

Diagnóstico del estado nutricional del cultivo de colza (*Brassica napus*) en base a curvas de dilución de nitrógeno y azufre

Ferreira Gonzalo¹, Ernst Oswaldo¹

¹Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Estación Experimental Mario A. Cassinoni. Ruta 3, km 363, 60000 Paysandú, Uruguay. Correo electrónico: gferreira@fagro.edu.uy

Recibido: 13/8/13 Aceptado: 30/1/14

Resumen

Para la obtención de elevados rendimientos en el cultivo de colza es necesaria la complementación del nitrógeno (N) con una adecuada nutrición de azufre (S). El objetivo del presente trabajo fue determinar indicadores de diagnóstico del estado nutricional del cultivo en referencia a nitrógeno y azufre en planta para la óptima producción de grano y aceite. Se obtuvieron las ecuaciones de dilución para la concentración crítica de nitrógeno y azufre ($N_c = 5,21 MS^{-0,36}$ y $S_c = 1,22e^{-0,18MS}$ respectivamente). A partir de las ecuaciones, el índice crítico de nutrición azufrada fue de 0,88 y 0,74 para la máxima producción de biomasa en elongación y grano respectivamente. Para nitrógeno solamente se encontró un valor crítico de 1,04 para la producción de biomasa, mientras que para la producción de grano se observó que bajo condición de azufre suficiente no existió limitante de nitrógeno en todo el rango de estado nutricional estudiado. En cambio, bajo la condición de azufre limitante la respuesta del rendimiento al estado nutricional nitrogenado fue lineal. Los resultados indican la necesidad de una cantidad mínima de S absorbida para alcanzar el rango de rendimiento máximo. La tasa de dilución del azufre crítico fue menor a la del nitrógeno por lo cual la relación Nt:St no resultó útil en predecir el estado nutricional del cultivo para el crecimiento y producción de grano pero sí lo hizo para la concentración de aceite con un valor crítico de 7,7.

Palabras clave: requerimiento nutricional, relación N:S, canola, predicción, aceite

Summary

Diagnosis of the Nutritional Status of Rapeseed Crop (*Brassica napus*) Based on Nitrogen and Sulfur Dilution Curves

For obtaining high yields in the rapeseed crop it is necessary to complement nitrogen (N) with adequate sulfur (S) nutrition. The aim of this study was to determine the diagnostic indicators of nutritional status of the crop in reference to nitrogen and sulfur for optimal plant grain and oil production. Equations were obtained for sulfur and nitrogen critical dilution ($N_c = 5.21 MS^{-0.36}$ and $S_c = 1.22 e^{-0.18MS}$, respectively). From the equations, the sulfur nutrition critical index was 0.88, and 0.74 for maximum biomass production in elongation and grain respectively. For nitrogen only a critical value of 1.04 was found, whereas, for the production of grain we observed that under the condition of *sufficient sulfur* nitrogen limitation did not exist over the entire range of nutritional status studied. Instead, under the condition of *limiting sulfur* yield response to nitrogen nutritional status was linear. The results indicate the need for a minimum amount of S absorbed to reach maximum yield range. The dilution rate for critical sulfur was lower than nitrogen dilution rate, for which the Nt:St was not useful in predicting the nutritional status of crop growth and grain yield, but it did help predicting the oil concentration with a critical value of 7.7.

Keywords: nutritional requirement, N:S, oilseed rape, prediction, oil

Introducción

El cultivo de canola (*Brassica napus*) posee una elevada demanda de nitrógeno (N) y un mayor umbral de requerimiento que los demás cultivos extensivos (Colnenne *et al.*, 1998). Además, debido a la estrecha relación existente entre N y azufre (S) asociados al rol central en la producción de proteínas (Orlovius, 2003), es necesaria la complementación del N con adecuado suministro de azufre (Zamora y Massigoge, 2008). Por lo tanto, la obtención de altos rendimientos de grano depende de identificar el óptimo estado nutricional del cultivo referido a estos dos nutrientes. Para esto es necesario contar con herramientas de diagnóstico como lo es el análisis de nutrientes en planta, su interpretación mediante curvas de dilución (Colnenne *et al.*, 1998; Plank y Tucker, 2000) y la relación de concentración Nt:St en la biomasa como fuese propuesto por Reussi *et al.* (2012) en cultivo de trigo.

Las curvas de dilución son definidas por los niveles de concentración crítica del nutriente en la biomasa aérea durante todo o parte del ciclo del cultivo (Colnenne *et al.*, 1998). En nitrógeno, esta concentración crítica ha sido definida como la mínima concentración de N requerida para lograr la máxima tasa de crecimiento del cultivo (Greenwood, 2001), y varía con la biomasa aérea producida, ya que se produce un efecto de dilución del nitrógeno en la planta. Durante etapas tempranas de crecimiento el fenómeno de dilución del N es poco importante debido a la ausencia de competencia por luz entre plantas (Lemaire *et al.*, 1997). Existen reportes de esta dilución para varios cultivos, en canola invernal hasta valores de materia seca de 6,47 Mg ha⁻¹ (Colnenne *et al.*, 1998), en trigo hasta 14 Mg ha⁻¹ (Justes *et al.*, 1994), en maíz hasta 12,1 Mg ha⁻¹ (Plenet y Lemaire, 2000) y en girasol hasta floración (Merrien, 1992). Después de la floración, la relación alométrica entre concentración de N y peso seco aéreo cambia con la edad de la planta (pérdida de hojas e incremento de tejidos lignificados) y también con la naturaleza bioquímica de los compuestos almacenados en la semilla (Lemaire *et al.*, 1997). En este sentido, Arce de Caram *et al.* (2003) concluyeron que la curva de dilución del N en el cultivo de girasol, propuesta por Merrien (1992) no fue útil en juzgar el estado nitrogenado en estadios posteriores a floración. Colnenne *et al.* (1998) determinaron una curva de dilución de N en colza invernal válida para valores de acumulación de materia seca entre 1,43 y 6,47 Mg ha⁻¹, representada por la siguiente ecuación:

$$\% N_c = 4,48W^{-0,25}$$

Donde: W es la cantidad de materia seca aérea total acumulada en un momento expresada en Mg ha⁻¹.

Valores de concentración de N más elevados ($\% N_c = 5,7W^{0,5}$) a lo reportado anteriormente fueron obtenidos por Greenwood *et al.* (1990) para un grupo de especies C₃. Según Justes *et al.* (1994) estos últimos autores han seleccionado situaciones en las cuales el N no fue limitante para el crecimiento, por lo tanto, ese mayor valor se puede deber a una sobreestimación de la concentración de nitrógeno. Varios autores han reportado diferentes niveles de concentración crítica de N en canola para iguales momentos fenológicos específicos del ciclo (Plank y Tucker, 2000; Hocking *et al.*, 1997; Orlovius, 2003), estos valores difieren entre ellos y son específicos de cada trabajo dejando en evidencia la variación del nivel crítico cuando no se tiene en cuenta la producción de materia seca acumulada al mismo momento que se determinó la concentración de N.

