

## Efecto de los biofertilizantes sobre la asimilación de nitrógeno por el cultivo de trigo

Oscar Arath Grageda-Cabrera<sup>1§</sup>  
Sarahyt Santamaría González-Figueroa<sup>1</sup>  
José Antonio Vera-Nuñez<sup>2</sup>  
Juan Francisco Aguirre-Medina<sup>1</sup>  
Juan José Peña-Cabriales<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Campo Experimental Bajío-INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel de Allende km 6.5. Celaya, Guanajuato, México. CP. 38110. Tel. 01(461) 6115323, ext. 233. (sarahytgonzalez@hotmail.com). <sup>2</sup>Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional-Unidad Irapuato. Irapuato, Guanajuato, México. (jpena@ira.cinvestav.mx; jvera@ira.cinvestav.mx).

§Autor para correspondencia: grageda.oscar@inifap.gob.mx.

### Resumen

Los cultivos absorben en promedio de 20 a 40% del fertilizante aplicado, el porcentaje restante se pierde del sistema agrícola por diversos mecanismos, ocasionando cuantiosas pérdidas económicas y contaminación ambiental. Entre los beneficios del uso de microorganismos en la agricultura está su capacidad para mejorar la asimilación de nutrimentos. Se realizó un experimento en campo cuyo objetivo fue evaluar el efecto de la inoculación de biofertilizantes bacterianos y fúngicos sobre la eficiencia de asimilación del fertilizante nitrogenado en el cultivo de trigo. El diseño experimental fue de bloques completos al azar con cuatro repeticiones y nueve tratamientos de biofertilización empleando la técnica de dilución isotópica de <sup>15</sup>N para determinar el N en la planta derivado del fertilizante y el porcentaje de utilización del fertilizante N. La fertilización química produjo los mayores rendimientos de grano y asegura su calidad. La inoculación del trigo con HVA incrementó significativamente el rendimiento de grano hasta en 1 291 kg ha<sup>-1</sup>, la cantidad de N en la planta proveniente del fertilizante hasta en 15 kg y la eficiencia de utilización del fertilizante nitrogenado hasta en 11% en comparación con el testigo sin inocular. Hubo diferencias significativas en la interacción planta-microorganismo en la producción de biomasa y asimilación de N.

**Palabras clave:** *Triticum aestivum*, dilución isotópica <sup>15</sup>N, fertilizantes, inoculantes.

Recibido: enero de 2018

Aceptado: marzo de 2018

## Introducción

En la región central de México conocida como “El Bajío” (*ca.*  $1.1 \times 10^6$  ha) hace 40 años se aplicaban al cultivo de trigo  $150 \text{ kg N ha}^{-1}$  como fertilizante sintético y se obtenían rendimientos de  $5 \text{ Mg ha}^{-1}$ , en la actualidad se aplican hasta  $350 \text{ kg N ha}^{-1}$  y los rendimientos no han incrementado significativamente. Estudios realizados en la región muestran que el cultivo de trigo absorbe en promedio de 20 a 35% del N aplicado como fertilizante (Grageda *et al.*, 2011), el porcentaje restante se pierde del sistema agrícola por diversos mecanismos, ocasionando pérdidas económicas y contaminación ambiental, como la eutroficación, lluvia ácida, destrucción de la capa de ozono estratosférica e incremento del efecto de invernadero (Duxbury, 1994; Grageda-Cabrera *et al.*, 2004; Franzluebbers, 2005).

El incremento en el precio de los fertilizantes nitrogenados de \$ 2 049 en el año 2000 a \$6 800 en 2015 (t de urea) encarece la producción de trigo y reduce la rentabilidad. Ante este problema es necesario el desarrollo de tecnologías que reduzcan el uso de los fertilizantes sintéticos, lo cual se puede lograr mediante la aplicación de microorganismos benéficos. El desarrollo y uso de biofertilizantes se contempla como una importante alternativa para la sustitución parcial o total de los fertilizantes sintéticos (Caballero *et al.*, 1992; Aghilia *et al.*, 2014). Actualmente existe una amplia variedad de biofertilizantes elaborados con microorganismos como bacterias y hongos, con diversas funciones y de acuerdo con el tipo de cultivo (Pooja *et al.*, 2007; All-Taweil *et al.*, 2009).

