

# Efecto de Inoculación de Semilla de Canola con *Azospirillum Brasilense*, Fertilización Nitrogenada y Azúcar a la Siembra, sobre Rendimiento de Canola bajo Condiciones de Riego

Mario Alberto Cepeda-Villegas\*, Eulalio Venegas-González y Blanca Leticia Gómez-Lucatero

Campo Experimental del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Producción Sostenible (CENAPROS), INIFAP. Km 18.5 Carretera Morelia-Aeropuerto. Álvaro Obregón, Mich., México. Tel. 01(455)3-52-31-73, Fax 01(455) 3-52-31-72. E-mail: m\_cepdav@yahoo.com.mx. (\*Autor responsable).

---

## Abstract

The objective of this assay was to evaluate the effect of the inoculation of canola seed with *Azospirillum brasilense*, plus the application of nitrogen fertilization, and commercial sugar at sowing time, on the yield of canola cultivated under irrigation. The following treatments were applied: a) inoculation of seed with *Azospirillum brasilense* at sowing time, plus fertilization with 60 kg of N ha<sup>-1</sup> during the development of the culture, and b) application of 120 kg of N ha<sup>-1</sup> to non inoculated plants, and the interaction with the levels of 0, 50, 100 and 150 kg ha<sup>-1</sup> of commercial sugar. In the same sense, an economic analysis by Turrent graphical method was performed. No significant difference between the treatments with inoculated seed, and seed without inoculation, when no sugar was applied. Nevertheless, when interacting with the different sugar levels, the highest yield was obtained with the application of *A. brasilense* plus 50 kg ha<sup>-1</sup> of sugar, followed by the treatment without inoculation plus 100 kg ha<sup>-1</sup> of sugar, with yields of 2,355 and 2,190 kg ha<sup>-1</sup>, respectively (P<0.05). The use of *A. brasilense*, plus the application of low levels of chemical N, allowed the same yields to be kept when high amounts of chemical fertilizer are supplied. The economically more viable treatment was to inoculate the seed with *A. brasilense*, and to apply 60 N units, plus 50 kg ha<sup>-1</sup> of sugar.

**Key words:** *Brassica napus* L., biofertilizer, vegetal nutrition, nitrogen fertilization, sustainable agriculture.

## Resumen

El objetivo de este estudio, fue evaluar el efecto de la inoculación de semilla de canola con *Azospirillum brasilense*, más la aplicación de fertilización nitrogenada y azúcar comercial al momento de la siembra, sobre el rendimiento de canola cultivada en riego. Se aplicaron los siguientes tratamientos: a) inoculación de semilla con *Azospirillum brasilense* en la siembra, mas fertilización con 60 kg de N ha<sup>-1</sup> durante el desarrollo del cultivo, y b) aplicación de 120 kg de N ha<sup>-1</sup> en plantas sin inocular y la interacción con los niveles de 0, 50, 100 y 150 kg ha<sup>-1</sup> de azúcar comercial. También se realizó un análisis económico mediante el método gráfico de Turrent. No se encontró diferencia significativa entre los tratamientos con semilla inoculada y sin inocular cuando no se aplicó azúcar. Sin embargo, al interactuar con los diferentes niveles de azúcar, se obtuvo el mayor rendimiento con la aplicación de *A. brasilense* más 50 kg de azúcar ha<sup>-1</sup>, seguido del tratamiento sin inocular más 100 kg ha<sup>-1</sup> de azúcar, con rendimientos de 2355 y 2190 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente (P<0.05). El uso de *A. brasilense*, más la aplicación de niveles bajos de N químico, permite que se mantengan los mismos rendimientos que cuando se suministran altas cantidades de fertilizante químico. El tratamiento económicamente más viable fue inocular la semilla con *A. Brasilense*, y aplicar 60 unidades de nitrógeno y 50 kg de azúcar por ha.

**Palabras clave:** *Brassica napus* L., biofertilizante, nutrición vegetal, fertilización nitrogenada, agricultura sustentable.

