (Figura 1). Estos resultados se atribuirían a: 1.- una probable solubilización de compuestos de baja solubilidad que contienen azufre (azufre nativo); 2.- mineralización del S orgánico, la que se favorecería en las macetas por las condiciones de humedad y temperatura; y 3.- absorción de SO<sub>2</sub> atmosférico por las hojas. Lo anterior indica la necesidad de considerar estos factores, especialmente la presencia de SO<sub>2</sub> en la atmósfera, como producto de la actividad industrial, al evaluar la disponibilidad de azufre en un suelo. El primer supuesto se fundamentaría en un estudio de adsorción de S realizado por Carrasco y Opazo (trabajo no publicado), en estos suelos, cuyos resultados estarían corroborando la teoría de la solubilización del azufre nativo, ya que detectó una adsorción negativa de S (liberación de S a la solución) aún en suelos con bajos contenidos de Sd.

El tercer supuesto parece ser válido en contraposición a un ensayo de invernadero realizado con trébol rosado en suelos de origen volcánico del sur de Chile, en el cual las plantas de los

suelos con bajos contenidos de Sd presentaron síntomas visuales de deficiencia y menor producción de MSA (Opazo, 1982). La explicación puede estar relacionada con los sectores y fechas de realización de los ensayos los cuales implicarían distintas condiciones de calidad del aire.

El nivel crítico de Sd en los suelos para leguminosas forrajeras, citado por Carrasco *et al.* (1999), es de 3 mg kg<sup>-1</sup>, por tanto se esperaba un efecto del tratamiento FC en el suelo Marchihue, el que no se presentó, y el rendimiento expresado en MSA en ambos suelos fue similar (Cuadro 3).

Gilbert y Robson (1984) en el oeste de Australia, en un ensayo en macetas en invernadero, con un suelo arenoso y 0,44 % de MO, encontraron un alto incremento en el rendimiento de MSA al aplicar S. También las aplicaciones de S en una asociación trébol subterráneo y ballica incrementaron el porcentaje de trébol en la pradera mixta de 4 a 37%. Estos resultados señalan que el trébol subterráneo es una especie que presenta una alta respuesta al S bajo condiciones de deficiencia, lo que no ocurrió en el presente estudio, cuyos suelos tienen valores de Sd muy bajos. Como se ha indicado, la disponibilidad de S es un aspecto muy importante que debe ser estudiado, considerando las diferentes fuentes de aportes y procesos.

#### **Boro disponible y su efecto en el trébol subterráneo**

En los tratamientos testigo, el rendimiento de MSA en el suelo Marchihue fue significativamente inferior ( $P \leq 0,05$ ) al obtenido en el suelo Curanipe (Figura 1), lo que indicaría que un contenido de 0,04 mg kg<sup>-1</sup> de boro disponible (B<sub>d</sub>) junto con un nivel muy bajo de Pd en el suelo (1 mg kg<sup>-1</sup>) es limitante para el normal crecimiento del trébol subterráneo.

El B<sub>d</sub> en el suelo Marchihue fue extremadamente bajo (0,04 mg kg<sup>-1</sup>); según Loué (1988), el B<sub>d</sub> en los suelos varía entre 0,1 y 3,0 mg kg<sup>-1</sup>, y no

se detectó diferencia significativa ( $P \leq 0,05$ ) para MSA entre los tratamientos FC y FC-B (Figura 1). La explicación puede ser una liberación de B no disponible por efecto de la rizósfera, ya que la retención de B por los sesquióxidos y caolinitas es particularmente alta como lo señalan los investigadores Elrashidi y O'Connor (1982). El contenido de B<sub>d</sub> extremadamente bajo en el suelo Marchihue se asocia a un mayor contenido de arena y menor contenido de materia orgánica. En los suelos arenosos el B se lixivia presentándose contenidos más altos entre los 20 y 40 cm de profundidad en comparación con los contenidos en la capa arable (Tisdale *et al.*, 1985).

