UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración
Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales
Instituto de Agroindustria

FACTORES QUE INFLUENCIAN LA DINAMICA DEL MOLIBDENO EN EL SISTEMA SUELO-PLANTA EN ANDISOLES DEL SUR DE CHILE

TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADEMICO DE DOCTOR EN CIENCIAS DE RECURSOS NATURALES

ERIKA MARINA VISTOSO GACITUA

TEMUCO – CHILE
2005

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración
Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales
Instituto de Agroindustria

FACTORES QUE INFLUENCIAN LA DINAMICA DEL MOLIBDENO EN EL SISTEMA SUELO-PLANTA EN ANDISOLES DEL SUR DE CHILE

TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADEMICO DE DOCTOR EN CIENCIAS DE RECURSOS NATURALES

ERIKA MARINA VISTOSO GACITUA

TEMUCO – CHILE
2005

“Factores que influencian la dinámica del molibdeno en el sistema suelo-planta en Andisoles del sur de Chile”

Esta Tesis fue realizada bajo la supervisión del Director de Tesis, Dra. MARIA DE LA LUZ MORA GIL, Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración, Universidad de La Frontera y ha sido aprobada por los miembros de la comisión examinadora.

ERIKA MARINA VISTOSO GACITUA

.....
Dra. MARIA DE LA LUZ MORA GIL
Universidad de La Frontera

.....
Director
Post Grado en Ciencias
de Recursos Naturales

.....
Dr. GERARDO GALINDO GRIFFITH
Universidad de Santiago de Chile

.....
Dr. FRANCISCO MATUS BAEZA
Universidad de Talca

.....
Dirección de Post Grado
Universidad de la Frontera

.....
Dr. IVAN VIDAL PARRA
Universidad de Concepción

.....
Dra. MARIA CRISTINA DIEZ JEREZ
Universidad de La Frontera

.....
Dr. FERNANDO BORIE BORIE
Universidad de La Frontera

RESUMEN

En condiciones de laboratorio, se evaluaron os factores del suelo que condicionan la disponibilidad de molibdeno en cuatro Andisoles del sur del país (IX y X Región) y, en condiciones de invernadero, se evaluó la interacción de Cal/P y Mo sobre la producción de materia seca, calidad mineral y nutricional y, la actividad fotosintética de *Trifolium repens* L cv. Will en dos Andisoles.

Los estudios cinéticos de molibdato y fosfato demuestran que en los primeros 30 minutos se ha adsorbido aproximadamente 55% del molibdato y 62% del fosfato. Posteriormente, la reacción continúa lentamente hasta un equilibrio a las 24 h, donde se ha adsorbido aproximadamente 90% y 97% de molibdato y fosfato, respectivamente. Los parámetros cinéticos fueron adecuadamente descritos por la ecuación modificada de Elovich ($R^2 > 0,93$). Los valores de la constante α sugieren una alta adsorción de fosfato, en cambio, los mayores valores de la constante β en la adsorción de molibdato indican una alta velocidad de desorción de este anión. Con estos resultados se pudo inferir los mecanismos responsables de la adsorción de molibdato y fosfato en estos Andisoles. Se postula, que el mecanismo de reacción consiste en dos etapas sucesivas. En la primera etapa, se forma un complejo par-iónico entre la superficie protonada y el anión a través de atracción electrostática. Luego, la segunda etapa, involucra un proceso de intercambio de ligandos. Los resultados sugieren que en la superficie de estos Andisoles está dominada por altos contenidos de grupos Al-OH y Fe-OH activos, sugiriendo que el mecanismo de adsorción de molibdato se asocian principalmente a la presencia de óxidos cristalinos de Al y Fe (Al_d, Fe_d), en cambio, la adsorción de fosfato es regulada por los contenidos de Al_p y Fe_p asociados al humus y por alofán.

Los estudios de adsorción en función del pH indican que la adsorción de molibdato y fosfato son dependientes del pH. En general, la adsorción de fosfato fue 20% mayor que la adsorción de molibdato. La adsorción de molibdato presentó siguiente orden de reactividad: Vilcún > Pemehue > Osorno > Piedras Negras.

La capacidad de adsorción (a), determinada según la ecuación de Freundlich, fue mayor para fosfato en todos los suelos excepto en el suelo Vilcún que presentó mayor capacidad de adsorción de molibdato. Por otro lado, la energía de adsorción (b) de fosfato fue mayor que la de molibdato. En general, en estos Andisoles ambas constantes disminuyen a medida que decrece la adsorción por incrementos del pH.

Los estudios de adsorción competitiva indican que fosfato disminuyó la adsorción de molibdato entre 10-27% en estos Andisoles. A sí mismo, los parámetros modelados por la ecuación de Multicomponentes de Freundlich, indican que la capacidad de adsorción de fosfato (a_P) fue mayor que la capacidad de adsorción de molibdato (a_{Mo}). A su vez, el coeficiente de competitividad de molibdato sobre fosfato ($K_{P,Mo}$) fue muy bajo en relación al coeficiente de competitividad de fosfato sobre molibdato ($K_{Mo,P}$), corroborando el nulo efecto que ejerce molibdato sobre la adsorción de fosfato. La variación observada entre estos coeficientes de competición indicando que la competición no fue simétrica, sugiriendo que la competición no sólo involucró los sitios de adsorción sino que también el efecto en el potencial eléctrico que siguen penetración de la superficie.

Los estudios de invernadero indican que la aplicación de P junto con la fertilización de Mo, en trébol blanco, aumentó el rendimiento de la materia seca, la concentración foliar de Mo entre un 10-30% y la absorción de Mo entre un 20-40% en los suelos Pemehue y Piedras Negras sin y con Cal comparado con la aplicación de sólo dosis de Mo.

La calidad mineral de trébol blanco se incrementó con las diferentes interacciones P/Mo en ambos Andisoles, alcanzando altos contenidos de P, Ca y Mg foliar, junto a contenidos normales de Cu y Fe foliar. A su vez, la relación foliar Cu/Mo fue óptima en todos los tratamientos. Por otro lado, la calidad nutricional alcanzó altos contenidos relativos de clorofila, proteína bruta y carbohidratos solubles.

Los estudios de la actividad fotosintética indican disminución de la eficiencia fotoquímica (*Fv/Fm*) con las menores dosis de la interacción P/Mo en ambos suelos, que puede ser atribuida al decrecimiento en la fluorescencia mínima (*Fo*) e incrementos en la fluorescencia máxima (*Fm*). Estos resultados, permiten deducir cambios a nivel del centro de reacción del fotosistema II (FSII) donde la energía de excitación capturada por las antenas no está siendo transfirida a los centros de reacción del FSII.

En trébol blanco, desde el punto de vista técnico-agronómico, el efecto de la interacción P/Mo los tratamientos 200 ppm P/4 ppm Mo en los suelos sin enmienda y 100 ppm P/6 ppm Mo en los suelos enmendados son los más adecuadas para lograr la mayor calidad mineral y nutritiva; esto implicaría un efecto sinérgico de la interacción P/Mo tanto en la partición de los carbohidratos como en el metabolismo del nitrógeno influenciando la asimilación y utilización de los carbohidratos y, por ende, la actividad fotosintética de esta especie.

Estos resultados indican que las deficiencias de foliares de molibdeno pueden superarse por el efecto sinérgico de la aplicación Cal y P a estos Andisoles; debido a que fosfato compite fuertemente con la adsorción de molibdato resultando en una mayor disponibilidad de molibdeno en la solución del suelo y, por ende, incrementa la absorción de molibdeno de trébol blanco.

TABLA DE CONTENIDO

		Página
	INTRODUCCION	1
	Hipótesis	6
	Objetivo General	7
	Objetivos Específicos	7
1.	REVISION BIBLIOGRAFICA	9
1.1	Distribución y características de los suelos derivados de cenizas volcánicas en nuestro país	9
1.2	Molibdeno en los suelos	11
1.3	Biodisponibilidad de molibdeno en los suelos	11
1.4	Adsorción de molibdeno en los suelos	13
1.5	Deficiencias de molibdeno	15
1.6	Acumulación y fitotoxicidad de molibdeno	18
1.7	Factores que afectan la mobilidad y biodisponibilidad de molibdeno	19
1.7.1	Estación del año	19
1.7.2	Tipo de suelo y material parental	20
1.7.3	Especies de molibdeno	20

1.7.4 Contenidos de óxidos de hierro y aluminio en el suelo 22

1.7.5 pH del suelo 22

1.7.6 Tipo y textura del suelo 24

1.7.7 Potencial redox y contenido de materia orgánica del suelo 24

1.7.8 Interacciones de molibdeno con otros nutrientes 25

1.7.9 Factores de la planta 27

1.8 Respuesta fisiológica de las plantas en respuesta al déficit de molibdeno 28

1.9 Fluorescencia de la clorofila *a* como indicador del estado fisiológico del aparato fotosintético 31

2. MATERIALES Y METODOS 34

2.1 Materiales 34

2.2 Métodos 35

2.2.1 Determinación de los contenidos de molibdeno en el suelo 35

2.2.2 Caracterización química del suelo 35

2.2.3 Caracterización mineralógica del suelo 36

2.2.4 Determinaciones físico-químicas del suelo 37

2.2.5 Estudios de adsorción 38

2.2.5.1 Cinética de adsorción de molibdato y fosfato 38

2.2.5.2 Efecto del pH en la adsorción de molibdato y fosfato 40

2.2.5.3 Efecto del fosfato en la adsorción de molibdato 40

2.2.6 Especies químicas de molibdato 41

2.2.7 Modelos matemáticos 41

2.2.8 Estudios bajo condiciones de invernadero 44

2.2.8.1 Diseño experimental 45

2.2.8.2 Análisis estadístico 45

2.2.8.3 Evaluaciones 46

3. RESULTADOS 50

3.1 Contenidos de molibdeno en el suelo 50

3.2 Caracterización química del suelo 52

3.3. Caracterización mineralógica del suelo 55

3.4 Características superficiales del suelo 58

3.5 Cinética de adsorción de aniones 64

3.6 Efecto del pH en la adsorción de molibdato y fosfato 77

3.7 Efecto del fosfato en la adsorción de molibdato 88

3.8 Selección de los suelos para estudios de invernadero 94

3.9 Efecto de la dosis de molibdeno sobre el contenido y absorción de molibdeno foliar en trébol blanco 95

3.10 Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la producción de materia seca de trébol blanco 100

3.11	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la calidad mineral de trébol blanco	108
3.12	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la calidad nutritiva de trébol blanco	118
3.13	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la eficiencia fotosintética de trébol blanco	131
4.	CONCLUSIONES	138
5.	REFERENCIAS	142

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Contenidos de molibdeno total y disponible en diferentes tipos de suelos	12
2.	Contenidos de molibdeno total y disponible en los suelos en estudio	50
3.	Contenidos de Mo disponible en algunos suelos pertenecientes a la IX y X Región	51
4.	Características químicas de los suelos estudiados	53
5.	Estimación de las diferentes formas de hierro y aluminio activos en los suelos estudiados	56
6.	Series de suelo, clasificación taxonómica y composición mineralógica del horizonte Ap asociadas a los suelos estudiados	57
7.	Características superficiales de los suelos estudiados	63
8.	Valores de coeficientes de determinación (R^2) y error estandar (SE) de diferentes ecuaciones cinéticas obtenidas en la adsorción de molibdato y fosfato ($p < 0,01$)	71
9.	Parámetros de la ecuación de Elovich obtenidos en la adsorción de molibdato y fosfato	74
10.	Parámetros de la ecuación de Freundlich que describen la adsorción de molibdato y fosfato a diferentes pH	87
11.	Parámetros de la ecuación de Multicomponente de Freundlich que describen la adsorción competitiva entre molibdato y fosfato	92
12.	Contenidos de molibdeno foliar en praderas mixtas asociadas a los Andisoles en estudio	94

13.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la concentración foliar de molibdeno en trébol blanco	99
14.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la producción de materia seca, al primer corte de trébol blanco	104
15.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la producción de materia seca, al segundo corte de trébol blanco	106
16.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre las concentraciones foliares de P, Ca, Mg, Cu y Fe en trébol blanco	119
17.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la calidad nutritiva de trébol blanco	120
18.	Ecuaciones de regresión entre los contenidos relativos de clorofila y nitrógeno foliar de trébol blanco	130
19.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la eficiencia fotosintética, en estado de hojas jóvenes, de trébol blanco	131
20.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la eficiencia fotosintética, en estado de hojas adultas, a través del desarrollo de trébol blanco	133

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Adsorción de molibdeno en función del pH en minerales de arcilla (A) kaolinita, (B) montmorillonita y (C) illita	14
2.	Predicción de los efectos de Eh (v) y pH en la estabilidad de molibdeno en el campo	21
3.	Influencia del pH del suelo (A) en la absorción de molibdeno por alfalfa y concentraciones relativas de molibdeno en alfalfa y trébol (B) sobre suelos del sudeste de USA	23
4.	Relación entre la fotosíntesis y la fijación biológica de nitrógeno	30
5.	Efecto del estrés nutricional sobre los procesos fotosintéticos	32
6.	Diagrama de flujo de cinética de adsorción de aniones, isotermas de adsorción de aniones e isotermas de adsorción competitiva entre aniones	39
7.	Clorofilómetro MINOLTA, modelo SPAD 502	48
8.	Analizador Portátil de Eficiencia de Plantas (PEA)	49
9.	Curva de titulación potenciométrica de suelo Vilcún, a diferentes concentraciones de electrolito de soporte y a 25 ± 0,1ºC	59
10.	Curva de titulación potenciométrica de suelo Pemehue, a diferentes concentraciones de electrolito de soporte y a 25 ± 0,1ºC	60
11.	Curva de titulación potenciométrica de suelo Osorno, a diferente concentraciones de electrolito de soporte y a 25 ± 0,1ºC	61
12.	Curva de titulación potenciométrica de suelo Piedras Negras, a diferentes concentraciones de electrolito de soporte y a 25 ± 0,1ºC	62

13.	Cinética de adsorción de molibdato (a) y fosfato (b) de los suelos Vilcún (●), Pemehue (Δ), Osorno (■) y Piedras Negras (◊), a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte	65
14.	Cinética de orden cero en la adsorción de molibdato (a) y fosfato (b) de los suelos Vilcún (●), Pemehue (Δ), Osorno (■) y Piedras Negras (◊), a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte	67
15.	Cinética de primer orden en la adsorción de molibdato (a) y fosfato (b) de los suelos Vilcún (●), Pemehue (Δ), Osorno (■) y Piedras Negras (◊), a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte	68
16.	Cinética de segundo orden en la adsorción de molibdato (a) y fosfato (b) de los suelos Vilcún (●), Pemehue (Δ), Osorno (■) y Piedras Negras (◊), a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte	69
17.	Cinética de difusión parabólica en la adsorción de molibdato (a) y fosfato (b) de los suelos Vilcún (●), Pemehue (Δ), Osorno (■) y Piedras Negras (◊), a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte	70
18.	Cinética de Elovich en la adsorción de molibdato (a) y fosfato (b) de los suelos Vilcún (●), Pemehue (Δ), Osorno (■) y Piedras Negras (◊), a 25 ± 0,1ºC y 0.1 M KCl como electrolito de soporte	73
19.	Isotermas de adsorción de molibdato en los suelos Vilcún, Pemehue, Osorno y Piedras Negras, a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte (● pH 4,0; ▲ pH 5,0; ■ pH 6,0: Datos experimentales, —: Datos modelados)	78
20.	Isotermas de adsorción de fosfato en los suelos Vilcún, Pemehue, Osorno y Piedras Negras, a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte (● pH 4,0; ▲ pH 5,0; ■ pH 6,0: Datos experimentales, —: Datos modelados)	79
21.	Efecto del pH en la adsorción de molibdato y fosfato en Andisoles a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte	80
22.	Efecto de la concentración de molibdato em solución em la distribución de espécies de molibdato a pH 4,0 (a); pH 5,0 (b) y pH 6,0 (c)	83

23.	Efecto del pH del sobrenadante sobre la adsorción de molibdato en los suelos Vilcún, Pemehue, Osorno y Piedras Negras, a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte (●: pH inicial 4,0; ○: pH inicial 5,0 y ●: pH inicial 6,0)	85
24.	Adsorción competitiva entre molibdato y fosfato en los suelos Vilcún, Pemehue, Osorno y Piedras Negras, a 25 ± 0,1ºC y 0.1 M KCl como electrolito de soporte (—: Datos modelados; Datos experimentales: P1 (▲) 0 mM P, P2 (■) 0,5 mM P, P3 (●) 1,0 mM P, P4 (♦) 2,0 mM P)	89
25.	Efecto del molibdato sobre la adsorción de fosfato en los suelos Vilcún, Pemehue, Osorno y Piedras Negras, a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte (○: 0,05 mM P; Δ: 1,00 mM P; ∇: 2,00 mM P)	90
26.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la absorción de molibdeno en trébol blanco	96
27.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la concentración de molibdeno en trébol blanco	97
28.	Efecto de la dosis de la interacción Cal/P y Mo sobre la producción promedio de materia seca de trébol blanco	101
29.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la relación Cu/Mo foliar de trébol blanco	116
30.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre el valor SPAD y nitrógeno foliar de trébol blanco	129
31.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la eficiencia fotosintética, en estado de hojas adultas, de trébol blanco	132
32.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la fluorescencia mínima, en estado de hojas adultas, de trébol blanco	135
33.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la fluorescencia máxima, en estado de hojas adultas, de trébol blanco	136

LISTA DE ANEXOS

Anexo		Página
1.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre el desarrollo de trébol blanco, en suelo Pemehue	181
2.	Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre el desarrollo de trébol blanco, en suelo Piedras Negras	182
3.	Correlaciones entre los parámetros foliares de trébol blanco evaluados en suelo Pemehue al primer corte	177
4.	Correlaciones entre los parámetros foliares de trébol blanco evaluados en suelo Piedras Negras al primer corte	178
5.	Correlaciones entre los parámetros foliares de trébol blanco evaluados en suelo Pemehue al segundo corte	179
6.	Correlaciones entre los parámetros foliares de trébol blanco evaluados en suelo Piedras Negras al segundo corte	180

INTRODUCCION

Actualmente las ciencias básicas han contribuido enormemente a comprender la física, química, y fertilidad biológica de los suelos para el crecimiento y desarrollo vegetal y, a largo plazo, el impacto de la producción agrícola intensiva sobre las propiedades del suelo.

El descubrimiento de carga de la superficial en los componentes del suelo revolucionó la investigación en la ciencia del suelo (Sposito, 1984; Sparks, 1999). Numerosas propiedades físicas y químicas están directa o indirectamente controladas por la naturaleza y la cantidad de carga superficial y la variación de la carga superficial con las características de solución del suelo. Estas propiedades la adsorción y movimiento de iones nutrientes, metales pesados, y pesticidas (Barrow, 1989; Bolan *et al*., 1997; Naidu *et al*., 1997) son esenciales en los ciclos biogeoquímicos de micronutrientes, pudiendo manipularse en relación a su interacción con el movimiento de nutrientes en el suelo, degradación de pesticidas y descontaminación de suelos (Greenland & Hayes, 1981; Barrow, 1996).

La mayoría de los factores que controlan la disponibilidad de nutrientes en los suelos son dependientes de los procesos físico-químicos que ocurren en la interfase suelo-solución. En la mayoría de los suelos el intercambio catiónico es el más importante dentro del intercambio iónico dado el predominio de cargas negativas sobre los coloides y, además, por la influencia que ejercen los cationes sobre la estructura, actividad biológica, régimen hídrico y gaseoso, pH, y los procesos de génesis y formación del suelo.

La mayoría de los procesos químicos que ocurre en el sistema suelo son dinámicos, y el conocimiento de los mecanismos y cinéticas de estas reacciones son fundamentales. Estos sistemas cinéticos pueden jugar un importante rol en los microelementos debido a que los sistemas no están en equilibrio y continuamente sufren cambios químicos para producir especies más estables (Steinfeld *et al*., 1989). El cambio puede ser lento, produciendo una menor disponibilidad del sorbato a través del tiempo.

Numerosos estudios (Sparks, 1985 y 1999) han establecido las reacciones cinéticas de adsorción de fosfato en suelos heterogéneos y minerales de arcilla, sin embargo, la información sobre las reacciones cinéticas de adsorción de molibdato son muy limitadas.

Es muy escasa la información encontrada sobre el estudio de competitividad de aniones. Sin embargo, es importante este tipo de investigaciones ya que nos permite aproximarnos al entendimiento de una situación real y compleja, como es la que se presenta en el suelo. Además, nos permite visualizar posibles mecanismos de desorción de fosfatos y otros nutrientes, dejándolos disponibles para las plantas.

Problemas como la adsorción de aniones, propiedades de carga y superficie, etc., no están perfectamente dilucidados, pero han sido considerados de relevancia en suelos de carga variable, como lo son los suelos derivados de cenizas volcánicas. Mientras más se avance en el conocimiento de estas propiedades fundamentales, mejores soluciones se podrían generar a problemas agrícolas de fertilización y manejo, así como a problemas específicos de ciencia de suelos como: clasificación, génesis, comportamiento e incluso industriales en el campo de la catálisis.

El estudio de los mecanismos de adsorción de molibdato y fosfato son uno de los factores más importantes en la determinación de la fijación de Mo y P aplicados como fertilizantes e inciden en la eficiencia que esta fertilización puede generar en los sistemas agrícolas sustentables que se desarrollan en estos Andisoles. El conocimiento de las reacciones cinéticas de adsorción puede ser esencial para la predicción de la disponibilidad de nutrientes para las plantas.

La naturaleza de las propiedades químicas del suelo son factores importantes que controlan la adsorción aniónica en los suelos de carga variable (Barrow, 1985; Mora & Canales, 1995a; Bolan *et al*., 1999). La movilidad y biodisponibilidad de aniones como el fosfato y molibdato también son afectados por la alta capacidad de adsorción aniónica de estos Andisoles, y principalmente responsable de la baja eficiencia de la aplicación de fertilización de P y Mo en estos suelos (González *et al*., 1974; Parfitt, 1978; Parfitt, 1990). La contribución relativa de

las propiedades del suelo en la adsorción de P ha sido investigada extensivamente, sin embargo, pocos estudios examinan la relación entre la adsorción de molibdato y las propiedades de estos suelos Andisoles. Estos antecedentes confirman después de un siglo, las observaciones de Boussingault: "*falta en general el ácido fosfórico,……, sumamente escaso en la tierra de Chile, en gran perjuicio de su agricultura venidera*".

En el pasado, se han desarrollado varios modelos que describen y predicen procesos de adsorción de P inorgánico, tanto en laboratorio como bajo condiciones de campo (Schulthess & Sparks, 1991; Schoumans & Groenendijk, 2000). Los procesos de adsorción se han descrito por varios modelo empíricos que incluyen isotermas de adsorción de Freundlich, Langmuir y Temkin y por varios modelos mecanísticos (Barrow, 1989; Goldberg & Forster, 1998); en contraste, los estudios de adsorción de molibdato son limitados y hasta ahora ningún modelo se ha desarrollado para describir la adsorción competitiva entre fosfato y molibdato.

En el presente estudio, ecuaciones Multicomponentes de Freundlich (Barrow *et al*., 2005) basado en coeficientes competitivos para describir sistemas binarios entre fosfato y arsenato se ha usado para describir la adsorción competitiva entre fosfato y molibdato en estos Andisoles. La adsorción de molibdato fue tratada como análoga a la adsorción de fosfato en que ambos aniones compiten por los mismos sitios de adsorción. Se ha informado que fosfato es un competidor más eficaz que molibdato (Theng, 1971; Barrow, 1992; Wu *et al*, 2002).

Por lo tanto, la producción y persistencia de los sistemas pastoriles basados en praderas permanentes y cultivos suplementarios de la zona sur del país, se encuentra condicionada por el clima, características del suelo y manejo de éstos. Diversos estudios realizados en praderas establecidas sin limitaciones de N, P, K y S, demuestran claramente que los índices de fertilidad destinados a la producción agropecuaria de la zona sur del país, se encuentran fuertemente condicionados por los procesos de acidificación, típicos de los suelos derivados de cenizas volcánicas, son la principal limitante en la productividad de las praderas. A pesar, de la tecnología generada hasta hoy para manejar estos suelos (Suárez & Márquez, 1992; Mora *et al*., 1999a y b), ésta carece de información sobre la dinámica que afecta a otros nutrientes (microelementos) en las reacciones de superficie.

Las leguminosas forrajeras son afectadas por estas condiciones, las cuales ven disminuida su capacidad de fijación de N_2 y como consecuencia su persistencia y producción. A su vez, es un hecho conocido que las principales limitantes en el establecimiento y producción de estas especies son el nivel de P y la toxicidad por Al. La alta demanda de N para las plantas de cosecha ha llevado a una fertilización masiva con el consiguiente coste de producción y distribución de los 80 millones de Tm de N (como nitrato, urea y amonio) que se aplican anualmente, lo que ocasiona unos serios problemas medioambientales por la contaminación los acuíferos Frink *et al*. (1999). El desarrollo de estrategias que reduzcan las cantidades de fertilizantes manteniendo una alta productividad pasa necesariamente por una comprensión global y detallada de la base molecular y fisiológica del consumo y metabolismo del N en plantas.

El rol del Mo en los procesos biológicos fue establecido en la década de los 30 por Bortels, quien mostró que es requerido por *Azotobacter* para la fijación atmosférica de N. Estudios realizados con el comportamiento del Mo en Andisoles chilenos, no son muy abundantes, sin embargo, sus inicios datan de la década del 70 con investigaciones realizadas por Schenkel *et al*. (1970, 1973a y b), quienes señalan deficiencias de Mo en suelos del sur de Chile, existiendo respuesta a la fertilización con enorme impacto en suelos deficitarios sobre la nodulación y por ende sobre la producción y calidad proteica de praderas.

Investigaciones realizadas por el Proyecto FONDEF Nº D9712005 en Andisoles de la IX Región con niveles iniciales <0,5 ppm de Mo, indican producciones de 800 kg ha^{-1} de semilla de *Trifolium pratense*. Paulatinamente los trabajos de esta naturaleza disminuyeron y actualmente existen pocos grupos de investigación dedicados a desarrollar estudios con amplitud, intensidad y sistematización requeridas en la actualidad. Sin este tipo de investigaciones será muy difícil disponer de tecnologías propias o adaptar extranjeras, con el objeto de aumentar los rendimientos y calidad y, prevenir futuras alteraciones en el sistema suelo-planta de las praderas permanentes en la zona sur del país.

Debido a que la reacción entre el suelo y la interacción fosfato-molibdato aparece como virtualmente irreversible, su proyección agrícola y económica nacional es trascendente y en el hecho significa que la fertilización con P y Mo en los Andisoles es ineficiente y que la agricultura, especialmente las praderas, son dependientes y sensibles a las carencias nutritivas, durante los primeros estadios de desarrollo vegetal.

Indudablemente, un mejor conocimiento del comportamiento de Mo en Andisoles favorecerá la rentabilidad de estas regiones donde la actividad agropecuaria es prioritaria y por ende contribuirá con el desarrollo nacional.

Al estudiar estos suelos se hace imprescindible enfocar estas investigaciones hacia los problemas reales existentes en este tipo de suelos. Entre ellos los procesos de adsorción aniónica son muy complejos, tanto por la magnitud de las variables involucradas como por las interacciones que se originan.

La presencia de molibdato (MoO_4^{2-}) en los suelos es primordial en la generación de sistemas pastoriles sustentables en el tiempo; debido a que su interacción y dinámica con otros nutrientes juega un rol fundamental en la calidad forrajera. Esta última, podría incrementarse significativamente con niveles adecuados de Mo disponible; incidiendo finalmente en la nutrición animal.

El balance entre la energía absorbida y su conversión fotoquímica es primordial para los organismos fotosintéticos (Hüner *et al*., 2002; Taiz & Zeiger, 202). La alteración de la homeostásis de esta energía puede causar variadas respuestas en las plantas que a corto plazo regulan la eficiencia fotoquímica y a largo plazo involucran cambios morfológicos a niveles foliar con daños irreversibles en el aparato fotosintético (Björkman & Demming-Adams, 1995). Es así como, variaciones desfavorables en la temperatura, intensidad luminosa, limitaciones en la disponibilidad de nutrientes y agua, entre otros, inducen severas perturbaciones en la fotosíntesis (Hüner *et al*., 2002).

Con el desarrollo tecnológico y la necesidad de conocer los procesos fisiológicos vegetales, se han creado instrumentos que permiten medir en forma no destructiva e *In vivo* diverso parámetros fisiológicos que permiten caracterizar la respuesta vegetal al medio ambiente en constante cambio. Entre las técnicas que diagnostican deficiencias nutricionales cuyos síntomas visuales no son aún visibles pero si son suficientemente intensos para disminuir el rendimiento, el SPAD-meter otorga una rápida y no destructiva estimación de la clorofila extractable de manera indirecta en las hojas vegetales.

La evaluación del potencial máximo de eficiencia cuántica (*Fv/Fm*) parámetro que indica la efectividad de utilización de la luz por el Fotosistema II (FS II) ha sido demostrado como un indicador confiable de estrés en tejidos vegetales. A partir de la década del 90, en la Universidad de Chile, el grupo de investigación del Dr. Pinto realizó los primeros estudios ecofisiológicos que permitieron diagnosticar en forma no destructiva el aparato fotosintético, a través de la técnica de medición de la fluorescencia de la clorofila "*a*" (primeros picosegundos de la curva de Kautski). Dicha técnica, permite medir In situ cientos de muestras vegetales en poco tiempo bajo variadas condiciones ambientales, como alta (Strasser & Tsimilli-Michael, 2002) y baja temperatura (Casanova, 1997), sequía, salinidad, ozono, CO_2 (Casanova, 2002) y, presencia de metales pesados (Strasser *et al*., 2000; Strasser & Tsimilli-Michael, 2002).

Por todas las razones anteriormente expuestas se postula la siguiente hipótesis:

Hipótesis

Entre los microelementos el molibdeno es deficiente en suelos acidificados, derivados de cenizas volcánicas típicos del sur de Chile. Los requerimientos de molibdeno de las praderas son muy reducidos, pero determinantes del metabolismo vegetal. Se postula que la absorción de molibdeno por la pradera estaría condicionada por el pH y la competencia con fosfato por los sitios reactivos del suelo, que generarían cambios en la respuesta de la planta, tanto en la actividad fotosintética como en la tasa de crecimiento de la pradera incidiendo finalmente en la calidad nutritiva de ella.

A partir de ella, el presente estudio pretende evaluar a través de experimentos en laboratorio e invernadero, el siguiente objetivo general:

Objetivo General

El objetivo general de este estudio fue estudiar el efecto de algunos factores que influencian la dinámica del molibdeno en cuatro Andisoles del sur de Chile y su efecto en la producción, calidad nutricional y actividad fotosintética de *Trifolium repens* L.

A continuación se presentan los objetivos específicos desarrolladas durante la ejecución de esta Tesis Doctoral, para cumplir con el objetivo general anteriormente señalado:

Objetivos Específicos

i) Generar información sobre los niveles de Mo en cuatro Andisoles (IX y X Región) y los niveles de Mo foliar de praderas permanentes asociadas a estos suelos.

ii) Cuantificar las formas de Fe y Al activos de estos Andisoles, a través de disoluciones selectivas y su relación con la capacidad de adsorción de molibdato.

iii) Determinar el efecto de la cinética de reacción en la adsorción de molibdato y fosfato en estos Andisoles, a través de reacciones cinéticas.

iv) Determinar el efecto del pH en la adsorción de molibdato y fosfato en estos Andisoles, a través de isotermas de adsorción.

v) Determinar el efecto del fosfato en la adsorción de molibdato en estos Andisoles, a través de isotermas de adsorción competitiva.

vi) Evaluar el efecto de la interacción Cal/P y Mo en la regulación de la actividad fotosintética y contenido de clorofila foliar de *Trifolium repens* L.

vii) Cuantificar el efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre el rendimiento y calidad nutritiva de *Trifolium repens* L.

1. REVISION BIBLIOGRAFICA

1.1 Distribución y características de los suelos derivados de cenizas volcánicas en nuestro país

Esta investigación tiene su origen en la necesidad de obtener mayor conocimiento sobre el comportamiento de los suelos derivados de cenizas volcánicas del país, tanto por la enorme superficie agrícola (5.488 km^2) como por sus propiedades, comportamiento e importancia agrícola. En estos suelos, se desarrolla gran parte de la producción cerealera y ganadera; además, una parte considerable de los bosques se establecen en estos suelos.

Los suelos volcánicos desarrollados en la zona Central y Centro-Sur de Chile, provienen de materiales piroclásticos; donde la extensa y rica red fluvial, el relieve ondulado, las glaciaciones del Pleistoceno, la relativa proximidad de los volcanes, el régimen eólico dominante, y el encajonamiento de la Depresión Central; son factores que han influido en la depositación de las cenizas y, por lo tanto, en la formación de una amplia tipología de suelos (Besoaín & Sepúlveda, 1985).

Según Mella & Kühne (1985) entre la región metropolitana y la IX región, ambas inclusive, los suelos volcánicos cubren una superficie de 5.288 km^2, de las cuales 62% corresponden a Andisoles; 14,7% Arenosos Volcánicos; 12,7% Ultisoles; 9% Ñadis y 1,6% Pardo Arcillosos, lo cual magnifica la importancia de estos suelos en nuestro país.

Se debe considerar que el total de suelos arables del país representan sólo 7,2% del territorio nacional, por cuanto las posibilidades de aumentar la superficie cultivable son exiguas. Por lo tanto, todo aumento en la producción debe basarse en incrementar la productividad del suelo, a través de una mayor tecnificación sobre la base de una sólida investigación.

Los Andisoles chilenos difieren profundamente de los suelos no-volcánicos en sus propiedades, comportamiento y manejo. Los materiales constituyentes de estos suelos ejercen fuerte influencia sobre las propiedades de intercambio determinando interacciones entre

compuestos orgánicos e inorgánicos y las especies en solución que, condicionan fuertemente sus propiedades agronómicas.

En este tipo de suelos, existe un predominio de minerales de arcilla amorfos que poseen carga variable o dependiente del pH. Dentro de las únicas principales propiedades químicas, físico-químicas y biológicas, que le imprimen sus coloides orgánicos y minerales, se destacan: por presentar estructuras bien definidas, alto porcentaje de retención de humedad, baja densidad aparente, su acidez potencial, baja relación SiO_2/Al_2O_3, alta capacidad de intercambio catiónico dependiente del pH, bajo porcentaje de saturación de cationes intercambiables (Espinoza, 1973; Wada, 1985; Dahlgren *et al*., 2004). Además, presentan altos contenidos de materia orgánica (MO) en diferentes grados de humificación, en directa relación con la pluviometría y temperatura; lo que acarrea gran acumulación de materiales húmicos en suelos de la zona sur del país. Esto se traduce en incrementos de los iones H^+ y Al^{3+}, adsorción aniónica y capacidad de intercambio catiónico (CIC).

La carga superficial en el suelo se genera en los componentes orgánicos e inorgánicos. Las fuentes de carga superficial inorgánica en los suelos incluyen todas las arcillas y minerales no cristalinos del suelo, con carga permanente (White & Zelazny, 1986). Los óxidos e hidróxidos de Al, Fe, y Mn presentan carga permanente y variable, donde la naturaleza y magnitud de la carga están dominadas por los diversos materiales que componen el suelo. La MO presenta carga variable y los grupos funcionales de los compuestos húmicos presentes en el suelo son la mayor fuente de carga dependiente del pH, en la mayoría de los suelos.

El pH de la solución del suelo es uno de los mayores factores que controlan propiedades de la carga superficial en suelos de carga variable (Barrow, 1984; Mora & Barrow, 1996). El pH afecta la carga superficial a través del suministro de H^+ para la adsorción en los óxidos metálicos y la disociación de los grupos funcionales de la MO del suelo.

Estudios realizados por Barrow (1970), González *et al*. (1974) y Goldberg *et al*. (2002) indican que la adsorción de molibdato incrementa con la disminución de pH, sugiriendo que el incremento de carga neta positiva incrementa la adsorción de este anión.

1.2 Molibdeno en los suelos

El contenido de Mo en los suelos es dependiente de la naturaleza del material parental, grado de intemperización y, contenido de MO (Krauskopf, 1979). El contenido de Mo total en los suelos se encuentra entre el rango 0,31-5,60 ppm, en cambio, los contenidos de Mo disponible son < 0,2 ppm (Tabla 1). La fuente primaria de Mo en los suelos es la molibdenita (MoS_2). En suelos con alto contenido de Fe, el molibdato más común es $Fe_2(MoO_4)_3$, y en los suelos con alto contenido de Al, es $Al_2(MoO_4)_3$. En general, niveles de 0,2 a 5,0 ppm son considerados normales y la concentración promedio de Mo en el planeta fluctúa entre 1,0 a 2,3 ppm (Stevenson, 1986). Las deficiencias de Mo se extienden a grandes áreas particularmente en suelos ácidos.

1.3 Biodisponibilidad de molibdeno en los suelos

El contenido total de Mo en los suelos, excepto en suelos muy deficientes, no es generalmente un buen indicador de la biodisponibilidad de Mo. El Mo extractable no necesariamente se correlaciona con el contenido de Mo total de los suelos, sin embargo, suelos con altos contenidos de Mo extractable presentan altos contenidos de Mo total. Numerosos extractantes, en el rango de fuertemente ácidas a soluciones alcalinas, se han usado para evaluar la fitodisponibilidad de Mo (Sims & Johnson, 1991). En general, la concentración de Mo extractable en los suelos raramente supera 1,0 ppm (Tabla 1).

Estudios realizados con seis leguminosas forrajeras en cinco estados de USA (Mortvedt & Anderson, 1982) indican que el contenido de Mo extractado con oxalato de amonio fluctuó entre 0,11 a 0,49 ppm. Pero no se encontraron correlaciones significativas entre Mo del suelo y Mo foliar. Sin embargo, el rendimiento relativo y contenido de Mo foliar fueron significativamente correlacionados con el pH del suelo. En general, niveles de Mo extractable entre el rango de 0,1 a 0,3 ppm pueden producir deficiencias de Mo en suelos del Noreste de Alabama (Adriano, 2001). El Mo extractado con oxalato de amonio ácido no se correlaciona con el incremento del rendimiento u otros parámetros vegetales asociados con la fertilización de Mo o encalado. Williams & Thornton (1972) indican que cuando se considera el pH y contenido de MO del suelo, la extracción de Mo con acetato de amonio y EDTA puede informar sobre el potencial de Mo absorbido por especies pratenses.

Tabla 1. Contenidos de molibdeno total y disponible en diferentes tipos de suelos.

Suelo	País	Mo total (ppm)		Mo disponible (ppm)	
		Promedio	Rango	Promedio	Rango
Aluvial (Copiapó) [1]	Chile	3,39	1,90-14,50	0,78	0,30-2,57
Graníticos (VII Región)[3]	Chile			0,0032	0,0018-0,0063
Terrazas marinas (VII Región)[3]	Chile			0,0025	0,0018-0,0030
Aluvial (VII Región)[3]	Chile			0,0027	
Andisoles[2]	Chile			0,16	0,11-0,20
Inceptisoles[1]	Brazil	0,82	0,78-1,17	0,12	0,09-0,16
Ultisoles[1]	Brazil	0,31	0,21-0,38	0,03	0,03-0,04
Entisoles[1]	Brazil	0,46	0,09-1,74	0,02	0,01-0,05
Alfisoles[1]	Brazil	1,79	0,51-2,86	0,10	0,09-0,13
Cenizas volcánicas (Oregon) [4]	USA	1,20	0,40-1,80		
Cenizas volcánicas (Alaska) [4]	USA	2,30	1,30-2,80		
Esquistos-Calizos (Virginia) [4]	USA	2,90	1,40-31,50		
Lacustres (Ohio) [4]	USA	4,14	1,20-7,15		
Arenosos (Connecticut) [4]	USA	0,75	0,60-0,90		
Podzoles[4]	Canadá	5,01	0,05-12,10		
[4]	Francia	5,60	4,30-6,90		
[4]	UK	1,00			
Aluviales (Río amarillo) [4]	China	2,00			
Aluviales[4]	India	2,25	1,50-3,00		
Basálticos -Calizos[4]	India	1,70	1,50-1,84		

Fuente: Adaptado de Harmsen & Vlek (1985)[1], Rodríguez (1993)[2], Proyecto FONDECYT 1950757 (1997) [3], Adriano (2000) [4],

Suelos que exceden 10 ppm Mo indican mejor correlación entre el Mo extractable y la absorción vegetal que suelos con bajos contenidos de Mo extractable. En general, el grado de

relación en la predicción de la absorción de Mo y el rendimiento puede ser significativo siempre y cuando se consideren el tipo de extractante para cada suelo, los contenidos de Mo del suelo, pH del suelo, y los contenidos de óxidos de Fe y Al (Adams, 1997).

1.4 Adsorción de molibdeno en los suelos

La adsorción de Mo en los suelos ha sido usado como indicador del potencial del suelo en su baja fitodisponibilidad de Mo. El molibdato es fuertemente adsorbido por los óxidos de Fe y Al. Numerosos estudios han resaltado el rol de los óxidos de Fe en la adsorción de Mo por los suelos (Jarrell & Dawson, 1978; Karimian & Cox, 1978; Yuan & Lavkulich, 1994; Goldberg *et al*., 2002; Hirade & Uchida, 2004). Una porción del Mo adsorbido no está disponible para la planta, mientras que el resto está en equilibrio con la solución del suelo. Como las raíces absorben Mo de la solución del suelo, mayor cantidad de Mo es desorbido hacia la solución del suelo por acción de masas.

El molibdato se une fuertemente a los óxidos por el mecanismo de intercambio de ligandos que involucra el intercambio entre el grupo hidroxil (SOH) de la superficie de los óxidos para el anión en solución (A^{2-}), (Spósito, 1984; Stum, 1992). Esta reacción produce la formación de complejos de esfera interna (Ec. 1):

i) $$SOH + A^{2-} + H^{+} \Leftrightarrow SA^{-} + H_2O \qquad (1)$$

Esta reacción indica que la adsorción del anión es función del pH, densidad de sitios superficiales, y concentración del anión. A bajo pH se favorece se favorece la adsorción del anión de la solución del suelo.

Goldberg *et al*. (1996) emplearon el modelo de la Capacitancia Constante para describir la adsorción de Mo en óxidos de Fe y Al y minerales de la arcilla. Pero este modelo fue incapaz de describir la adsorción de Mo en suelo. Estos resultados indican mecanismos de adsorción de esfera interna entre Mo y la superficie complejada con óxidos de Fe y Al, y los minerales de arcilla. La adsorción de Mo exhibe un máximo entre los pH 4,0 a 5,0 (Goldberg *et al*.,

1996). Antes del pH 5,0 la adsorción decrece rápidamente con sólo una pequeña adsorción a pH 8,0. La adsorción de Mo es alta en óxidos minerales que presentan alta superficie específica y bajo grado de cristalinidad. Por otro lado, la adsorción de Mo en minerales de arcilla exhibe un "peak" cerca de pH 3,0 y decrece rápidamente con incrementos del pH hasta que la adsorción es casi nula a pH 7,0. La intensidad de adsorción de Mo en arcillas aumenta en el siguiente orden: kaolinita < ilita < montmoarillonita (Figura 1). La adsorción de Mo en tres suelos calcáreos de zonas áridas es muy semejante a la adsorción de las arcillas, exhibiendo un "peak" entre el rango pH 3,0 a 4,0. Sin embargo, la adsorción de Mo sobre calcita y dos suelos calcáreos de zonas áridas fue baja, indicando que $CaCO_3$ no es una fuente significativa para el Mo en estos suelos.

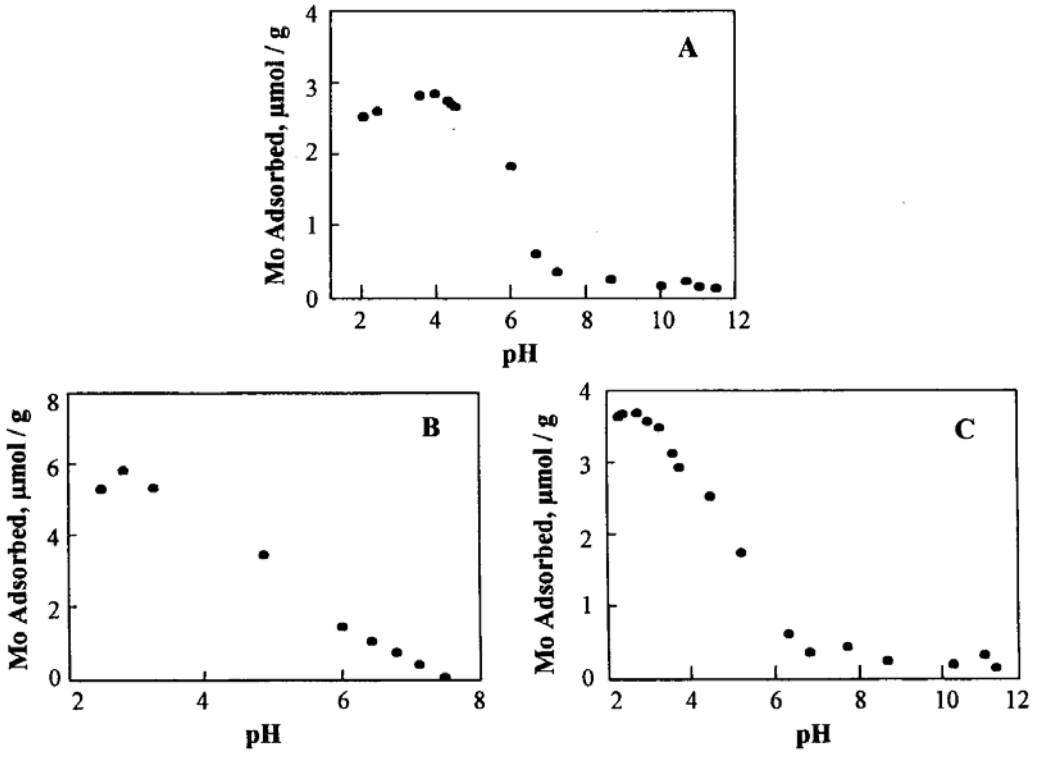


Figura 1 Adsorción de molibdeno en función del pH en minerales de arcilla; (A) kaolinita, (B) montmorillonita y (C) illita (Fuente: adaptado de Goldberg *et al.*, 1996).

En suelos, la adsorción de Mo es altamente correlacionada con Al extractable (Barrow, 1970) y Fe (Karimian & Cox, 1978). La remoción drástica de los óxidos de Fe reduce la adsorción de Mo en suelos australianos (Jarrell & Dawson, 1978). La dependencia del pH de la adsorción de Mo en los suelos se parece a la de los óxidos y minerales de arcilla. La adsorción incrementa con incrementos del pH hasta un "peak" a pH 4,0 y posteriormente decrece con incrementos del pH.

Estudios de adsorción de Mo en tres Histosoles indican que la adsorción se incrementó con los niveles de MO; isotermas de cuatro suelos minerales mostraron incrementos en la adsorción de Mo con incrementos en los contenidos de óxidos de Fe (Karimian & Cox, 1978). Como el Mo existe en los suelos en forma aniónica es difícil de explicar su adsorción por la MO. Sin embargo, basado en la reacción conocida entre MO y los óxidos de Fe en los suelos, puede que los óxidos de Fe sirvan de puente entre MO y molibdato. Similar comportamiento presenta fosfato en estos suelos. Estudios realizados en Andisoles del sur de Chile por González *et al*. (1974) indican que la adsorción de Mo se debe principalmente a la presencia de alofán y compuestos amorfos de Al, Si y Fe de estos suelos.

1.5 Deficiencias de molibdeno

Las deficiencias de Mo en cultivos de campo fueron informadas por primera vez en Australia hace más de 60 años. En USA, 27 estados han reportado problemas de Mo en 40 cultivos, asociados a las diferentes funciones metabólicas. Plantas deficientes se presentan en suelos ácidos; debido a la presencia de óxidos de Fe y Al. También, en plantas crecidas en suelos de textura gruesa y con bajo contenido de MO, como los Oxisoles en el trópico.

La absorción de Mo por las plantas es inducida por acción de masas, difusión e intercepción radical. El Mo se absorbe por el sistema radical en la forma del ión molibdato (Gupta, 1997). Esta, también, es una forma móvil en la planta y predomina en las especies que son traslocadas a las diferentes partes de la planta. Las concentraciones adecuadas de Mo en los cultivos se encuetran entre el rango 0,1 a 1,0 ppm, pero el umbral de toxicidad de Mo en plantas es más alto que para cualquier otro micronutriente. Debido a estos bajos requerimientos, existe un

estrecho rango entre deficiencia y suficiencia a nivel vegetal. Los diferentes cultivos presentan un amplio rango de requerimientos de Mo y por consiguiente presentan diferentes rangos de suficiencia. Por ejemplo, entre especies cultivadas en suelos deficientes en Mo, cebada, maíz, avena, y trigo contienen entre 0,03 a 0,007 ppm Mo; tomates, remolacha azucarera, calabaza, y espinaca contienen entre 0,10 a 0,20 ppm de Mo que es una deficiencia moderada de Mo.

Los requerimientos de Mo de las leguminosas son 2 a 3 veces superiores a los requerimientos de las no leguminosas (Jarrell *et al*., 1980). En general, plantas que exigen un alto valor de pH en el suelo para su desarrollo satisfacen la mayoría de las deficiencias de Mo. En el caso de las leguminosas, Mo es necesario en la actividad nitrogenasa y, por ende, si la fijación de N_2 es deficiente la planta efectivamente es deficiente en nitrógeno, manifestando los síntomas de deficiencia amarillamiento y disminución de crecimiento. En general, los cultivos de trébol manifiestan deficiencias de Mo en forma poco uniforme, presentando un aspecto abigarrado con zonas amarillentas contrastando con las zonas verdes normales (Nichols & Ma, 2002). Esta deficiencia se manifiesta primeramente sobre las hojas viejas que son amarillentas, pequeñas y cubiertas de manchas necróticas.

Un valor de aproximadamente 0,10 ppm Mo de ms en plantas superiores se considera como nivel crítico y con alta probabilidad de respuesta a la fertilización con Mo. Sin embargo, este valor puede variar ampliamente. Por ejemplo, se han encontrado buenas respuestas en leguminosas, con la aplicación de Mo, donde se obtuvieron contenidos foliares de 0,50 ppm Mo; por otro lado, Spedding & Diekmahns (1972), Mills & Davies (1987) y Whitehead (2000) indican que la concentración de Mo en trébol blanco fluctúan entre 0,1 a 4,0 mg Mo kg^{-1}, 2,0-10,0 mg Mo kg^{-1} y 0,02-40,0 mg Mo kg^{-1}, respectivamente.

Las aplicaciones de Mo incrementan la concentración de Mo en la pradera, y este incremento fue mayor en trébol que en ballica, donde las concentraciones fluctuaron entre 1,9 a 11,9 mg Mo kg^{-1} y 1,4 a 6,9 mg Mo kg^{-1}, respectivamente (Reith *et al*., 1984; Whitehead, 2000). Los siguientes métodos han mostrado eficacia en la corrección de deficiencias de Mo (Murphy & Walsh, 1972; Adams, 1997): aplicación de cal, aplicación de cal más Mo, asperciones foliares de Mo, aplicación de fertilizantes de Mo al suelo, tratamiento de las semillas con Mo.

Deficiencias de Mo no se han observado en humanos y es difícil producirlas en experimentos con animales (van Campen, 1991). Mucho interés presenta el rol del Mo como catalizador de varias enzimas en los sistemas humano y animal y, sus efectos en la nutrición de Cu en ganado.

El consumo de altos niveles de Mo ha sido correlacionado con la baja incidencia de caries dentales en los niños. Sin embargo, altos niveles en la dieta puede ser dañino. La población en Europa oriental se expuso a un ambiente con altos niveles de Mo y generó incrementos de la xantina oxidasa a nivel sanguíneo, incrementos del ácido úrico en sangre y orina, y alta incidencia de gota. En la ausencia de deficiencias para los humanos, Food & Nutrition Borrad (1989) ha sugerido adecuadas ingestas diarias de Mo basadas en los niveles de suficiencia informados (infantes 15-40 *u*g diá$^{-1}$, niños 25-150 *u*g diá$^{-1}$, adultos 75-250 *u*g diá$^{-1}$).

Los alimentos son la mayor fuente de Mo para los humanos. La leche y productos lácteos, legumbres, carnes y cereales son los contribuyentes primarios de Mo. El consumo diario de la población adulta en USA se estima entre 80 a 350 *u*g diá$^{-1}$ (Tsongas *et al*., 1980), que está dentro del rango adecuado.

El rango normal de concentración de Mo en la dieta animal es < 5 ppm. Efectos tóxicos del Mo se han encontrado en forrajes que contienen entre 15 a 300 ppm Mo en USA, Canadá, Nueva Zelandia y Suiza (Adriano, 2001). Kubota *et al*. (1967) indica rangos tóxicos en el forraje entre 10 a 20 ppm Mo. Jarrel *et al*. (1980) indican que la toxicidad de Mo depende de la concentración de Cu y sulfato en la dieta animal y que adiciones de estos dos elementos a la dieta reducen la toxicidad por Mo. Molibdenosis es la deficiencia de Cu inducida por Mo, por lo tanto, la relación Cu/Mo en la dieta es el mejor indicador de esta enfermedad que el contenido de Mo por sí solo.