## Introducción

La canola (*Brassica napus* L.), también conocida como colza, nabo aceitero, o colza doble cero, es una variante de planta dentro de las especies *Brassica napus* y *B. rapa*. (Pua y Douglas, 2004) En 1978 la industria canadiense del nabo adoptó el nombre de “canola” (Canadian oil low acid) para identificar la colza, que genéticamente contiene menos del 2 % de ácido erúico en el aceite, y menos de 30  $\mu\text{mol g}^{-1}$  de glucosinolatos en pasta, lo que marcó el inicio de la industria de la canola en el ámbito mundial.

El cultivo de la canola requiere principalmente de nitrógeno, P y S. Las necesidades de fertilizante químico nitrogenado de canola varían desde 100  $\text{kg ha}^{-1}$  (Valenzuela y Gallardo, 1995), hasta 200  $\text{kg ha}^{-1}$  (Jackson, 2000), lo que depende principalmente del tipo de suelo. Al aplicar al cultivo 75 unidades de nitrógeno, 12 de P y 26 de S, se obtuvo un incremento en rendimiento del 117 % respecto al testigo no fertilizado, lo que se debió principalmente a un aumento del número de ramificaciones fértiles por  $\text{m}^2$ .

*Azospirillum brasilense* es una rizobacteria fijadora del nitrógeno atmosférico que promueve el crecimiento de las plantas, especialmente de gramíneas (Bellone *et al.*, 1999). Uno de los principales mecanismos de acción del *A. brasilense* es la producción de sustancias promotoras de crecimiento durante la colonización de las raíces, lo cual estimula la longitud, la densidad de las raíces laterales, y el incremento del área superficial de las raíces. Cuando se evaluó el efecto de la inoculación junto con la aplicación de niveles intermedios de fertilización con nitrógeno, P y potasio, se observó que la inoculación de los cultivos con *A. brasilense* permitió reducir en 40-50 % el nivel de aplicación de los fertilizantes sin que disminuyera el rendimiento (Okon y Labandera-González, 1994; Martínez, 1997).

En maíz, las plantas inoculadas con *A. brasilense* presentaron mayor acumulación de materia seca después de la etapa de grano lechoso, que fue todavía mayor cuando se complementó con 100  $\text{kg de N ha}^{-1}$ , y similar a la que se obtuvo con 200  $\text{kg de N ha}^{-1}$ ; las plantas tuvieron el mismo comportamiento en la producción de grano (Stancheva *et al.*, 1992).

La inoculación de semilla de maíz y trigo duro con *A. brasilense* más la aplicación de niveles bajos de fertilizante químico permitió un incremento del rendimiento de, 80 y 30 %, respectivamente, en tanto que en girasol, el efecto fue de alrededor de 15 %; sin embargo, con la bacteria y niveles altos de fertilización nitrogenada, el efecto fue negativo en maíz y trigo duro, por lo que se concluyó que la asociación entre la bacteria y las plantas, confiere a éstas una mayor capacidad para superar el estrés

nutricional y de agua en regiones semiáridas (Palazzo *et al.*, 1997).

Niveles de 80, 120 y 160  $\text{kg ha}^{-1}$  de nitrógeno mineral provocaron la eliminación de *Azospirillum spp.* en el rizoplaneo de cultivos de cebada y trigo; resultado similar se obtuvo con 170 y 340  $\text{kg ha}^{-1}$  de nitrógeno, con fertilización orgánica. (Jaskowska, 1999).

En maíz de secano bajo labranza cero, y con residuos de trigo, la aplicación de 100  $\text{kg ha}^{-1}$  de azúcar comercial y un 50 % de la dosis recomendada de 210 unidades de nitrógeno, permitió disminuir el grado de daño por *Fusarium moniliforme* (Shell Snyder & Hansen) en el tallo.

El objetivo de este estudio, fue evaluar el efecto de la inoculación de semilla de canola con *Azospirillum brasilense*, más la aplicación de fertilización nitrogenada y azúcar comercial al momento de la siembra, sobre el rendimiento de canola cultivada en riego. Bajo la hipótesis de que *A. brasilense* aumenta su actividad fijadora de nitrógeno al aprovechar como nutrimentos a los carbohidratos proporcionados en la aplicación de azúcar comercial, lo que permite reducir los costos de producción, al obtener con dosis bajas de fertilización nitrogenada, rendimientos similares de semilla de canola, a los obtenidos con fertilización convencional basada en dosis altas de nitrógeno.