Loué (1988) señala que el nivel crítico de B<sub>d</sub> en el suelo, para las plantas sensibles, se ha considerado entre 0,75 y 1,0 mg kg<sup>-1</sup>. También se ha propuesto que para la interpretación del B<sub>d</sub> se debería considerar el pH y, además, incluir la textura (Gupta, 1993a).

El nivel crítico universal considerado para el método de extracción con agua caliente es de 1,0 mg kg<sup>-1</sup>. Shorrocks (1982) en relación con el pH, indica que se ha establecido de 0,3 a 0,5 mg kg<sup>-1</sup> de B<sub>d</sub> para suelos con pH entre 5,5 y 7,0. En relación con la textura señala que se ha establecido un nivel crítico de 0,8 mg kg<sup>-1</sup> en los suelos arcillosos, de 0,5 mg kg<sup>-1</sup> en los suelos de textura franca, y de 0,3 mg kg<sup>-1</sup> de B<sub>d</sub> en los suelos de textura arenosa. Mortvedt y Woodruff (1993), según el tipo de suelo, señalan para el trébol subterráneo en el Estado de Oregon, EE.UU., dos valores como nivel crítico de boro: 0,5 y 1,0 mg kg<sup>-1</sup>.

La obtención de rendimientos de MSA similares en los tratamientos FC y FC-B (Figura 1) también se puede atribuir a que en forrajeras leguminosas una deficiencia ligera de B puede no presentar síntomas visuales, pero afecta la floración y la producción y calidad de las semillas, sin afectar el rendimiento de MSA. El síntoma visual en las hojas es que se tornan cloróticas y presentan una coloración rojiza, que aparece frecuente-

mente antes del estado de floración (Loué, 1988). El síntoma descrito se observó en este ensayo hacia la época de floración, lo que correspondería a una carencia leve, ya que cuando es severa, las hojas superiores toman una coloración amarilla y muere el punto de crecimiento. Los tréboles figuran entre las plantas con un alto requerimiento de B.

En el suelo Marchihue con un menor contenido de B<sub>d</sub> la aplicación de boro incrementó la concentración de nitrógeno en las plantas.

**Molibdeno disponible y su efecto en el trébol subterráneo**

Los suelos analizados no tendrían niveles adecuados de molibdeno disponible (Mo<sub>d</sub>). En Australia para el Mo soluble se considera un valor de 10 mg kg<sup>-1</sup> de Mo para separar los suelos según contenidos suficientes o insuficientes de este elemento (Alston A., 1999, Department of Soil and Water, University of Adelaide, South Australia, comunicación personal). Sin embargo, en el tratamiento FC-Mo no se presentaron síntomas visuales de deficiencia ni tampoco hubo diferencias significativas en la producción de MSA al compararlo con el tratamiento FC (Figura 1). Tisdale *et al.* (1985) señalan que una de las leguminosas más sensibles a la deficiencia de Mo es el trébol subterráneo.

En Australia, Reddy *et al.* (1981a; 1981b), también determinaron Mo mediante extracción con

agua y obtuvieron menos de 10 mg kg<sup>-1</sup> en un suelo podzólico laterítico con un 2,4% de materia orgánica y, además, el contenido mayor de Mo en el suelo implicó una mayor concentración en las plantas.

Loué (1988) señala que los numerosos factores que inciden en el contenido de Mo disponible en el suelo y su absorción por las plantas implican que el análisis de suelo es generalmente insuficiente para poder diagnosticar una deficiencia de Mo; también resulta complicado comparar los diferentes métodos.

Mortvedt (1981) sugiere que en las leguminosas forrajeras, en lugar de analizar la concentración de Mo en la planta, sería más adecuado analizar la concentración de N, puesto que el incremento de crecimiento en numerosas leguminosas, luego de aplicar Mo, se relaciona más con un incremento en la absorción de N que con el de Mo propiamente tal; además el análisis de Mo en plantas es engorroso.

