



Isotopos Estables en Agroecosistemas

M. A. Lazzari - C. Videla / Editoras

M. R. Landriscini / Compaginado

Contenido

Prefacio	Pág. 7
Sesión I. Isótopo Estable ¹⁵N	
<i>Conferencia P.C.O. Trivelin.</i> El método del trazador isotópico. Uso del isótopo estable ¹⁵ N en estudios de fertilidad de suelos y nutrición de plantas en el CENA- Brasil.....	Pág. 11
<i>Conferencia R.R. Rosell.</i> Retrospectiva del empleo de ¹⁵ N en estudios agronómicos con énfasis en suelos y cultivos de la región semiárida pampeana...	Pág. 19
Trabajos	
<i>M. A. Lazzari.</i> Experimentación con el isótopo estable ¹⁵ N	Pág. 25
<i>C. Videla.</i> Utilización de ¹⁵ N en estudios de los flujos brutos de nitrógeno en el suelo.....	Pág. 33
<i>M. Cigales-Rivero, R. Bayardo-Parra, G. Lorenzana-Salazar y S. Urquiaga.</i> Distribución y uso del N-(¹⁵ NH ₄) ₂ SO ₄ aplicado a dos variedades de maíz en tres etapas del cultivo.....	Pág. 41
<i>H. Rimski-Korsakov, G. Rubio y R. Lavado.</i> Recuperación del nitrógeno aportado por fertilización en maíz.....	Pág. 47
<i>H. Rimski-Korsakov, G. Rubio y R. Lavado.</i> Pérdidas por volatilización de amoníaco en cultivos de maíz fertilizados con nitrógeno.....	Pág. 53
<i>G. Arrarte, V. Berriel, P. Irisarri y S. Gonnet.</i> Efecto del agregado de un fertilizante con inhibidor de la nitrificación sobre la nutrición nitrogenada del arroz.....	Pág. 59
<i>P. Irisarri, S. Gonnet, V. Berriel, J. Monza y E. Deambrosi.</i> Nutrición nitrogenada de arroz: Fertilización e inoculación con cianobacterias.....	Pág. 61
<i>V. Berriel, P. Irisarri, S. Gonnet, J. Monza y E. Deambrosi.</i> Eficiencia de uso por el arroz del nitrógeno proveniente de un inoculante cianobacteriano.	Pág. 65
<i>M. A. Lazzari, M. Echagüe y M. R. Landriscini.</i> Dinámica de nitrógeno en el suelo y producción de cebada cervecera en la provincia de Buenos Aires	Pág. 69
<i>C. Videla, P. Trivelin,, G. Studdert, J. Bendasolli y H. Echeverría.</i> Transformaciones brutas del nitrógeno y fracciones granulométricas de materia orgánica	Pág. 75

Proyectos

H. Rimski-Korsakov, M. Zubillaga, S. Etchegaray, N. Baldassini, G. Travería, M. Valdez y P. Rush. Fertilización nitrogenada y estrés hídrico en maíz Pág. 81

L. San Martino. Dinámica del nitrógeno en plantas adultas de cerezo dulce (*Prunus avium L.*)..... Pág. 87

Sesión II. Otros Isótopos Estables

Conferencia S. Urquiaga. Aplicación de técnicas de ^{13}C en estudios de secuestro de carbono en el suelo..... Pág. 91

Conferencia F. A. Lattanzi. Uso de especies C3 y C4 en estudios ecofisiológicos..... Pág. 107

Trabajos

E. Jobbágy, M. Rizzotto, G. Piñeiro, J. M. Paruelo y R. Jackson. Modelado de la dinámica del carbono orgánico en suelos usando información isotópica: aplicación en pastizales forestados..... Pág. 115

J. Hernández y L. Salvo. Contribución de rotaciones de cultivos y pasturas sin laboreo, y sistemas forestales al carbono orgánico del suelo, mediante el uso de la técnica isotópica de ^{13}C Pág. 119

A. Srur, R. Villalba, P. Villagra y D. Hertel. Impacto de los cambios climáticos sobre los límites altitudinales del bosque de *Nothofagus pumilio* en el Chaltén, Santa Cruz, Argentina..... Pág. 125

A. Lattanzi, J. Arce, H. Marelli y F. Lattanzi. Efecto de la secuencia de cultivos sobre el stock de carbono en el suelo después de 30 años de siembra directa..... Pág. 133

M. E. Fernández, J. Gyenge, J. Licata, T. Schlichter y B. Bond. El uso de isótopos del H y O para determinar fuentes de agua e interacciones ecológicas entre especies en el N.O. de la Patagonia..... Pág. 137

A. Andriulo y A. Irizar. Uso del fraccionamiento granulométrico y de las relaciones isotópicas ^{13}C y ^{14}C en un Argiudol serie Pergamino bajo diferentes manejos para desarrollar modelos de evolución por compartimientos Pág. 145

H. Morrás, L. Moretti, C. Hatté y W. Zech. Perfiles de isótopos estables del carbono en materiales cenozoicos de las regiones pampeana y subtropical de la Argentina..... Pág. 157

Mesa Redonda..... Pág. 163

PREFACIO

La necesidad de producir alimento suficiente, de aceptable calidad, en el contexto de una población humana en expansión ha sido reconocida como una prioridad por muchas convenciones internacionales. La intensificación, más que la expansión de la agricultura en nuevas áreas, es también una necesidad de Argentina. Los problemas relacionados con la producción sostenible de alimento, combustible y fibra, ya sea en sistemas agrícolas con bajos o altos insumos, ya están bien reconocidos en nuestro país. La sobreexplotación de algunos de nuestros recursos naturales ha llevado a una seria disminución de la fertilidad de los suelos, como pérdidas de materia orgánica, disminución de nutrientes y erosión. De allí que los investigadores y docentes deben asumir la responsabilidad de formar una masa crítica de especialistas en agroecosistemas para el diseño de planes y proyectos de desarrollo rural que sean compatibles con el mantenimiento de la naturaleza. Por lo tanto, el enfoque actual/moderno no es sólo productividad y rentabilidad sino también uso y manejo sostenible de los recursos naturales y biodiversidad, así como protección del medio ambiente.