## Materiales y Métodos

### Ubicación

El trabajo se realizó en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Producción Sostenible (CENAPROS) localizado dentro del Valle Morelia Queréndaro, en el estado de Michoacán, el cual está ubicado en la región templada húmeda de la parte centro occidente de México, a los 19° 49' de latitud Norte, y 101° 01' de longitud Oeste, a una altitud de 1828 m, en suelos vertisoles, con más de 70 % de arcilla, un pH que varía de 7.8 a 8.8, y un contenido de materia orgánica del 2.87 % en estrato 0-15 cm.

### Conducción del Experimento

El experimento se estableció en el ciclo otoño-invierno 2001-2002, bajo régimen de riego. La siembra se realizó a chorrillo, el 18 de diciembre del 2001 con una densidad de 3  $\text{kg ha}^{-1}$  de semilla, con siembra en húmedo, a una profundidad de 1 a 2 cm, se utilizó semilla del híbrido Hyola 401; la parcela total fue de 5 x 1.6 m. La semilla se inoculó el día de la siembra con un biofertilizante comercial elaborado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), a base de *Azospirillum brasilense* (100 x 10<sup>6</sup> bacterias  $\text{g}^{-1}$ ).

Durante el desarrollo del cultivo se aplicaron tres riegos; de emergencia el 17 de diciembre de 2001, y dos de auxilio, el 23 de febrero y 13 de marzo, respectivamente. La cosecha se realizó el 17 de mayo de 2002.

### Diseño experimental

El diseño experimental fue bloques completos al azar con arreglo en parcelas divididas, donde las parcelas grandes fueron: inoculación de la semilla con *A. brasilense* y 60 kg de N, y sin inocular más 160 kg de N; la parcela chica: azúcar comercial en niveles de 50, 100 y 150 kg ha<sup>-1</sup>, y testigo sin azúcar.

#### Variables a Evaluar

La humedad del grano se determinó con el Moisture meter Motomco model 919, para ajustar el rendimiento por hectárea al 8 % de humedad de acuerdo con los requerimientos de la industria aceitera y se realizó el análisis estadístico ANDEVA con la variable rendimiento, con el paquete estadístico MSTAT (MSTAT Development Team, 1989) y la prueba de Tukey al 0.05 (Steel y Torrie 1980); además se efectuó el análisis económico para cada tratamiento de estudio (Turrent, 1978).

Durante el periodo de desarrollo del cultivo, las condiciones climáticas fueron muy variables, con temperaturas mínimas por debajo de cero durante los primeros quince días de enero. La Temperatura más baja se registró el 23 de febrero del 2002, con - 2.1 °C, lo que provocó daños en las hojas jóvenes y en las primeras flores.

### Resultados y Discusión

El análisis estadístico (Cuadro 1), mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) para la aplicación de azúcar, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas para la aplicación de *A. brasilense* ni para la interacción biofertilizante-azúcar.

Al comparar los tratamientos de semilla inoculada con los que no se inocularon, se encontró que la aplicación de *A. Brasilense* más 60 kg de N presentó un rendimiento similar ( $P < 0.05$ ) al tratamiento de fertilización química con 160 kg de N sin inocular, con lo que se deduce que la bacteria aplicada a la semilla de canola y complementada con un nivel bajo de N permite mantener el rendimiento al actuar como fijadora de N ambiental (Cuadro 2), lo que concuerda con lo reportado por Okon y Labandera-González (1994), al mencionar que la inoculación con la bacteria fijadora de N permite disminuir los niveles del fertilizante nitrogenado entre 40 y 50 % sin que el rendimiento se vea afectado, así como con lo asentado por Palazzo *et al.* (1997), quienes señalan que la oleaginosa girasol respondió, aunque en menor escala, a la aplicación de *A. brasilense*.