Andrade *et al.* (1996) sostienen que estas curvas pueden llegar a ser únicas para diferentes genotipos de una especie y hasta para un grupo de especies, y serían válidas para diferentes ambientes en condiciones de buena disponibilidad de agua. Sin embargo se ha reportado variación en la curva crítica de N entre y dentro de especies (Justes *et al.*, 1994) y entre sitios experimentales (Greenwood *et al.*, 1990).

Según Gastal y Lemaire (2002), la concentración de N crítico no es un objetivo en sí mismo a seguir durante el crecimiento del cultivo, sino que es una referencia fundamental en cualquier etapa de crecimiento, que permite determinar si la nutrición nitrogenada de los cultivos es óptima o subóptima con respecto a la tasa de crecimiento del cultivo. En este sentido, las curvas de concentración crítica de nutrientes separan situaciones en las que la concentración del nitrógeno es limitante para la producción de biomasa del cultivo, de situaciones en las que se encuentra en exceso, y no logran ningún incremento adicional en la producción de biomasa del cultivo. Para una situación dada y en cualquier momento del período de crecimiento del cultivo, es posible determinar un Índice de Nutrición Nitrogenada (INN) como la relación entre la concentración actual de N y la concentración crítica de N, correspondiente a la masa real del cultivo (Lemaire *et al.*, 2008). Los valores de INN próximos a uno indican que en la fecha de la determinación del porcentaje N actual el cultivo está en situación de suministro de N no limitante. Valores mayores a 1 indican un consumo de lujo de N y valores inferiores indican deficiencia de N. La intensidad de esta deficiencia se puede estimar por el valor del INN (Lemaire *et al.*, 2008). Si bien este índice en su origen

es un indicador de estado nutricional del cultivo para el momento en el cual es determinada la biomasa acumulada y su concentración de N, Lemaire *et al.* (2008) han encontrado que los cambios en INN durante el período vegetativo del cultivo, en el cual se genera el potencial productivo, tiene un gran efecto sobre el número de granos, y por lo tanto sobre el rendimiento.

Para N existe abundante información en la literatura científica sobre la nutrición para vegetales en general y también específica para el cultivo de colza (Ozer, 2003; Malagoli *et al.*, 2005; Colnenne *et al.*, 1998; Rathke y Schuster, 2001), incluso una curva de dilución del nutriente antes mencionada, herramienta fundamental en cualquier diagnóstico nutricional. Pero también es sabido que para obtener una producción más elevada y estable del cultivo de colza es necesario que la nutrición nitrogenada sea acompañada con un contenido de S adecuado, el cual también mejoraría el índice de eficiencia del N (Høivna *et al.*, 2004; Zamora y Masigoge, 2008). La disponibilidad de N también estaría afectando la movilidad del S desde diferentes compartimentos de la planta, lo que provee que cambios en constituyentes ricos y pobres en S en el ciclo de progreso del cultivo sean probablemente más complejos que para N (Reussi *et al.*, 2012). Este mismo autor generó una primera aproximación a la curva de dilución del S en trigo utilizando un modelo de regresión potencial entre la producción de biomasa aérea y la concentración total de azufre crítico (Sc) representado por la ecuación: $Sc = 0,37W^{0,169}$, herramienta esta no disponible para el cultivo de colza. Comparando esta curva con la del N propuesta por Justes *et al.* (1994) para el mismo cultivo, Reussi *et al.* (2012) observaron una menor tasa de dilución del Sc con respecto al Nc en el ciclo del cultivo ($b = -0,169$ y $-0,442$ para S y N respectivamente). Según estos autores esto genera una relación $Nt:St$ inestable durante el ciclo del cultivo, característica no deseable en un indicador de diagnóstico perfecto. Igualmente esta relación es ampliamente estudiada y utilizada para diagnosticar las deficiencias de S en vegetales (Dijkshoorn *et al.*, 1960; Dijkshoorn y Van Wijk, 1967; Pinkerton, 1998), aunque según Pinkerton (1998) el indicador de estado azufrado en el cultivo de colza más satisfactorio es la concentración de S total. Según Dijkshoorn *et al.* (1960), azufre y nitrógeno se utilizan en el crecimiento de acuerdo con una relación estequiométrica definida, la cual va estrechamente de acuerdo con la composición elemental de los principales consumidores de estos elementos, la sustancia proteica. La síntesis de proteínas puede estar limitada por la escasez de aminoácidos sulfurados en los tejidos, pero la conversión de

nitrato y amonio en N orgánico puede continuar, y el cese de las síntesis de proteínas hace que los aminoácidos libres se acumulen en los tejidos. Además, en la mayoría de las especies investigadas, el S orgánico se presenta principalmente como cisteína y metionina, pero en la especie *Brassica* existen otras formas de S orgánico que determinan una relación Norgánico/Sorgánico más baja (Dijkshoorn y Van Wijk, 1967). Asimismo, en condiciones de alta disponibilidad de N se fomenta la absorción de S, por lo tanto hay una menor dilución de este nutriente (Reussi *et al.*, 2012). En colza, Pinkerton (1998) han analizado la relación Nt/St bajo suministro constante de S en condiciones de invernadero, obteniendo valores críticos para producción de biomasa desde 13,5 a los 57 días post siembra a 9,2 en los 93 días post siembra. Valores de esta relación inferior a 7,7 pueden ser inferidos a partir de los valores críticos de N y S (3,6 % y 0,47 % respectivamente) previos a floración reportados por Plank y Tucker (2000). Además, si se consideran los rangos de suficiencia reportados por estos mismos autores (para N entre 4,0 y 6,4 % y para S entre 0,65 y 0,90 %) para el mismo momento antedicho, el rango de variación de N/S inferido es de 4,4 a 9,8.

Brennan y Bolland (2006) reportaron que la respuesta de la producción de biomasa y grano a la aplicación de fertilizante azufrado ocurrió para valores de concentración de S en tejido menores a 0,4 %, en torno a la semana cuatro a seis después de la siembra. Resultados inferiores, pero en una etapa más avanzada de crecimiento del cultivo, han sido obtenidos por Pinkerton (1998). Este autor obtuvo concentraciones críticas de St total en planta, tanto para diagnóstico como para la predicción, entre 0,20-0,25 % en o antes de la floración, cuando la oferta de S en el suelo fue estable.