La ciencia nuclear en general y los isótopos estables en particular, tienen un rol crucial en investigaciones relacionadas con el desarrollo sostenible de los sistemas de cultivo. Sin embargo, y salvo puntuales ejemplos, en nuestro país no se han desarrollado suficientemente las metodologías relacionadas con los isótopos estables. El primer compromiso es, entonces, brindar conocimiento sobre el uso de las técnicas nucleares, tanto en cursos universitarios de grado como de posgrado. Con esa finalidad se organizó el curso de postgrado "Isótopos estables en suelos y nutrición de plantas" con créditos en el Departamento de Estudios de Postgrado de la UNS, dictado por el Profesor invitado Dr. Paulo Trivelin (CENA, USP, Brasil) y la Lic. M. Aurora Lázzari (UNS-CONICET). Se llevó a cabo entre los días 21 y 29 de marzo de 2006, con una carga horaria de 48 hs áulicas. Asistieron un total de 19 investigadores y becarios-tesistas provenientes de Argentina, Méjico y Uruguay.

Después de este curso Pre-Jornadas se desarrollaron las "Primeras Jornadas Argentinas sobre el Empleo de Isótopos Estables en Agroecosistemas". El propósito fundamental de estas Jornadas fue proporcionar un Foro para la revisión del estado de esta parte de la ciencia en Argentina, brindando un marco estimulante para debatir las proyecciones de la líneas de investigación con isótopos estables, conectar grupos que los utilizan y delinear las bases para futuras investigaciones y desarrollo de las necesidades, acordes con las mismas.

La participación en estas Jornadas, de especialistas y/o asesores en suelos, cultivos y medioambiente, que a su vez están familiarizados con estas metodologías, aseguró un intercambio de información y visión sobre los recientes avances en investigaciones multidisciplinarias, ideadas para resolver problemas en el manejo sostenible de las tierras. Dichos problemas y sus soluciones son complejos en naturaleza. Consecuentemente, se requieren cada vez más técnicas innovadoras como las que aquí se exponen, para integrar especializaciones y complejidad. Sin embargo, es importante enfatizar que las técnicas nucleares no brindan por sí mismas soluciones a problemas reales sino que proveen información específica que, usada conjuntamente con datos de estudios convencionales, permiten comprender sistemas dinámicos y, consecuentemente, el valor de alternativas de prácticas de manejo para mejorar la productividad del sistema y la conservación del recurso.

Las mencionadas Jornadas fueron organizadas por el Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur (UNS) y el Centro de Recursos Naturales de la Zona Semiárida (CERZOS, UNS-CONICET), y llevadas a cabo en los días 30 y 31 de marzo de 2006, en la sede del Rectorado de la UNS, Avda. Colón 80, Bahía Blanca. Este libro contiene las conferencias de los invitados extranjeros, y la mayoría de los trabajos y proyectos presentados, representando así las Actas de las mencionadas Jornadas. A este material se adicionaron dos contribuciones, una que trata sobre un aspecto general, que es la experimentación con isótopos estables y otro particular, relativo a los estudios de flujos brutos de nitrógeno en el suelo.

Las editoras desean agradecer a todos los autores de los trabajos presentados, el valioso y desinteresado aporte que hizo posible la edición de esta obra.

M. Aurora Lázzari - Cecilia Videla
Editoras

Sesión I

Isótopo Estable ^{15}N

EL MÉTODO DEL TRAZADOR ISOTÓPICO. USO DEL ISÓTOPO ESTABLE ^{15}N EN ESTUDIOS DE FERTILIDAD DE SUELOS Y NUTRICIÓN DE PLANTAS EN EL CENA – BRASIL

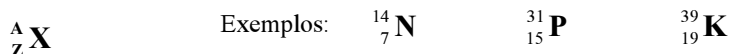
Paulo Cesar O. Trivelin*

Introducción

En la naturaleza, la materia está constituida por átomos de los elementos químicos, los que pueden estar ordenados y conjugados de diferentes formas y proporciones, formando así los compuestos o sustancias, pudiendo éstas ser simples o complejas. El átomo tiene una estructura muy semejante al sistema solar donde, en el centro, está localizado el núcleo, cargado positivamente y en torno a él giran partículas de carga negativa (electrones), semejante a cómo los planetas giran en órbitas alrededor del sol. El protón es una partícula constituyente del núcleo de todos los átomos, tiene carga positiva de la misma magnitud y masa 1.850 veces mayor que la del electrón. Los átomos en su estado normal presentan carga eléctrica neutra, por tanto, el número de electrones en los átomos es igual al número de protones del núcleo. En el núcleo también se encuentran los neutrones, partículas sin carga eléctrica y de masa un poco mayor que la del protón. El número de protones y neutrones en el núcleo define la masa de los átomos.

El número de electrones y la distribución de estos en los orbitales de los átomos determinan las propiedades químicas de los diferentes elementos. El número de protones en el núcleo, que define el número de electrones en el átomo, es característico de cada elemento químico, sin embargo los átomos de un elemento pueden presentar diferentes números de neutrones en el núcleo.

Los átomos de los elementos se caracterizan por la constitución de su núcleo, o sea, por el número de protones y neutrones. Los átomos que tienen un número diferente de neutrones en el núcleo y el mismo número de protones, pertenecen al mismo elemento y son llamados de isótopos. La forma genérica de representar los isótopos es la siguiente:



Significando X el símbolo de un elemento cualquiera (ex.: N - nitrógeno, P - fósforo, K - potasio, etc.); A el número de protones y de neutrones del núcleo (ej.: ^{14}N , ^{31}P , ^{39}K , etc.); Z el número de protones.

La palabra isótopo significa el mismo lugar en la tabla periódica de los elementos, y como fue expuesto antes, se refiere a los nucleidos que tienen el mismo número atómico

*Centro de Energía Nuclear na Agricultura (CENA), Universidad de São Paulo (USP)
Caixa Postal 96, Piracicaba, Brasil. pcotrive@cena.usp.br

y diferentes números de masa (diferentes números de neutrones en el núcleo). Los isótopos pueden ser estables (ejemplo, para el elemento potasio que tiene 19 protones en el núcleo: ^{39}K y ^{41}K), y como tales no emiten radiaciones, encontrándose en la naturaleza en proporción casi constante ($^{39}\text{K} = 93,1\%$ e $^{41}\text{K} = 6,89\%$). Naturalmente, también puede encontrarse radioisótopos en cantidades muy pequeñas, como es el caso del ^{40}K (0,01 % de abundancia), que existen porque tienen media-vida muy larga (media-vida del $^{40}\text{K} = 1,3 \cdot 10^9$ años), o por ser productos de cadenas radioactivas naturales, con media-vida de media a corta (ej.: ^{228}Ra), o aún, por ser producidos en la atmósfera por acción de los rayos cósmicos (ej.: ^{14}C). La media-vida (símbolo $t_{1/2}$) de una especie radioactiva se define como el tiempo para que la mitad de los átomos radioactivos se desintegre, o sea, emitan radiaciones.