Miltimore & Mason (1971), Whitehead (2000) y NCR (2001) indican que la relación Cu/Mo crítica en el alimento animal es 2,0 y con relaciones más bajas puede producirse deficiencia de Cu; sin embargo, los estudios realizados en praderas inglesas indican que relaciones < 4,0 pueden producir deficiencias de Cu.

1.6 Acumulación y fitotoxicidad de molibdeno

En general, en las plantas cultivadas las concentraciones de Mo foliar fluctuan entre 0,80 a 15 ppm. La toxicidad de Mo no ha sido observada bajo condiciones de campo. Sin embargo, la toxicidad puede ser inducida bajo condiciones experimentales extremas. En cultivos de invernadero de avena, cebada y poroto los niveles tóxicos se presentaron con concentraciones de 200, 135 y 710 ppm Mo, respectivamente (Hunter & Vergnano, 1953; Wallance *et al*., 1977; Davis *et al*., 1978).

Mayor preocupación en la intoxicación con Mo se debe tener con la aplicación de lodo de alcantarillado en praderas que acumulan Mo. Aunque investigaciones realizadas por O'Connor (2000) y McBride *et al*. (2000) durante muchos años en praderas encaladas y con aplicación de este tipo de lodo, indican que la baja ingesta de forraje en conjunto con buenas practicas de manejo (incremento el suplemento de Cu en la dieta) no generaron problemas por toxicidad de Mo.

En general, la presencia de grandes cantidades (100 a 200 ppm Mo) de Mo a nivel foliar no producen efectos detrimentales en los cultivos y sólo aparecen efectos tóxicos en las hojas. Así, la fitotoxicidad por Mo no ocurre bajo condiciones de campo. Las especies que presentan toxicidad de Mo exhiben clorosis y amarillamiento; debido a la interferencia con el metabolismo de Fe en las plantas (Whitehead, 2000).

Cuando el ganado consume forraje con altos niveles de Mo (20-100 ppm Mo) pueden desarrollar la condición de Molibdenosis, que en algunos casos puede ser fatal (Millar *et al*., 1991). Por estas razones, altos niveles de Mo foliar preocupa a los agricultores y especialistas en nutrición animal. Actualmente, Molibdenosis es la deficiencia de Cu inducida por Mo en el ganado que, puede ser rápidamente corregida con injecciones de Cu. Los síntomas de esta enfermedad son diarrea, seguido de piel dura, cambio de color, y pérdida en el peso (NCR, 2001).

La mayoría de los animales requiere concentraciones <1,0 ppm Mo en su dieta (Allaway, 1968; NCR, 2001). Sin embargo, 6 ppm Mo se considera un nivel adecuado en la dieta, el ganado ovino tolera los niveles ligeramente más altos que el ganado bovino, incluso, los animales toleran niveles sustancialmente más altos en la dieta si se aumentan los niveles de Cu (NCR, 2001). Cuando los niveles de Cu son bajos (<4 ppm), 5 ppm Mo puede afectar adversamente a los animales. Lesiones en el ganado bovino se pueden presentar con concentraciones de 20 ppm Mo, rara vez concentraciones de 10 ppm Mo pueden ser tóxicas. En general, la toxicidad de Mo se manifiesta más temprano en los animales que en las plantas.

En general, la producción de plantas en suelos ácidos involucra alta probabilidad de deficiencias de Mo; en suelos alcalinos y calcáreos la bioacumulación involucra problemas en la salud animal. Por lo tanto, es preocupante el exceso de Mo en los forrajes y el desbalance nutricional de deficiencias de Mo en las plantas.

1.7 Factores que afectan la mobilidad y biodisponibilidad de molibdeno

Diversos estudios indican que entre los factores que condicionan la disponibilidad de Mo para las plantas se encuentran:

a) Factores del clima: estación del año
b) Factores del suelo: naturaleza del material parental, tipo y textura, óxidos de Fe y Al, arcillas, especies de Mo, pH, potencial redox, nivel de materia orgánica, drenaje, interacciones con otros nutrientes.
c) Factores de la planta: especie y variedad, estado fenológico, parte analizada.

1.7.1 Estación del año

Estudios realizados en Irlanda, indican que las concentraciones de Mo en la pradera son altamente afectadas por la estación del año, fluctuando entre 2 mg kg^{-1} Mo en primavera y 11 mg kg^{-1} Mo en otoño (Shorrocks, 1989).

1.7.2 Tipo de suelo y material parental

Mitchell (1964) indica que el contenido de elementos traza en el suelo es completamente dependiente del material parental y de los procesos de intemperización a los que están sujetos esto materiales. Los suelos más intemperizados, presentan menor influencia del material parental. El molíbdeno puede precipitar bajo condiciones oxidadas (Mo^{6+} predominante) o reducidas (Mo^{4+}), (Harmsen & Vlek, 1985). Así, los factores pedogénicos y la naturaleza del material parental juegan un importante rol en determinar los niveles de Mo en el solum.

La rocas ígneas constituyen el 95% de la corteza terrestre (Mitchell, 1964), Mo está presente tanto en rocas ígneas ácidas como básicas. Harmsen & Vlek, (1985) sugieren que el contenido global de Mo es de 2,0 ppm en rocas graníticas y un poco menor en rocas basálticas. Las rocas sedimentarias que se forman por la intemperización y transporte de material, usualmente retienen algo del Mo del material parental. Las concentraciones de Mo pueden ser altas en rocas que se han formado bajo condiciones favorables de precipitación y acumulación de Mo, por ejemplo, a las grandes profundidades oceánicas o en presencia de carbono. Harmsen & Vlek, (1985) sugieren concentraciones menores a 1,0 ppm, pero Norrish (1975) indica concentraciones de 2, 0 ppm en rocas sedimentarias.

1.7.3 Especies de molibdeno

El molibdeno existe en el suelo se puede encontrar de las siguientes formas: fijado en la red cristalina de minerales primarios y secundarios, adsorbido por los constituyentes del suelo como un anión MoO_4^{2-} (Lindsay, 1972), absorbido por la MO, Mo extractable, Mo soluble. Estas dos últimas formas son lábiles y son fácilmente biodisponibles para las plantas. Este predominio de formas aniónicas es único entre los nutrientes metálicos de las plantas y su distribución varía con las diferentes características de los suelos. Estas formas pueden ser definidas por Williams & Thornton (1973) como: i) soluble al agua (incluyen molibdatos solubles y complejos orgánicos solubles), ii) extractable con acetato de amonio (parte del Mo adsorbido por intercambio iónico), iii) complejado, extractado con EDTA (Mo unido a complejos orgánicos y asociado con complejos orgánicos solubles en EDTA, y iv) no extractable (fracción de Mo no extractable por tratamientos alcalinos, hidróxido de sodio o hidróxido de amonio). La adsorción de molibdato por óxidos de Fe y Al involucra cantidades de Mo no disponible en los suelos (Jarrell & Dawson, 1978).

Mo generalmente forma especies aniónicas solubles en sistemas acuosos. Las especies de Mo que comprenden el Mo soluble en el suelo son aniónicas, donde el ión predominante es molibdato (Lindsay, 1972). Las especies de Mo en solución varían con el pH y potencial redox. Bajo pH 4,2 las formas significativas son $HMoO_4^-$ y H_2MoO_4; anteriormente a pH 4,2 MoO_4^{2-} era considerada la mayor especie en solución (Lindsay, 1979; Harter, 1991). Con incrementos en el pH, las especies en solución generalmente decrecen en el siguiente orden: $MoO_4^{2-} > HMoO_4^- > H_2MoO_4 > MoO_2(OH)^+ > MoO_2^+$ (Figura 2). Las tres primeras especies dominan el contenido de Mo total en solución entre el rango pH 3,0 a 5,0. Muchos suelos presentan un pH de 5,0; donde el ión MoO_4^{2-} es la especie dominante. Bajo este valor de pH, la especie MoO_4^{2-} se vuelve a protonar.

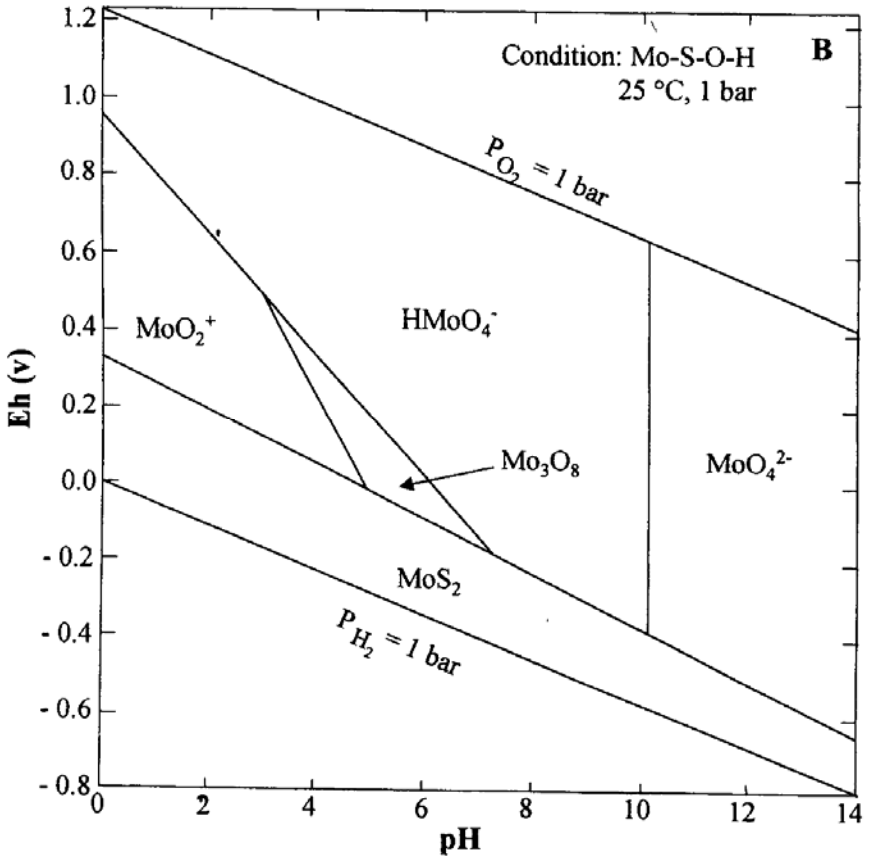


Figura 2 Predicción de los efectos de Eh (v) y pH en la estabilidad de molibdeno en el campo (Fuente: Adriano, 2001).

1.7.4 Contenido de óxidos de hierro y aluminio en el suelo

La adsorción de molibdato por óxidos de Fe y Al es el proceso que decrece la disponibilidad de Mo; debido a la carga positiva que presentan estos óxidos. La solubilidad del molibdato incrementa con incrementos del pH del suelo. Los óxidos de Fe y Al son los siguientes factores de mayor importancia después del pH del suelo en regular la solubilidad del Mo. Por ejemplo, la adsorción de Mo en suelos minerales incrementa con incrementos en el contenido de óxidos de Fe (Karimian & Cox, 1978), en cambio, los óxidos de Al también pueden adsorber Mo de la solución del suelo pero tienen menor afinidad por Mo que los óxidos de Fe bajo las mismas condiciones (Jones, 1957). La adsorción de Mo por los óxidos de Fe es pH dependiente, como ha sido reportado por Jones (1957), quien indica que la adsorción de Mo por óxidos de Fe (100 mg) en soluciones que contienen 100 *u*g Mo decrece de 98 ug a pH 7,0 a 22 *u*g Mo a pH 9,0 después de ser agitado por 15 horas. Más específicamente, la fracción amorfa de los óxidos de Fe extractados con oxalato de amonio presenta mayor rol en la adsorción de Mo en suelos del oeste de Oregon, USA (Jarrell & Dawson, 1978).

En la actualidad, estudios realizados por Goldberg *et al*. (2002) corroboran que la remoción drástica de los óxidos de Fe decrece la adsorción de Mo; indicando que los óxidos de Fe son los principales componentes del suelo responsables de la adsorción de Mo en los suelos.

1.7.5 pH del suelo

El pH del suelo es una de los factores más importantes en controlar la biodisponibildad de Mo y, por ende, la absorción de Mo por las plantas. La concentración de molibdato, qué está más prontamente disponible para las plantas, incrementa 100 veces por cada incremento en una unidad de pH (Lindsay, 1972). Al contrario de la mayoría de los micronutrientes, la biodisponibilidad de Mo en suelos alcalinos es mayor que los suelos ácidos. De este modo, la reacción del suelo es el factor de mayor importancia en la disponibilidad de Mo. El encalado de los suelos ácidos corrige a deficiencia de Mo, sustituyendo la fertilización con Mo e incrementando la biodisponibilidad de formas de Mo para ser absorbidas por las plantas. La respuesta vegetal a la aplicación de Mo es más eficaz en suelos ácidos (Adriano 2001). La cantidad de enmienda requerida para la máxima respuesta productiva puede ser reducida o

eliminada por la fertilización con Mo (James *et al*., 1968). Es una práctica común controlar la deficiencia de Mo encalando el suelo entre el rango de pH 6,0 a 6,5. Sin embargo, el efecto de cal en la deficiencia de Mo varía con las condiciones del medio, puede corregir parcial o completamente la deficiencia, no tener efecto o incrementar la respuesta a Mo.

La dependencia de la solubilidad de Mo con el pH del suelo es preocupante cuando se aplica lodo de alcantarillado al suelo. El pH del suelo receptor de lodo debe mantenerse sobre pH 6,5 para limitar la biodisponibilidad de Cd, pero debe tenerse en cuenta el contenido de Mo del lodo antes de ser aplicado a leguminosas (McBride *et al*., 2000). La importancia de la reacción del suelo sobre la disponibilidad de aplicaciones de Mo sobre alfalfa y trébol se observa en la Figura 3. Los datos indican correlaciones entre el pH del suelo, Mo disponible, y la absorción de la planta. En el sudeste de USA, las producciones de alfalfa y trébol son significativamente correlacionadas con el pH y contenido de Mo del suelo, sin embargo, el pH del suelo tiene mayor efecto en las concentraciones de Mo, además, el comportamiento de estos forrajes incida que aplicaciones de Mo en suelos encalados genera concentraciones foliares de 5-10 ppm Mo para el ganado (Mortvedt & Anderson, 1982).

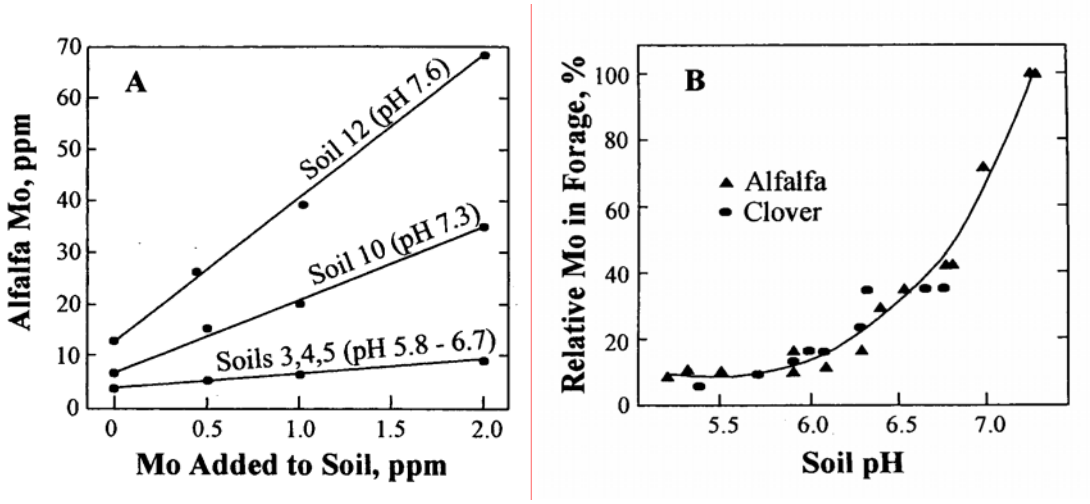


Figura 3 Influencia del pH del suelo (A) en la absorción de molibdeno por alfalfa y concentraciones relativas de molibdeno en alfalfa y trébol (B) sobre suelos del sudeste de USA (Fuente: Adaptado de Harmsen & Vlek, (1985) y Mortvedt & Anderson, 1982).

1.7.6 Tipo y textura del suelo

Estudios realizados por Riley *et al*. (1987), en suelos del oeste de Australia, indican que aproximadamente 10% de Mo aplicado se ha lixiviado en dos suelos arenosos (pH 5,8-6,1), en comparación con cantidades despreciables en suelos arenosos ácidos (pH 5,0-5,4). En cambio, la lixiviación no es un factor importante en las deficiencias de Mo sobre suelos de arenas amarillas, productores de trigo, en el oeste Australiano. Smith & Leeper (1969) concluyó que la lixiviación no mueve cantidades significativas de Mo a través del perfil de suelo, con excepción de los suelos arenosos. El encalado de los suelos implica altas concentraciones de Mo en cultivos desarrollados sobre suelos de textura fina que en cultivos desarrollados en suelos de textura gruesa (Gupta, 1997).

Los suelos calcáreos desarrollados a lo largo del río amarillo en China, son deficientes en los contenidos de Mo total y disponible, como ha sido informado por Shorrocks (1989). Por otro lado, un segundo grupo de suelos que incluye suelos ácidos presentan altos contenidos de Mo total pero bajos contenidos de Mo disponible. Suelos lateríticos derivados de rocas graníticas y basálticas presentan altos contenidos de Mo. Schorrocks (1989) indica que en Irlanda, se presentan mayores deficiencias de Mo en suelos de áreas arenosas y graníticas que en suelos de áreas calcáreas y de turba, que presentan altos contenidos de Mo. Los suelos de texturas gruesas y limosas con bajo contenido de MO, así como los severamente erosionados, son suelos que responden a las aplicaciones de Mo (Boswell, 1980). La aplicación de fertilizantes de Mo es eficaz por un largo tiempo en suelos con baja adsorción de molibdato (Barrow *et al*., 1985).

1.7.7 Potencial redox y contenido de materia orgánica del suelo

Los suelos que contienen altos contenidos de Mo para las plantas se generan en áreas muy húmedas y de pobre drenaje, frecuentemente de reacción neutra a alcalina, y con alto contenido de MO (Allaway, 1975). Las áreas pobremente drenadas en UK y con turba en Nueva Zelandia y Florida, presentan toxicidad de Mo (Kubota, 1977). La fracción de Mo de suelos húmedos y ácidos es generalmente alta, probablemente como resultados del decrecimiento en la adsorción de Mo en la presencia de altas concentraciones de amoníaco (Ponnamperuma, 1985).

Este fenómeno puede ser causado por lo siguiente: i) el Fe de estos suelos se encuentre en estado reducido y el molibdato ferroso es más soluble que el molibdato férrico a valores de pH comúnmente encontrados en estos suelos, ii) la baja solubilidad por lixiviación se restringe y causa acumulación de Mo soluble en la zona radical, y iii) el movimiento de Mo hacia la planta vía acción de masas es mayor en suelos húmedos que en suelos secos. Las plantas con altos contenidos de Mo son capaces de intoxicar tanto al ganado bovino como ovino, confinado a suelos provenientes de alluvium from shales y rocas ígneas (Welch *et al*., 1991).

Altos contenidos de MO pueden incrementar la solubilidad de Mo debido a su efecto en el potencial redox y a la rápida reducción de Fe en lugar de la formación de formas orgánicas solubles de Mo. Cuando el potencial redox no es problema, la cantidad de Mo adsorbido por el suelo es función no solo del contenido de óxidos de Fe sino también del contenido de MO (Karimian & Cox, 1978). En este caso, la adsorción se atribuye principalmente al contenido de óxidos de Fe presentes en la MO.

Experimentos de laboratorio indican que aplicaciones de materiales orgánicos como compost, estiércol de corral, y turba al suelo incrementó la extracción de Mo después de 4 a 12 semanas de incubación (Gupta & Lipset, 1981). Sin embargo, en presencia de aplicaciones de Mo, las cantidades extractadas de Mo son considerablemente bajas cuando se aplicaron, a su vez, materiales orgánicos. Bloomfield & Kelso (1973) indican que las formas aniónicas de Mo permanecen en la solución de l suelo después de 3 semanas de incubación con descomposición anaeróbica del material vegetal.

1.7.8 Interacciones de molibdeno con otros nutrientes

De los nutrientes que comúnmente se usan en la agricultura, P y S pueden ejercer mayor influencia sobre la biodisponibilidad de Mo para las plantas. Las interacciones entre nutrientes pueden traducirse en deficiencias inducidas o incrementos en la adsorción de éstos en el suelo; debido a efectos antagónicos o sinérgicos. El primer efecto se atribuye a reacciones de competencia por sitios activos, que generan deficiencias nutritivas; mientras que en segundo efecto se adsorbe un nutriente ante la presencia de otro nutriente. Este efecto sinérgico, se

traduce en incremento de adsorción de Mo con aplicaciones de P, que se han obtenido en condiciones variables, tanto de suelos (Barrow, 1970) como en cultivos hidropónicos de *Trifolium repens* L. (Bailey & Laidlaw, 1999).

Estudios realizados por Roy *et al*. (1986 a y b) indican que la adsorción de arsenato y molibdato en los suelos decrece significativamente debido a la presencia de fosfato, efecto atribuído a interacciones competitivas. Altas concentraciones de P, también, han incrementado la deserción de Mo (Xie & MacKenzie, 1991; Wu *et al*., 2002).

La estimulación de P en la absorción de Mo fue sugerido por la formación del anión fosfomolibdato que es absorbido por las plantas (Mandal & Mandal, 1998). Por otro lado, en plantas de tomate, se encontró que deficiencias de P incrementan la absorción de Mo (Heuwinkel *et al*., 1992) concluyendo que la absorción de Mo se debe a su enlace con P y posterior transporte a las membranas de las células radicales.

En experimentos de campo con *Arachis hypogaea* L. en Africa occidental, sobre suelos ácidos fertilizados con superfosfato (SSP) decrecieron las concentraciones de Mo, particularmente en los nódulos (Rebafka *et al*., 1993). Sin embargo, indican que aplicaciones al suelo de superfosfato triple (TSP) incrementan la absorción de Mo. En relación a los efectos negativos del sulfato sobre Mo, aplicaciones TSP son claramente superiores al uso de SSP en suelos deficientes en Mo. Con el tiempo, sin embargo, TSP no es una solución real para leguminosas cultivadas en suelos ácidos o arenosos que presentan bajos contenidos de S. Las aplicaciones de ambos fertilizantes, S y SSP, como fuente de P deben ser acompañadas por la fertilización de Mo en suelos con déficit de Mo si la fijación de N_2 en las leguminosas puede ser eficiente.

La absorción de Mo se refuerza por la proporción de P como ácido ortofosfórico, que es la fuente de P que carece de S. Los efectos benéficos de P en la absorción de Mo han sido resumidos por Gupta (1997). Bingham & Garber (1960), en estudios realizados en suelos ácidos, concluyeron que esta relación depende del pH del suelo; del efecto sinérgico de la fertilización fosfatada en la absorción de Mo, mientras que en suelos alcalinos el exceso de P redujo la disponibilidad de Mo.

Mientras la aplicación de P presenta un efecto sinérgico en la absorción de Mo, la aplicación de S decrece la absorción de Mo por las plantas. Los efectos inhibitorios del sulfato sobre la absorción de Mo se deben principalmente durante el proceso de absorción, con algún mecanismo antagónico involucrado durante la traslocación desde el sistema radical al follaje. Como molibdato y sulfato son aniones negativamente cargados y de estructura tetraédrica, ambos pueden competir por los sitios de adsorción decreciendo la adsorción de Mo por el suelo y, a nivel de sistemas biológicos son absorbidos, transportados y excretados por las mismas rutas (Smith *et al*., 1997). Similares efectos competitivos han sido observados entre arsenato y molibdato, en suelos bajo pH 6,0 (Manning & Goldberg, 1996).

Se ha sugerido que la acidificación de los suelos atribuida a fertilizaciones nitrogenadas y la remoción de las cosechas son la causa del decrecimiento de las concentraciones de Mo en el forraje en California (Phillips & Meyer, 1993). La aplicación combinada de Mo y N incrementa la concentración de Mo en los granos de trigo (Butorina *et al*., 1991). A su vez, grandes aplicaciones de N en suelos de Rumania han sido asociadas a deficiencias de Mo en cultivos de maíz y maravilla (Shorrocks, 1987). De igual forma, se han informado que incrementos de N decrecen los contenidos de calabaza (Berard *et al*., 1990) y en forraje cortado (Reith *et al*., 1984). Similarmente, aplicaciones crecientes de nitrato de amonio a suelos arenosos acidificados y suelos limo arenosos decrecen el contenido de Mo en *Dactylus glomerata* L. (Gembarzewski & Sienkiewicz, 1989).

1.7.9 Factores de la planta

Diferentes especies de plantas son conocidas por acumular diferentes cantidades de Mo desde el suelo. Las leguminosas presentan mayores contenidos de Mo que las gramíneas desarrolladas en los mismos suelos, y este comportamiento ha sido usado para definir áreas con toxicidad potencial de Mo para el ganado. Las hojas de las leguminosas y cultivos vegetales presentan las mayores concentraciones (Gupta, 1997). El Mo como anión, es móvil en las hojas de poroto y se transporta hacia tallos y raíces (Kannan & Ramani, 1978). Este movimiento descendente del Mo, en éstas plantas, puede explicar las altas concentraciones de Mo en la parte media de la planta.

Los cultivos pueden variar en su absorción potencial de Mo como ha sido demostrado en alfalfa, coliflor, maíz y sorgo (Gupta, 1997). Aunque las plantas tienden a disminuir el contenido de microelementos con la madurez, el Mo tiende a incrementar con la edad de diferentes leguminosas y no leguminosas, especialmente durante períodos de lento desarrollo. Las asperciones con Mo, en suelos ácidos, incrementan las concentraciones de Mo en leguminosas forrajeras en cortes tempranos pero no muestra efectos en suelos calcáreos (Elseewi & Page, 1984).

Se ha reportado que las diferentes cultivares de las plantas presentan pequeñas diferencias en las concentraciones de Mo en sus tejidos foliares. Kubota & Allaway (1972) indican que diferentes leguminosas forrajeras, desarrolladas en los mismos suelos, presentan las mismas concentraciones de Mo. Ellos indican, además, que los diferentes estados fenológicos de las gramíneas presentan menores concentraciones de Mo que las leguminosas. Estudios realizados por Brogan *et al*. (1973) indican que las concentraciones de Mo incrementaron en suelos con altos contenidos de Mo. Sin embargo, Gupta (1997) indica que en los suelos de la zona oriental de Canadá no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de Mo en cultivos de trébol rosado y alfalfa comparados con cultivos de pasto miel.

Una vez absorbido por las raíces, Mo es traslocado a diferentes partes de la planta. La concentración de Mo tiende incrementar en el siguiente orden decreciente: hojas> tallos> raíces Yu *et al*. (2002). Más específicamente, se incrementa el contenido de Mo en las áreas intervenales de las hojas (Adriano, 2001).

1.8 Respuesta fisiológica de las plantas en respuesta al déficit de molibdeno

El rol del Mo en los procesos biológicos fue establecido por en la década del 30 por Bortels, quien mostró que es requerido por *Azotobacter* para la fijación atmosférica de N. El molibdeno (Mo) es un microelemento esencial para plantas y animales. Sin embargo, a nivel vegetal sólo se han encontrado cuatro molibdoenzimas involucradas en las rutas metabólicas de la asimilación de N y C, y en la utilización de carbohidratos (Mendel & Hänsch, 2002). Estas molibdoenzimas contienen el cofactor de molibdeno (Mo-co) involucrado en la

del centro catalizador, en la organización estructural de la enzima (Rajagopalan, 1989; Mendel & Schwarz, 1999). Su función en leguminosas es a nivel de sistemas enzimáticos; donde transfiere electrones como resultado de cambios en sus estados de valencia.

La más importante función de Mo en plantas está asociada con el metabolismo del N. Su rol involucra primeramente la activación de las enzimas, principalmente de las enzimas nitrogenasa y nitrato reductasa. El proceso supone la transferencia de seis electrones para reducir N_2 hasta $2NH_3$ y no se ha aislado ningún intermediario de la reacción. El donador fisiológico de electrones es la ferredoxina y se requieren 4-5 moléculas de ATP por cada dos electrones transferidos. El proceso está catalizado por un complejo enzimático denominado nitrogenasa, que consta de dos componentes: el componente I, o dinitrogenasa, que es un tetrámero que contiene Fe y Mo en un cofactor de gran importancia para la reacción de reducción,y el componente II, o dinitrogenasa reductasa que contiene grupos sulfoférricos. El componente II pasa los electrones de la ferredoxina al componente I, con consumo de ATP; el componente I cede posteriormente los electrones al sustrato (Nichols & Ma, 2002; Taiz & Zeiger 2002).

La reducción asimilatoria del nitrato es un proceso biológico fundamental en el que una forma oxidada de nitrógeno se reduce a amonio, el nitrato se transporta primero a través de la membrana plasmática mediante sistemas altamente específicos. Después, es reducido en el citosol a nitrito en un proceso catalizado por la nitrato reductasa, en una reacción que supone la transferencia de dos electrones, y este nitrito es reducido a amonio en el cloroplasto por acción de la nitrito reductasa, con transferencia de seis electrones, el cual se incorpora a esqueletos carbonados para dar lugar a los diferentes compuestos biológicos nitrogenados, siendo incorporado por medio de glutamina sintetasa/glutamato sintasa o de glutamato deshidrogenasa, en forma de L-glutamato por la ruta de la GS/GOGAT (Toukdarian *et al.*, 1990; Crawford & Glass, 1998; Harris, 2001), Figura 4. Por esta razón, leguminosas con deficiencias de Mo exhiben síntomas de deficiencia de nitrógeno.

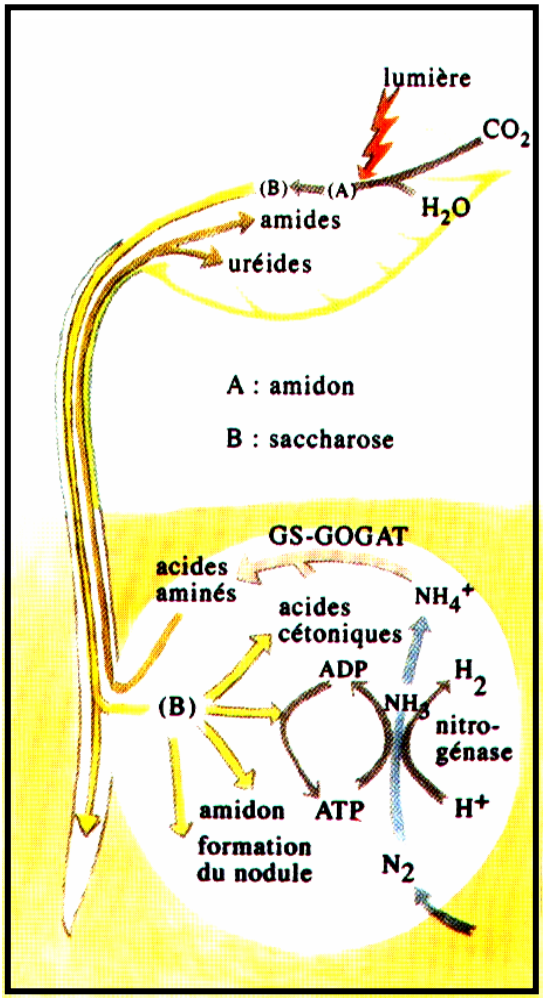


Figura 4 Relación entre la fotosíntesis y la fijación biológica de nitrógeno. Fuente: Jean-Jacques Drevon & Jean-Pierre Teyteau.

En relación, a que el Mo promueve la utilización del N absorbido por la planta y la fijación de N en leguminosas es probable que influenciando el contenido de proteína en la planta, Agarwala *et al*. (1978) reportan significativos incrementos en la actividad específica de la alanita aminotransferasa, sugiriendo cierto rol del Mo en la síntesis de proteína en maíz. Además, Agarwala & Hewit (1954) relacionaron a déficit de Mo la disminución de carbohidratos debido a deficiencias en la fotosíntesis y a la no utilización de carbohidratos para el crecimiento y desarrollo vegetal. En la actualidad, Li *et al*. (2005) indican que Mo

incrementa la tolerancia al frío, actividad de la nitrato reductasa, el contenido de carbohidratos solubles en trigo, además, estudios realizados por Liu *et al*. (2005) indican que Mo incrementa la tolerancia al frío, el sistema radical, la producción y la tasa fotosintética en tres variedades de sorgo.

A su vez, en presencia de déficit de Mo se generan limitaciones en la organización de los cloroplastos con reducción de las granas y desordenes en el espacio intratilacoidal. Este daño en los cloroplastos es atribuído a incrementos en la actividad de superoxido dismutasa y catalasa en condiciones de déficit de Mo (Gupta, 1997; Li *et al*., 2005).

1.8.1 Fluorescencia de la clorofila *a* como indicador del estado fisiológico del aparato fotosintético

Las diferentes interacciones entre los componentes bióticos del ecosistema pastoril con los componentes abiótico del ambiente (variables del suelo y el clima) afectando tanto el crecimiento como la composición de las praderas.

La eficiencia del sistema pastoril dicen relación con la eficiencia de utilización de la energía, eficiencia de recuperación de fertilizantes, eficiencia del pastoreo y/o cosecha, eficiencia del consumo. Al igual que en todos los ecosistemas, en las praderas se producen cambios graduales en la condición de la pradera; debidos a causas naturales o bien producto del manejo al cual está sometida la pradera. Normalmente cuando la pradera es bien manejada, se logra un equilibrio dinámico, pero bajo diferentes condiciones de estrés (como por ejemplo, déficit nutricional) se puede afectar el proceso fotosintético vegetal, y según sea su condición, mostrará diferente capacidad para reponerse a este estrés, provocado por causas naturales o impuestas por el mal manejo.

El estudio de la fluorescencia de la clorofila (Chl) *a* aporta información valiosa sobre el efecto del estrés en la fotosíntesis en las plantas. En los últimos años las técnicas de fluorescencia han sido aplicadas a estudios sobre la eficiencia fotoquímica o rendimiento cuántico máximo del FS II (Krause, 1988; Horton *et al*., 1994; Strasser *et al*., 1995; Demmig-Adams *et al*., 1996).

Estas técnicas se basan en inducir la emisión de fluorescencia de la Chl *a* en plantas adaptadas a la oscuridad e iluminadas. Esta fluorescencia depende del estado de reducción de los aceptores primarios de electrones del FS II. La emisión de fluorescencia presenta una curva característica, cuyos parámetros son utilizados en la interpretación del rendimiento cuántico del PSII (Krause & Weis, 1984; 1988; Strasser *et al*., 1995).

La fotoinhibición está relacionada con una disminución del rendimiento de la fluorescencia variable (*Fv*) de la Chl *a* del FS II, lo que finalmente se manifiesta en una disminución del coeficiente de fluorescencia variable a máxima, *Fv/Fm* (Krause & weis, 1991; Verhoeven *et al*., 1996). En condiciones normales, las plantas superiores poseen un *Fv/Fm* cercano a 0,83 (Krause & Weis, 1984; 1988; 1991; Björkman, O. & Demming-Adams, B. 1995). Un decrecimiento del *Fv/Fm* ha sido relacionado con una caída en el rendimiento fotónico óptimo de la fotosíntesis, mientras que la recuperación de este estado se asocia con un reestablecimiento del *Fv/Fm* (Adams *et al*., 1990).

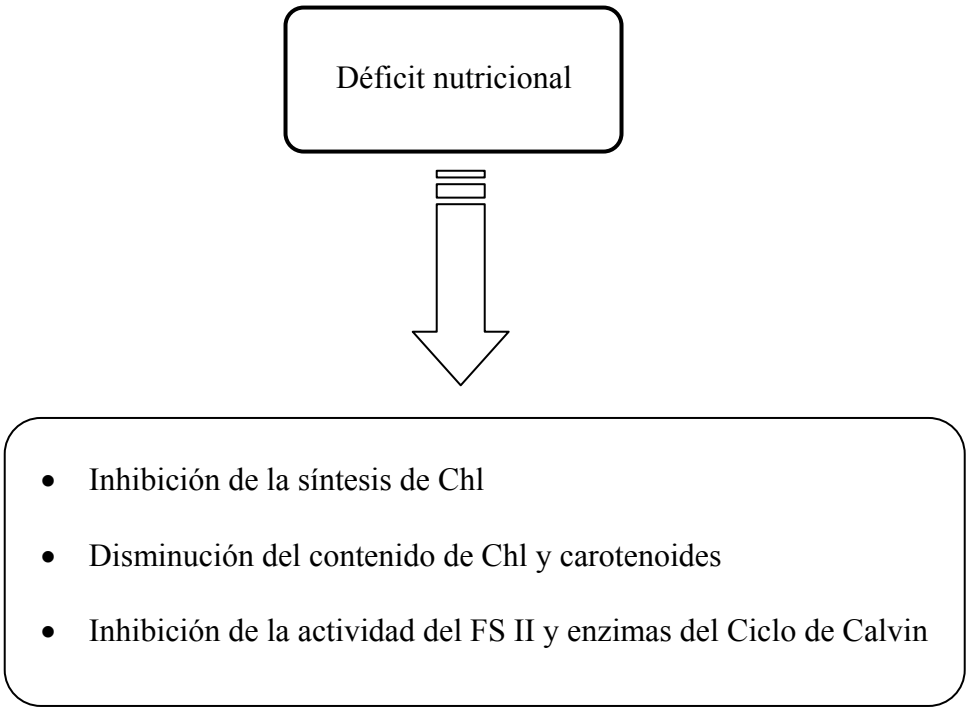


Figura 5 Efecto del estrés nutricional sobre los procesos fotosintéticos.

En plantas de cereales sometidas a estrés nutricional (deficiencia de Mo), la fotoinhibición decrece *Fv/Fm* en un 10% (Xie & Xiong, 1991) ó 26% De Jesús (2004), en diferentes especies de leguminosas incidiendo directamente en la inhibición tanto de la síntesis Chl y carotenoides como en la inhibición de la actividad fotosintética del FS II y enzimas involucradas en el Ciclo de Calvin (Figura 5).

La disminución fotoinhibitoria en *Fv/Fm* se caracteriza por un incremento en la fluorescencia inicial (*Fo*) y disminución de *Fv* (Somersalo & Krause, 1989). En plantas fotoinhibidas de *Vicia faba*, este proceso puede ser rápidamente revertido y disminuído al cambiar las plantas a condiciones óptimas de nutrientes, lo que se expresa en un ascenso en *Fv/Fm*.

La fotoinhibición puede ser el resultado de dos procesos simples o combinados: i) un decrecimiento constante de la tasa fotoquímica del PSII, causado por el daño del centro de reacción y, ii) un incremento constante en la tasa de disipación no-radiativa de la energía de excitación (Demmiget *et al*., 1987). El primer proceso se expresa como un incremento en *Fo* y el segundo, como un decrecimiento en *Fo* y *Fm* (Demmiget *et al*., 1996). Cabe señalar que ambos procesos son observados como un decrecimiento en Fv/Fm, aún cuando las características en la intensidad de la fluorescencia en los centros de reacción abiertos y cerrados puedan ser diferentes (Long *et al*., 1994; Ouzounidou *et al*., 2003; Liu *et al*., 2005).

La mayoría de los estudios en relación al efecto de estrés nutricional sobre el parámetro de la fotosíntesis se refieren a plantas cerealeras. Pocos estudios referentes a este tema se han realizado en plantas leguminosas pratenses.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 Materiales

Para los estudios de adsorción se colectaron muestras de suelos derivados de cenizas volcánicas (0-20cm) de las Series Vilcún, Pemehue, Corte Alto y Los Lagos pertenecientes a la IX y X Región, respectivamente. Las muestras se tamizaron bajo 2 mm, en su estado húmedo natural y fueron secadas al aire a 25ºC, guardándose en frascos plásticos herméticos.

Las soluciones empleadas durante esta etapa experimental fueron preparadas con reactivos químicos Merck p.a. y agua desionizada (18 Ω).

Para los estudios de invernadero realizados durante la temporada 2004/05, se colectaron muestras de suelos derivados de cenizas volcánicas (0-20cm) de las Series Pemehue y Los Lagos pertenecientes a la IX y X Región, respectivamente. Las muestras se tamizaron bajo 5 mm, en su estado húmedo natural y fueron secadas al aire a 25ºC, guardándose en bolsas plásticas herméticas.

Se utilizó *Trifolium repens* L. cv. Will, proporcionado por ANASAC. Las semillas de trébol blanco fueron inoculadas con *Rhizobium leguminosarum* biovar*trifolii*.

Este ensayo fue realizado en el invernadero del Departamento de Ciencias Químicas de la Universidad de La Frontera, Provincia de cautín, IX Región, geográficamente situado en la Latitud 38º 41’ Sur; Longitud 72º 35’ Oeste; a una altura de 100 m.s.n.m. El ensayo fue conducido bajo las siguientes condiciones: la temperatura se mantuvo entre 20-25ºC día/16ºC noche y la intensidad luminosa fluctuó entre 600-1060 *u*mol m^{-2} s^{-1} dependiendo de las condiciones climáticas.

2.2 Métodos

2.2.1 Determinación de los contenidos de molibdeno en el suelo

- Mo total: El Mo total de la muestra de suelo se extrajo con ácido nítrico y peróxido de hidrógeno, según metodología descrita por Edgell (1988) y se analizó por Espectrofotometría de Absorción Atómica con acoplamiento de Horno de Grafito (EAA-HG).

- Mo disponible: El Mo disponible de la muestra de suelo se extrajo con la mezcla de bicarbonato de amonio (1 M) y ácido dietilentriaminopentaacético (0,005 M), (AB-DTPA), ajustado a pH 7,6, de acuerdo a metodología descrita por Soltanpour (1991) y se analizó por EAA-HG.

2.2.2 Caracterización química del suelo

Las muestras de suelo secas fueron analizadas posteriormente para determinar su composición química, según metodología descrita en Sadzawka *et al*. (2004). Los parámetros evaluados fueron los siguientes:

- Materia orgánica: Se determinó por vía húmeda según procedimiento de Walkley & Black. Esto involucra una oxidación entre la materia orgánica con una mezcla de dicromato de potasio y ácido sulfúrico. Terminada la reacción espontánea se mide colorimétricamente el cromato reducido.

- pH: Se determinó potenciométricamente en suspensiones de suelo:agua, suelo:$CaCl_2$ (0,01 mol/L) y suelo:KCl (1mol/L), en una proporción suelo:solución de 1:2,5 y en el sobrenadante se determina el valor del pH-H_2O, pH-KCl o pH-$CaCl_2$ con un medidor de pH.

- P disponible: Se emplea el método Olsen; la muestra se extrae con una solución de bicarbonato de sodio 0,5 mol/L a pH 8,5 y el P en el extracto se analiza a 880 nm por colorimetría mediante el método del azul de molibdeno usando ácido ascórbico como reductor (Murphy & Riley 1962).

- S disponible: La muestra de suelo se extrae con una solución de dihidrógeno fosfato de calcio 0,01 mol/L; el sulfato extraído se mide por turbidimetría, a 440 nm, previa conversión a sulfato de bario (Tabatabai, 1982).

- Cationes intercambiables: La solución de acetato de amonio 1 mol/L a pH 7,0 extrae del suelo los cationes solubles y los intercambiables (Ca, Mg, K y Na). En el extracto se determina Ca y Mg por EAA con llama de aire-acetileno, K y Na por EEA con llama de aire-acetileno o de aire-propano.

- Al intercambiable: La muestra se extrae con una solución de cloruro de potasio 1 mol/L y, en el extracto, se mide aluminio por EAA con llama de óxido nitroso-acetileno.

- Porcentaje de saturación de aluminio: Calculado como la relación existente entre Al intercambiable y CICE (Σ cationes intercambiables + Al intercambiable).

- Al extractable: La muestra se extrae con una solución de acetato de amonio 1 mol/L a pH 4,8 y, en el extracto, se determina la concentración de aluminio por espectrofotometría de absorción atómica con llama de óxido nitroso-acetileno.

2.2.3 Caracterización mineralógica del suelo

- Extracción con ditionito-citrato-bicarbonato (Al_d, Fe_d): La muestra de suelo (5 g) se calienta con una solución complejante tamponada de citrato sodio/bicarbonato, a la cual se le ha agregado ditionito de sodio sólido como agente reductor, según la metodología descrita por Mehra & Jackson (1960). En el extracto se determina Fe, Al por EAA.

- Extracción con oxalato ácido (Al_o, Fe_o, Si_o): La muestra de suelo (1 g) se agita con una solución complejante ácida que disuelve los compuestos “activos” o pobremente cristalinos de Fe, Al y Si, los que se determinan en el extracto por EAA, de acuerdo a la metodología descrita por Blakemore *et al*. (1987).

- Extracción con pirofosfato de sodio (Al_p, Fe_p): La muestra de suelo (1 g) se agita con una solución de pirofosfato de sodio, la cual extrae selectivamente Fe y Al complejados con la materia orgánica, según metodología descrita por Blakemore *et al*. (1987). En los extractos se mide Fe y Al por EAA.

- Determinación de alofán: El contenido de alofán fue calculado multiplicando el contenido de Si extraído con oxalato ácido por un factor que depende de la relación molar Al/Si, según metodología descrita por Parfitt & Wilson (1985).

- Determinación de ferrihidrita: El contenido de ferrihidrita fue calculado multiplicando el contenido de Fe extraído con oxalato ácido por el factor 1,7; basado en metodología descrita por Parfitt & Childs (1988).

2.2.4 Determinaciones físico-químicas del suelo

- Punto de carga cero (PCC): El PCC se determinó por se titulación potenciométrica de una suspensión suelos: solución, en la que se determinó la cantidad de H^+ u OH^- necesarios para llevar el sistema a valores de pH dados y graficando posteriormente carga neta vs pH. Estas determinaciones se hicieron según la metodología descrita por Sposito & Holtzclaw (1977) que consta de vasos de teflón de 250 mL inmersos en un baño de agua termoregulado (25 ± 0,1ºC), buretas digitales para la adición de HCl y KOH, medidores de pH y dispositivo para la agitación homogénea con N_2 cuyo burbujeo permite realizar la valoración en un medio carente de CO_2. Los sistemas fueron calibrados con soluciones tampón de pH 4,0; pH 7,0 y pH 10,0. Para cada valoración se tomó un volumen de la suspensión que contenía 3 g de suelo seco que fue suspendido en un vaso de teflón con 100 mL de solución de KCl 0,20, 0,020 y 0,0020 M y se completó a un volumen de 100 mL, con agua desionizada. Estas suspenciones se mantuvieron en equilibrio por una hora antes de comenzar la titulación, para alcanzar el equilibrio térmico y un pH constante. Posteriormente, se adicionaron alícuotas de 0,20 mL de HCl o KOH, cada 20 minutos, midiendo el pH ante una nueva adición, cubriendo un rango entre pH 3,0 y pH 10,0. Paralelamente se valoró, en las mismas condiciones un blanco analítico conteniendo igual concentración de KCl, en un volúmen total de 100 mL.

- Area superficial total (SSA): El área superficial total se determinó por el método gravimétrico basado en la retención de éter monoetílico del etilen glicol (EGME) en una cámara de vacío a una presión de vapor de 0,25 mm de Hg, sobre cloruro de calcio impregnado en EGME, según método descrito por Heilman *et al*. (1965).

- Número de sitios activos (Ns): El valor de número de máximo de sitios ionizables se determinó por destilación con acetato de calcio 1 M, según metodología descrita por Holtzclaw & Sposito (1979).

2.2.5 Estudios de adsorción

Para llevar a cabo los objetivos de este trabajo de Tesis fue necesario determinar la capacidad de adsorción aniónica en condiciones de equilibrio en un rango de concentraciones, lo cual busca explicar y fundamentar el comportamiento de ambos aniones en estos cuatro Andisoles utilizados como suelos modelo. Se evaluó el efecto del tiempo y del pH sobre la adsorción de molibdato y fosfato a través de cinéticas de adsorción e isotermas de adsorción, respectivamente y, además, se evaluó el efecto de fosfato sobre la adsorción de molibdato a través de isotermas de adsorción competitiva. Estos dos últimos son los factores de mayor importancia en el control de la biodisponibilidad de molibdato para las plantas.

2.2.5.1 Cinética de adsorción de molibdato y fosfato

Se determinaron los tiempos de equilibrio del proceso de adsorción de ambos aniones en cuatro Andisoles (Figura 6). Se tomó 1 g de suelo seco y se colocó en tubos de centrífuga de polipropileno con capacidad de 50 mL, en duplicado. El pH fue ajustado a 5,0 con soluciones diluidas de HCl o KOH, a fuerza iónica 0,1 M KCl, la temperatura 25 ± 0,1ºC en baño termoregulado y volumen final de 20 mL. Se estudió la concentración de 5,0 mM de molibdato (como $Na_2MoO_4 \bullet 2H_2O$) o fosfato (como K_2HPO_4) en una relación suelo:solución de 1:20. Para eliminar el CO_2, todas las muestras experimentales se prepararon bajo atmósfera de N_2. Los tiempos de equilibrio fueron 0,5 a 72 horas. Una vez finalizados los tiempos de equilibrio, la suspensión de suelo se centrifugó 12000 rpm por 10 minutos y alícuotas del sobrenadante fueron tomadas para su posterior análisis.

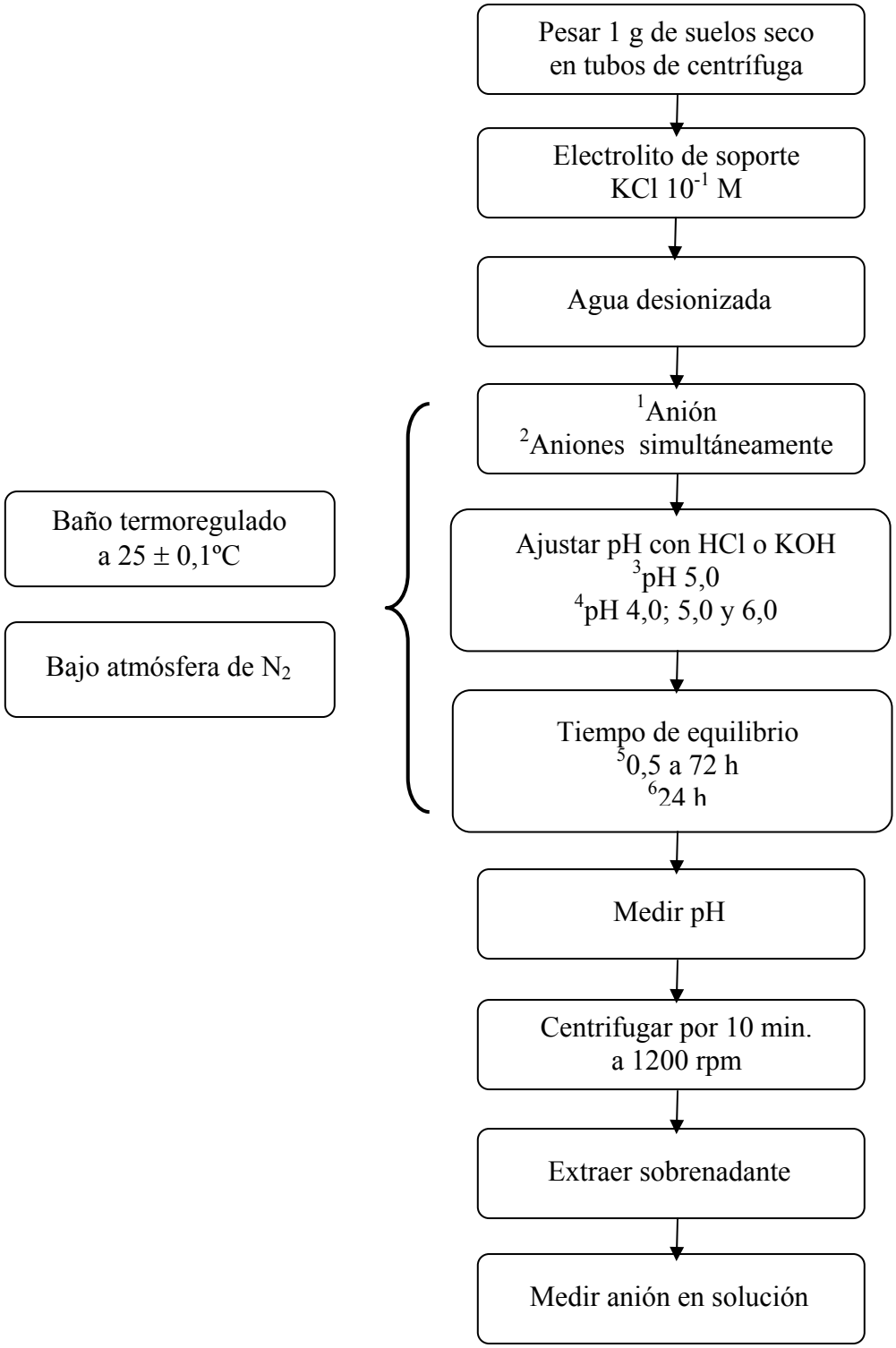


Figura 6. Diagrama de flujo de cinética de adsorción de aniones (1, 3, 5), isotermas de adsorción de aniones (1, 4, 6) e isotermas de adsorción competitiva entre aniones (2, 3, 6).