La importancia del S en el cultivo también afecta la concentración de aceite en grano, en este sentido, datos reportados por Hocking *et al.* (1996) demuestran reducciones de hasta 21 % en la concentración de aceite en parcelas sin aplicación de S en comparación a plantas con aplicación de 40 kg S ha^{-1} . Este mismo autor también obtuvo valores óptimos de referencia para la relación de concentración de $Nt:St$, en plantas deficientes en S fue mayor que 10, y 7,5 para plantas con adecuado suministro de azufre, evaluadas por la concentración crítica de S en semilla propuesta por este autor. Resultados similares fueron obtenidos por otros autores (Brennan y Bolland, 2008; Malhi *et al.*, 2007), en los cuales la concentración de aceite en el grano aumentó a medida que se aplicó más S, sobre todo cuando se aplicaron las mayores tasas de N.

Se plantea como hipótesis que el valor crítico de la concentración de N para una cantidad de materia seca producida hasta C1 puede utilizarse como diagnóstico del estado nutricional del cultivo, y junto a la concentración de S, como predictor del rendimiento en grano y de la posible respuesta a la fertilización con N. Los objetivos específicos de este trabajo son: determinar la curva de dilución de N y S en función de la materia seca producida, proponer un índice de diagnóstico del estado nutricional del cultivo al estadio C1, y evaluar su capacidad de pronóstico del rendimiento en grano y aceite.

Materiales y métodos

Se realizaron seis experimentos en chacras comerciales del litoral oeste de Uruguay y dos experimentos en condiciones controladas en invernadero en la estación experimental Mario A. Cassinoni (EEMAC) de la Facultad de Agronomía, departamento de Paysandú, República Oriental del Uruguay (32° 23' S; 58° 03' W). Los cultivares utilizados fueron de colza tipo primaverales e invernales (Cuadro 1). El diseño experimental utilizado fue factorial incompleto con tres repeticiones en todos los casos.

Las curvas de dilución de Nt y St se ajustaron con los datos obtenidos en los experimentos a campo y en invernadero. En tanto, para estudiar la relación entre el estado nutricional del cultivo en C1 y el rendimiento en grano y aceite, solo se dispuso de los datos obtenidos a campo (Cuadro 1).

Ensayos a campo

Los tratamientos fueron la combinación de cuatro dosis de nitrógeno (N) (0, 30, 60 y 90 kg ha⁻¹) aplicadas en mo-

mentos específicos del ciclo del cultivo (Cuadro 1). Del total de las combinaciones posibles se seleccionaron aquellas que: i) la dosis de N agregada a la siembra no superara los 60 kg ha⁻¹, y ii) la dosis total agregada durante el ciclo no fuera mayor a 240 kg ha⁻¹ de N. La disponibilidad de fósforo y potasio en el suelo fueron corregidos a la siembra previo análisis del contenido de estos nutrientes en el suelo.

Ensayos en macetas

Se instalaron dos ensayos en macetas, diferentes en fecha de siembra (Cuadro 1), ambos bajo invernadero, que se mantuvieron hasta que las plantas alcanzaron la forma de roseta (Estadio B5-B6 según Escala CETIOM, 2012), momento en el cual se trasladaron las macetas al exterior del invernadero, a condiciones de campo. La mezcla de suelo elaborada con el objetivo de reducir la disponibilidad de N en el suelo fue de ½ de suelo y ½ de arena, resultando en textura franco-arenosa, y 1,23 % de carbono orgánico.

Al momento de la siembra, se agregó en la mezcla del suelo fertilizante químico conteniendo fósforo, potasio y azufre en cantidades equivalentes a 60, 77 y 40 kg ha⁻¹ respectivamente.

En cada momento de fertilización (Cuadro 1) se realizó en cada maceta el agregado de N en formulación granulada a dosis de 0-25 y 60 kg N ha⁻¹, posterior riego manual.

El suministro de agua bajo invernadero se realizó en forma manual, asegurando la disponibilidad de agua constante en el suelo. Luego de trasladadas las macetas a condiciones de campo el suministro se mantuvo constante mediante la inmersión de estas en bandejas con 3 cm de lámina de agua hasta el final del período experimental.

Cuadro 1. Características de los ensayos realizados.

Sitio	Fecha de siembra	Tipo de colza	Varietal	Etapas de fertilización	Etapas de muestreo (CETIOM, 2012)
El Puntal	05/05/2010	Primaveral	Rivette	S-B5-C1	B5-C1
La Esperanza	08/06/2010	Primaveral	SW 2797	B2-C1	C1
Palmar 1	15/07/2011	Primaveral	Hyola 61	B2-C1-D1	C1-D1
Palmar 2	15/07/2011	Primaveral	Rivette	B2-C1	C1-D1
Invernadero 1*	20/06/2011	Primaveral	Rivette y Hyola 71	S-B2-B5-C1-D1-F1-G2	B5-C1-D1-F1-G2
Invernadero 2*	20/07/2011	Primaveral	Rivette	S-B2-B5-C1-D1-F1-G2	B5-C1-D1-F1-G2
Villa Maruca 1	25/04/2011	Invernal	Pulsar	B2-B7-C1	B7-C1
Villa Maruca 2	25/04/2011	Invernal	Pulsar	B5-C1	C1

*Ensayos sembrados en macetas bajo invernadero. S: siembra, B2: dos hojas verdaderas desplegadas, B5: cinco hojas verdaderas desplegadas, B7: siete hojas verdaderas desplegadas, C1: comienzo de elongación del tallo, aumento de la vegetación y aparición de hojas jóvenes, D1: yemas unidas cubiertas por hojas terminales, F1: primeras flores abiertas y G2: las 10 primeras silicuas tienen una longitud de entre dos y cuatro cm.

Determinaciones

En cada estadio de crecimiento mencionado en el Cuadro 1, se realizó muestreo de biomasa mediante el corte de plantas en dos metros lineales para la determinación de materia seca aérea y su concentración de nitrógeno total (Nt) y azufre total (St). La cosecha de los experimentos se realizó mediante el corte manual de plantas en dos metros lineales en cada parcela, posterior embolsado y secado a temperatura ambiente hasta que las silicuas alcancen su punto de máxima dehiscencia natural para así efectuar la trilla manualmente. Se determinó la cantidad de grano obtenida, su humedad y peso de mil granos. Para determinar el estado fenológico del cultivo se utilizó la escala de CETIOM (2012).

Análisis del contenido de Nt, St y aceite

Las determinaciones químicas de St y aceite en grano fueron realizadas en el laboratorio del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria y el Nt en la estación experimental Mario A. Cassinoni de Facultad de Agronomía. La determinación del St se realizó mediante combustión a 1350 °C y posterior detección de SO₂ por infrarrojo con un analizador elemental (Leco®, modelo Truspec CNS, St. Joseph, MI, USA), para la concentración de Nt se utilizó la metodología Kjeldahl. El contenido de aceite en grano fue determinado con un espectrómetro de resonancia magnética nuclear (Oxford 4000 NMR, Oxford Analytical Instruments Ltd., Abingdon, United Kingdom).