Por otro lado, la estimación de la asimilación por las plantas de nutrientes del suelo y fertilizantes es necesaria para conocer los efectos de las interacciones específicas entre genotipo-microorganismo-ambiente. Sin embargo, la estimación es difícil ya que una vez que el nutriente forma parte de la planta por lo general es imposible determinar su origen. Existen diversos métodos para cuantificar la asimilación de N y todos tienen sus ventajas y desventajas. Sin embargo, las técnicas isotópicas de  $^{15}\text{N}$  se consideran como las más confiables para aportar valores cuantitativos e integrados del N asimilado por la planta. Por lo antes mencionado, el objetivo del presente estudio fue cuantificar el efecto de la inoculación de biofertilizantes bacterianos y fúngicos sobre la asimilación del fertilizante nitrogenado por el cultivo de trigo.

## Materiales y métodos

Se estableció un experimento en condiciones de campo en el Campo Experimental Bajío (CEBAJ) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Celaya, Guanajuato, México, localizado a  $20^{\circ} 35' 06.59''$  latitud norte,  $100^{\circ} 49' 46.84''$  longitud oeste y altitud de 1 769 m. En la región se registra una precipitación pluvial promedio anual de 650 mm entre junio y agosto y una temperatura media anual de  $18^{\circ}\text{C}$  (máxima  $28^{\circ}\text{C}$  y mínima  $10^{\circ}\text{C}$ ). El análisis físico y químico del suelo mostró que se trata de un Vertisol pélico con pH (1:2 agua) de 7.9, contenido de materia orgánica de 1.85% y textura franco arcillosa (FAO, 1994).

Se utilizó la variedad de trigo Nana y se evaluaron nueve tratamientos, los cuales se describen en el Cuadro 1. El diseño experimental fue de bloques completos al azar con cuatro repeticiones por tratamiento; a cada unidad experimental se le asignaron cinco surcos a doble hilera de 0.76 m de ancho y 3 m de largo. Las prácticas agronómicas se realizaron según las recomendaciones propuestas por el INIFAP para la siembra de trigo en surcos.

**Cuadro 1. Tratamientos para evaluar el efecto de los biofertilizantes sobre la asimilación de N derivado del fertilizante (N ddf) por el cultivo de trigo.**

Inoculante	Fertilización N-P-K (240-60-00) (%)
T1. Sin biofertilizante	100
T2. Sin biofertilizante	50
T3. Bacteria 2709; especie: <i>Pseudomonas</i> sp.; origen: estado de Guanajuato; concentración: $10^{11}$ UFC $g^{-1}$ de producto.	50
T4. Bacteria T4; especie: <i>Bacillus</i> sp.; origen: estado de Guanajuato; concentración: $10^{11}$ UFC $g^{-1}$ de producto.	50
T5. Micorriza INIFAP <sup>MR</sup> ; especie: <i>Rhizophagus intraradices</i> ; origen: estado de Nuevo León; concentración: 75-80 esporas $g^{-1}$ de producto.	50
T6. Micorriza CH1; especie: consorcio <i>Gigaspora</i> sp. y <i>Glomus</i> sp.; origen: estado de Chiapas; concentración: 75-80 esporas $g^{-1}$ de producto.	50
T7. Micorriza DA18; especie: <i>Scutellospora calospora</i> ; origen: estado de Guanajuato; concentración: 75-80 esporas $g^{-1}$ de producto.	50
T8. Micorriza PI63; especie: <i>Acaulospora scrobiculata</i> ; origen: estado de Guanajuato; concentración: 75-80 esporas $g^{-1}$ de producto.	50
T9. Micorriza PR82; especie: consorcio <i>Gigaspora albida</i> y <i>Rhizophagus sinuosum</i> ; origen: estado de Hidalgo; concentración: 75-80 esporas $g^{-1}$ de producto.	50

Los biofertilizantes evaluados fueron seleccionados por estudios previos de efectividad biológica en condiciones de invernadero y se encuentran resguardados en el Cepario Microbiano del CEBAJ-INIFAP. Los tratamientos con biofertilizantes se inocularon 2 h antes de la siembra. En el caso de los inoculantes bacterianos la semilla se trató con el biofertilizante que contenía  $10^{11}$  UFC  $g^{-1}$  de producto a una dosis de 1.5 kg de inoculante por cada 50 kg de semilla. En el caso de las micorrizas, la semilla se trató con el biofertilizante que contenía 75-80 esporas  $g^{-1}$  producto a una dosis de 1 kg de inoculante por cada 50 kg de semilla.