**Cuadro 1.** Cuadrados medios para rendimiento de canola en respuesta a la aplicación de *A. Brasilense*, fertilización química nitrogenada y azúcar, durante el ciclo Otoño-Invierno de 2001-2002, en el Valle Morelia Queréndaro, en el estado de Michoacán, México

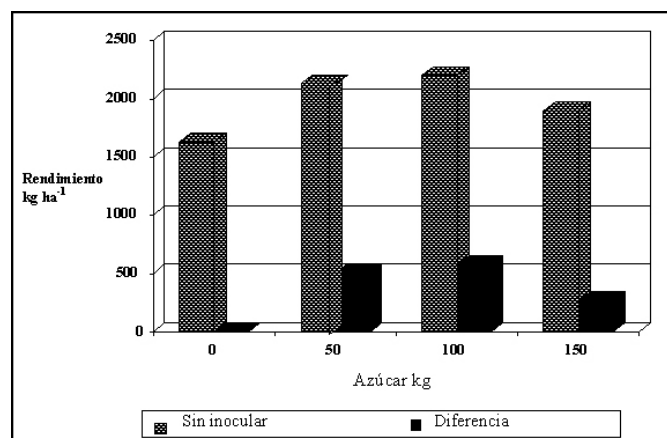
Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor de F
Repetición	3	138303	0.85
<i>A. brasilense</i>	1	92622	0.57 <sup>NS</sup>
Error (a)	3	162389	
Azúcar	3	546162	5.42 *
<i>A. brasilense</i>			
X Azúcar	3	191211	1.90 <sup>NS</sup>
Error (b)	18	100764	

<sup>NS</sup> No significativo

\*Valores con diferencia significativa de acuerdo a la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ .

**Cuadro 2.** Comparación del rendimiento de canola como respuesta a la aplicación de *A. Brasilense*, fertilización química nitrogenada y azúcar, durante el ciclo Otoño-Invierno de 2001-2002, en el Valle Morelia Queréndaro, en el estado de Michoacán, México

Tratamiento a la Semilla	Fertilización química (kg N ha <sup>-1</sup> )	Rendimiento (kg ha <sup>-1</sup> )	Diferencia (kg ha <sup>-1</sup> )
Sin <i>A. Brasilense</i>	60	1621	—
Con <i>A. Brasilense</i>	160	1693	72



**Figura 1.** Incremento en rendimiento de grano de canola en plantas sin inocular con *A. brasilensis* como respuesta a la aplicación de azúcar, fertilización química nitrogenada y azúcar, durante el ciclo Otoño-Invierno de 2001-2002, en el Valle Morelia Queréndaro, en el estado de Michoacán, México.

La prueba de Tukey para el factor azúcar con biofertilizante formó dos grupos de significancia, donde el primero se formó con los niveles de 50 y 100 kg por lo que son estadísticamente iguales ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 3).

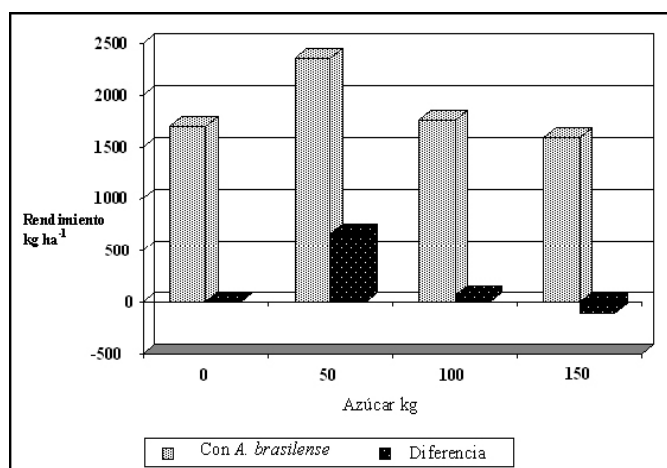
**Cuadro 3.** Rendimiento de canola en respuesta a la inoculación con *A. brasilense* más la aplicación de niveles de azúcar

Tratamiento (kg ha <sup>-1</sup> )	Rendimiento (kg ha <sup>-1</sup> )
50	2355 a <sup>z</sup>
100	1759 ab
0	1693 b
150	1593 b

<sup>z</sup>Valores con la misma letra dentro de columnas, son iguales, estadísticamente, de acuerdo a la prueba de Tukey a una  $P < 0.05$ .

En lo referente a la aplicación de los niveles de azúcar en las plantas sin inocular se detectó respuesta del cultivo a la dosis de 100 kg ha<sup>-1</sup> con un rendimiento de 2190 kg ha<sup>-1</sup>, seguido por 50 kg ha<sup>-1</sup> con 2126 kg ha<sup>-1</sup>, lo que se reflejó en incrementos de 569 y 505 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente en relación con el testigo (Figura 1).