Análisis de datos

Dada la variación en la densidad de plantas dentro de los experimentos ubicados en chacras comerciales, se procedió a eliminar su posible efecto mediante la inclusión en el análisis de varianza del número de plantas por superficie en cada parcela como covariable, utilizando los predichos de este modelo para obtener los valores de las variables de interés sin el efecto de la densidad poblacional. Los rendimientos se presentan en términos relativos al máximo de cada ensayo para evitar el ruido del efecto sitio y tipo de colza. En el caso de los análisis para diagnóstico del estado nutricional del cultivo se utilizaron solamente los resultados de parcelas sin agregado de N en C1. En estos casos, el rendimiento máximo del ensayo se le asigna a la parcela que obtuvo la máxima producción sin agregado de fertilizante nitrogenado.

Curva de Dilución de Nt y St: para establecer los niveles críticos de Nt y St en cada estado fenológico se utilizó la metodología propuesta por Justes *et al.* (1994), realizándose

se el análisis de la varianza de la cantidad de biomasa seca aérea producida en cada fecha de medición y sitio experimental, efectuándose asimismo la comparación de medias de tratamientos con el test de mínima diferencia significativa de Fisher, estableciendo un nivel de significancia de 5 % a priori, con el software estadístico Infostat/e. La concentración de Nt y St establecida como el nivel crítico para un estadio determinado corresponde a la concentración cuantificada en el tratamiento que logró una producción de biomasa por encima de la cual no existió un nuevo incremento significativo ($p \leq 0,05$). Posteriormente, cada uno de estos datos fue utilizado para definir la curva de dilución del Nt y St en función de la biomasa seca producida. Para Nt se ajustó el modelo propuesto por Justes *et al.* (1994). En tanto, para St, se seleccionó un modelo exponencial negativo, ya que se obtuvo un mejor coeficiente de regresión y cuadrado medio del error que utilizando el modelo potencial.

Índices de Nutrición (IN): se utilizó la metodología propuesta por (Lemaire y Meynard, 1997) para trigo que relaciona la concentración actual con el nivel crítico para el estadio de referencia.

Para nitrógeno, este índice es determinado por la siguiente ecuación:

$$INN = N_{act}/N_c$$

donde: el N_{act} corresponde a la concentración de N determinada en la biomasa y N_c al N crítico estimado a partir de la ecuación de dilución.

Para determinar el índice de nutrición azufrada (INS) se aplicó la misma metodología,

donde:

$$INS = S_{act}/S_c$$

Cuando este índice tiene valores menores a uno indica que la concentración en planta entera es deficiente; es óptimo cuando su valor es igual a uno y supra óptimo cuando es mayor a uno.

Evaluación de las curvas de dilución y los índices de nutrición

El INN e INS fueron utilizados para confirmar la utilidad de las curvas de dilución en predecir el nivel crítico del nutriente necesario para producir la máxima cantidad de biomasa seca en un momento determinado, llámese capacidad de diagnóstico del estado nutricional del cultivo a un determinado momento. Para esto se utilizó la metodología propuesta por Cate y Nelson (1971) tomando los rendimientos relativos de materia seca acumulada a elongación (C1) como variable dependiente y los IN, en el mismo esta-

do fenológico, como regresoras. En segunda instancia, para el estadio C1, fueron evaluados por su capacidad de pronóstico del rendimiento en grano, relacionándolos con el rendimiento relativo de grano obtenido en los tratamientos que no recibieron el agregado de nitrógeno posterior. En este análisis de regresión se utilizó una variable auxiliar *dummy* para contemplar el efecto del estado azufrado y su posible interacción con el INN en C1, obteniendo así la respuesta del rendimiento al INN en condición de *azufre limitante* y *azufre suficiente* al momento C1. La condición azufrada fue determinada utilizando el nivel de suficiencia del INS en C1 para lograr el 95 % del rendimiento máximo. A las parcelas que presentaron valores de INS en C1 menores al crítico propuesto para este estadio, se les asignó la condición *azufre limitante* y a las que tuvieron valor igual o superior al crítico, *azufre suficiente*. En el análisis fueron eliminados dos datos, definidos como «outliers» por presentar valores 4, 16 y 16,5 % inferiores en peso de grano, silicuas m² y granos m² respectivamente en relación al resto de los datos (Figura 3).

En las regresiones planteadas entre los índices de nutrición con los rendimientos relativos de materia seca o rendimiento, se utilizaron los datos originales sin promediar, ya que esto resultó en menor valor de cuadrado medio del error, que al utilizar los datos promedio por tratamiento. Este mismo criterio se mantuvo para el análisis de regresión entre el S absorbido y el INN en C1, pero aquí solamente se utilizaron los datos clasificados en condición de *azufre limitante*.

Aceite en grano

Se analizó la concentración en respuesta a los índices de nutrición, la relación azufre-nitrógeno mediante la metodología propuesta por Cate y Nelson (1971), y la producción de aceite ha⁻¹ en respuesta al rendimiento por medio de regresión simple.

Resultados

Curvas de dilución de nitrógeno y azufre crítico

Con los ocho experimentos y estadios fenológicos de muestreo comprendidos entre B5 y G2 de la Escala CE-TIOM, se lograron 15 combinaciones de materia seca producida y su concentración crítica de Nt y St (Cuadro 2).

El rango de variación en biomasa estuvo entre 0,55 y 5,97 Mg ha⁻¹ de materia seca y entre 2,6 y 6,4 % y 0,4 y 1,3 %, para la concentración crítica de Nt y St respectivamente.

La curva de dilución del nitrógeno total crítico (Figura 1a) resultó del ajuste de un modelo de regresión potencial, mientras que la curva de dilución del azufre total crítico resultó del ajuste de un modelo de regresión exponencial (Figura 1b). Ambas curvas relacionaron la concentración crítica teórica de cada nutriente con la materia seca producida según las siguientes ecuaciones:

$$N_c = 5,21 MS^{-0,36} \quad (R^2 = 0,87, p < 0,0001)$$

$$S_c = 1,22 e^{-0,18 MS} \quad (R^2 = 0,82, p < 0,0001)$$

Donde: N_c es la concentración de N crítica en la materia seca expresada en porcentaje, S_c es la concentración de S crítica en la materia seca expresada en porcentaje y MS es la cantidad de materia seca producida expresada en Mg ha⁻¹.

Índices de estado nutricional

Los índices de estado nutricional relacionan los niveles críticos determinados con las ecuaciones de dilución para la producción acumulada de materia seca, con la concentración de nitrógeno y azufre observada. El INN en C1 necesario para obtener el 90 % del rendimiento máximo de materia seca en elongación fue 1,04 y el INS de 0,88 (Figura 2a y 2b respectivamente).