Además de los isótopos estables y radioactivos naturales es posible obtener los radioisótopos artificiales, que son llamados así porque son producidos por el hombre en instalaciones especiales (ciclotrón, sincrotrón, reactores nucleares, etc.), donde la constitución de los núcleos de los átomos es modificada, tornándolos inestables. En el caso del K, citando un ejemplo, es posible obtener los siguientes radioisótopos: ^{36}K , ^{37}K y ^{38}K (emisores β , con media vida de fracciones de segundo), ^{42}K y ^{43}K (emisores β , con media vida de 12.4 a 22 horas, respectivamente); y ^{44}K , ^{45}K , ^{42}K , ^{46}K y ^{47}K (emisores α , con media vida de minutos a segundos).

Los isótopos estables de los elementos contenidos en las plantas: ^2H , ^{13}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{34}S , se encuentran en la naturaleza en concentraciones más bajas que sus homólogos (^1H , ^{12}C , ^{14}N , ^{16}O e ^{32}S) y por contener mayor masa (mayor número de neutrones en el núcleo) son denominados isótopos pesados. En la Tabla 1 se muestra una relación de los isótopos estables de elementos livianos y sus respectivas abundancias naturales expresadas en porcentaje (%). Por abundancia natural o relativa se entiende, el porcentaje de un isótopo en relación a los demás del mismo elemento que se encuentran en la naturaleza. En la tabla 1 fueron listados solamente los isótopos de elementos livianos que son gases en el estado elemental o que forman compuestos gaseosos simples, como es el caso del carbono (CO_2) y azufre (SO_2) y también los isótopos del B.

Los isótopos pesados del H, C, O, N y S tienen comportamiento químico muy próximo a los de mayor abundancia natural y son usados como trazadores, tanto con el uso de compuestos conteniendo el elemento de interés, con razón isotópica diferente de la natural (compuestos enriquecidos o empobrecidos en el isótopo pesado), como a través del uso de variaciones en la razón isotópica natural ($^2\text{H}/^1\text{H}$; $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$; $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$; $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ e $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$), que son causadas en los sistemas, debido a las leves diferencias en las propiedades fisicoquímicas de los isótopos (tasa de difusión o reacción), como consecuencia de las diferencias en las masas nucleares.

La técnica principal de determinación de la abundancia de isótopos estables es la espectrometría de masas que se basa en el principio de separación de moléculas, en forma gaseosa e ionizada, de acuerdo con sus masas cuando atraviesan un campo magnético. Los instrumentos comercializados con ese propósito tienen la designación de IRMS ("Isotope Ratio Mass Spectrometer"). Así, por ejemplo, cuando una muestra de N_2 es introducida en el espectrómetro, las especies moleculares neutras $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ ($A=28$), $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$ ($A=29$) e $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ ($A=30$) son forzadas a perder un electrón por impacto electrónico en la fuente de

ionización. A continuación, las especies moleculares ionizadas (normalmente monoionizadas) son aceleradas y un haz de ellas es introducido perpendicularmente en un campo magnético intenso, donde ocurre la separación de las diferentes masas, que después son recolectadas y medidas sus intensidades (I). Con los valores de corriente debido a la intensidad de las diferentes masas (I_{28} , I_{29} e I_{30}) es posible determinar el porcentaje de ^{15}N de una muestra. El término porcentaje de átomos en exceso es muchas veces usado para muestras enriquecidas con un isótopo estable y representa la abundancia del isótopo con valor superior a la abundancia natural. Una muestra con 5 % de átomos de ^{15}N en exceso, significa que contiene 5,366 átomos % de ^{15}N (94.634 átomos % de ^{14}N).

La nomenclatura utilizada universalmente para indicar valores de variaciones relativas, al nivel de abundancia para isótopos estables, es el $\delta(\text{‰})$ (delta por mil), que es definido como:

$$\delta(\text{‰}) = \left[\frac{R_A - R_S}{R_S} \right] \cdot 10^3$$

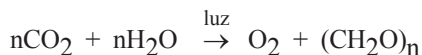
donde: R es la razón de la concentración de uno de los isótopos menos abundantes y la de aquel más abundante (ej. $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ etc.) y A y S son índices que indican muestra y patrón de referencia, respectivamente. Como ejemplo de valores de la abundancia natural para isótopos estables puede ser citado el caso del ^{13}C . La variación en la concentración de ^{13}C en la naturaleza es cerca de $\pm 30 \text{‰}$. La principal causa de esa variación es la fotosíntesis. Mientras que para el CO_2 del aire atmosférico el valor de $\delta^{13}\text{C}$ es de -8‰ en relación al patrón de referencia internacional-PDB, el carbono fijado por las plantas del ciclo fotosintético C-3 y C-4 tienen un valor aproximado de -28‰ e -12‰ respectivamente.

Como el análisis por espectrometría de masas de los isótopos estables de elementos livianos normalmente requiere el elemento en una forma gaseosa, son utilizados los métodos de preparación de muestras (“of line” o “on line”), que convierten al estado gaseoso el elemento, que se encuentra en estado combinado en la muestra de interés. Para que eso sea posible y que las contaminaciones por gases del aire atmosférico sean mínimas, la preparación es realizada en alto vacío. Los isótopos del B son determinados en ICPMS en ICP.

El método del trazador isotópico: La dilución isotópica

Las propiedades químicas de los elementos son determinadas casi exclusivamente por el número y distribución de los electrones atómicos. Este número y la distribución de electrones son, al mismo tiempo, determinados por la carga nuclear. Por tanto, los isótopos de un mismo elemento tendrán prácticamente propiedades químicas idénticas. Existen pequeñas diferencias en las propiedades químicas debidas a diminutas variaciones en el tamaño nuclear y a pequeñas diferencias de masas entre isótopos, siendo esas diferencias suficientes para permitir la separación de isótopos de un mismo elemento. Sin embargo, para la mayoría de las finalidades, las propiedades químicas de los isótopos pueden ser tomadas como iguales.

La mayor importancia del método del trazador isotópico es que los isótopos de un elemento dado, sea radioactivo o estable, pueden ser identificados en una mezcla normal de los isótopos de ese elemento, conforme el mismo es encontrado en la naturaleza, posibilitando seguir el curso del elemento en los diferentes compartimientos del sistema en estudio (cualitativo y cuantitativo).



