

EFECTO DE LA APLICACION DE BORO, COBALTO, COBRE Y MOLIBDENO SOBRE LA FIJACION DE NITROGENO DEL TRÉBOL BLANCO (*Trifolium repens* L.)*

Sigifredo Monsalve
Jaime Lotero C.**

1. INTRODUCCION

El cultivo del trébol blanco mezclado con gramíneas de clima frío ha sido muy utilizado en las explotaciones lecheras. En la Sabana de Bogotá, se ha observado que las mezclas producen forraje satisfactoriamente para el primer pastoreo, pero posteriormente la producción disminuye en tal grado que se hace necesaria la aplicación de nitrógeno (N) para mantener las praderas en condiciones adecuadas. Esto parece indicar que las bacterias que conviven con el trébol no están fijando el N atmosférico requerido para su crecimiento y el de la gramínea asociada.

Para la fijación simbiótica de nitrógeno N se requiere la presencia de cobalto (Co) en el medio de crecimiento, además parece que hay un requerimiento adicional de boro (B), cobre (Cu) y molibdeno (Mo) para que haya una asociación simbiótica efectiva entre la leguminosa y el *Rhizobium* (9). (Stewart, 1966).

Por lo anterior se planteó el presente estudio, con los objetivos siguientes:

- Determinar si la fijación deficiente de N en el trébol blanco en suelos de la serie Tibaitatá se debe a deficiencias de B, Co, Cu y Mo.
- Estudiar el efecto de diferentes dosis de dichos elementos sobre la fijación relativa de nitrógeno (N) y la producción de forraje del trébol blanco bajo condiciones de invernadero.

- Relacionar el contenido de boro (B) y cobre (Cu) del forraje con el nitrógeno (N) del mismo.

2. REVISION DE LITERATURA.

Plantas de guisante (*Pisum sativum*) cuando crecieron en suelos deficientes en B no presentaron síntomas de deficiencia en este elemento; sin embargo, la fijación de N disminuyó y los rendimientos de las plantas fueron de 30 a 50% más bajos (Van Shreven, 1958).

Reiseanauer (1960), encontró que plantas de alfalfa (*Medicago sativa*) inoculadas y sin suministro de Co, fijaron 34 mg de N/maceta, pero cuando suministró cobalto (Co) la fijación fue de 237 mg de N/maceta.

El cloruro cúprico en dosis de 11,2 kg/Ha aumentó la producción de forraje del trébol blanco de 7,7 a 18,2 g/maceta, y el porcentaje de N de 3,1 a 4,3%; siendo estos aumentos altamente significativos (Harris, 1966).

Con la aplicación de 0,14 kg/Ha de molibdato de sodio, Kliever y Kennedy (1960), obtuvieron un aumento significativo en la producción y porcentaje de N del forraje del trébol pata de pájaro (*Lotus corniculatus*).

* Contribución del Programa de Estudios para Graduados en Ciencias Agrarias UN-ICA y del Programa de Pastos y Forrajes. Adaptación y resumen de la Tesis de Grado presentada por el autor principal al Programa para Graduados, como requisito parcial para optar al título de Magister Scientiae.

** Respectivamente: Ingeniero Agrónomo, M.S. Programa Pastos y Forrajes, El Nus, Antioquia. e Ingeniero Agrónomo, Ph.D. Gerente Regional No. 4, ICA, A.A. 51764 Medellín.

3. MATERIALES Y METODOS.

En el presente estudio se utilizó un suelo del C.N.I.A. Tibaitatá, localizado en Mosquera, Cundinamarca, temperatura media 13°C, precipitación promedio anual de 631 mm y altura de 2.640 m.s.n.m.

El suelo es franco limoso, clasificado como Eutropept acuíco ándico con influencia de cenizas volcánicas. Como se puede observar en la Tabla 1, es fuertemente ácido, con un contenido medio de materia orgánica (M.O.) y P aprovechable, alto en Ca, Mg y K intercambiable y bajo en Al intercambiable.