Las concentraciones de Mo y P en la solución de equilibrio fueron cuantificadas por EAA y por el método del azul de molibdeno usando ácido ascórbico como reductor (Murphy & Riley 1962), respectivamente. Por diferencia entre la concentración inicial y final, se calculó la cantidad adsorbida de Mo y P. Los datos experimentales se ajustaron a modelos cinéticos de distinto orden.

2.2.5.2 Efecto del pH en la adsorción de molibdato y fosfato

Se determinó la capacidad de adsorción de ambos aniones en función del pH en cuatro Andisoles (Figura 6). Con este propósito se tomó 1 g de suelo seco y se colocó en tubos de centrífuga de polipropileno con capacidad de 50 mL, en duplicado. Se estudiaron las concentraciones de molibdato (como $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) o fosfato (como K_2HPO_4) en el rango 0; 0,25; 0,50; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 y 5,0 mM en función de diferentes pH (4,0 5,0 y 6,0) ajustados con soluciones diluidas de HCl o KOH. El estudio se realizó a fuerza iónica 0,1 M KCl, en baño termoregulado a 25 ± 0,1ºC; bajo ambiente de N_2 y volumen final de 20 mL. Se estudió a un tiempo de equilibrio de 24 horas ya que según los resultados obtenidos del estudio anterior (punto 2.2.5.1), esta cantidad de tiempo es suficiente como para observar el proceso de equilibrio de adsorción de ambos aniones en estos Andisoles. Después del tiempo de equilibrio, la suspensión de suelo se centrifugó a 12000 rpm por 10 minutos y alícuotas del sobrenadante fueron tomadas para cuantificar la concentración de ambos aniones. Mo y P se determinaron a través de los métodos EAA y azul de molibdeno usando ácido ascórbico como reductor (Murphy & Riley 1962), respectivamente. La cantidad adsorbida de Mo y P se calculó por diferencia entre concentración inicial y final. Los datos experimentales se ajustaron a la ecuación de Freundlich.

2.2.5.3 Efecto del fosfato en la adsorción de molibdato

Se determinó la capacidad de adsorción competitiva entre molibdato y fosfato en cuatro Andisoles (Figura 6). Se tomó 1 g de suelo seco y se colocó en tubos de centrífuga de polipropileno con capacidad de 50 mL, en duplicado. Se estudiaron concentraciones constantes de fosfato en el rango de 0,5; 1,0 y 2,0 mM (como K_2HPO_4) que se adicionaron simultáneamente a concentraciones variables de molibdato en el rango de 0; 0,25; 0,50; 0,75;

1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 y 5,0 mM (como $Na_2MoO_4 \bullet 2H_2O$) a pH 5,0 ajustado con soluciones diluidas de HCl o KOH. La fuerza iónica fue de 0,1 M KCl, la temperatura de 25 ± 0,1ºC (baño termoregulado), bajo ambiente de N_2 y volumen final de 20 mL. El tiempo de equilibrio fue de 24 h. Posteriormente, la suspensión de suelo se centrifugó a 12000 rpm por 10 minutos y alícuotas del sobrenadante fueron tomadas para analizar las concentraciones Mo y P por EAA y por el método del azul de molibdeno usando ácido ascórbico como reductor (Murphy & Riley 1962), respectivamente. La cantidad adsorbida de Mo y P se calculó por diferencia entre concentración inicial y final. Los datos experimentales se ajustaron a la ecuación de Multicomponentes de Freundlich.

2.2.6 Especies químicas de molibdato

El programa computacional Molly.bas (Barrow, 1987) fue usado para calcular las especies de molibdato presentes a diferentes concentraciones iniciales y niveles de pH de los datos obtenidos experimentalmente en la adsorción de molibdato, según metodología propuesta en el punto 2.2.4.2.

2.2.7 Modelos matemáticos

Los datos experimentales de las isotermas de adsorción en el equilibrio en función del tiempo y modeladas a través de ecuaciones cinéticas han sido ampliamente usados para estudiar los parámetros termodinámicos de adsorción iónica en la superficie coloidal (Sparks, 1999). Los modelos cinéticos empleados, en estos Andisoles, para evaluar la adsorción de molibdato y fosfato fueron ajustados a las siguientes ecuaciones (Ec. 2 a 5):

ii) Orden Cero: $$q = q_o + K_o t \quad (2)$$

iii) Primer Orden: $$\ln q = \ln q_o + K_1 t \quad (3)$$

iv) Segundo Orden: $$1/q = 1/q_o - K_2 t \quad (4)$$

v) Difusión Parabólica: $$q = \alpha + K_d^{1/2} \quad (5)$$

La ecuación de Elovich, desarrollada primero para describir la cinética de quimisorción de gases sobre superficies sólidas (Low, 1960), fue modificada por Chien & Clayton (1980), y aplicada exitosamente a datos de adsorción de P en suelos (Ec. 6):

vi) Elovich: $$q = (1/\beta)\ ln\ (\alpha\beta) + (1/\beta)\ ln\ t \qquad (6)$$

donde: q está la cantidad de anión adsorbido (mmol kg^{-1}) en tiempo t (h), α es la constante asociada a la velocidad inicial de adsorción (mmol kg^{-1} h^{-1}), β es la constante asociada a la tasa de deserción (mmol kg^{-1} h^{-1}), además, se debe cumplir que $\alpha\beta t >> 1$. Chien & Clayton (1980) determinaron que α y β pueden usarse para comparar la velocidad de la reacción de adsorción de fosfatos en distintos tipos de suelos. Todos los demás son parámetros experimentales. Para determinar la ecuación que mejor describe la adsorción de molibdato y fosfato en estos Andisoles, se calcularon los valores del error estandar (SE) y del coeficiente de determinación (R^2) del análisis de regresión para cada ecuación en particular (Chien & Clayton, 1980; McGechan & Lewis, 2002; Li *et al*., 2005).

El modelo matemático empleado, en estos Andisoles, para evaluar la adsorción de molibdato y fosfato en función del pH fue ajustado a través de la ecuación de Freundlich (Ec. 7):

vii) $$S = a\ C^{\ b} \qquad (7)$$

donde: S, cantidad de anion adsorbido (mmol kg^{-1}); C, concentración del anión en equilibrio (mmol L^{-1}); a y b son constantes asociadas a la capacidad e intensidad de adsorción, respectivamente.

Sheindorf *et al*. (1981; 1982) desarrollaron la ecuación de Multicomponent Freundlich para describir la adsorción en sistemas binarios que contienen arseniato y fosfato o arseniato y molibdato. La derivación de la ecuación de Sheindorf-Rebhun-Sheintuch (SRS) asume una distribución exponencial de las energías de adsorción para los solutos. La ecuación SRS para la adsorción del soluto *i* en sistemas binarios corresponde a la ecuación (Ec. 8):

viii) $$(X/m)_i^j = K_i\, C_i\, (C_i + a_{ij}\, C_j)^{(1/ni)-1} \qquad (8)$$

y, para la adsorción del soluto *j* en sistemas binarios corresponde a la ecuación (Ec. 9):

ix) $$(X/m)_j^i = K_j\, C_j\, (C_j + a_{ji}\, C_j)^{(1/nj)-1} \qquad (9)$$

donde, $(X/m)_j^i$ es la cantidad del soluto *i* adsorbida por unidad de masa del adsorbente en la presencia del soluto competitivo *j*, K_i y K_j son las constantes de Freundlich para solutos simples *i* y *j*, C_i y C_j son las concentraciones de equilibrio o actividades de los solutos, n_i y n_j son los exponentes de Freundlich de los solutos simples, y a_{ij} y a_{ji} son los coeficientes de competencia.

Estos autores concluyeron que la fiabilidad del modelo puede depender de los rangos de concentración de los iones en competencia. El modelo SRS exige la colección de datos competitivos para derivar un coeficiente competitivo. La habilidad de la expresión de describir los datos se limitó a situaciones dónde los rangos de las concentraciones de equilibrio en solución de arseniato:fosfato y arseniato:molibdato son >20:1. Esta limitación se atribuye en parte a la regresión usada para calcular los coeficientes de competencia (Roy *et al*., 1986a y b) y a la imposibilidad de comprobar la simetría en dichos coeficientes. El Modelo de SRS fue modificado por Dr. N.J. Barrow, quién a través de un programa computacional desarrolló tres modelos para describir en sistemas binarios de adsorción de aniones indepediente del rango de concentraciones.

De acuerdo, a la simetría de los coeficientes de competencia el modelo matemático para evaluar la adsorción competitiva de molibdato en función del fosfato, en estos Andisoles, fue seleccionada la ecuación de Multicomponentes de Freundlich Modelo 2 (Ec. 10 y 11):

x) $$S_{Mo} = a_{Mo}\ C_{Mo} /(C_{Mo} + K_{Mo,P}\ C_P)^{1-\,bMo} \qquad (10)$$

xi) $$S_P = a_P\, C_P /(C_P + K_{P,Mo}\ C_{Mo})^{1-\,bP} \qquad (11)$$

donde: S_{Mo} cantidad de Mo adsorbida por unidad de masa del adsorbente en presencia del anión competitivo (P), S_P cantidad de P adsorbida por unidad de masa del adsorbente en presencia del anion competitivo (Mo), a_{Mo} y a_P constantes de capacidad de adsorción de Mo y P según la ecuación de Freundlich, C_{Mo} y C_P concentración en equilibrio de Mo y P, $K_{Mo,P}$ coeficiente de competitividad de P sobre Mo y $K_{P,Mo}$ coeficiente de competitividad de Mo sobre P.

Según Barrow *et al*. (2005), la competencia entre molibdato y fosfato no es simétrica. La competición no sólo involucra a los sitios de adsorción sino que también incluye los efectos en el potencial eléctrico que siguen a la penetración en la superficie.

La adsorción es calculada a partir del cambio observado en la concentración de la solución. Por lo tanto, la adsorción y concentración no son por consiguiente variables independientes. Este modelo considera en forma simultánea los cálculos de las ecuaciones de adsorción previas y las ecuaciones de adsorción según el cambio observado en la concentración.

Los parámetros resultantes son la solución simultánea de innumerables iteraciones dentro del programa computacional que resuelve las ecuaciones de adsorción, y relaciona la adsorción a estimaciones de concentración. Esto considera, la última concentración en cada concentración inicial. A su vez, una simple rutina evalúa los parámetros con un mínimo en la suma residual de los cuadrados por la diferencia observada y una pequeña variación en los grados de libertad, para predecir finalmente las concentraciones.

2.2.8 Estudio bajo condiciones de invernadero

La siembra de trébol blanco se realizó el 21 y 22 de noviembre de 2004, en macetas conteniendo 1,2 kg de suelo seco. La siembra se realizó en forma manual distribuyendo las 50 semillas en toda la superficie de la maceta. Posteriormente, cuando las semillas germinaron y las plantas adquirieron buena formación y desarrollo, se efectuó el raleo, de tal forma de obtener 20 plantas por maceta que, dada la superficie de éste, se considera un buen stand. Durante el desarrollo del ensayo, los suelos fueron mantenidos a capacidad de campo con agua destilada.

La fertilización consideró la aplicación de 0, 100 y 200 ppm de P (como K_2HPO_4); 0, 2, 4, 6 ppm de Mo (como $Na_2MoO_4 \bullet 2H_2O$); 0, 3 ton ha^{-1} (como $CaCO_3$). La Cal fue adicionada 30 días previo a la siembra, P al momento de la siembra y Mo después del raleo. El P y Mo se adicionaron como solución debido a las pequeñísimas cantidades utilizadas, con lo cual se previno una fuente de error. La distribución se hizo a través de toda la superficie del macetero. Después de la emergencia, se aplicaron los equivalentes a 30 kg ha^{-1} de N (como urea), 90 kg ha^{-1} de K (como cloruro y sulfato de potasio), 50 kg ha^{-1} de S (como sulpomag) y 2 kg ha^{-1} de B (como Bórax) y para prevenir la deficiencia de los restantes microelementos se aplicó la solución nutritiva de MacKnight (Robin *et al*., 1987) con reactivos químicos de calidad analítica.

A través de toda la duración del ensayo se eliminaron permanentemente las malezas en forma manual. Además, se realizaron dos aplicaciones de insecticida y fungicida para controlar *Erisiphe trifolii* Grev., a través del desarrollo del cultivo.

2.2.8.1 Diseño experimental

El diseño experimental usado en esta investigación fue factorial de un cultivo, tres dosis de P (0, 100 y 200 mg kg^{-1} P), cuatro dosis de Mo (0, 2, 4 y 6 mg kg^{-1} Mo), dos dosis de Cal (0 y 3 ton ha^{-1} $CaCO_3$), dos suelos (Pemehue y Piedras Negras) y tres repeticiones, que involucraron un total de 144 macetas.

2.2.8.2 Análisis estadístico

Los contenidos foliares de Mo fueron sometidos a un Análisis de Varianza, ANDEVA, y la comparación de medias se realizó con la Prueba de Comparación Múltiple de Promedios de Tukey. Por otro lado, la evaluación de las diferentes interacciones Cal/P y Mo, en relación, a los resultados obtenidos de productividad, contenidos minerales, calidad nutritiva y eficiencia fotosintética fueron sometidos a un ANDEVA y las diferencias significativas se compararon a través de las medias utilizando la Prueba de Comparación Múltiple de Promedios de Contrastes Ortogonales.

Ambos análisis fueron realizados con software estadístico JMP versión 5.0.1.2 (SAS Institute Inc, 1999) considerándose significativos valores de $p < 0,05$. A su vez, los contenidos minerales y la calidad nutritiva fueron analizados descriptivamente o por comparación con estándares establecidos.

2.2.8.3 Evaluaciones

Cuando las plantas alcanzaron aproximadamente 20 cm de altura fueron cortadas, dejando un residuo de 5 cm, para posteriormente realizar los siguientes análisis:

- Producción de materia seca: Para la determinación del rendimiento en materia seca, producto de cada macetero, se realizaron cortes se realizaron con tijera, el primero se efectuó el 15 de marzo de 2005 y el segundo en 17 de octubre de 2005. Las muestras se secaron en horno con ventilación forzada a 70ºC hasta peso constante (48 h). Inmediatamente de secadas las muestras se pesaron en la balanza de precisión, previo al enfriamiento, para determinar su contenido de materia seca.

- Calidad mineral: Las muestras de tejidos secas fueron molidas para analizar posteriormente su composición mineral, según metodología propuesta por Sadzawka *et al*. (2004). Los parámetros evaluados fueron los contenidos foliares:

a) **Molibdeno:** La muestra de tejido es calcinada a 500ºC por 8 h. Las cenizas se disuelven en ácido clorhídrico diluído. En el filtrado proveniente de la calcinación se determina Mo por EAAHG.

b) **Nitrógeno total:** La muestra de tejido se oxida con ácido sulfúrico concentrado; de este modo, el nitrógeno contenido en los compuestos orgánicos se convierten en sulfato amónico durante la oxidación. La reacción se cataliza añadiendo una mezcla de sulfato de cobre y sulfato de potasio. Luego se destila para separar sistemas homogéneos líquidos en equipo Vapodest 33, titulando el destilado con ácido clorhídrico (0,02N), según el método de Kjeldahl.

c) **Fósforo, Calcio, Magnesio, Cobre y Hierro:** La muestra de tejido es calcinada a 500ºC por 8 h. Las cenizas se disuelven en ácido clorhídrico diluído. En el filtrado proveniente de la calcinación se determinan: P por colorimetría del complejo fosfo-vanadomolibdato; Ca y Mg por EAA con llama de aire-acetileno y agregando La (10 g L^{-1}) para minimizar las interferencias; Cu y Fe por EAA con llama aire-acetileno.

Al conocer las producciones de materia seca de cada tratamiento, los resultados fueron expresados en contenidos del parámetro evaluado por maceta.

- Calidad nutritiva: En las muestras de tejido secas y molidas se evaluaron los siguientes contenidos:

a) **Proteína bruta:** A partir del contenido de nitrógeno total (obtenido por el método de Kjeldahl) y en base al factor de conversión (6,25) se obtuvo el porcentaje de proteína bruta de cada muestra.

b) **Carbohidratos solubles (monosacáridos, oligosacáridos y fructosanas):** La muestra de tejido se extrae con agua destilada por el método Thomas-Deriaz según metodología propuesta por Goering & van Soest (1972). La concentración de CHOS se expresa como glucosa y se termina por espectrofotometría (620 nm) como complejo azul-verde formado al ser calentado en presencia de la mezcla antrona-ácido sulfúrico. Esta determinación colorimétrica fue realizada en Laboratorio de Bromatología, CRI-Osorno, INIA, donde la ayuda de Sr. Rodolfo Saldaña P., Bioquímico, fue primordial para implementar esta metodología.

En cada maceta se evaluaron, *In Situ* e *In Vivo*, los siguientes parámetros:

c) **Lecturas SPAD:** Cada unidad SPAD se registró como un promedio de 15 mediciones (lecturas SPAD con clorofilómetro MINOLTA, modelo SPAD 502) en cada una de las macetas del ensayo (Figura 7) para medir en forma no destructiva, *In Situ* e *In Vivo* el

contenido relativo de clorofila foliar. A su vez, el resultado final de los valores SPAD de cada tratamiento está constituido por el promedio obtenido de sus tres repeticiones experimentales.

Figura 7. Clorofilómetro MINOLTA, modelo SPAD 502.

d) Eficiencia de la clorofila *a*: Cada lectura de la eficiencia fotoquímica del PSII (*Fv/Fm*), según la Ec. 12 (Butler,1978) y metodología propuesta por (Schereiber *et al*., 1986 y Strasser *et al*., 2000), se obtuvo por medio de la medición de la fluorescencia de la Chl *a* registrándose un promedio de 2 mediciones en cada maceta y en sus tres repeticiones experimentales para obtener un promedio de 6 mediciones por cada uno de los tratamientos evaluados.

xii) $$F_v/F_m = (F_m - F_o) / F_m \qquad (12)$$

Para ello se utilizó un Analizador Portátil de Eficiencia de Plantas (Plant Efficiency Analyser, PEA Hansatech, UK) para medir en forma no destructiva, *In Situ* e *In Vivo* el

aparato fotosintético vegetal, bajo diversos tipos de estrés que posee un dispositivo de iluminación y amplificador de la señal de fluorescencia con 6 fotodiodos cuyo máximo de emisión es cercano a 650 nm (Figura 8), facilitados gentil y oportunamente tanto por Dr. Luis J. Corcuera, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, como por Dr. Gustavo Zúñiga, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Las hojas fueron adaptadas a oscuridad por un tiempo de 15 min con una pinza plana provista de un orificio cubierto, luego se iluminó con el fotodiodo durante 30 s con una intensidad luminosa de 2250 *u*mol m^{-2} s^{-1} y se registraron los siguientes parámetros: *Fo*: Fluorescencia inicial de hojas oscurecidas y excitadas con un pulso de luz, se produce por la reducción de las Q_A, *Fm*: Fluorescencia máxima, al tiempo máximo en que se reducen las quinonas del PSII, *Fv*: Fluorescencia variable (Fm – Fo), *Fv/Fm*: Coeficiente de fluorescencia variable a máxima, eficiencia cuántica máxima o eficiencia fotoquímica del PSII, Area: Area sobre la curva de fluorescencia y $t_{Fmáx}$: tiempo máximo para alcanzar la Fm.

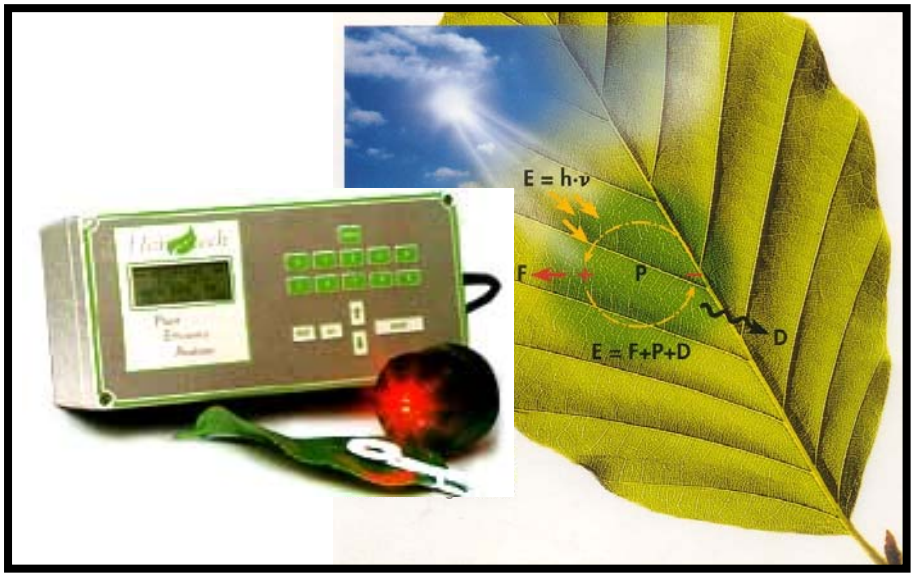


Figura 8. Analizador Portátil de Eficiencia de Plantas (PEA). Fuente: Hansatech, Instrument Ltda., Norfolk, UK.

3 RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Contenidos de molibdeno en el suelo

En estos Andisoles los contenidos de Mo total y disponible fluctuaron entre 0,22-0,76 ppm y entre 0,009-0,022 ppm (Tabla 2), respectivamente, indicando que los contenidos de Mo total son bajos en relación al rango de 0,2 a 5,0 ppm reportado por Stevenson (1986) y que los contenidos de Mo disponible estos suelos se encuentran muy deficitarios en comparación con los niveles considerados como óptimos para una adecuada nutrición vegetal (1 ppm). A su vez, los bajos contenidos de Mo en el pool no lábil (Mo total) en estos suelos sugieren un bajo flujo de Mo hacia el pool lábil (Mo disponible). Por lo tanto, la aplicación de fertilización con Mo puede compensar la deficiencia de Mo en la solución del suelo y, por ende, incrementando los contenidos foliares de Mo a niveles óptimos. Estudios relacionados con el comportamiento del Mo en Andisoles chilenos, no son abundantes, sin embargo, Schenkel *et al*. (1970, 1973a y b) González *et al*. (1974), y Rodríguez (1993) reportan rangos deficientes de Mo disponible (0,11-0,20 ppm); debido a la alta respuesta a la fertilización con Mo que incidió directamente sobre la producción y, por ende, sobre la nodulación y calidad proteica de las praderas fertilizadas con esta fuente.

Tabla 2. Contenidos de molibdeno total y disponible en los suelos estudiados

Suelo	Vilcún	Pemehue	Osorno	P. Negras
Mo total (mg kg^{-1}) [1]	0,22 d	0,48 c	0,56 b	0,76 a
Mo extractable (µg kg^{-1}) [2]	9 c	10 c	16 b	22 b

Cifras con letras diferentes indican diferencias significativas según Prueba de Comparación Múltiple de Promedios de Tukey ($p < 0,05$).

[1] Extractado con HNO_3 y H_2O_2 (Edgell, 1988).

[2] Extractado con AB-DTPA (Soltanpour, 1991).

De acuerdo, a prospecciones aleatorias realizadas en predios ganaderos de la IX y X Región por el Proyecto FONDECYT 102093410, se logró determinar que la concentración promedio de Mo disponible en suelos de la IX Región corresponde a 0,029 ppm y 0,054 ppm en suelos de la X Región (Tabla 3). Estos antecedentes, sugieren que aproximadamente una superficie de 600 km^2 (Tablas 1 y 2) presentaría deficiencias de Mo para una óptima nutrición vegetal considerando que la superficie total destinada a praderas alcanza a 2.400 km^2, de las cuales 550 km^2 son utilizadas en la producción de leche (78% leche recepcionada en planta a nivel nacional). A su vez, el 79% y 50% en la IX y X Región, respectivamente, corresponde a praderas naturales con una producción promedio de 4 ton ms ha^{-1}, lo cual limita fuertemente la producción de leche a 2000 L ha^{-1}.

Tabla 3. Contenidos de molibdeno disponible en algunos suelos pertenecientes a la IX y X Región

Serie	Localidad	Región	Mo extractable ($\mu g\ kg^{-1}$) [1]
Agua Fría	Vilcún	IX	15 (0,007)
Freire	Freire		33 (0,009)
Gorbea	Gorbea		35 (0,002)
Barros Arana	Hualpín		20 (0,001)
No reconocida	Toltén		27 (0,008)
Caburga	Caburga		42 (0,007)
Promedio			**29**
Los Lagos	Futrono	X	52 (0,013)
Osorno	Osorno		53 (0,011)
Los Lagos	Río Bueno		57 (0,003)
Promedio			**54**

Cifras entre paréntesis corresponde al error estándar.

[1] Extractado con AB-DTPA (Soltanpour, 1991).

Fuente: Laboratorio de Análisis de Suelos y Plantas, Instituto de Agroindustria, Universidad de la Frontera. Temporada 2002/03. (n=98).

Por otro lado, estas regiones incluyen el 57,9% de la masa de bovinos y el 17,2% de la población de ovinos y, además, ambas regiones concentran el 73,2% y el 61,0% de las existencias de vacas lecheras y novillos del país, respectivamente, siendo por lo tanto, las regiones de mayor aporte a la producción de leche y carne (Gasto & Gallardo, 1995; INE, 1997). Estos sistemas de producción son esencialmente pastoriles, siendo las praderas húmedas el principal recurso forrajero utilizados por estos animales. Por lo tanto, la aplicación de fuentes de Mo pueden incrementar los contenidos de Mo foliar que contribuye al metabolismo del nitrógeno influenciando, además, tanto la asimilación como la utilización de carbohidratos por las especies leguminosas pratenses.

3.2 Caracterización química del suelo

Los contenidos de MO fluctuaron entre 140 y 240 g kg^{-1} (Tabla 4), sugiriendo que esta fluctuación puede atribuirse a diferencias en las condiciones ambientales (precipitación, temperatura), tipo de vegetación y edad del suelo. En los suelos Osorno y Piedras Negras se presentan, además, altos contenidos de Al extractable (1473-1876 mg kg^{-1}).

El pH de los suelos fluctuó entre 4,31 a 5,47 (Tabla 4) indicando una reacción fuertemente a moderadamente a ácida que es característico de suelos derivados de cenizas volcánicas influenciados por un elevado contenido orgánico de los horizontes superficiales, especialmente en los suelos Osorno y Piedras Negras. El pH_{KCl} fue más bajo que el pH_{CaCl2} y que el pH_{H2O} en todos los Andisoles indicando un predominio de carga negativa neta. Al respecto, Wada (1985) ha señalado que en suelos que contienen abundancia de complejos Al-húmicos no aparece carga positiva neta.

Los valores más bajos de pH se correlacionan directamente con los valores relativamente bajos de MO (<150 g kg^{-1}), P, S y suma de bases de intercambio observados en los suelos Vilcún y Pemehue. La diferencia de pH que existe en cada suelo para alcanzar un valor de pH 6,0; considerado adecuado para la mayoría de los cultivos, señala claramente que el proceso de acidificación es lento y atribuible a la capacidad buffer de la MO.

Tabla 4. Características químicas de los suelos estudiados [1]

Suelo	Vilcún	Pemehue	Osorno	P. Negras
pH H_2O	5,47 a	5,41 b	4,81 d	5,40 c
pH KCl	4,51 c	4,65 a	4,31 d	4,58 b
pH $CaCl_2$	4,84 a	4,80 b	4,31 c	4,79 b
Materia orgánica (g kg^{-1})	140 c	150 c	210 b	240 a
S (mg kg^{-1})	10 b	7 c	20 a	10 b
P (mg kg^{-1})	13 b	6 c	24 a	5 d
Al (cmol (+) kg^{-1})	0,24 c	0,22 c	0,98 a	0,30 b
Σ bases (cmol (+) kg^{-1})	8,89 a	4,89 b	4,30 c	3,04 d
Saturación de Al (%)	2,63 d	4,31 c	18,56 a	8,98 b
Al extractable (mg kg^{-1})	600 d	1100 c	1473 b	1876 a

Cifras con letras diferentes indican diferencias significativas según Prueba de Comparación Múltiple de Promedios de Tukey ($p < 0,05$).

[1] Procedimientos publicados por la Comisión de Normalización y Acreditación (Sadzawka *et al*., 2004) de la Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo.

Esto sugiere que bajo las condiciones de pH ácido que presentan estos suelos, la disponibilidad de Mo decrece a niveles deficientes para las plantas; debido a que bajo estas condiciones de pH incrementando la capacidad de adsorción aniónica y, a su vez, este comportamiento es potenciado cuando los suelos presentan importantes contenidos de óxidos de Al y Fe y constituyentes tales como alofán o imogolita (Parfitt, 1978; Yuan *et al*., 2000; Hirade & Uchida, 2004). En cambio, la solubilidad del ácido molíbdico (Ec. 13 a 16) aumenta con incrementos del pH generando incrementos en la concentración de Mo y de sus formas protonadas en soluciones diluídas (Harmsen & Vlek, 1985).

xiii) $MoO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HMoO_4^-$ $\log K = 4,23$ (13)

xiv) $MoO_4^{2-} + 2H^+ \rightarrow H_2MoO_4^0$ $\log K = 8,23$ (14)

xv) $MoO_4^{2-} + 3H^+ \rightarrow MoO_2(OH)^+ + H_2O$ $\log K = 8{,}17$ (15)

xvi) $MoO_4^{2-} + 4H^+ \rightarrow MoO_2^{2+} + 2H_2O$ $\log K = 8{,}64$ (16)

Vlek & Linsay (1977) estudió la adsorción de Mo en suelos de Colorado USA y desarrolló la siguiente ecuación y desarrolló la ecuación (Ec. 17) para describir como afecta el pH a la adsorción de Mo. Esta ecuación indica que la actividad de MoO_4^{2-} decrece 10 veces con decrecimientos de una unidad de pH.

xvii) $\text{Suelo} + MoO_4^{2-} \leftrightarrow \text{Suelo} - MoO_4^{2-} + OH^-$ (17)

En los suelos Vilcún, Pemehue y Piedras Negras, la principal limitante para alcanzar valores óptimos en la producción de cultivos es el bajo nivel de P disponible que no permitirían superar rendimientos en praderas más allá de 6-8 ton ms ha^{-1}. Esto último es consecuencia de la baja o nula incorporación de fertilizantes fosfatados al suelo, que junto a la alta capacidad de fijación de P de 90 a 95% limitan el potencial productivo de estos suelos. Con respecto al contenido de S, el suelo Osorno presenta un alto contenido de este elemento (Tabla 4). En cambio, en los suelos Vilcún, Pemehue y Piedras Negras, se observan valores bajos (< 10 ppm) al considerar que con valores de 18 ppm (Laboratorio de Suelo y Planta, Universidad de La Frontera) se cumplen los requerimientos biológicos de los vegetales.

En general, sólo el suelo Osorno presenta alto potencial de fertilidad; debido a los altos contenidos de MO, P y S disponibles para cumplir con los requerimientos biológicos de los vegetales, sin embargo, este suelo presenta un pH ácido y un alto contenido de saturación de Al que puede condicionar su capacidad productiva. Este último parámetro es un importante indicador del grado de acidificación de los suelos. La alta saturación de Al que presentan los suelos de X Región (Osorno y Piedras Negras) es el resultado de la acidificación natural inducida por la alta precipitación de esta Región (1750 mm por año) generando, además, bajo contenido de bases intercambiables (4,30 y 3,04 cmol kg^{-1}).

Los contenidos de cationes intercambiables fluctuaron entre 3,04 y 8,89 cmol kg^{-1} (Tabla 4), considerándose inadecuados para mantener los requerimientos vegetales. Los niveles presentados por los Andisoles de la X Región (Osorno y Piedras Negras) hacen necesario implementar un sistema de manejo que permita mejorar esta condición en el corto plazo para evitar que aumente el contenido de Al soluble que aparece con la disminución de pH y que conlleva a un detrimental desarrollo radical para la captación de nutrientes, especialmente de los elementos poco móviles e inmóviles en el suelo (K, P, Mo, etc.).

3.3 Caracterización mineralógica del suelo

Las diferentes formas de Al y Fe extractadas, en estos Andisoles, a través del método de disoluciones selectivas presentaron el siguiente orden de abundancia: Al_d, Fe_d > Al_o, Fe_o > Al_p, Fe_p (Tabla 5). Similares resultados han sido informados por Sadzawka & Porte (1985), Galindo *et al*. (1986), Galindo *et al*. (1992), Briceño *et al*. (2004) y Escudey *et al*. (2004) en suelos volcánicos chilenos.

Los suelos Vilcún y Pemehue presentaron aproximadamente 7,62% de óxidos cristalinos (Al_d + Fe_d) mientras que los suelos Osorno y Piedras Negras presentaron aproximadamente 5,47%. Los contenidos de alofán y ferrihidrita fueron más altos en los suelos Osorno (8,55 y 1,96%) y Piedras Negras (9,65 y 2,02%) que en Vilcún (2,85 y 1,51%) y Pemehue (5,46 y 1,75%). Los coloides de los suelos son alofánicos, pero en la superficie prevalecen los complejos Al, Fe-húmicos como se observa en los suelos Osorno y Piedras Negras. Similares resultados han sido reportados por Besoaín *et al*. (2000) en Andisoles de la X Región. Estos resultados son valores frecuentes en Andisoles y coinciden con la alta pluviometría en los suelos Osorno y Piedras Negras y, corrobora los resultados obtenidos por Parfitt & Wilson (1985) en suelos volcánicos de Nueva Zelanda.

Mizota & van Reeuwijk (1989) han utilizado la relación de actividades Fe_o/Fe_d como un índice del grado de cristalinidad o "edad" de los óxidos. En los Andisoles jóvenes esta relación es más alta (>0,75) y más baja en los más antiguos. Sin embargo, las diferencias entre los suelos son pequeñas y no se observan grandes diferencias de edad ya que el valor de Fe_o/Fe_d fluctuó entre 0,16-0,32.

En los suelos Osorno y Piedras Negras los contenidos de óxidos amorfos (Al_o, Fe_o), óxidos orgánicos (Al_d, Fe_p), alofán y ferrihidrita, indican mayor posibilidad de adsorber aniones, sobre todo fosfato, que los suelos Vilcún y Pemehue. Al respecto, Yuan & Lavkilich (1994), Hirade & Uchida (2004), Giesler *et al*. (2005) informan que fosfato es adsorbido preferentemente por los óxidos de Al, en cambio, Karimian & Cox (1979) y Goldberg & Forster (1998) reportan que Mo es fuertemente adsorbido por los óxidos de Fe en el suelo.

Tanto la MO como la presencia de óxidos de Fe y en menor cuantía los óxidos de Al, en los suelos, son responsables fundamentales de la interacción anión-superficie. De este modo, los contenidos de estos constituyentes están directamente relacionados con el grado de interacción anión-superficie muy bajas.

Tabla 5. Estimación de las diferentes formas de hierro y aluminio activos

Suelo	Vilcún	Pemehue	Osorno	P. Negras
Al_o (%) [1]	1,41 c	2,98 b	3,07 b	3,25 a
Fe_o (%) [1]	0,89 c	1,03 b	1,15 b	1,19 a
Si_o (%) [1]	0,57 d	0,91 c	1,71 b	1,93 a
Al_d (%) [2]	2,30 a	2,19 b	1,85 c	1,63 d
Fe_d (%) [2]	5,63 a	5,13 b	3,76 c	3,71 c
Al_p (%) [1]	0,66 d	1,01 c	1,43 b	1,46 a
Fe_p (%) [1]	0,71 c	0,68 d	0,87 b	1,04 a
Alofán (%) [3]	2,85 d	5,46 c	8,55 b	9,65 a
Ferrihidrita (%) [4]	1,51 c	1,75 b	1,96 a	2,02 a

Cifras con letras diferentes indican diferencias significativas según Prueba de Comparación Múltiple de Promedios de Tukey ($p < 0,05$).

[1] Determinado según metodología descrita por Blakemore *et al*. (1987).

[2] Determinado según metodología descrita por Mehra & Jackson (1960).

[3] Determinado según metodología descrita por Parfitt & Wilson (1985).

[4] Determinado según metodología descrita por Parfitt & Childs (1988).

La composición mineralógica de estos Andisoles se presenta en la Tabla 6. El predominio del alofán en la composición coloidal de este tipo de suelos también ha sido informado por Parfitt (1990), Mora & Canales (1995b) y Briceño *et al*. (2004). Los minerales cristalinos como gibsita, feldespato, α-cristobalita, vermiculita-clorita y cuarzo fluctúan entre el rango <1 a 5%.

Tabla 6. Series de suelo, clasificación taxonómica y composición mineralógica del horizonte Ap asociadas a los suelos estudiados

Suelo	Vilcún	Pemehue	Osorno	P. Negras
Series [1]	Vilcún	Pemehue	Corte Alto	Los Lagos
Clasificación taxonómica [1]	Medial, Mesic, Entic Dystrandept	Ashy, Mesic, Hydric Dystrandept	Ashy, Mesic, Typic Dystrandept	Medial, Isomesic, Typic Dystrandept
Alofán [2]	++++	+++++	+++++	+++++
Haloisita [2]		+		++
Vermiculita-clorita [2]		+	+	++
Gibbsita [2]	++	+	+	+
Imogolita [2]			++	++
Quarzo [2]	++		+	+
Feldespato [2]	+	++	+	+
α-Cristobalita [2]	++	+	+	++

[1] Besoaín & Sepúlveda (1985).

[2] Mella & Kühne (1985).

+++++: Presencia dominante (> 50%), ++++: Presencia abundante (20-50%), ++: Presente (1-5%), y +: Fracción traza (< 1%)

3.4 Características superficiales del suelo

Las curvas de titulación potenciométrica que pueden predecir la evolución de la carga en estos Andisoles con minerales de carga variable, se presentan en las Figuras 9 a 12. En las cuales podemos observar, que incrementos en la concentración del electrolito de soporte comprimen la capa difusa incrementando la concentración de H^+ hacia la superficie coloidal y, por lo tanto, las curvas de titulación se desplazan hacia pH más ácidos.

Al trazar las curvas de pH de suspensiones con diferentes concentraciones del electrolito de soporte, las curvas se cortan a un valor de pH común, donde la suma de las cargas superficiales provenientes de todas las fuentes es cero (Parks, 1967), definido como Punto de Cero Cargo (PCC). Los valores de PCC calculados en estos Andisoles fluctúan entre 4,30 a 4,80 indicando que sobre estos pH la superficie reactiva en estos suelos presenta carga negativa neta (Tabla 7), corroborando los resultados obtenidos por Mora *et al*. (1999a). La variación del PCC se atribuye a la naturaleza de la superficie y a la química de la interfase suelo-solución. Este parámetro es característico para cada mineral de arcilla y proporciona informaciones importantes desde el punto de vista electroquímico (Schulthess & Sparks, 1986; Sposito, 1992; Bolan *et al*., 1999).

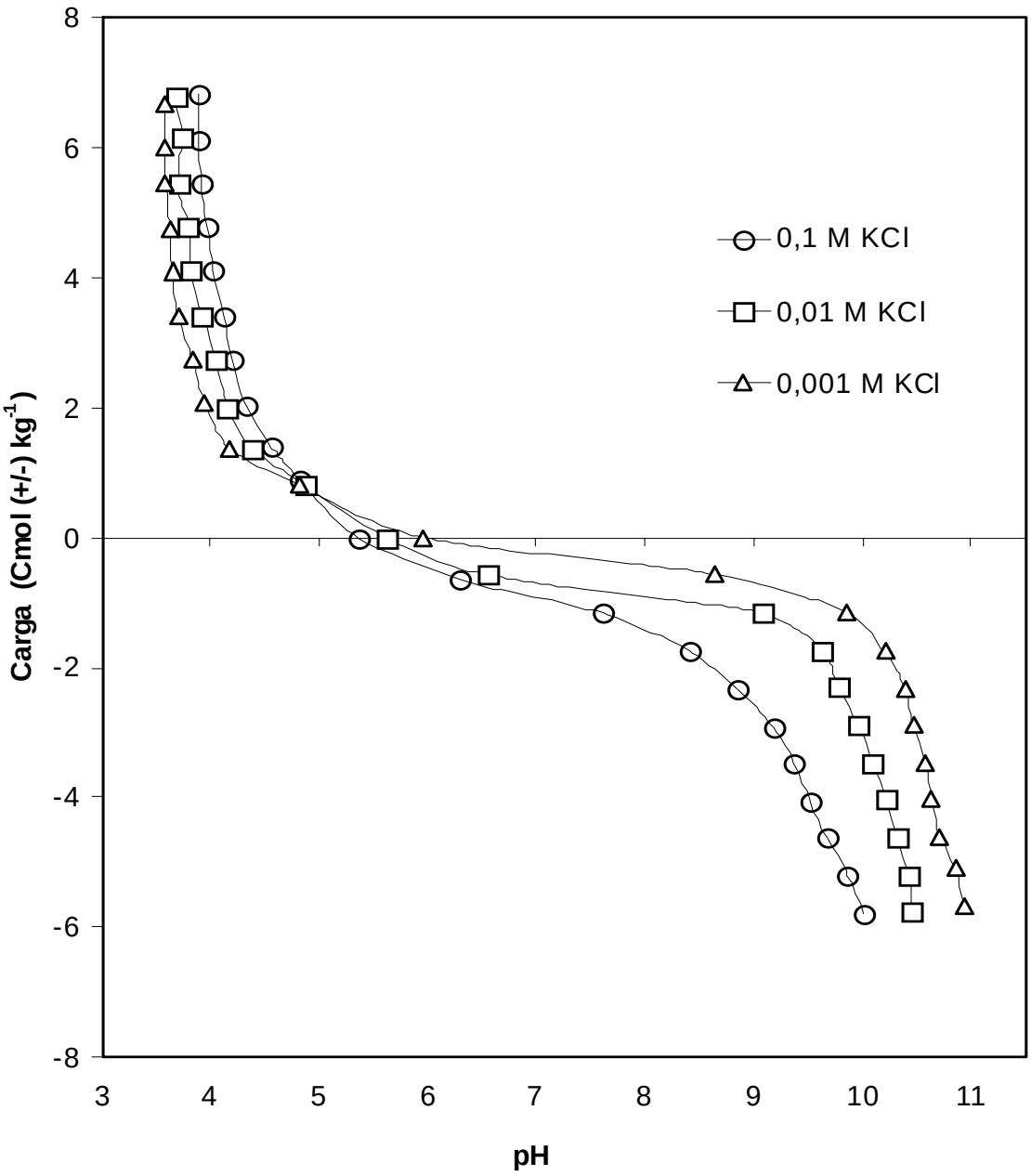
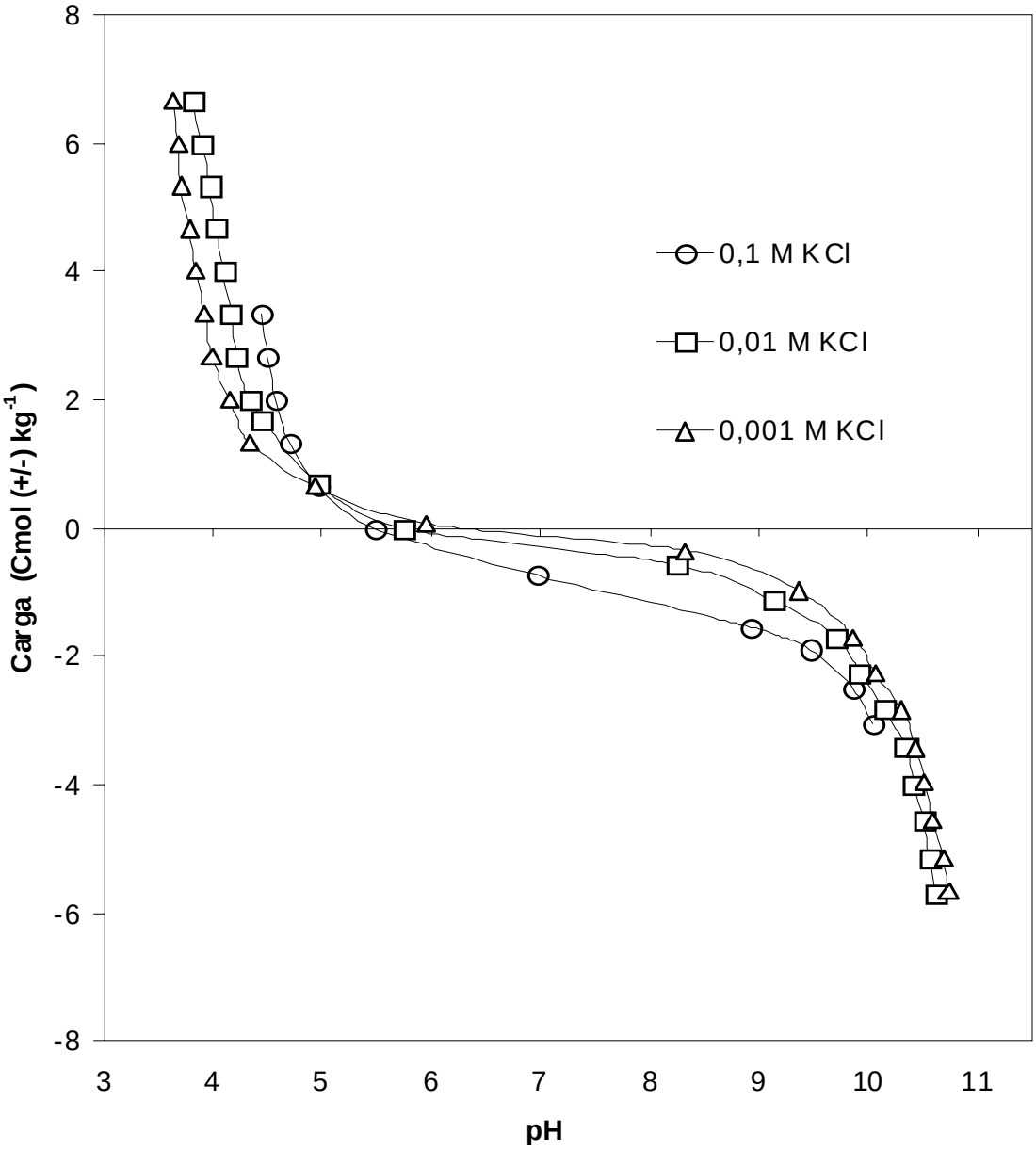


Figura 9. Curva de titulación potenciométrica de suelo Vilcún, a diferentes concentraciones de electrolito de soporte y a 25 ± 0,1ºC.



1

2 Figura 10. Curva de titulación potenciométrica de suelo Pemehue, a diferentes

3 concentraciones de electrolito de soporte y a 25 ± 0,1ºC.

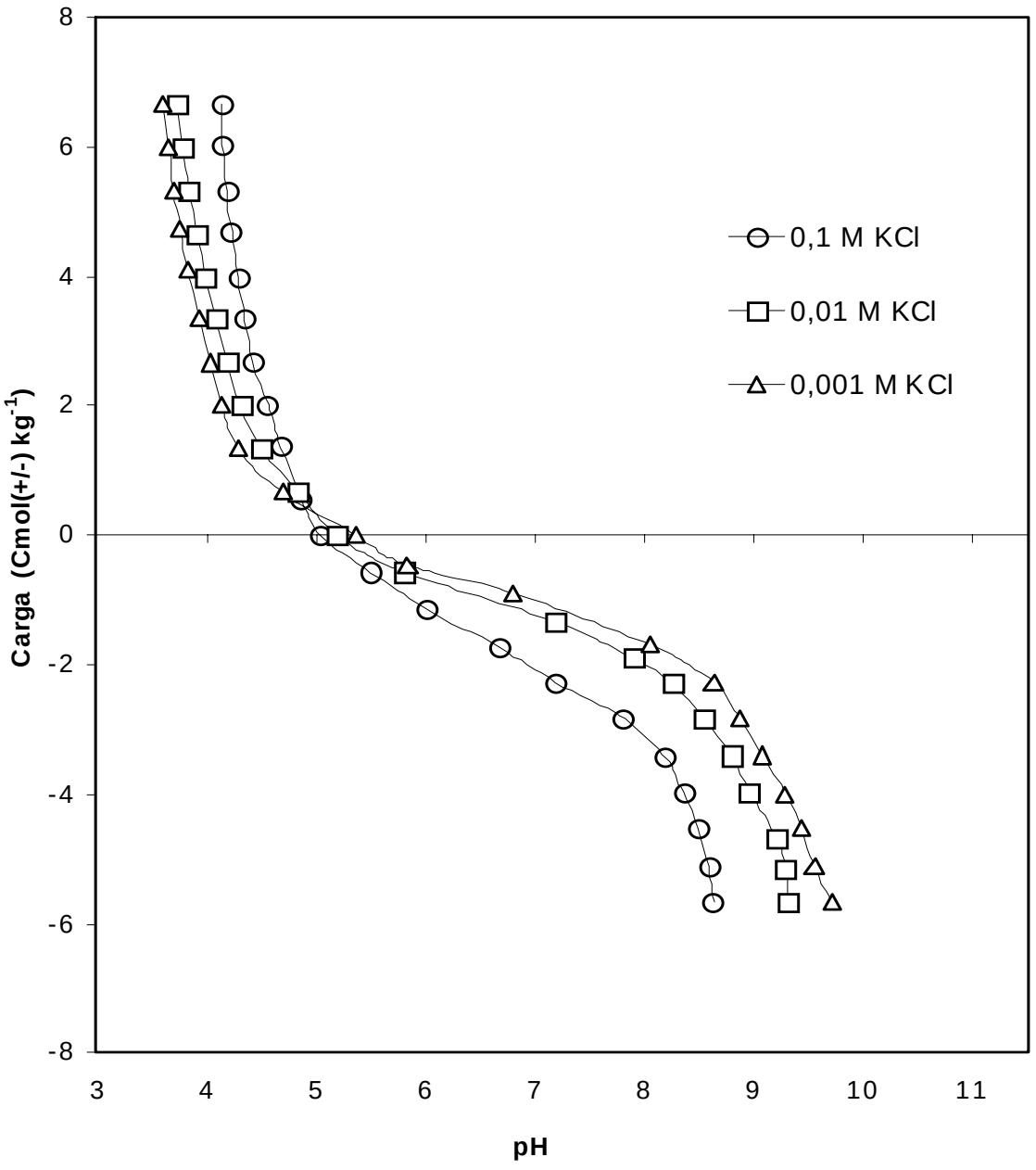


Figura 11. Curva de titulación potenciométrica de suelo Osorno, a diferentes concentraciones de electrolito de soporte y a 25 ± 0,1ºC.

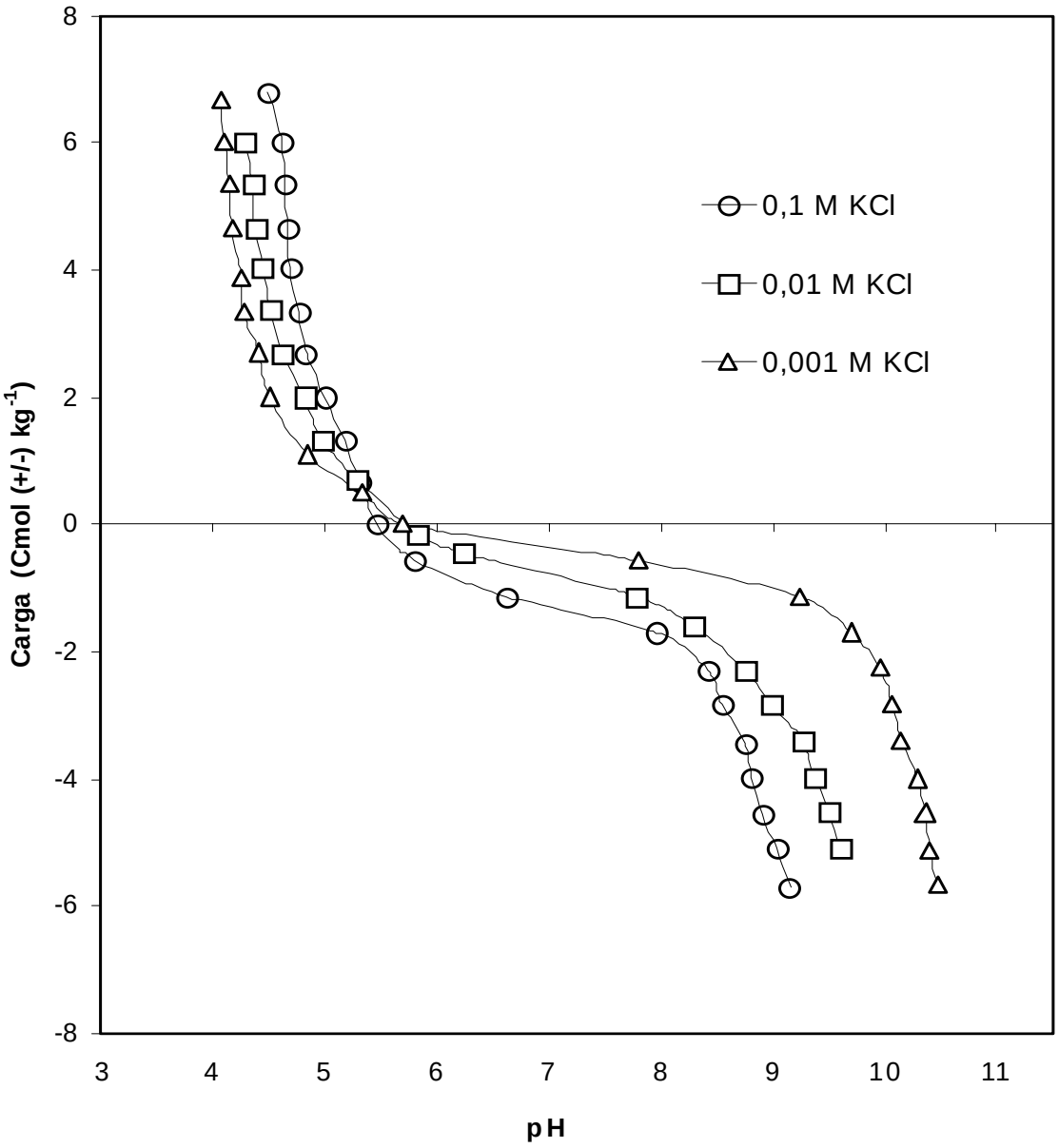


Figura 12. Curva de titulación potenciométrica de suelo Piedras Negras, a diferentes concentraciones de electrolito de soporte y a 25 ± 0,1ºC.