**Nodulación**

En el Cuadro 5 se presentan los resultados del número de nódulos por maceta, correspondientes a seis plantas. En los tratamientos T y FC-P el número de nódulos es mayor en el suelo Curanipe; aun cuando no hay diferencia estadística, probablemente por una variabilidad inherente entre repeticiones, sí se observa una tendencia que se explicaría por una fertilidad más alta en

**Cuadro 5. Comparación del número de nódulos entre suelos (seis plantas)**

**Table 5. Comparison of the number of nodules between soils (six plants)**

Suelo	Testigo	Tratamiento				
		FC	FC-P	FC-S	FC-B	FC-Mo
----- N° de nódulos -----						
Curanipe	188a	144a <sup>1</sup>	53a	100a	238a	313a
Marchihue	67b	620b	17a	612b	663b	628b

<sup>1</sup>Letras iguales en la misma columna indican que hay diferencias estadísticas (P ≤ 0,05).

FC: Fertilización completa. -P: menos fósforo. -S: menos azufre. -B: menos boro. -Mo: menos molibdeno.

el suelo Curanipe. El efecto del fósforo fue muy significativo, ya que en los tratamientos T y FC-P del suelo Marchihue, el número de nódulos fue de 67 y 17 nódulos por maceta, respectivamente, mientras que en los otros tratamientos estuvo en torno a 630 nódulos por maceta (105 nódulos por planta).

El menor número de nódulos observado en el suelo Curanipe para los tratamientos FC, FC-S, FC-B y FC-Mo, probablemente, se relacionaría con un contenido de aluminio de intercambio ( $Al^{+3}$ ) más alto,  $0,09 \text{ cmol (+) kg}^{-1}$ , comparado con  $0,04 \text{ cmol (+) kg}^{-1}$  en el suelo Marchihue, debido a un pH más ácido (5,1), como se observa en el Cuadro 1. Estos resultados indicarían que el trébol subterráneo según el cultivar puede ser sensible al pH y al  $Al^{+3}$ , como ocurre con el cv. Trikkala en este estudio. No obstante, Evans *et al.* (1990) no encontraron un efecto marcado del pH en trébol subterráneo cv. Junee, e indican que otras especies de leguminosas como *Medicago murex* cv. Zodiac y *Trifolium resupinatum* cv. Kyambro fueron más sensibles.

En el suelo Marchihue, la aplicación de fósforo incrementó la nodulación en forma significativa ( $P \leq 0,05$ ), al comparar los tratamientos T y FC-P con los otros tratamientos (Cuadro 5), dejando en evidencia el efecto del P y del aluminio de intercambio. En el suelo Marchihue la fertilización favoreció el número de nódulos en una proporción más alta por su mayor aireación relacionada con su textura más arenosa.

La acidez activa del suelo medida por el pH es el principal factor que afecta la sobrevivencia y el desarrollo del *Rhizobium* en el suelo, no obstante existen diferencias en el grado de tolerancia entre las diferentes especies de *Rhizobium*. El *Rhizobium meliloti* es uno de los más sensibles a la acidez del suelo y se afecta a pH bajo 6,0, en cambio el *Rhizobium trifolii* se afecta a valores bajo 4,5 (Tisdale *et al.*, 1985).

El tamaño de los nódulos varió de  $< 1 \text{ mm}$  a  $2 \text{ mm}$ ; sólo un 5% de los nódulos tuvo un tamaño superior a  $2 \text{ mm}$ . La fragilidad y pequeñez de los nódulos impidió determinar su peso. En el suelo Marchihue los nódulos presentaron una coloración muy rosada, por la presencia de una mayor concentración de hemoglobina. La alfalfa presenta nódulos de mayor tamaño que varían entre  $2$  a  $8 \text{ mm}$ , e incluso algunos pueden sobrepasar los  $8 \text{ mm}$  (Tisdale *et al.*, 1985); el trébol subterráneo se caracteriza por nódulos pequeños.

## CONCLUSIONES

La metodología implementada de ensayo en macetas en invernadero fue exitosa, ya que permitió obtener resultados en rendimiento de materia seca aérea y de concentración de nutrientes aniónicos en plantas de trébol subterráneo muy similares a los de otras investigaciones en el extranjero.

De los cuatro nutrientes aniónicos, el fósforo es claramente deficitario y limita el rendimiento del trébol subterráneo cv. Trikkala en suelos del secano costero e interior, de la Cordillera de la Costa, VI Región.