En 1941, la siguiente pregunta era realizada: ¿el oxígeno desprendido en la reacción fotosintética es originario del dióxido de carbono, del agua o de ambos? El problema fue resuelto por Rubín y colaboradores haciendo crecer algas (*Chlorella pyrenoidosa*) en solución conteniendo KHCO_3 en pH igual a 10. Cuando las algas crecieron en medio conteniendo H_2^{18}O , la razón $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ del O_2 desprendido (determinado por espectrometría de masas) fue igual a la del agua marcada con ^{18}O . Al hacer crecer las algas en medio con agua común conteniendo $\text{KHC}^{18}\text{O}_2$, el O_2 desprendido no estaba enriquecido en ^{18}O . Después de este estudio quedó esclarecido que el oxígeno de la fotosíntesis tenía como origen el agua.

Otro ejemplo clásico del uso de la técnica del trazador es la identificación de sustancias intermediarias desconocidas en cadenas de reacciones; se trata de los trabajos de Calvin y colaboradores en estudios de la fijación del dióxido de carbono en el proceso de la fotosíntesis. El uso del gas carbónico marcado con ^{14}C en experimentos con plantas (algas) expuestas a la luz, permitió la identificación de los compuestos estables derivados de la asimilación del $^{14}\text{CO}_2$, dilucidando así el ciclo de la reducción del carbono, que es llamado ciclo de Calvin-Benson, siendo uno de los aspectos más estudiados del proceso fotosintético. El método del trazador isotópico ha sido utilizado asociado a las técnicas químicas y bioquímicas como la fotografía (autoradiografía) y cromatografía, entre otras. En estudios en que son necesarias cuantificaciones, el principio de la dilución isotópica se torna importante.

Tabla 1. Isótopos estables de elementos livianos nutrientes de las plantas.

Elemento	Isótopos Estables	Abundancia Natural (%)
Hidrógeno	^1H	99,985
	^2H	0,015
Carbono	^{12}C	98,893
	^{13}C	1,107
Nitrógeno	^{14}N	99,634
	^{15}N	0,366
Oxígeno	^{16}O	99,759
	^{17}O	0,037
	^{18}O	0,204
Azufre	^{32}S	95,00
	^{33}S	0,76
	^{34}S	4,22
	^{36}S	0,02
Boro	^{11}B	80,1
	^{10}B	19,9

El método del trazador isotópico para nitrógeno

Las aplicaciones del método del trazador con el isótopo estable ^{15}N permiten evaluar las transformaciones individuales del N en el suelo, incluso cuando ocurren múltiples transformaciones simultáneamente en el medio que se estudia. El método marca el camino de los dos isótopos de N (^{15}N e ^{14}N) simultáneamente, dando informaciones acerca del sistema y estimando las tasas de transformación del N.

Las técnicas del trazador con ^{15}N , que han sido usadas en estudios de los procesos de transformación del N en el suelo, pueden ser clasificadas como: (i) técnica del trazador ^{15}N - cuando un sustrato o fuente es marcado con ^{15}N , y el movimiento del isótopo en el sistema es monitoreado en el tiempo, de forma cualitativa y/o cuantitativa; (ii) técnica de la dilución del isótopo ^{15}N - cuando un "pool" de N del suelo es marcado con ^{15}N y se monitorea la tasa a la cual cambia su contenido y enriquecimiento de ^{15}N (porcentaje de átomos), en función de la dilución por el influjo de ^{14}N ; (iii) técnica de la abundancia natural de ^{15}N - cuando leves diferencias en el enriquecimiento de ^{15}N como resultado de la discriminación biológica durante largo período, se usan para evaluar las relaciones sustrato-producto a largo plazo; (iv) técnica de la distribución de los isótopos de N - es una nueva variante de la técnica del trazador para nitrógeno y se aplica exclusivamente para la reacción de desnitrificación cuando el N del $^{15}\text{NO}_3^-$ da origen al $^{15}\text{N}_2\text{O}$ y $^{15}\text{N}_2$.

El método del trazador ^{15}N , de más amplio uso en estudios de las transformaciones del N en el suelo, contempla la adición de un sustrato- ^{15}N en un proceso de interés y se observa la acumulación del isótopo en el producto final. Los primeros estudios de las transformaciones del N en el sistema suelo-planta con el trazador ^{15}N fueron realizados usando esa técnica.

Los trabajos pioneros utilizaron ese trazador en la evaluación cualitativa de la transformación del N. Algunos ejemplos de descubrimientos que serían difíciles de ser realizados sin el uso del ^{15}N son: el uso preferencial de NH_4^+ comparado con el NO_3^- por microorganismos heterotróficos (quimiorganotróficos) del suelo; la competencia de los microorganismos nitrificadores autotróficos (quimiolitotróficos) con los quimiorganotróficos por el NH_4^+ del suelo, aún en condiciones de elevada disponibilidad de materia orgánica.

En los últimos 35 años, la técnica del trazador con el isótopo ^{15}N contribuyó decisivamente a aumentar el entendimiento sobre las transformaciones del nitrógeno en el sistema suelo-planta. El nitrógeno en la planta proveniente del fertilizante (Ndff, Nppf o Npdf), obtenido por principios de dilución isotópica, permite identificar en un producto (en la planta), la contribución de la fuente de interés aplicada al suelo, que en este tipo de estudio es marcada con el isótopo estable ^{15}N .