Los suelos Vilcún y Pemehue presentan mayor SSA, en cambio, los suelos Osorno y Piedras Negras presentan mayor Ns disponibles en la superficie coloidal con capacidad de adsorción aniónica (Tabla 7). Al respecto, Atalay (2001) indica que la variación en la capacidad de adsorción de P está en directa relación con el tamaño de partícula y el tipo de suelo.

Tabla 7. Características superficiales de los suelos estudiados

Suelo	Vilcún	Pemehue	Osorno	P. Negras
SSA (m^2/g) [1]	161,59 a	166,1 a	149,95 b	120,26 c
Ns (cmol (-) kg^{-1}) [2]	30,45 d	36,62 c	70,00 a	58,63 b
PCC [3]	4,30 d	4,45 c	4,50 b	4,80 a

Cifras con letras diferentes indican diferencias significativas según Prueba de Comparación Múltiple de Promedios de Tukey ($p < 0,05$).

[1] Area superficial total (SSA) determinada por el método de adsorción de etilen monoetil eter (EGME) (Heilman *et al*., 1965).

[2] Número de sitios activos disponibles en la superficie colloidal (Ns) determinado por destilación con 1 M Ca-acetate (Holtzclaw *et al*., 1979).

[3] Punto de carga cero (PCC) determinado por titulación potenciométrica.

3.5 Cinética de adsorción de aniones

Los resultados de las isotermas de adsorción de molibdato y fosfato en el equilibrio en función del tiempo, en cuatro Andisoles, se presentan en la Figura 13. La forma de las curvas cinéticas indican que la adsorcion de molibdato y fosfato es contínua entre rango de 0,5 a 4,0 h de reacción, posteriormente existe una discontinuidad a partir de 4,0 h de reacción, sugiriendo que la cinéticas de adsorción representa dos mecanismos de reacción diferentes.

En todos los Andisoles, la disminución de la adsorción de molibdato y fosfato se caracterizó por una rápida reacción inicial seguida de una reacción lenta. Similares resultados han sido reportados por Griffin & Jurinak (1974), Kuo & Lotse (1972), Barrow (1986), Zhang & Sparks (1989), Freese *et al*. (1995) y Zen *et al*. (2003) quienes investigaron la cinética de reacción de fosfato con calcita y Ca-caolinita y la adsorción de fosfato, molibdato y fluoruro en suelos. Las adsorciones iniciales de molibdato en los suelos Vilcún y Pemehue fueron más rápidas que en los suelos Osorno y Piedras Negras. En general, los resultados indican que la capacidad de adsorción de fosfato fue aproximadamente dos veces mayor que la capacidad de adsorción de molibdato.

La adsorción de ambos aniones continuó a través del tiempo sin alcanzar un equilibrio verdadero. Los porcentajes de adsorción de molibdato y fosfato fueron diferentes, indicando la ocurrencia de dos procesos en forma simultánea. En los primeros 15 minutos ambas adsorciones fueron muy rápidas y correspondieron a la adsorción del 55,42% y 61,66% del molibdato y fosfato total, respectivamente. Posteriormente, la segunda reacción continuó lentamente hasta alcanzar un equilibrio a las 24 h de reacción, donde se adsorbió el 89,70% del molibdato total y el 96,84% del fosfato total. Con posterioridad a las 24 h, el proceso de adsorción de ambos aniones continuó aumentando aproximadamente en ~2%. Similares resultados en Andisoles chilenos han sido informados por González *et al*. (1974), quienes indican que duración de la primera etapa de la adsorción de molibdeno fluctúa entre 1 a 4 h, y que la segunda etapa se extiende por 24 h. A su vez, Zeng *et al*. (2003) en estudios realizados en dos suelos volcánicos que después de 1-3, 24 y 72 h se han adsorbido 47%, 56% y 83% del fosfato adicionado.

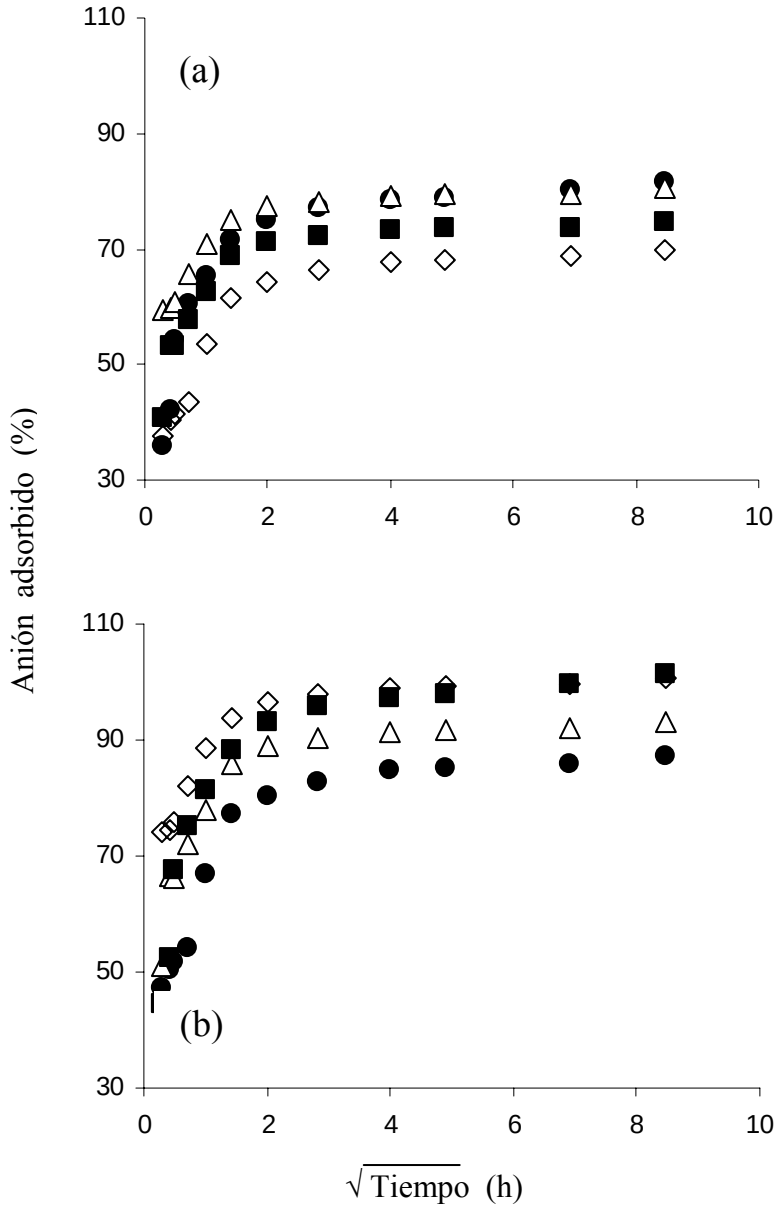


Figura 13. Cinética de adsorción de molibdato (a) y fosfato (b) en los suelos Vilcún (●), Pemehue (Δ), Osorno (■) y Piedras Negras (◊), a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte (Sólo para graficar se utilizó la raíz cuadrada del tiempo)

Al respecto, Barrow (1979) indica que esta reacción es controlada por difusión en estado sólido pero es poco probable que esto se cumpla en suelos alofánicos, tanto naturales como sintéticos, debido a la alta superficie de contacto que estos presentan, en donde prácticamente todos los sitios reactivos se encuentran expuestos (Parfitt, 1989). Esta etapa es la más lenta a través del tiempo producto de distintos factores, entre ellos el aumento de carga negativa neta en la superficie del suelo que dificulta de gran forma la adsorción de molibdato y fosfato, así lo observaron Galindo & Bingham (1977) y Schalscha *et al*. (1981) quienes además determinaron un aumento de la capacidad de intercambio catiónico (CIC). Por su parte, Barrow & Whelan (1989) y Barrow (1992) reportan en estudios con fosfato, molibdato, fluoruro, selenito y seleniato en suelos una rápida reacción de adsorción inicial y posteriormente continúa una lenta reacción de adsorción que involucra una difusión intraparticular.

Se obtuvieron relaciones curvilíneas al modelar los datos experimentales con las ecuaciones simples (Figuras 14 a 17), corroborando los resultados obtenidos por Zeng *et al*. (2003). En estos Andisoles, las pendientes de las curvas variaron en ambos aniones, corroborando resultados obtenidos por Chien & Clayton (1980) quienes indicaron que las pendientes son características de cada sorbente en particular. Los datos experimentales de ambos aniones fueron modelados por cinco modelos cinéticos, donde se compararon los valores de SE y R^2 de cada ecuación para determinar la ecuación que mejor describe la adsorción de ambos aniones en estos Andisoles (Tabla 8). Los datos modelados a través de estos ecuaciones simples presentaron bajos R^2 (0,231 a 0,623) y altos valores de SE (0,0005 a 5,5464). Similares resultados han sido informados por Bolan *et al*. (1985), McGechan (2002), Li *et al*. (2005) en la adsorción de P evaluada a través de diferentes modelos.

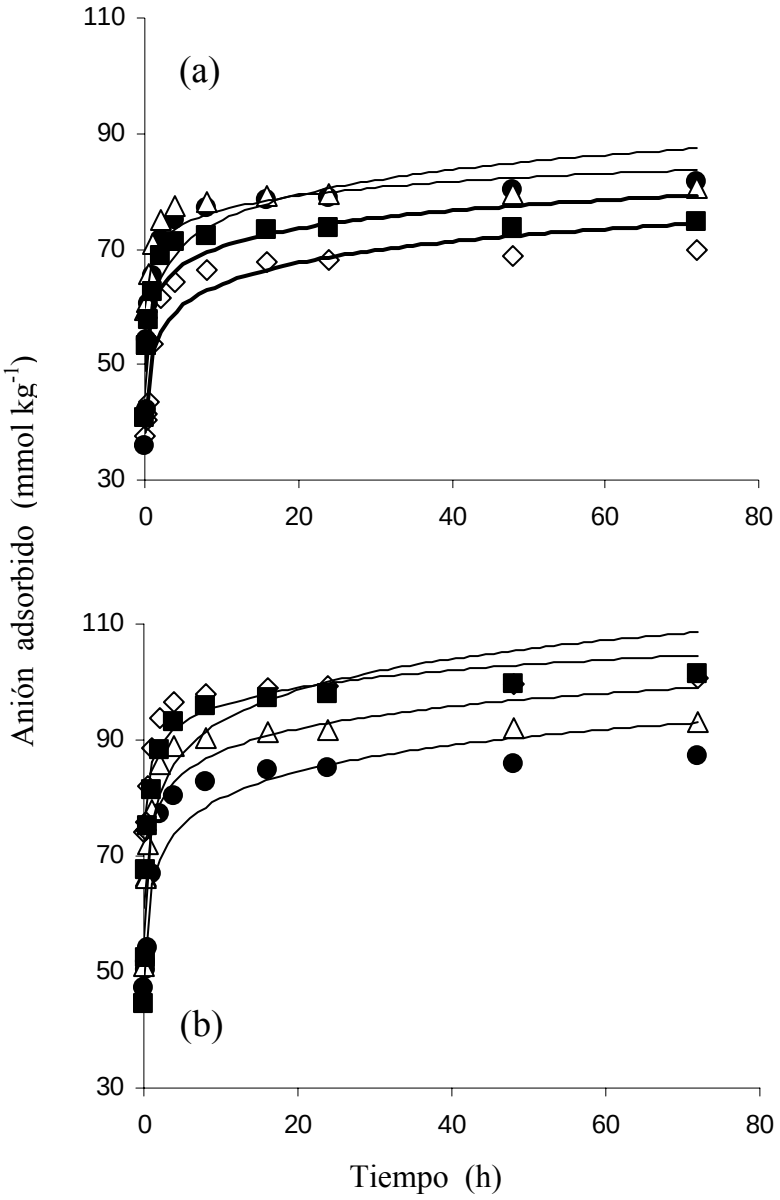


Figura 14. Cinética de orden cero en la adsorción de molibdato (a) y fosfato (b) en los suelos Vilcún (●), Pemehue (Δ), Osorno (■) y Piedras Negras (◊): Datos experimentales, (—): Datos modelados, a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte.

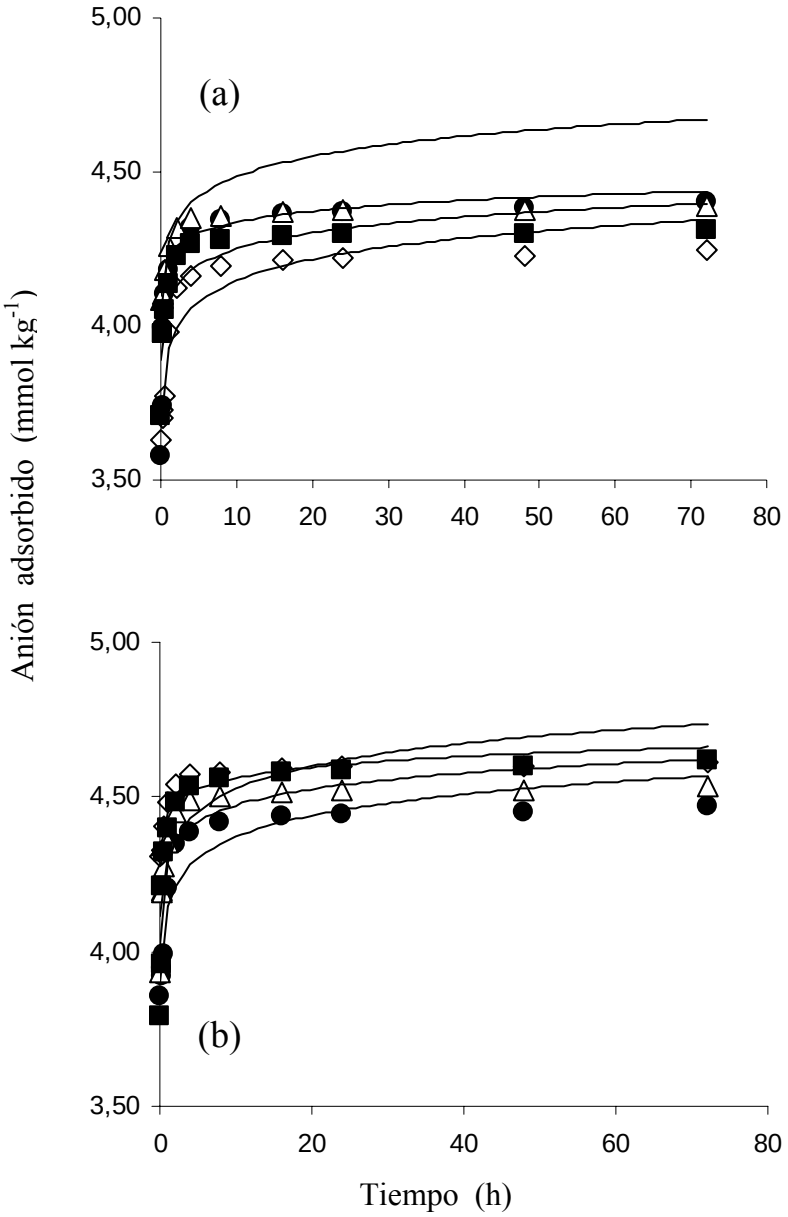


Figura 15. Cinética de primer orden en la adsorción de molibdato (a) y fosfato (b) en los suelos Vilcún (●), Pemehue (Δ), Osorno (■) y Piedras Negras (◊): Datos experimentales, (—): Datos modelados, a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte.

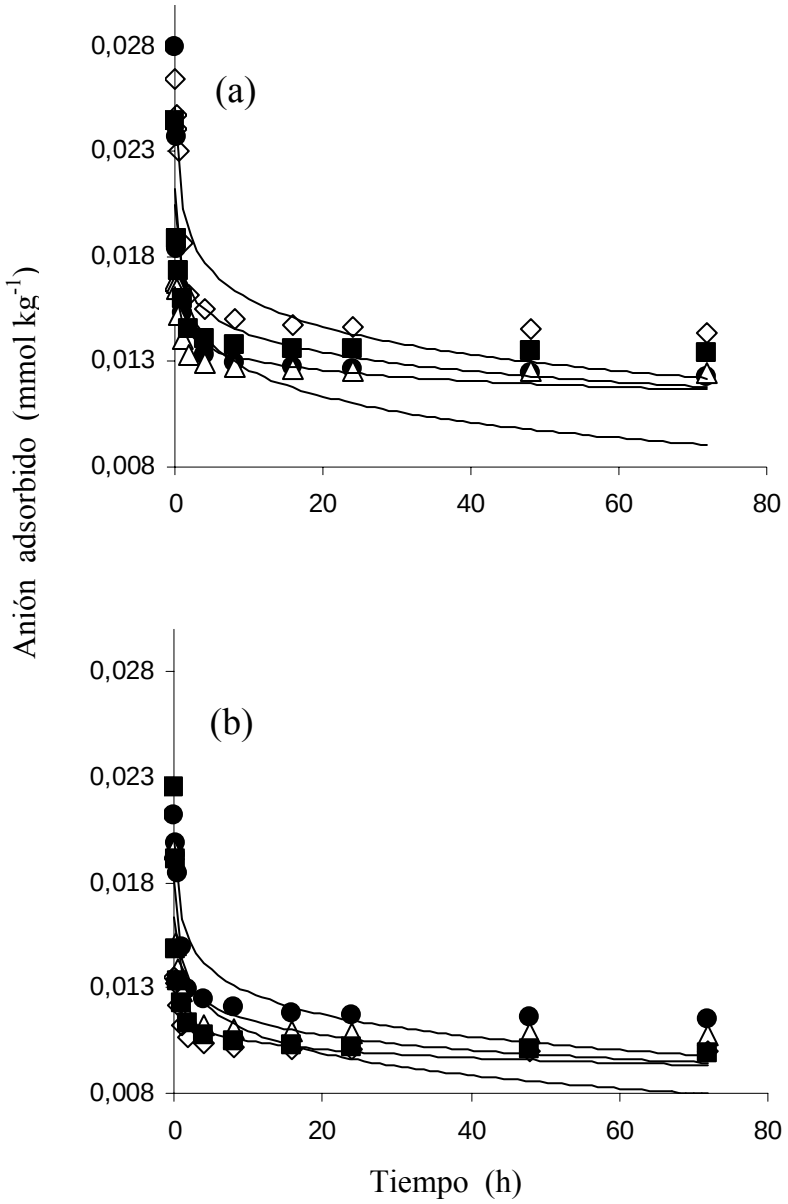


Figura 16. Cinética de segundo orden en la adsorción de molibdato (a) y fosfato (b) en los suelos Vilcún (●), Pemehue (Δ), Osorno (■) y Piedras Negras (◊): Datos experimentales, (—): Datos modelados, a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte.

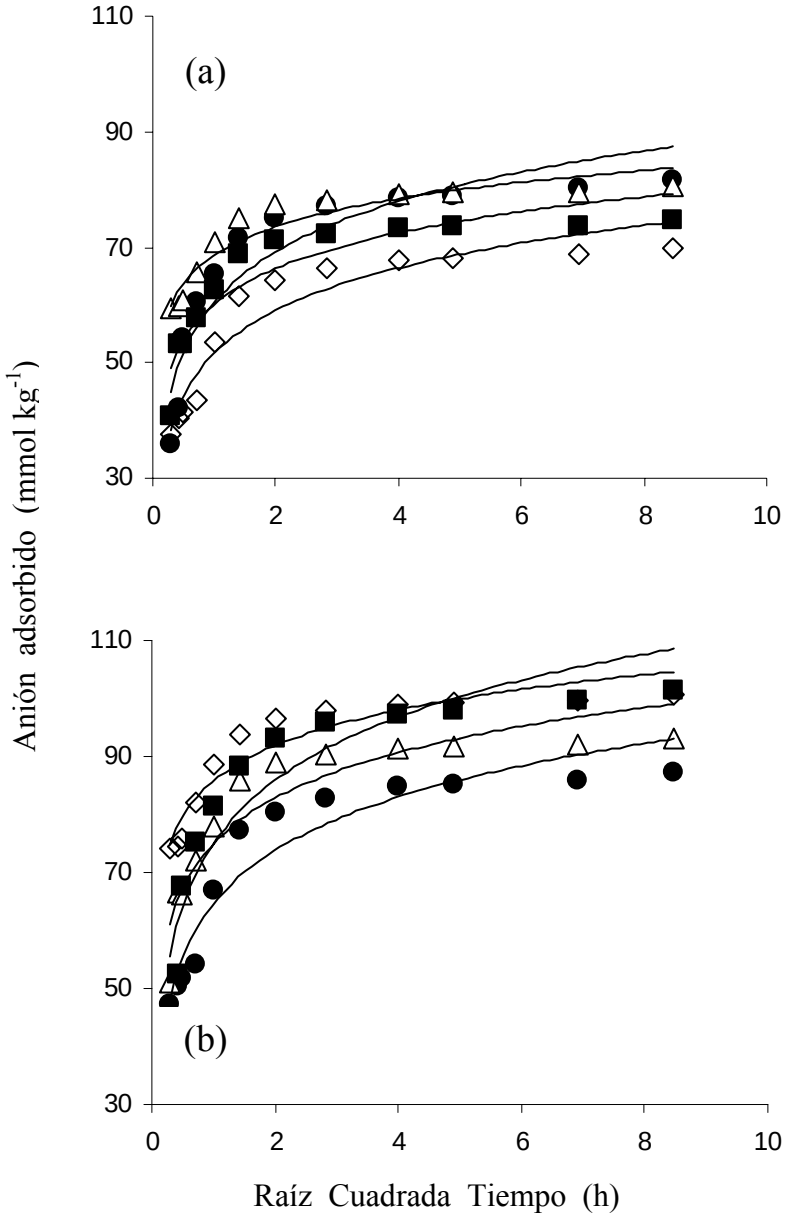


Figura 17. Cinética de difusión parabólica en la adsorción de molibdato (a) y fosfato (b) en los suelos Vilcún (●), Pemehue (Δ), Osorno (■) y Piedras Negras (◊): Datos experimentales, (—): Datos modelados, a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte.

Tabla 8. Valores de coeficientes de determinación (R^2) y error estandar (SE) de diferentes ecuaciones cinéticas obtenidas en la adsorción de molibdato y fosfato ($p < 0,01$).

	Molibdato		Fosfato	
	R^2	SE	R^2	SE
		Orden cero		
Vilcún	0,344	4,4664	0,394	4,5998
Pemehue	0,372	2,4527	0,330	3,9794
Osorno	0,331	3,1834	0,346	5,5464
Piedras Negras	0,394	3,6798	0,371	3,0659
		Primer orden		
Vilcún	0,285	0,2155	0,362	0,0697
Pemehue	0,353	0,0354	0,290	0,0547
Osorno	0,292	0,0547	0,287	0,0782
Piedras Negras	0,361	0,0697	0,354	0,0354
		Segundo orden		
Vilcún	0,231	0,0019	0,329	0,0011
Pemehue	0,336	0,0005	0,251	0,0008
Osorno	0,252	0,0010	0,232	0,0012
Piedras Negras	0,330	0,0014	0,335	0,0004
		Difusión parabólica		
Vilcún	0,550	1,327	0,624	1,143
Pemehue	0,596	0,738	0,540	1,043
Osorno	0,542	0,808	0,553	0,956
Piedras Negras	0,623	0,888	0,597	1,691
		Elovich		
Vilcún	0,947	0,4286	0,952	0,6092
Pemehue	0,934	0,2073	0,926	0,5120
Osorno	0,926	0,2770	0,934	0,4254
Piedras Negras	0,952	0,3579	0,947	0,6761

Los datos experimentales de ambos aniones fueron modelados por la ecuación modificada de Elovich, donde se obtuvieron muy buenos ajustes (Figura 18) con significativos coeficientes de determinación y los bajos valores de SE (Tabla 9) indicando que esta ecuación es aplicable para describir adecuadamente las cinéticas de adsorción de molibdato y fosfato en estos Andisoles, corroborando los resultados reportados por Chien & Clayton (1980), Sharpley (1983), Sparks (1985 y 1999), Freese *et al*. (1995), Zeng *et al*. (2003) y en Andisoles y otros tipos de suelos.

De acuerdo a estos resultados, los valores de la constante α fueron mayores, salvo el suelo Vilcún, en la adsorción cinética de fosfato que de molibdato (Tabla 9), sugiriendo una alta velocidad inicial de adsorción de fosfato que se atribuye a la superficie heterogénea que presentan estos Andisoles afectando tanto el suministro como la disponibilidad de molibdato y fosfato en estos suelos; debido a las diferentes capacidades de adsorción de estos aniones. Entre estos Andisoles, el suelo Piedras Negras presentó un mayor valor de α para fosfato que los demás suelos.

En contraste, los valores de la constante β fueron de mayor magnitud para la adsorción cinética de molibdato que de fosfato, indicando una alta desorción de molibdato. A su vez, esta constante de desorción que dice relación con la energía de enlace refleja que el mecanismo de adsorción de ambos aniones corresponde a complejos de esfera interna (Parfitt, 1989; Zhang & Sparks, 1989; Strauss *et al*., 1997; Goldberg *et al*., 2002).

A su vez, estudios realizados por Parfitt (1989) y Barrow (1989) sobre la adsorción de diferentes aniones sobre óxidos minerales, indican que existe inicialmente un rápido intercambio de ligandos con los sitios de adsorción externos, luego sigue una reacción de intercambio más débil con una lenta difusión del anión a través de los defectos y microporos de los óxidos minerales.

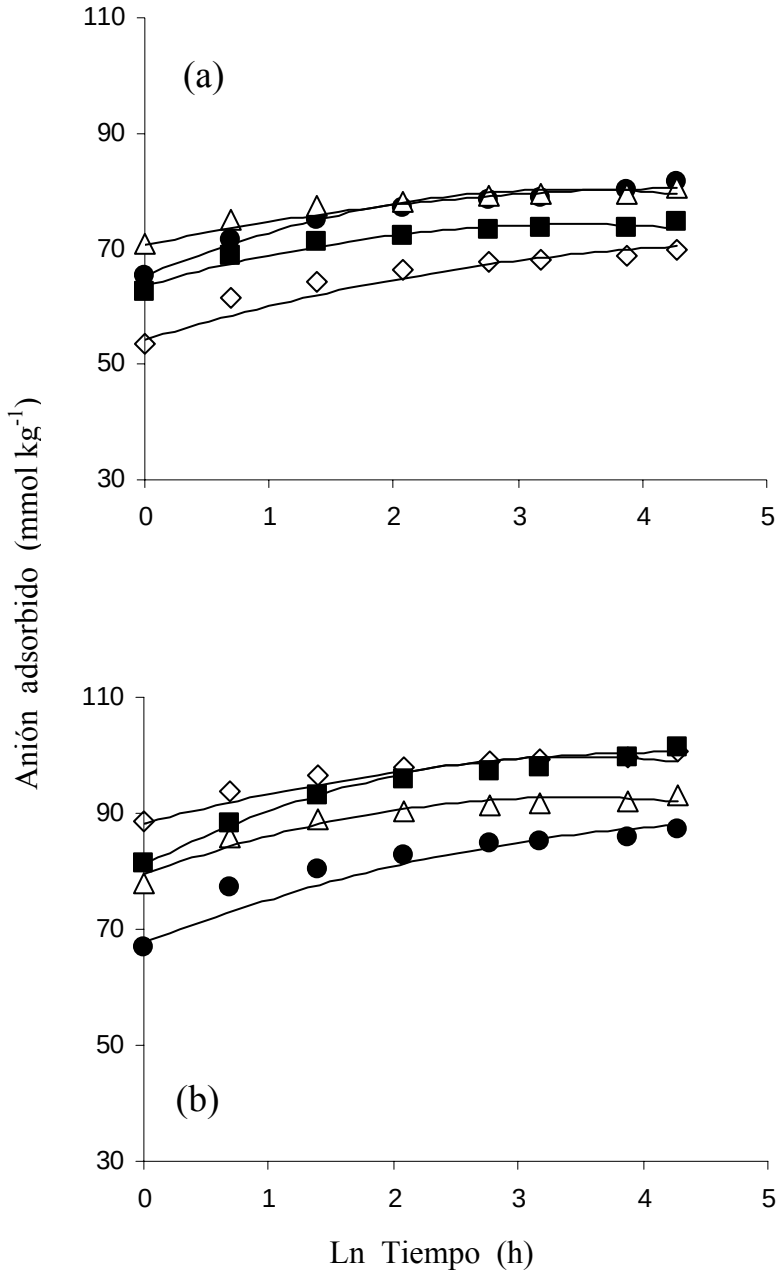


Figura 18. Cinética de Elovich en la adsorción de molibdato (a) y fosfato (b) en los suelos Vilcún (●), Pemehue (Δ), Osorno (■) y Piedras Negras (◊): Datos experimentales, (—): Datos modelados, 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte.

Tabla 9. Parámetros obtenidos a partir de la ecuación de Elovich en la adsorción cinética de molibdato y fosfato.

	Parámetros (mmol kg^{-1} h^{-1})		
	α	β	K_{eq}
	Molibdato		
Vilcún	1,68E+6	0,285	5,89E+6
Pemehue	4,82E+4	0,223	2,16E+5
Osorno	1,52E+3	0,158	9,62E+3
Piedras Negras	1,47E+3	0,188	7,82E+3
	Fosfato		
Vilcún	1,84E+3	0,150	1,22E+4
Pemehue	1,87E+3	0,127	1,47E+4
Osorno	6,03E+4	0,178	3,39E+5
Piedras Negras	2,10E+6	0,227	9,25E+6

Los valores de las constantes α y β en ambos aniones, sugieren que sus variaciones son consecuencia de las diferentes mineralogías que estos Andisoles presentan como ha sido reportado por Barrow (1983). A su vez, se obtuvo la relación entre las constantes α y β para estimar la constante de equilibrio en la adsorción cinética, K_{eq}, (Tabla 9). En los suelos Vilcún y Pemehue el valor de K_{eq} fue 483 y 15 veces, respectivamente, más alto para molibdato que para fosfato, en cambio, en los suelos Piedras Negras y Osorno el valor de K_{eq} fue 1183 y 35 veces, respectivamente, más alto para fosfato que para molibdato; sugiriendo mayor afinidad por molibdato en las superficies reactivas de los Andisoles de la IX Región, en cambio, se observa mayor afinidad por fosfato en las superficies reactivas de los Andisoles pertenecientes a la X Región. En general, se observa mayor afinidad por fosfato (K_{eq}) que por molibdato,

corroborando los resultados reportados por Barrow & Whelan (1989) quienes señalan que la reactividad de los aniones en el suelo sigue el siguiente orden: fosfato > selenito > molibdato > fluoruro > seleniato.

Agrupando estos suelos de acuerdo al incremento de la constante α para ambos aniones indica que los suelos Osorno y Piedras Negras presentan propiedades muy similares que los suelos Vilcún y Pemehue (Tabla 9). Esto es posible debido a las condiciones geográficas y climáticas condicionan que los complejos humus-Al y humus-Fe (Al_p, Fe_p) sean más reactivos en los suelos Osorno y Piedras Negras. El mayor valor de la constante α obtenida en los suelos Osorno y Piedras Negras indica la mayor sensibilidad de estos suelos que se expresa en sus mayores contenidos nutricionales (Tabla 4).

La química de superficie de los Andisoles está dominada por las reacciones de Al y Fe activos que pueden reaccionar con los iones molibdato y fosfato y, crear sitios con carga variable lo cual explicaría la alta afinidad que presentan estos suelos para ambos aniones. Los resultados obtenidos, sugieren que la diferente reactividad de los suelos Vilcún y Pemehue estaría asociada a los mayores contenidos de óxidos cristalinos (Al_d, Fe_d) y que éstos constituyen el mecanismo de mayor afinidad por los iones molibdato observada en estos suelos. Por otro lado, la adsorción de fosfato (mayor afinidad) estaría regulada por los altos contenidos de complejos orgánicos asociados a la presencia de Al_p y Fe_p (Al-humus, Fe-humus). Corroborando los estudios de Karimian & Cox (1978), Yuan & Lavkilich (1994), Goldberg *et al*. (2002), Hirade & Uchida (2004). El rol de la MO en la adsorción de fosfato ha sido muy estudiada, llegando a concluir que los componentes responsables son los ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF) como lo indican Mora & Canales (1995b), Hirade & Uchida (2004) y concordando con los postulados de Appelt *et al*. (1975) se sugiere la formación de complejos AH-Al(OH)x los que a su vez producirían nuevos sitios de adsorción libres para proseguir la adsorción de fosfato.

La condición de pH 5,0 usada en este estudio indica que los iones molibdato y fosfato pueden existir como las especies MoO_4^{2-} y $H_2PO_4^-$. Adicionalmente, Zhang & Sparks (1989) usando al

de la Triple Capa (TLM) encontraron que los iones molibdato reaccionaron principalmente con los sitios protonados, SOH_2^+, indicando que la superficie de goethita estaba positivamente cargada. Los resultados obtenidos en este estudio, permitieron postular dos etapas para describir el mecanismo de adsorción de molibdato y fosfato en estos Andisoles, indicando que en la primera etapa (Ec. 18), MoO_4^{2-} y $H_2PO_4^-$ son atraídos a la superficie protonada y positivamente cargada por atracción electrostática formando un complejo par-iónico muy rápidamente. Posteriormente, en una segunda etapa (Ec. 19), MoO_4^- y $H_2PO_4^-$ tomados de la superficie para romper el enlace entre Fe e hidroxilos, y estos aniones pueden ocupar una nueva posición por intercambio de ligandos o penetración por difusión (Hingston *et al*., 1972; Bohn *et al*., 1985). La molécula de H_2O de la superficie forma un nuevo enlace entre MoO_4^- y $H_2PO_4^-$ y los óxidos de Fe superficiales formando un complejo de esfera-interna en la superficie coloidal (Parfitt, 1989; Goldberg *et al*., 1996).

xviii) $$H^+ + SOH + MoO_4^{2-} \rightarrow SOH_2^+ - MoO_4^{2-} \qquad (18)$$

ixx) $$SOH_2^+ - MoO_4^{2-} \rightarrow SMoO_4^- + H_2O \qquad (19)$$

El mecanismo a adsorción corrobora los resultados Wu *et al*. (1989), quienes demostraron en γ-Al_2O_3 por la técnica "Pressure-jump" que la adsorción de molibdato sugiere la formación de complejosesfera interna mono y bidentados a través de dos procesos: (i) formación de complejos par-iónico por atracción electróstática, y (ii) procesos de intercambio de ligandos. Por otro lado, Ryden *et al*. (1977) y Barrow (1980) indican que P se adsorbe a las superficies de óxidos de Al y Fe a través de enlaces químicos específicos.

Desde el punto de vista agronómico, entre las consecuencias de la penetración por difusión podemos indicar que la continua reacción entre el suelo y los fertilizantes aplicados es uno de los principales determinantes de la necesidad de fuertes fertilizaciones, debido a la lenta desorción de los nutrientes aplicados. Este proceso, debe ser considerado en los estudios de química de suelos como fuera señalado en la década de los 80 por Barrow.

3.6 Efecto del pH en la adsorción de molibdato y fosfato

Las Figuras 19 y 20 muestran los resultados de las isotermas de adsorción de molibdato y fosfato en el equilibrio en función del pH, en los Andisoles en estudio. La adsorción de ambos aniones disminuyó con incrementos en el pH, adsorbiéndose aproximadamente ~100% de la concentración total de estos aniones a pH 4,0. En general, en estos Andisoles con incrementos del pH 5,0 y 6,0 la adsorción de molibdato y fosfato decreció entre 86% a 82% y 78% a 66%, respectivamente. Este efecto fue más notorio a medida que se incrementaron ambas concentraciones (Figura 21). Estos resultados indican que tanto la adsorción de molibdato como de fosfato son dependientes del pH. Similares resultados en la adsorción de fosfato y molibdato fueron reportados por Bolan & Barrow (1984) y Goldberg *et al*. (2002), respectivamente.

En general, fosfato fue mayormente adsorbido (20%) que molibdato en estos Andisoles considerando los diferentes niveles de pH (Figuras 19 y 20). Dos factores pueden considerarse como causantes de la diferencias en la magnitud de adsorción de cada anión en estos Andisoles, como diferencias estéricas y repulsión electrostática.

Las diferencias en las formas de las isotermas de adsorción de molibdato y fosfato son particularmente marcadas en estos suelos. Estas curvas poseen una pendiente inicial que es independiente de la concentración del anión en solución, lo que demuestra el alto grado de afinidad que presentan los sitios superficiales por estos aniones y, además, se observa decrecimiento de esta afinidad a medida que se saturan los sitios activos. Las isotermas de adsorción de fosfato presentan curvas de tipo-H (Giles *et al*., 1974; Sposito, 1984) indicando un mayor número de sitios de alta afinidad para la adsorción, en cambio, las isotermas de adsorción de molibdato presentan curvas de tipo-L, indicando menor números de sitios; debido a la diferente afinidad de la superficie coloidal por ambos aniones.

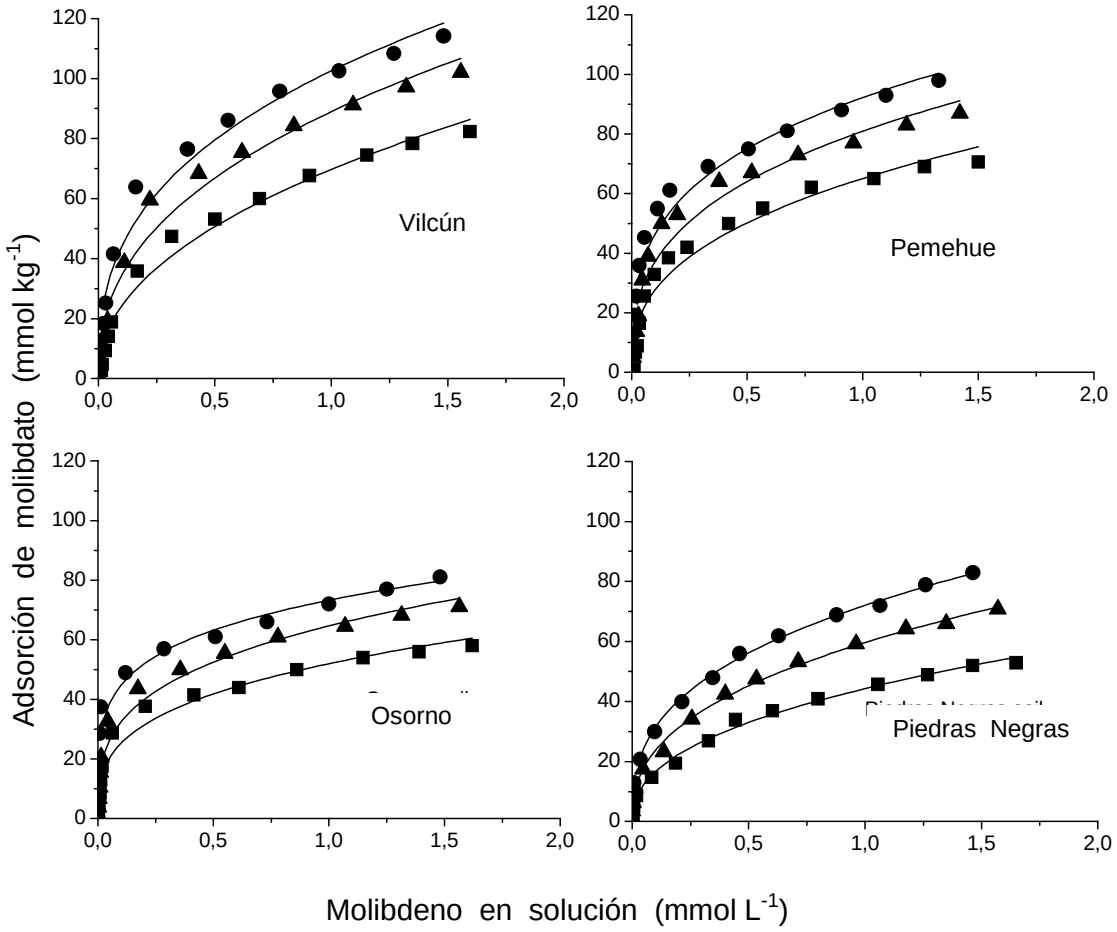


Figura 19. Isotermas de adsorción de molibdato en los suelos Vilcún, Pemehue, Osorno y Piedras Negras, a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte (● pH 4,0; ▲ pH 5,0; ■ pH 6,0: Datos experimentales, —: Datos modelados).

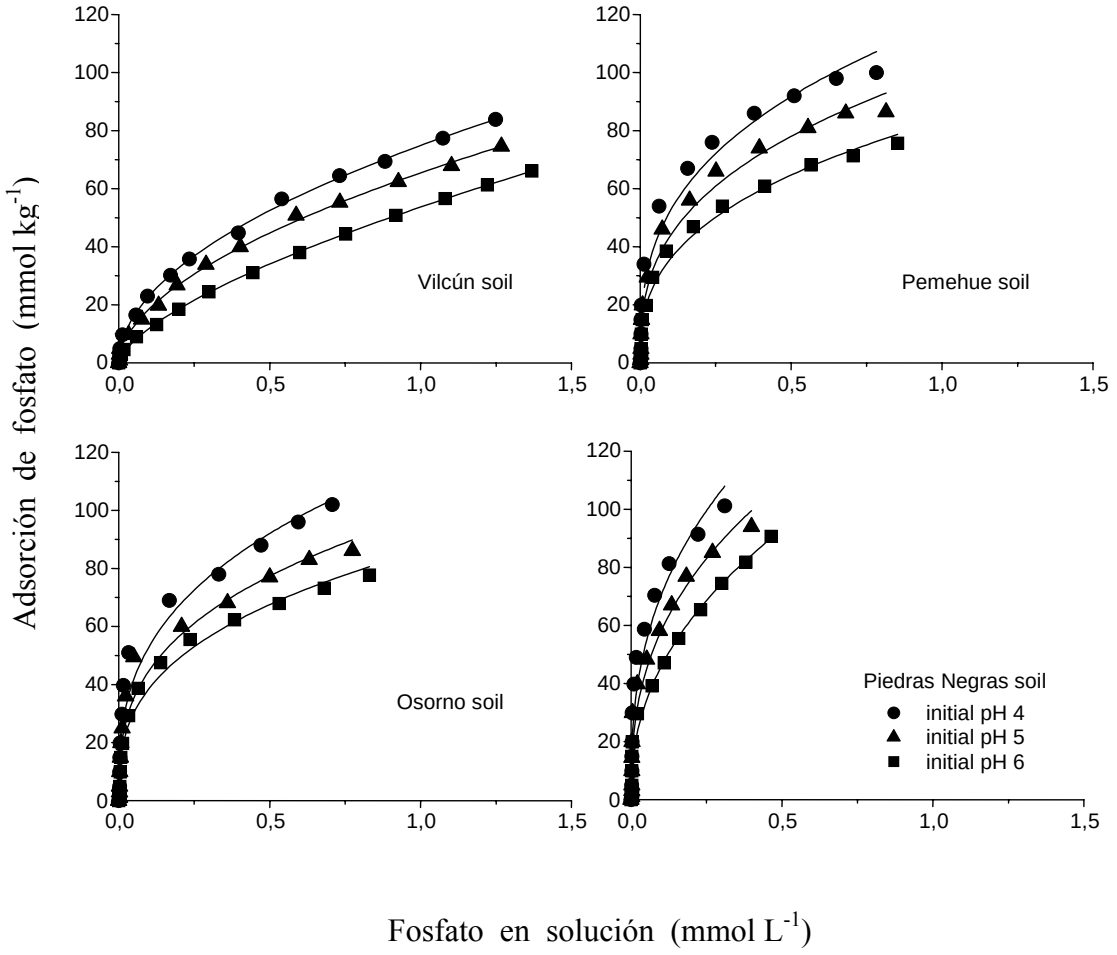


Figura 20. Isotermas de adsorción de fosfato en los suelos Vilcún, Pemehue, Osorno y Piedras Negras, a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte (● pH 4,0; ▲ pH 5,0; ■ pH 6,0: Datos experimentales, —: Datos modelados).

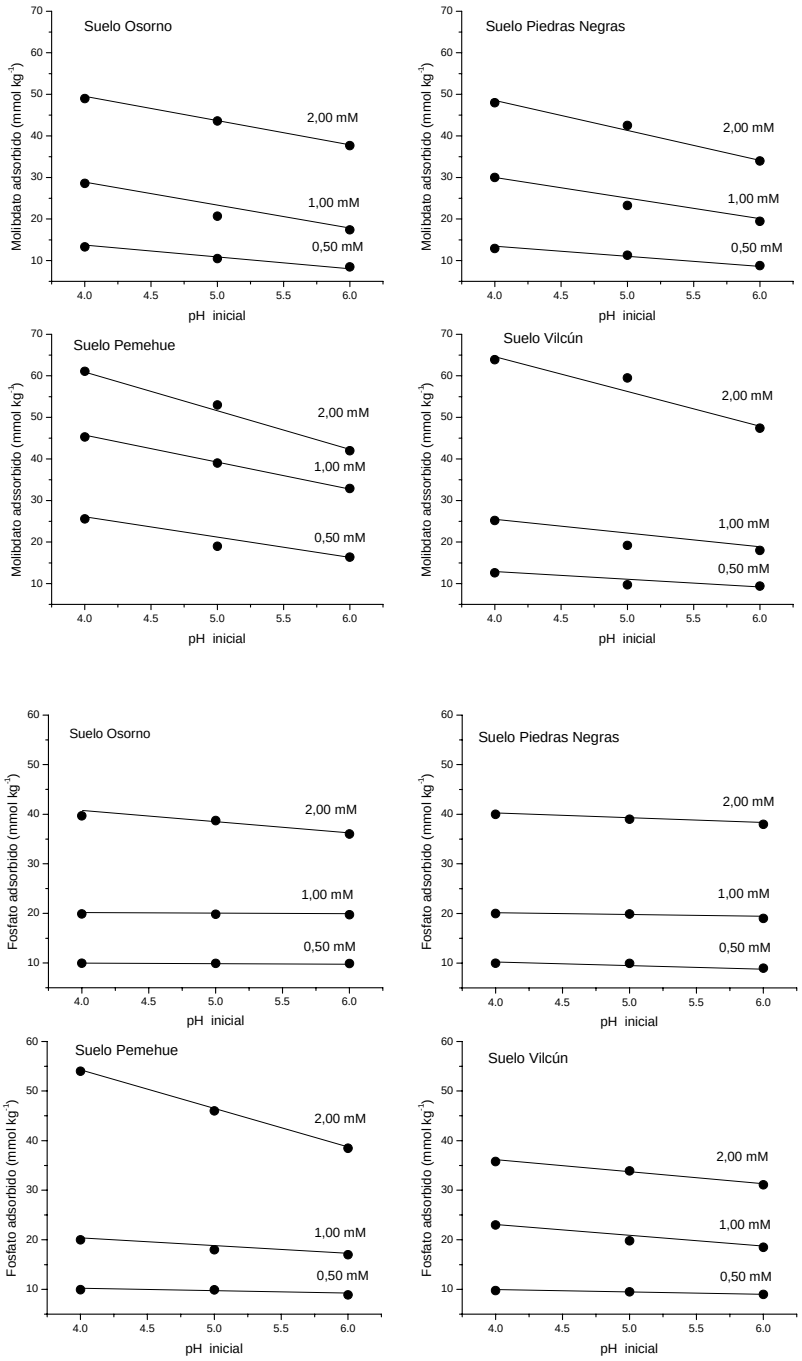


Figura 21. Efecto del pH en la adsorción de molibdato y fosfato en Andisoles a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl.

Los iones metálicos más importantes responsables de la unión de fosfato en los suelos son: Al, Fe y Ca. Según Parfitt (1979), existe incremento en la adsorción de fosfato en presencia de $CaCl_2$ ya que se incrementa la carga positiva por la adsorción de Ca^{+2}, mientras que Barrow (1970) indica el gran efecto del pH en la adsorción de molibdato (aproximadamente 20 veces) que en la adsorción de fosfato. De acuerdo a nuestros resultados este efecto fue mucho mayor y pudo deberse a electrolito de soporte utilizado. Nosotros usamos 0,1 M KCl, considerando que Barrow (1970) usó 0,01 M $CaCl_2$. El decrecimiento en el potencial eléctrico con incrementos en el pH es menor en un sistema que usa Ca^{2+} que en uno que usa K^+, efecto atribuido a la mayor valencia del Ca^{2+} al compararlo con K^+ y a una afinidad especial del Ca^{2+} por la superficie. Esta diferencia tiene mayor efecto en los aniones que forman complejos binucleares con la superficie y para los aniones puede considerarse un (cuasi) equilibrio con los iones divalentes en solución. Nosotros pensamos que éste es el caso para la adsorción de fosfato. Sin embargo, si las especies de molibdato sólo se adsorben a la superficie, como ha sido sugerido por Barrow (1999) entonces los iones adsorbidos pueden considerarse en equilibrio con los iones monovalentes de la solución y los cambios en el potencial eléctrico serían menos importantes.

En cuanto al efecto del pH sobre la adsorción de molibdato y fosfato se habla en general de incremento en la adsorción a valores de pH más ácidos (Parfitt, 1978; Nanzyo & Watanabe, 1981). Ryden *et al*. (1977) sugieren que al bajar el pH y trabajando con fuerza iónica constante se produce un aumento de los sitios positivos $[S\text{-}OH_2]^+$, incrementando la adsorción aniónica. Al respecto, Bolan & Barrow (1984) y Mora & Barrow (1996) indican que el pH de la solución del suelo es el principal factor que controla las propiedades de la superficie en suelos de carga variable. Relacionándose estrechamente a fenómenos de disociación de H^+ por los grupos funcionales OH^- pertenecientes a átomos de Si o Al. De este modo, a medida que incrementa el pH, incrementa, por desprotonación, la carga negativa y, consecuentemente, decrece la capacidad de adsorción aniónica; con la disminución del pH existe protonación de los sitios activos y, por lo tanto, incremento de la carga positiva, aumentando la capacidad de adsorción aniónica (Bolan *et al*., 1999).

Los modelos que describen el mecanismo de intercambio de ligandos en los óxidos pueden ser aplicados a los suelos; debido a que los óxidos son los principales responsables del comportamiento de ligandos en los suelos. Los mecanismos generales propuestos para la adsorción de molibdato son aparentemente similares a los propuestos para la adsorción de fosfato. En estos resultados se usó el programa Molly.bas (Barrow, 1987) para calcular el efecto de las diferentes concentraciones de molibdato y el pH final, encontrándose que molibdato se presenta principalmente como monómeros y que a concentraciones altas y bajo condiciones de pH ácido puede condensarse formando iso- o hetero-polimolibdatos (Figura 22a). A pH 4,0 (es decir menor PCC; Tabla 7), ocurre un rápido intercambio de ligandos entre $HMoO_4^-$ o $H_2PO_4^-$ y $-OH^-$, junto con el intercambio de ligandos de $HMoO_4^{2-}$ o $H_2PO_4^{2-}$ y $-OH_2^+$ que reaccionan con la superficie de carga variable de tal forma que transfieren carga de la solución a la superficie, la cual debe ser balanceada por incremento de la adsorción de los iones del electrolito de soporte y por nuevos cambios en la carga superficial (Bolan & Barrow, 1984). Ésta puede ser una de las razones de la fuerte dependencia del pH y de la máxima adsorción o inflexión de la curva de adsorción que ocurre a valores de pH que corresponden a los valores de pK de las especies ácidas formadas. De acuerdo, a Hingston *et al*. (1972) la adsorción específica disminuye si se realiza a valores de pH más altos que el PCC, donde la superficie se encuentra cargada negativamente.