A cada maceta con 1.600 g de suelo se le aplicó una fertilización basal de MgCO₃, P₂O₅ y K₂O en dosis de 1.000, 100 y 66 kg/Ha, respectivamente; el P y K se aplicaron como KH₂PO₄. El MgCO₃ fue aplicado un mes antes de la siembra con el fin de mejorar el pH del suelo para el desarrollo del *Rhizobium* (pH final 5,7) y para evitar una relación Ca:Mg muy amplia al emplear CaCO₃.

En un diseño experimental de "bloques al azar" con cuatro repeticiones se compararon tres dosis de cada una de las fuentes de los elementos estudiados; cada dosis se tomó como un tratamiento, se consideró un control (fertilización basal únicamente) y un tratamiento adicional (C2) que estuvo formado por una mezcla de todas las fuentes en su segunda

dosis. En el texto se hace referencia a cada tratamiento, nombrándolo por el símbolo y el número de la dosis correspondiente (B1, B2, B3). En la Tabla 2 se presentan los tratamientos empleados.

Cada elemento se aplicó en solución mezclándose con el suelo al momento de la siembra (Junio 18/73); para la siembra se utilizó semilla de trébol blanco inoculada, dejando 10 plantas en cada maceta. Este estudio se hizo simultáneamente en series de uno, dos y tres cortes; los cortes fueron realizados con un intervalo de un mes a partir del cinco de septiembre de 1973.

Se determinó peso seco del forraje y raíces, contenido de B y Cu en el forraje, porcentaje y contenido total de N en raíces y forraje del trébol blanco. Además se efectuaron siembras de manawa (*Lolium multiflorum* x *Lolium perenne*) y avena forrajera (*Avena sativa*) después del trébol y se les determinó peso seco y contenido total de N en el forraje de los mismos.

Los métodos analíticos empleados fueron: B por el método colorimétrico de la curcumina; cobre por digestión húmeda (Johnson and Ulrich, 1959) y determinación por absorción atómica de acuerdo al manual "Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry", Perkin Elmer, 1968. El N total se determinó por el método Kjeldahl descrito por Lott *et al.*, (1956).

TABLA 1. Algunas propiedades químicas del suelo utilizado en el ensayo.

pH	M.O. %	P ppm (Bray II)	CIC	Ca	Mg	K	Al
5,4	5,9	22,5	38,5	16,0	4,4	0,3	0,14

TABLA 2. Dosis y fuentes de los tratamientos estudiados en el experimento.

Elemento	Dosis en kg/Ha de las fuentes			Fuentes
	1	2	3	
B	10	20	30	Bórax
Co	0,25	0,50	0,75	Cloruro Cobaltoso
Cu	5	10	15	Cloruro cúprico
Mo	0,25	0,50	0,75	Molibdato de sodio
C2		X		Todas
Testigo	Fertilización basal únicamente.			

4. RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1. PRODUCCION DE MATERIA SECA.

En la serie de un corte la mayor producción de materia seca del trébol blanco (10,2 g/maceta) se obtuvo con la aplicación conjunta de las dosis intermedias de las fuentes empleadas. Lo anterior puede deberse a un efecto de interacción positiva entre los elementos utilizados; esto fue observado por Anderson (1956), y por Hewitt (1958), al trabajar con B y Mo.

Para la serie de dos cortes, el mayor rendimiento de forraje seco se obtuvo de nuevo con el tratamiento C2 (18,27 g/maceta) el cual fue significativamente superior al testigo (15,11 g/maceta) y a los tratamientos B2, Cu3, Co2, Co3 y Mo3. Los tratamientos B3 y Cu2 con 17,38 y 17,29 g/maceta, también fueron significativamente superiores al testigo (Tabla 3).

En la serie de tres cortes se encontró que únicamente los tratamientos Cu3, Co2, Co3 y Mo2, produjeron aumentos en el rendimiento de forraje del trébol con relación al testigo, aunque éstos no fueron significativos.

En forma general, las aplicaciones de Mo superiores a 0,50 kg/Ha de molibdato de sodio, y de Cu en dosis superiores a 10 kg/Ha de cloruro cúprico tuvieron efectos depresivos sobre la producción de materia seca.