La fertilización al 100% fue de 240-60-00. La fuente de fertilizante N fue sulfato de amonio y se fraccionó en dos aplicaciones, 50% a la siembra y 50% a los 40 días después de la siembra (dds), todo el P se aplicó al momento de la siembra como superfosfato triple. Se instaló una parcela isotópica de 1 m lineal en cada surco en cada tratamiento y se aplicó sulfato de amonio enriquecido con 3% de átomos en exceso de  $^{15}N$ .

Se evaluaron las variables floración, madurez fisiológica, peso seco de grano, paja y total, índice de cosecha, N en grano, paja y total, N derivado del fertilizante (N ddf), índice de cosecha del N ddf, y eficiencia en la utilización del N ddf (UN ddf).

La determinación de N total se realizó por el método de Kjeldahl (Bremner y Mulvaney, 1982). En las muestras que contenían  $^{15}N$ , el enriquecimiento se determinó por espectrometría de emisión óptica (espectrómetro NOI-6e), de acuerdo al procedimiento descrito por Faust *et al.* (1987). Los cálculos isotópicos de  $^{15}N$  se determinaron por el método de dilución isotópica (Zapata, 1990).

Los datos se analizaron estadísticamente siguiendo el procedimiento estándar de análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey (SAS Institute, 2014).

## Resultados y discusión

### Rendimiento

Los datos de rendimiento de materia seca de grano, paja, total e índice de cosecha se presentan en el Cuadro 2. Existieron diferencias estadísticas ( $p \leq 0.05$ ) en la mayoría de los tratamientos evaluados, varios estudios en trigo han mostrado diferencias debido a la interacción planta-microorganismo-ambiente (Khalid *et al.*, 2004; Ferraris y Couretot, 2006; Arias, 2007). Respecto a la producción de grano, el mayor rendimiento se obtuvo en el tratamiento T1 (testigo regional sin biofertilizante y con 100% de fertilización) y el menor en el tratamiento T2 (testigo sin biofertilizante y con 50% de fertilización), en el cultivo de trigo reducir la fertilización provoca una reducción en el rendimiento de 1 475 kg ha<sup>-1</sup> por lo que no es recomendable esta práctica. La aplicación de bacterias en el rendimiento de trigo tuvo un pequeño efecto si se compara el T3 vs T2 y negativo si se compara el T4 vs T2, los bajos rendimientos en T4 se puede deber al efecto negativo de ciertas relaciones planta-microorganismo en inhibir el desarrollo radical y reducir la eficiencia en la toma de nutrimentos como N y P, sobre todo en suelos alcalinos P (Afzal *et al.*, 2005; Barea *et al.*, 2005; El-Sirafy *et al.*, 2006).

**Cuadro 2. Efecto de la aplicación de biofertilizantes sobre la acumulación de biomasa en trigo.**

Tratamiento	Peso seco (kg ha <sup>-1</sup> )			Índice de cosecha
	Grano	Paja	Total	
T1. Sin biofertilizante (F 100%)	6790 a	9772 bc	16563 a	0.41 ab
T2. Sin biofertilizante (F 50%)	5315 e	6497 g	11812 e	0.45 a
T3. Bacteria 2709 (F 50%)	5545 d	10298 a	15843 b	0.35 c
T4. Bacteria T4 (F 50%)	5166 e	8429 e	13595 d	0.38 bc
T5. Micorriza INIFAP <sup>MR</sup> (F 50%)	6368 b	8794 d	15162 c	0.42 ab
T6. Micorriza CH1 (F 50%)	6606 a	9506 c	16112 ab	0.41 a
T7. Micorriza DA18 (F 50%)	5795 c	8002 f	13797 d	0.42 ab
T8. Micorriza PI63 (F 50%)	5336 e	9910 b	15247 c	0.35 c
T9. Micorriza PR82 (F 50%)	5335 e	8705 de	14040 d	0.38 bc
CV (%)	6.48	11.55	8.52	8
DSH	207.9	331.82	539.26	0.04