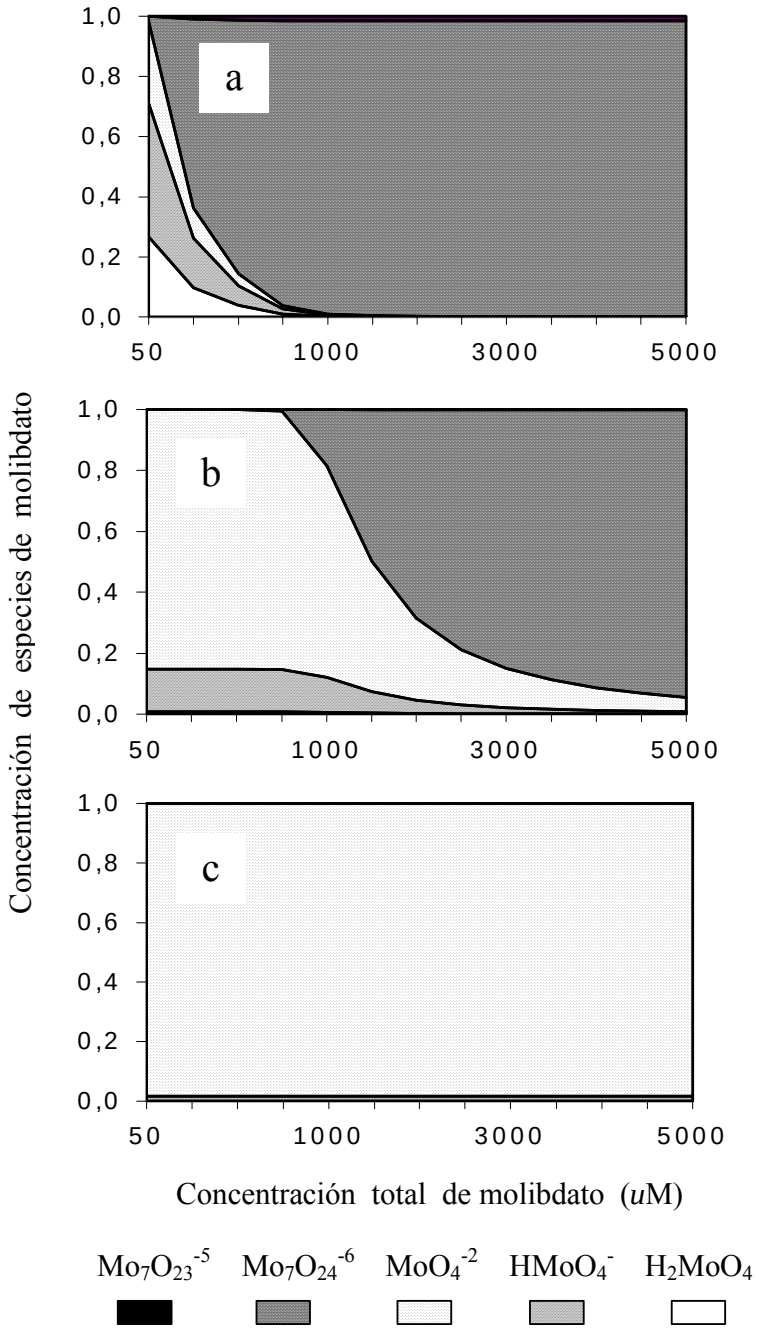


Figura 22. Efecto de la concentración de molibdato en solución en la distribución de espécies de molibdato a pH 4,0 (a); pH 5,0 (b) y pH 6,0 (c).

Para ácidos incompletamente disociados, la mayor adsorción específica ocurre a valores de pH cercanos al pK_a del ácido, en el cual la energía requerida para atraer el H^+ es mínima (Barrow & Whelan, 1989). El H^+ es requerido para remover de la superficie los iones OH^- que se intercambian con el anión. Goldberg *et al*. (2002) ha informado que la adsorción máxima de Mo ocurre entre el rango de pH 2,0-5,0 y que decrece rápidamente con incrementos entre el rango de pH 5,0-8,0 llegando a un mínimo de adsorción a pH 9,0 en suelos USA. Sin embargo, McKenzie (1983) reporta una adsorción máxima bajo pH 3,3 en óxidos con bajo PCC.

Cuando el pH está bajo el PCC de los óxidos, pueden haber reacciones de intercambio de ligandos entre los iones molibdato o fosfato y los sitios cargados positivamente o sitios neutros, reemplazando los iones –OH o moléculas de H_2O, que cambian la carga neta superficial del suelo. En este estudio, PCC de estos Andisoles en presencia de molibdato o fosfato no fue evaluado, Bolan *et al*. (1986) indicaron que, en suelos alofánicos neozelandeses, decrece el PCC de 4,6 a 3,2 con el aumento de la adsorción de fosfato lo que se atribuye al incremento en la carga negativa superficial debido a la adsorción de fosfato.

Durante el proceso de adsorción de molibdato se observan variaciones de pH en el transcurso de la realización de las isotermas, ambos consumo de iones H^+ y desplazamiento de iones OH^- causan incremento de casi una unidad de pH final en relación al pH original en la solución de suelo (Figura 23), corroborando losresultados obtenidos por El Shafei *et al*. (2001). González *et al.* (1974) indican que incrementos del pH decrecen la adsorción de molibdato al observar inflexión en la curva de adsorción aproximadamente a pH 5,5 en suelos volcánicos de nuestro país. Rodríguez (1993) y Alfaro (1994), realizaron un ajuste de pH a cada una de las muestras, sin embargo los valores finales de pH presentaron igualmente la misma tendencia. Estas variaciones se podrían explicar debido a la liberación de iones OH^- desde la superficie coloidal hacia la solución del suelo; debido a que ambos aniones son adsorbidos específicamente a través del mecanismo de intercambio de ligandos neutralizando la carga negativa neta de la capa de coordinación donde se intercambian con grupos Fe-OH, Al-OH, $Fe\text{-}OH_2^+$ y $Al\text{-}OH_2^+$ superficiales (Nanzyo & Watanabe, 1981; Goldberg & Sposito, 1985; Yuan *et al*., 2000).

A pH 5,0 y 6,0 (es decir mayor PCC; Tabla 7) los monómeros de molibdato dominan la solución (Figura 22b, 22c). Este incremento de pH incrementa la carga negativa en la superficie que decrece la adsorción de molibdato o fosfato en estos suelos (Figuras 17 y 18).

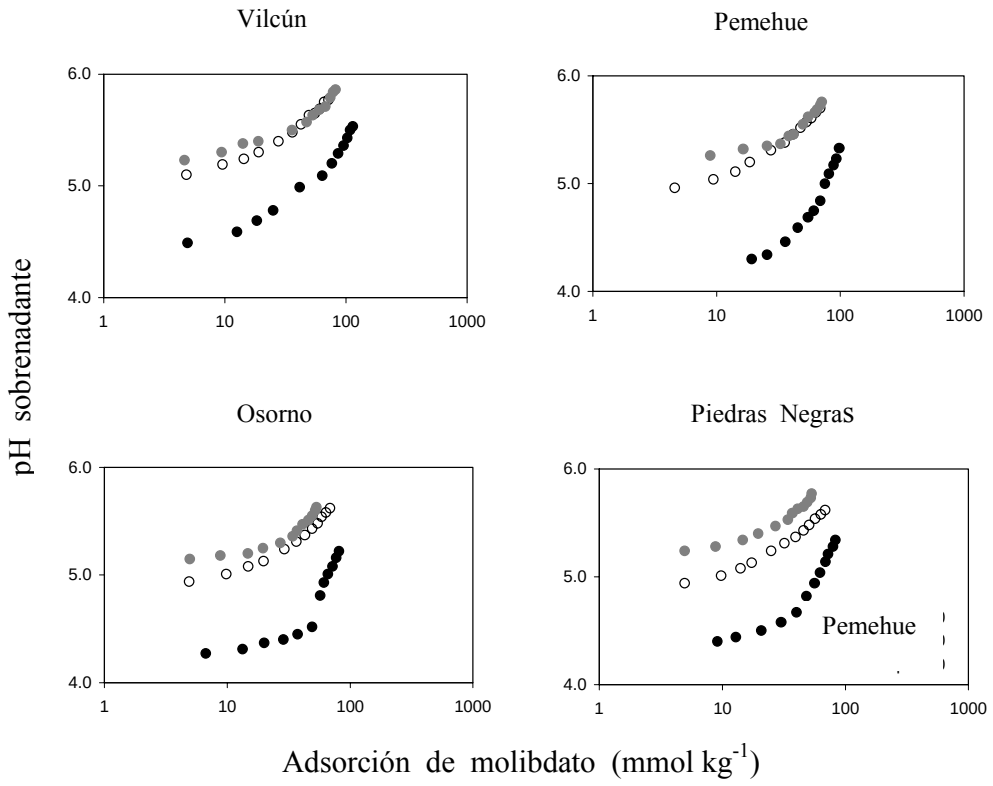


Figura 23. Efecto del pH del sobrenadante sobre la adsorción de molibdato en los suelos Vilcún, Pemehue, Osorno y Piedras Negras, a 25 ± 0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte (•: pH inicial 4,0; ○: pH inicial 5,0 y ●: pH inicial 6,0).

Los datos experimentales fueron modelados a través de la ecuación de Freundlich (Figuras 19 y 20), observándose dos regiones lineales diferentes que indican la presencia de superficies heterogéneas en estos suelos. Los datos experimentales de ambos aniones fueron adecuadamente descritos por la ecuación de Freundlich con R^2 >0,921 (Tabla 10). En general,

en estos Andisoles el orden de reacción de estos aniones fue fosfato >> molibdato, lo cual era esperable según el tipo de interacción que presentan estos aniones, corroborando los estudios reportados por Barrow (1999) quien indica que la afinidad de adsorción de fosfato es de 0,047 y para molibdato es de 0,003 indicando que fosfato se adsorbe en mayor cantidad que molibdato. Los parámetros obtenidos indican que la capacidad de adsorción (*a*) fue mayor para fosfato en todos los suelos excepto en el suelo Vilcún que presentó mayor capacidad de adsorción de molibdato. La energía de adsorción (*b*) de fosfato fue mayor que la de molibdato. En general, en estos suelos ambas constantes en ambos aniones disminuyen a medida que decrece la adsorción por incrementos del pH. Este comportamiento ha sido reportado por Barrow (1999) a través de modelos mecanísticos. Por otro lado, los diferentes contenidos de óxidos de Fe y Al se han considerado como responsables de la adsorción de molibdato y fosfato en suelos a diferentes niveles de pH (Bibak & Borggaard, 1994; Goldberg & Forster, 1998).

En general, el valor de la constante *a* indica mayor capacidad de adsorción de fosfato que de molibdato en estos Andisoles bajo los diferentes niveles de pH evaluados (Tabla 10), excepto en el suelo Vilcún. Estas diferencias se pueden atribuir a las características físico-químicas que presentan estos Andisoles (Tablas 2, 4 a 6). Los suelos Osorno y Piedras Negras presentan altos contenidos de alofán y mayor número de sitios activos que los suelos Vilcún y Pemehue. Pero los suelos con mayores contenidos de alofán presentan baja afinidad por molibdato en relación a fosfato que puede influenciar la biodisponibilidad de Mo en estos suelos. Por otro lado, los suelos Vilcún y Pemehue presentan mayor SSA y altos contenidos de óxidos cristalinos indicando que estos suelos presentan mayor posibilidad de adsorber aniones, como molibdato que los suelos Osorno y Piedras Negras.

El orden de reactividad del molibdato en estos Andisoles disminuyó en siguiente orden: Vilcún> Pemehue> Osorno> Piedras Negras. En cambio, la reactividad de fosfato disminuyó en el orden inverso: Piedras Negras> Osorno> Pemehue> Vilcún.

Tabla 10. Parámetros de la ecuación de Freundlich que describen la adsorción de molibdato y fosfato a diferentes pH.

Suelo	pH 4,0			pH 5,0			pH 6,0		
	Parámetros (mmol kg^{-1})								
	a	*b*	R^2	*a*	*b*	R^2	*a*	*b*	R^2
Molibdato									
Vilcún	102,56	0,366	0,983	88,95	0,411	0,980	69,66	0,459	0,982
Pemehue	92,26	0,298	0,966	80,94	0,339	0,951	65,03	0,373	0,951
Osorno	73,25	0,213	0,984	64,63	0,299	0,971	52,00	0,313	0,964
P. Negras	72,03	0,359	0,997	59,65	0,399	0,996	44,30	0,424	0,995
Fosfato									
Vilcún	74,87	0,512	0,998	65,45	0,549	0,998	53,67	0,657	0,999
Pemehue	116,70	0,347	0,963	100,01	0,358	0,972	83,45	0,367	0,979
Osorno	116,69	0,342	0,946	97,97	0,341	0,948	85,97	0,348	0,971
P. Negras	167,63	0,376	0,921	142,17	0,388	0,948	125,99	0,438	0,975

3.7 Efecto del fosfato en la adsorción de molibdato

Los resultados de las isotermas de adsorción competitiva entre fosfato y molibdato se presentan en las Figuras 24 y 25. En la Figura 24 observamos el efecto de varios niveles de fosfato sobre la adsorción de molibdato.

En general, en estos Andisoles, la adsorción de molibdato decrece 10%, 20% y 28% con los diferentes incrementos en la concentración de fosfato (0,5; 1,0 y 2.0 mM), indicando una mayor competencia de fosfato por los sitios de adsorción. Este comportamiento fue mayor en los suelos Pemehue y Piedras Negras que en los suelos Vilcún y Osorno.

Hingston *et al*. (1972) indican que competencia de aniones adsorbidos específicamente incrementan la carga negativa neta de la superficie coloidal. Estudios realizados por Bolan *et al*. (1986) indican que este tipo de adsorción debe ser balanceada por incremento de la adsorción de los iones del electrolito de soporte y por nuevos cambios en la carga superficial que se atribuye incrementos en la carga negativa superficial debido a este proceso de adsorción.

Este fenómeno es importante porque el aumento de la carga negativa como resultado de la reacción de fosfato disminuye la capacidad de adsorber fosfato adicional (Barrow, 1979). Este razonamiento es factible de ser aplicado al molibdato, es decir su adsorción decrecería, como se observa en este caso (Figura 24).

Hingston *et al*. (1972) indican que en ocasiones a pesar de las condiciones del medio no existe competición aniónica, debido a que los sitios de adsorción son selectivos (sólo ingresar uno de los iones en competencia). Dentro de los factores que decrecen la adsorción de molibdato es factible incluir el efecto estérico debido al gran volumen del anión molibdato. Estos factores justifican un retardo en la adsorción de molibdato debido a la presencia de fosfato, y por ende, se puede hablar de la existencia de un efecto cinético.

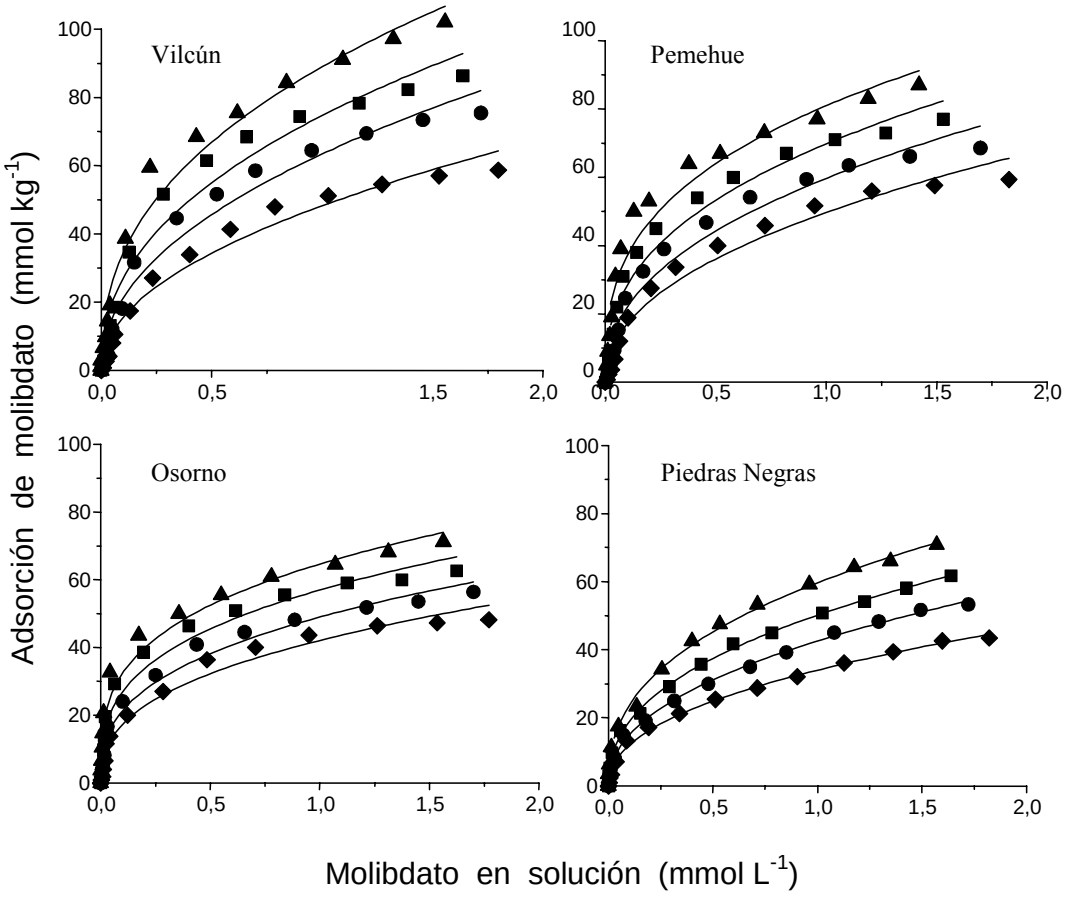


Figura 24. Adsorción competitiva entre molibdato y fosfato en los suelos Vilcún, Pemehue, Osorno y Piedras Negras, a 25±0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte (—: Datos modelados; Datos experimentales: P1 (▲) 0 mM P, P2 (■) 0,5 mM P, P3 (●) 1,0 mM P, P4 (♦) 2,0 mM P).

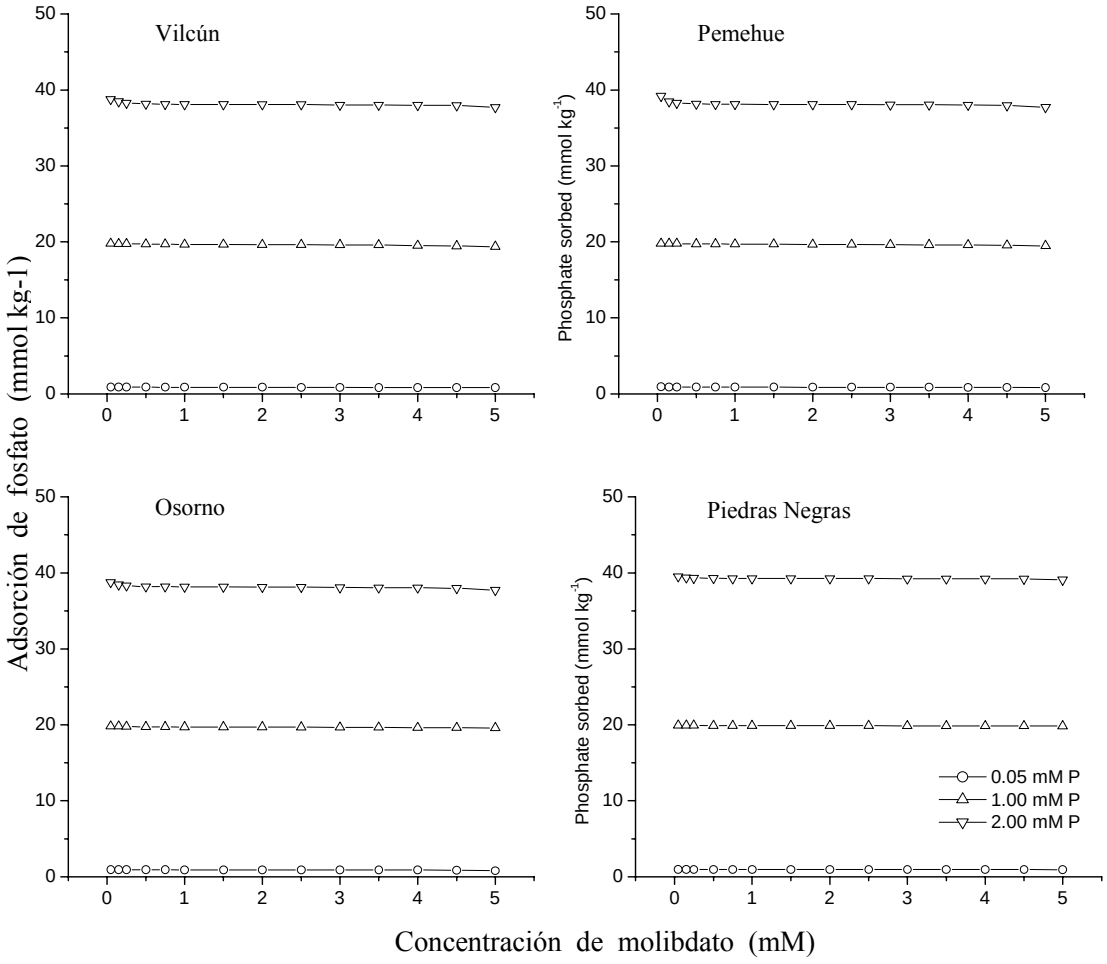


Figura 25. Efecto del molibdato sobre la adsorción de fosfato en los suelos Vilcún, Pemehue, Osorno y Piedras Negras, a 25±0,1ºC y 0,1 M KCl como electrolito de soporte (○: 0,5 mM P; Δ: 1,0 mM P; ∇: 2,00 mM P).

Los datos experimentales de las diferentes isotermas de adsorción competitiva, en estos cuatro Andisoles, fueron modelados por la ecuación de Multicomponentes de Freundlich (Tabla 11) modificada para estos resultados por Dr. N. J Barrow. En las Figuras 21 y 22, se observa un muy buen ajuste de los datos modelados por a través de esta ecuación, tanto para la adsorción de molibdato como de fosfato con coeficientes de determinación significativos que fluctuaron entre 0,947-0,996 en estos Andisoles.

Los parámetros obtenidos indican que la capacidad de adsorción de fosfato (a_P) fue mayor que la capacidad de adsorción de molibdato (a_{Mo}). A su vez, el coeficiente de competitividad de molibdato sobre fosfato ($K_{P,Mo}$) fue muy bajo en relación al coeficiente de competitividad de fosfato sobre molibdato ($K_{Mo,P}$). El comportamiento de estos Andisoles, corrobora el nulo efecto que ejerce molibdato sobre la adsorción de fosfato (Figura 16) como se observa en los parámetros obtenidos en la Tabla 11.

Los valores de estas constantes indican que la adsorción competitiva entre molibdato y fosfato no es simétrica, sugiriendo que la competición no sólo involucró los sitios de adsorción sino que también incluyó el efecto en el potencial eléctrico que sigue a la penetración en la superficie. Similares resultados han sido reportados por Barrow *et al*. (2005) en estudios de adsorción competitiva de arsenato y fosfato en un suelo australiano.

Los sitios disponibles para la adsorción de ambos aniones reflejan bajos valores de la constante $K_{P,Mo}$ y altos valores de la constante $K_{Mo,P}$ (Tabla 11), corroborando los resultados obtenidos por Xu *et al*. (2005) en estudios de competencia entre molibdato fosfato sobre pirita y goethita. Sin embargo, las mayores concentraciones de fosfato fueron más eficaces en disminuye la adsorción de molibdato que compitió por sitios comunes en la superficie coloidal heterogénea e incrementó tanto la carga negativa neta como la repulsión electrostáticas derivada de la penetración en la capa de coordinación (Barrow, 1999; Barrow *et al*., 2005). Éstos resultados (alta concentración de fosfato) son opuestos a lo reportado por Roy *et al*. (1986a y, b) quienes concluyeron que fosfato y molibdato compiten de forma similar para los mismos sitios de adsorción en la superficie coloidal.

Tabla 11. Parámetros de la ecuación de Multicomponente de Freundlich que describen la adsorción competitiva entre molibdato y fosfato.

	Parámetros			
	a_i or a_j	b_i or b_j	K_{ij} or K_{ji}	R^2
Vilcún				
i = Mo, j = P	57,557	0,358	0,009	0,991
i = P, j = Mo	61,494	0,311	3,295	0,995
Pemehue				
i = Mo, j = P	60,687	0,305	0,026	0,947
i = P, j = Mo	82,781	0,427	6,030	0,994
Osorno				
i = Mo, j = P	57,430	0,286	0,000	0,996
i = P, j = Mo	85,340	0,440	2,849	0,995
Piedras Negras				
i = Mo, j = P	51,957	0,498	0,008	0,996
i = P, j = Mo	134,541	0,486	4,525	0,990

Roy *et al*. (1986b) aplicaron el modelo de SRS para estudiar los coeficientes de competencia en la adsorción de arseniato, molibdato y fosfato en tres suelos australianos. Ellos encontraron que la adsorción de arseniato y molibdato en todos los suelos decreció significativamente por la presencia de fosfato; debido a interacciones competitivas. En el sistema de soluto-suelo, encontraron que dos de los tres suelos estudiados decreció la adsorción de arseniato en presencia de molibdato; debido a que arseniato no compitió fuertemente con la adsorción de

molibdato. En el contraste, la adsorción de arseniato en uno de los suelos fue independiente de molibdato; debido a que la presencia de arseniato disminuyó la adsorción de molibdato. Por otro lado, estudios competitivos realizados por Wu *et al*. (2002) indican un efecto de concentración que genera disminución en la adsorción de molibdato, debido al incremento de la adsorción de la mezcla de aniones en relación a los aniones solos.

En estos Andisoles, la diferencia en el orden de competición entre fosfato y molibdato puede atribuirse a: i) la competición entre ambos aniones está influenciada por la diferente capacidad de adsorción aniónica (discutido previamente), ii) la mayor adsorción de fosfato y molibdato en conjunto que, cada anión por separado, iii) el incremento en la adsorción de fosfato bloquea los sitios de adsorción de molibdato, evidenciando que ambos aniones son adsorbidos por mecanismos similares, iv) el incremento en la adsorción de fosfato genera nuevos sitios de adsorción incrementando la adsorción de fosfato (fosfato es más competitivo que molibdato).

El orden de reactividad del fosfato sobre molibdato en estos Andisoles disminuyó en siguiente orden: Pemehue> Piedras Negras> Vilcún> Osorno.

3.8 Selección de los suelos para estudios de invernadero

En relación a los resultados de los contenidos de Mo foliar (Tabla 12) de las praderas asociadas a estos Andisoles, existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los diferentes suelos evaluados, donde los suelos Pemehue y Piedras Negras presentan los mayores contenidos y, por ende, un mayor potencial de acumulación de Mo en comparación a los demás suelos evaluados.

Tabla 12. Contenidos de molibdeno foliar en las praderas mixtas asociadas a los Andisoles en estudio.

Suelo	Vilcún	Pemehue	Osorno	P. Negras
Mo foliar (mg kg^{-1}) [1]	0,117 b	0,234 a	0,187 b	0,205 a

Cifras con letras diferentes indican diferencias significativas según Prueba de Comparación Múltiple de Promedios de Tukey ($p < 0,05$).

[1] Extractado con HCl (Sadzawka *et al*., 2004).

Por otro lado, observamos que ninguna de las praderas evaluadas presenta una concentración de Mo foliar para una adecuada nutrición vegetal (1 ppm) y, de acuerdo, al NCR (2001) también son deficientes para la nutrición animal. La deficiencia de Mo observada se atribuye al déficit de Mo disponible (< 1 ppm) que presentaron los suelos asociados a estas praderas (Tabla 2).

En base a estos antecedentes y a la caracterización química (Tabla 4), estimación de las diferentes formas de Al y Fe activos (Tabla 5), características superficiales (Tabla 7), parámetros cinéticos (Tabla 9) y los diferentes órdenes de reactividad de estos Andisoles (Tablas 10 y 11), fueron seleccionados los suelos Pemehue y Piedras Negras para realizar los estudios bajo condiciones de invernadero, cuyos resultados se presentan a continuación.

3.9 Efecto de la dosis de Mo sobre el contenido de Mo foliar y absorción de Mo en trébol blanco.

La aplicación de dosis crecientes de Mo en ambos suelos incrementó la absorción de Mo (Figura 26) y por ende, la concentración de Mo foliar (Figura 27) en todos los tratamientos, particularmente en los suelos encalados. Esto coincide con reportes de Reith *et a*l. (1984) quienes indican que la aplicación de Mo aumentó la concentración de Mo en la pradera, y este aumento fue mayor en trébol (1,9 a 11,9 mg Mo kg^{-1}) que en ballica (1,4 a 6,9 mg Mo kg^{-1}). La aplicación de Mo puede sustituir fuertes encalados para estimular el crecimiento del trébol blanco, pero esta substitución precedería el beneficio extra del encalado en lugar de Mo.

El aumento en la absorción de Mo se debe al mayor rendimiento de materia seca y a la mayor concentración de Mo foliar en trébol blanco. A su vez, Liu *et al*. (2005), quienes evaluaron el efecto de Mo sobre el crecimiento de tres variedades de sorgo, indicando que Mo incrementó tanto el volumen como el peso radical, además, de incrementar el rendimiento y la tasa fotosintética foliar, corroborando los resultados obtenidos por Deng & Zhang (2003). Bailey & Laidlaw (1999) indicaron que el efecto beneficioso de la cal en rendimiento de materia seca de trébol blanco es el resultado del beneficio directo de la mayor disponibilidad de P.

Se ha demostrado que la concentración de Mo en las plantas varía ampliamente en respuesta a la concentración de Mo en la solución del suelo, al pH, así como también con la especie vegetal. Por ejemplo, Spedding & Diekmahns (1972), Mills & Davies (1987), Jones *et al*. (1991) y Whitehead (2000) indicaron que la concentración de Mo en trébol blanco fluctúan entre 0,1 a 4,0 mg Mo kg^{-1}; 2,0-10,0 mg Mo kg^{-1} y 0,02-40,0 mg Mo kg^{-1}, respectivamente. Las praderas que contienen 20-100 mg Mo kg^{-1} causan toxicidad por Mo, principalmente en ganado bovino y ovino; debido a que Mo inhibe la absorción de Cu (NCR, 2001). El pH del suelo es un importante factor que influencia el contenido de Mo en las praderas y este aumento se puede inducir con el encalando (Schuman, 1998; Adriano, 2001).

La aplicación de P junto con la fertilización de Mo aumentó la concentración foliar de Mo entre un 10-30% y la absorción de Mo entre un 20-40% en los suelos sin y con cal comparado

con la aplicación de sólo Mo (Figuras 26 y 27). Similar interacción positiva (P/Mo) incide en la mayor absorción de Mo por la alfalfa (Khattak *et al*., 1991). Estos resultados probablemente implican que la fertilización fosfatada afecta la disponibilidad de la aplicación de fuentes de Mo que la reserva de Mo disponible en estos Andisoles.

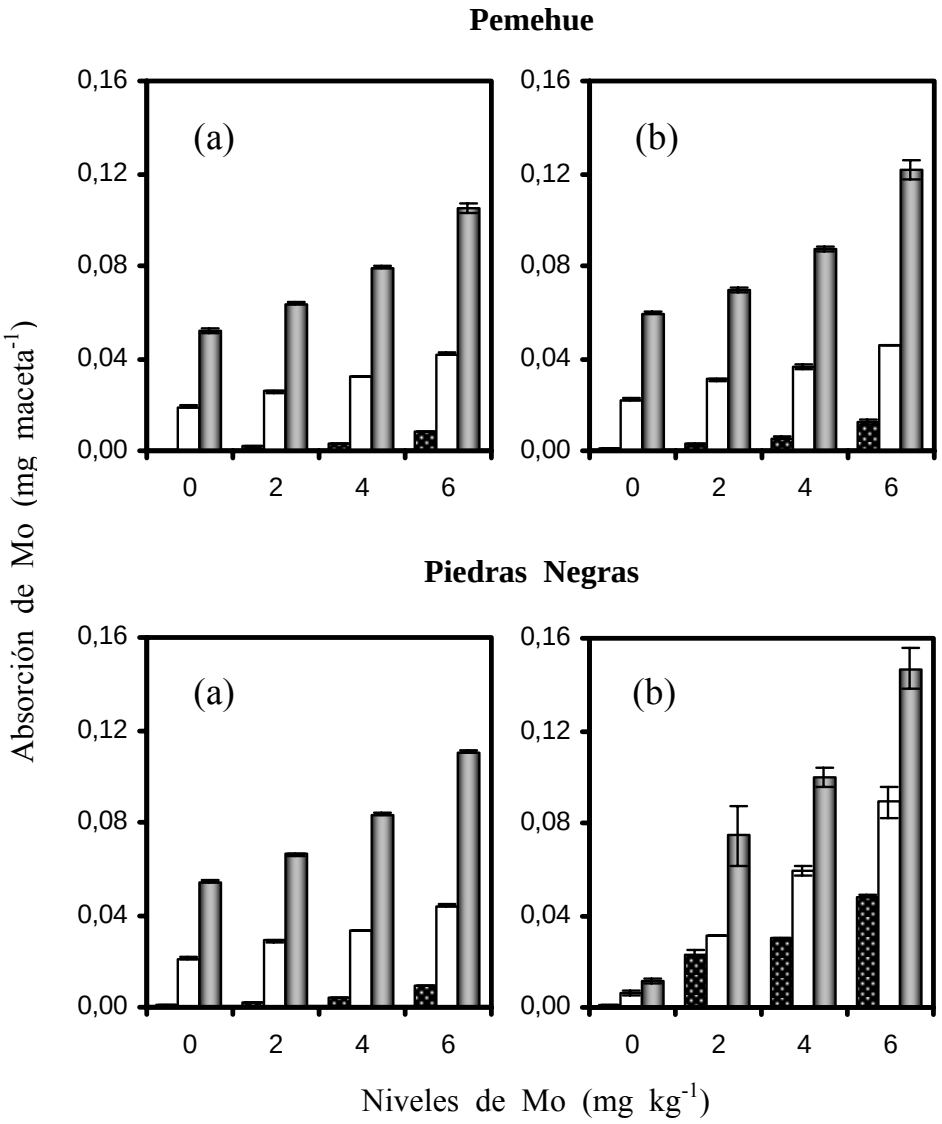


Figura 26. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la absorción de molibdeno en trébol blanco (▩ 0 mg kg^{-1} P, □ 100 mg kg^{-1} P, ▬ 200 mg kg^{-1} P)

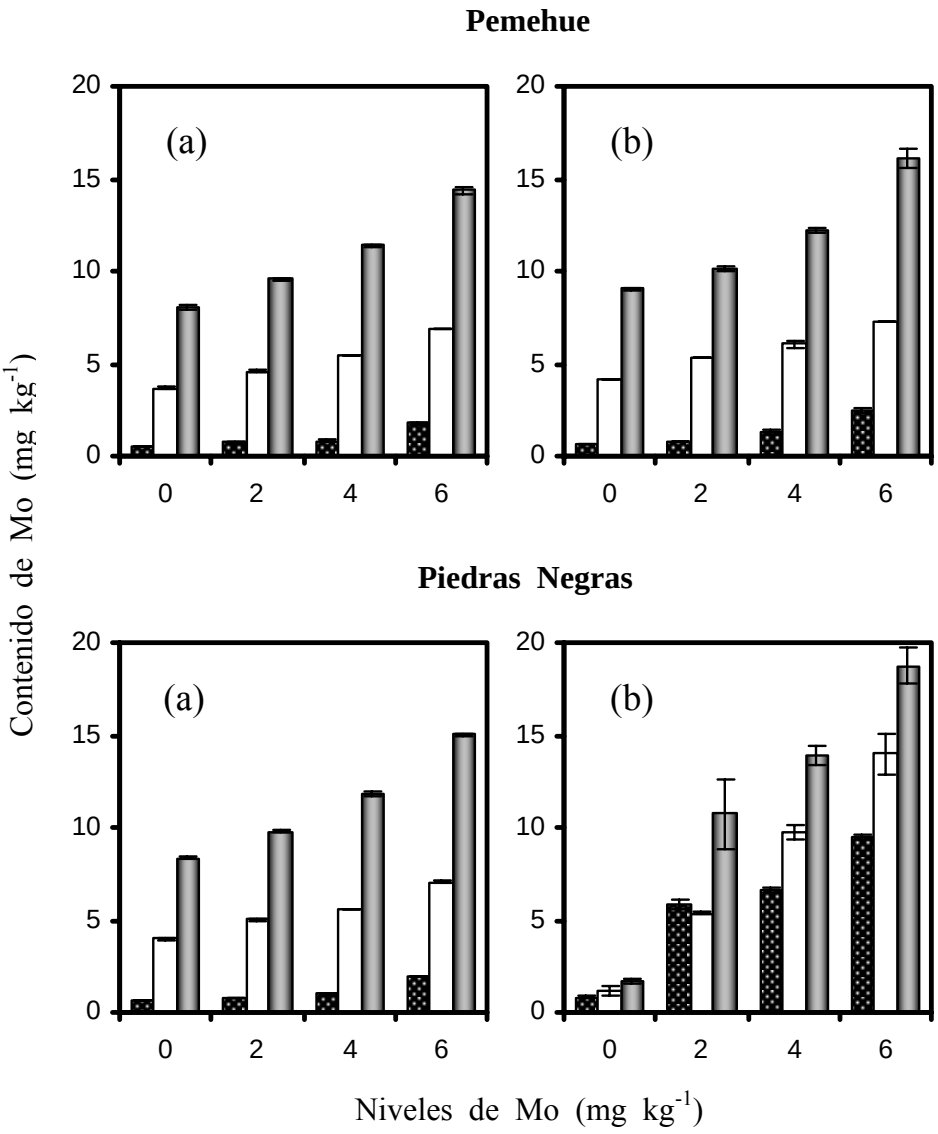


Figura 27. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la concentración de molibdeno foliar de trébol blanco. (▩ 0 mg kg^{-1} P, □ 100 mg kg^{-1} P, ▬ 200 mg kg^{-1} P).

Los resultados indicaron que el crecimiento de trébol blanco fue afectado por el efecto sinérgico de las aplicaciones de P y cal, probablemente debido a la reducción de los problemas asociados con la acidez (es decir, bajo pH, deficiencias de P y Mo, y a la toxicidad por Al).

Sugiriendo, que la enmienda calcárea que proporciona un pH (5,9) adecuado para incrementar la cantidad de especies solubles de molibdato en la solución del suelo para la absorción de la planta; semejantemente al efecto competitivo de P en la adsorción de Mo que aumenta la disponibilidad de Mo para esta especie.

Corroborando el efecto del pH y el efecto del sinérgico que ejerce P sobre Mo, informado por Summer & Farina (1986), Khattak *et al*. (1991), Razmjoo & Henderlong (1997) y Bolan *et al*. (2003). El fosfato estimula la formación del complejo fosfomolibdato que es absorbido más rápidamente por las plantas (Mandal & Mandal, 1998). Este efecto, se acentúa aún más en el suelo Piedras Negras debido a que los estudios previos de adsorción (Capítulo I) indicaron menor capacidad de adsorción de molibdato en este suelo en particular. La respuesta vegetal a aplicaciones de Mo en condiciones de campo es más efectiva en suelos ácidos (Adriano, 2001) y, por ende, la disponibilidad de Mo en la solución de suelo incrementa significativamente en suelos con enmienda (Rosolem & Caires, 1998; Quaggio *et al*., 2004).

La concentración de Mo foliar (Tabla 13), se encontraron dentro del rango considerado suficiente en los suelos sin Cal 0 ppm P/0 a 6 ppm Mo y en el mismo tratamiento con Cal sólo en Pemehue (< 1 ppm) y dentro del rango normal o sobre éste en los demás tratamientos evaluados al primer corte, según lo señalado por Spedding & Dickmahns (1972), Frame & Newbould (1986), Jones *et al*. (1991) y Whitehead (2000) en trébol blanco (1-14,2 ppm Mo). Sólo en ambos suelos encalados y con el tratamiento 200 ppm P/6 ppm Mo se sobrepasa el rango normal al primer corte, pero éste no es considerado nivel tóxico para la nutrición animal, debido a que concentraciones entre 20 ppm kg^{-1} ms induce a deficiencias de Cu causando Molibdenosis (NCR, 2001). Al segundo corte, sólo los tratamientos 0-100 ppm P en los suelos sin encalar presentaron concentraciones suficientes. A su vez, los restantes tratamientos en los suelos encalados indicaron concentraciones normales para esta especie.

Tabla 13. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la concentración foliar de molibdeno en trébol blanco.

Tratamiento			Concentración foliar Mo (%)			
Cal	P	Mo	Primer Corte		Segundo Corte	
	(ppm)		Pemehue	Piedras Negras	Pemehue	Piedras Negras
0 Cal	0	0	0,565 l	0,602 j	0,190 n	0,225 n
		2	0,720 k	0,746 i	0,237 m	0,240 mn
		4	0,847 k	0,978 hi	0,250 m	0,274 m
		6	1,807 j	2,000 h	0,287 m	0,296 m
	100	0	3,677 i	3,980 g	0,317 l	0,348 l
		2	4,563 hi	5,015 f	0,407 l	0,612 l
		4	5,493 h	5,570 ef	1,010 k	1,373 k
		6	6,867 g	7,077 de	1,920 k	2,260 j
	200	0	8,043 f	8,370 d	2,473 j	2,662 j
		2	9,557 ef	9,768 cd	2,767 j	2,826 j
		4	11,370 d	11,835 c	3,023 i	3,277 i
		6	14,390 b	15,005 b	3,533 i	3,663 i
Cal	0	0	0,654 l	0,793 i	3,735 i	3,920 i
		2	0,796 k	5,818 ef	4,144 h	4,338 h
		4	1,272 j	6,648 e	4,455 h	4,625 h
		6	2,520 i	9,510 cd	4,829 h	5,008 g
	100	0	4,112 hi	1,161 hi	5,200 g	5,383 g
		2	5,317 h	5,387 ef	5,750 g	6,287 f
		4	6,052 gh	9,755 cd	6,591 f	6,804 f
		6	7,273 g	13,970 bc	7,071 e	7,544 e
	200	0	9,055 ef	1,701 h	8,018 d	8,444 d
		2	10,162 e	10,735 c	9,374 c	9,885 c
		4	12,250 c	13,928 bc	10,943 b	12,106 b
		6	16,103 a	18,750 a	14,711 a	16,473 a

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

La alta movilidad de Mo en la planta se debe a que forma complejos orgánicos con aminoácidos o azúcares (Mengel & Kirkby, 1987; Romheld & Marschner, 1991; Villora *et al*., 2002). Adriano (2001) indica que la disponibilidad de Mo incrementa con incrementos en el pH del suelo; debido a que la solubilidad del ácido molíbdico (Ec. 12 a 15, punto 3.2, Capítulo I) incrementa la concentración de Mo y de sus formas protonadas (Harmsen & Vlek, 1985).

En estudios de campo, Fedorova & Potatueva (1984), aplicaciones de Mo incrementan el contenido de leghemoglobina y la actividad nitrogenasa en los nódulos de trébol rosado. En contraste, Das Gupta & Basuchaudhuri (1977), Omarov *et al*. (1998), Wang *et al*. (1999), Mendel & Hänsch (2002), Baghour *et al*. (2003) y Villora *et al*. (2003) indican que déficit de Mo decrecen la actividad de la nitrato reductasa generando incrementos en la acumulación de nitrato en las plantas, con muchas implicaciones fisiológicas.

Al comparar, estos resultados con la concentración de Mo foliar de las praderas asociadas a los Andisoles (Tabla 12) podemos observar que los contenidos fluctuaron entre 0,183 a 0,234 mg kg^{-1} de Mo foliar indicando que estas praderas se encuentran muy deficitarias en comparación a los niveles considerados como óptimos (0,2 a 10 mg kg^{-1} de Mo foliar en praderas mixtas) para una adecuada nutrición vegetal, de acuerdo a estudios realizados por Conforth & Sinclair (1984) y Whitehead (2000).

Por otro lado, la interacción de las diferentes dosis de Cal/P y Mo sobre los contenidos de Mo foliar observados en la Tabla 13 indican que los tratamientos sin y con Cal 0 ppm P/0 ppm Mo y 200 ppm P/6 ppm Mo presentaron los valores mínimo y máximo, en ambos suelos, respectivamente, siendo significativamente superiores (p <0,05) al resto de los tratamientos evaluados.

3.10 Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la producción de materia seca de trébol blanco.

El crecimiento del trébol blanco fue más afectado por el efecto sinérgico de las aplicaciones de P y Cal que por la aplicación de Mo (Figura 28), probablemente debido a la reducción de los problemas asociados con la acidez (es decir, bajo pH, deficiencias de P y Mo, y a la toxicidad por Al). Como se observa en los Anexos 1 y 2, el mayor rendimiento de materia seca se obtuvo en los suelos encalados con los niveles más altos de P (100 a 200 mg P kg^{-1}) y Mo (4 a 6 mg Mo kg^{-1}), lo cual se puede explicar por el efecto directo del P aplicado sobre los puntos de crecimiento de trébol blanco, corroborando los estudios realizados por Acuña (1993).

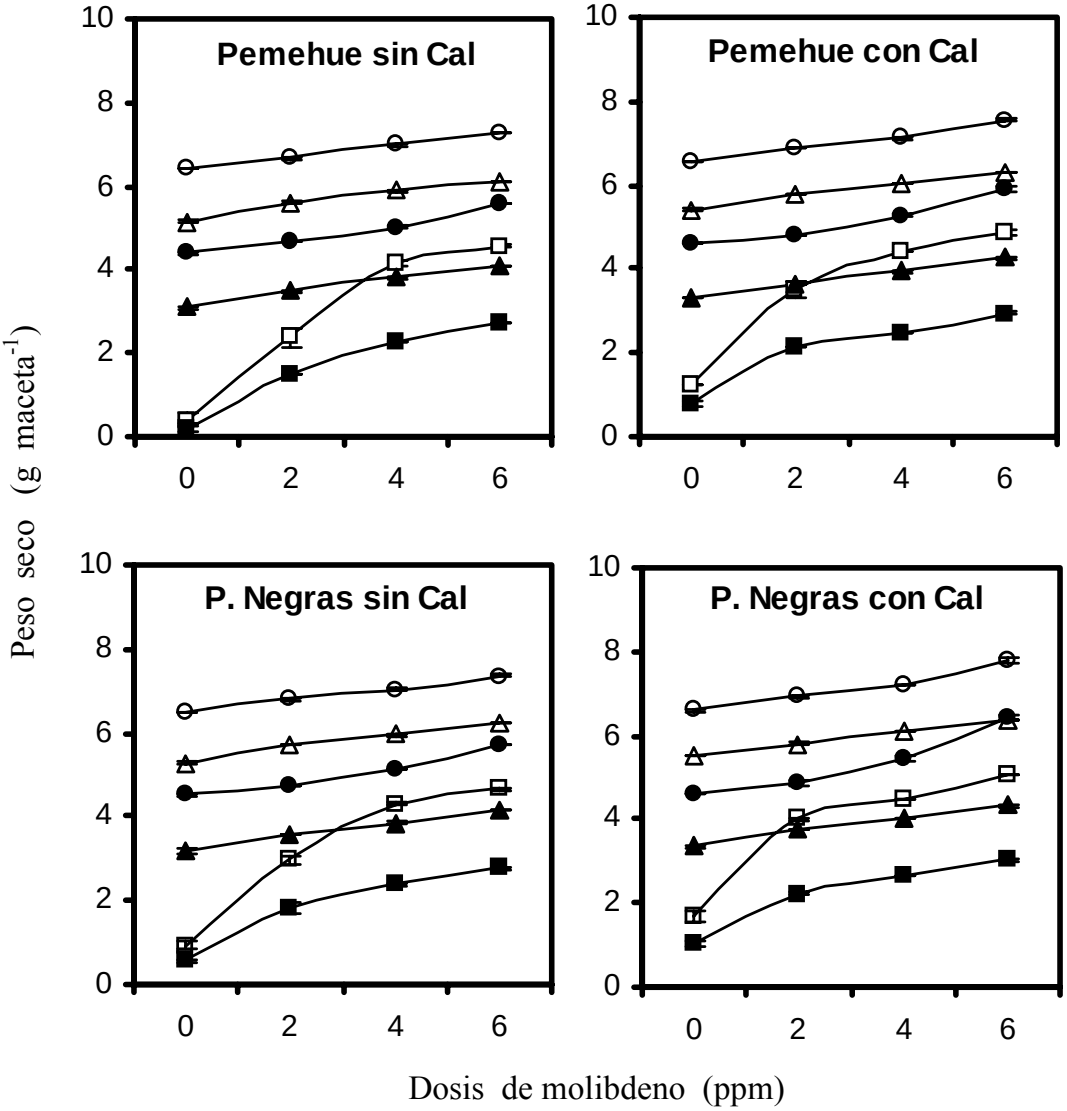


Figura 28. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la producción de materia seca de trébol blanco (Primer Corte: □ 0 mg kg^{-1} P, Δ 100 mg kg^{-1} P, ○ 200 mg kg^{-1} P; Segundo Corte: ■ 0 mg kg^{-1} P, ▲ 100 mg kg^{-1} P, ● 200 mg kg^{-1} P).

Por otro lado, con la buena presencia de trébol blanco observada en este ensayo (suelos con pH 5,9) se logra una eficiente fijación simbiótica de nitrógeno, proceso que también demanda cationes y genera disminución del pH en el entorno radical (Jarvis & Robson, 1983; Ridley *et*

1990). La producción de forraje incrementó aproximadamente entre 15% a 20% por sobre los tratamientos sin la interacción Cal/P en ambos suelos, corroborando los resultado obtenidos por Siebald *et al*. (1996) en praderas de la X Región.

Las producciones alcanzadas fueron muy inferiores a las logradas por Bernier (1985) en dos Andisoles con una aplicación de 100 ppm P en el suelo Osorno (17,3 ton ms ha^{-1}, con 17 ppm P inicial) y en suelo Rapaco (12,6 ton ms ha^{-1}, con 21 ppm P inicial), pero concuerda con la producción de 8,4 ton ms ha^{-1} lograda en suelo Río Bueno con 6 ppm P inicial.

El efecto sinérgico de la interacción Cal/P y Mo sobre la producción de ms de trébol blanco se explicaría por las significativas correlaciones positivas entre Mo; P y Ca foliar y la producción de ms (ver Anexos) con r = 0,848; 0,879 y 0,565 ($p < 0,05$) en el suelo Pemehue al primer corte, respectivamente. A su vez, en el segundo corte, las significativas correlaciones positivas entre Mo; P y Ca foliar y la producción de ms fueron r = 0,570; 0,560 y 0,620 ($P < 0,05$), respectivamente.

De forma similar, en el suelo Piedras negras, el efecto sinérgico de la interacción Cal/P y Mo sobre la producción de ms de trébol blanco se explicaría por las significativas correlaciones positivas entre Mo; P y Ca foliar y la producción de ms con r = 0,733; 0,747 y 0,569 ($p < 0,05$) al primer corte, respectivamente (Anexos 3 a 6). A su vez, en el segundo corte, las significativas correlaciones positivas entre Mo; P y Ca foliar y la producción de ms fueron r = 0,606; 0,598 y 0,633 ($p < 0,05$), respectivamente.

En la Tabla 14 se presenta la producción de ms de trébol blanco al primer corte. El valor mínimo de producción obtenida correspondió a los tratamientos sin Cal 0 ppm P/0 ppm Mo con 0,41 g $maceta^{-1}$ (suelo Pemehue) y 0,94 g $maceta^{-1}$ (suelo Piedras Negras) y, el máximo a los tratamientos con Cal y 200 ppm P/6 ppm Mo con 7,56 g $maceta^{-1}$ y con 7,82 g $maceta^{-1}$ en los suelos Pemehue y Piedras Negras, respectivamente, el cual fue significativamente superior (p <0,05) al resto de los tratamientos evaluados. Estos resultados concuerdan y superan al rendimiento observado por Teuber & Goic (1981), en trébol rosado establecido en primavera

con 6 g maceta^{-1}. Similar tendencia ha sido observada por Campillo & Sadzawka (1992) en una pradera permanente de ballica y trébol blanco sobre suelo Vilcún.

Por otro lado, se observa incrementos en la producción de ms con incrementos de la interacción P/Mo con efecto más pronunciado en los suelos encalados, registrándose diferencias estadísticamente significativas (Tabla 14). En comparación con la aplicación de sólo dosis de Mo que alcanzaron un rendimiento relativo promedio del 48%.