El mejor rendimiento de forraje para el pasto manawa sembrado después de una cosecha de trébol, correspondió al tratamiento testigo (2,49

g/maceta), el cual fue significativamente superior a los demás con excepción de los tratamientos Cu2, Co3, Mo2 y Mo3. Por otro lado estos tratamientos, menos el Co3 produjeron los rendimientos más bajos de materia seca en el trébol blanco, indicando que la mayor producción del manawa con estos tratamientos se debió a una mayor reserva (no extraída por el trébol) de nutrimentos en el suelo.

La producción de forraje seco de la avena forrajera sembrada después de dos cosechas de trébol, varió desde 1,27 hasta 2,07 g/maceta; el tratamiento B1 fue significativamente superior a los demás con excepción de los tratamientos B2 y Mo1.

4.2. PORCENTAJE Y CONTENIDO DE NITROGENO.

El porcentaje de N en el forraje y raíces del trébol blanco, no fue afectado significativamente por la aplicación de ninguno de los elementos estudiados con relación al tratamiento testigo, en todas las series de corte. Esto puede deberse a que la aplicación de MgCO₃ produjo mineralización del N orgánico del suelo, y en esta forma enmascaró el efecto esperado, ya que se obtuvieron valores relativamente altos, inclusive en el tratamiento testigo (4,32% en el forraje y 3,50% en las raíces) (Tabla 4).

Como no hubo diferencias muy marcadas entre los porcentajes de N en el forraje y en las raíces del trébol blanco, el contenido total de dicho elemento estuvo relacionado principalmente con el rendimien-

TABLA 3. Producción de materia seca en la parte aérea del trébol blanco en la serie de dos cortes*.

Tratamientos**	Rendimiento g/maceta		
	Corte 1	Corte 2	Total
1. Testigo	5,47 ab	9,64 a	15,11 a
2. B1	5,82 abc	10,58 ab	16,39 abc
3. B2	5,64 abc	10,29 ab	15,93 ab
4. B3	6,49 bc	10,89 ab	17,38 bc
5. Cu1	5,72 abc	10,77 ab	16,49 abc
6. Cu2	6,12 abc	11,77 ab	17,29 bc
7. Cu3	5,92 abc	9,99 ab	15,90 ab
8. Co1	5,96 abc	10,32 ab	16,29 abc
9. Co2	6,02 abc	9,54 a	15,56 ab
10. Co3	6,31 abc	9,71 ab	16,02 ab
11. Mo1	6,39 abc	10,17 ab	15,56 ab
12. Mo2	5,71 abc	10,74 ab	16,45 abc
13. Mo3	5,30 a	9,43 a	14,72 a
14. C2	6,72 c	11,55 b	18,27 c

* Promedio de cuatro repeticiones.

** Resultados comparables con una letra en común, no difieren estadísticamente al nivel del 5%.

to de materia seca (Figura 1), no encontrándose diferencias significativas de los tratamientos con relación al testigo. Solamente en la serie de un corte, el tratamiento Mo3 con la producción más

baja de materia seca, fue significativamente inferior en cuanto a contenido de N, a los tratamientos B3, C2 y Co3, los cuales presentaron los rendimientos más altos de materia seca.

TABLA 4. Porcentaje y contenido total de nitrógeno en raíces y parte aérea del trébol blanco en la serie de dos cortes*.

Tratamientos**	Porcentaje de Nitrógeno		Contenido de N, parte aérea mg/maceta		
	Aéreo***	Raíces	Corte 1	Corte 2	Total
1. Testigo	4,32 a	3,50 ab	231 ab	425 a	656 a
2. B1	4,18 a	3,34 a	231 ab	410 a	641 a
3., B2	4,28 a	3,60 ab	231 ab	457 a	688 a
4. B3	4,15 a	3,43 ab	273 c	446 a	719 a
5. Cu1	4,07 a	3,36 a	226 a	445 a	671 a
6. Cu2	4,08 a	3,26 a	246 abc	460 a	706 a
7. Cu3	4,14 a	3,75 b	239 abc	397 a	636 a
8. Co1	4,21 a	3,51 ab	245 abc	439 a	684 a
9. Co2	4,28 a	3,33 a	253 abc	417 a	670 a
10. Co3	4,22 a	3,54 ab	271 c	402 a	673 a
11. Mo1	4,34 a	3,58 ab	270 bc	447 a	718 a
12. Mo2	4,11 a	3,42 ab	230 a	464 a	694 a
13. Mo3	4,24 a	3,43 ab	228 a	386 a	614 a
14. C2	3,90 a	3,32 a	266 abc	445 a	711 a