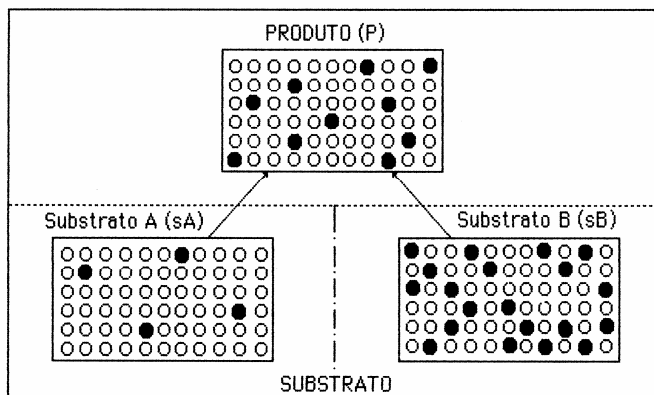
El principio de la dilución isotópica: Cuantificaciones con uso del isótopo estable ^{15}N

Cuando un producto que contiene nitrógeno es formado del sustrato A, en que los isótopos del elemento se encuentran en la relación natural (abundancia natural), y del sustrato B, que contiene los isótopos (^{15}N y ^{14}N) en proporción diferente de la natural (material marcado), como es ilustrado en la Figura 1, los balances de masa e isotópico que deben ser satisfechos están representados por las ecuaciones [1] y [2].

$$\text{QNP} = (\text{QNP})_{\text{SA}} + (\text{QNP})_{\text{SB}} \quad [1]$$

$$\text{QIP} = (\text{QIP})_{\text{SA}} + (\text{QIP})_{\text{SB}} \quad [2]$$

Significando QNP y QIP, el contenido de nitrógeno y del isótopo pesado (^{15}N) en el producto, respectivamente. Los subíndices sA y sB denotan el N o ^{15}N derivado del sustrato A y B, respectivamente.



Legenda: ○ Nutriente (N) - ● Isótopo (I)

Figura 1 : Dilución isotópica en un sistema sustrato-producto.

La abundancia (A), expresada en % de átomos del isótopo pesado (el menos abundante) en relación al número total de átomos del elemento (ej.: % de átomos de ^{15}N), es obtenida del análisis de la razón isotópica por espectrometría de masas. De ese modo, para los tres compartimientos de la Figura 1, se tienen las abundancias expresadas en términos de fracción:

$$A_p = (QIP) / (QNP) \quad [3]$$

$$A_{sA} = QI_{sA} / QN_{sA} = (QIP)_{sA} / (QNP)_{sA} \quad [4]$$

$$A_{sB} = QI_{sB} / QN_{sB} = (QIP)_{sB} / (QNP)_{sB} \quad [5]$$

Significando QI_{sA} o QI_{sB} y QN_{sA} o QN_{sB} , la cantidad del isótopo (^{15}N) y del elemento en el sustrato A o B, respectivamente.

Las igualdades previstas en las ecuaciones [4] y [5] son válidas, si se considera despreciable el fraccionamiento en los isótopos de N. Así, de las ecuaciones [2] [3] [4] y [5] se llega a la [6], denominada de ecuación de dilución isotópica:

$$A_p \cdot QNP = A_{sA} (QNP)_{sA} + A_{sB} \cdot (QNP)_{sB} \quad [6]$$

De la [1] y de la [6], se llega a la [7]:

$$(QNP)_{sB} = NPPF = [(A_p - A_{sA}) / (A_{sB} - A_{sA})] \cdot QNP \quad [7]$$

Como A_{sA} representa la abundancia natural de ^{15}N (0,366% de átomos), muchas veces la [7] es expresada en términos de porcentaje de átomos en exceso de ^{15}N , como en [8].

$$(QNP)_{sB} = NPPF = Ndff = [(A \text{ exceso})_p / (A \text{ exceso})_{sB}] \cdot QNP \quad [8]$$

Donde:

$$(A \text{ exceso})_p = A_p - A_{sA} \quad [9]$$

$$(A \text{ exceso})_{sB} = A_p - A_{sB} \quad [10]$$

En estudios con el trazador ^{15}N , se puede calcular la concentración del nitrógeno en el producto proveniente de los sustratos: $(\text{NPP})_{sB}$ y $(\text{NPP})_{sA}$, independientemente de las determinaciones de QN_{sA} , QN_{sB} y QNP , por [11] y [12].

$$(\text{NPP})_{sB} = (A \text{ exceso } ^{15}\text{N})_p / (A \text{ exceso } ^{15}\text{N})_{sB} \quad [11]$$

$$(\text{NPP})_{sA} = 1 - (\text{NPP})_{sB} \quad [12]$$

La ecuación [7] también expresa la recuperación cuantitativa del N del sustrato B (ejemplos: N-fertilizante, N de la materia orgánica) en el producto (ejemplos: N-planta, N-suelo, N-lixiviado). El cálculo del % de recuperación de N del sustrato B en el producto es realizado por la ecuación [13].

$$R = [(\text{QNP})_{sB} / \text{QN}_{sB}] \cdot 100 \quad [13]$$

donde QN_{sB} - cantidad de N en el sustrato B - es la dosis de N-fertilizante; contenido de N en el cogollo-semilla, como ejemplos.

La ecuación [8] (NPPF) es usada en las determinaciones de la recuperación cuantitativa, por ejemplo, del nitrógeno en la planta derivado del N-fertilizante aplicado al suelo (fertilización de suelo) o las hojas (fertilización foliar). La ecuación [13] es usada, considerándose los valores de NPPF y los contenidos de nitrógeno en el sustrato marcado (N-fertilizante).

Estudios con isótopos estables en el CENA

El Centro de Energía Nuclear en la Agricultura (CENA-USP), de Piracicaba, Brasil, viene desarrollando, hace más de treinta años, estudios con isótopos estables de elementos livianos, en especial en el área agronómica de fertilidad del suelo y nutrición de plantas con los isótopos de nitrógeno (^{15}N y ^{14}N). Al principio, para la realización de investigaciones, surgieron dificultades con la adquisición de compuestos marcados, los cuales solo podían ser adquiridos en el mercado internacional y a precios elevados. En los inicios de los años 70 del siglo pasado, el CENA ya tenía un espectrómetro de masas de sector magnético para realizar las determinaciones de la razón isotópica de nitrógeno ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$). En esa misma época, se inició el desarrollo de métodos para la obtención de compuestos enriquecidos en ^{15}N haciendo uso del método cromatográfico de intercambio catiónico. En la segunda mitad de esa misma década ya había sido desarrollada la tecnología para producir pequeñas cantidades del compuesto sulfato de amonio marcado con 5 % en átomos de ^{15}N , por cromatografía de intercambio iónico en columnas de resina. Actualmente, el Laboratorio de Isótopos Estables (LIE-CENA) es poseedor de tecnologías de enriquecimiento de los isótopos estables ^{15}N y ^{34}S , de tecnologías de síntesis de compuestos para uso en investigaciones como: amonio anhidro- ^{15}N , urea- ^{15}N , uran- ^{15}N , amoniaco acuoso- ^{15}N , sulfato de amonio doblemente marcado con ^{15}N y ^{34}S , sulfato de calcio- ^{34}S y los aminoácidos: glicina- y alanina- ^{15}N . El marcaje con ^{15}N de otros productos de interés para la investigación agronómica, con nitrato y glifosato, están actualmente en desarrollo.