Con el tratamiento con *A. brasilense*, el nivel de 50 kg ha<sup>-1</sup> de azúcar produjo un rendimiento medio de 2355 kg ha<sup>-1</sup>, el cual superó al testigo con *A. brasilense*, que obtuvo 662 kg (Figura 2); este resultado se debió a que, al incorporar el azúcar, se suministra una fuente de carbono soluble que provoca la liberación de N que aprovecha la planta (Dr. Etchevers., profesor investigador del Colegio de Postgraduados. Montecillo, Mex., 2004 comunicación personal).



**Figura 2.** Comportamiento del rendimiento de canola con *A. brasilense* en tres niveles de azúcar. Durante el ciclo Otoño-Invierno de 2001-2002, en el Valle Morelia Queréndaro, en el estado de Michoacán, México.

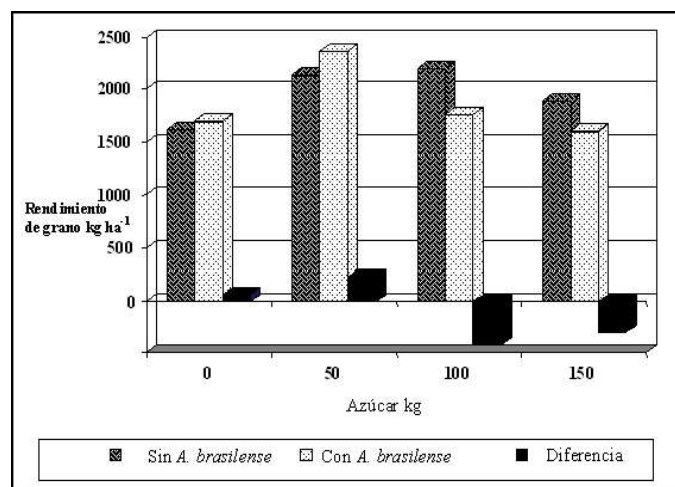
Al comparar los tratamientos sin biofertilizante y con él, con diferentes niveles de azúcar, se observó que el cultivo tuvo una tendencia de incremento en rendimiento de 505 kg ha<sup>-1</sup> de grano al aplicar azúcar de 0 a 50 kg; de sólo 64 kg ha<sup>-1</sup> de grano, al aumentar de 50 a 100 kg ha<sup>-1</sup>; en tanto que a dosis de 150 kg ha<sup>-1</sup> de azúcar, el rendimiento disminuyó en 297 kg ha<sup>-1</sup>. Respuesta similar se presentó cuando se aplicó el tratamiento de biofertilizante donde al primer nivel de azúcar tuvo un incremento de 662 kg ha<sup>-1</sup> de grano, y una disminución en rendimiento en los niveles tres y cuatro de 596 y 762 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 3).

Para el análisis económico de los tratamientos de canola evaluados, se seleccionó al de biofertilizante con la fórmula de fertilización de 60-60 de N y P, el cual tuvo un costo de cultivo de \$ 5,546.00 por hectárea, con un ingreso bruto de \$ 6,145.55 y un ingreso neto de \$ 600.55 (Cuadro

**Cuadro 4.** Análisis económico de los tratamientos evaluados en el cultivo de canola durante el ciclo Otoño-Invierno de 2001-2002, en el Valle Morelia Queréndaro, en el estado de Michoacán, México.

Tratamiento Semilla	Azúcar (kg ha <sup>-1</sup> )	Rendimiento (kg ha <sup>-1</sup> )	Precio (\$ kg <sup>-1</sup> )	Ingreso Bruto (\$ ha <sup>-1</sup> )	Costo Cultivo (\$ ha <sup>-1</sup> )	Ingreso Neto (\$ ha <sup>-1</sup> )	Tasa de Retorno
Sin <i>A. Brasilense</i> 160-60 NP	0	1621	2.61	4230.81	5649.00	-1418.19	-0.25
	50	2126	2.61	5548.86	5955.00	-406.14	-0.07
	100	2190	2.61	5715.90	6192.00	-476.10	-0.08
	150	1893	2.61	4940.73	6428.00	-1487.27	-0.23
Con <i>A. Brasilense</i>	0	1693	2.61	4418.73	5240.00	-821.27	-0.16
	50	2355	2.61	6146.55	5546.00	600.55	0.11
	100	1759	2.61	4590.99	5783.00	-1192.01	-0.21
	150	1593	2.61	4157.73	6020.00	-1862.27	-0.31

4). Estos valores no son nada satisfactorios, sin embargo, son resultado del daño que provocaron las heladas registradas los días 23 y 24 de febrero, así como el precio de compra que regía en la bolsa de Winnipeg.