* Promedio de cuatro repeticiones.

** Resultados comparables con una letra en común, no difieren estadísticamente al nivel del 5%.

*** Promedio de los dos cortes.

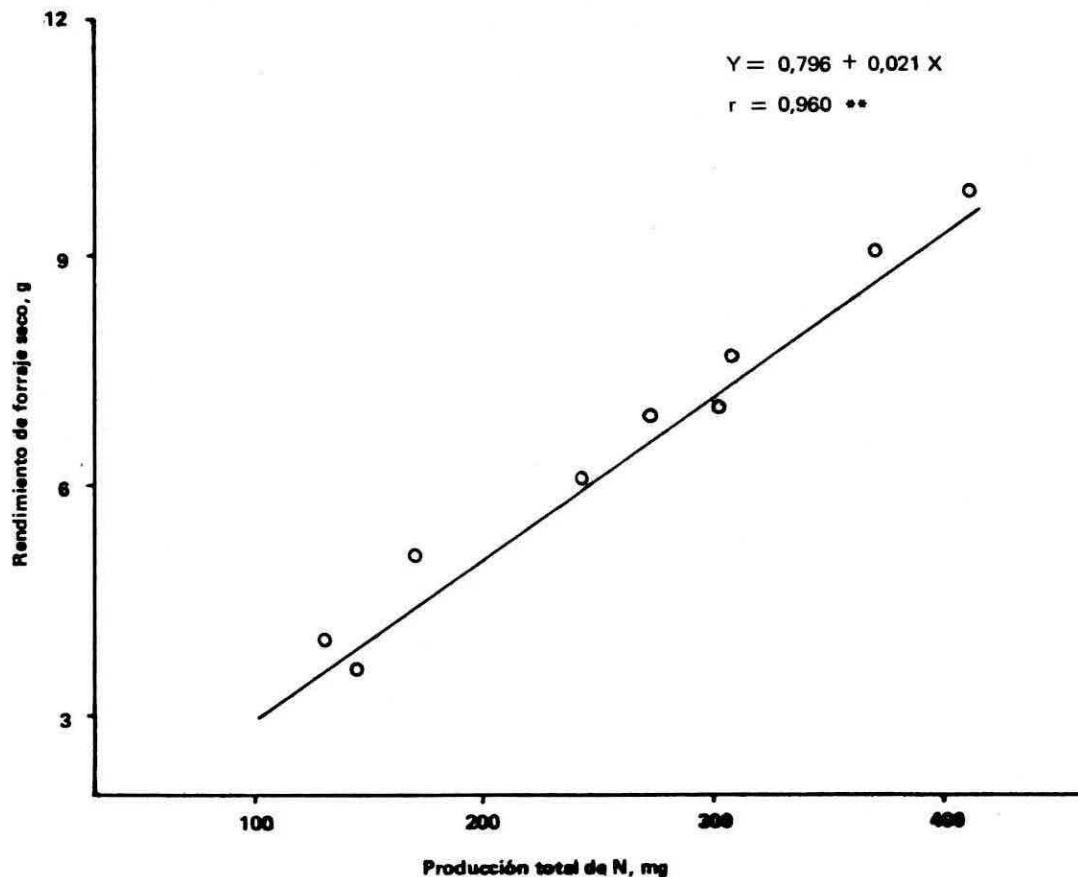


FIGURA 1. Relación entre el rendimiento de forraje seco del trébol y la producción total de N.