En la interpretación de la disponibilidad de azufre debiera considerarse el S mineralizable y la posibilidad de que haya absorción foliar de  $SO_2$  según sus concentraciones en el aire.

En el suelo con menor contenido de boro disponible la aplicación de boro incrementó la concentración de nitrógeno en las plantas.

La deficiencia de fósforo y la presencia de  $0,09 \text{ cmol (+) kg}^{-1}$  de aluminio intercambiable afectan la nodulación.

## RESUMEN

La productividad y calidad de la pradera natural del secano de la Cordillera de la Costa de la VI Región de Chile, recurso muy importante para la ganadería de esta zona y principal fuente de ingreso para su población, pueden mejorarse incrementando la presencia de especies con mayor valor forrajero tal como el trébol subterráneo (*Trifolium subterraneum* L.). Sin embargo, el adecuado establecimiento del trébol subterráneo se ha visto dificultado, postulándose posibles deficiencias nutricionales. El objetivo de este estudio fue validar una metodología de ensayo en macetas en condiciones de invernadero, como un método rápido para evaluar posibles deficiencias nutricionales de P, S, B y Mo. Se usaron los suelos de las series Curanipe (Alfisol) y Marchihue (Inceptisol). Los tratamientos aplicados a cada maceta con 2 kg de suelo y seis plantas de trébol subterráneo cv. Trikkala fueron testigo (T), fertilización

completa (FC), FC-P, FC-S, FC-B y FC-Mo. Las plantas se cortaron a los 79 días desde la siembra. El rendimiento de materia seca aérea (MSA) y la nodulación fueron afectados por una deficiencia severa de fósforo, un pH ácido (5,1), y por el aluminio intercambiable (0,09 cmol (+) kg<sup>-1</sup>). La MSA no fue afectada por la aplicación de B y Mo. Los incrementos de materia seca del trébol subterráneo, bajo las condiciones del estudio, se duplicaron y sextuplicaron, dependiendo de la degradación de la fertilidad de los suelos. Para la interpretación del azufre disponible se recomienda considerar el azufre mineralizable y la posible absorción foliar de SO<sub>2</sub>.

**Palabras claves:** *Trifolium subterraneum* L., método del elemento faltante, suelos del secano, Cordillera de la Costa.

## LITERATURA CITADA

- BOLLAND, M.D.A. AND PAYNTER, B.H. 1994. Critical phosphorus concentrations for burr medic yellow serradella, subterranean clover and wheat. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 25: 385-394.
- 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.
- BURNETT, V.; COVENTRY, D.; HIRTH, J. AND GREENHALTGH, F. 1994. Subterranean clover decline in permanent pasture in north eastern Victoria. *Plant and Soil* 164: 231-241.
- CAMPILLO, R. 1991. Respuesta al carbonato de calcio y fertilización fosfatada de la mezcla festuca y trébol subterráneo en un Ultisol de la IX Región. *Agricultura Técnica (Chile)* 51: 273-279.
- CARRASCO, M. A.; OPAZO, J.D.; SOTO, M. Y GARCÍA, G. 1999. Establecimiento y persistencia del trébol subterráneo en el secano de la provincia Cardenal Caro (VI Región), Chile. II. Limitantes edáficas. *Investigación Agrícola* 19: 25-45.
- CIREN. 1996. Estudio agrológico, VI Región. Centro de Investigación en Recursos Naturales (CIREN). Tomo I y II. Publicación 114. Santiago, Chile. s.p.