Lo anterior se explica al relacionar las producciones con los parámetros alcanzados en ambos suelos una vez encalados. Podemos observar que la máxima producción fue obtenida con niveles promedio de aproximadamente 10 ppm P; pH 5,9; 10,82 cmol kg^{-1} suma cationes intercambiables; 0,4 cmol kg^{-1} Al intercambiable; 3,56 % saturación Al, en los suelos Pemehue y Piedras Negras.

Tabla 14. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la producción de materia seca, al primer corte de trébol blanco.

Suelo Pemehue Sin Cal

Dosis P (ppm)	0 ppm Mo	2 ppm Mo	4 ppm Mo	6 ppm Mo	Promedio	Rdto. Relativo (%)
0	0,41 k	2,37 i	4,15 g	4,57 fg	2,88	42
100	5,15 ef	5,60 e	5,88 de	6,12 d	5,69	83
200	6,45 c	6,67 bc	6,98 b	7,29 ab	6,85	100
Promedio	4,01	4,88	5,67	5,99		
Rdto. Relativo (%)	67	81	95	100		

Suelo Pemehue Con Cal

Dosis P (ppm)	0 ppm Mo	2 ppm Mo	4 ppm Mo	6 ppm Mo	Promedio	Rdto. Relativo (%)
0	1,24 j	3,51 h	4,42 fg	4,85 f	3,51	50
100	5,40 e	5,77 de	6,04 d	6,30 c	5,88	84
200	6,57 bc	6,86 b	7,13 ab	7,56 a	7,03	100
Promedio	4,40	5,38	5,86	6,24		
Rdto. Relativo (%)	71	86	94	100		

Suelo Piedras Negras Sin Cal

Dosis P (ppm)	0 ppm Mo	2 ppm Mo	4 ppm Mo	6 ppm Mo	Promedio	Rdto. Relativo (%)
0	0,94 h	2,97 i	4,31 g	4,64 fg	3,22	46
100	5,28 f	5,71 de	5,94 d	6,22 d	5,79	84
200	6,50 cd	6,80 c	7,04 bc	7,37 b	6,93	100
Promedio	4,24	5,16	5,76	6,08		
Rdto. Relativo (%)	70	85	95	100		

Suelo Piedras Negras Con Cal

Dosis P (ppm)	0 ppm Mo	2 ppm Mo	4 ppm Mo	6 ppm Mo	Promedio	Rdto. Relativo (%)
0	1,69 j	4,00 h	4,47 g	5,05 f	3,81	53
100	5,52 e	5,81 de	6,09 d	6,38 cd	5,95	83
200	6,61 c	6,93 bc	7,19 b	7,82 a	7,14	100
Promedio	4,61	5,58	5,92	6,42		
Rdto. Relativo (%)	72	87	92	100		

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

Los resultados corroboran la importancia del P en la producción de forraje en leguminosas (May *et al*., 1980; McCuslin *et al*., 1980) junto a mantener valores de pH suficiente 5,8 para esta especie y a reducciones de los niveles de Al intercambiable <4 % para lograr condiciones sin limitaciones tanto en el establecimiento como en la productividad trébol blanco (Frame & Newbould, 1986; Campillo, 1991; Parga, 1993).

Esto concuerda con la recomendación de Parga (1994), quién indica un máximo de 200 ppm P ha^{-1} al momento de establecer praderas de leguminosas y corrobora los resultados obtenidos por Bernier & Teuber (1990), Shah *et al*. (1991), Malhi *et al*. (1992) y Bolan *et al*. (2003), quienes indican un efecto positivo de la aplicación de Cal y P sobre la producción y absorción de nutrientes por las leguminosas.

Las diferencias en producción de los tratamientos con iguales dosis de P pueden ser explicadas debido a que la Cal aumenta la eficiencia de la fertilización fosforada a consecuencia de una mayor capacidad de fijación de P con formación de compuestos fosfatados de Ca, en comparación con los mismos tratamientos sin Cal (Condron *et al*., 1993). Esto concuerda con lo observado por Vivekanandan *et al*. (1991), quienes encontraron efectos significativos de la aplicación de Cal al establecimiento de praderas con leguminosas.

La producción de ms al segundo corte indica que, en general, las producciones alcanzadas por los diferentes tratamientos se encontraron muy por debajo de las logradas al primer corte (Tabla 15). Esto puede deberse, en parte, a la menor recuperación del trébol blanco. Pero se observa la misma tendencia de incrementos en las dosis de interacción P/Mo incrementan los contenidos de ms con diferencias estadísticamente significativas (p <0,05). Los rendimientos relativos se presentan en la Tabla 15, observándose decrecimientos de y 88-90% y <35 % en los tratamientos 100-200 ppm P/4 ppm Mo y 0 ppm P/6 ppm Mo, respectivamente, en ambos suelos.

Tabla 15. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la producción de materia seca, al segundo corte de trébol blanco.

Suelo Pemehue Sin Cal

Dosis P (ppm)	0 ppm Mo	2 ppm Mo	4 ppm Mo	6 ppm Mo	Promedio	Rdto. Relativo (%)
0	0,22 j	1,48 h	2,30 g	2,70 fg	1,675	34
100	3,09 f	3,48 ef	3,80 d	4,08 d	3,61	73
200	4,41 cd	4,68 c	5,03 b	5,59 ab	4,93	100
Promedio	2,57	3,22	3,71	4,13		
Rdto. Relativo (%)	62	78	90	100		

Suelo Pemehue Con Cal

Dosis P (ppm)	0 ppm Mo	2 ppm Mo	4 ppm Mo	6 ppm Mo	Promedio	Rdto. Relativo (%)
0	0,79 i	2,15 gh	2,46 g	2,94 f	2,09	40
100	3,33 ef	3,65 e	3,93 d	4,26 cd	3,79	74
200	4,60 c	4,80 c	5,28 ab	5,93 a	5,15	100
Promedio	2,91	3,53	3,89	4,37		
Rdto. Relativo (%)	66	81	89	100		

Suelo Piedras Negras Sin Cal

Dosis P (ppm)	0 ppm Mo	2 ppm Mo	4 ppm Mo	6 ppm Mo	Promedio	Rdto. Relativo (%)
0	0,56 e	1,80 j	2,39 j	2,78 i	1,88	37
100	3,19 h	3,56 gh	3,86 g	4,17 f	3,70	73
200	4,53 e	4,74 de	5,12 d	5,73 b	5,03	100
Promedio	2,76	3,37	3,79	4,23		
Rdto. Relativo (%)	65	80	90	100		

Suelo Piedras Negras Con Cal

Dosis P (ppm)	0 ppm Mo	2 ppm Mo	4 ppm Mo	6 ppm Mo	Promedio	Rdto. Relativo (%)
0	1,05 h	2,23 f	2,65 ij	3,03 i	2,24	42
100	3,35 h	3,74 gh	4,01 g	4,32 f	3,85	72
200	4,62 de	4,88 de	5,45 c	6,42 a	5,34	100
Promedio	3,01	3,62	4,04	4,59		
Rdto. Relativo (%)	66	79	88	100		

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

En relación al efecto ejercido por la aplicación de Mo sobre los rendimientos relativos, se observa que este fue superior entre 4,61 g maceta^{-1} y 4,95 g maceta^{-1} con las dosis de 4 a 6 ppm Mo sin y con Cal en ambos suelos (Tabla 15). En el caso del P, se observa un efecto positivo al aumentar la dosis de 200 ppm P. Es importante señalar, que los tratamientos alcanzaron mejores condiciones edáficas en los tratamientos con Cal, lo que explicaría las mayores producciones obtenidas y concuerda con las condiciones edáficas consideradas como necesarias para lograr las máximas producciones de esta especie (Parga, 1993; Campillo, 1994; Ortega, 1994).

Por otra parte, tanto los tratamientos sin Cal como los que carecían de P presentaron bajas producciones, incluso llegando prácticamente a desaparecer el trébol blanco en algunos tratamientos. Esto indicaría que bajo estas condiciones, se presentaron altos contenidos de Al en ambos suelos, provocando un efecto negativo sobre las raíces, reduciendo el volumen de suelo explorado y por ende, decreciendo la eficiencia de absorción de nutrientes (Sheppard & Floate, 1984; Kamprath & Foy, 1985; Wheler, 1998). A su vez, corrobora que la toxicidad de Al y deficiencias de Ca, Mg y P son las mayores limitantes para el adecuado crecimiento de leguminosas en muchos suelos acidificados (Fageria *et al*., 1990).

Estudios en Andisoles con diferentes grados de acidificación indican que aplicaciones de enmiendas calcíticas y/o dolomíticas, dependiendo de la química del suelo, mejoran sus propiedades físico-químicas (Mora *et al*., 1999a) e incrementan el rendimiento de ms y la composición mineral de ballica y trébol rosado (Mora *et al*., 1999b). Sin embargo, Thompson & Warren (1979), Simon *et al*. (2004) informan que con la frecuencia de cortes en la pradera decrecen tanto los parámetros morfológicos como los bioquímicos (reservas de C y N).

3.11 Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la calidad mineral de trébol blanco.

Como se observa en la Tabla 16, al primer corte los concentración de P aumentó con los tratamientos sin Cal 200 ppm P y con Cal 100 ppm P. En general, incrementos en las dosis de interacción P/Mo incrementan las concentraciones de P con diferencias estadísticamente significativas (p <0,05). Esto coincide con los resultados reportados por Vivekanandan *et al*. (1991) y Wheller (1998) quienes observaron un incremento en la absorción de P junto con aplicaciones de Cal en trébol rosado y en pradera mixta de ballica y trébol rosado. Sin embargo, al segundo corte, decrecen los contenidos de P en todos los tratamientos; debido a la baja recuperación de esta especie luego del primer corte que, limitó la absorción de P en ambos suelos y los mecanismos de transferencia de energía en los procesos metabólicos para el desarrollo y adaptabilidad de esta especie Jouany *et al*. (2004).

El efecto de la dosis de P sobre la concentración de este nutriente al primer corte, en los tratamientos sin y con Cal aumentó el contenido de P frente a las dosis de 100 y 200 ppm P. Los tratamientos con Cal presentaron un importante aumento de la concentración foliar a medida que se incrementaron las dosis de P. Esto se explicaría porque al reducirse los niveles de Al intercambiable en el suelo se elimina este efecto negativo en la absorción de nutrientes como el P (Golbold *et al*., 1998) esto se manifiesta en la planta al interactuar el Al^{3+} con el P por precipitación en la superficie radical y en la pared celular del ápice radical que reduce el transporte de P desde la raíz al follaje (Wagatsuma & Kaneko, 1987).

La concentración de P (Tabla 16), en los suelos sin Cal, son considerados suficientes (< 0,19 %) con las dosis que sólo consideraron Mo al primer corte y en todos los tratamientos al segundo corte y, dentro del rango normal (0,19-0,47%) a medida que incrementó la dosis de P al primer corte (Spedding & Dickmahns, 1972; Frame & Newbould, 1986; Jones *et al*., 1991; Whitehead, 2000). Estas tendencia se incrementaron en los suelos con Cal.

Tabla 16. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre las concentraciones foliares de P, Ca, Mg, Cu y Fe de trébol blanco.

Suelo Pemehue Primer Corte

Tratamiento			Concentración foliar				
Cal	P	Mo	P	Ca	Mg	Cu	Fe
	(ppm)			(%)		(mg kg^{-1})	
0 Cal	0	0	0,110 g	1,530 g	0,265 h	6,745 f	144,165 g
		2	0,120 g	1,733 e	0,280 gh	7,333 e	163,623 e
		4	0,143 fg	1,827 de	0,296 g	8,327 de	180,046 cd
		6	0,180 ef	1,943 c	0,336 e	8,993 d	215,313 b
	100	0	0,180 ef	1,510 g	0,340 de	8,493 d	146,380 g
		2	0,193 cd	1,660 f	0,356 d	9,493 c	166,066 e
		4	0,203 bc	1,783 e	0,370 c	10,000 b	180,273 c
		6	0,223 bc	1,877 d	0,390 ab	19,993 ab	243,960 ab
	200	0	0,190 de	1,637 f	0,366 cd	8,493 d	141,250 g
		2	0,210 bc	1,690 f	0,370 c	9,490 c	156,530 f
		4	0,220 bc	1,743 e	0,380 b	9,993 b	197,307 bc
		6	0,230 ab	1,790 e	0,400 a	11,160 a	253,990 ab
Cal	0	0	0,142 fg	1,809 de	0,271 h	8,991 d	264,735 a
		2	0,164 f	1,905 cd	0,280 gh	9,745 c	152,173 f
		4	0,189 de	1,993 c	0,306 fg	7,994 de	160,871 e
		6	0,201 cd	2,011 b	0,317 f	9,247 c	189,688 c
	100	0	0,196 cd	1,899 d	0,321 ef	6,829 f	141,413 g
		2	0,208 bc	2,010 bc	0,330 e	7,992 de	154,347 f
		4	0,225 ab	2,088 b	0,356 d	8,827 d	169,221 de
		6	0,221 bc	2,201 a	0,380 b	10,156 b	180,486 c
	200	0	0,216 bc	1,957 c	0,303 fg	5,997 g	121,944 h
		2	0,237 ab	2,056 bc	0,316 f	6,329 fg	170,219 d
		4	0,246 ab	2,174 ab	0,322 ef	6,494 f	180,153 c
		6	0,268 a	2,286 a	0,341 de	7,994 de	262,643 a

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

Continuación Tabla 16.

Suelo Piedras Negras Primer Corte

Tratamiento			Concentración foliar				
Cal	P	Mo	P	Ca	Mg	Cu	Fe
	(ppm)			(%)		(mg kg^{-1})	
0 Cal	0	0	0,095 i	1,428 g	0,248 h	5,662 g	140,054 gh
		2	0,096 i	1,576 f	0,269 gh	5,662 g	149,059 g
		4	0,102 i	1,687 e	0,285 fg	5,995 g	161,382 e
		6	0,117 hi	1,792 d	0,293 f	6,162 fg	197,679 c
	100	0	0,112 hi	1,348 h	0,276 g	5,830 g	149,245 g
		2	0,139 h	1,431 g	0,309 ef	5,996 g	163,069 e
		4	0,145 gh	1,514 f	0,319 e	6,163 fg	176,739 d
		6	0,172 de	1,588 f	0,335 d	7,495 e	229,009 b
	200	0	0,159 fg	1,412 g	0,341 c	6,660 f	159,997 f
		2	0,190 cd	1,519 f	0,370 b	7,830 de	171,087 d
		4	0,226 b	1,566 f	0,417 ab	10,160 b	182,716 cd
		6	0,244 ab	1,762 d	0,438 a	12,322 a	225,963 b
Cal	0	0	0,131 h	1,985 bc	0,257 h	7,995 d	167,888 e
		2	0,158 fg	2,079 b	0,264 gh	8,660 d	173,694 d
		4	0,178 de	2,169 ab	0,278 g	9,331 c	214,945 bc
		6	0,201 bc	2,279 a	0,292 f	10,326 b	300,797 a
	100	0	0,157 fg	1,686 e	0,302 ef	6,824 f	135,651 h
		2	0,164 ef	1,794 d	0,324 de	7,326 e	157,499 f
		4	0,189 cd	1,959 bc	0,340 c	8,161 d	180,543 cd
		6	0,208 bc	2,024 b	0,359 bc	8,994 cd	220,189 bc
	200	0	0,160 fg	1,655 e	0,285 fg	6,662 f	138,908 h
		2	0,211 b	1,854 c	0,314 e	7,491 e	148,821 g
		4	0,247 ab	1,898 c	0,330 d	8,164 d	166,457 e
		6	0,288 a	2,006 bc	0,374 b	9,494 c	227,506 b

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

Continuación Tabla 16.

Suelo Pemehue Segundo Corte

Tratamiento			Concentración foliar				
Cal	P	Mo	P	Ca	Mg	Cu	Fe
	(ppm)			(%)		(mg kg^{-1})	
0 Cal	0	0	0,065 f	0,575 h	0,170 g	1,750 j	45,480 l
		2	0,070 e	0,660 h	0,180 f	3,000 ij	54,980 k
		4	0,080 e	0,746 h	0,180 f	3,500 ij	56,147 k
		6	0,080 e	0,847 h	0,180 f	3,833 i	57,480 k
	100	0	0,080 e	1,037 gh	0,180 f	4,000 h	59,480 jk
		2	0,080 e	1,153 gh	0,190 e	4,500 h	61,147 j
		4	0,090 e	1,240 g	0,190 e	4,500 h	62,643 ij
		6	0,090 e	1,260 g	0,197 de	4,500 h	63,470 ij
	200	0	0,100 d	1,323 f	0,200 d	5,000 gh	63,970 ij
		2	0,100 d	1,380 f	0,200 d	5,000 gh	65,470 i
		4	0,100 d	1,457 e	0,200 d	5,167 gh	67,637 i
		6	0,100 d	1,490 e	0,210 cd	5,500 g	69,137 i
Cal	0	0	0,107 cd	1,525 d	0,209 d	5,581 g	71,138 h
		2	0,109 cd	1,566 d	0,212 cd	5,998 g	74,304 h
		4	0,110 cd	1,581 d	0,215 cd	5,998 g	77,552 h
		6	0,112 cd	1,616 c	0,217 cd	6,497 f	81,801 g
	100	0	0,115 c	1,660 c	0,219 cd	6,497 f	87,132 g
		2	0,116 c	1,176 bc	0,222 bc	6,664 f	88,964 g
		4	0,118 c	1,756 bc	0,224 bc	7,330 e	95,129 f
		6	0,119 c	1,846 b	0,225 bc	7,997 de	105,458 e
	200	0	0,122 b	1,904 ab	0,226 bc	8,830 d	122,451 d
		2	0,128 b	1,975 ab	0,228 bc	10,830 c	137,778 c
		4	0,133 ab	2,035 ab	0,230 ab	14,661 b	164,934 b
		6	0,136 a	2,188 a	0,232 a	21,492 a	186,092 a

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

Continuación Tabla 16.

Suelo Piedras Negras Segundo Corte

Tratamiento			Concentración foliar				
Cal	P	Mo	P	Ca	Mg	Cu	Fe
	(ppm)			(%)		(mg kg^{-1})	
0 Cal	0	0	0,068 h	0,609 h	0,233 l	2,499 j	52,646 j
		2	0,074 g	0,688 h	0,235 k	3,166 ij	55,478 i
		4	0,080 f	0,788 h	0,237 k	3,499 ij	56,977 i
		6	0,081 f	0,953 h	0,238 k	3,998 i	58,310 i
	100	0	0,084 f	1,105 g	0,238 k	3,998 i	60,143 hi
		2	0,087 f	1,199 g	0,239 j	4,498 hi	61,642 h
		4	0,091 f	1,249 f	0,241 j	4,498 hi	62,975 h
		6	0,094 f	1,269 f	0,243 i	4,915 h	63,475 h
	200	0	0,098 f	1,358 ef	0,245 i	4,998 h	64,474 h
		2	0,100 f	1,416 e	0,247 i	4,998 h	66,640 h
		4	0,103 e	1,480 e	0,249 h	5,498 g	68,473 h
		6	0,106 e	1,503 d	0,251 h	5,498 g	70,139 g
Cal	0	0	0,108 e	1,540 d	0,256 h	5,998 fg	71,971 g
		2	0,109 e	1,571 d	0,262 g	5,998 fg	75,470 g
		4	0,111 d	1,592 d	0,262 g	6,164 f	79,135 g
		6	0,114 d	1,650 c	0,265 g	6,497 f	85,133 f
	100	0	0,116 d	1,682 c	0,273 f	6,497 f	88,464 f
		2	0,117 d	1,734 bc	0,278 f	6,997 f	92,796 ef
		4	0,119 cd	1,807 bc	0,282 e	7,497 e	97,211 ef
		6	0,121 c	1,868 b	0,287 e	7,997 e	109,956 e
	200	0	0,125 c	1,927 ab	0,297 d	9,663 d	132,114 d
		2	0,130 b	2,002 ab	0,327 c	12,828 c	151,772 c
		4	0,134 b	2,075 ab	0,352 b	18,326 b	171,598 b
		6	0,142 a	2,238 a	0,394 a	24,157 a	268,226 a

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

Las concentraciones de Ca foliar se presentan en la Tabla 16, observándose diferencias estadísticamente significativas (p <0,05). En ambos cortes, la concentración de Ca foliar incremento con incremento de las dosis de P en los suelos con enmienda. Estos resultados deben al aumento de Ca intercambiable en el suelo como consecuencia de la aplicación de enmienda en ambos suelos, y por ende, existió suficiente disponibilidad de este nutriente para estas plantas.

Por otro lado, el efecto de las dosis de P en los tratamientos sin Cal fue positiva en ambos cortes, excepto en los tratamientos 100 ppm P/0 ppm Mo. A su vez, las mayores concentraciones de Ca y P se alcanzaron con las mayores dosis de P con Cal, en ambos suelos, concordando con lo observado por Cassel (1980), quién indica que aplicaciones de Cal y P incrementan los niveles foliares de Ca y P.

Los resultados obtenidos en este estudio corroboran, además, lo observado por Campillo y Sadzawka (1992) en una pradera permanente donde el efecto de la cal incrementó el P y Ca adsorbido, la CIC efectiva del suelo y dicho efecto perduró cuatro años después del encalado.

La concentración de Ca foliar (Tabla 16), se encuentra suficiente según Jones *et al*. (1991), excepto en los tratamientos que sólo consideraron dosis de Mo. Sin embargo, con las dosis de 100 a 200 ppm P/2 ppm Mo en los suelos sin y con Cal, si consideramos los valores entregados por la Universidad Austral de Chile (1985) entre el rango 0,9-1,0% de Ca para henos de Trébol Rosado, todos los valores obtenidos en este ensayo sobrepasan dichos parámetros y se encuentran dentro del rango normal, en ambos cortes, señalado por Spedding & Dickmahns (1972), Frame & Newbould (1986) y Whitehead (2000) en trébol blanco (1,20-2,31% Ca).

En la Tabla 16, se observa que la concentración de Mg foliar incrementar a partir de los tratamientos 100 ppm P/2 ppm Mo en adelante. Los menores y mayores contenidos de Mg correspondieron a los tratamientos sin y con Cal 0 ppm P/0 ppm Mo y 200 ppm P/6 ppm Mo en ambos suelos, respectivamente, los cuales fueron significativamente superiores (p < 0,05)

al resto de los tratamientos evaluados. Estos resultados concuerdan con lo observado por López (1988) y Vivekanan *et al*. (1991), quienes informan que la aplicación de encalado promueve la absorción de Mg en esta especie. Sin embargo, en el suelo Pemehue, con bajo Mg intercambiable (0,50 cmol kg^{-1}), a pesar de ser encalado, se observa un limitado crecimiento de las plantas como consecuencia de la menor disponibilidad de este nutriente.

Las concentraciones de Mg, fueron influenciados en forma positiva por las dosis de P en los tratamientos sin Cal, en ambos cortes. Registrándose los mayores contenidos de este nutriente en los tratamientos con 200 ppm P. Al segundo corte, el efecto beneficioso de la dosis de P sólo se mantuvo en los tratamientos con Cal.

La concentración de Mg foliar (Tabla 16), se encontraron dentro del rango considerado suficiente en los tratamientos que sólo consideraron dosis de Mo al primer corte y entonos los tratamientos sin cal del segundo corte y, dentro del rango normal a partir del tratamiento 0 ppm P/2 ppm Mo en el primer corte y en todos los tratamientos de los suelos encalados al segundo corte, de acuerdo a lo señalado por Spedding & Dickmahns (1972), UACH (1985), Frame & Newbould (1986), Jones *et al*. (1991) y Whitehead (2000) en trébol blanco (0,29% Mg).

Las concentraciones de Cu foliar se presentan en la Tabla 16, observándose diferencias estadísticamente significativas (p <0,05) entre los tratamientos sin y con Cal 0 ppm P/0 ppm Mo y 200 ppm P/6 ppm Mo en ambos suelos, respectivamente, con respecto a los demás tratamientos evaluados. En ambos cortes, y sobre todo en el segundo corte, la concentración de Cu foliar decreció con incremento de las dosis de P en los suelos y este efecto se potenció en los suelos con enmienda.

Este comportamiento, se debe al incremento de la carga negativa neta en la superficie coloidal (Bowden *et al*., 1980; Bolan & Barrow, 1984, Bolan *et al*., 1999), como consecuencia de la aplicación de enmienda en ambos suelos que, incrementa la adsorción de nutrientes catiónicos en la superficie coloidal (Yuan *et al*., 2000, Bolan *et al*., 2003) disminuyendo los niveles de

Cu en la solución del suelo y, por ende, la biodisponibilidad de Cu para la planta (Hopkins *et al*., 1994; Adriano, 2001; Nichols & Ma, 2002). En términos de manejo de suelos alofánicos para la producción agrícola y protección del medio ambiente, la adición de MO y enmiendas incrementa la capacidad de adsorción catiónica y metales pesados en estos suelos.

La concentración de Cu foliar (Tabla 16) fluctuó dentro y por sobre el rango normal en todos los tratamientos al primer corte, según lo señalado por Spedding & Dickmahns (1972), Frame & Newbould (1986), Jones *et al*. (1991) y Whitehead (2000) en trébol blanco (5,4-9,7 ppm Cu). En cambio, sólo los suelos sin Cal al segundo corte presentaron concentraciones suficientes.

En la Figura 29 se observa que la relación Cu/Mo foliar de trébol blanco decreció con incrementos en las diferentes dosis de la interacción P/Mo en ambos suelos y este efecto se potenció en los suelos encalados. Los resultados obtenidos fluctuaron alrededor de la relación óptima de Cu/Mo (2:1), según lo reportado por McBride (2000), Whitehead (2000) y NCR (2001) para la dieta de rumiantes.

El efecto no detrimental de las dosis de Mo, en conjunto con el efecto sinérgico de la interacción Cal/P y Mo, sobre la concentración de Cu foliar está en directa relación con la significativa correlación entre la concentración de Mo foliar y la concentración de Cu foliar. Se obtuvieron r = 0,941 y 0,693 ($p < 0,05$) al primer y segundo corte en el suelo Pemehue, respectivamente (ver Anexos). A su vez, en el suelo Piedras Negras se obtuvieron r = 0,946 y 0,651 ($p < 0,05$) al primer y segundo corte, respectivamente.

Los resultados obtenidos indican que las concentraciones de Mo y Cu foliar incrementaron y decrecieron en los suelos encalados y en los suelos sin encalar, respectivamente (Tabla 16).

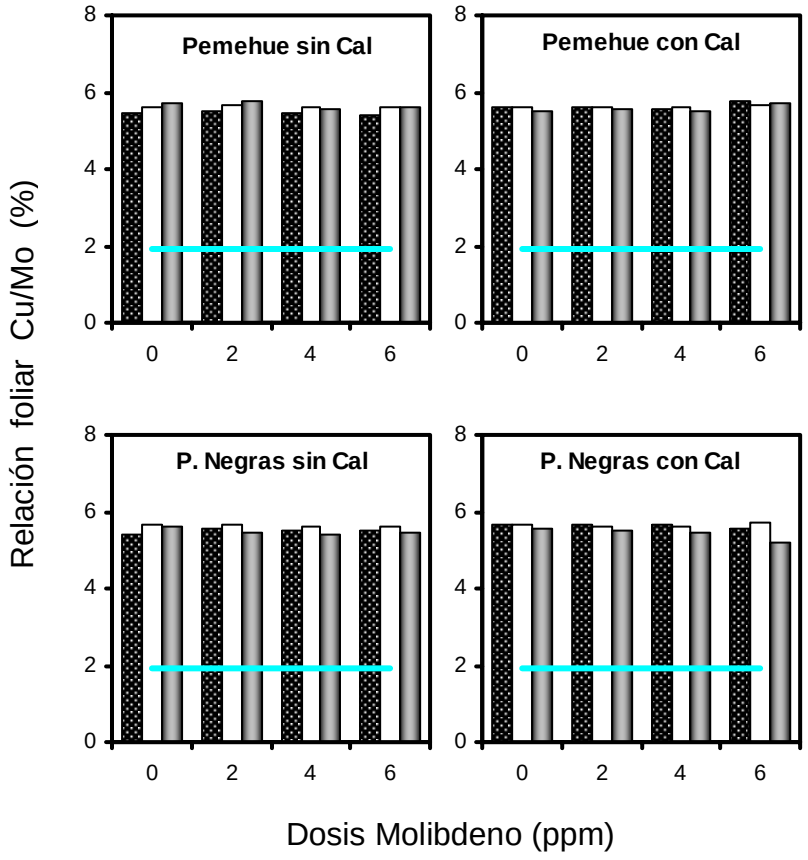


Figura 29. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la relación Cu/Mo foliar de trébol blanco.

(■ 0 mg kg^{-1} P, □ 100 mg kg^{-1} P, ▬ 200 mg kg^{-1} P)

Por otro lado, se ha demostrado que la concentración de Mo en las plantas varía ampliamente en respuesta a la concentración de Mo en la solución del suelo, al pH, y con la especie vegetal. Por ejemplo, Spedding & Diekmahns (1972); Frame & Newbould (1986) y Mills & Davies (1987) indican que la concentración de Mo en trébol blanco fluctúan entre 0,1 a 4,0 mg Mo kg^{-1}; 1,0-14,2 mg Mo kg^{-1} y 0,02-40,0 mg Mo kg^{-1}, respectivamente. Las praderas que contienen 20-100 mg Mo kg^{-1} causan toxicidad por Mo, principalmente en ganado bovino y ovino, debido a que Mo inhibe la absorción de Cu (Davis, 1981; Millar *et al.*, 1991;

Whitehead, 2000; NCR, 2001). El pH del suelo es un importante factor que influencia el contenido de Mo y sus relaciones con otros nutrientes en praderas y este aumento se puede inducir con el encalando.

Al respecto, McBride *et al*. (2000) indican que absorciones de Mo > 30 mg kg^{-1} en trébol rosado; debido a fertilización con lodos por más de 20 años donde el suelo ha llegado a contener 3 mg kg^{-1} de Mo disponible, decrecieron la relación Cu/Mo en leguminosas forrajeras, raps y sorgo, a consecuencia de la alta biodisponibilidad de Mo y baja absorción de Cu en los suelos sometidos a este nivel de fertilización.

Como se observa en la Tabla 16, en ambos cortes las concentraciones de Fe foliar decrecieron a partir de la dosis 100 ppm P en los suelos sin y con Cal. En general, incrementos en las dosis de interacción P/Mo decrecen las concentraciones de Fe con diferencias estadísticamente significativas entre ellos (p <0,05).

Este comportamiento concuerda con Patra & Mohanty (1994) y Franzen & Richardson (2000) quienes indican que la disponibilidad de Fe decrece en suelos encalados debido a que decrece su concentración en la solución del suelo. Por ejemplo, muchas limitaciones en la nutrición de Fe se deben a pH básicos debido al encalado disminuyendo la solubilidad de Fe para los cultivos. Este fenómeno se refiere a "*el encalado induce a clorosis por deficiencia de Fe*". Al igual que la concentración foliar de Cu (Tabla 16), la concentración de Fe decreció con el segundo corte, pero fluctuó dentro y por sobre el rango normal al primer corte, de acuerdo a lo señalado por Spedding & Dickmahns (1972), Frame & Newbould (1986), Jones *et al*. (1991), Whitehead (2000) en Trébol Blanco (100-400 ppm Fe). Sin embargo, sólo los suelos sin Cal presentaron concentraciones suficientes al segundo corte.

De acuerdo, a los resultados obtenidos al analizar las concentraciones de P, Ca, Mg, Cu y Fe foliar, indican que los niveles fluctuaron entre suficiente y normal para el adecuado desarrollo de trébol blanco y, por lo tanto, compruebo que no se produjeron efectos de otras deficiencias en los niveles de calidad nutritiva que a continuación se analizan.

3.12 Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la calidad nutritiva de trébol blanco.

La proteína es la principal fracción de los componentes nitrogenados en los forrajes representando entre el 75% y el 90% del nitrógeno total (Oshima & McDonald, 1978; McKersie, 1981), aunque en leguminosas en estados fenológicos tempranos puede ser solo el 50% del nitrógeno total. Como se observa en la Tabla 17, existió un efecto positivo de las dosis de Mo sobre la concentración de proteína bruta que puede ser explicado por las significativas correlaciones positivas entre la concentración de Mo foliar y la concentración de proteína bruta con r = 0,972 y 0,896 ($p < 0,05$) en el suelo Pemehue al primer y segundo corte, respectivamente. A su vez, en el suelo Piedras Negras, se obtuvieron r = 0,832 y 941 ($p < 0,05$), al primer y segundo corte, respectivamente.

Las mayores concentraciones de proteína bruta ambos cortes se lograron con el tratamiento con y sin Cal 200 ppm P/6 ppm Mo en ambos suelos. Observándose diferencias estadísticamente significativas ($p <0,05$) en los demás tratamientos evaluados.

Es importante señalar que al primer corte las concentraciones de proteína fueron mayores que los registrados al segundo corte; debido, probablemente, a la reducción de los problemas de acidez (bajo pH, toxicidad por Al) y mayor cantidad de P disponible para las plantas al primer corte. Por otro lado, a medida que avanza el estado fenológico se incrementa el contenido de ms y decrece el contenido de proteína, lo cual se traduce en una disminución de la calidad de la especie pratense, corroborando los resultados obtenidos por Elizalde *et al*. (1992) y Simon *et al*. (2004). La presencia de Al^{3-} y H^{+} junto a la carencia de P tienen un efecto inhibitorio sobre el potencial de desarrollo de Rhizobium (Coventry & Evans, 1989; Caradus *et al*., 1993; Wheeler, 1998, Campillo *et al*., 2002) y por ende sobre la fijación simbiótica de N. Cabe hacer notar, que las plantas se recuperaron lentamente después del primer corte.

Al primer corte la concentración de proteína foliar (Tabla 17) según Spedding & Dickmahns (1972), Frame & Newbould (1986) y Whitehead (2000), en Trébol Blanco, fluctuaron entre rangos suficiente a normal (Figura 26). En cambio, la concentración de proteína bruta al

primer corte (excepto los tratamientos sin Cal 0 ppm P/2 ppm Mo) fueron superiores a lo que señala NCR (2001) como la concentración de proteína normal que presenta el Trébol Blanco en floración (18% proteína bruta). Al segundo corte, todos los valores son considerados como suficientes para esta especie.

Del total de proteínas de las hojas de alfalfa, un 30% al 50% pertenece a la proteína soluble del cloroplasto constituída solamente por la ribulosa-1,5- bifosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco) constituyendo la mayor fuente de proteína soluble para los sistemas de producción animal de rumiantes (Makoni *et al*., 1993; Taiz & Zeiger, 2000). A su vez, el 60% a 80% del nitrógeno total del forraje fresco está en forma de proteína soluble (van Soest, 1994). A nivel de campo, con animales pastoreando praderas con leguminosas, esto beneficia al forrraje que se caracteriza por rico en proteína y por contener pocos carbohidratos rápidamente fermentables en el rumen (Taminga, 1996, Verité & Delaby, 2000).

Desde el punto de vista de nutrición animal, todos los tratamientos con Cal son capaces de suplir los requerimientos de proteínas de vacas lactantes con una producción diaria de 30 L de leche (18% proteína) según lo indicado por NCR (2001), aunque en ningún caso Trébol Blanco sin el suministro de otros suplementos posee la concentración de energía suficiente para producir más de 20 L de leche/día (Janh, 1992).

El efecto del encalado de ambos suelos sobre la concentración de proteína bruta al primer y segundo corte es positivo, observándose diferencias significativas (p <0,05); donde los mayores valores correspondieron a los tratamientos 200 ppm P (Tabla 17).

Tabla 17. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la calidad nutritiva de trébol blanco.

Suelo Pemehue Primer Corte

Tratamiento			Concentración nutritiva		
Cal	P	Mo	Proteína bruta	CHO'S	Lectura SPAD
	(ppm)		(%)		
0 Cal	0	0	13,850 i	9,220 g	33,200 m
		2	15,360 h	9,380 f	38,767 k
		4	16,973 g	9,423 f	39,900 j
		6	17,640 f	9,490 f	40,800 i
	100	0	18,160 e	9,793 f	41,567 k
		2	18,620 e	9,923 f	42,567 g
		4	19,470 d	9,983 f	43,567 g
		6	19,980 d	10,030 ef	44,433 e
	200	0	20,537 c	10,197 e	45,000 d
		2	21,200 b	10,310 e	46,467 cd
		4	21,830 b	10,333 e	47,433 bc
		6	24,550 ab	10,390 e	48,800 b
Cal	0	0	14,800 h	12,213 d	36,900 l
		2	16,453 g	12,227 d	39,600 j
		4	17,310 f	12,280 d	40,233 i
		6	17,920 f	12,313 d	41,300 h
	100	0	18,387 e	13,033 c	41,867 h
		2	19,000 d	13,080 c	43,233 f
		4	19,703 d	13,123 c	44,167 e
		6	20,280 c	13,190 c	44,767 e
	200	0	20,873 c	14,073 b	45,900 d
		2	21,433 b	14,167 b	47,000 cd
		4	22,643 b	14,227 b	47,967 b
		6	26,033 a	15,217 a	49,766 a

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

Continuación Tabla 17.

Suelo Piedras Negras Primer Corte

Tratamiento			Concentración nutritiva		
Cal	P	Mo	Proteína bruta	CHO'S	Lectura SPAD
	(ppm)		(%)		
0 Cal	0	0	14,253 i	10,827 g	35,466 m
		2	16,077 h	11,073 g	39,400 k
		4	17,260 g	11,120 f	40,000 j
		6	17,790 g	11,190 f	41,033 i
	100	0	18,253 f	11,570 f	41,700 hi
		2	18,853 f	11,717 f	42,867 gh
		4	19,510 e	11,777 f	43,733 g
		6	20,180 d	11,833 ef	44,633 f
	200	0	20,657 d	12,017 e	45,533 e
		2	21,280 c	12,177 e	46,900 d
		4	22,370 bc	12,203 e	47,666 cd
		6	25,400 ab	12,233 e	49,500 b
Cal	0	0	14,987 i	14,400 d	37,933 l
		2	16,777 h	14,420 d	39,767 j
		4	17,380 g	14,480 d	40,567 ij
		6	18,063 f	14,520 d	41,467 i
	100	0	18,490 f	15,387 c	42,333 h
		2	19,293 e	15,407 c	43,367 g
		4	19,867 e	15,490 c	44,333 f
		6	20,360 d	15,527 c	44,900 ef
	200	0	21,007 c	16,580 b	46,133 d
		2	21,507 c	16,690 b	47,200 cd
		4	23,320 bc	16,793 b	48,267 c
		6	29,203 a	17,927 a	50,667 a

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

Continuación Tabla 17.

Suelo Pemehue Segundo Corte

Tratamiento			Concentración nutritiva		
Cal	P	Mo	Proteína bruta	CHO'S	Lectura SPAD
	(ppm)		(%)		
0 Cal	0	0	7,325 k	8,815 f	35,050 i
		2	8,727 j	8,987 f	40,233 hi
		4	9,670 i	9,123 e	42,433 h
		6	10,170 h	9,187 e	43,333 h
	100	0	10,680 h	9,473 e	43,767 h
		2	10,976 h	9,723 e	44,500 g
		4	11,287 g	9,803 e	45,000 f
		6	11,700 g	9,830 e	46,033 e
	200	0	11,917 g	10,020 d	46,767 e
		2	12,060 f	10,170 d	47,500 d
		4	12,240 f	10,183 d	47,800 d
		6	12,410 f	10,223 d	48,167 d
Cal	0	0	12,537 f	12,017 c	48,463 d
		2	12,800 e	12,073 c	49,200 d
		4	12,923 e	12,117 c	49,600 d
		6	13,050 e	12,190 c	49,967 d
	100	0	13,240 de	12,480 c	50,633 c
		2	13,463 de	12,607 c	51,067 c
		4	13,630 d	12,823 c	51,500 c
		6	13,790 d	12,973 bc	52,133 bc
	200	0	13,900 d	13,213 b	52,967 b
		2	14,190 c	13,393 b	54,133 ab
		4	14,680 b	13,727 ab	55,433 ab
		6	16,030 a	13,813 a	57,100 a

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

Continuación Tabla 17.

Suelo Piedras Negras Segundo Corte

Tratamiento			Concentración nutritiva		
Cal	P	Mo	Proteína bruta	CHO'S	Lectura SPAD
	(ppm)		(%)		
0 Cal	0	0	8,210 j	10,380 f	39,467 j
		2	9,150 i	10,593 f	41,333 i
		4	10,073 h	10,787 f	42,967 h
		6	10,380 h	10,820 f	43,533 h
	100	0	10,857 h	11,173 e	44,267 g
		2	11,080 g	11,490 e	44,733 g
		4	11,530 g	11,580 e	45,433 g
		6	11,827 g	11,610 e	46,300 f
	200	0	12,000 fg	11,823 e	47,133 ef
		2	12,157 fg	11,987 de	47,700 e
		4	12,323 f	12,000 d	47,967 e
		6	12,447 f	12,083 d	48,500 de
Cal	0	0	12,660 f	14,183 c	48,933 de
		2	12,830 ef	14,213 c	49,300 d
		4	13,017 e	14,293 c	49,800 d
		6	13,183 e	14,377 c	50,133 c
	100	0	13,353 e	14,703 c	50,967 c
		2	13,537 de	14,880 c	51,267 c
		4	13,770 d	15,120 b	51,800 bc
		6	13,860 d	15,287 b	52,533 bc
	200	0	14,097 c	15,590 b	53,600 b
		2	14,460 c	15,790 b	54,567 b
		4	15,260 b	16,200 ab	56,033 b
		6	17,317 a	16,297 a	60,633 a

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

Estos resultados concuerdan con lo observado por Awad & Edwards (1977), López (1988), Edmeades *et al*. (1981), DeHaan *et al*. (2002) quienes indican que la adición de Cal permite una efectiva nodulación (simbiosis Rhizobium-leguminosa) produciendo incrementos tanto en la absorción de N como en la producción Trifolium sp. Esto explicaría porque la presencia de Ca es esencial en el proceso de nodulación, cuando las necesidades de este nutriente para Rhizobium son deficitarias, el efecto es indirecto a través del contenido de Ca en la planta por su influencia en el desarrollo del sistema radical, cuya longitud y densidad determinan la oportunidad de infección. En relación a los resultados obtenidos en este estudio, se puede indicar que las buenas condiciones de fertilidad de ambos suelos encalados permitieron alcanzar altas producciones de ms, ratificando la eficiencia del mecanismo biológico de fijación de N de trébol blanco expresado como resultado la interacción Cal/P y Mo.

Recientemente, Campillo *et al*. (2003), quienes indican que la contribución de la fijación biológica de N_2 de trébol blanco, trébol rosado, trébol subterráneo y alfalfa en un Andisol de la IX Región alcanzó su mayor expresión con 396 kg N ha^{-1} siendo menores, equivalentes o superiores a los reportes de nuestro país (Campillo & Barrientos, 2000), Nueva Zelandia (Ball, 1982) y UK (Marriot & Haystead, 1993), atribuído a la alta eficiencia de este proceso biológico en ausencia de limitaciones de fertilidad y riego.

En cuanto al efecto del P sobre el contenido de proteína, éste fue poco significativo en los tratamientos sin Cal y positivo a partir de la adición de 100 ppm P. El efecto de la dosis de P se considera consecuencia de la estimulación general del desarrollo de esta especie por P, pues este nutriente no presenta un rol específico en la fijación simbiótica de N (Correa *et al*., 1981; Pattanayak *et al*., 2000; Malhi *et al*., 2001). De acuerdo, a los resultados obtenidos en la producción de materia seca y las condiciones de fertilidad de estos suelos, el tratamiento sin Cal 100 ppm P/4 ppm Mo sería el más adecuado para esta especie, desde el punto de vista agronómico.

Scherrell (1984) indica que la aplicación de Mo sobre la semilla incrementa 20 veces la eficiencia que las aplicaciones al suelo, incrementando el rendimiento en ms y la fijación de N en suelos deficitarios de Mo. Al respecto, se puede indicar que Mo promueve la utilización

del nitrato absorbido por la planta y la fijación de N por las leguminosas se puede deducir que con la estimulación de la nodulación se incrementa el contenido de N y, por ende, muy importante su influencia en incrementar el contenido de proteína bruta en la planta. Deo & Kothari (2002) que aplicaciones al suelo de 1 kg Mo ha^{-1} y tratamientos a la semilla de 3,5 y 5,25 g Na_2MoO_4 ha^{-1} incrementaron la producción de semilla de *Cicerarietinum* L. entre 13,13% y 16,76% por sobre la dosis de 1,5 g Na_2MoO_4 ha^{-1}.

Como se observa en la Tabla 17, existió un efecto positivo de las dosis de Mo sobre la concentración de carbohidratos solubles debido a las significativas correlaciones obtenidas entre la concentración de Mo foliar y la concentración de carbohidratos solubles con r = 0,607 y 0,911 ($p < 0,05$) en el suelo Pemehue al primer y segundo corte, respectivamente. A su vez, en el suelo Piedras Negras, se obtuvieron r = 0,633 y 899 ($p < 0,05$), al primer y segundo corte, respectivamente.

En la Tabla 17 se observa que las concentraciones foliares de carbohidratos solubles incrementar a partir de los tratamientos 100 ppm P/2 ppm Mo en adelante en ambos cortes. Las menores concentraciones de carbohidratos solubles correspondieron a los tratamientos sin Cal y que sólo consideraron las dosis de Mo en ambos suelos. Por otro lado, el suelo Piedras Negras sin Cal y ambos con Cal presentaron contenidos que fluctuaron en el rango normal (5,2-14,6 % CHOS según Spedding & Dickmahns, 1972 y Frame & Newbould, 1986) para Trébol Blanco, los cuales fueron significativamente superiores ($p <0,05$) en relación a los tratamientos evaluados.

El efecto sinérgico de la interacción P/Mo, ha sido reportado por Xia & Xiong (1991), Mandal & Mandal (1998), Bailey & Laidlaw (1999), Hale *et al*. (2001) y Liu *et al*. (2002), quienes investigaron la interacción de Mo y P en el rendimiento en varias especies leguminosas indicando los siguientes cambios fisiológicos: i) incrementa la traslocación de Mo a partir de las vacuolas en las células radicales para ser efectivamente utilizado por la planta, ii) estimula la absorción de Mo a través de la formación del complejo fosfomolibdato que puede ser absorbido más rápidamente por la planta, iii) promueve el metabolismo de N y C,

incrementando N total y el contenido de carbohidratos solubles, iv) incrementa el contenido de clorofila, la tasa fotosintética, la actividad de la nitrato reductasa y los contenidos de carbohidratos solubles v) estimula el desarrollo de los nódulos, incrementando la capacidad de fijación de N y, vi) mayor distribución de carbohidratos a los órganos reproductivos y, por ende mayor producción de semillas.

En relación, a que el molibdeno promueve la utilización del nitrógeno absorbido por la planta y la fijación de nitrógeno en leguminosas es probable que influencie el contenido de proteína en las plantas. A su vez, déficit de Mo se relacionan con decrecimiento de carbohidratos debido a deficiencias en la fotosíntesis y a la no utilización de carbohidratos para el crecimiento y desarrollo vegetal (Gupta, 1997).

El proceso fotosintético está en directa relación con la demanda nutritiva de la planta y forma parte de varias rutas metabólicas tanto en la asimilación de nutrientes como en la asimilación de carbohidratos a través del aporte reductor y energético de NADPH y ATP (Harris, 2001).

El proceso de fotosíntesis genera moléculas carbonadas mediante la energía solar, pero bajo condiciones de estrés nutricional, se producen desbalances entre la absorción de energía radiante y el uso de ésta por fotoquímica primaria (Strasser *et al*., 2000), generando disminución en la evolución del O_2 y en el transporte de electrones a través del FSII. Por otro lado, si consideramos que en la síntesis de ATP, vía fotofosforilación cíclica y no cíclica, es fundamental la disponibilidad de P_i y que el producto fotosintético es exportado desde el cloroplasto al citoplasma para la síntesis de sacarosa (Figura 4), siendo almacenados como azúcares reductores para ser utilizados en el crecimiento y desarrollo vegetal, la interacción P/Mo implicaría un efecto sinérgico en la partición de los carbohidratos en las hojas y en el metabolismo del nitrógeno, que influencian tanto la asimilación como la utilización de carbohidratos y, por ende, la actividad fotosintética de la planta. Esto se corrobora con los resultados antes mencionados y, además, considerando que la relación entre los carbohidratos solubles y la proteína dietaria es primordial como precursores de energía en los procesos bacterianos de fermentación ruminal que inciden finalmente sobre la producción y composición de la leche.

Como se observa en la Tabla 17, los mayores contenidos de relativos de clorofila, se lograron en los suelos sin y con Cal que correspondieron a los tratamiento 100 ppm P/6 ppm Mo con y 200 ppm P/6 ppm Mo en ambos suelos. A su vez, los menores contenidos de relativos de clorofila se encontraron en los tratamientos 0 ppm P/0 ppm Mo en ambos suelos sin y con Cal. Estos resultados indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con respecto a los demás tratamientos evaluados.

El nitrógeno en las plantas está asociado a funciones de síntesis proteica, a formar parte de la estructura de la molécula de clorofila, participar en la actividad fotosintética y en la utilización de carbohidratos (Taiz & Zeiger, 2002), lo que implica que este elemento este muy relacionado con el crecimiento, desarrollo y rendimiento que puede alcanzar un cultivo. Para mejorar la eficiencia de uso de nitrógeno es necesario conocer el estatus de N de la planta a través de una herramienta alternativa al análisis foliar como es el uso del medidor de clorofila. Este medidor relaciona las lecturas de clorofila con el contenido de clorofila (Yadava, 1986; Marquard & Tipton, 1987; Dwyer *et al*., 1991 y 1995; Rodríguez *et al*., 1998). En Chile, Melinao *et al*. (1999) y Vidal *et al*. (1999) lo evaluaron en trigo.

La importancia de esta relación radica en que existe una relación directa entre el contenido de clorofila en las hojas y el contenido de nitrógeno de los tejidos, ya que según indican Stocking & Ongun (1962), más del 70% del nitrógeno foliar se encuentra en el cloroplasto, por lo tanto, determina el verdor de las hojas y la eficiencia de los procesos fotosintéticos que se realizan en ellas (Peterson *et al*., 1993; Peltonen *et al*., 1995; Murdock *et al*., 1997) y actúa como un indicador sensible del nivel fisiológico de la planta (Finnan *et al*., 1997).

Al respecto, Wang *et al*. (1999) indican que incrementos en la absorción de N incrementan el contenido de clorofila y la tasa de fotosíntesis. Etchevers (1999) y Vial *et al*. (1999) señalan que la utilización de este instrumento determina las deficiencias nutricionales cuyos síntomas visuales aún no son visibles pero inducen un estrés suficientemente intenso para decrecer el rendimiento.

Basado en antecedentes reportados por Nelson & Anderson (1997) y Novoa & Villagrán (2002), se estimó el valor crítico para la variable clorofila separando los datos experimentales de cada suelo en dos grupos: uno corresponde a aquel en que la probabilidad de respuesta a la fertilización es alta (suelo sin cal) o baja (suelo encalado). La principal ventaja de definir un valor crítico deriva en la posibilidad de aplicar al trébol blanco la relación P/Mo adecuada e influir en sus rendimientos. El nivel de nitrógeno adecuado para trébol blanco (3 %) indica el nivel crítico de lectura SPAD es en promedio aproximadamente de 43 en ambos suelos con y sin enmienda (Figura 30). Esto significa que aquellos valores promedio de lectura de clorofila menores a 43 tienen una alta probabilidad de aumentar el contenido de nitrógeno foliar en respuesta a dosis crecientes de la interacción P/Mo.

Posteriormente, utilizando regresión múltiple y el método stepwise, se determinó un modelo que, en función del nitrógeno esperado y la lectura SPAD, estima el contenido de nitrógeno.