El Mo en dosis superiores a 0,50 kg/Ha de molibdato de sodio, y el Cu en dosis superiores a 10 kg/Ha de cloruro cúprico, tuvieron efectos depresivos sobre la producción total de N.

No hubo diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo con relación al porcentaje de N en el pasto manawa; el porcentaje más elevado (1,59) se obtuvo con el tratamiento Co1. Con relación al contenido total de N, el mejor tratamiento fue el Testigo con 35 mg/maceta, siendo significativamente superior a los tratamientos B1, B2, Cu1 y C2, debido a una mayor producción de forraje del Testigo.

Se encontraron coeficientes de correlación negativos y altamente significativos, $r = -0,602$ y $-0,423$, entre los contenidos totales de N en el pasto y en las raíces y forraje del trébol, respectivamente (Figuras 2 y 3). Lo anterior parece indicar, que al menos durante la primera etapa de crecimiento del trébol blanco, es muy poco el N que aporta al suelo y por

el contrario tiende a disminuir las reservas del mismo, hasta que las raíces y nódulos viejos empiecen a descomponerse.

Para la avena forrajera no varió significativamente el porcentaje de N con los diferentes tratamientos aplicados al trébol, pero el contenido total de dicho elemento en el forraje fue mayor en los tratamientos B1 y B2, siendo el B1 significativamente superior a los tratamientos de Cu, Co1 y Mo2, y el B2 a los tratamientos de Cu.

Se encontró un coeficiente de correlación negativo y no significativo de $-0,235$ entre los contenidos totales de N en el forraje del trébol y de la avena. El signo negativo comprueba los resultados obtenidos con el pasto manawa, pero la no significancia del mismo nos indica que a partir del segundo corte, ya puede haber desprendimiento y descomposición de los nódulos y raíces viejas del trébol blanco en el suelo, con lo cual se mejora el suministro de N para la avena.