Los estudios realizados en el CENA/Brasil, en los últimos 35 años, en fertilidad del suelo y nutrición de plantas con aplicación de la técnica del trazador con ^{15}N , pueden ser resumidos en los siguientes asuntos:

- 1) Transformaciones del nitrógeno en el suelo.
- 2) Distribución del N aplicado como materia orgánica (abono verde) y/o N-mineral, en la materia orgánica del suelo y entre fracciones orgánicas y minerales (NH_4^+ y NO_3^-).
- 3) Utilización (aprovechamiento) del N de fertilizantes por las plantas: fertilización foliar y del suelo.
- 4) Prácticas de manejo de fertilizantes nitrogenados: época de aplicación; modo de aplicación; localización; fuente de N e interacciones con factores agronómicos como: irrigación; especie de plantas; cultivar; sistemas de manejo (labranza convencional vs siembra directa), formas de preparación del suelo.
- 5) Balance de fertilizantes nitrogenados en el sistema suelo-planta.
- 6) Utilización por las plantas de N de residuos de cultivos.
- 7) Movimiento de N en el suelo: lavado de N.
- 8) Pérdidas gaseosas nitrogenadas: volatilización de amoníaco y desnitrificación.
- 9) Fijación biológica de nitrógeno.
- 10) Metabolismo nitrogenado en plantas.

Estudios relacionados a los asuntos destacados anteriormente involucraron cultivos de interés económico como maíz, trigo, arroz, poroto, soja, maní, papa, caña-de-azúcar, leguminosas abonos-verdes, gramíneas forrajeras del género *Braquiaria*, frutales como naranja y uva, café, además de especies forestales como eucalipto y pino entre otras.

Referencias

- Barrie, A & SJ Prosser 1996. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. Pp. 1-46. In: Boutton, TW & S Yamsahi (Eds.). *Mass Spectrometry of Soils*. Marcel Dekker, New York.
- Hart, SC & DD Myrold. 1996. ^{15}N tracer studies of soil nitrogen transformations. Pp. 225-245. In: Boutton, T W & S Yamasaki (Eds.). *Mass Spectrometry of Soils*, Marcel Dekker, New York.
- Hoefs, J. 1987. *Stable isotope geochemistry*. Springer-Verlag. Berlin. 241pp.
- Mulvaney, RL 1993. *Mass Spectrometry*. Pp.11-57. In: Knowles, R & TH Blackburn (eds.). *Nitrogen Isotope Techniques*. Academic Press, San Diego.
- Trivelin, PCO; E Salati & E Matsui. 1973. Preparo de amostras para análise de ^{15}N por espectrometria de massa. Piracicaba, CENA, (Boletim Técnico, 2). 41pp.
- Wolf, G. 1969. *Isotopes in biology*. Academic Press, New York. 173pp.

RETROSPECTIVA DEL EMPLEO DE ^{15}N EN ESTUDIOS AGRONÓMICOS CON ÉNFASIS EN SUELOS Y CULTIVOS DE LA REGIÓN SEMIÁRIDA PAMPEANA

Ramón A. Rosell*

Introducción

El isótopo estable ^{15}N se descubrió alrededor del año 1930. En la década de 1940 se desarrolló una tecnología de enriquecimiento del N con ^{15}N , lográndose su venta comercial pese a su alto costo. En Los Alamos Scientific Laboratory (EE.UU.) se desarrollaron procedimientos que enriquecieron compuestos con ^{15}N con casi 100% de pureza. En los años 70 ese Laboratorio inició la producción de sulfato de amonio marcado a un precio razonable, el cual ha disminuido gradualmente hasta la actualidad.

Bartolomew *et al.* (1950) fueron los pioneros de una serie de experiencias a campo con ^{15}N . En 1962 la FAO (Food and Agriculture Organization) y el Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA), Viena, Austria, realizaron una serie de experimentos en varios países con el objeto de establecer la exactitud y precisión de las determinaciones de ^{15}N . Se estudiaron la productividad del arroz, maíz y trigo, existiendo para cada uno un Informe Técnico. Los temas estudiados fueron:

- Enriquecimiento mínimo del ^{15}N para producir diferencias en las plantas. Se estableció que 1% de átomos de ^{15}N era suficientemente sensible.

- Cantidad de la aplicación de ^{15}N , momento de aplicación, manejo del agua, etc.

Los programas de estudio sobre estos cultivos usando ^{15}N permitieron obtener grandes progresos en la productividad de los mismos y contribuir al éxito de la “revolución verde”.

El empleo de técnicas isotópicas con elementos estables (no radiactivos) progresó notablemente en las últimas décadas. Una de las razones es que permiten el avance de las investigaciones sin afectar el ambiente, debido a que no existe el peligro de la radiación durante su utilización.

En 1963 la Tennessee Valley Authority (TVA) y la Atomic Energie Commission (AEC) ejecutaron conjuntamente un programa de producción y uso de ^{15}N lográndose, entre otras cosas, comprobar que materiales empobrecidos en ^{15}N eran tan efectivos como aquellos enriquecidos en ^{15}N (respecto a la abundancia natural).

Desde 1964 a la fecha, se amplió la versatilidad de la aplicación del ^{15}N en experimentos con parcelas a campo y en invernáculo, en diversos países europeos y EE.UU.

En EE.UU., Hauck y Kilmer (1975) compararon experiencias similares en suelos contrastantes (franco arcillo limoso vs. areno limoso), utilizando compuestos enriquecidos y empobrecidos en ^{15}N . En ambos casos los resultados fueron similares, situación que demostró la especificidad del uso de ^{15}N . A partir de allí, las investigaciones basadas en el uso de ^{15}N se profundizaron y aceleraron en las últimas décadas, apoyado esto por el avance tecnológico de los instrumentos de cuantificación de las relaciones isotópicas. Los estudios se proyectaron a problemas de suelos, plantas, compuestos orgánicos, fertilizantes, fisiología animal y cualquier otro sistema con presencia de N (Nielsen y MacDonald, 1978).