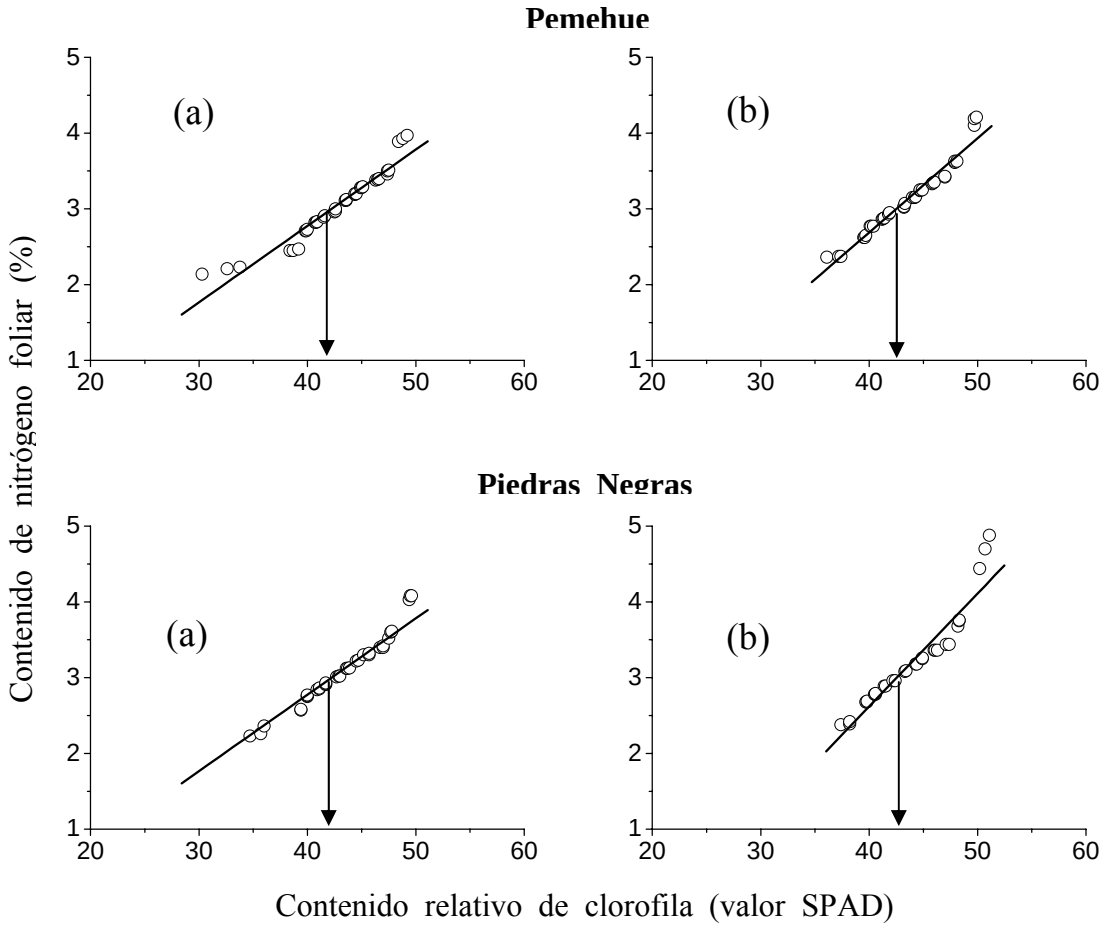


Figura 30. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre el valor SPAD y N foliar de trébol blanco. (suelos sin (a) y con Cal (b), n=36 y *p*=0,0001).

Los resultados obtenidos por medio de regresiones (Tabla 18 y Figura 32) indican estrechas asociaciones entre el N foliar contra las unidades SPAD ($R^2 > 0,948$) siendo significativo con un valor de $p = 0,0001$ en los diferentes tratamientos evaluados; estos sugiere que la sensibilidad del clorofilómetro responde al incremento de las dosis en las diferentes interacciones P/Mo evaluadas e induciría a una mejor actividad fotosintética en trébol blanco; debido a que las lecturas de clorofila se asocian en su mayoría a mayor rendimiento alcanzado y, por ende, la variación observada en el contenido de nitrógeno foliar queda explicada por el valor obtenido con las lecturas SPAD.

Tabla 18. Ecuaciones de regresión entre los contenidos relativos de clorofila y nitrógeno foliar de trébol blanco

Sin Cal	Ecuación ajustada	R^2
Pemehue 0 Cal	N foliar (%) = -1,260 + 0,101 valor SPAD	0,964
Piedras Negras 0 Cal	N foliar (%) = -1,970 + 0,117 valor SPAD	0,980
Pemehue Cal	N foliar (%) = -2,285 + 0,124 valor SPAD	0,976
Piedras Negras Cal	N foliar (%) = -3,342 + 0,149 valor SPAD	0,948

Una relación similar fue establecida por Wolfe *et al*. (1988) en plantas de arroz adecuadamente fertilizadas en comparación a aquellas sometidas a déficit de nitrógeno. Por otro lado, Rodríguez *et al*. (1998) y Novoa & Villagrán (2002) encontraron una relación directa en lectura SPAD y nitrógeno foliar con un R^2 = 0,96 y 0,88 en un cultivo de tomate y maíz, respectivamente.

En relación a los resultados obtenidos, podemos sugerir que a partir del tratamiento 200 ppm P/4 ppm Mo en ambos suelos sin enmienda proporcionaría un adecuado nivel de nitrógeno foliar. Esto coincide con los resultados informados por Xia & Xiong (1991), Khattak *et al*. (1991), Hopkins *et al*. (1994), Bailey & Laidlaw (1998), Wheeler (1998), Jouany *et al*. (2004) quienes obtuvieron mayores efectos positivos en directa relación con la interacción P/Mo tanto en la producción como en la calidad mineral de especies pratenses.

La misma interacción positiva entre P y Mo se observó en los estudios de adsorción competitiva, donde incrementos en la aplicación de fosfato (0,5 a 2,0 mM) decrecen entre 10-28% la adsorción de molibdato. De esta forma, fosfato compite fuertemente con la adsorción de molibdato resultando en una mayor disponibilidad de Mo en la solución del suelo, y por ende en un aumento de la absorción de Mo por la planta. Estos resultados probablemente implican que la fertilización fosfatada afecta la biodisponibilidad de la aplicación de fertilizantes de Mo y sugieren que las deficiencias de Mo foliar pueden superarse por el efecto sinérgico de la aplicación Cal y P a estos Andisoles.

3.13 Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la eficiencia fotosintética en trébol blanco.

En la Tabla 19 podemos observar el efecto de la interacción Cal/Fosfato/Molibdato sobre la eficiencia fotosintética de trébol blanco al estado de hojas jóvenes (25 días post-establecimiento). Las plantas de trébol blanco, en el suelo Pemehue, mostraron un decrecimiento severo del parámetro *Fv/Fm* (eficiencia fotosintética del FSII) con valores 0,60 comparadas con las plantas del suelo Piedras Negras. A su vez, incrementos en la dosis de sólo Mo incrementaron *Fv/Fm* entre 7% y 4% en los suelos Pemehue y Piedras Negras, respectivamente con respecto al tratamiento 0 ppm P/2 a 6 ppm Mo en ambos suelos sin Cal. Esta tendencia se potenció al incrementar las dosis 100 a 200 ppm P con incrementos entre 12% y 9% de dicha eficiencia en los suelos Pemehue y Piedras negras, respectivamente, indicando un efecto sinérgico de la aplicación de P y Cal en ambos suelos, corroborando los reportes de Xia & Xiong (1991) en *Vicia faba*.

Tabla 19. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la eficiencia fotosintética, en estado de hojas jóvenes, de trébol blanco.

Tratamiento			Pemehue	Piedras Negras
Cal	P	Mo	Eficiencia fotosintética	
	(ppm)		25 días post-establecimiento	
0 Cal	0	0	0,610	0,777
		4	0,655	0,801
	100	4	0,715	0,817
	200	4	0,739	0,822
		6	0,807	0,828
Cal	0	0	0,653	0,804
		4	0,708	0,809
	100	4	0,761	0,821
	200	4	0,825	0,824
		6	0,827	0,849

Por otro lado, estudios realizados por De Jesús *et al*. (2004), para evaluar el comportamiento de Phaseolus vulgaris L. con diferentes dosis de Mo indican que tanto el rendimiento como *Fv/Fm* incrementaron en 56% y 26%, respectivamente.

En la Figura 31, observamos el incremento de la eficiencia fotosintética debido tanto a las dosis de Mo como al efecto de la interacción Cal/P en ambos suelos. Los máximos valores de la eficiencia fotosintética (0,86) correspondieron a los tratamientos 200 ppm P/6 ppm Mo en ambos suelos sin y con Cal, indicando diferencias estadísticamente significativas (p <0,05) con respecto a los demás tratamientos evaluados (Tabla 20).

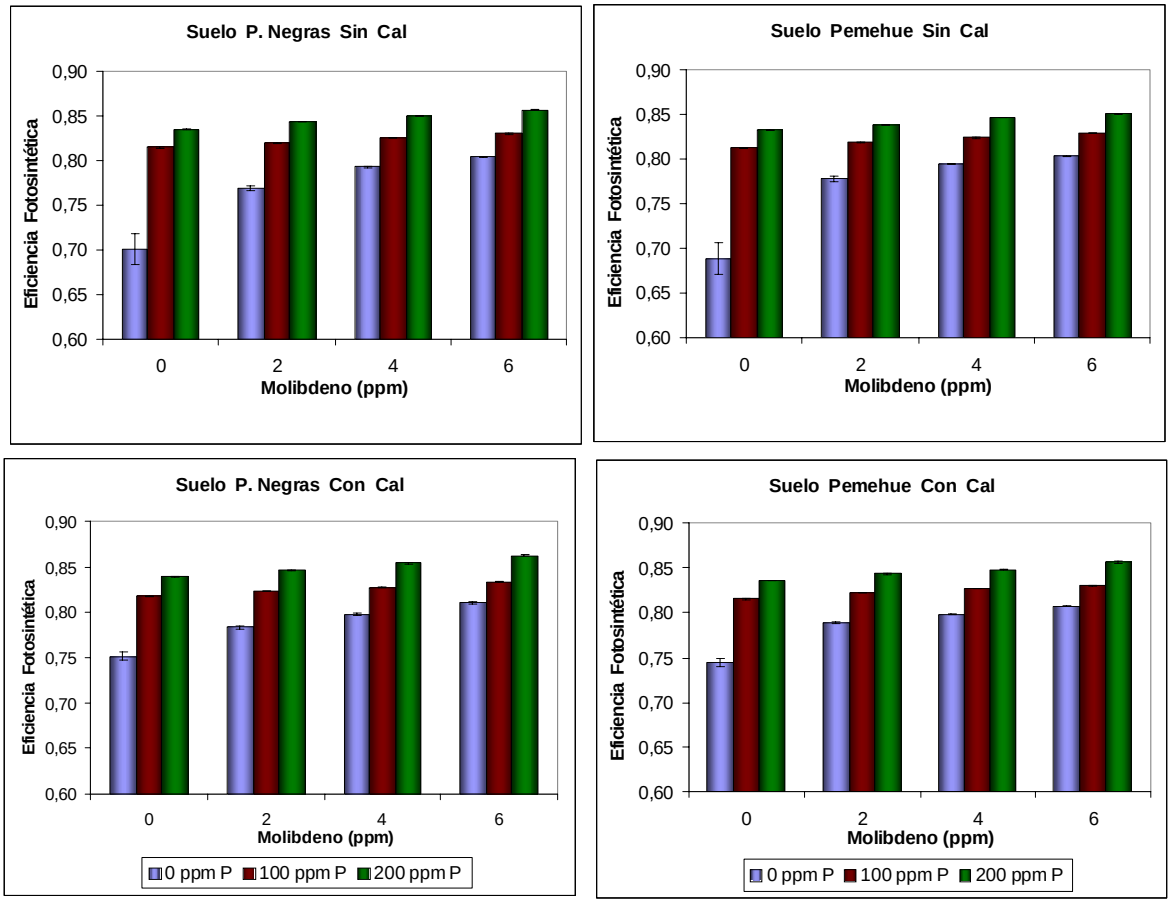


Figura 31. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la eficiencia fotosintética, en estado de hojas adultas, de trébol blanco

Esta tendencia se ha mantenido con el desarrollo del cultivo (340 días). Bajo condiciones normales, las plantas superiores poseen un *Fv/Fm* cercano a 0,83 (Björkman & Demmig, 1987).

Tabla 20. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la eficiencia fotosintética, en estado de hojas adultas, a través del desarrollo de trébol blanco.

Suelo Pemehue

Tratamiento			Eficiencia fotosintética							
Cal	P	Mo	90		150		240		340	
	(ppm)		(días)							
0 Cal	0	0	0,688	h	0,773	g	0,801	g	0,806	e
		2	0,778	g	0,808	f	0,828	f	0,828	d
		4	0,795	g	0,815	e	0,836	ef	0,834	d
		6	0,804	f	0,820	de	0,840	e	0,840	d
	100	0	0,813	ef	0,825	de	0,843	de	0,842	cd
		2	0,819	e	0,831	d	0,846	de	0,845	c
		4	0,824	de	0,837	cd	0,849	c	0,848	c
		6	0,830	d	0,841	c	0,852	c	0,850	bc
	200	0	0,833	d	0,846	c	0,855	bc	0,853	bc
		2	0,839	c	0,850	bc	0,858	bc	0,857	b
		4	0,846	b	0,853	b	0,861	bc	0,861	b
		6	0,851	ab	0,857	b	0,863	ab	0,865	ab
Cal	0	0	0,745	g	0,800	f	0,819	f	0,824	d
		2	0,789	g	0,811	f	0,833	f	0,830	d
		4	0,799	f	0,817	e	0,838	e	0,837	d
		6	0,807	f	0,822	de	0,841	de	0,841	cd
	100	0	0,815	ef	0,828	d	0,845	de	0,843	cd
		2	0,822	e	0,835	d	0,847	d	0,847	c
		4	0,827	de	0,839	cd	0,850	c	0,849	c
		6	0,831	d	0,844	c	0,854	bc	0,851	bc
	200	0	0,836	d	0,848	bc	0,857	bc	0,854	bc
		2	0,843	c	0,851	bc	0,860	b	0,859	b
		4	0,848	b	0,855	b	0,862	b	0,863	ab
		6	0,856	a	0,863	a	0,866	a	0,868	a

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

Continuación Tabla 21.

Suelo Piedras Negras

Tratamiento			Eficiencia fotosintética							
Cal	P	Mo	90		150		240		340	
	(ppm)		(días)							
0 Cal	0	0	0,701	h	0,774	g	0,802	f	0,804	g
		2	0,770	g	0,816	fg	0,824	e	0,830	f
		4	0,793	g	0,824	f	0,831	e	0,836	de
		6	0,805	fg	0,831	e	0,837	d	0,840	d
	100	0	0,815	ef	0,834	e	0,840	d	0,842	cd
		2	0,820	ef	0,837	de	0,842	c	0,845	c
		4	0,825	d	0,840	de	0,846	c	0,848	c
		6	0,830	cd	0,844	cd	0,848	c	0,850	bc
	200	0	0,835	cd	0,848	cd	0,850	b	0,852	bc
		2	0,844	bc	0,850	c	0,853	b	0,855	b
		4	0,850	b	0,855	bc	0,855	b	0,859	ab
		6	0,857	ab	0,859	b	0,861	b	0,863	ab
Cal	0	0	0,752	g	0,803	fg	0,817	e	0,819	f
		2	0,784	g	0,820	fg	0,828	e	0,834	e
		4	0,798	fg	0,828	f	0,834	d	0,838	d
		6	0,810	f	0,833	e	0,838	d	0,841	d
	100	0	0,818	ef	0,835	de	0,841	d	0,844	cd
		2	0,824	d	0,839	de	0,844	c	0,846	c
		4	0,827	d	0,843	d	0,847	c	0,849	bc
		6	0,834	d	0,846	cd	0,850	c	0,851	bc
	200	0	0,839	c	0,849	c	0,852	b	0,853	b
		2	0,847	bc	0,852	c	0,854	b	0,857	b
		4	0,854	ab	0,858	b	0,858	b	0,861	ab
		6	0,863	a	0,865	a	0,866	a	0,867	a

Cifras con diferentes letras en sentido vertical indican diferencias significativas por la interacción Cal/P/Mo, según Prueba de Comparación de Contrastes Ortogonales ($p < 0,05$).

Dado que la relación *Fv/Fm* está determinada por la fluorescencia mínima (*Fo*) y por la fluorescencia máxima (*Fm*) (Strasser & Tsimille, 2002) en las Figuras 32 y 33 se observa el comportamiento de estos parámetros promedio a través del desarrollo del Trébol Blanco. Los valores de *Fo* decrecieron por incremento de las dosis de Mo y de 100 a 200 ppm P; sugiriendo déficit de la fluorescencia emitida en las antenas captadoras de energía presentes a nivel de la membrana tilacoidal (Tomiki & Saitou, 2004). Esta tendencia fue más pronunciada en ambos suelos sin Cal.

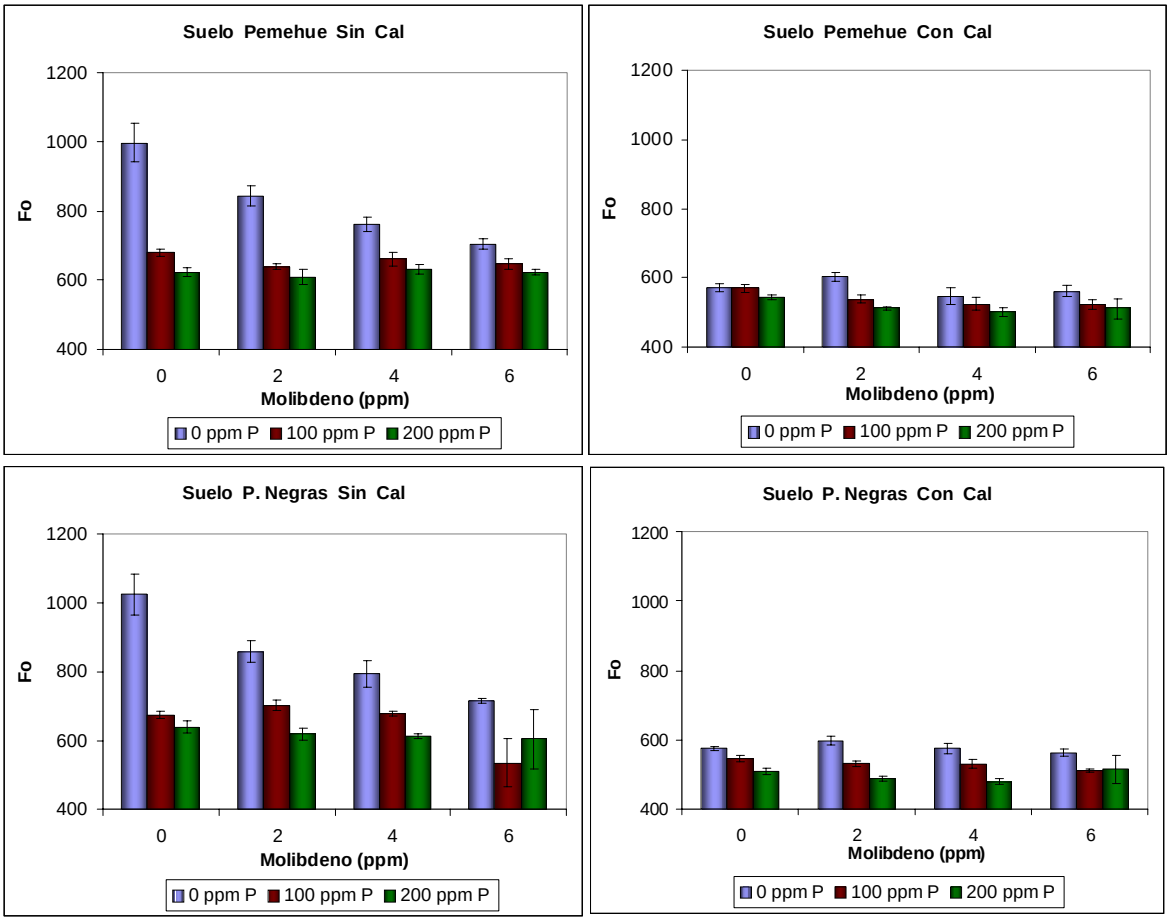


Figura 32. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la fluorescencia mínima, en estado de hojas adultas, de trébol blanco

Por el contrario, el efecto de estos tratamientos incrementaron los valores de *Fm* no indicando limitaciones de este parámetro después de reducir el pool de quinonas en la cadena de transporte de electrones (Strasser *et al*., 1995; Strasser & Tsimilli-Michael, 2002; Ouzounidou *et al*., 2003; Liu *et al*., 2005).

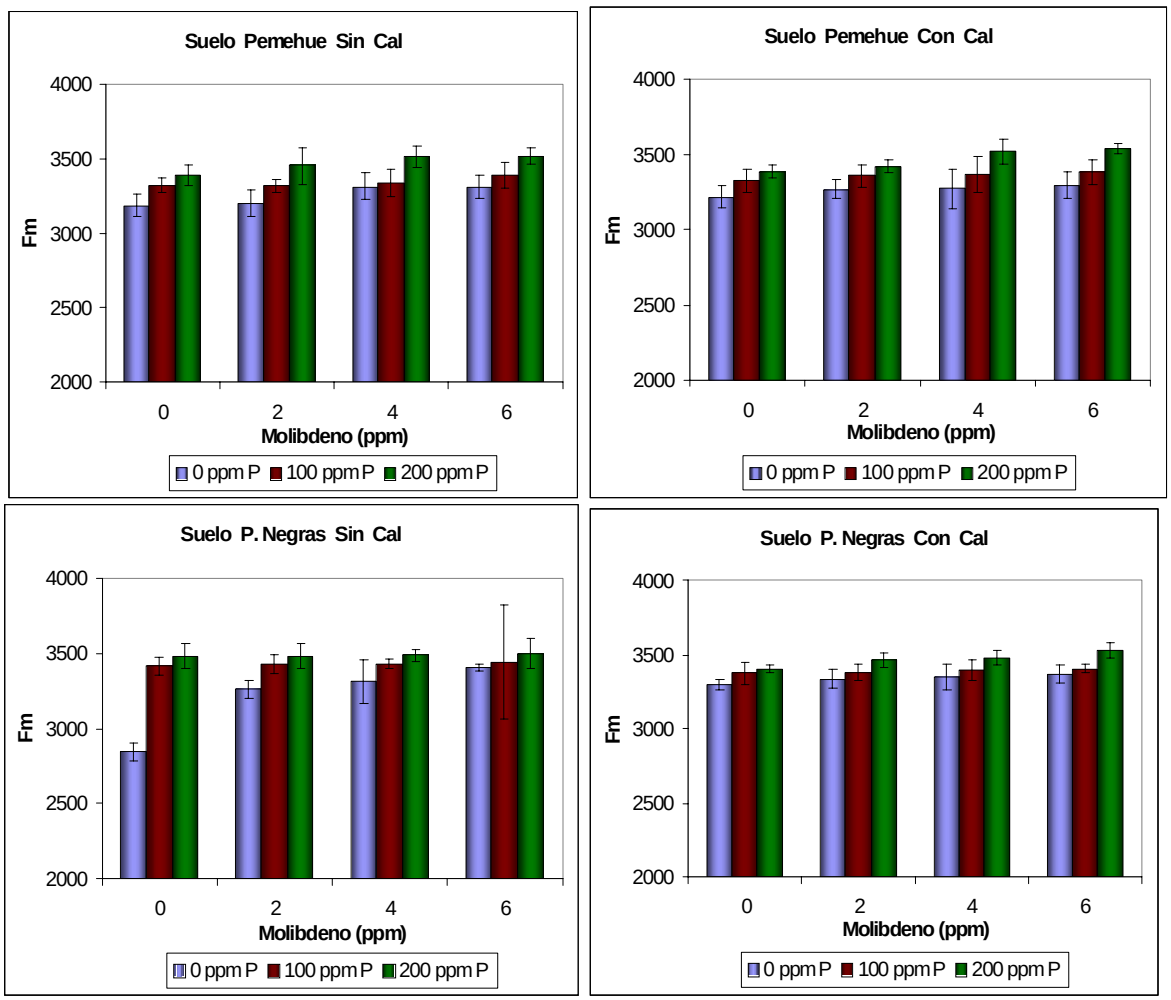


Figura 33. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre la fluorescencia máxima, en estado de hojas adultas, de trébol blanco

Estos resultados permiten deducir que la disminución de la eficiencia fotoquímica con las menores dosis de la interacción P/Mo, en ambos suelos, puede ser atribuida al decrecimiento en *Fo* e incrementos en *Fm*. Este comportamiento sugiere cambios a nivel del centro de reacción del FSII donde la energía de excitación capturada por las antenas no se está transfiriendo a los centros de reacción del FSII y, por lo tanto, afectando los mecanismos asociados a la actividad del FSII, además de afectar, el crecimiento radical, foliar; debido a desordenes fisiológicos bajo este tipo de estrés.

Situaciones de estrés abiótico (nutritivo) producen cambios en la regulación redox y generan estrés oxidativo. La modificación oxidativa de las proteínas puede ser debido a condiciones que no tienen naturaleza oxidativa *per se*, pero que si provocan una forma oxidativa en la proteína como puede ser la falta de suministro de nitrógeno (García-Ferris & Moreno, 1994; Roulin & Feller, 1998; Esquivel *et al*., 2000).

Existe mucha evidencia que el catabolismo de la Rubisco se inicia por una modificación oxidativa de la molécula a nivel de cloroplastos (Bushell *et al*., 1993; García-Ferris & Moreno, 1994; Roulin & Feller, 1997 y 1998). Recientemente, estudios realizados por Albuquerque *et al*. (2001) encontraron que la disminución de la fotosíntesis también se debe a la reducción de la actividad de Hill, que implica daños en el complejo de oxidación del agua. Estos autores indican que el contenido y actividad de la enzima Rubisco (encargada de fijar el CO_2 para formar carbohidratos) puede disminuir debido a una exposición prolongada a estrés nutritivo.

4. CONCLUSIONES

Los estudios cinéticos de molibdato y fosfato demuestran que en los primeros 30 minutos se adsorbe aproximadamente el 55% del molibdato y 62% del fosfato. Posteriormente, la reacción continúa lentamente hasta un equilibrio a las 24 h, donde se ha adsorbido aproximadamente 90% y 97% de molibdato y fosfato, respectivamente.

Los parámetros cinéticos fueron adecuadamente descritos por la ecuación modificada de Elovich ($R^2 > 0,93$). Los valores de la constante α sugieren una alta adsorción de fosfato, en cambio, los mayores valores de la constante β en la adsorción de molibdato indican una alta tasa de desorción de este anión. Se postula, que el mecanismo de reacción consiste en dos etapas sucesivas. En la primera etapa, se forma un complejo par-iónico entre la superficie protonada y el anión a través de atracción electrostática. Luego, la segunda etapa, involucra un proceso de intercambio de ligandos. Los resultados sugieren que en la superficie de estos Andisoles está dominada por altos contenidos de Al-OH y Fe-OH activos, sugiriendo que el mecanismo de adsorción de molibdato se asocia principalmente a la presencia de óxidos cristalinos de Al y Fe (Al_d, Fe_d), en cambio, la adsorción de fosfato es regulada el contenido de MO asociada a los altos contenidos de Al_p y Fe_p asociados al humus y contenidos de alofán.

Los estudios de adsorción en función del pH indican que la adsorción de molibdato y fosfato es dependiente del pH. En general, la adsorción de fosfato fue 20% mayor que la adsorción de molibdato. Los datos experimentales fueron modelados y adecuadamente descritos por la ecuación de Freundlich con $R^2 > 0,921$. Los parámetros obtenidos indican que la capacidad de adsorción (*a*) fue mayor para fosfato en todos los suelos excepto en el suelo Vilcún que presentó mayor capacidad de adsorción de molibdato. La energía de adsorción (*b*) de fosfato fue mayor que la de molibdato. En general, en estos suelos ambas constantes disminuyen a medida que decrece la adsorción por incrementos del pH.

Los estudios de adsorción competitiva entre fosfato y molibdato indican que incrementos en la aplicación de fosfato (0,5 a 2,0 mM) decrecen entre 10-28% la adsorción de molibdato, comportamiento atribuido al bloqueo de los sitios activos de Al y Fe debido a incremento de la carga negativa neta y a la repulsión electrostáticas derivada de la penetración en la superficie coloidal de estos Andisoles.

Los parámetros obtenidos a través de la ecuación de Multicomponente de Freundlich, indican que fosfato es un mayor competidor que molibdato por los sitios de adsorción en superficie coloidal de estos Andisoles. La capacidad de adsorción de fosfato (a_P) fue mayor que la capacidad de adsorción de molibdato (a_{Mo}). A su vez, el coeficiente de competitividad de molibdato sobre fosfato ($K_{P,Mo}$) fue muy bajo en relación al coeficiente de competitividad de fosfato sobre molibdato ($K_{Mo,P}$). El comportamiento de estos Andisoles, corrobora el nulo efecto que ejerce molibdato sobre la adsorción de fosfato.

Los resultados de los estudios bajo condiciones de invernadero indican que el crecimiento de trébol blanco fue afectado por el efecto sinérgico de las aplicaciones de Cal/P; debido a que fosfato compitió fuertemente con la adsorción de Mo resultando en una mayor disponibilidad de Mo en la solución del suelo, y por ende en un aumento de la absorción de Mo por la planta. La aplicación de P junto con la fertilización de Mo aumentó el rendimiento de la materia seca, la concentración foliar de Mo entre un 10-30% y la absorción de Mo entre un 20-40% en los suelos sin y con Cal comparado con la aplicación de sólo Mo.

La tendencia general, en ambos suelos, indica que esta especie presentó mayor respuesta al encalado y a la aplicación de fósforo, lo que demuestra la sensibilidad de esta especie a las condiciones de acidez del suelo. Estos resultados indican que las deficiencias de Mo foliar pueden superarse por el efecto sinérgico de la aplicación cal y P a estos Andisoles.

La calidad mineral de trébol blanco se incrementó con las diferentes interacciones P/Mo en ambos suelos sin y con Cal, alcanzando altos contenidos de P, Ca, y Mg foliar, junto a contenidos normales de Cu y Fe foliar. Por otro lado, la calidad nutricional alcanzó altos contenidos relativos de clorofila, proteína bruta y carbohidratos solubles. Estos resultados indican que la absorción de nutrientes, la calidad mineral y nutricional dependieron de la mayor disponibilidad de nutrientes como resultado de la fertilización al establecimiento.

Según los resultados obtenidos, se puede concluir que el medidor de clorofila es un buen estimador del estatus de nitrógeno de trébol blanco; debido a que sus lecturas se relacionan directamente con el contenido de nitrógeno en las hojas y con la producción de ms. El valor crítico calculado para lectura de clorofila en conjunto con el modelo, servirán para entregar recomendaciones de las dosis más adecuadas de la interacción P/Mo bajo condiciones de suelo sin y con enmienda. Sin embargo, es necesario validar el modelo por segunda vez para validar los resultados obtenidos.

Estos resultados permiten deducir que la disminución de la eficiencia fotoquímica con las menores dosis de la interacción P/Mo, en ambos suelos, puede ser atribuida al decrecimiento en *Fo* e incrementos en *Fm*. Este comportamiento sugiere cambios a nivel del centro de reacción del FSII donde la energía de excitación capturada por las antenas no se está transfiriendo a los centros de reacción del FSII.

En Trébol Blanco, desde el punto de vista técnico agronómico, el efecto de la interacción Cal/P y Mo de los tratamientos 100 ppm P/6 ppm Mo y 200 ppm P/4 ppm Mo fueron las más adecuadas para mejorar la calidad mineral y nutritiva; esto involucra que la interacción fosfato-molibdato implicaría un efecto sinérgico tanto en la partición de los carbohidratos a nivel foliar como en el metabolismo del nitrógeno, que influencian la asimilación y utilización de carbohidratos y, por ende, la actividad fotosintética de esta especie.

En general, los estudios de adsorción y bajo condiciones de invernadero indican que fosfato compitió fuertemente con la adsorción de molibdato resultando en una mayor disponibilidad de molibdeno en la solución del suelo y, por ende, en incrementos de la absorción de molibdeno por trébol blanco. Estos resultados sugieren que las deficiencias de foliares de molibdeo pueden superarse por el efecto sinérgico de la aplicación Cal y P a estos Andisoles.

5. REFERENCIAS

Adams, W.W., Demmig_Adams, B., Winter, K. & Schreiber, U. 1990. The ratio of variable to maximun chlorophyll fluorescence from photosystem II, measured in leaves at ambient temperature and 77K, as an indicator of the photon yield of photosynthesis. *Planta*, **180**, 166-174.

Adams, J.F. 1997. Molybdenum in agriculture.Cambridge University. Pr, Cambridge.

Adriano, D.C. & Weber, J. 1998. Coal ash utilization for soil amendment to enhance water relations and turf growth. EPRI Rep TR-111318, Electric Power Res Inst Palo Alto, CA.

Adriano, D. 2001. Molibdenum. In: *Trace elements in terrestrial environments. Biogeochemistry, bioavailability, and risk of metals*, 2 st edn (ed. A. Adriano), Chapter 15, pp. 587-624. Springer-Verlag, New York, USA.

Acuña, H.P. 1993. Comparación de métodos de siembra de la mezcla de trébol blanco/ballica perenne en un suelo trumao. *Agricultura Técnica* (Chile), **53**, 196-201.

Agarwala, S. & Hewit, E. 1954. Molybdenum as a plant nutrient. *Journal Horticulural Sc*ience, **29**, 291-300.

Agarwala, S., Sharma, C., Faroq, S. & Chatterjee, C. 1978. Effect of molybdenum deficiency on growth and metabolism of corn plants raised in sand culture. *Canadian Journal of Botany,* **56**, 1905-1908.

Albuquerque, J.A., Esquivél, M.G., Teixeira A.R.& Ferreira R.B. 2001. The catabolism of ribulose bisphosphate carboxylase from higher plants. A hypothesis. *Plant Science*, **161**, 55–65.

Alfaro, I. 1993. Estudio de la reactividad superficial de aluminosilicatos recubierto con bajos porcentajes de óxidos de Fe. Tesis, Facultad de Ciencias, Universidad de Santiago de Chile.

Alloway, W.H., 1968. Agronomic controls over the environment cycling of trace elements. *Advances in Agronomy,* **20**, 235-274.

Alloway, W.H. 1975. Proc Intl Conf Heavy Metals in the Environment. Univ. of Toronto, Ontario, Canadá.

Anderson, A.J. 1956. Molybdenum as a fertilizer. *Advances in Agronomy,* **8**, 163-202.

Anderson, S.J., & Sposito, G. 1992. Proton surface-charge density in soils with structural and pH-dependent charge. *Soil Science Society of American Journal,* **56**, 1437-1443.

Appelt, H.; Coleman, N. T. & Pratt, P. F. 1975. Interaction between organic compounds, minerals and ions in volcanic-ash-derived soils. II Effects of organic compounds on the adsorption of phosphate. *Soil Science Society of America Proceedings*, **39**, 628-630.

Atalay, A. 2001. Variation in phosphorus sorption with soil particle size. *Soil and sediment contamination*. **10**(3), 317-335.

Awad, A.S. & Edwards, D.G. 1977. *Plant and Soil*, **48**, 169-183.

Baghour, M., Ragala, L., Moreno, D.A., Villora, G., Hernández, J., Castilla, N. & Romero, L. 2003. Effect of root zone temperature on accumulation of molybdenum and nitrogen metabolism in potato plants. *Journal of Plant Nutrition*, **26**, 443-461.

Bailey, J. & Laidlaw, A. 1999. The interactive effects of phosphorus, potassium, lime and molybdenum on the growth and morphology of white clover (*Trifolium repens* L.) at establishment. *Grass and Forage Science*. **54**, 69-76.

Ball, R. 1982. Nitrogen balances inintensively managed pasture systems. In: *Nitrogen Balances in New Zealand Ecosystems*, (ed P.W. Gandar), pp. 47-66, Department of Scientific & Industrial research (DSIR), Palmerston North, NZ.

Barrow, N.J. 1970. Comparison of the adsorption of molybdate, sulfate and phosphate by soils. *Soil Science*, **109,** 282-288.

Barrow, N. J. 1979. Reactions with variable charge soils. Martinus Nijhoff, Dordrecht.

Barrow, N.J. 1980. Differences among a wide ranging collection of soils in the rate reaction with phosphate. *Australian. Journal of Soil Re*search, **18**, 215-224.

Barrow, N.J. 1983. A mechanistic model for describing the sorption and desorption of phosphate by soil. *Journal of Soil Science*, **34**, 733-750.

Barrow, N. 1984. Modelling the effects of pH on phosphate sorption by soils. *Journal of Soil Science*, **35**, 283-297.

Barrow, N.J. 1985. Reactions of anions and cations with variable-charge soils. *Advances in Agronomy*. **38**, 183-230.

Barrow, N.J. 1986. Testing a mechanistic model. I. The effects of time and temperature on the reaction of fluoride and molybdate with soil. *Journal of Soil Science*. **37**, 267-275.

Barrow, N.J. 1987. Reactions With Variable Charge Soils. pp.Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Barrow, N.J. 1989. Testing a mechanistic model IX. Competition between anions for sorption by soil. *Journal of Soil Science*, **40,** 415-425.

Barrow, N.J. & Whelan, B. 1989. Testing a mechanistic model VII. The effects of time and

temperature of incubation on the sorption and subsequent desorption of selenite and selenate by soil. *Journal of Soil Science*, **40**, 29-37.

Barrow, N.J. 1992. The effects of time on the competition between anions for sorption. *Journal of Soil Science,* **43**, 421-428.

Barrow, N.J. 1996. The reaction of anions and cations with metal oxides as models for their reaction with soil. In: *Adsorption on New and Modified Inorganic Sorbents* (eds A. Dabrowski & V.A. Tertykh), pp. 829-856, Studies in Surface Science and Catalysis Vol. 99, Elseiver, Amsterdam.

Barrow, N.J. 1999. The four laws of soil chemistry: the Leeper lecture 1998. *Australian Journal of Soil Research*, **37,** 787-829.

Barrow, N.J., Cartes, P. & Mora, M.L. 2005. Modifications to the Freundlich equation to describe anion sorption over a large range and to describe competition between pairs of ions. *European Journal of Soil Science*, **0** (0) doi:10.1111/j.1365-2389.2005.00700.x

Berard, L.S., Senecal, M. & Vigier, B. 1990. Effects of nitrogen fertilization on stored cabbage. II Mineral composition in mid-rib and head tissues of two cultivars. *Journal Horticultural Science,* **65**, 40-416.

Bernier, V.R.L. 1985. Informe Técnico Programa Praderas 1989/90. CRI-Remehue (INIA).

Bernier, V.R.L. & Teuber, N. 1990. Respuesta de la alfalfa (*Medicago sativa*) a la fertilización fosfatada en un suelo Osorno. Informe Técnico Programa Praderas 1989/90. CRI-Remehue (INIA), p. 105-114.

Besoaín, E. & Sepúlveda, G. 1985. Mineralogía de los suelos volcánicos del Centro-sur de Chile: Minerales Primarios. En: *Suelos Volcánicos de Chile*, 1st edn (ed J. Tosso), Capítulo 2, pp. 153-205. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Ministerio de Agricultura,

Santiago, Chile.

Besoaín, E., Peralta, M. & Massaro, S. 2000. Mineralogía y génesis de algunos suelos de cenizas volcánicasde Chiloé continental, Chile. *Agricultura Técnica* (Chile, **60,** 127–153.

Bibak, A. & Borggaard, O. 1994. Molybdenum adsorption by aluminum and iron oxides and humic acid. *Soil Science*, **158**, 323-328.

Bingham, F.T. & Garber, M.J. 1960. *Soil Science Society American Proceeding,* **24**, 209-213.
Chappell, W.R. 1975. In: Heavy metals in the aquatic environment. Pergamon Pr, New York.

Blakemore, L., Searle, F. & Daly, B. 1987. *Methods of chemical analysis of soils. New Zealand Soil Bureau Scientific*. Report 80, Auckland, New Zealand.

Bloomfield, C. & Kelso, W.I. 1973. The movilization and fixation of molybdenum, vanadium, and uranium by decomposing plant matter. *Journal of Soil Science,* **24**, 368-379.

Bohn, H. L., McNeal, B.L. & O'Connor, G.A. 1985. Anion and molecular retention. In: Soil Chemistry, pp. 184-207. New York: Wiley.

Björkman, O. & Demming-Adams, B. 1995. Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion and dissipation in leaves of higher plants. In: *Ecophysiology of photosynthesis,*(eds E.D. Schulze & M:M: Caldwell), pp. 17-47. Springer-Verlag: Berlin, Germany.

Bolan, N.S. & Barrow, N.J. 1984. Modeling the effects of sorption of phosphate and other anions on the surface charge of variable charge oxides. *Journal of Soil Science*, **35,** 273-281.

Bolan, N. S., Barrow, N.J. & Posner, A. 1985. Describing the effect of time on the sorption of phosphate by iron and aluminium hydroxides. *Journal of Soil Science*, **36**, 187-196.

Bolan, N.S., Syers, J.K. & Tillman, R.W. 1986. Ionic strength effects on surface charge and sorption of phosphate and sulphate by soils. *Journal of Soil Science*, **37,** 379-388.

Bolan, N.S., Khan, A.R. & Tillman, R.W. 1997. Phosphate induced cadmium adsorption by variable charge soils. In: *Trace elements in New Zealand Environment* (ed J. Lee), pp. 30-38, New Zealand Trace Element Group, Rotorua, New Zealand.

Bolan, N.S., Naidu, R., Syers, J.K. & Tillman, R.W. 1999. Surface charge and solute interactions in soils. *Advances in Agronomy*, **67,** 87-140.

Bolan, N.S., Adriano, D. & Curtin, D. 2003. Soil acidification and liming interactions with nutrient and heavy metal transformation and biavailability. *Advances in Agronomy*, **78,** 215-272.

Boswell, F. 1980. Factors affecting the responses of soybeans to molybdenum application. In: Worl Soybean Research Conference II, (ed F.T. Corbin), pp. 417-432, Boulder, CO: Westview Press.

Bowden, J. W.; Nagarajah, S.; Barrow, N. J.; Posner, A. M. & Quirk, J. P. 1980. Describing the adsorption of phosphate, citrate and selenite on a variable charge mineral surface. *Australian Journal of Soil Res*earch, **18**, 49-60.

Briceño, M., Escudey, M., Galindo, G., Borchardt, D. & Chang, A. 2004. Characterization of chemical phosphorus forms in volcanic soils using 31P-NMR spectroscopy. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **35,** 1323-1337.

Brogan, J.C., Fleming, G.A. & Byrne, J.E. 1973. Molybdenum and copper in Irish pasture soils. *Irish Journal Agricultural Research,* **12**, 71-81.

Bushnell,T.P.; Bushnell, D. & Jagendorf, A.T. 1993. A Purified Zinc Proteasae of Pea Chloroplasts, EP1, Degrades the Large Subunit of Ribulose-1,5-Bisphosphate

Carboxylase/Oxigenase. *Plant Physiology*, **103**, 585-591.

Butler, W.L. 1978. Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol*, **29**, 345-378.

Butorina, E.P., Yagodin, B.A. & Feofanov, S.N. 1991. Effect of late foliar application of urea and molybdenum on winter wheat grain yield and quality. *Soils Fertilizer,* **56**, 1473.

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.

Campillo, R. & Sadzawka, A. 1992. Influencia del carbonato de calcio y dosis de fósforo sobre una pradera permanente, evolución de parámetros productivos y químicos del suelo. *Agricultura Técnica* (Chile). **52**, 381-387.

Campillo, R. 1994. Respuesta de la alfalfa a la fertilización y enmiendas de los suelos trumaos del sur de Chile. En: *producción y utilización de alfalfa en la X región,* (ed A. Bohórquez & G. Bortolameolli), pp. 25-52, Serie Remehue Nº 54, Osorno, Chile.

Campillo, R. & Barrientos, L. 2000. Potencial de fijación simbiótica de nitrógeno en ecosistemas con leguminosas forrajeras en el sur de Chile. En: La Fijación Biológica de Nitrógeno en Legminosas en América Latina y el Caribe: El aporte de las técnicas nucleares. Arreglos Regionales Cooperativos para la Promoción de la Ciencia y la Tecnología en América Latina (ARCAL), Irapuato, Guanajuato, México.

Campillo, R., Urquiaga, S., Undurraga, P. & Pino, I. 2002. Estrategias para optimizar la fijación biológica de nitrógeno en praderas de Chiloé. *Boletín-Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo*, **18**, 407-410.

Campillo, R., Urquiaga, S., Pino, I. &Montenegro, A. 2003. Estimación de la fijación

biológica de nitrógeno en leguminosas forrajeras mediante la metodolgía del ^{15}N. *Agricultura Técnica* (Chile), **63**, 169-179.

Caradus, J, Pinxterhuis, J., Hay, R., Lyons, T. And Hoglund, J. 1993. Response of white clover cultivars to fertiliser nitrogen. *New Zealand Journal Agricultural Research*. **36**, 285-295.

Casanova, A. 1997. Effect of low temperature on the frost resistance, photosynthetic efficiency and sucrose synthase activity of *Deschampia antartica*, Master Thesis, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Casanova, A. 2002. Auswirkungen von erhöhter CO2-Konzentration auf photosynthese, Kohlenhydrat-metabolismus und zuckerexport in kartoffelpflanzen (*Solanum tuberosum*), PhD. Thesi, Justus Liebig University, Gieben, Germany.

Cassel, D.K. 1980. Effects of plowing depth and deep incorporation on lime and phosphorus upon physical and chemical properties of two coastal plain soils after 15 years. *Soil Science Society of American Journal*, **44**, 89-95.

Chien, S.H. & Clayton, W.R. 1980. Application of Elovich equation to the kinetics of phosphate release and sorption in soils. *Soil Science Society of American Journal*, **44**, 265-268.

Cornforth, I.S. & Sinclair, A.G. 1984. Fertilizer and lime recommendations for pastures and crops in New Zealand. Ministery of Agriculture and Fisheries: Wellington, N.Z.

Correa, M., Zemelman, R. & Longeri, L. 1981. Influencia de la fertilización fosfórica en el crecimiento y en el contenido de nitrógeno de cuatro especies de leguminosas forrajeras inoculadas con Rhizobium. *Agricultura Técnica* (Chile), **41**, 79-82

Coventry, D.R. & Evans, J. 1989. Symbiotic nitrogen fixation and soil acidity. En: Soil

acidity and plant growth, (ed A.D. Robson), pp. 103-137, Academic Press, Australia.

Crawford, N.M. & Glass, A.D.M. 1998. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trends Plant Science* ,**3**, 389-395.

Dahlgren, R.A., Saigusa, M. & Ugolini, F.C. 2004. The nature, properties and management of volcanic soils. *Advances in Agronomy*, **82**, 113-182.

Das gupta, K.D. & Basuchaudhuri, P. 1977. Molybdenum nutrition of rice under low and high nitrogen level. *Plant Soil,* **46**, 681-685.

Davies, R.D., Beckett, P.H.T. & Wollman, E. 1978. *Plant and Soil,* **49**, 395-408.

Davis, R.D. 1981. Uptake of molybdenum and copper by forage crops growing on sludge-treated soils and its implications for the health of grazing animals. In: *International Conference on Heavy Metals in the Environmenent*, 3rd, Amsterdam, pp.194-197.

DeHaan, L.R., Russelle, M.P., Sheaffer, C.C. & Ehlke, N.J. 2002. Kura clover and birdsfoot trefoil response to soil pH. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **33,** 9-10.

De Jesus, W.C., Vale, F.X.R., Coelho, R.R., Hau, B., Zambolim, L. & Berger, R.D. 2004. Management of angular leaf spot in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with molybdenum and fungicide. *Agronomy Journal*, **96**, 665-670.

Demmig, B., Winter, K., Krüger, A. & Czygan, F.C. 1987. Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves. *Plant Phisiology*, **84**, 218-224.

Demmig-Adams, B. & Adams, W.W. 1996. Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. *Plant*, **198**, 460-470.

Demmig-Adams, B., Adams, W.W., Barker, D.H., Logan, B.A., Bowling, D.R. & Verhoeven, A.S. 1996. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Plant Phisiology*, **98**, 253-264.

Deng, Y.M. & Zhang, J.M. 2 003. Effect of B and Mo application on growth and yield. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, **31**, 52-53.

Deo, C, & Kothari, M.L. 2002. Effect of modes and levels of molybdenum application on grain yield protein content and nodulation of chickpea grown on loamy sand soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **33,** 2905-2915.

Díaz B., K (Ed). 2002. Mejores prácticas de manejo. Cultivos tradicionales de la Zona Centro Sur de Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Chillán, Chile. Boletín INIA Nº75. 152p.

Dwyer, L.M., Tollenaar, M. & Houwing, L..1991. A non-destructive method to monitor leaf greenness in corn. *Canadian Journal of Plant Science*, **71**, 505-509.

Dwyer, L.M., Anderson, A.M., Ma, B.L., Stewart, D.W., Tollenaar, M. & Gregorich, E. 1995. Quantifying the nonlinearity in chlorophyll meter response to corn leaf nitrogen concentration. *Canadian Journal of Plant Science*, **75**, 179-182.

Edgell, K. 1988. *USEPA Method Study 37 - SW-846 Method 3050 Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils*. EPA Contract No. 68-03-3254.

Edmeades, D.C., Blamey, F.P.C., Asher, C.J. & Edwards, D.G. 1991. Effects of pH and aluminium on the growth of temperature pasture species. II Growth and nodulation of legumes. *Australian Journal of Agricultural Research,* **42**, 893-900.

Elizalde, V., Teuber, N., Hargreaves, A., Lanuza, F. & Scholz, A. 1992. Efecto del estado

fenológico, al corte de una pradera de ballica perenne con trébol blanco, sobre el rendimiento de materia seca, la capacidad fermentativa y la calidad del ensilaje. *Agricultura Técnica* (Chile), **52**, 38-47.

Elseewi, A.A. & Page, A.L. 1984. Molybdenum enrichment of plants grown on fly ash-treated soils. *Journal Environmental Quality,* **13**, 394-398.

El Shafei, G.M., Philp, C.A. & Moussa, N.A. 2001. Adsorption of molybdenum on titania from aqueous solutions. *Journal colloid Interface Science*, **234**, 142-148.

Escudey, M.; Forster, J.E. & Galindo, G. 2004. Relevance of organic matter in some chemical and physical characteristics of volcanic ash-derived soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **35**, 781-797.

Espinoza, W.G. 1973. Análisis de las investigaciones sobre fósforo en suelos volcánicos chilenos. Universidad de Concepción. Boletín Técnico Nº 56.

Esquivel, M.G., Ferreira, R.B. & Teixeira, A.R. 2000. Protein degradation in C3 and C4 plants subjected to nutrient starvation. Particular reference to ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase and glycolate oxidase. *Plant Science*, **153**, 15-23.

Etchevers, J. 1999. Técnicas de diagnóstico de producción y estado nutrimental de los cultivos. (ed I. Salazar), En: *Resúmenes 14º Congreso latinoamericano de la Ciencia del Suelo*, Pucón, Chile.

Fageria, N.K., Baligar, V.C. & Edwards, D. 1990. soil-plant nutrient relationships at low pH stress. In: *Crops as enhancers of nutrient use,* (eds V.C.baligar & R.R. Duncan), pp. 475-507, academic Press, San Diego, CA.

Fedorova, E.E. & Potatueva, Y.A. 1984. Ultrastructure and nitrogen-fixing activity of red clover nodules on application of molybdenum. *Sov. Plant Physiology,* **31**, 876-81.

Finnan, J.M., Burke, J.I. & Jones, M.B. 1997. A note on a non-destructive method of chlorophyll determination in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Irish of Agriculture and Food Research*, **36**, 85-89.

Food and Nutrition Board. 1989. Recommended daily allowances. National Research Council, Washington, DC.

Frame, J. & Newbould, P. 1986. Effect of seed rate of red clover and of companion timothy or tall fescue on herbage production. *Grass and Forage Science*, **40**, 459-465.

Franzen, D.W. & Richardson, J.L. 2000. Soil factors affecting iron chlorosis of soybean in the red river valley of north Dakota and Minesota. *Journal of Plant Nutrition*, **23**, 67-78.

Frink, C.R., Waggoner, P.E. & Ausubel, J.H. 1999. Nitrogen fertilizer: retrospect and prospect. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **96**, 1175-80

Freese, D., Vanriemsdijk, W.H. & Vanderzee, S. 1995. Modeling phosphate-sorption kinetics in acid soils. *European Journal of Soil Science*, **46**, 239-245.

Galindo, G. & Bingham, F. T. 1977. Homovalent and heterovalent cation exchange equilibria in soils with variable charge. *Soil Science Society of America Proceedings*, **41**, 883-886.

Galindo, G., Barros, E, & Escudey, M. 1986. Comparación de los contenidos de diversas formas de Al activo y Fe en Andisoles chilenos determinados y estimados por diferentes laboratorios. *Ciencia e Investigación Agraria*, **13**, 135-147.

Galindo, G., Forster, J.E., Díaz, P. & Escudey, M. 1992. Determinación del punto isoeléctrico en suelos derivados de masteriales volcánicos y sus fracciones. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química.* **37**, 315-322.

García-Ferris, C. & Moreno, J. 1994. Oxidative modification and breakdown of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxigenase induced in *Euglena gracilis* by nitrogen starvation. *Planta*, **193**, 208-215.

Gastó, J. & Gallardo, S. 1995. Ecorregiones de Chile. Superficie de pastizales, existencia de ganado y Productividad. *Ciencia e Investigación Agraria*, *22*, 25 – 39.

Gembarzewski, H. & Sienkiewicz, U. 1989. Lowering cooksfoot yields caused by manganese toxicity and molybdenum deficiency caused by acidifying effect of ammonium nitrate application. In: Soil and Forage Plant Nutrition: proceeding of the XVI international Grasslands Congress, pp. 7-8.

Giles, C. H.; Smith, D. & Huitson, J. 1974. A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. *Theorical. Journal Colloidal Interface Sci*ence, **47**, 755-765.

Goering, H.K. & van Soest, P.J. 1972. Forage Fiber Analyses (apparatus, reagents, procedures and some applications). Agricultural Handbook Nº 379. Agricultural research Services. USA, Department of Agriculture.