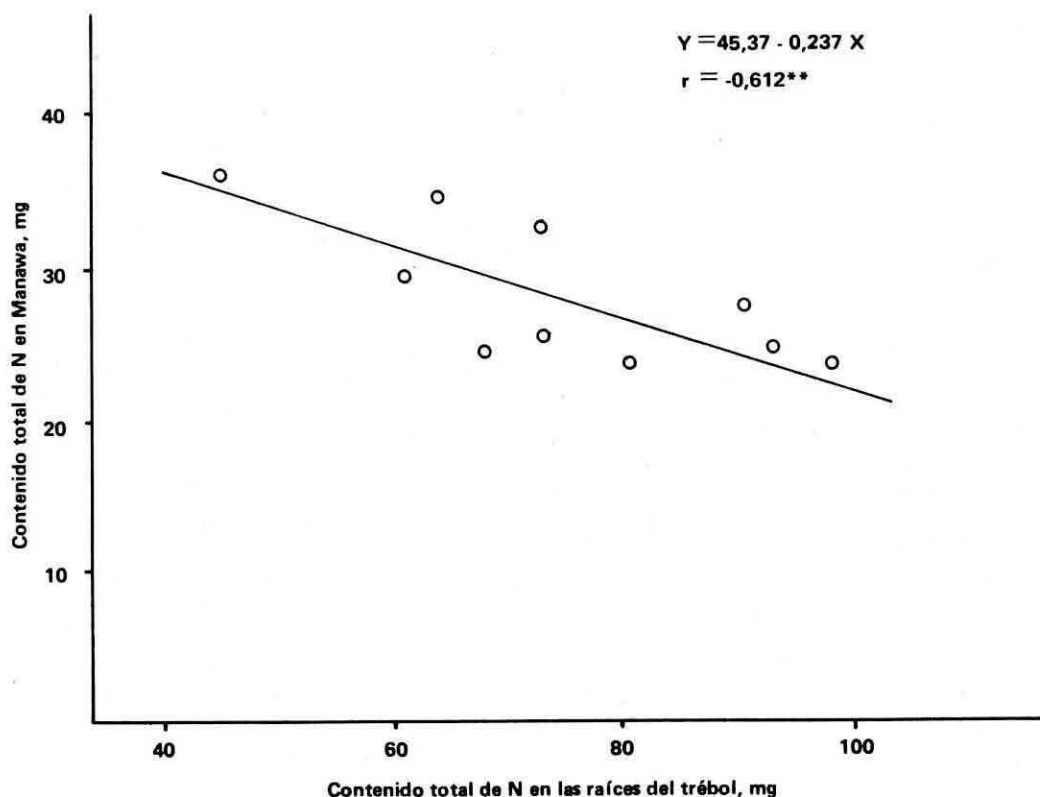


FIGURA 2. Relación entre los contenidos totales de N en pasto Manawa y en las raíces del trébol.

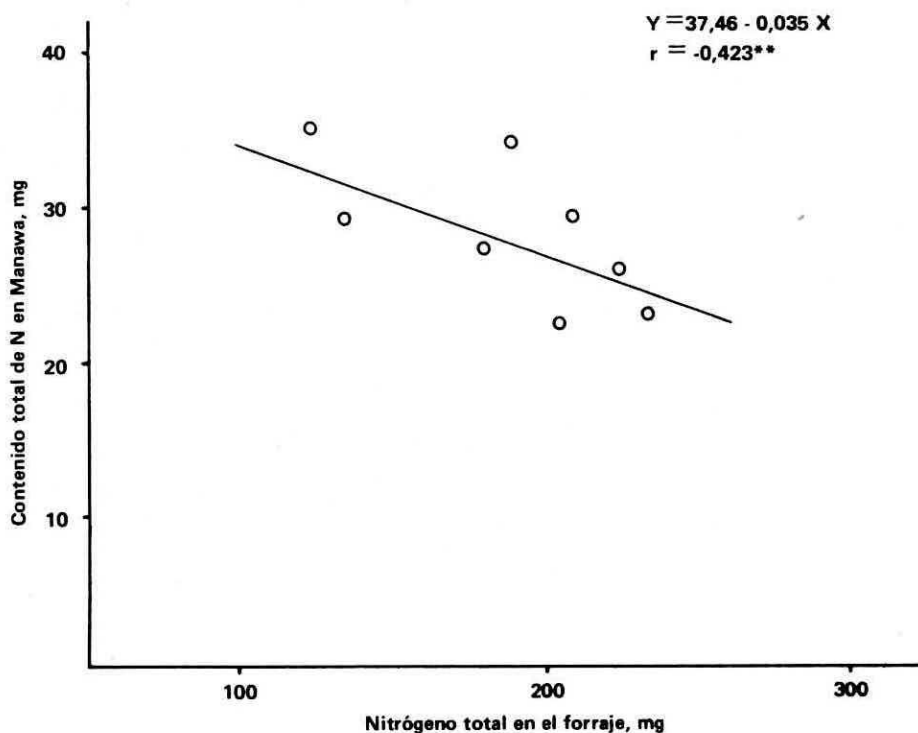


FIGURA 3. Relación entre los contenidos totales de N en pasto Manawa y en el forraje del trébol.

4.3. CONTENIDO DE BORO Y COBRE.

Los contenidos de B y Cu en el forraje del trébol blanco no fueron afectados significativamente por las aplicaciones de dichos elementos en la serie de un corte. En la serie de dos cortes, el contenido de B fue más alto en el segundo, pero sólo se encontraron diferencias significativas en el primero, siendo el tratamiento Testigo inferior al B1 y B2. El contenido de Cu varió en la misma forma que el B, pero en este caso no hubo diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 5).

Para la serie de tres cortes el contenido de B aumentó en el segundo y disminuyó en el tercero; en el primer corte hubo diferencias significativas entre los tratamientos Testigo y B1, y en el tercero entre el Testigo y B2. El contenido de Cu aumentó de un corte a otro pero no hubo diferencias significativas entre tratamientos para ninguno de los cortes.