**Figura 3.** Rendimiento de grano de canola con los tratamientos de semilla inoculada y sin inocular con *A. brasilense* en tres niveles de azúcar. Durante el ciclo Otoño-Invierno de 2001-2002, en el Valle Morelia Queréndaro, Mich., México.

## Conclusiones

Inocular la semilla de canola con *A. Brasilense* y utilizar 60 unidades de N, permite obtener un rendimiento similar al obtenido cuando sólo se aplica fertilización química de 160 unidades de N. El tratamiento con los mejores rendimientos fue el de aplicación de *A. brasilense* a la semilla, y 50 kg<sup>ha-1</sup> de azúcar. La tecnología más viable, económicamente, es tratar la semilla con *A. Brasilense*, y aplicar 60 unidades de N y 50 kg<sup>ha-1</sup> de azúcar.

## Agradecimientos

A la Asociación Nacional de la Industria del Aceite y la Manteca (ANIAME), que financió este proyecto.

## Literatura Citada

Bellone C. H., Carrizo de Bellone S, Monzón de Asconegui, M. A. 1999. *Azospirillum* en el Interior de las Raíces de Caña de Azúcar (*Saccharum* sp. L.). II Reunión Científica Técnica - Biología del suelo – Fijación Biológica del Nitrógeno. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Catamarca. Catamarca, Argentina. pp. 263-265.

Jackson, G.D. 2000. Effects of nitrogen and sulfur on canola yield and nutrient uptake. *Agronomy Journal* 92: 644-649.

Jaskowska, H. 1999. Effect of mineral fertilization with nitrogen and organic fertilization on the occurrence of *Azospirillum* spp. in the rhizosphere of cereals. *Biological and Technological Progress in Plant Production. Proceedings of Conference, Warsaw, Poland. 13-14 June 1996. Zeszyty-Problemy-Postepow-Nauk-Rolniczych.* 439: 79-83.

Martínez V. R. 1997. Los biofertilizantes como pilares básicos de la agricultura sostenible en Cuba. *Conferencias I. Taller Nacional de Producción Agroecológica de Cultivos Alimenticios en Condiciones Tropicales. IIIH "Liliana Dimitrova".* La Habana, Cuba: 88 p.

MSTAT Development Team. 1989. MSTAT user's guide: A microcomputer program for the design management and analysis of agronomic research experiments, Michigan State Univ. East Lansing, IL., USA.

Okon, Y., and C. A. Labandera-González. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biology & Biochemistry* 26: 1591-1601

Palazzo D, Capotorti G, Montemurro F. and Sunseri F. 1997. Productive responses of herbaceous crops to the inoculation of *Azospirillum*. *Informatore-Agrario* 53(12): 53-55

Pua, E.C. and C.J. Douglas. 2004. Origin, Taxonomy and Distribution of Brassica Species. pp: 3-11. In: *Biotechnology in Agriculture and Forestry.* 54 Brassica. T. Nagata, H. Lorz and J.M. Widholm (Eds.). Springer, Berlin, Germany.

Stancheva I., I Dimitrov, N. Kaloyanova, N. Dinev and N. Poushkarov. 1992. Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on photosynthetic enzyme activities a grain yield in maize. *Agronomie* 12(4): 319-324.

Steel RGD, Torrie JH. 1980. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach. 2nd ed. McGraw-Hill Book Co. New York, USA.

Turrent F. A. 1978. El Método gráfico-estadístico para la interpretación económica de experimentos conducidos con la matriz Plan Puebla I. SARH-Colegio de Postgraduados. Rama de suelos. 49 p.

Valenzuela, O. R. y C. S. Gallardo. 1995. Respuesta a la fertilización nitrogenada en diferentes estadios fenológicos del cultivo de canola. *Actas Segunda Reunión Nacional de Oleaginosas, Pergamino, Argentina. Tomo II.* pp. 154-159.