Por debajo de estos valores existió incremento lineal en la producción de materia seca en respuesta a la mejora en ambos índices.

Capacidad de pronóstico de los indicadores de estado nutricional

Considerando el conjunto de datos, el INN en C1 se relacionó de manera lineal ($p < 0,0001$) con el rendimiento de grano, pero sin alcanzarse un nivel de suficiencia en el rango estudiado (figura no mostrada). En tanto, el nivel de suficiencia del INS para el rendimiento de grano tuvo un valor crítico de 0,74, un 16 % menor al valor de suficiencia para la producción de biomasa en C1. Cuando se incluyó como una *variable dummy* el estado azufrado del cultivo en C1 (Figura 3b), definido en base al nivel crítico de INS determinado (Figura 3a), no existió relación significativa entre el INN y el rendimiento de grano para la condición de *azufre suficiente* ($p = 0,72$). En cambio, se mantuvo la relación lineal positiva significativa ($p < 0,0001$) para las situaciones definidas como *azufre limitante* (Figura 3b). El análisis de regresión incluyendo la *variable dummy* mostró una interacción significativa, por lo que ambas situaciones se diferenciaron estadísticamente entre sí ($p < 0,0001$).

Cuadro 2. Niveles críticos para la concentración de nitrógeno total (Nt) y azufre total (St) determinados en cada sitio y estadio fenológico de muestreo según la metodología propuesta por Justes *et al.* (1994). B7: 7 hojas verdaderas desplegadas, C1: comienzo de elongación del tallo, aumento de la vegetación y aparición de hojas jóvenes, D1: yemas unidas cubiertas por hojas terminales, F1: primeras flores abiertas y G2: las 10 primeras silicuas tienen una longitud de entre 2 y 4 cm.

Sitio	Etapa de Muestreo (CETIOM, 2012)	Materia Seca (Mg ha ⁻¹)	Concentración en biomasa	
			Nt (%)	St (%)
Inviernadero 1	C1	0,55	6,4	1,3
Inviernadero 2	D1	0,62	6	1
Palmar 1	C1	0,88	5,7	1,1
Palmar 2	C1	1	5,4	0,9
El Puntal	C1	1,08	5,3	0,8
La Esperanza	C1	1,36	4,4	0,9
Inviernadero 1	D1	1,52	4,1	1,1
Villa Maruca 1	B7	1,93	4,8	0,8
Inviernadero 2	F1	2,41	4,1	1
Inviernadero 1	F1	2,83	2,7	0,8
Inviernadero 2	G2	3,11	3,3	0,7
Palmar 1	D1	3,12	4	0,7
Palmar 2	D1	3,41	3,4	0,6
Villa Maruca 1	C1	4,64	3,1	0,5
Villa Maruca 2	C1	5,97	2,6	0,4

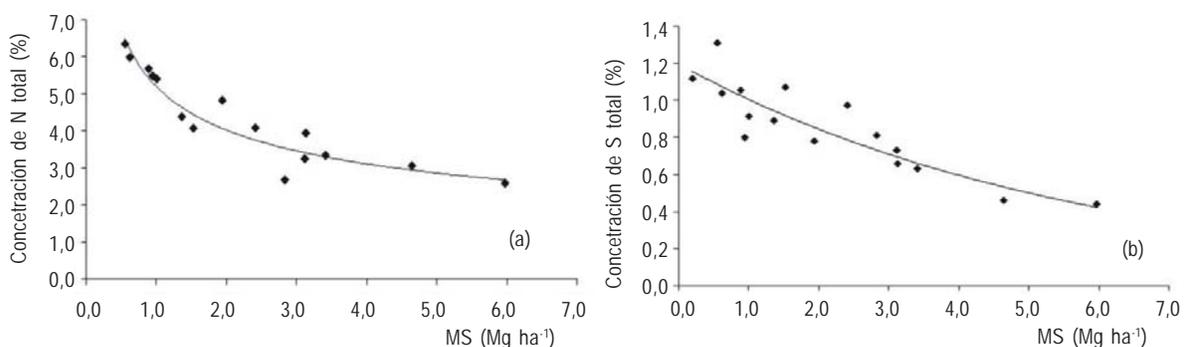


Figura 1. Curva de dilución de la concentración crítica de nitrógeno total en planta (a) y de la concentración crítica de azufre total en planta (b), determinadas por la metodología propuesta por Justes *et al.* (1994).

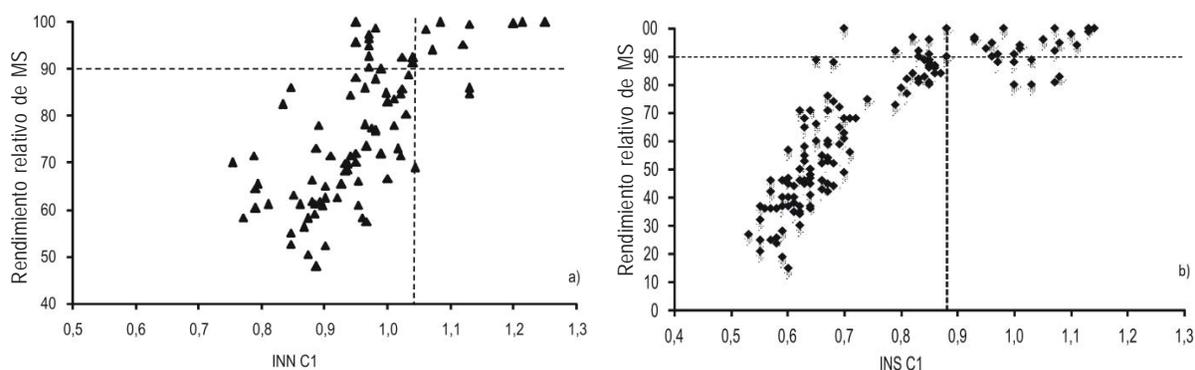


Figura 2. Nivel crítico del INN (a) y del INS en C1 (b) para el rendimiento relativo de materia seca acumulada a elongación. Las líneas verticales punteadas en figura a y b representan el nivel crítico de INN y de INS en C1 respectivamente para obtener el 90 % de la producción máxima de materia seca, según la metodología de Cate y Nelson (1971).