* LAHBIS, Dto. de Agronomía, UNS y CONICET 8000 Bahía Blanca. E-mail: rosell@criba.edu.ar

Creación del LANAIS ¹⁵N

Las investigaciones con ¹⁵N en el Laboratorio de Humus y Biodinámica del Suelos (LAHBIS) del Departamento de Agronomía de la UNS, se iniciaron en el año 1977. La aplicación de esta metodología se resolvió por medio de dos Convenios celebrados entre el LAHBIS y:

- (a) el Laboratorio de Química Agrícola de la Universidad de Bohn (Alemania), 1976-1983,
- (b) el Centro de Energía Nuclear en Agricultura (CENA), con sede en Piracicaba (Brasil), 1984-1993, y
- (c) el 24 de noviembre de 1992 se creó el Laboratorio Nacional de Investigación y Servicios (LANAIS ¹⁵N) mediante un convenio UNS-CONICET, con sede en el Departamento de Agronomía de la UNS. Merced a este Convenio, el CONICET proporcionó los fondos para la adquisición de un espectrómetro de emisión para ¹⁵N, JASCO N150 (Japón), puesto en funcionamiento en 1994.

Este equipamiento participa anualmente de un programa externo de control de calidad entre laboratorios (EQA), llevado a cabo por el Organismo Internacional de Energía Atómica con sede en Viena, Austria.

Además, el LANAIS ¹⁵N cuenta con: a) un analizador Automático de Carbono LECO, CR-12 (EE.UU.), y b) un analizador Automático de Azufre LECO, SC-132 (EE.UU.).

Investigación científico-tecnológica del LANAIS ¹⁵N

1.- *Rotación ajo-moha.* Se evaluaron la recuperación y balance de ¹⁵N-urea y ¹⁵N-sulfato de amonio aplicados al ajo bajo riego, y su efecto residual sobre el cultivo de moha. Esta experiencia fue realizada en lisímetros de pesada diferencial, durante los años 1979/80/81 (a).

2.- *Rotaciones trigo-pastoreo con bovinos y trigo-trigo.* Se cuantificó la recuperación de ¹⁵N-urea, aplicada en forma total o parcial en siembra y macollaje (diseño sin interacción fertilizante-planta). La experiencia fue realizada en micro-parceladores ubicados dentro de parcelas de campo. 1981/82/83 (a).

3.- *Trigo continuo.* Se estudiaron la absorción durante el ciclo del cultivo, removilización, recuperación y balance de ¹⁵N-sulfato de amonio, aplicado en forma parcial (diseño sin interacción fertilizante-planta) en siembra, anthesis y hoja bandera visible, durante dos ciclos consecutivos. En el tercer año, se evaluó el efecto residual de ¹⁵N sobre un nuevo cultivo de trigo. La experiencia fue realizada en lisímetros de campo. 1983/84/85 (b)

4.- *Trigo.* Esta experiencia se realizó en forma similar a la anterior, pero utilizando un diseño con interacción fertilizante-planta, adicionando el ¹⁵N-sulfato de amonio en forma total en siembra y elongación del tallo. 1987/88 (b)

5.- *Trigo con antecesor sorgo.* Se evaluaron la recuperación y balance de ¹⁵N-urea adicionado al trigo en siembra directa, y los efectos sobre la productividad. Esta experiencia se realizó en micro-parceladores ubicado en parcelas de campo. 1987/89 (a)

6.- *FBN en alfalfa crecida sola o en asociaciones con pasto llorón.* Esta experiencia se realizó bajo condiciones de campo, utilizando al pasto llorón puro y asociado como planta de referencia y el método de la dilución de ¹⁵N. 1994/95 (c)

7.- *Plantas de referencia en la estimación de la fijación biológica de N en alfalfa.* Se estudiaron los efectos del uso de pasto llorón, pasto ovillo y raigrás como plantas de refe-

rencia para cuantificar la FBN en alfalfa a lo largo de varios cortes, por el método de dilución de ^{15}N . El estudio se realizó en macetas. 1996/97 (c)

8.- *FBN en alfalfa y su transferencia al pasto ovinillo asociado*. Se evaluó la transferencia potencial del N fijado por alfalfa a la gramínea y se compararon los resultados de FBN de alfalfa asociada con aquellos obtenidos de alfalfa pura. La experiencia se realizó en macetas y se utilizó el método de dilución de ^{15}N . 1998 (c)

9.- *Cebada cervecera*. Absorción y removilización de ^{15}N -urea aplicado a la siembra. Estudio en macetas con dos suelos de áreas cebaderas de la Pcia. de Bs. As. 1999 (c)

10.- *Cebolla*. Eficiencia de uso de ^{15}N -sulfato de amonio, adicionado en dos momentos del ciclo y susceptibilidad a la aplicación temprana de herbicida acilofén. Estudio en macetas. 2002 (c)

11.- *Cebada cervecera*. Dinámica de la absorción, removilización y eficiencia de uso de diferentes dosis de ^{15}N -urea, adicionado a la emergencia y macollaje, en suelos de ocho sitios cebaderos de la Pcia. de Bs. As. Estudio en micro parcelas dentro de parcelas de campo. 2000/03 (c)

Nota: (a), (b) ó (c) indica el Convenio marco que facilitó la ejecución del respectivo proyecto.

Bibliografía

- Hauck R.D. y Kilmer V.J. 1975. Cooperative research between the Tennessee Valley Authority and Land-Grant Universities on nitrogen fertilizer use and water quality. Second International Conf. in Stable Isotopes, Oakbrook, Illinois, Oct. 20-23.)
- Bartolomew W.V., Nelson L.B. and Werkman C.N. 1950. Agr. J., 42:100-103.
- Nielsen D.R. and Mac Donald J.G. 1978. Nitrogen in the Environment. Academic press. 526pp.

Publicaciones del LAHBIS

- MA Lázari; Rosell RA & Landriscini MR. 1978. Productividad del ajo. I. Fertilización nitrogenada y riegos. Turrialba (Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, OEA, Costa Rica) 28, 3, 245-251 (cit. Soils and Fertilizers, 1979, Vol. 42, No. 12, 8401).
- RA Rosell; Martínez R, Sommer K & Miranda R. 1982. Relationship of crop rotation and nitrogen availability for wheat in semiarid Argentina. Ninth International Plant Nutrition Colloquium. Warwick Univ., Coventry, U.K. Plant Nutrition 1982 (2), Comm. Agric. Bureau, 551-558.
- MA Lázari. 1982. Distribution of ^{15}N fertilizer in field lysimeters sown with garlic (*Allium sativum*) and foxtail millet (*Setaria itálica*). Plant and Soil 67: 187-191.
- Lázari M.A., Rosell R.A. & Landriscini M.R. 1983. Balance de nitrógeno en rotación ajo (*Allium sativum*)-moha de Hungría (*Setaria italica*) usando fertilizantes marcados con ^{15}N . X° Congreso Argentino y VIII Latinoamericano de la Ciencia del Suelo. Mar del Plata.
- MA Lázari; Rosell RA & Landriscini MR 1984. Absorción de nitrógeno de los fertilizantes en rotación *Allium sativum*-*Setaria itálica* en lisímetros. Turrialba 34 (2), 163-171.