- CLARO, D. 1980. Niveles de desarrollo y manejo de las praderas en el secano costero de la zona central y su incidencia en la producción ovina. V Reunión Anual Sociedad Chilena de Producción Animal. 30 de julio al 1 de agosto de 1980. Chillán, Chile. Resumen p. 7.
- COWLING, D.W.; JONES, L.H.P. AND LOCKER, D.P. 1973. Increased yield through correcting of sulfur deficiency in ryegrass exposed to sulfur dioxide. *Nature* 243: 479-480.
- 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.
- DAWSON, M.D. AND BHELLA, H.S. 1972. Subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) yield and nutrient content as influence by soil molybdenum status. *Agron. J.* 64: 308-311.
- DRILICA, 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.
- ELRASHIDI, M.A. AND O'CONNOR, G.A. 1982. Boron sorption and desorption in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46: 27-31.
- EVANS, J.; DEAR, B. AND O'CONNOR, E. 1990. Influence of an acid soil on the herbage yield and nodulation of five annual pasture legumes. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 30: 55-60.
- FERNÁNDEZ, L. 1996. Sintomatología de deficiencia nutricional en trébol subterráneo y hualputra. Tesis, Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. 71 p.
- GILBERT, M.A. Y ROBSON, A.D. 1984. Studies on competition for sulfur between subterranean clover and annual ryegrass. Effect on nitrogen and sulfur supply. *Aust. J. Agric. Res.* 35: 53-64.
- GUPTA, U.C. 1993a. Factors affecting boron uptake by plantas. *In: Gupta, U.C. (Ed.) Boron and its role in crop production.* Boca Raton, Florida, USA. CRP Press. p. 87-104.
- GUPTA, U.C. 1993b. Deficiency, sufficiency, and toxicity levels of boron in crops. *In: Gupta, U.C. (Ed.) Boron and its role in crop production.* Boca Raton, Florida, USA. CRP Press. p. 137-145.
- HODGE, T. Y LEWIS, D. 1989. A description of acid soils and the relationships between properties of acid soil and the nutrient status of grazed pastures in the south-east of South Australia. *Aust. J. Soil Res.* 27: 149-159.
- INE. 1995. Estadísticas Agropecuarias. Instituto Nacional de Estadísticas (INE). Santiago, Chile. 49 p.
- JOHNSON, C.M. AND ULRICH, A. 1959. Analytical methods for use in plant analysis. *Calif. Agr. Sta. Bull.* 766. California, USA. p. 57-58.
- JONES, M.B.; LAWLER, P.W. AND RUCKMAN, J.E. 1970. Differences in annual clover responses to phosphorus and sulfur. *Agron. J.* 62: 439-442.
- JONES, M.B.; RUCKMAN, J.E. AND LAWLER, P.W. 1972. Critical levels of P in subclover (*Trifolium subterraneum* L.). *Agron. J.* 64: 695-698.
- JONES, M.B. 1974. Fertilization of annual grasslands of California and Oregon. *In: Mays, D.A. (Ed.) Forage fertilization.* ASA. Madison, Wisconsin, USA. p. 255-275.