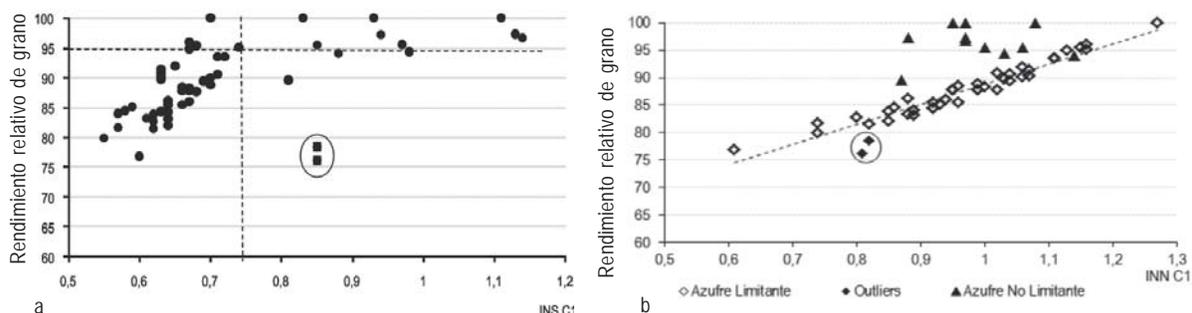


Figura 3. a) Nivel crítico del INS en C₁ para el rendimiento relativo de grano. La línea vertical punteada representa el nivel crítico para obtener el 95 % de la producción máxima de grano, según la metodología de Cate y Nelson (1971). b) Rendimiento relativo de grano en función del índice de nutrición nitrogenada al momento de elongación en condiciones de azufre limitante y suficiente, en parcelas sin agregado de nitrógeno a elongación. INS: Índice de Nutrición Azufrada, INN: Índice de Nutrición Nitrogenada en el momento C1. La regresión lineal entre el rendimiento relativo de grano y el INN en C1 en condiciones de azufre limitante se representa con la línea punteada.

La ecuación de la regresión lineal obtenida en el análisis de los datos mostrados en la Figura 3b es la siguiente:

$$RR (\%) = 52,43 + 36,41 \cdot INN$$

En la condición definida como *azufre limitante*, si bien se logró alcanzar el rango de rendimientos máximos, el INN en C1 necesario fue mayor a 1, sugiriendo la necesidad de un consumo de lujo. Bajo esta misma condición *azufrada*, existió una relación lineal significativa ($p < 0,0001$) entre el INN en C1 y la cantidad de St absorbida hasta C1 (Figura 4). Con $INN > 1$ la cantidad de St absorbida fue igual o mayor a 6 kg ha^{-1} . Por tanto, la absorción de Nt y St estuvieron relacionadas y, en condiciones de consumo de lujo de Nt en C1, la cantidad de St absorbida se incrementó, mejorando el estado nutricional de la planta. Estas situaciones, ubicadas en el cuadrante superior derecho de la Figu-

ra 3 lograron en promedio el 93 % del rendimiento máximo de cada sitio.

Concentración de aceite en grano

La concentración de aceite en grano presentó un coeficiente de variación muy bajo (desde 1,4 a 4 %), por lo que la concentración relativa de aceite en grano varió solamente entre 88 y 100 %.

No se encontró un valor crítico para lograr la máxima concentración de aceite en grano para ninguno de los índices por sí solos. Sin embargo, la relación entre estos dos nutrientes (S:N) en C1 se relacionó con la concentración de aceite en grano (Figura 5). El nivel crítico de S:N en C1 necesario para obtener el 95 % de la máxima concentración de aceite en grano fue de 0,13, lo que equivale a una relación Nt:St crítica de 7,7. Si bien este es un indicador de

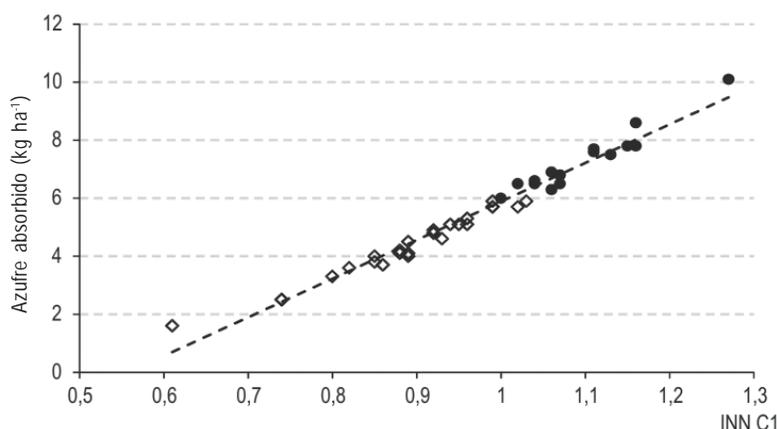


Figura 4. Contenido de azufre absorbido por el cultivo en relación al índice de nutrición nitrogenada, al estado de elongación, bajo situación de azufre limitante. INN C1: Índice de Nutrición Nitrogenada al estado de elongación. Los puntos negros corresponden a las parcelas que diagnosticadas en condición de azufre limitante según INS presentan cantidad de azufre absorbido a C1 mayor a 6 kg ha⁻¹.

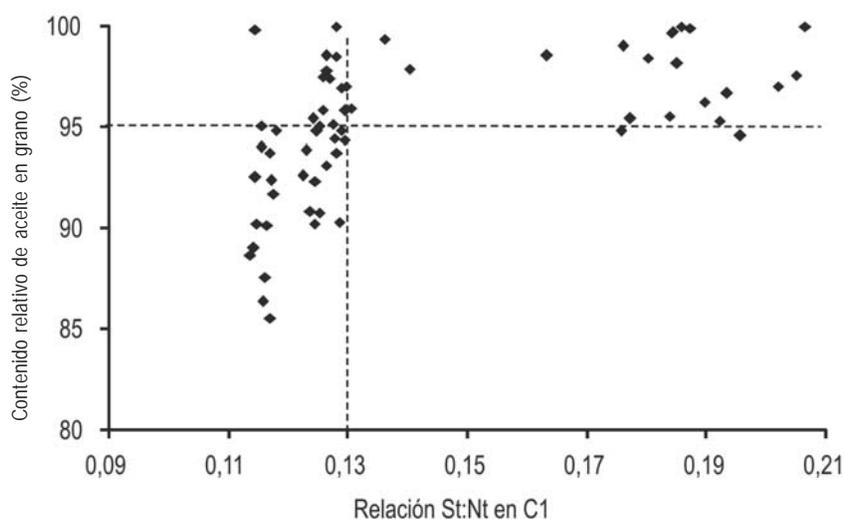


Figura 5. Contenido relativo de aceite en grano en función de la relación entre concentración de azufre total y nitrógeno total en planta al momento de elongación. St:Nt: relación entre la concentración de azufre total y nitrógeno total en la biomasa, C1: estado fenológico de elongación.

fácil estimación, solamente da una idea relativa del estado nutricional entre ambas variables, pero una misma relación puede estar dada por valores diferentes de cada nutriente. Sin embargo, para este trabajo, el aumento en contenido de azufre, estimado mediante el INS, fue el componente principal en determinar la relación Nt:St debido a que todos los

tratamientos con valor de relación igual o por debajo de 0,13, presentaron INS en C1 menor a 0,84. Por otra parte, el 86 % de los tratamientos con relación Nt:St mayor o igual a 0,15 presentaron valores de INS en C1 igual o mayor a 0,93. En términos absolutos la producción de aceite por unidad de superficie estuvo afectada directamente ($p < 0,0001$, $R^2 = 0,97$) por el rendimiento.