El contenido de B varió de un corte a otro en forma similar al porcentaje de N, pero los coeficien-

tes de correlación para cada corte no fueron significativos; sin embargo, se encontró que para valores altos de B (43,6 a 66,6 ppm) el coeficiente fue negativo y para los valores más bajos (27,4 a 41,9 ppm) el coeficiente fue positivo. Esto indica que el B tiende a aumentar el porcentaje de N en el forraje, solo cuando los valores tanto de B como de N son bajos.

El contenido de Cu no fue afectado significativamente por las aplicaciones de dicho elemento, lo cual no está de acuerdo con los resultados obtenidos por Elst (1961), quien encontró que la aplicación de 56 kg/Ha de sulfato de cobre aumentó significativamente el contenido de este elemento en el forraje del trébol blanco, pero los valores fueron muy bajos (2,5 a 3,6 ppm), si se comparan con los obtenidos en el presente estudio (15,3 hasta 26,5 ppm).

No se encontró correlación significativa entre el contenido de B y Cu y el porcentaje de N en el forraje, debido a que estos aspectos no fueron influidos significativamente por los diferentes tratamientos.

TABLA 5. Contenido de boro y cobre en el forraje del trébol blanco en la serie de dos cortes*.

Tratamientos**	Boro ppm		Tratamientos	Cobre ppm	
	Corte 1	Corte 2		Corte 1	Corte 2
1. Testigo	20,8 a	35,2 a	1. Testigo	15,9 a	23,7 a
2. B1	31,8 b	36,6 a	5. Cu1	16,0 a	20,9 a
3. B2	32,2 b	40,6 a	6. Cu2	16,2 a	22,2 a
4. B3	28,6 ab	38,1 a	7. Cu3	17,1 a	21,0 a

* Promedio de cuatro repeticiones.

** Resultados comparables con una letra en común no difieren estadísticamente al nivel del 5%.

5. CONCLUSIONES.

Los resultados indicaron que las aplicaciones de B, Co, Cu y Mo no tuvieron un efecto significativo sobre el aumento del porcentaje y fijación total de N del trébol blanco. El Mo en dosis superiores a 0,50 kg/Ha de molibdato de sodio, y el Cu en dosis superiores a 10 kg/Ha de cloruro cúprico, tuvieron efectos depresivos sobre la producción de materia seca y contenido total de N.

La producción de materia seca del trébol blanco se aumentó significativamente con la aplicación de 30 kg/Ha de bórax y 10 kg/Ha de cloruro cúprico; además se encontró una interacción positiva entre el B y el Mo.

Los tratamientos empleados no mejoraron las condiciones del suelo con respecto a la disponibilidad de N medida por el crecimiento, porcentaje y contenido total de N en el pasto manawa y la avena forrajera después de las cosechas del trébol.

6. RESUMEN.

En el Centro Experimental Tibaitatá, localizado en Mosquera, Cundinamarca, a una altura de 2.640 m.s.n.m., temperatura media de 13,2°C y precipitación promedia anual 631 mm, se efectuó un ensayo de invernadero con los objetivos siguientes:

- Determinar si la fijación deficiente de N por el trébol blanco en los suelos de la serie Tibaitatá se debe a deficiencias de B, Co, Cu y Mo.
- Estudiar diferentes dosis de estos elementos para tratar de determinar los requerimientos del trébol en dichos suelos y el efecto de los tratamientos sobre la fijación relativa de N y producción de forraje.
- Relacionar el contenido de B y Cu del forraje con el N del mismo.

Para el presente estudio se utilizó un suelo franco limoso de la serie Tibaitatá clasificado como Eutropept acuíco ándico, con influencia de cenizas volcánicas, con un contenido medio de M.O. y P aprovechable, alto en Ca, Mg y K intercambiables, fuertemente ácido y bajo en Al intercambiable.

Se aplicó una fertilización basal de $MgCO_3$, P_2O_5 y K_2O en dosis de 1.000 - 100 y 66 kg/Ha, respectivamente; el P y el K se aplicaron como KH_2PO_4 .

Se efectuaron determinaciones de peso seco del forraje y raíces, contenido de B y Cu en el forraje, porcentaje y contenido total de N en raíces y forraje. Además se efectuaron siembras de manawa y avena forrajera después del trébol y se les determinó peso seco, porcentaje y contenido total de N en el forraje de los mismos.