Medias con diferente letra en la misma columna son estadísticamente diferentes Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Un mayor efecto en el rendimiento del trigo se observó con las micorrizas aplicadas en los tratamientos T6 y T5, lo cual coincide con lo reportado por Kumar *et al.* (2011), en pruebas de campo con dos genotipos de trigo tuvieron incrementos hasta de 25.8% cuando las semillas se inocularon con micorrizas. En este caso el T6 pudiera resultar una opción para disminuir el riesgo de contaminación ambiental al aplicar únicamente 120 kg ha<sup>-1</sup> de N. En este caso, los HMA tuvieron un mayor efecto en el rendimiento de trigo que las bacterias, al respecto Peltzer *et al.* (2003), observaron un efecto nulo de la inoculación en el rendimiento y peso de grano de trigo con *Pseudomonas fluorescens*. Además, otra causa puede ser la inmovilización de los nutrimentos cuando los microorganismos descomponen los residuos orgánicos (Grageda-Cabrera *et al.*, 2003).

Bolletta *et al.* (2002), en parcelas de trigo inoculadas con micorrizas obtuvieron entre 15 a 18% más rendimiento que los testigos sin fertilizar, en dicho ensayo las diferencias desaparecieron cuando se compararon con los tratamientos fertilizados al 100%.

Respecto a la producción de materia seca total, todos los tratamientos superaron a T2, lo que se relacionó con mayor producción de paja. La mayor producción se obtuvo en los tratamientos T1 y T6. La reducción de la fertilización provocó una reducción en la biomasa total de 4 751 kg ha<sup>-1</sup>. Esto se confirma con el índice de cosecha (IC), el cual es un indicador que brinda información sobre la producción de grano en comparación con toda la biomasa producida. Los datos muestran que la inoculación de biofertilizantes afectó el índice de cosecha, los tratamientos T3 (bacteria 2709) y T8 (micorriza PI63) afectaron negativamente este parámetro, el cultivo produjo más paja que grano en comparación con los otros tratamientos, lo cual conduce a un uso eficiente de los nutrimentos.

### Nitrógeno total

En el Cuadro 3 se muestra la asimilación de N total. El análisis estadístico nos indica que hay diferencias significativas similares a las observadas en el peso seco total (Cuadro 2). La absorción de N está directamente relacionada con el rendimiento (Spren, 1987).

**Cuadro 3. Efecto de la aplicación de diversos biofertilizantes sobre la acumulación de N en trigo.**

Tratamiento	N (kg ha <sup>-1</sup> )			Índice de cosecha de N
	Grano	Paja	Total	
T1. Sin biofertilizante (F 100%)	159 a	61 b	219 a	0.72 bc
T2. Sin biofertilizante (F 50%)	123 e	40 f	163 g	0.75 a
T3. Bacteria 2709 (F 50%)	129 d	70 a	198 c	0.65 e
T4. Bacteria T4 (F 50%)	119 e	55 d	174 f	0.69 d
T5. Micorriza INIFAP <sup>MR</sup> (F 50%)	150 b	56 cd	205 bc	0.72 bc
T6. Micorriza CH1 (F 50%)	153 b	59 bc	212 ab	0.72bc
T7. Micorriza DA18 (F 50%)	137 c	50 e	186 d	0.73 ab
T8. Micorriza PI63 (F 50%)	124 de	61 b	185 de	0.67 de
T9. Micorriza PR82 (F 50%)	124 de	54 d	178 ef	0.7 cd
CV (%)	4.57	6.43	5.65	2.01
DSH	5.11	3.28	7.59	0.02

Medias con diferente letra en la misma columna son estadísticamente diferentes Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

En cuanto al contenido de N en grano, los tratamientos T5 y T6 fueron iguales estadísticamente y superados sólo por el tratamiento fertilizado al 100% de la dosis, por lo que estos biofertilizantes contribuyeron a la acumulación de N (proteína) en el grano. Este mismo efecto se observó para N total en la planta, con valores entre 205 a 212 kg N ha<sup>-1</sup>. Los tratamientos que acumularon menor cantidad de N en grano fueron T4, T8 y T9, lo cual corrobora que los biofertilizantes no funcionan de forma genérica, estos deben generarse para regiones específicas de producción.

Respecto al índice de cosecha de N (ICN), éste fue afectado significativamente por los tratamientos de biofertilizantes. La prueba de Tukey establece cinco grupos de tratamientos con respuesta significativa al ICN, el mayor se asocia a  $ICN > 0.73$  y el menor  $ICN < 0.67$ . El mayor ICN fue de 0.75, que indica que la planta usó 75% de su nitrógeno total para grano. Pero no se asocia con los mayores rendimientos de grano como se observa en el tratamiento fertilizado con un ICN de 0.72. La aplicación de biofertilizantes influyó en la asimilación de N y en el contenido de N en grano; éstas características se relacionan con la cantidad de proteína, contenido de caroteno y la calidad (Degidio *et al.*, 1993). Por lo contrario, la dilución del contenido de N en grano propicia un aumento en el porcentaje de panza blanca y reduce la calidad (Mahdi *et al.*, 1996).

### Nitrógeno derivado del fertilizante (N ddf) y porcentaje de utilización del fertilizante nitrogenado (% UFN)

Los resultados de la cantidad de N en la planta derivado del fertilizante se presentan en el Cuadro 4. El tratamiento que acumuló mayor cantidad de N del fertilizante fue el T1 con un total de 83 kg N ddf ha<sup>-1</sup>, lo que indica que el trigo tomó del suelo 136 kg ha<sup>-1</sup> de N. Este tratamiento recibió el doble de fertilizante nitrogenado que los demás tratamientos, lo que se reflejó en una mayor asimilación del N ddf. Le siguieron los tratamientos T5 y T6 con 48 y 53 kg N ddf ha<sup>-1</sup> cada uno, estos tratamientos aprovechan mayor cantidad de N del suelo con 157 y 159 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. El grano presentó mayor N ddf que la paja.

**Cuadro 4. Efecto de la aplicación de biofertilizantes sobre la acumulación de nitrógeno derivado del fertilizante (N ddf) en trigo.**

Tratamiento	Nitrógeno derivado del fertilizante (N ddf) (kg N ddf ha <sup>-1</sup> )		
	Grano	Paja	Total
T1. Sin biofertilizante (F 100%)	60 a	23 a	83 a
T2. Sin biofertilizante (F 50%)	29 d	9 f	38 g
T3. Bacteria 2709 (F 50%)	26 f	14 c	41 e
T4. Bacteria T4 (F 50%)	28 e	13 d	41 e
T5. Micorriza INIFAP <sup>MR</sup> (F 50%)	35 c	13.5 cd	48 c
T6. Micorriza CH1 (F 50%)	38 b	15 b	53 b
T7. Micorriza DA18 (F 50%)	35 c	13 d	48 c
T8. Micorriza PI63 (F 50%)	28 e	14 c	42 d
T9. Micorriza PR82 (F 50%)	28 e	12 e	40 f
CV (%)	3.7	2.46	0.75
DSH	0.57	6.83	3.87

Medias con diferente letra en la misma columna son estadísticamente diferentes Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Los resultados del porcentaje de N ddf y UFN se presentan en el Cuadro 5. Del total del N asimilado por el cultivo, menos de 40% provenía del fertilizante nitrogenado y el resto del suelo. Existió diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en los valores del porcentaje de N ddf en el cultivo entre los tratamientos de biofertilización. Los valores más altos se obtuvieron en T1, con 38% N ddf, lo que plantea la necesidad de revisar la actual forma de aplicación del fertilizante para mejorar su aprovechamiento. Respecto al efecto de los biofertilizantes, los que contribuyeron a que la planta asimilara mayor cantidad de Nddf fueron los tratamientos con micorrizas T5 y T6, con 23 y 25% N ddf.

**Cuadro 5. Efecto de la aplicación de biofertilizantes sobre la acumulación de nitrógeno derivado del fertilizante (N ddf) y el porcentaje de utilización del fertilizante nitrogenado (% UFN) en trigo.**

Tratamiento	N ddf (%)	UFN (%)
T1. Sin biofertilizante (F 100%)	37.75 a	32 c
T2. Sin biofertilizante (F 50%)	23.75 cd	29.75 e
T3. Bacteria 2709 (F 50%)	20.75 f	31.25 cd
T4. Bacteria T4 (F 50%)	23.5 de	31 ced
T5. Micorriza INIFAP <sup>MR</sup> (F 50%)	23.25 de	37.25 b
T6. Micorriza CH1 (F 50%)	25 bc	41 a
T7. Micorriza DA18 (F 50%)	26 b	37 b
T8. Micorriza PI63 (F 50%)	22.75 de	32 c
T9. Micorriza PR82 (F 50%)	22.25 e	30.25 ed
CV (%)	5.09	6.81
DSH	1.26	1.46

Medias con diferente letra en la misma columna son estadísticamente diferentes Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

El porcentaje de UFN indica la cantidad de N que asimiló el cultivo del total del N aplicado como fertilizante. Se observó que la inoculación con micorrizas T5 y T6 contribuyó a que la planta asimilara una mayor cantidad de N del aplicado como fertilizante, mejorando con esto el porcentaje de UFN en comparación con T1, que tuvo mayor disponibilidad de N.