Discusión

La concentración de Nt y St en la biomasa total de la planta se redujo con el progreso del ciclo del cultivo, como es reportado para N en colza invernal (Colnenne *et al.*, 1998), maíz (Plenet y Lemaire, 2000), trigo (Justes *et al.*, 1994), girasol (Merrien, 1992) y para S en trigo (Reussi *et al.*, 2012). El modelo matemático que representó esta dilución para nitrógeno fue similar al reportado por Colnenne *et al.* (1998) a diferencia de lo sucedido para azufre con respecto al modelo propuesto por Reussi *et al.* (2012) para trigo. Si bien el fenómeno de dilución del Nc en la biomasa del cultivo de colza fue reconocible, los parámetros estimados difieren de los obtenidos por Colnenne *et al.* (1998). Los valores obtenidos por este autor para los parámetros a y b de la ecuación de dilución fueron de 4,48 y -0,25 respectivamente vs. 5,21 y -0,36 respectivamente en el presente trabajo. Esta diferencia implica una mayor concentración de Nc en estadios tempranos del cultivo pero también una mayor dilución del mismo con el avance del ciclo del cultivo. Al igual que los resultados obtenidos por Justes *et al.* (1994) los coeficientes para la ecuación de dilución del Nc son inferiores a los propuestos por Greenwood *et al.* (1990) para especies C3. Estas diferencias para una misma especie, como lo discuten Greenwood *et al.* (1990) y Justes *et al.* (1994), pueden explicarse por diferencias en las condiciones pedoclimáticas en las que se obtienen los resultados.

La tasa de dilución del Sc resultó menor a la del Nc durante el ciclo del cultivo estudiado ($b = -0,18$ y $-0,36$ para S y N respectivamente), lo que coincide con lo reportado por Reussi *et al.* (2012) para el cultivo de trigo. Esta dilución diferencial de ambos nutrientes generó una relación Nc/Sc variable entre 3,3 y 6,9, sin un patrón de comportamiento en relación a la acumulación de biomasa del cultivo, y menores a los valores de 9,2 a 13,5 reportados por Pinkerton (1998). Por tanto, al igual que lo reportado para trigo (Reussi *et al.*, 2012) condiciona el uso de esta relación como indicador de diagnóstico de nutrición del cultivo.

El INN e INS, calculados a partir de la concentración de Nt y St en planta y la materia seca producida hasta C1 pueden ser indicadores útiles para diagnosticar el estado nutricional del cultivo y tomar acciones para su corrección mediante el agregado de fertilizante al suelo (Lemaire *et al.*, 2008). El valor crítico para la producción de biomasa propuesto en base a los resultados de este trabajo es de 1,04 y 0,88 para INN e INS respectivamente.

Los niveles de suficiencia determinados para cada nutriente son útiles en diagnosticar el estado nutricional del

cultivo en ese momento, pero pueden diferir de los valores óptimos necesarios para lograr el máximo rendimiento de grano, los que se asocian a la capacidad de predicción de estos indicadores, (Figura 3 a y b).

El INN se relacionó lineal y positivamente con la producción de grano sólo para la condición *azufre limitante*. Para la condición *azufre suficiente* el INN también fue alto ($INN > 0,87$), lo que impidió explorar su relación con rendimiento y la interacción entre ambas condiciones de nutrición. Como lo discuten Reussi *et al.* (2012), la absorción de N y S están relacionadas y, en condiciones de consumo de lujo de Nt en C1, la cantidad de St absorbida se incrementa, mejorando el estado nutricional de la planta y el rendimiento final de grano. La cantidad media de St absorbida en la condición *azufre suficiente* fue de $17,5 \text{ kg ha}^{-1}$, con un mínimo de 6 kg ha^{-1} . En tanto, en *azufre limitante*, con una media de $5,6 \text{ kg ha}^{-1}$ de St absorbido, alcanzó $6,3$ y $7,3 \text{ kg ha}^{-1}$ para el mínimo y media respectivamente cuando el INN fue superior a 1,04 (valor crítico establecido para producción de biomasa en C1). Esto estaría indicando la necesidad de una cantidad mínima absorbida de St (superior a 6 kg ha^{-1}) para alcanzar el rango de rendimiento máximo. Por tanto, al considerar solamente la producción de grano, la nutrición azufrada en C1 estaría afectando la eficiencia de uso del Nt absorbido hasta C1, requiriéndose, para lograr los máximos rendimientos un INN superior al crítico establecido para biomasa en C1. Los resultados sugieren que, si el INS es mayor a 0,74 o la cantidad de S absorbida hasta C1 es mayor a 6 kg ha^{-1} , la situación debería ser considerada como *azufre no limitante*. Considerando estos dos valores críticos para S, el valor crítico de INN en C1 para rendimiento sería de 0,87 y el rendimiento relativo promedio de 93 %, lo cual deberá ser confirmado en estudios adicionales.

Si bien el aumento en la concentración de azufre en la planta aumentó la relación S:N, afectando positivamente el contenido de aceite en grano, resultados estos similares a los reportados por Brennan y Bolland (2008) y Malhi *et al.* (2007) y valor crítico coincidente al logrado por Hocking *et al.* (1996) para plantas con adecuado suministro de azufre, cuando se considera la producción de aceite ha^{-1} , el rendimiento de grano tuvo mayor impacto que la concentración de aceite. Por tanto, el manejo nutricional del cultivo necesario para obtener máximos rendimientos de grano fue también válido para alcanzar la máxima producción de aceite por unidad de superficie.

Agradecimientos

El proyecto fue financiado por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII)-Fondo María Viñas.

A quienes aportaron las chacras en las cuales se instalaron los experimentos: ADP, Unicampo Uruguay SRL y al Ing. Agr. Javier Moreira.

Al personal del campo experimental de la EEMAC que colaboró en el procesamiento de las muestras, en especial al técnico Darío Fross.