Goldberg, S. & Sposito, G. 1985. On the mechanism of specific phosphate adsorption by hidroxilated mineral surfaces: a review. *Communications in Soil Science and Plant Analysis,* **16**, 801-821.

Goldberg, S., Forster, H.S. & Godfrey, C.L. 1996. Molybdenum adsorption on oxides, clay minerals, and soils. *Soil Science Society of America Journal*, **60**, 425-432.

Goldberg, S. & Forster, H. S. 1998. Factors affecting molybdenum adsorption by soils and minerals. *Soil Science*, **163,** 109-114.

Goldberg, S., Scott, M.L. & Suarez, D.L. 2002. Predicting molybdenum adsorption by soils

using chemical parameters in the constant capacitance model. *Soil Science Society of America Journal*, **66,** 1836-1842.

Gonzalez, R., Appelt, H., Schalscha, E.B. & Bingham, F.T. 1974. Molybdate adsorption characteristics of volcanic-ash-derived soils in Chile. *Soil Science Society of America Proceedings*, **38,** 903-906.

Gotbold, D.L., Dictus, K. & Huttermann, N. 1998. Influence of aluminium and nitrate on root growth and mineral nutrition of Norway spruce *Picea abies* seeding. *Canadian Journal Forrest Research,* **18**, 1167-1171.

Greenland, D.J. & Hayes, M.H.B. 1981. The Chemistry of Soil Processes, John Wiley & Sons, Chichester, U.K.

Griffin, R.A & Jurinak, J.J. 1974. Kinetics of phosphate release from a desert soil. *Soil Science*, **121**, 205-211.

Gupta, U. & Lipset, J. 1981. Molybdenum in soils, plants and animals. *Advances in Agronomy*, **34**, 73-115.

Gupta, U.C. 1997. Symptoms of molybdenum deficiency and toxicity in crops, pp160-170. En: Molybdenum in Agriculture, (ed U.C. Gupta). Cambridge University Press, New York, NY.

Hale, K., McGrath, S., Lombi, E., Stack, S., Terry, N., Pickering, I., George, G. Pilon-Smits, E. 2001. Molybdenum sequestration in Brassica species. A role for Anthocyanins?. *Plant Physiology*, **126**, 1391-1402.

Harmsen, K. & Vlek, P.L.G. 1985. The chemistry of micronutrients in soil. In: *Micronutrients in tropical food crop production*, (ed P.L.G. Vlek), Chapter 1, pp. 1-42. Martines Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, Netherlands.

Harris, E. 2001. Chlamydomonas as a model organism *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Bio,* **52**, 363-406.

Harter, R.D. 1991. Micronutrients adsorption-desorption reactions in soils. In: Micronutrients in Agriculture, (eds J.J. Mortvedt, Giordano, P.M. & Lindsay, W.L.), 2nd ed, SSSA 4, Soil Sci. Am, Madison, WI.

Heilman, M.D., Carter, D.L. & González, C.L. 1965. Ethylen glycol monoethil ether for determining surface area of silicate minerals. *Soil Science*, **100,** 356-360.

Heuwinkel, H., Kirkby, E.A., Le Bot, J. & Marschner, H. 1992. Phosphorus deficiency enhances molybdenum uptake by tomato plants. *Journal of Plant Nutrition,* **15**, 549-568.

Hingston, F., Posner, A., Atkinson, R. & Quirk, J. 1972. Anion adsorption on goethite and gibbsite. I. The role of proton in determining adsorption envelopes. *Journal of Soil Science*, **23**, 177-192.

Hingston, F.J. 1981. A review of anion adsorption. In: *Adsorption of Inorganics at Solid-Liquid Interfaces* (eds M.A. Anderson & A.J. Robin), pp. 51-90. Ann Arbor Science Publishing Inc., Michigan.

Hirade, S. & Uchida, N. 2004. Effects of soil organic matter on pH-dependent phosphate sorption by soils. *Soil Science and Plant Nutrition*, **50**, 665-675.

Holtzclaw, K. & Sposito, G. 1979. Analytical properties of the soluble, metal-complexing fractions in sludge-soil mixtures; III. Unaltered anionic surfactants in fulvic acid. *Soil Science Society of America Journal*, **43,** 318-323.

Hopkins, A., Adamson, H. & Bowling, P.J. 1994. Response of permanent and reseeded grassland to fertilizer nitrogen. 2. Effects on concentrations of Ca, Mg, K, Na, S, P, Mn,

Zn, Cu, Co and Mo in herbage at a range of sites. *Grass and Forage*, **49**, 9-20.

Horton, p., Ruban, A.V. & Walters, R. 1994. Regulation of light harvesting in green plant. *Plant Phisiology*, **106**, 415-420.

Hüner, N.P.A., Ivanov, A.G., Wilson, K.E., Miskiewicz, E., Krol, M. & Öquist, G. 2002. Energy sensing and photostasis in photoautotrophs. In: *Sensing, signaling and cell adaptation*, 1st edn (eds K.B. Storey & J.M. Storey), pp. 243-255. Elsevier Science BV: Amsterdam, The Neatherlands.

Hunter, J.G. & Vergnano, O. 1953. Trace elements toxicities in oat plants. *Annals of Applied Biology.,* **40**, 761-777.

Instituto Nacional de Estadísticas (INE). 1997. VI Censo Nacional Agropecuario. 1997. Total Nacional. Santiago. 223 pp.

Jahn, E. 1992. Utilización de la alfalfa en producción de leche. En: Alfalfa y su utilización en la zona sur (ed O. Romero), Serie Carillanca (INIA) Nº31.

James, D.W., Jackson, T.L. & Hayward, M.E. 1968. Effect of molybdenum and lime on the growth and molybdenum content of alfalfa grown on acid soils. *Soil Science,* **105**, 397-402.

Jarrel, W.N. & Dawson, M.D. 1978. Sorption and availability of molybdenum in soils of Western Oregon. *Soil Science Society American Journal,* **42**, 412-415.

Jarrel, W.M., Page, A.L. & Elseewi, A.A. 1980. Molybdenum in the environment. *Residue Review*, **74,** 1-43.

Jarvis, S.C. & Robson, A.D. 1983. The effects of nitrogen nutrition of plants on the development of acidity in Western Australian soils. *Australian Journal of Agriculture Research*, **34**, 355-365.

Jones, L. H. 1957. The solubility of molybdenum in simplified systems. *Journal of Soil Science,* **8**, 313-327.

Jones, J.B., Wolf, B. & Mills, H. 1991. Plant analysis Handbook. A practical sampling preparation, analysis and interpretation guide. 213p.

Jouany, C., Cruz, P., Petibon. P. & Duru, M. 2004. diagnosing phosphorus status of natural grassland in the presence of white clover. *European Journal of Agronomy*. **21**, 273-285.

Karimian, N. & Cox, F. 1978. Adsorption and extractability of molybdenum in relation to some chemical properties of soil. *Soil Science Society of America Journal*, **42**, 757-761.

Kannan, S. & Ramani, S. 1978. Studies on molybdenum absorption and transport in bean and rice. Plant Physiology, 62, 179-181.

Karimian, N. & Cox, F. 1979. Molybdenum availability as predicted from selected soil chemical properties. *Agronomy Journal*, **71**, 63-65.

Kamprath, E.J. & Foy, C.D. 1985. Lime fertilizer plant interactions in acid soils. Fertilizer plant technology and use. 633p.

Khattak, R., Page, A.L., Parker, D.R. & Bakhtar, D. 1991. Accumulation and interactions of arsenic, selenium, molybdenum and phosphorus in alfalfa. *Journal Environmenthal Quality,* **20**, 165-168.

Krause, G.H. & Weis, E. 1984. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. II. Interpretation of fluorescence signals. *Photosynthesis Research*, **5**, 139-157.

Krause, G.H. & Weis, E. 1988. The photosynthetic apparatus and chlorophyll fluorescence. An introduction. In: *Applications of chlorophyll fluorescence*, (ed H.K. Lichtenhaler), pp.

3-11, Kluwer Academic Publisher.

Krause, G.H. & Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.,* **42**, 313-349.

Krauskopf, K.B. 1979. Geochemistry of micronutrients. In: *Micronutrients in agriculture*. (eds J.J. Mortvedt, P.M. Giordano & W.L. Lindsay), pp. 7-40. Madison, WI: Soil Science Society of America.

Kubota, J. 1977. En: Molybdenum in the environment, (eds W.R. Chappell & K.K. Petersen), Marcel Dekker, New York.

Kubota, J., Lazar, V.A., Simonson, G.H. & Hill, W.H. 1967. The relationship of soils to molybdenum toxicity in grazing animals in Oregon. *Soil Science Society American Proceeding,* **31**, 667-671.

Kubota, J., Lemon, E.R. & Allaway, W.H. 1973. The effect of soil moisture content upon the uptake of molybdenum, copper, and cobalt by Alsike clover. *Soil Science Society of American Proceeding,* **27**, 679-683.

Kuo, S. & Lotse, E.G. 1972. Kinetics of phosphate sorption by calcium carbonate and Ca-kaolinite. *Soil Science Society of American Proceedings*, **36**, 725-729.

Li, S.T., Zhou, J.M., Wang, H.Y., Du, C.W. & Chen, X.Q. 2005. Kinetics of phosphate release from three phosphate-treated soils. *Pedosphere*, **15**, 518-525.

Liu, P., Yang, Y.S., Xu, G.D., Fang, Y.H., Yang, Y.A. & Kalin, R.M. 2005. The effect of molybdenum and boron in soil on the growth and photosynthesis of three soybean varieties. *Plant, Soil and Environment*, **51**, 197-205.

Lindsay, W.L. 1972. Inorganic phase equilibria of micronutrients in soils. In:

Micronutrients in Agriculture, (ed J.J.Mortvedt, P.M. Giordano & W.L. Lindsay), pp. 41-57. Madison, WI: Soil Science society of America.

Lindsay, W. L. 1979. Chemical equilibria in soils. John Wiley & Sons, New York.

Liu, P., Xu, G.D., Zhou, Z.X. & Xu, X.L. 2002. The effects of Mo and Mn on some physiological characteristics of soybean. *Forest Research*, **15**, 156-162.

Liu, P., Yang, Y.S., Xu, G.D., Fang, Y.H., Yang, Y.A. & Kalin, R.M. 2005. The effects of molybdenum and boron in soil on the growth of three soybean varieties. *Plan, Soil and Environment*, **51**, 197-205.

Long, S.P., Humphies, S. & Falkowski, P.G. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.,* **45**, 633-662.

López, R. 1988. Especies forrajeras mejoradas. En: praderas para Chile. pp. 39-47.

Makoni, N.F.; von Keyserlingk, M.A.G., Shelford, J.A., Fisher, L.J. & Puchala, R. 1993. Fractionation of fresh, wilted and ensiled alfalfa proteins. *Animal Feed Science and Technology*, **41**, 1-13.

Malhi,S., Rasad, M., Gill, K. & McBeath, D. 1992. Response of alfalfa yield to phosphorus fertilization in two soils in central Alberta. *Communications in Soil Science and Plant Analysis,* **23**, 717-724.

Malhi, S., Zentner, R. & Heier, K. 2001. Banding increases effectiveness of fertilizer phosphorus for *Medicago sativa* production. *Nutrient Cycling Agroecosystems*, **59**, 1-11.

Mandal, B., Pal, S. & Mandal, L. 1998. Effect of molybdenum, phosphorus and lime application to acid soils on dry matter yield and molybdenum nutrition of lentil. *Journal of Plant Nutr*ition, **21**, 139-147.

Mangan, J.L., Harrison, F.A. & Vetter, R.L. 1991. Nutrition, Feeding, and Calves. Immunoreactive Fraction 1 Leaf Protein and Dry Matter Content During Wilting and Ensiling of Ryegrass and Alfalfa Caracterization of Protein Fractions in Fresh, Wilted, and Ensiled Alfalfa. *Journal Dairy Science*, **76**, 2186-2199.

Manning, B.A. & Goldberg, S. 1996. Modeling competitive adsorption of arsenate with phosphate and molybdate on oxide minerals. *Soil Science Society of American Journal,* **60**, 121-131.

Marquard, R. D. & Tipton, J.L. 1987. Relationship between extractable chlorophyll and an in situ method to estimate leaf greenness. *Hortscience,* **22**, 1327.

Marriot, C. & Haystead, A. 1993. Nitrogen fixation and transfer. In: *Sward Measurement Handbook*, (eds A. Davies, R.D. Baker, S.A. Grant & A.S. Laidlaw), pp. 245-264, 2nd ed. British Grassland Society, Reading, UK.

May, D.A., Wilkenson, S.R. & Cole, C.V. 1980. Phosphorus nutrition of forrajes. In: The Role of Phosphorus Fertilization on Alfalfa and Birdsfoot Trefoil. *Soil Science.* **141**, 417-422.

McBride, M.B., Richards, B.K., Steenhuis, T. & Spiers, G. 2000. Molybdenum uptake by forage crops grown on sewage sludge-amended soils in the field and greenhouse. *Journal Environment Quality,* **29**, 848-854.

McCuslin, B.D. & Gledhill, R.J. 1980. Afalfa fertilización en Nuevo México. NMSU Agric. Exp. Sta. Bull. 675p.

McKenzie, R.M. 1983. The adsorption of molybdenum on oxide surfaces. *Australian Journal of Soil Research*, **21,** 505-513.

McGechan, M.B. & Lewis, D.R. 2002. Sorption of phosphorus by soil, part 1: Principles, equations and models. *Biosystems Enineering*, **82**, 1-24.

McGechan, M.B. 2002. Sorption of phosphorus by soil, part 2: measurement methods, results and model parameter values. *Biosystems Enineering*, **82**, 115-130.

McKersie, B.D. 1981. Proteinases and peptidases of alfalfa herbage. *Canadian Journal Plant Science*, **61**, 53-59.

Mehra, O. & Jackson, M. 1960. Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. *Clays and Clay Minerals*, **7**, 317-327.

Melinao, J.A., Rouanet, J.L., Mora, M.L. & von Baer, E. 1999. Uso de un clorofilómetro como herramienta para evaluar el nivel de nitrógeno en un trigo invernal en la IX Región. En: *Resúmenes 14º Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo, 50º Congreso Sociedad Agronómica de Chile y 9º Congreso Nacional de la Ciencia del Suel*o, 8-12 de noviembre, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.p.735.

Mella, A. & Kühne, A. 1985. Sistemática y descripción de las Familias, Asociaciones y Series de suelos derivados de materiales piroclásticos de la zona central-sur de Chile. En: *Suelos Volcánicos de Chile*, 1st edn (ed J. Tosso), Capítulo 8, pp. 549-712. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Ministerio de Agricultura, Santiago, Chile.

Mendel, R.R. & Schwar, G. 1999. Biosynthesis and molecular biology of the molybdenum cofactor (Moco). In: *Metal Ions in Biological Systems, Molybdenum and Tungsten. Their roles in biological process*. Sigel A., Sigel, H. Eds. New York: Marcel Dekker, pp. 317-368.

Mendel, R.R. & Hänsch, R. 2002. Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants. *Journal Experimental Botany*. **53**, 1689-1698.

Mengel, K. & Kirkby, E.A. 1987. Principles of Plant Nutrition, 4th edn. International Potash Institute, Worblaufen-Bern, 687p.

Mills, C.F. & Davis, G.K. 1987. Trace elements in human and animal nutrition, Fifth edition. San Diego: Academia Press. pp 422-430.

Mitchell, R.L. 1964. Trace elements in soils. In: Chemistry of the Soil, (ed F.E. Bear), pp. 320-368, Princeton, NJ: van Nostrand Reinhold.

Miltimore, J.E. & Mason, J.L. 1971. Copper to molybdenum fatio and molybdenum and copper concentrations in ruminants feeds. *Canadian Journal of Animal Science,* **51**, 193-200.

Mizota, C. & van Reeuwijk, L. 1989. *Clay mineralogy and chemistry of soils formed in volcanic materials in diverse climatic regions*. Soil Monograph 2, ISRIC, Wageningen, Holland.

Mora, M.L. & Canales J. 1995a. Humin-clay interaction on surface reactivity in Chilean Andisols. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **26,** 2819-2828.

Mora, M.L. & Canales J. 1995b. Interactions of humic substances with allophanic compounds. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **26,** 2805-2817.

Mora, M. L. & Barrow, N.J. 1996. The effects of time of incubation on the relation between charge and pH of soil. *European Journal of soil Science,* **47**, 131-136.

Mora, M. L., Baeza, G; Pizarro C. & Demanet, R. 1999a. Effect of calcitic and dolomitic lime on physicochemical properties of a Chilean Andisol. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **30**, 427-439.

Mora, M. L.; Schnettler, B. & Demanet, R. 1999b. Effect of liming and gypsum on soil chemistry, yield, and mineral composition of ryegrass grown in an acidic Andisols. *Communications in Soil Science and Plant Analysis,* **30**, 1251-1266.

Moraghan, J.J. 1985. Plant tissue testing for micronutrient deficients and toxicities. In:

Micronutrients in tropical food crop production, (ed P.L.G. Vlek), Chapter 8, pp. 201-236. Martines Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, Netherlands.

Morvedt, J.J. & Anderson, O.E. 1982. Forage Legumes: Diagnosis and Correction of Molybdenum and Manganese Problems. Southern Cooperative Series Bulletin 278, Univerity of Georgia, Athens, G.A.

Murdock, L., Jones, S., Bowley, Needham,C., James, P.J. & Howe, P. 1997. Using a chlorophyll meter to make nitrogen recommendations on wheat. Cooperative Extension service, University of Kentucky, College of Agriculture. AGR-170: 1-4.

Murphy, J. & Riley, J. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, **27,** 31–36.

Murphy, L.S. & Walsh, L.M. 1972. corrections of micronutrient deficiencies with fertilizers. En: Micronutrients in Agriculture, (eds J.J. Mortvedt, Giordano, P.M. & Lindsay, W.L.), pp. 347-387, Madison, WI: Soil Science Society of America.

Naidu, R., Kookana, R.S., Sumner, M.E., Harter, R.D. & Tiller, K.G. 1997. Cadmium sorption and transport in variable charge soils: A review. *Journal Environmental Quality,* **26**, 602-617.

Nanzyo, M. & Watanabe, Y. 1981. Material balance associated with phosphate sorption by amorphous clays, silica-alumina gel and synthetic goethite. *Soil Science of Plant Nutr*ition, **27**, 329-337.

National Research Council (NCR). 2001. Nutrients composition of feeds. In: Nutrient requirement of daity cattle. Subcomitte on dairy cattle nutriton. National Academy Press, Washingtong, 158p.

Nelson, L.A. & Anderson R.L. 1997. Partitioning of soil test – Crop response probability. In: *Soil testing: correlating and interpreting the analytical results*. (eds Chairman P.T.R., J.T.

Cope, D.A. Whitney). ASA special publication number 29. American Society of Agronomy, Crop science society of America, Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin. p. 19-39.

Nichols, D & Ma, Y. 2002. The role of micronutrient and how they affect plant growth. International plant propagators. Combined Proceedings of Annual Meetings. pp. 116-120.

Norrish, K. 1975. Geochemistry and mineralogy of trace elements. In: Trace Elements in Soil-Plant-Animal Systems, (ed J.D. Nicholas & A.R. Egan), pp. 55-81, Proc. Jubilee Symp.

Novoa, R. & Villagrán, N. 2002. Evaluación de un instrumento medidor de clorofila en la determinación de niveles de nitrógeno foliar en maíz. *Agricultura Técnica* (Chile), **62**, 166-171.

O'Connor, g. 2000. *Environment Science Technology*: News p. 243 A.

Omarov, R.T., Sagi, M. & Lips, S.H. 1998. Regulation of aldehyde oxidase and nitrate reductase in roots of barley (*Hordeum vulgare* L.) by nitrogen source and salinity. *Journal of Experimental Botany*, **49**, 897-902.

Ortega, l. 1994. Informe Técnico1991/1994. Program Riego y Drenaje. CRI-Remehue (INIA).

Oshima, M. & McDonald, P. 1978. A Review of the Changes in Nitrogenous compounds of Herbage During Ensilage. *Journal Science Food Agriculture*, **29**, 297-505.

Ouzounidou, G., Llias, I., Kabataidis, M. & Chatzimichail, A. 2003. Comparative Study of nutrient deficiencies on growth and photochemistry of Tobacco. *Journal of Plant Nutrition*, **26**, 1605-1616.

Parfitt, R.L. 1978. Anion adsorption by soils and soil materials. *Advances in Agronomy*. **30**, 1-50.

Parfitt, R.L. 1979. The nature of the phosphate goethite (-FeOOH) complexes. Desorption and uptake by ryegrass. *Plant and Soil*. **53**, 55-65.

Parfitt, R.L. & Wilson, A.D. 1985. Estimation of allophane and halloysite in three sequences of volcanic soils, New Zealand. In: *Volcanic Soils. Weathering and Landscape Relationships of Soils on Tephra and Basalt*, (eds Caldas & Yaalon), pp. 1-8. Catena, Supplement.

Parfitt, R.L. & Childs, C.W. 1988. Estimation of forms of Fe and Al: A review, and analysis of contrasting soils by dissolution and Möessbauer methods. *Australian Journal of Soil Research*, **26,** 121-144.

Parfitt, R.L. 1989. Phosphate reactions with natural allophane ferrhydrite and goethite. *Journal of Soil Science*, **40**, 359-369.

Parfitt, R.L. 1990. Allophane in New Zealand-A review. *Australian Journal of Soil Research*, **28,** 343-360.

Parga, J. 1993. Cultivos suplementarios para uso en fresco y forrajes conservados. I Seminario Regional. Ley de la carne. Un desafío para la ganadería de Aysen, pp. 62-82. Colegio de Ingenieros Agrónomos. Direcc. Provincial. Coyhaique-Aysen.

Parga, J.1994. Establecimiento de alfalfa. Boletín Técnico nº 214. CRI-Remehue, Osorno, Chile.

Parks, G.A. 1967. Aqueous surface chemistry of oxides and complex oxide minerals-Isoelectric point and zero point of charge. In: *Equilibrium Concepts in Natural Water Systems* (ed W. Stumm), pp. 121-160, Advances in Chemistry Series No. 67, Am. Chem. Soc., Washington, D.C.

Patra, B.N. & Mohanty, S.K. 1994. Effect of nutrients and liming on changes in ph, redox

potential and uptake of iron and manganese by wetland rice in iron-toxic soil. *Boil. Fert. Soils*, **17**, 285-288.

Pattanayak, S.K., Das, D., Jena, M.R., Nayak, N.D.R.K. 2000. Seed treatment of green gram with molybdenum and cobalt: Effect on nodulation, biomass production an N uptake in an acid soil. *Journal Indian Society Soil Science*, **48**, 769-773.

Peltonen, J., Virtanen, A. & Haggren, E. 1995. Using a chlorophyll meter to optimize nitrogen fertilizer application of intensively-managed small-grain cereals. *Journal Agronomy and Crop Science*, **174**, 309-318.

Peterson, T., Blackmer,T., Francis, D. & Schepers J. 1993. Using a chlorophyll meter to improve N management. Institute of Agriculture and Natural Resources. Soil Resource management. Electronic version May 1996. University of Nebraska – Lincoln. EEUU. Disponible en: http://www.ianr.unl.edu/pubs/soil/g1171.htm

Phillips, R.L. & Meyer, R.D. 1993. Molybdenum concentration of lfalfa in Kern County. California: 1950 versus 1985. *Communications Soil Science Plant Analisys,* **24**, 2725-2731.

Ponnamperuma, F.N. 1985. Chemical kinetics of wetland rice soils relative to soil fertility. En: Wetland Soils: Characterization, Classification, and Utilization, pp. 71-89, Los Banos, Philipines: International Rice Research Institute.

Quaggio, J.A., Gallo, P.B., Owino-Gerroh, C., Abreu, M.F. & Cantarella, H. 2004. Peanut response to lime and molybdenum application in low pH soils. *Revista Brasilera de Ciencia do Solo*, **28**, 659-664.

Rajogopalan, K.V. 1989. Chemistry and biology of the molybdenum cofactor. In: *Molecular and genetic aspects of nitrate assimilation*, (eds J.L. Wray & J.R. Kinghorn), pp. 21-226, Oxford Science Publications, Oxford.

Razmjoo, K. & Henderlong, P. 1997. Effect of potassium, sulfur, boron and molybdenum fertilization on alfalfa production and herbage macronutrient contents. *Journal Plant Nutrition,* **20**, 1681-1696.

Rebafka, F.P., Ndunguru, B.J. & Marchner, H. 1993. Single superphosphate depress molybdenum uptake and limits yield response to phosphorus in groundnut (*Arachis hypogea* L.) grown on an acid sandy soil in Niger, West Africa. *Fertilizer Research*, **34**, 233-242.

Reith, J.W.S., Burridge, J.C., Berrow, M.L. & Caldwell, K.S. 1984. Effects of fertilizers on the contents of copper and molybdenum in herbage cut for conservation. *Journal Science Food Agric,* **35**, 245-256.

Ridley, A.M., Helvar, K.R. & Slsttery, W.J. 1990. Soil acidition under subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) pastures in North Eastern Victoria. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **30**, 195-201.

Riley, M., Robson, A., Gartrell, J. & Jeffery, R. 1987. The absence of leaching of molybdenum in acidic soils from Western Australia. *Australian Journal of Soil Research*, **25**, 179 – 184.

Robin, C.; Chonè, T. and Guckert, A. 1987. Rôle de la position de la feuille dans l'assimilation et le transport du carbone chez le trèfle blanc (*Trifolium repens* L.). *Agromomie*, **7**, 599-605.

Rodríguez, G. 1993. Estudio de la adsorción de aniones sobre aluminosilicatos sintéticos. Tesis, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile.

Rodriguez, M.N., Alcántar, G., Aguilar, A., Etchevers, J.D. & Santizó, J.A. 1998. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *Terra*, **16**, 135-141.

Romheld, V. & Marschner, H. 1991. Function of micronutrients in plants. In: *Micronutrients in Agriculture*, (J.J. Mortvedt ed), pp. 297-328, 2nd edn, Soil Science Society of America, Madison.

Rosolem, C.A. & Caires, E.F. 1998. Yield and nitrogen uptake of peanuts as affected by lime, cobalt and molybdenum. *Journal of Plant Nutrition*, **21**, 827-835.

Roulin, S. & Feller, U. 1997. Light-induced proteolysis of stromal proteins in pea (*Pisum sativum*) chloroplasts: requirement for intact organelles. *Plant Science*, **128**, 31-41.

Roulin, S. & Feller, U. 1998. Light-independent degraddation of stromal proteins in intact chloroplasts from *Pisum sativum* L. leaves: requirement for bivalent cations. *Planta*, **205**, 297-304.

Roy, W.R., Hazte, J.J. & Griffin, R. A. 1986a. Competitive interactions of phosphate and molybdate on arsenate adsorption. *Soil Science*, **142,** 203-210.

Roy, W.R., Hazte, J.J. & Griffin, R.A. 1986b. Competitive coefficients for the adsorption of arsenate, molybdate and phosphate mixtures by soils. *Soil Science Society of America Journal*, **50,** 1176-1182.

Ryden, J. C.; McLaughlin, J. R. and Syers, J. K. 1977. Mechanism of phosphate sorption by soils and hydrous ferric oxide gel. *Journal of Soil Science,* **28**, 72-92.

Sadzawka, A. & L. Porte. 1985. Aluminio activo y hierro en suelos volcánicos. *Agricultura Técnica* (Chile), **45**, 329-334.

Sadzawka, A., Carrasco, M.A., Grez, R. y Mora, M.L. 2004. *Métodos de análisis recomendados para los suelos chilenos*. Comisión de Normalización y Acreditación, Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo, Santiago, Chile. 113p. *Disponible en*

http://www.inia.cl/cobertura /platina/pubycom/metodos2000-sep.doc

SAS Institute Inc. 1999. SAS Campus Drive. Cary. North Carolina, USA.

Schalscha, E. B.; Ahumada, I. & Pratt, P. F. 1981. Effect of time and leaching on phosphate-induced increase in cation exchange capacity in volcanic ash soils. *Soil Science Society of America Proceedings*, **45**, 1237-1238.

Schenkel, G. & Baherle, P. 1970. Exploración de deficiencias nutritivas con suelos en macetas. II. Método usado. *Agricultura Técnica* (Chile), **31**, 9–24.

Schenkel, G., Baherle, P., Floody, H. y Gajardo, M. 1973a. Exploración de deficiencias nutritivas con suelos en macetas. XVII. Comportamiento de algunas fórmulas de fertilización, provincia de Magallanes, Continente. *Agricultura Técnica* (Chile), **34**, 116–136.

Schenkel, G., Baherle, P., Floody, H. y Gajardo, M. 1973b. Exploración de deficiencias nutritivas con suelos en macetas. XIX. Comportamiento de algunas fórmulas de fertilización, provincia de Aysén. *Agricultura Técnica* (Chile), **35**, 15–25.

Schoumans, O.F. & Groenendijk, P. 2000. Modeling soil phosphorus levels and phosphorus leaching from agricultural land in the Netherlands. *Journal Environmental Quality*, **29,** 111-116.

Schulthess, C.P. & Sparks, D.L. 1986. Back titration technique for proton isotherm modeling of oxide surfaces. *Soil Science Society of American Journal,* **50**, 1406-1411.

Schreiber, U., Schliwa, W. & Bilger, W. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll flourescence quenching with a new type of modulation fluorimeter. *Photosynthesis Research,* **10**, 51-62.

Schulthess , C.P. & Sparks, D. L. 1991. Equilibrium-based modelling of chemical sorption

on soils and soils constituents. *Advances in Soil Science*, **16,** 121-163.

Schuman, L.M. 1998. Micronutriet Fertilizers. Journal of Crop Production, 2, 165-195.

Shah, M.H., Singh, K.N., Kachroo, D. & Khanday, B.A. 1991. Performance of Lucerne and sainfoin under different cutting and levels of phosphorus. *Indian J. of Agronomy*. **36**, 61-66.

Sharpley, A.N. 1983. Effect of soil properties on the kinetics of phosphorus desroption. *Soil Science Society of American Journal,* **47**, 462–467.

Sheindorf, C., Rebhum, M. & Sheintuch, M. 19812. A Freundlich-type multicompenent isoterm. *Journal Colloid and Interface Science*, **79**, 136-142.

Sheindorf, C., Rebhum, M. & Sheintuch, M. 1982. Organic pollutants adsorption from multicomponent systems modeled by Freundlich-type isotherm. *Water Research*, **16**, 357-362.

Shepard, L. & floate, M. 1984. The effects os soluble-Al on root growth and radicle elongation. *Plant and Soil,* 81,301-306.

Sherrell, C.G. 1984. Effect of molybdenum concentration in the seed on the response of pasture legumes to molybdenum. *New Zealand of Agricultural Research,* **27**, 417-423.

Shorrocks, V. 1989. Micronutrient News 9(3), Micronutrient Bureau, M.B. House, Hertfordshire, U.K.

Siebald, E., Goic, L., Torres, A., Navarro, H., Coquelet, P. & Matzner, M. 1996. Dos fuentes de fósforo en praderas utilizadas con ganado bovino de carne. Informe Técnico. CRI-Remehue, Osorno. p. 32-38.

Simon, J.C., Jacquet, A., Decau, M.L., Goulas, E. & Le Dily, F. 2004. Influence of cutting frecuency on the morphology and the C and N reserve status of two cultivars of white

clover (*Trifolium repens* L.). *European Journal Agronomy*, **20**, 341-350.

Sims, J.T. & Johnson, G.V. 1991. En: Micronutrients in Agriculture, (eds J.J. Mortvedt, Giordano, P.M. & Lindsay, W.L.), 2nd ed, SSSA 4, Soil Sci. Am, Madison, WI.

Smith, K.S., Balistrieri, L.S.., Smith, S.M. & Sverson, R.C. 1997. Molybdenum in agriculture, Cambridge Univ Pr, Cambridge.

Smith, B.F. & Leeper, G.W. 1969. The fate of applied molybdate in acidic soils. *Journal of Soil Science,* **20**, 246-254.

Soltanpour, P.N. 1991. Determination of nutrient availability and elemental toxicity by AB-DTPA soil test and ICPS. *Advances in Soil Science*, **16,** 165-190.

Somersalo, S. & Krause, G.H. 1989. Photoinhibition at chilling temperatura. Fluorescence characteristic of unhardened and cold acclimated spinach leaves. *Planta*, **177**, 409-416.

Sparks, D.L. 1985. Kinetics of ionic reactions in clay minerals and soils. *Advances in Agronomy*, **38**, 231-264.

Sparks, D.L. 1999. Kinetics and mechanisms of chemical reactions at the soil mineral/water interface. In: *Soil physical* chemistry. 2st edn (ed D.L. Sparks), pp. 135-192. CRC Press LLC, Boca Ratón, Florida, USA..

Spedding, C.R.W. & Diekmahns, E.C. 1972. Grasses and Legumes in British Agriculture. Bulletin 49 Commonwealth Bureau of Pastures and Field Crops. CAB Commonwealth Agriculture Bureax. Oxford, UK. 512pp.

Sposito. G. & Holtzclaw, K. M. 1977. Titration studies on the polynuclear, polyacidic nature of fulvic acid extracted from sewage sludge-soil mixtures. *Soil Science Society of American Journal,* **41**, 330-336.

Sposito. G. 1984. The surface chemistry of soil. pp.Oxford Univ. Press New York.

Sposito, G. 1992. Characterization of particle surface charge. In: *Environmental Particles* (eds J. Buffle & H.P. van Leeuwen), pp. 291-314. Environmental Analytical and Physical

Steinfeld, J.I.; Francisco, J.S. & Hase, W.L. 1989. Chemical kinetics and dynamics. Prentice Hall. Englewood Cliffs. New York, USA.

Stevenson, F.J. 1986. *Cycles of soil: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients*. John Wiley & Sons, New York. 380p.

Stocking, C.R. & Ongun, A. 1962. The intracellular distribution of some metallic elements in leaves. *American Journal of Botany*, **49**, 284-289.

Strasser, B.J. & Strasser, R.J. 1995. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP test, In: *Photosynthesis: from Light to Biosphere*: Proceedings of the Xth International Photosynthesis Congress, Montpellier-France. Vol. V . P. Mathis.pp. 977-980. Kluwer Academic Publishers.

Strasser, R.J., Srivastana, A. & Tsimille-Michael, M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterise and screen photosynthetic samples, In: *Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation*. (eds M. Yunus, U. Pathre, & P. Mohanty). pp. 445-483. Taylor & Francis, London.

Strasser, R.J., & Tsimille-Michael, M. 2002. stress in plants from daily rhythm to global changes, detected and quantified by the JIP-Test. *Arch. Internal. Physiol. Biochem*.

Strauss, R., Brummer, G.W. & Barrow, N.J. 1997. Effects of crystallinity of goethite: II. Rates of sorption and desorption of phosphate. *European Journal of Soil Science*, **48**, 101-

114.

Stum, W. 1992. Chemistry of the soil-Water Interface. New York: Wiley.

Suárez, D. & Márquez, M. 1992. Necesidades de encalado. *Agricultura Técnica* (Chile), **52**, 388-393.

Sumner, M.E. & Farina, M.P.W. 1986. Phosphorus interactions with other nutrients and lime in field cropping systems. *Advances in Agronomy*. **16**, 201-236.

Tabatabai, M.A. 1982. Sulfur. In: *Methods of soil analysis. Part 2-Chemical and microbiological properties*, 2nd edn (eds A.L. Page, R.H. Miller & D.R. Keeney), pp. 501-538. Agronomy.

Taiz, L. & Zeiger, E. 2002. Plant Physiology. 3th edition. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, Massachusetts, USA. 690p.

Taminga, S. 1996. A Review on Envirenmental Impacts of Nutritional Strategies in Ruminants. *Journal of Animal Science*, **74**, 3112-3124.

Teuber, M., Goic, L. 1981. Persistencia del trébol rosado bajo pastoreo y corte mecánico. Informe Técnico 1980-1981. CRI-Remehue (INIA).

Theng, B.K.G. 1971. Adsorption of molybdate by some crystalline and amorphous soil clays. *New Zealand Journal of Science*, **14,** 1040-1056.

Thompson, J.K. & Warren, R.W. 1979. Variations in composition of pasture herbage. *Grass and Forage,* **34**, 83-88.

Tomiki, T. & Saitou, N. 2004. Phylogenetic analysis of proteins associated in the four major energy metabolism systems: Photosynthesis, aerobic respiration, denitrification, and sulfur

respiration. *Journal of Molecular Evolution*, **59**, 158-176.

Tsongas, T. Meglew, R., Walravens, P. & Chappell, W. 1980. Molybdenum in the diet: an estimate of average daily intake in the United States, *American Journal of Clinical Nutrition,* **33**, 1103-1107.

van Campen, D.R. 1991. In: Micronutrients in Agriculture, (eds J.J. Mortvedt, Giordano, P.M. & Lindsay, W.L.), 2nd ed, SSSA 4, Soil Sci. Am, Madison, WI.

van Loon, J.C. & Lichwa, J. 1973. A study of the atomic absorption determination of some important heavy metals in fertilizers and domestic sewage plant sludges. *Environ Lett,* **4**, 1-8.

van Soest, P. J. 1994. Nitrogen Metabolism. In: *Nutricional Ecology of the Rumiant*. Cornell University. pp. 290-311.

Verhoeven, A.S., Adams, W.R. & Demming-Adams, B. 1996. Close relationship between the state of the xanthophyll cycle pigments and photosystem II efficiency during recovery from winter stress. *Physiol. Plant*, **96,** 567-576.

Vérité, R. & Delaby, L. 2000. Relation between nutrition, performances and nitrogen excretion in dairy cows. *Ann. Zootech*, **49**, 217-230.

Vial, I., Londeri, L. & H'Etier, J.M. 1999. Nitrogen uptake and chlorophyll-meter measurements in spring wheat. *Nutrient Cycling in Agroecosystems,* **55**, 1-6.

Villora, G., Moreno, D.A. & Romero, L. 2002. Phosphorus supply influences the molybdenum, nitrate and nitrate reductase activity in eggplant. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **77**, 305-309.

Villora, G., Moreno, D.A. & Romero, L. 2003. Potassium supply influences molybdenum, nitrate and nitrate reductase activity in eggplant. *Journal of Plant Nutrition*, **26**, 659-669.

Vivekanandan, m., Brown, J.R., Williams, J., Clevenger, T., Belyea, R. & Tumbleson, M.E. 1991. Tolerance of forage legume to lime-stabilized sludge. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **22**, 449-463.

Vlek, P.L. & Linsay, W.L. 1977. Thermodynamic stability and solubility of molybdenum minerals in soils. *Soil Science Society of American Journal,* **41**, 42-46.

Wada, K. 1985. The distinctive properties of Andosols. *Advances in Agronomy*. **2**, 173-229.

Wagatsuma, T. & Kaneko, R. 1987. high toxicity of hydroxyaluminium polymer ions to plant roots. *Soil Science Plant Nutrition,* **33**, 57-67.

Wallace, A., Rommey, E.M., Alexander, G.V. & Kinnear, J. 1977. *Communications Soil Science of Plant Analysis,* **8**, 741-750.

Wang, Z.Y., Tang, Y.L. & Zhang, F.S. 1999. Effect of molybdenum on growth and nitrate reductase activity of winter wheat seedlings as influenced by temperature and nitrogen treatments. *Journal of Plant Nutrition*, **22**, 387-395.

Welch, R.M., Allaway, W.H., House, W.A. & Kubota, J. 1991. Geographic distribution of trace elements problems. In: *Micronutrients in Aagriculture*, (ed J.J.Mortvedt, F.R. Cox, L.M. Schuman & R.M. Welch), pp.31-57. Madison, WI: Soil Science Society of America.

Wheeler, D.M. 1998. Investigation into the mechanism causing lime responses in a grass/clover pasture on a clay loam soil. *New Zealand Journal of Agricultural Research.* **41**, 497-515.

White, G.N. & Zelazny, L.W. 1986. Charge properties of soil colloids. In: *Soil Physical Chemistry* (ed D.L. Sparks), pp. 39-81. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Whitehead, D.C. 2000. Nutrient elements in grassland. Soil-Plant-Animal Relationships. CABI Publishing. University Press, Cambridge, UK. 369p.

Williams, C. & Thronton, I. 1972. The effect of soil additives on the uptake of molybdenum and selenium from soils from different environment. *Plant and Soil,* **36**, 395-406.

Wolfe, D.W., Henderson, D.W., Hsiao T.C. & Alvino, A. 1988. Interactive water and nitrogen effects on senescence of maize. II. Photosynthetic decline and longevity of individual leaves. *Agronomy Journal*, **80**, 965-870.

Wu, C.H., Lin, C.F., Lo, S.L. & Yasunaga, T. 1998. Adsorption/desorption kinetics of MoO_2^{-4} onto gamma-Al2O3 by the pressure-jump technique. *Journal colloid Interface Science*, **15**, 430-438.

Wu, C.H., Kuo, C., Lin, C.F. & Lo, S.L. 2002. Modeling competitive adsorption of molybdate, sulfate, selenate and selenite using a Freundlich-type multi-componente isotherm. *Chemosphera,* **47**, 283-292.

Xia, M.z. & Xiong, F.Q, 1991. Interaction of molybdenum, phosphorus and potassium on yield in *Vicia faba*. *Journal Agricultural Science,* **117**, 85-89.

Xie, R. J. & McKenzie, A. F. 1991. Molybdate sorption-desorption in soils treated with phosphate. *Geoderma*, **48**, 321-333.

Xu, N., Christodoulatos, C. & Braida, W. 2005. Adsorption of molibdate and tetrathiomolybdate onto pyrite and goethite. Effect of pH and competitive anions. Chemosphere, (*en prensa*).

Yadava, U. 1986. A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *Hortscience*, **21**, 1449-1450.

Yu, M., Hu, C.X. & Wang, Y.H. 2002. Molybdenum efficiency inwinter wheat cultivars as related to molybdenum uptake and distribution. *Plant and Soil*, **245**, 287-293.

Yuan, G. & Lavkulich, L.M. 1994. Phosphate sorption in relation to extractable iron and aluminium in spodosols. *Soil Science Society of America Journal*, **58**, 343-346.

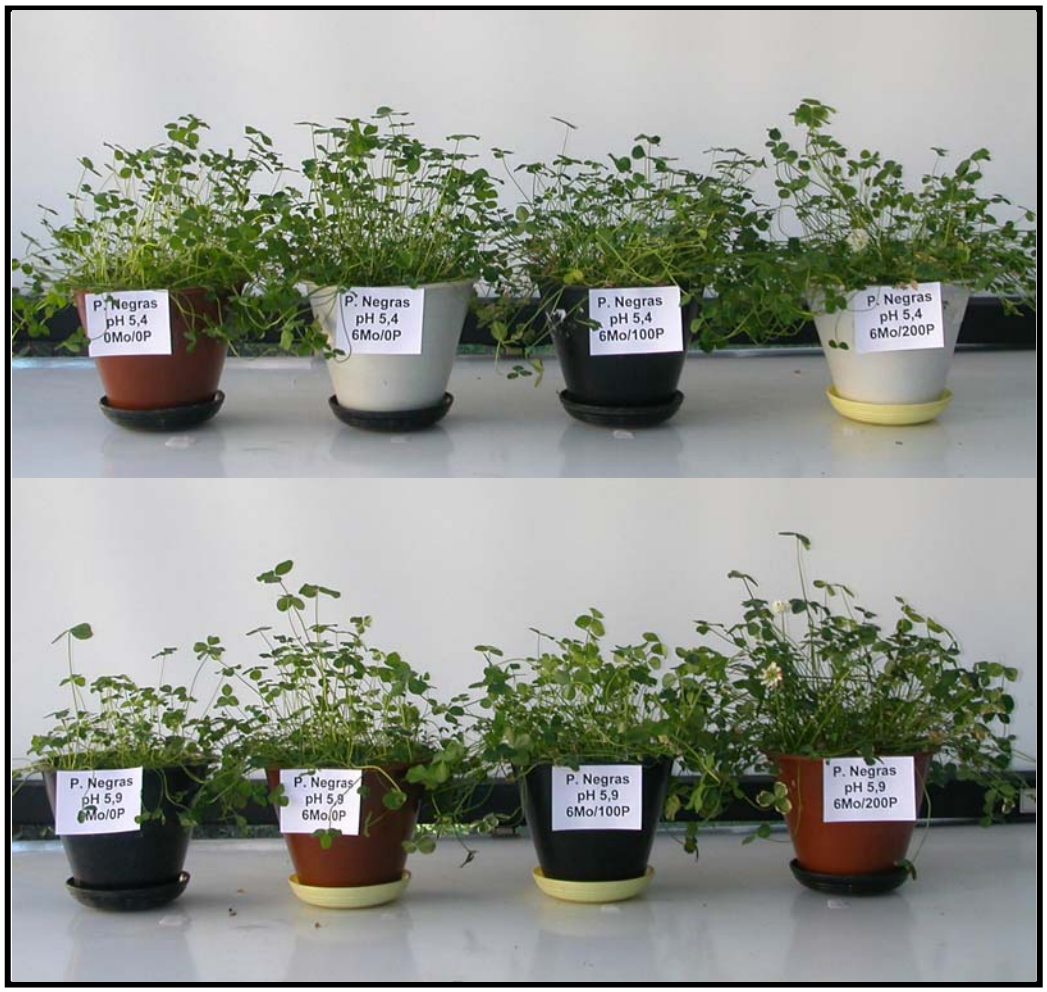
Yuan, G.; Theng, B.K.G.; Parfitt, R.L. & Percival, H.J. 2000. Interactions of allophane with humic acid and cations. *European Journal of Soil Science*, **51**, 35-41.

Zen, L., Johnson, R.L., Li, X. & Liu, J. Phosphorus removal from aqueous solutions by sorption on two volcanic soils. *Canadian Journal of Soil Science*, **83,** 547-556.

Zhang, P.C. & Sparks, D.L. 1989. Kinetics and mechanisms of molybdate adsorption/desorption at the goethite/water interface using pressure-jump relaxation. *Soil Science Society of America Journal*, **53**, 1028-1034.

Anexo 1. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre el desarrollo de trébol blanco, en suelo Pemehue.

Anexo 2. Efecto de la interacción Cal/P y Mo sobre el desarrollo de trébol blanco, en suelo Piedras Negras.



Anexo 3. Correlaciones entre los parámetros foliares de trébol blanco evaluados en suelo Pemehue al primer corte.

	Mo	P	Ca	Mg	Cu	Fe	Proteína	Clorofila	CHOS
ms	0,848**	0,879**	0,565**	0,738**	0,116^{ns}	0,051^{ns}	0,917**	0,957**	0,357**
Mo		0,812**	0,335**	0,597**	0,651^{ns}	0,284*	0,972**	0,943**	0,507**
P			0,583**	0,612**	0,080ns	0,250*	0,866**	0,875**	0,568**
Ca				0,013^{ns}	-0,150^{ns}	0,272*	0,407**	0,399**	0,810**
Mg					0,621**	0,258*	0,654**	0,676**	-0,161^{ns}
Cu						0,498**	0,111^{ns}	0,107^{ns}	-0,427**
Fe							0,288*	0,197^{ns}	0,016^{ns}
Proteína								0,973**	0,414**
Clorofila									0,408**

* Correlación significativa al nivel 0,01; ** Correlación significativa al nivel 0,05; NS Correlación no significativa. (n=71)

Anexo 4. Correlaciones entre los parámetros foliares de trébol blanco evaluados en suelo Piedras Negras al primer corte.

	Mo	P	Ca	Mg	Cu	Fe	Proteína	Clorofila	CHOS
ms	0,733**	0,747**	0,569^{ns}	0,765**	0,373**	0,209^{ns}	0,871**	0,946**	0,368**
Mo		0,908**	0,317**	0,767**	0,693**	0,497**	0,832**	0,805**	0,633**
P			0,432**	0,725**	0,769**	0,481**	0,843**	0,827**	0,613**
Ca				-0,070^{ns}	0,599**	0,432**	0,042^{ns}	-0,035^{ns}	0,617**
Mg					0,619**	0,328**	0,793**	0,827**	0,069^{ns}
Cu						0,675**	0,277*	0,462**	0,338**
Fe							0,277*	0,193^{ns}	0,095^{ns}
Proteína								0,954**	0,429**
Clorofila									0,408**

* Correlación significativa al nivel 0,01; ** Correlación significativa al nivel 0,05; NS Correlación no significativa. (n=71)

Anexo 5. Correlaciones entre los parámetros foliares de trébol blanco evaluados en suelo Pemehue al segundo corte.

	Mo	P	Ca	Mg	Cu	Fe	Proteína	Clorofila	CHOS
ms	0,570**	0,560**	0,620**	0,528**	0,590**	0,584**	0,646**	0,371**	0,634**
Mo		0,929**	0,910**	0,896**	0,941**	0,968**	0,896**	0,911**	0,907**
P			0,980**	0,976**	0,802**	0,852**	0,971**	0,960**	0,978**
Ca				0,972**	0,791**	0,833**	0,985**	0,939**	0,977**
Mg					0,736**	0,799**	0,954**	0,961**	0,956**
Cu						0,967**	0,808**	0,764**	0,814**
Fe							0,826**	0,839**	0,852**
Proteína								0,912**	0,989**
Clorofila									0,925**

* Correlación significativa al nivel 0,01; ** Correlación significativa al nivel 0,05; NS Correlación no significativa. (n=71)

Anexo 6. Correlaciones entre los parámetros foliares de trébol blanco evaluados en suelo Piedras Negras al segundo corte.

	Mo	P	Ca	Mg	Cu	Fe	Proteína	Clorofila	CHOS
ms	0,606**	0,598**	0,633**	0,576**	0,615**	0,599**	0,659**	0,642**	0,380**
Mo		0,941**	0,908**	0,972**	0,946**	0,952**	0,941**	0,965**	0,899**
P			0,989**	0,864**	0,814**	0,813**	0,979**	0,987**	0,959**
Ca				0,822**	0,778**	0,775**	0,979**	0,977**	0,939**
Mg					0,971**	0,971**	0,874**	0,902**	0,824**
Cu						0,984**	0,854**	0,873**	0,747**
Fe							0,851**	0,877**	0,759**
Proteína								0,993**	0,914**
Clorofila									0,935**

* Correlación significativa al nivel 0,01; ** Correlación significativa al nivel 0,05; NS Correlación no significativa. (n=71).

Los resultados obtenidos de este estudio han permitido desarrollar las siguientes Publicaciones y presentaciones a Congresos:

Publicaciones :

Mora, M. L., Demanet, R., Vistoso, E. and Gallardo, F. 2005. "Influence of Sulfate Concentration in Mineral Solution on Ryegrass Grown at Different pH and Alunimun". (Journal of Plant Nutrition P2051).

Vistoso, E., Mora, M. L. & Bolan, N. 2005. "Phosphorus and molybdenum interactions in the Andisols of Chile". In: Developments in fetiliser application technologies and nutrient management. (Eds L.D. Curie and J.A. Hanly). Occasional Report Nº 18. ISSN 0112-9902245-257. Fertilizer and Lime Research Center, Massey University, Palmerston North, New Zealand. pp 245-257.

Vistoso, E., Bolan, N. S., Parfitt, R. L. & Mora. M. L. 2005. "Molybdate sorption by Andisols of Southern Chile as affected by phosphate and pH". European Journal of Soil Science. (enviado 05-124).

Vistoso, E., Mora. M. L., Parfitt, R. L. & Bolan, N. S. 2005. "Molybdate and phosphate sorption kinetics in four Chileans Andisols". (Soil Science: en preparación).

Congresos:

2004. Vistoso, E., Bolan, N. S., Demanet, R. & Mora, M. L. "Molybdate and phosphate sorptions in relation to soil properties in Andisols of Southern Chile". ISMOM - Environmental Significance of Mineral-Organic Component-Microorganism Interactions in Terrestrial Systems. 4th International Symposium of the Working Group MO, Interactions of Soil Mineral with Organic Components and Microorganisms and 1st Inter-Congress Conference of Commission 2.5 "Soil Physical/Chemical/Biological Interfacial Interactions" of the International Union of Soil Sciences. Wuhan, China. September, 20-23.

2005. Vistoso, E., Mora, M. L. & Bolan, N. S. “Phosphorus and molybdenum interactions in the Andisols of Chile”. Workshop Developments in Fertiliser Application Technologies and Nutrient Management. Fertilizer & Lime Research Center, Massey University, Palmerston North, New Zealand. February, 9-10.

2005. Erika M. Vistoso Gacitúa y María de la Luz Mora Gil. “Descripción del efecto competitivo de fosfato sobre la adsorción de molibdato en suelos de carga variable a través de la ecuación de multicomponentes de Freundlich” X Congreso de la Ciencia del Suelo. Santiago, Chile. Noviembre, 11-16.

2005. P. Nuñez, P. Cartes, E. Vistoso, A. Jara y M. L. Mora. “Modelo de Freundlich aplicado a la capacidad de retención de aniones en Andisoles del sur de Chile”. XVI Congreso Chileno de Ingeniería Química. Depto. Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración, Universidad de La Frontera, Pucón, Chile. Noviembre, 1-4.