7. SUMMARY.

Effect of the application of boron copper, cobalt and molybdenum on fixation of white clover (*Trifolium repens* L.).

At the C.N.I.A. Tibaitatá, located in Mosquera (Cundinamarca), at 2.600 meters elevation with an annual mean temperature of 13.2°C and an average precipitation of 631 mm, an assay in the greenhouse was conducted with the following objectives:

- To determine if the deficient N fixation by the white clover on the soils Tibaitatá serie is caused by B, Co, Cu and Mo deficiencies.
- To study different levels of these elements to determine the requirements by the white clover on that soils, and the effect of treatments on the relative N fixation and forage production.
- To relate the B and Cu contents of forage with the dry matter production and the N content.

The soil was a silt loam of the Tibaitatá series, classified as Eutropept acuíco andico with influence of volcanic ashes, with a mean content of organic matter and available P, strongly acid, high in exchangeable Ca, Mg and K, and low exchangeable Al.

A basal fertilization of $MgCO_3$, P_2O_5 and K_2O was applied using rates of 1.000, 100 and 66 kg/Ha, respectively; the P and K were applied as mono-potassic phosphate (KH_2PO_4).

Determinations were made of dry weight of the forage and roots, B and Cu contents in the forage, percentage and total content of N in the roots and forage. Further, manawa and common oat were sown after white clover harvest and dry weight, percentage and total content of N were determined in the forage.

Results indicate that B, Co, Cu and Mo applications did not have a significant effect on the increment of percentage and total N fixation by white clover. Mo rates higher than 0,50 kg/Ha of sodium molybdate, and Cu rates higher than 10 kg/Ha of cupric chloride, had depressive effects on the dry matter and total N content. Dry matter production by white clover was increased significantly using rates of 30 kg/Ha of sodium tetraborate (borax) and 10 kg/Ha of cupric chloride. A positive interaction was found between B and Mo in relation to dry matter production.

The treatments used did not improve soil conditions in relation to N availability, measured by growth, percentage and total N content by manawa grass and common oat, sown after white clover was harvested.

8. BIBLIOGRAFIA.

1. ANDERSON, A.J. Molybdenum deficiencies in legumes in Australia. *Soil Sci. (EE.UU.)* 81:173-182. 1956.
2. ELST, F.H. VANDER, *et al.* Effect of copper deficiency in white clover on nitrogen fixation. *Nature (Inglaterra)* 192:13-15. 1961.
3. HARRIS, H.C. Effect of micronutrient and other deficiencies on yield and mineral composition of forage crops. *In: International Grassland Congress, 10th, Helsinki, Finland. Proceedings.* 1966.
4. HEWITT, E.J. Some aspects of mineral nutrition in legumes. *In Hallosworth, E.G. Nutrition of the legumes: Proceedings of the University Nottingham Fifth Easter School in Agricultural Science.* New York, Academic Press. 1958. pp. 15-42.
5. JOHNSON, C.M. and ULRICH, A. Analytical methods for use in plant analysis. California. *Agric. Exp. Sta. Bull.* 766. 1959. 78 p.
6. KLIEVER, W.M. and KENNEDY, W.K. Studies on response of legumes to molybdenum and lime fertilization on Mardin Silt loam soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc. (EE.UU.)* 24:377-380. 1960.
7. LOTT, W.L. *et al.* Leaf analysis technique in coffee research. New York, IBEC Research Institute. 26 p. 1956.
8. REISENAUER, H.M. Cobalt in nitrogen fixation by a legume. *Nature (Inglaterra)*. 186:375-376. 1960.
9. STEWART, W.D.P. Nitrogen fixation in plants. University of London. 1966. 168 p.
10. VAN SCHREVEN, D.A. Some factors affecting the uptake of nitrogen by legumes. *In Hallsworth, E.G. Nutrition of the legumes: Proceedings of the University Nottingham Fifth Easter School in Agricultural Science.* New York, Academic Press. 1959. pp. 137-163.