Bibliografía

- Andrade FH, Echeverría HE, González NS, Uhart SA.** 1996. Requerimientos de nitrógeno y fósforo de los cultivos de maíz, girasol y soja. Balcarce: EEA INTA Balcarce. 17p.
- Arce de Caram G, Angeloni P, Prause J, Angeloni M.** 2003. Utilidad de la Curva de dilución del Nitrógeno para determinar el estatus nitrogenado en distintos estadios fenológicos del Girasol, en Sáenz Peña, Provincia del Chaco [En línea]. Universidad Nacional del Nordeste. 3p. Consultado 5 marzo 2014. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2003/comunicaciones/05-Agrarias/A-008.pdf>
- Brennan RF, Bolland MD.** 2008. Significant nitrogen by sulfur interactions occurred for canola grain production and oil concentration in grain on sandy soils in the Mediterranean-type climate of southwestern. *Australian Journal of Plant Nutrition*, 31(7): 1174-1187.
- Brennan RF, Bolland MD.** 2006. Soil and tissue tests to predict the sulfur requirements of canola in south-western Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46(5): 1061-1068.
- Cate R, Nelson L.** 1971. A simple statistical procedure for partitioning soil test correlation data into two classes. *Soil Science Society of America Proceedings*, 35: 658 - 659.
- CETIOM.** Stades repères du colza. [En línea]. Consultado 28 agosto 2013. Disponible en: <http://www.cetiom.fr/colza/cultiver-du-colza/atouts-rendez-vous/stades-reperes/>.
- Colnenne C, Meynard J, Reau R, Justes E, Merrien A.** 1998. Determination of a critical nitrogen dilution curve for winter oilseed rape. *Annals of botany*, 81: 311 - 317.
- Dijkshoorn W, Van Wijk A.** 1967. The sulphur requirements of plants as evidenced by the sulphur-nitrogen ratio in the organic matter a review of published data. *Plant and Soil*, 26(1): 129 - 157.
- Dijkshoorn W, Lampe J, Van Burg P.** 1960. A method of diagnosing the sulphur nutrition status of herbage. *Plant and Soil*, 13(3): 227 - 241.
- Gastal F, Lemaire G.** 2002. N uptake and distribution in crops : an agronomical and ecophysiological perspective. *Journal of Experimental Botany*, 53(370): 789 - 799.
- Greenwood D.** 2001. Modeling N response of field vegetable crops grown under diverse conditions with N_{able} : A review. *Journal of Plant Nutrition*, 24(11): 1799 - 1815.
- Greenwood DJ, Lemaire G, Gosse G, Cruz P, Draycott A, Neeteson JJ.** 1990. Decline in percentage N of C3 and C4 crops with increasing plant mass. *Annals of Botany*, 66: 425 - 436.
- Hocking P, Randall P, Marco D, Bamforth I.** 1997. Assessment of the nitrogen status of field-grown canola (*Brassica napus*) by plant analysis. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 37(1): 83 - 92.
- Hocking P, Pinkerton A, Good A.** 1996. Recovery of field-grown canola from sulfur deficiency. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 36(1): 79 - 85.
- Höivna L, Richter R, Rašková J.** 2004. The correction of sulphur nutrition of winter rape (*Brassica napus* L.). *Rocellny Oleiste*, 25: 137 - 143.
- Justes E, Mary B, Meynard J, Machet J, Thelier-huches L.** 1994. Determination of a critical Nitrogen Dilution Curve for Winter wheat crops. *Annals of botany*, 74: 397 - 407.
- Lemaire G, Meynard J.** 1997. Use of the Nitrogen Nutrition Index for analysis of agronomical data. En: Lemaire G. [Ed]. Diagnosis of the nitrogen status in crops. Heidelberg : Springer-Verlag. pp. 45 - 55.
- Lemaire G, Jeuffroy M, Gastal F.** 2008. Diagnosis tool for plant and crop N status in vegetative stage. Theory and practices for crop N management. *European Journal of Agronomy*, 28(4): 614 - 624.
- Lemaire G, Gastal F, Plenet D.** 1997. Dynamics of N uptake and N distribution in plant canopies. Use of crop N status index in crop modelling. En: Lemaire G, Burns IG. [Eds.] Diagnostic procedures for crop N management: 22-23 novembre 1995: Poitiers, Francia. Paris : INRA. pp. 15 - 29.
- Malagoli P, Laine P, Rossato L, Ourry A.** 2005. Dynamics of nitrogen uptake and mobilization in field-grown winter oilseed rape (*Brassica napus*) from stem extension to harvest. *Annals of botany*, 95: 853- 861.
- Malhi S, Gan Y, Raney J.** 2007. Yield, seed quality, and sulfur uptake of brassica oilseed crops in response to sulfur fertilization. *Agronomy Journal*, 99: 570 - 577.
- Merrien A.** 1992. Physiologie du Tournesol. Paris: *Les Points Techniques Du CETIOM*, 65p.
- Orlovius K, Kirkby EA.** 2003. Oilseed rape: Fertilizing for high yield and quality. Basel: IPI. 130p. (IPI Bulletin ; 16).
- Ozer H.** 2003. Sowing date and nitrogen rate effects on growth, yield and yield components of two summer rapeseed cultivars. *European Journal of Agronomy*, 19(3): 453 - 463.
- Pinkerton A.** 1998. Critical sulfur concentrations in oilseed rape (*Brassica napus*) in relation to nitrogen supply and to plant age. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 38: 511 - 522.
- Plank C, Tucker M.** 2000. Field Crops, Canola. En: Campbell CR. [Ed.]. Reference sufficiency ranges for plant analysis in the southern region of the united states. North Carolina: North Carolina Department of Agriculture. (Southern Cooperative Series Bulletin; 394). pp. 9 - 10.
- Plenet D, Lemaire G.** 2000. Relationships between dynamics of nitrogen uptake and dry matter accumulation in maize crops. Determination of critical N concentration. *Plant and Soil*, 216: 65 - 82.
- Rathke G, Schuster C.** 2001. Yield and quality of winter oilseed rape related to nitrogen supply. En: Horst W, Schenk M, Bürkert A, Claassen N, Flessa H, Frommer W, Goldbach H, Olf H, Römheld V, Sattelmacher B, Schmidhalter U, Schubert S, Von Witrén N, Wittenmayer L. [Eds.]. Plant Nutrition : Food security and sustainability of agro-ecosystems through basic and applied research. New York: Springer Netherlands. (Developments in *Plant and Soil Sciences* ; 92). pp. 798 - 799.
- Reussi N, Echeverría H, Rozas H.** 2012. Stability of foliar nitrogen: sulfur ratio in spring red wheat and sulfur dilution curve. *Journal of Plant Nutrition*, 35(7): 990 -1003.
- Zamora M, Massigoge J.** 2008. Fertilización de colza: respuesta a la aplicación de N y S en el centro-sur bonaerense [Cd-Rom]. En: Actas XXI Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo: 13 al 16 mayo: Potrero de los Funes, San Luis. Buenos Aires: Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo.