

Eficiencia de la zeolita como aditivo de la urea e inoculación micorrizica en el cultivo de trigo*

Efficiency of zeolite as urea additive and mycorrhizal inoculation on wheat crop

Esteban Salvador Osuna-Ceja^{1§}, Andrés María-Ramírez², Roberto Paredes-Melesio³, José Saúl Padilla Ramírez¹ y Alma Delia Báez-González¹

¹Campo Experimental Pabellón, Aguascalientes, INIFAP. Carretera Aguascalientes-Zacatecas, km 32.5. A. P. 20. Pabellón de Arteaga, Aguascalientes, México. Tel. 01 465 958 01 86. Ext. 118. Fax. 01 465 9580167. (baez.alma@inifap.gob.mx). ²Investigador hasta 2011. Sitio Experimental Tlaxcala. Tel. 01 247 47 50 594 ó 01 2474722083. (anmara1954@gmail.com). ³Campo Experimental Bajío, Celaya, Guanajuato, km 6.5. C. P. 38110. A. P. 112 Tel. 01 461 6115323. Ext. 149. Fax 01 461 6115431. (paredes.roberto@inifap.gob.mx). [§]Autor para correspondencia: osuna.salvador@inifap.gob.mx.

Resumen

La zeolita y la micorriza son productos naturales que se distinguen por su utilidad en la agricultura, debido a que el primero al entrar en contacto con el amonio lo retienen en su estructura interna y externa, funcionando entonces como un fertilizante nitrogenado de lenta liberación y, el segundo su simbiosis mutualista entre hongos endófitos y las raíces de las plantas cultivadas beneficia la absorción del fósforo a la planta. El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar la eficiencia de utilización de la urea combinada con zeolita y asociada con micorriza, en el cultivo de trigo bajo riego. El estudio se realizó en Pabellón, Aguascalientes, durante el ciclo otoño-invierno. Se evaluaron seis tratamientos: dos concentraciones de zeolita (0 y 25%), tres dosis de urea (0, 75 y 100%) y un tratamiento adicional preparado sólo con micorriza. Todos ellos conformaron un arreglo factorial. La distribución de tratamientos fue en franjas sin repeticiones, en una superficie de una hectárea. El tamaño de las franjas (16.67 m de ancho x 100 m de largo) fue de 1 667 m² por tratamiento. Las variables evaluadas fueron rendimiento de grano, contenido de nitrógeno en la hoja bandera en la etapa de grano lechoso y algunas variables de suelo. Los resultados obtenidos demostraron

Abstract

Zeolite and mycorrhizae are natural products that are useful in agriculture. The former retains ammonium in both its internal and external structure, acting as a reservoir of slowly released nitrogen fertilizer, while the latter is a complex of soil fungi that form mutualistic symbiosis with the roots of plants and increase the absorption of phosphorus to the plant. This study aims to evaluate the efficiency of the use of urea combined with zeolite and mycorrhizae on wheat crop under irrigation. The study was conducted in Pabellón, Aguascalientes, Mexico, from December 2009 to May 2010. The following combinations of zeolite and urea were evaluated: 25% zeolite-75% urea, 0% zeolite-100% urea and 0% zeolite-0% urea with and without mycorrhizae, for a total of six treatments. The treatments were established on strips (16.67m x 100m) of 1 667m² each. Seed yield, flag leaf (HB) N concentration at grain filling stage and some soil properties were evaluated. The results show that urea combined with 25% zeolite enabled the substitution of 25% of the nitrogen fertilization for the crop with or without mycorrhizae and significantly increased wheat yield.

* Recibido: diciembre de 2011
Aceptado: julio de 2012

que la urea mezclada con zeolita al 25% permitió sustituir 25% de la fertilización nitrogenada para el cultivo con y sin micorriza, incrementando significativamente el rendimiento del mismo.

Palabras clave: amonio, micorriza, sustentable, zeolita.

Introducción

La urea es la fuente de fertilizante nitrogenado más utilizado en el sector agrícola del país. Dentro de las razones que explica la generalización de su utilización, se destaca su disponibilidad comercial, su elevada concentración de nitrógeno (N) por unidad de producto (46% de N) y la gran solubilidad en la solución del suelo. Sin embargo, muchas veces se reduce la eficiencia de su utilización debido a la ocurrencia de pérdidas de N por volatilización de amoníaco (NH_3) en suelos bajo sistemas de producción agrícola (Watson, 2000; Bolado *et al.*, 2003; Chevallier y Toribio, 2006).

Se ha reportado un incremento en la volatilización del amoníaco en los suelos agrícolas, principalmente en aquellos donde se manejan residuos en la superficie. Este incremento se debe a una mayor actividad del enzima ureasa, la cual se concentra en la superficie del suelo en todos los sistemas agrícolas, incrementando las tasas de hidrólisis de la urea debido a que el residuo, por tener baja capacidad de retención de cationes y baja capacidad amortiguadora del pH permite un aumento del pH durante la hidrólisis, y por consecuencia una mayor cantidad de amoníaco en la solución (Verchot *et al.*, 2000). Otra causa del incremento en el pH de la parte superficial del suelo es la movilidad de los productos de la hidrólisis de la urea debido a sus diferencias en carga eléctrica, ya que el amonio sería retenido por las arcillas causando acumulación en la superficie donde se puede perder como amoníaco (Mikan *et al.*, 2000; Sánchez, 2002). Todos estos factores provocan que exista una baja eficiencia del uso de la urea en suelos agrícolas debido a la volatilización del amoníaco y a la inmovilización del N por los microorganismos (Bowen y Franco, 2003).

Debido al alto costo de la fertilización nitrogenada, las pérdidas por ineficiencia del fertilizante puede disminuir en parte las ventajas comparativas de la aplicación de éstos para el aumento del rendimiento de los cultivos. La baja eficiencia del nitrógeno en sistemas de producción agrícola puede ocurrir debido a uno o varios de los procesos involucrados en el ciclo del nitrógeno en el suelo. Con la finalidad de mejorar

Key words: ammonium, mycorrhizae, sustainability, zeolite,

Introduction

Urea is the most widely used nitrogenous fertilizer in Mexican agriculture because of its commercial availability, high nitrogen concentration (46% of N), and great solubility in the soil solution. However, urea efficiency may be reduced due to soil N losses through volatilization of ammonia (NH_3) under agriculture production systems (Watson, 2000; Bolado *et al.*, 2003; Chevallier and Toribio, 2006).

An increase in ammonia volatilization has been reported, occurring mainly in agricultural soils where crop residues are left on the soil surface. This increase is due to the greater activity of the urease enzyme, which is concentrated at the soil surface of most agriculture systems. Hydrolysis rates of urea increase because the crop residues, with their low cationic retention capacity and low pH buffering capacity, allow an increase of pH during hydrolysis and, consequently, more ammonia in the soil solution (Verchot *et al.*, 2000). Another cause of the increase of pH on the soil surface is the mobility of the products of the urea hydrolysis due to its different electric charges; the retention of ammonium by clay particles causes an accumulation on the soil surface where it can be lost as ammonia (Mikan *et al.*, 2000; Sánchez, 2002). These factors, volatilization of ammonia and N immobilization by soil microorganisms, are the main reasons for the low efficiency in the use of urea in agricultural soils (Bowen and Franco, 2003).

With the high cost of nitrogen fertilizer, N losses due to low efficiency of fertilizers may decrease the comparative advantages of its application to increase crop yields. In order to increase N use efficiency and reduce environmental pollution risks due to N lixiviation to aquifers and N volatilization to air, it is essential to use technologies applicable to the judicious administration of nitrogen in the agricultural production systems- i.e., technologies that require minimum amounts of nitrogen to reach maximum crop yield potential. In this sense, zeolite and mycorrhizae have the potential to increase the efficiency of N fertilizers and the intake of nutrients such as phosphorus (P) that have slow mobility in the soil solution Both are widely used and are associated with the new tendencies of technologies that are environment-friendly and that contribute to the

esta eficiencia y evitar riesgos de contaminación ambiental, por la lixiviación del N no absorbido hacia los mantos freáticos y volatilización hacia el aire, es conveniente utilizar tecnologías aplicables a la gestión razonada del nitrógeno en los sistemas de producción agrícola, con el fin de hacerlos sustentables, aportando cantidades mínimas necesarias para alcanzar el máximo rendimiento potencial de los cultivos. En este contexto, la zeolita y la micorriza, son una alternativa de solución para el uso eficiente del fertilizante nitrogenado y la absorción de nutrientes de poca movilidad en el suelo como es el fósforo (P). Ambos, son productos de uso universal muy relacionados con las nuevas tendencias de aplicación de tecnologías ambientales limpias y de mejoramiento de la calidad de vida (Flores *et al.*, 2003; Cárdenas *et al.*, 2004; Millán *et al.*, 2008; Ahmed *et al.*, 2009).

Las propiedades físicas y químicas de las zeolitas (minerales aluminosilicatos) hacen de las mismas un mejorador potencial del suelo, debido a su gran afinidad por el ión amonio (Triana, 1992). Su aplicación incide en la reducción de las pérdidas de N en los suelos agrícolas, lo cual incrementa el aprovechamiento de este elemento por los cultivos (John *et al.*, 1998). Debido a estas características, las mezclas de zeolita con los fertilizantes nitrogenados, es una alternativa de solución, su síntesis tiene por objeto reunir en un solo producto las ventajas de los materiales que les dan origen; es decir, lograr una concentración nutrimental suficientemente elevada y balanceada, con una liberación lenta de nutrimentos, lo que prolonga su efecto residual y permite a la planta absorberlos a un ritmo más acorde con su requerimiento fisiológico (Flores *et al.*, 2007; Millán *et al.*, 2008).

Por otra parte las técnicas basadas en el uso de las micorrizas son de gran utilidad en el ámbito agronómico. La implementación de la fertilización ecológica como una forma de agricultura sostenible, donde se utilizan abonos verdes, humus, compostas o micro-organismos beneficiosos, en este caso la Micorriza (hongos micorrízicos arbusculares) para movilizar y reciclar nutrientes y aprovechar la fertilidad del suelo, es una forma importante de nutrición que disminuye costos de producción así como la contaminación ambiental. La micorriza “simbiosis mutualista” entre algunos hongos endófitos y las raíces de las plantas, muestran la ventaja de favorecer a la planta para que ésta obtenga el máximo beneficio de la asociación. La asociación simbiótica entre el endófito y la planta, actúa como un complemento de la raíz de la planta en la toma de nutrientes, especialmente en la absorción de fósforo, aumento de la tolerancia a condiciones de estrés abiótico,

improvement of the quality of human life. (Flores *et al.*, 2003; Cárdenas *et al.*, 2004; Millán *et al.*, 2008; Ahmed *et al.*, 2009).

The physical and chemical properties of zeolite (aluminum-silicates minerals), particularly its great affinity for the ammonium ion, enable it to act as a potential soil improver (Triana, 1992). Zeolite application reduces N losses in agricultural soils, thereby increasing N use by crops (John *et al.*, 1998). Due to these properties, the combination of zeolite with N fertilizers can achieve a more elevated and balanced nutrimental concentration, with slow release of nutrients, allowing plants to adsorb them according to their physiological requirements (Flores *et al.*, 2007; Millán *et al.*, 2008).

The use of mycorrhizae could also benefit agriculture. Ecological fertilization for sustainable agriculture with the use of green manures, humus, composts, or beneficial microorganisms such as mycorrhizae (arbuscular mycorrhizal fungi) to improve the use of soil nutrients is an important form of plant nutrition that reduces production costs and environmental pollution. Mycorrhizae form a mutualistic symbiosis between endophytic fungi and plant roots, which favors root uptake of soil nutrients. This symbiosis between mycorrhizae and plant roots acts as a complement in the uptake of soil nutrients by plant roots, especially for phosphorus; it increases plant tolerance to abiotic stress and improves soil quality and production of agricultural crops (Alarcón and Ferrera, 2000; Álvarez and Anzueto, 2004; Barrer, 2009).

This study aims to evaluate the efficiency of combining urea as N fertilizer with zeolite and mycorrhizae on wheat yield under irrigated conditions.

Materials and methods

Description of the experimental site

The study was conducted from December 2009 to May 2010 at the Campo Experimental “Pabellón”, Aguascalientes, Mexico, located at 22° 11' North latitude and 102° 20' West Longitude, with an elevation of 1 912 masl. Soil type at the experimental site is Calcisol, sandy-loam texture, pH moderately alkaline (7.6), with organic matter content of 1.3% and N-P-K content of 16.1, 18.5 and 405 ppm, respectively. Based on these data, the soil fertility under study is considered low.

mejoramiento de la calidad del suelo, y aumento en la productividad de los cultivos agrícolas (Alarcón y Ferrera, 2000; Álvarez y Anzueto, 2004; Barrer, 2009).

Con la finalidad de contribuir a establecer la función de la zeolita como fertilizante de lenta liberación y a la micorriza como un biofertilizante para la absorción de P, ambos de bajo costo. En el ciclo otoño-invierno 2010 se desarrolló el presente trabajo con el objetivo de evaluar la eficiencia de utilización de la urea combinada con Zeolita y asociada con Micorriza, en el cultivo de trigo bajo riego.

Materiales y métodos

Descripción del sitio experimental

El presente trabajo se llevó a cabo en el 2010 en el Campo Experimental Pabellón, Aguascalientes; localizado a los 22° 11' latitud norte y 102° 20' longitud oeste, 1 912 msnm. El suelo del sitio experimental es tipo Calcisol, de textura migajón-arenoso con pH moderadamente alcalino de 7.6, con 1.3% de materia orgánica y el NPK de 16.1, 18.5 y 405 ppm, respectivamente. Por tanto, se asume que la fertilidad del suelo en estudio es baja.

El clima predominante, de acuerdo con la clasificación de Köppen modificada por García (1981), es de tipo estepario o semidesértico (BS). La temperatura media anual es de 16.7 °C, la media anual máxima es de 20 °C y la mínima es de 13.2 °C. Las temperaturas extremas registradas han sido de 44 °C y de -10 °C. El período libre de heladas con 60% de probabilidad de ocurrencia, oscila entre 250 y 300 días, de marzo a noviembre (Medina *et al.*, 2006).

Se utilizó la variedad mejorada de trigo Urbina bajo riego y los siguientes materiales: a) zeolita, mineral aluminosilicato con cargas negativas de manera natural, propiedad que les da una alta capacidad de intercambio catiónico, absorción y adsorción de iones, y una liberación lenta de nutrimentos; b) micorriza-INIFAP, hongos endófitos con capacidad de asociación con las raíces de plantas superiores, como el cultivo mencionado, facilitando la disponibilidad de nutrimentos de poca movilidad como el fósforo, principalmente, incrementando el área radicular y obteniendo una mayor superficie de absorción de agua; y c) fertilizantes minerales nitrogenados (urea), fosforados (superfosfato de calcio triple) y potásicos (cloruro de

According to Köppen modified by García (1981), the climate in the area is semi-arid. The annual mean temperature is 16.7 °C; average annual maximum temperature is 20 °C while the minimum is 13.2 °C. The registered extreme temperatures are 44 °C and -10 °C. The period free of freezing temperatures at 60% of probability is from 250 to 300 days, from March to November (Medina *et al.*, 2006).

The improved variety of wheat “Urbina” was sowed under irrigated conditions and the following factors were included: a) zeolite, an aluminum-silicate mineral having negative charges giving it a high cationic exchange capacity, adsorption and desorption of ions, and a slow release of nutrients b) mycorrhizae-INIFAP, endophytic fungi having the ability to associate with roots of most plants and increase the uptake of slow mobility nutrients in the soil, such as phosphorus, and the volume of soil explored by roots and c) Mineral fertilizers such as nitrogen (urea), phosphorus (calcium superphosphate) and potassium (potassium chloride), as a source of N-P-K, which are the main macro-nutrients used in agriculture, as well as those having high cost and low use efficiency. These materials were evaluated alone or mixed, substituting 25% of nitrogen fertilizer of the recommended dosage (180-60-30 kg ha⁻¹ of N-P-K) for wheat crop in the region of study. Phosphorus and potassium fertilization were constant in the evaluation. The combination of these factors resulted in six treatments which were evaluated.

The experiment was conducted in the field in strips measuring 16.67 m (width) x 100 m (length) or 1 667 m² per treatment in a total area of 1 hectare.

The amount of nitrogen fertilizer applied per strip was 64 kg (180 kg N.ha⁻¹) and 48 kg (135 kg N ha⁻¹) of urea for treatments having full N-fertilization (100%) and 75% N-fertilization, respectively. The mixtures urea-zeolite and mycorrhizae-seeds were prepared as follows: i) 25% zeolite and 75% urea were placed in a cylindrical container of approximately 30 l, and the mixture was manually rotated for 10 min to homogenize it. The mixture was then transferred to plastic sacks and taken to the experimental site to be placed in the fertilizer container of the sowing machine and applied at sowing; and ii) The same procedure was used to prepare the mycorrhizae-seeds-adherent mixture, but in this case, the mixture was prepared the day before sowing because the seeds needed to be air-dried to avoid problems with the sowing machine (Table 1).

potasio), como proveedores de nitrógeno, fósforo y potasio a las plantas cultivadas, ya que son los principales macronutrientes usados en la agricultura, de mayor costo para el productor y de menor eficiencia en su uso.

Estos materiales, se evaluaron solos y mezclados sustituyendo al fertilizante nitrogenado en 25%, de acuerdo a la dosis óptima recomendada (180-60-30 kg ha⁻¹ de NPK) para el cultivo. En el caso del fósforo y el potasio estos se mantuvieron constantes en la evaluación. Se evaluaron seis tratamientos.

La cantidad de fertilizante nitrogenado aplicado a cada tratamiento fue de 64 kg de urea (180 kg ha⁻¹) en el caso de la fertilización completa (100%) y 48 kg cuando se redujo la dosis de fertilización 25%. Las mezclas urea-zeolita y la micorriza-semilla se prepararon de la manera siguiente: i) 25% zeolita y 75% de urea fueron colocados en un recipiente cilíndrico rotativo de lámina de 30 litros, girándolo manualmente durante 10 min con el fin de homogeneizar la mezcla.

El sustrato resultante fue envasado en costales para posteriormente trasladarlo a la parcela y colocarlo en el depósito fertilizador de la sembradora al momento de realizar la siembra; y ii) El mismo procedimiento empleado para mezclar la zeolita y la urea, fue utilizado para la mezcla de micorriza-semilla-adherente. Esta se realizó un día antes de la siembra ya que se requiere extender la semilla para su secado y así evitar problemas de apelmazamiento de la semilla al momento de la siembra.

El diseño de campo estuvo integrado por dos porcentajes de zeolita (0 y 25 %), tres dosis de urea (0, 75 y 100%) con y sin micorriza. Todos ellos conformaron los tratamientos de un arreglo factorial (Cuadro 1). La distribución de tratamientos fue en franjas sin repeticiones, en una superficie de una hectárea. El tamaño de las franjas (16.67 m de ancho x 100 m de largo) fue de 1 667 m² por tratamiento.

El terreno se barbechó y rastreó antes de la siembra, el cultivo anterior fue maíz forrajero. La siembra se realizó con maquinaria, en tierra húmeda después de un riego de presiembra se realizó el 19 de diciembre. Se fertilizó al momento de la siembra con los tratamientos ya mencionados y la densidad de siembra utilizada fue de 130 kg ha⁻¹ de semilla. Durante el desarrollo del cultivo se aplicaron seis riegos de auxilio.

Cuadro 1. Tratamientos de factorial con zeolita, urea y micorriza.

Table 1. Treatments evaluated with combinations of Zeolite, N-fertilization (urea) and mycorrhizae.

Tratamientos	Zeolita (%)	Urea (%)	Micorriza
1	25	75	Sin
2	25	75	Con
3	0	100	Sin
4	0	100	Con
5	0	0	Sin
6	0	0	Con

The field was plowed and disked before sowing; the crop of the previous year was forage corn. Sowing was on 19 December 2009, using a tractor after a pre-sowing irrigation to ensure good seed germination. Fertilization according to N-treatments plus P and K was applied at sowing time. The amount of seed used was 130 kg ha⁻¹. Six irrigations were applied during the crop season to maintain good soil moisture content.

A composite soil sample of the experimental site was taken, using a systematic method in which simple soil subsamples were taken at a depth of 20 cm. Individual soil sub-samples were air-dried, sieved and mixed to get the composite soil sample that was sent to the laboratory for physical and chemical analyses.

The physical and chemical analyses were performed according to the analytical procedures of the Mexican official norm NON-021-RECNAT-2000. The following were analyzed: texture (hydrometer of Bouyoucos); bulk density (Probeta); pH (CaCl₂ 0.01 M, relation 1:2.5); organic matter (humidity digestion of Walkley and Black), total nitrogen (micro Kjeldahl with salicylic acid), extractable phosphorus (Bray method) and interchangeable K. Table 2 shows the values obtained from the soil analysis.

During crop growth, the nitrogen content of the flag leaf (HB) at seed filling stage was determined. A minimum sample of ten HB leaves was randomly sampled along the strips of each treatment when the crop was at the grain filling stage. Then leaves were dried in an oven at 60 °C until constant weight, then ground and sieved in a 1 mm mesh. After this, total N content was determined by the Kjeldhal method according to Nelson and Sommers (1973).

En la parcela se colectó una muestra compuesta de suelo que estuvo integrada por una serie de submuestras simples obtenidas mediante un muestreo sistemático alineado, a una profundidad de 20 cm. Las muestras fueron secadas al aire, se tamizaron, y se enviaron al laboratorio para sus análisis físicos y químicos.

Los análisis físicos y químicos de suelo se realizaron mediante los procedimientos analíticos de rutina de la norma oficial Mexicana NON-021-RECNAT-2000. Se determinó: textura (hidrómetro de Bouyoucus); densidad aparente (Probeta); pH (CaCl_2 0.01 M, relación 1:2.5); materia orgánica (digestión húmeda de Walkley y Black), nitrógeno total (micro Kjeldahl con ácido salicílico), fósforo extraíble (método bray) y K intercambiable. En el Cuadro 2, se muestra los valores obtenidos.

Durante el ciclo del cultivo se cuantificó el contenido del nitrógeno en la hoja bandera (HB) en la etapa de grano lechoso. Se tomaron como mínimo 10 hojas de HB en cada tratamiento, cuando el cultivo se encontraba en el comienzo de grano lechoso. Las hojas fueron secadas a 60 °C hasta peso constante y molidas hasta pasar por malla de 1 mm. Posteriormente se determinó el contenido de N total por Kjeldhal según Nelson & Sommers (1973).

Estimación del rendimiento de grano

Al término del ciclo del cultivo se evaluó el rendimiento de grano (kg ha^{-1}), mediante la toma de diez muestras por tratamiento. Con el propósito de distribuir la muestra en cada uno de los tratamientos de la parcela, se recomendó tomar la muestra al azar. El tamaño de muestra fue de un m^{-2} en el que se cosecharon y desgranaron todas las espigas. El rendimiento cosechado por hectárea se obtuvo mediante una regla de tres simple. Al peso del grano total cosechado en el tratamiento, se le restó 7% considerando que el grano al momento de cosechar su contenido de humedad fue de 20%. El peso restante fue el rendimiento por tratamiento por parcela a 13% de humedad.

Eficiencia agronómica relativa (EAR) de la zeolita y micorriza

A fin de facilitar el entendimiento de la información recabada los datos de rendimiento de trigo en grano se expresaron en función de la eficiencia agronómica relativa (ear) de la zeolita y la micorriza INIFAP. El cual expresa el comportamiento del rendimiento promedio de los tratamientos de fertilización

Cuadro 2. Características físicas y químicas del Calcisol en el sitio experimental. Pabellón, Aguascalientes, 2010.

Table 2. Physical and chemical characteristics of the soil at the experimental site. Pabellón, Aguascalientes, 2010.

Propiedad	Clasificación	
Textura	Franco-arenoso	Media
Arena (%)	67	Media
Arcilla (%)	9	Baja
Limo (%)	24	Baja
ρ_b Mg m^{-3}	1.22	Media
Ka cm hr^{-1}	3.2	Baja
pH	7.6	Moderadamente alcalino
MO %	1.3	Pobre
N kg ha^{-1}	16.1	Pobre
P kg ha^{-1}	18.5	Pobre
K kg ha^{-1}	405	Rico

ρ_b : densidad aparente; Ka: conductividad hidráulica; MO: materia orgánica; N: Nitrógeno; P: fósforo y K: potasio.

Grain yield estimation

At the end of the crop cycle, grain yield was estimated (kg ha^{-1}) by randomly taking ten samples of 1.0 m^2 per treatment. Grain yield was recorded after obtaining all grains from the spikes. Grain yield per sampled plots was expressed as yield per hectare. Harvested grain was adjusted at 13% of moisture content on seeds.

Relative agronomic efficiency (RAE) of zeolite and mycorrhizae

To facilitate understanding of the wheat grain yield data, information was expressed as a function of the relative agronomic efficiency (RAE) of zeolite and mycorrhizae-INIFAP. The RAE expresses the behavior of the average grain yield of the zeolite and mycorrhizae treatments with respect to the full N-fertilized treatment in percentage based on the following equation:

$$\text{RAE} = \frac{(\text{Rend. NZeo} - \text{Rend. T}) * 100}{\text{Rend. TOF} - \text{Rend. T}}$$

Where: i) Rend. NZeo= Grain yield of treatment having 75% [of] N-fertilization plus 25% zeolite; ii) Rend. TOF= grain yield treatment with full N-fertilization (100% [de] N) and iii) Rend. T= Grain yield of control treatment (0% N - 0% zeolite and without mycorrhizae).

adicionados con zeolita y micorriza con respecto al tratamiento de fertilización completa expresado en porcentaje en base a la siguiente ecuación. Esta transformación nos permite evitar las variaciones debidas al manejo del cultivo al comparar los tratamientos.

$$EAR = \frac{(\text{Rend. NZeo} - \text{Rend. T}) * 100}{\text{Rend. TOF} - \text{Rend. T}}$$

Donde: i) Rend. NZeo; ii) Rend. TOF y iii) Rend; T: i) Rendimiento de grano fertilizado con 75% nitrógeno y 25% zeolita; ii) tratamiento óptimo de fertilizante completo (100% de N) recomendado por INIFAP para el cultivo de trigo en esta región; y iii) testigo sin fertilizante, respectivamente.

Con la información obtenida se realizaron análisis de varianza de: rendimiento de grano por hectárea, número de espigas m² y altura de planta. Además se hicieron análisis de regresión entre el contenido de nitrógeno en la hoja bandera y la biomasa verde aérea del cultivo en la etapa de llenado de grano, así como también con el rendimiento de grano y número de espigas m², utilizando el programa estadístico SAS (SAS Institute, 1991) y para la comparación de medias se utilizó la prueba de DMS, con un nivel de significancia de 5%.

Resultados y discusión

La respuesta del trigo a la aplicación de zeolita y micorriza se presenta en la Figura 1 y 2, donde se compara el efecto de los tratamientos sobre el contenido de nitrógeno (CN) en la hoja bandera (HB) y la biomasa total aérea cuando el grano estaba en estado lechoso. Se observa que la respuesta del cultivo a la aplicación de urea (75%) más 25% de zeolita con y sin micorriza (tratamiento 1 y 2) fue superior en ambos casos (contenido de N foliar y producción de biomasa) a los tratamientos testigos (sin fertilizante y con micorriza sola) y ligeramente mayor a los tratamientos de 100% de fertilización nitrogenada, aunque el máximo valor de producción de biomasa se alcanzó a partir de la aplicación de la mezcla de 25% de zeolita con 75% de urea al 46%, y el tratamiento con 100 % de urea. Este comportamiento se debe a la eficiencia de la zeolita como agente modificador del fertilizante nitrogenado, manifestándose claramente en la variante de 25% de zeolita. Autores como Muñiz *et al.* (1999) han encontrado un comportamiento similar, indicando que este tipo de resultados es atribuible al efecto de la variable en estudio sobre la producción.

This equation is used to avoid variations due to crop management when treatments are compared.

Statistical analysis

Statistical analyses of variance were performed for each of the following variables: grain yield, spikes number m⁻² and plant height. Also, regression analyses were performed regarding nitrogen content of flag leaf vs. aerial fresh biomass of the crop determined at the grain filling stage, and grain yield vs. spikes number m⁻² by using the statistical SAS program (SAS Institute, 1991). Significant minimum difference (SMD) was used for mean separation at the probability of 0.05.

Results and discussion

Wheat response to the application of zeolite and mycorrhizae is shown in Figures 1 and 2, which compare the effects of treatments on the nitrogen content (NC) in the flag leaf (HB) and the aerial biomass determined at the grain filling stage. It was observed that in the treatments with 75% urea plus 25% zeolite with and without mycorrhizae, crop response was superior for both N content and biomass, as compared to the control treatments (without fertilization or mycorrhizae) and slightly greater than in treatments having 100% N-fertilization. Maximum values of biomass production were reached in the treatments: 25% of zeolite-75% urea and 0% zeolite-100% urea. This response is attributed to the efficiency of zeolite as a modifier of N-fertilizer, clearly seen in the level of 25% zeolite. Authors such as Muñiz *et al.* (1999) have reported similar responses to zeolite.

Figure 3 shows that in the relationships between aerial biomass and flag leaf nitrogen content, a significant and positive association was observed (R²=0.89). The increase in biomass production was significantly greater in treatments with 25% zeolite-75% urea with or without mycorrhizae and in treatments with 100% urea as compared to those treatments without N-fertilizer or mycorrhizae. These results are in agreement with those in Figure 2.

Average grain yield, spike number m⁻² and plant height of the six treatments are shown in Table 3. Statistical analysis results show highly significant differences for all these variables. Soil sample data of each treatment indicate that assimilate nitrogen (N-NO₃) at the end of the growth cycle

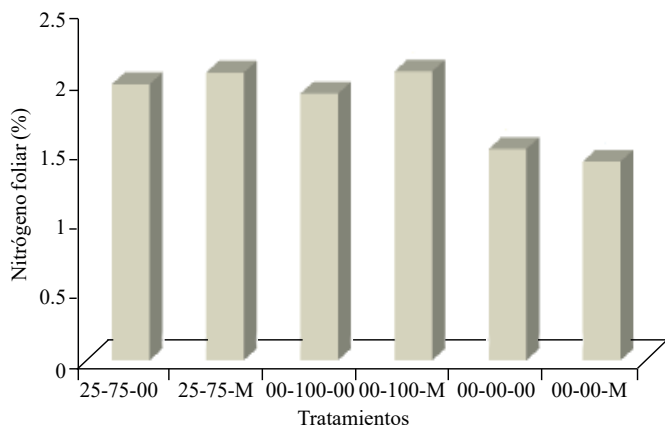


Figura 1. Contenido de nitrógeno en hoja bandera en grano lechoso en trigo otoño-invierno bajo diferentes tratamientos de Zeolita, nitrógeno y micorriza. CEPAB-AGS. 2010.

Figure 1. Nitrogen content of flag leaf during grain filling stage of wheat grown in December 2009-May 2010 under different zeolite, N-fertilization and mycorrhizae treatments in CEPAB-Aguascalientes.

En apoyo a lo anterior, en la Figura 3 se presenta la relación de la biomasa aérea con el CN en HB. La tendencia positiva observada entre CN en HB y el incremento en producción de biomasa verde aérea fue significativamente mayor en los tratamientos de fertilización correspondientes a la urea mezclada con zeolita al 25% con y sin micorriza y los de fertilización completa respectivamente, sin que hubiese diferencias estadísticas entre ellos, en comparación con aquellos donde no se aplicó fertilizante o se inoculó la semilla con micorriza, lo cual es congruente con la información presentada en la Figura 2.

Los promedios del rendimiento de grano de trigo, número de espigas m⁻² y altura de planta de los seis

Los resultados del análisis estadístico indicaron de que hubo una diferencia altamente significativa para toda las variables (Cuadro 3). El resultado del análisis de laboratorio de las muestras de suelo de cada uno de los tratamientos indicó que el nitrógeno asimilable (N-NO₃) determinado al final del ciclo del cultivo varió de 6.2 a 6.9 ppm en los tratamientos de fertilización fraccionada (urea mezclada con zeolita al 25% con y sin micorriza) y los de fertilización completa, mientras que para los testigos fue de 2.7 ppm. La cantidad de fertilizante nitrogenado (urea al 46%) aplicado al momento de la siembra (diciembre, 2009) fue de 282 y 381 kg ha⁻¹ para los tratamientos con adición de 25% zeolita y los de fertilización completa (100%) ambos con y sin micorriza,

varied from 6.2 to 6.9 ppm in the treatments with 75% and 100% N-fertilization with and without mycorrhizae, while in the control treatments, N-NO₃ was only 2.7 ppm. The amount of N-fertilizer (urea at 46%) applied at sowing time was 282 and 391 kg ha⁻¹ for treatments with 25% zeolite-75% N and 0% zeolite- 100% N, respectively, for both with and without mycorrhizae. This is equivalent to 130 kg de N ha⁻¹ in both treatments with 75% N and 180 kg de N ha⁻¹ for the treatments with full N (100%). The difference in the N dosage for those treatments having 75% N or 100% N was important. It is inferred that zeolite and mycorrhizae can be a good alternative because of their contribution in the reduction of N losses, reduction of N-fertilization up to 25%, and greater adsorption of slow mobility nutrients such as P. Also, they do not have adverse effects on grain yield of the wheat crop.

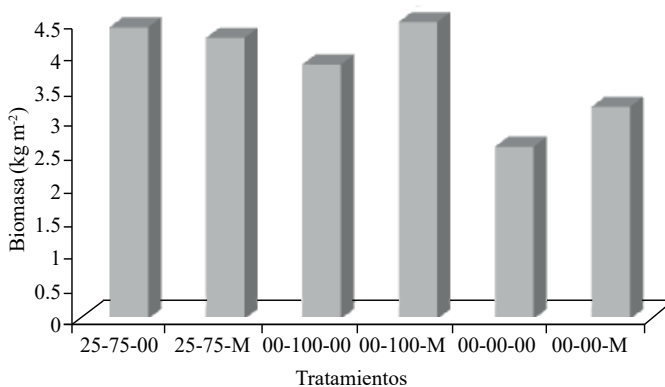


Figura 2. Biomasa del trigo en etapa lechoso bajo diferentes tratamientos de zeolita, nitrógeno y micorriza. CEPAB-AGS. 2010.

Figure 2. Aerial biomass of wheat crop at the grain filling stage grown in December 2009- May 2010 under different zeolite, N-fertilization and mycorrhizae treatments in CEPAB-Aguascalientes.

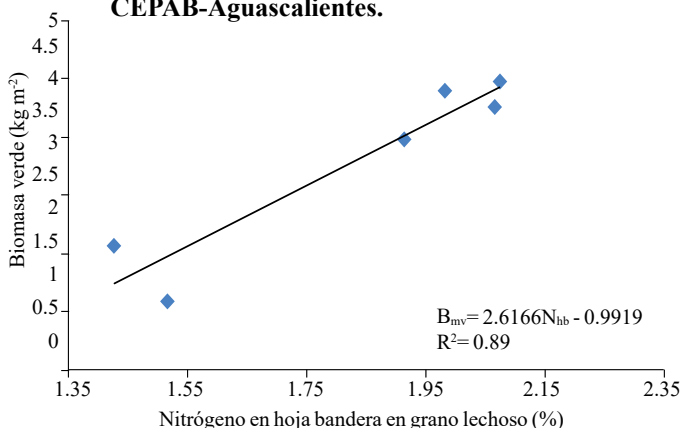


Figura 3. Relación de la biomasa y el contenido del nitrógeno en la hoja bandera en grano lechoso.

Figure 3. Relationship between biomass and N content of wheat at grain filling stage.

respectivamente. Esto equivale a aplicar 130 kg de N ha⁻¹ en los dos tratamientos de fertilización fraccionada y 180 kg de N ha⁻¹ para los tratamientos con urea al 100%.

In relation to grain yield, there was a significant response due to the effect of zeolite and mycorrhizae. The highest grain yield was obtained in the treatment 25% zeolite- 75%

Cuadro 3. Respuesta del trigo otoño-invierno 2010 a la aplicación de zeolita y micorriza INIFAP en Aguascalientes, México. Table 3. Wheat response to zeolite, N-fertilizer and mycorrhize-INIFAP treatments in Aguascalientes. 2010.

Tratamiento	Rendimiento (t ha ⁻¹)		Altura (cm)	EAR (%)
	Grano	N. Espigas m ⁻²		
1	4.45 a	484.7 a	85.0 a	119.7
2	4.69 a	492.7 a	84.0 a	135.5
3	4.15 a	535.7 a	85.0 a	100.0
4	4.37 a	498.8 a	85.5 a	115.6
5	2.63 b	373.7 b	77.5 b	---
6	2.74 b	307.1 b	79.7 b	---
DMS (0.05)	0.808	57.8	3.85	
CV: (%)	10.47	8.67	5.85	

Micorriza INIFAP; EAR: eficiencia agronómica relativa.

La diferencia en el aporte de fertilizante nitrogenado fue importante entre los tratamientos de mínima y los de máxima fertilización nitrogenada. Por ello se puede inferir que la zeolita y la micorriza, resulta una alternativa muy atractiva, por su contribución tanto en la reducción de las pérdidas de nitrógeno en 25% la disminución de los niveles de fertilizantes como por la absorción de nutrientes de poca movilidad (como el P) sin afectar el rendimiento y la calidad del cultivo, en contraste a lo que se obtiene sin la aplicación de este tipo de materiales.

Se encontró que hubo una respuesta significativa por el efecto de la zeolita y la micorriza. El rendimiento más alto se obtuvo con urea más zeolita al 25% y asociado con micorriza, luego con urea más zeolita al 25% sin micorriza, siguiéndole los tratamientos de fertilización con urea al 100% con y sin micorriza y por último los tratamientos sin fertilizante y con micorriza sola (Cuadro 3). Este mismo orden se observó en los componentes número de espigas m⁻² y altura de planta, siendo sus diferencias significativas al 5%, de probabilidad. Esto significa que la eficiencia de la zeolita como aditivo de la urea en suelos arenosos disminuye significativamente la cantidad de N-NH₄⁺ por volatilización, lixiviación y fijación, lo que apoya que la zeolita tiene la capacidad para absorber amonio, aminorar la nitrificación y liberar de manera lenta los nutrimentos, lo que prolonga su efecto residual y permite a la planta absorberlos a un ritmo más acorde con su requerimiento fisiológico. En el caso de la micorriza se puede decir que ésta mejoró la absorción del fósforo cuando se asoció con la zeolita; lo anterior se debe, posiblemente, al efecto

N-fertilization with mycorrhizae, followed by the treatments of full N-fertilization (100%) with and without mycorrhizae, whereas the lowest grain yield was obtained in the treatments having 0% N-fertilization with mycorrhizae (Table 3). A similar pattern was observed for the other yield components, namely spikes number m⁻² and plant height, Mean differences were at 5% probability level. This means that zeolite can be efficient as an additive of urea, especially in sandy soils, and it may reduce the amount of N-NH₄⁺ that is volatilized, lixiviated or bonded, since it has the capacity to adsorb ammonium, diminish nitrification, and slowly release soil nutrients. Absorption of nutrients by roots can be paced according to plant requirements. Regarding mycorrhizae, it improved the intake of P when it was associated with zeolite; this is attributed to the beneficial effect of greater soil fertility conditions on the survival of the fungi propagules (Clark, 1997; Álvarez and Anzueto, 2004).

Based on these results, it is assumed that with the high N availability at sowing and subsequent growth stages (vegetative and flowering), N concentrations of flag leaf could be increased at the grain filling stage. This is a consequence of achieving a nutrient concentration that is sufficiently elevated and well-balanced, with a slow release of nutrients, which prolongs the residual effect of the N-fertilizer with zeolite.

In this study, grain yield showed a linear relationship with N concentration at the grain filling stage (Figure 4). This means that N content of the flag leaf plays an important role in determining grain yield, regardless of previous

benéfico que tienen las condiciones de mayor fertilidad del suelo sobre la supervivencia de los propágulos fúngicos (Clark, 1997; Álvarez y Anzueto, 2004).

Sobre la base de los resultados presentados anteriormente es factible suponer que con elevada disponibilidad de N durante la siembra y las subsiguientes etapas de desarrollo del cultivo (vegetativa y floración) se podrían obtener incrementos en las concentraciones de N en la HB en el periodo de llenado de grano. Esto es a consecuencia de lograr una concentración nutrimental suficientemente elevada y balanceada, con una liberación lenta de nutrimentos, lo que prolonga un efecto residual, mediante la adición de zeolita al fertilizante nitrogenado.

Para este ensayo, el rendimiento de grano se relacionó linealmente con la concentración de N en HB en el periodo de grano lechoso (Figura 4). Estos resultados determinan que el contenido de N en dicha hoja, independientemente del manejo previo, cumpliría un papel destacado en la determinación del rendimiento de grano. Por lo tanto, el cultivo de trigo en suelos arenosos no expuesto a déficit hídrico alguno en el periodo de llenado de grano, la concentración de N en HB podría ser utilizada como predictor del rendimiento de grano.

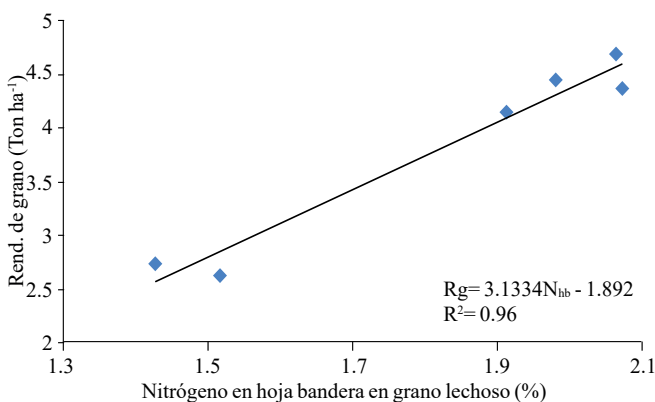


Figura 4. Relación del rendimiento de grano y el contenido de nitrógeno de la hoja bandera en el periodo de grano lechoso.

Figure 4. Relationship between wheat grain yield and N content of flag leaf at grain filling stage. CEPAB-Aguascalientes, 2010.

Un comportamiento similar se observó al relacionar el número de espigas por metro cuadrado con el contenido de N en la HB en el mismo periodo fisiológico de grano lechoso (Figura 5). Es decir, su comportamiento fue lineal con un alto coeficiente de correlación.

management. Thus, for wheat crop grown under sandy soils and not subjected to water stress during grain filling stage, N concentration could be used as a predictor of grain yield.

A lineal relationship, with significant and positive correlation coefficient, was also observed between spike number and the N content of the flag leaf at the grain filling stage (Figure 5).

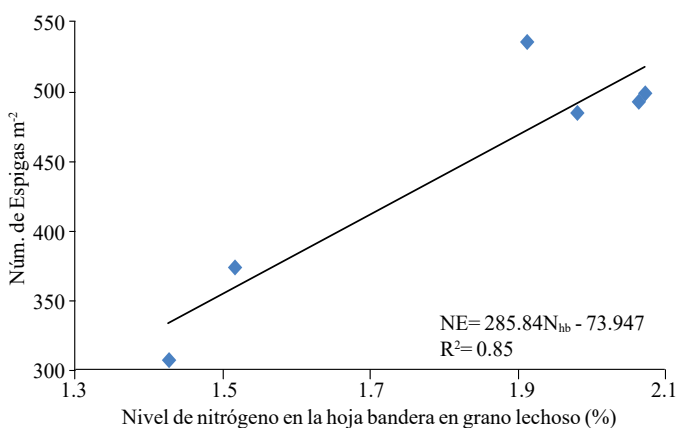


Figura 5. Relación de espigas m⁻² y el contenido de nitrógeno en la hoja bandera en lechoso.

Figure 5. Relationship between wheat spikes number and N content of flag leaf at grain filling stage. CEPAB-Aguascalientes, 2010.

Therefore, in this study, it was determined that under conditions of no water stress during grain filling stage, N concentration of flag leaf at grain filling stage was highly related to grain yield of wheat. In addition, it was shown that urea mixed with zeolite at 25% had a positive effect on the N concentration and distribution during the whole crop cycle, which indicates that zeolite has the capacity to adsorb ammonium and diminish the nitrification process. Finally it is important to mention that each effort to improve the use of nitrogen implies a reduction in N loss, an increase in N absorption, and consequently, a reduction in environmental pollution. Also a more efficient use of nitrogen will have a direct impact on economic profits for farmers. Similar results have been reported by Pino *et al.* (1999).

In the estimation of RAE to produce grain, using TOF (treatment with 100% of N-fertilization) as control in the comparison (RAE= 100) with other treatments, it was observed that urea mixed with zeolite at 25% with or without mycorrhizae increased the RAE value by 19.7 and 35.5%, respectively. A similar response was found when it was compared with the RAE of 100% urea with mycorrhizae. In this case, the increment was 15.6%. These results indicate that

En síntesis, en condiciones de adecuado suministro hídrico en el período de llenado de grano, se determinó que la concentración de N en la HB en estado de grano lechoso, se relaciona con el rendimiento de grano. Además, se concluye que la urea mezclada con zeolita al 25% tuvo un efecto positivo sobre la concentración y distribución del N en el ciclo del cultivo, lo que apoya que la zeolita tiene capacidad para absorber amonio y aminorar el proceso de nitrificación. Finalmente cabe resaltar que cada mejora en la eficiencia de uso del nitrógeno, que implica una reducción en la pérdida del mismo y un incremento en la absorción, repercute proporcionalmente en el retorno económico y evita el riesgo de contaminación ambiental. Resultados similares a los obtenidos en este trabajo fueron reportados por Pino *et al.* (1999).

Al estimar la EAR para producir grano, utilizando el TOF (tratamiento óptimo de fertilización) como testigo de comparación (EAR= 100), se observó que con la urea mezclada con zeolita al 25% sin y con micorriza, se aumentó la EAR de 19.7 y 35.5% respectivamente. El mismo tipo de respuesta se encontró cuando se comparó con la EAR de la urea al 100% con micorriza, en este caso con incrementos en la EAR de 15.6%. Estas respuestas indican que la adición de zeolita a la urea y la inoculación de semilla con micorriza en suelos arenosos, la absorción de N y P, en el trigo puede alcanzar valores deseables para un óptimo retorno económico y una disminución del riesgo ambiental.

Al respecto Flores *et al.* (2007) mencionan que no encontraron diferencias estadísticas en el rendimiento de avena a partir de la adición de 10% de zeolita a un suelo arenoso, debido al efecto de ésta que disminuye significativamente la cantidad de $N-NH_4^+$ y NO_3 en soluciones de lavado. Por otro lado, Clark (1997) menciona que la relación positiva de la CIC y el pH del suelo con la colonización micorrizica se debe, posiblemente, al efecto benéfico que tienen las condiciones de mayor fertilidad del suelo sobre la supervivencia de los propágulos fúngicos.

Conclusiones

La aplicación de urea mezclada con zeolita al 25% en un Calcisol de textura arenosa permitió sustituir el 25% de la fertilización nitrogenada incrementando significativamente el rendimiento de grano y biomasa en el cultivo de trigo.

with the addition of zeolite to urea plus the seed inoculation with mycorrhizae under sandy soils, the absorption of N and P by wheat plants can reach the values desired in order to get an optimum economical return while reducing environmental risks. Regarding this, Flores *et al.* (2007) mentioned that there was no significant difference in oat yield when 10% of zeolite was applied in a sandy soil, but zeolite had a significant effect in reducing the amount of $N-NH_4^+$ and NO_3 in the drainage solution. On the other hand, Clark (1997) mentions that the positive relation of CEC and pH of soil with the mycorrhizic colonization is possibly due to the greater soil fertility conditions benefitting the survival of fungi propagules.

Conclusions

Application of urea mixed with zeolite at 25% in a Calcisol with sandy loam texture saved 25% of the N-fertilization and significantly increased grain yield and biomass of wheat crop.

Zeolite can be used to improve N fertilizers without adversely affecting the quality or grain yield of crops.

The percentage of N used by plants was higher in treatments where zeolite was applied, which can be attributed to the capacity of zeolite to adsorb ammonium, diminish nitrification and reduce N losses by volatilization.

The use of mycorrhizae as bio-fertilizer can improve plant nutrition when it is associated with zeolite and can increase grain yield and biomass production.

These results show the importance of strengthening management practices that increase the sustainability of agricultural production systems. In this sense, zeolite and mycorrhizae can increase the efficiency in the use of N fertilizers and slow mobility nutrients in the soil such as phosphorus. Both zeolite and mycorrhizae are natural products that make it possible to regulate the application of N and P to crops. The application of minimum amounts of fertilizer to get maximum yields can reduce environmental pollution risks.

End of the English version



La zeolita puede ser utilizada como acondicionador de los fertilizantes nitrogenados sin afectar la calidad ni el rendimiento del cultivo.

El porcentaje de utilización del nitrógeno fue superior en la variante que se aplicó zeolita debido a la disminución de las pérdidas por volatilización de este elemento, lo que apoya que la zeolita tiene capacidad para absorber amonio y aminorar el proceso de nitrificación.

El uso de la micorriza como biofertilizante contribuye a mejorar el nivel nutricional de la planta cuando se asocia con la zeolita lo que se ve reflejado en mayor biomasa aérea, crecimiento y rendimiento de grano.

Estos resultados muestran la importancia de fortalecer las prácticas de manejo que generen cierta sustentabilidad a los sistemas de producción agrícola. En este sentido, la zeolita y la micorriza, ofrecen la posibilidad de hacer un uso más eficiente de los fertilizantes nitrogenados y también de aquellos de lenta movilidad en el suelo como es el fósforo.

Ambos productos naturales permiten razonar el aporte de N y P al cultivo, permitiendo abastecer las cantidades mínimas para alcanzar los máximos rendimientos, además preservar el ambiente, evitando con esto agravar los problemas de contaminación.

Literatura citada

- Ahmed, O. H.; Hussin, A.; Ahmad, H. M. H.; Jalloh, M. B.; Rahim, A. A. and Majid, N. M. A. 2009. Enhancing the urea-N use efficiency in maize (*Zea mays*) cultivation on acid soils using urea amended with zeolite and TSP. <http://www.scipub.org/fulltext/ajas/ajas>. Am. J. Appl. Sci. 6(5):829-833.
- Alarcón, A. y Ferrera, C. R. 2000. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. Terra. 17(3):179-191.
- Álvarez, S. J. D. y Anzueto, M. M. de J. 2004. Actividad microbiana del suelo bajo diferentes sistemas de producción de maíz en los altos de Chiapas, México. Agrociencia. 38:13-22.
- Barrer, B. E. 2009. El uso de hongos micorrizicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 7(1):124-132.
- Bolado, R. S.; Gaité, A. A. y Álvarez, B. J. 2003. Caracterización de procesos acoplados de adsorción, transformación y volatilización de nitrógeno en suelos fertilizados con urea. Estudios de la zona No saturada del suelo. VI:185-192.
- Bowen, W. y Franco, J. 2003. Manejo de la fertilidad del suelo en agroecosistemas de los andes tropicales/ manejo integrado de plagas (MIP) vs. manejo Sostenible del suelo (MSS). Consorcio para el desarrollo sostenible de la ecorregión andina y agricultura sostenible campesina de montaña. 102 p.
- Cárdenas, N. J.; Sánchez, J. M.; Farías, R. y Peña, C. 2004. Los aportes de nitrógeno en la Agricultura. Revista Chapingo serie Horticultura 10(2):173-178.
- Chavallier, B. S. y Toribio, M. 2006. Volatilización del amoniaco. INTA-Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Publicación Miscelánea. 105:69-82.
- Clark, R. B. 1997. Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plants growth and mineral acquisition at low pH. Plant Soil 192:15-22.
- Flores, A.; Bosch P.; Lara, V.; Ordaz, V.; Cortés, J.; De León F. 2003. Caracterización Mineralógica y técnica de materiales zeolíticos naturales de uso comercial. Soc. Española Mineral. 26:59-67.
- Flores, M. A, Galvis, S.; Hernández, M.; De León, G. y Payán, Z. 2007. Efecto de la adición de zeolita (Clinoptilolita y Modernita) en un Andosol sobre el ambiente químico edáfico y el crecimiento de avena. Interciencia. 32(10):692-696.
- García, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 166-170 pp.
- John, C.; G. del Vallín; Morrero, V.; Muñiz, O.; Beltrán, R.; Sotlongo, J.; Gil, R.; Delgado, N. y Chong, D. 1998. Generalización del empleo de la zeolita, como aditivo de la urea en cultivos de importancia económica. Producción de cultivos en condiciones tropicales. ISDN: 959-7111-04-7:193-195.
- Medina, G. G.; Maciel P.; Ruíz, C.; Serrano, A. y Silva, S. 2006. Estadísticas climatológicas básicas del estado de Aguascalientes (período 1961-2003). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Centro de Investigación Regional Norte Centro, Campo Experimental Pabellón. Libro técnico Núm. 2. Aguascalientes, México. 156 p.

- Mikan, C. J.; Zak, D. R.; Kubiske, M. E. and Pregitzer, K. S. 2000. Combined effects of atmospheric CO₂ and N availability on the belowground carbon and nitrogen dynamics of aspen mesocosms. *Oecología* 124:432-445.
- Millán, G.; Agosto, F.; Vázquez, M.; Botto, L.; Lombardi, L.; y Juan, L. 2008. Uso de clinoptilolita como un vehículo de fertilizantes nitrogenados en un suelo de la región Pampeana de Argentina. *Cien. Inv. Agr.* 35(3): 293-302. 2008. <http://www.uc.cl/agronomia/rcia/Espanol/pdf/35-3/7.Millan%200712-46%2005-11-08%28ff%29.pdf>.
- Muñiz, O.; Dueñas, G.; Nuviola, A.; Biart, M.; Beltrán, R.; John, C.; Sánchez, T.; y Álvarez, F. C. 1999. Use of isotope technique in order to evaluate the efficiency of chemical fertilizers in rice. II international symposium on nuclear Agriculture. *Industry Environ.* 83 p.
- Nelson, D. W. and Sommer, L. E. 1973. Determination of total nitrogen in plant material. *Agron. J.* 65:109-112.
- Pino, I.; Peyrelongue, A.; Paz, M. y Albornoz, G. 1999. Evaluación de fuentes nitrogenadas en dos variedades de cebada, utilizando el método de dilución Isotópica (¹⁵N). II Simposio Internacional de técnicas nucleares en Agricultura, Industria y Medio Ambiente. 60 p.
- Sánchez, P. A. 2002. Soil Fertility and Hunger in Africa. *Science* 295: 2019-2020.
- Triana, C. F.; Triana, E. 1992. La zeolita más de cien formas de utilización y aplicación. Ciudad de la Habana: Editorial. *Ciencia y Técnica.* 959 p.
- Verchot, L. V.; Davidson, E.; Cattanio, J. H. and Acherman, I. L. 2000. Land-use change and biogeochemical controls of methane fluxes in soils of Eastern Amazonia. *Ecosystems* 3:41-56.
- Watson, C. J. 2000. Urease activity and inhibition. *Principles and practice. The international fertilizer society. Proceeding.* 454:39.