- MA Lazzari; Laurent GC & Victoria RL 1984. Use of fertilizer nitrogen by wheat in semi-arid region of the Pampa, Argentina. In: Cerri C. y Athié D. (Eds.). Proceedings of the Regional Workshop on Nuclear Techniques in Crop Production, OEA/CIEN CENA/USP: 173181.
- R Martínez; Rosell RA & Miranda R. 1985. Manejo del suelo y nitrógeno en trigo. *Ciencia del Suelo* 3 (1-2), 109- 114.
- RA Rosell; Martínez RM & Sommer K. 1985. Soil management and use of N-labelled fertilizer for wheat in semi-arid Argentina. *Anales de Edafología y Agrobiología, España*, Tomo XLIV (7-8), 1069-1080 (cit. *Soils and Fertilizers*, Vol. 50, No 6, 5667).
- RA Rosell; Martínez RM & Sommer K. 1986. Wheat N studies in semi-arid Argentina, I. Urea-N uptake, Ndff, and recovery. *Transactions XIII Congreso la Intern. Soil. Soc. Hamburgo, Ag.* 13-20, 939-940.
- GC Laurent & Lazzari MA 1986. Absorción del ^{15}N del fertilizante por la planta de trigo en la región semiárida pampeana. *Actas I Congreso Nacional de Trigo, Pergamino. Vol. III: 129142.*
- MA Lazzari & Rosell RA 1986. Distribución de fertilizantes marcados con ^{15}N en la rotación ajomoha. *Revista Facultad de Agronomía*, 7 (23): 105110.
- RA Rosell; Martínez RM & Sommer K. 1987. Wheat soil management and N fertilization in semi-arid Argentina. *Anal. Edafol. Agrobiol. (España)*, XLVI (11-12), 1319-1334 (cit. *Soils and Fertilizers* 1990, Vol. 53, No 6, 7894).
- GC Laurent; Lazzari MA & Victoria RL 1988. Residual effects of ^{15}N labelled fertilizer in wheat at various stages of growth, in semi-arid Argentina. In: *Challenges in Dryland Agriculture. A Global Perspective (Texas, USA): 452454.*
- MA Lazzari; Laurent GC & Victoria RL 1991. Fate of autumn and spring applications of labelled ammonium nitrogen during growth of wheat in semi-arid Argentina. In: *Stable Isotopes in Plant Nutrition, Soil Fertility and Environmental Studies. IAEA, STI/PUB/845: 397400.*
- GC Laurent & Lazzari MA 1991. Respuesta del trigo a las aplicaciones parciales de nitrógeno durante tres años bajo condiciones semiáridas. *Suelo y Planta (España)* 1: 165177.
- MA Lazzari; Laurent GC & Victoria RL 1991. Destino del ^{15}N del fertilizante aplicado al trigo durante dos años consecutivos en condiciones semiáridas. *Suelo y Planta (España)* 1: 179188.
- Lazzari, M.A., Laurent, G.C. y Victoria, R.L. 1991. Estudio con trazador sobre la disponibilidad de nitrógeno residual. *Suelo y Planta (España)* 1: 189194.
- MA Lazzari. 1992. Estudios de balance de nitrógeno usando ^{15}N . *Revista Facultad de Agronomía, UBA, Bs. As.* 13(1):127136.
- RA Rosell; Galantini JA; Iglesias JO & Miranda R. 1992. Effect of sorghum residues on wheat productivity in semi-arid Argentina. I. Stover decomposition and N distribution in the crop. *Sci. Total Environ.* 117/118, 253-261.
- RA Rosell; Galantini JA & Iglesias JO. 1996. Effect of sorghum residues on wheat productivity in semi-arid Argentina. II. N application to stover and effects on yield parameters (C.E. Clapp et al., Eds. *Humic Substances and Organic Matter in Soil and Water Environments: Characterization, Transformations and Interactions. Int. Humic. Subst.*

- Soc., St. Paul, Minnesota) 153 -159.
- G Laurent; Lázzari A & Victoria R. 1996. Balance de nitrógeno del fertilizante aplicado al trigo en dos épocas diferentes. *Ciencia del Suelo* 14:7-11.
- MA Lázzari; Gargano A. & Adúriz M. 1996. ^{15}N estimates of dinitrogen fixation in alfalfa-weeping lovegrass swards under field condition. *Rev. Arg. Microbiol.* 28:175-181.
- G Sierra; Lázzari MA & Gómez M. 1999. Uso de distintas plantas de referencia en la estimación de la fijación de nitrógeno en alfalfa por el método de dilución isotópica. *Ciencia del Suelo* 17(2):1-8.
- MA Lázzari & Sierra G. 2000. Dinitrogen fixation in alfalfa grown in monoculture and its transfer to orchardgrass in mixed sward. Fourth European Nitrogen Fixation Conference. September 16-20, Sevilla, España. *Congresos y Jornadas* 56/00:330.
- G Sierra; Lázzari MA & Gargano G. 2000. Fijación de nitrógeno en alfalfa y su transferencia al pasto ovinillo asociado. *Ciencia del Suelo* 18(2): 140-143.
- MA Cantamutto; Möckel FE & Lázzari MA 2000. Nitrogen fertilization of winter cereals in the Southern Semiarid Pampa of Argentina. 3rd. International Crop Science Congress 2000 - ICSC. Hamburgo, Alemania. 17-22 August. Book of Abstracts 16.
- MA Lázzari; Landriscini MR; Cantamutto MA; Miglierina AM; Echagüe ME & Rosell RA 2002. Absorción de nitrógeno por cebada cervecera en dos suelos del sur bonaerense, Argentina. *Ciencia del Suelo* 19(2): 101-108.
- MA Lázzari. 2004. Isótopos estables en el manejo integrado de suelos, agua y nutrientes. *AgroUNS* 1: 13-15.
- MA Lázzari; Landriscini MR & Echagüe ME 2005. Patrones de absorción de nitrógeno nativo y del fertilizante en cebada cervecera con fertilizaciones cercanas a la siembra. *Ciencia del Suelo* 23(1): 69-77.