Los mejores tratamientos en cuanto a porcentaje de UFN fueron T6 (Micorriza CH1), T5 (Micorriza INIFAP<sup>MR</sup>) y T7 (Micorriza DA18), en estos casos la planta asimiló 41, 37 y 37% del total del fertilizante aplicado, que representan 52.8, 48.2 y 48 kg N ha<sup>-1</sup>, respectivamente.

Aún cuando la inoculación con biofertilizantes mejoró el porcentaje de UFN, éste fue bajo (menor de 45%). Más 55% del N aplicado como fertilizante no se pudo contabilizar, seguramente una alta proporción se perdió como nitratos por lixiviación o en forma gaseosa por desnitrificación, nitrificación y volatilización por ser un suelo ligeramente alcalino y retener la humedad (Vermoesen *et al.*, 1993; Grageda-Cabrera *et al.*, 2011; Wanga *et al.*, 2015).

## Conclusiones

La fertilización química produjo los mayores rendimientos de grano y asegura la calidad del mijo. La inoculación con HVA incrementó el rendimiento de grano del cultivo de trigo hasta 20% en comparación con el testigo sin biofertilizante con la misma dosis de fertilización. La inoculación con HVA influyó en el índice de cosecha del cultivo tanto de materia seca como de N. Los biofertilizantes con HVA incrementaron la absorción del fertilizante nitrogenado en un intervalo de 2 a 15 kg N ha<sup>-1</sup> más que el testigo sin inoculación. La eficiencia en la utilización del fertilizante nitrogenado (% UFN) se incrementó con la inoculación de HVA.

## Agradecimientos

A la Dirección de Bioeconomía de SAGARPA por el apoyo otorgado para la realización de este trabajo a través del convenio Núm. S2341HA4310111.

## Literatura citada

- Afzal, A.; Ashraf, M.; Saeed, A.; Asad, A. and Farooq, M. 2005. Effect of phosphate solubilizing microorganisms on phosphorus uptake, yield and yield traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) in rainfed area. *Int. J. Agri. Biol.* 7(2):206-209.
- Aghili, F.; Jansab, J.; Khoshgoftarmanesh, A. H.; Afyunic, M.; Schulind, R.; Frossarda, E. and Gampera, H. A. 2014. Wheat plants invest more in mycorrhizae and receive more benefits from them under adverse than favorable soil conditions. *Appl. Soil Ecology.* 84(1):93-111.
- All, T. H. I.; Osman, M. B.; Hamid, A. A. and Yusoff, W. M. W. 2009. Development of microbial inoculants and the impact of soil application on rice seedlings growth. *Am. J. Agric. And Biol Sc.* 4(1):79-82.
- Arias, N. 2007. Ensayo de evaluación de inoculantes biológicos en el cultivo de trigo. <http://www.crinigan.com/trigo.htm>.
- Barea, J. M.; Pozo, M. J.; Azcón, R. and Azcón, A. C. 2005. Microbial cooperation in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 56(417):1761-1778.
- Bolletta, A.; Venanzi, S. y Krüger, H. 2002. Respuestas del cultivo de trigo a la inoculación con biofertilizantes en el sur de la Provincia de Buenos Aires. <http://www.crinigan.com/trigo.htm>.
- Bremner, J. M. and Mulvaney, C. S. 1982. Nitrogen-total. *In: Page, A. L.; Miller, R. H.; Keeney, D. R. (Eds.). Methods of soil analysis. Part 2, 2<sup>nd</sup>. (Ed.). Agronomy Monograph number 9. American Society of Agronomy. Madison. 295-324 pp.*
- Caballero, M. J.; Carcaño, M. M. G. and Mascarúa, E. M. A. 1992. Field Inoculation of Wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum brasilense* under temperate climate. *Symbiosis* 13(3):243-253.
- Degidio, M. G.; Nardi, S. and Vallega, V. 1993. Grain, flour, and dough characteristics of selected strains of diploid wheat, *Triticum monococcum* L. *Cereal Chem.* 70(3):298-303.
- Duxbury, J. M. 1994. The significance of agricultural sources of greenhouse gases. *Fert. Res.* 38(2):151-163.
- El-Sirafy, Z. M.; Woodard, H. J. and El-Norjar, E. M. 2006. Contribution of biofertilizers and fertilizer nitrogen to nutrient uptake and yield of Egyptian winter wheat. *J. Plant Nutr.* 29(4):587-599.
- FAO. 1994. World reference base for soil resources. Wageningen. Rome. 161 p.
- Faust, H.; Sebastianelli, A. y Axmann, H. 1987. Manual de laboratorio, métodos para el análisis de <sup>15</sup>N. FAO-IAEA. Vienna. 122 p.
- Ferraris, G. y Couretot, L. 2006. Respuesta a la inoculación con micorrizas en trigo bajo dos niveles de nutrición fosforada. <http://www.crinigan.com/trigo.htm>.
- Franzluebbers, A. J. 2005. Soil organic carbon sequestration and agricultural greenhouse gas emissions in the southeastern USA. *Soil and Tillage research.* 83(1):120-147.
- Grageda, C. O. A.; Medina, C. T.; Aguilar, A. J. L.; Hernández, M. M.; Solís, M. E.; Aguado, S. A. y Peña, C. J. J. 2004. Pérdidas de nitrógeno por emisión de N<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O en diferentes sistemas de labranza. *Agrociencia.* 38(6):625-633.