- JONES, M.B.; RUCKMAN, J.E.; WILLIAMS, W.A. AND KOENIGS, R.L. 1980. Sulfur diagnostic criteria as affected by age and defoliation subclover. *Agron. J.* 72: 1043-1046.
- KAMPRATH, E.J. AND JONES, U.S. 1986. Plant response to sulfur in the Southeastern United States. *In: Tabatabai, M.A. (Ed.)*. Sulfur in agriculture. Number 27. Series Agronomy. ASA, CSSA and SSSA Publisher. Wisconsin, USA. p. 323-343.
- KENÑOMG, K.A. Y MATOCHA, J.E. 1990. Plant analysis as an aid in fertilizing forage crops. *In: Westerman, R.L. (Ed.)*. Soil testing and plant analysis. SSSA, Inc. Wisconsin, USA. p. 603-643.
- LÓPEZ, H. 1988. Especies forrajeras mejoradas. *En: Ruiz, H. (Ed.)*. Praderas para Chile. Santiago, Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. p. 33-102.
- LOTT, W.L.; NERY, J.P. GALLO, J.R. Y MEDCALF, J.C. 1956. La técnica del análisis foliar en los estudios del café. Instituto IBEC de Investigaciones Técnicas. Sao Paulo, Brasil. 29 p.
- LOUÉ, A. 1988. Los microelementos en agricultura. Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa. 354 p.
- MORTVEDT, J.J. 1981. Nitrogen and molybdenum uptake and dry matter relationships of soybeans and forage legumes in response to applied molybdenum on acid soil. *J. Plant Nutr.* 3: 245-256.
- MORTVEDT, J.J. AND WOODRUFF, J.R. 1993. Technology and application of boron fertilizers for crops. *In: Gupta, U.C. (Ed.)*. Boron and its role in crop production. Boca Raton, Florida, USA. CRP Press. p. 157-176.
- MULLER, L. 1961. Un aparato micro Kjeldahl simple para análisis rutinarios rápidos de materias vegetales. *Turrialba* 11: 17-25.
- MURPHY, M.D. 1980. Essencial micronutrients. III. Sulphur. *In: Davies, B.E. (Ed.)*. Applied soil trace elements. Great Britain. John Wiley & Sons. p. 157-176.
- OLIVARES, A. 1985. Praderas naturales de la zona mediterránea. II. Praderas en la zona semiárida de Chile. X Reunión Sociedad Chilena de Producción Animal. 3 al 4 de octubre. Valparaíso, Chile. p. 37-55.
- OPAZO, J.D. 1982. Disponibilidad de azufre en suelos de la Región de Los Lagos. Tesis Magister Scientiae. Santiago, Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile. 95 p.
- OPAZO, J.D. Y CARRASCO, M.A. 1995. Contenidos de fósforo disponible (P-Olsen) en suelos del secano costero, VI Región. Resúmenes 46° Congreso Agronómico. La Serena, Chile. *Simiente* 65: 54.
- OPAZO, J.D.; FERNÁNDEZ, L. Y CARRASCO, M.A. 1999. Ensayos biológicos en macetas con trébol subterráneo en suelos del secano costero, VI Región de Chile. I. Metodología. *Agricultura Técnica (Chile)* 59: 223-232.
- OVALLE, C. Y SQUELLA, F. 1988. Terrenos de pastoreo con praderas anuales en el área de influencia climática mediterránea. *En: Ruiz, I. (Ed.)*. Praderas para Chile. Santiago, Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. p. 369-410.
- PAYNTER, B.H. 1992. Comparison of the phosphate requirements of burr medic and yellow serradella with subterranean clover in the low rainfall wheatbelt of Western Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 32: 1077-1086.
- PETRIE, S.E. AND JACKSON, T.L. 1982. Effects of lime, P, and Mo applications on Mo concentration in subclover. *Agron. J.* 74: 1077-1081.

- READY, 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.
- READY, 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.
- ROMERO, O. Y ROJAS, C. 1993. Efecto de la fertilización y manejo sobre la productividad y composición botánica de una pradera de festuca-trébol subterráneo en la IX Región. Agricultura Técnica (Chile) 53: 202-210.
- SCHENKEL, G. Y BÄHERLE, P. 1971. Exploración de deficiencias nutritivas con suelos en macetas. II. Método usado. Agricultura Técnica (Chile) 31: 9-24.
- Sherrell, C.G. 1983. Boron deficiency and response in white and red clovers and lucerne. N. Z. J. Agric. Res. 26: 197.
- SHORROCKS, V.M. 1982. Boron deficiency, its prevention and cure. Norwich England. Soman Wherry Press. 56 p.
- SILVA, M. Y LOZANO, U. 1982. Descripción de las principales especies forrajeras entre la zona mediterránea árida y la zona de las lluvias. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Veterinarias y Forestales, Departamento de Producción Animal. Publicación Docente Nº 9. 134 p.
- SOTO, M. 1997. Prospección de variables edáficas en el secano de la provincia Cardenal Caro (VI Región) y su relación con la pradera natural y el establecimiento del trébol subterráneo. Tesis Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. 91 p.
- TISDALE, S.L.; NELSON, W.L. AND BEATON, J.D. 1985. Soil fertility and fertilizers. Macmillan Publishing Company. USA. 754 p.
- WATSON, M.E. AND ISAAC, R.A. 1990. Analytical instruments for soil and plant analysis. In: Westerman, R.L. (Ed.). Soil testing and plant analysis. 3rd edition. Madison, Wisconsin, USA. SSSA. p. 691-740.