- Grageda-Cabrera, O. A.; Mora, M.; Castellanos, R. J. Z.; Follet, R. F. and Peña-Cabriales, J. J. 2003. Fertilizer nitrogen recovery under different tillage treatments and cropping sequences in a vertisol in central México. IAEA-TECDOC. Viena. 1354(1):39-55.
- Grageda, C. O. A.; Vera, N. J. A.; Aguilar, A. J. L.; Macías, R. L.; Aguado, S. G. A. and Peña, C. J. J. 2011. N-fertilizer dynamics in different tillage and crop rotation systems in a vertisol in Central Mexico. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 89(1):125-134.
- Khalid, A.; Arshad, M. and Zahir, Z. A. 2004. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J. Appl. Mic.* 96(3):473-480.
- Kumar, A.; Sharma, K. D. and Gera, R. 2011. Arbuscular mycorrhizae (*Glomus mosseae*) symbiosis for increasing the yield and quality of wheat (*Triticum aestivum*). *Ind. J. Agric. Sci.* 81(5):478-480.
- Mahdi, L.; Bell, C. J. and Ryan, J. 1996. Non-vitreousness or “Yellow berry” in durum wheat as affected by both depth and date of planting. *Cereal Res. Comm.* 24(3):347-352.
- Peltzer, H.; Santos, D. y Firpo, R. 2003. Trigo en siembra directa sobre vertisoles: efecto de la inoculación de semilla con sobre la biomasa radical, aérea, y la producción de granos. Actualización técnica trigo. INTA EEA Paraná. Serie Extensión. 24(1):20-25.
- Pooja, S.; Dudeja, S. and Neeru, N. 2007. Development of multiple co-inoculants of different biofertilizers and their interaction with plants. *Arch. Agron. Soil Sci.* 53(2):221-230.
- SAS. 2014. Institute, Inc. SAS/STAT. Versión 9.3, Fourth edition. Cary, NC: SAS Institute.
- Sprent, J. I. 1987. The ecology of the nitrogen cycle. (Ed.). Cambridge University Press. Cambridge, UK. 148 p.
- Vermoesen, A.; Van Cleemput, O. and Hofman, G. 1993. Nitrogen loss processes: mechanisms and importance. *Pedologie.* 43(3):417-433.
- Wang, H.; Guo, Z.; Shi, Y.; Zhang, Y. and Yu, Z. 2015. Impact of tillage practices on nitrogen accumulation and translocation in wheat and soil nitrate-nitrogen leaching in drylands. *Soil Tillage Res.* 153(1):20-27.
- Zapata, F. 1990. Técnicas isotópicas en estudios sobre la fertilidad del suelo y la nutrición de plantas. *In: Hardarson, G. (Ed.). Empleo de técnicas nucleares en los estudios de la relación suelo-planta.* FAO-OIEA. Viena. 79-171 p.