



CÍTRICS

Mejora de la eco-eficiencia de la fertilización nitrogenada en cítricos con el inhibidor de la nitrificación (DMPP)

J. Bañuls, A Quiñones,
E. Primo Millo
y F. Legaz

INSTITUTO VALENCIANO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS.



En las zonas de agricultura intensiva de la Comunidad Valenciana se aportan grandes cantidades de fertilizantes y agua de riego, y esto constituye el principal origen de la contaminación por nitrato de los acuíferos. En la zona litoral de nuestra Comunidad, el 66% de pozos de regadío superan las 50 ppm de nitrato, excediendo el límite recomendado por la UE (Legaz y Primo-Millo, 1992). Cuando se suministra el N en forma amoniacal se fija en las posiciones de intercambio catiónico de las arcillas o de la materia orgánica y posteriormente se transforma rápidamente en nitrato por las bacterias nitrificantes (McCarty y Bremner, 1989). En condiciones adecuadas de temperatura, de aireación y de humedad del suelo, la nitrificación puede durar de 20 a 40 días (Serna et al., 2000; Bañuls et al., 2000); siendo más rápido en verano, que es cuando se realizan los mayores aportes de fertilizantes.

Parte de este nitrato se pierde por lixiviación, pasando a contaminar los acuíferos y además, esto conlleva una baja eficiencia de los fertilizantes nitrogenados (Feigenbaum et al., 1987; Martínez et al., 2002). Se sabe que la utilización o eficiencia del uso del N del fertilizante en los cítricos está en torno al 60 % (Legaz & Primo-Millo, 1988); así pues, por razones económicas y ecológicas, un aumento de esta eficiencia es un objetivo importante de nuestra agricultura.

Desde hace tres décadas se viene investigando sobre **compuestos inhibidores de la nitrificación**, capaces de retrasar la oxidación biológica del amonio a nitrato, cuando se adicionan a fertilizantes nitrogenados. Algunos trabajos indican que la mayor respuesta de los inhibidores está asociada con las condiciones climáticas y de suelo que favorecen las pérdidas de N por desnitrificación y lixiviación (Liu et al., 1984; Rochester et al., 1996). Sin embargo, tanto el riego en exceso como las lluvias intensas favorecen las pérdidas de N por lavado.

A través del uso de inhibidores de la nitrificación se podría mejorar la eficiencia del N aplicado, al mantener el amonio del fertilizante

durante más tiempo en el suelo y, por otro lado, se reducirían las contaminaciones tanto de los acuíferos por lixiviación de nitrato, como de la atmósfera por emisión de gases nitrosos. Además, esta nutrición amoniacal parcial inducida por el uso de estos inhibidores ofrece las siguientes ventajas: a) las plantas necesitan menos energía para absorber amonio que nitrato (Wang et al., 1994); b) el amonio puede usarse directamente en el metabolismo de las proteínas; c) el amonio aumenta el contenido de poliaminas (Gerendas y Sattelmacher (1995), citoquininas (Wang y Below (1996) y giberelinas (Ali et al., 1998). Las primeras se conocen como mensajeros secundarios de la inducción floral y las otras dos son importantes fitohormonas que retardan la senescencia y degradación de la clorofila y, d) el amonio puede disminuir el pH del suelo en la rizosfera, lo cual mejoraría la disponibilidad de micronutrientes para la planta (Thomson et al., 1993).

Así pues, la creciente preocupación por el deterioro del medio ambiente induce al uso de estos inhibidores de la nitrificación que proporcionan fertilizantes llamados eco-eficientes, que sin reducir la

producción y calidad del fruto en una agricultura sostenible y competitiva, tienen menor impacto medioambiental.

En estudios previos en cítricos, se ha demostrado que el inhibidor de la nitrificación diciandiamida (DCD) añadido al nitrosulfato

amónico, mejoraba la absorción de nitrógeno y disminuía las pérdidas de nitrato (Serna et al., 1994).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de un nuevo inhibidor, el **3,4-dimetilpirazol fosfato (DMPP; Fig.1)** para disminuir la nitrificación del amonio

del fertilizante y, como consecuencia de ello, mejorar la utilización del N aplicado y reducir las pérdidas de N en el cultivo de los cítricos tanto en condiciones de invernadero como de campo.



Figura 1. Efecto del DMPP sobre la transformación de amonio a nitrato

1. ENSAYO CON PLANTAS JÓVENES EN CONDICIONES DE INVERNADERO

Se utilizaron plantas de dos años de edad de Valencia late (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) injertadas sobre citranje Carrizo (*Citrus sinensis* x *Poncirus trifoliata*) cultivadas en condiciones de invernadero (Foto 1). Las temperaturas variaron entre 16°C y 20°C por la noche y 26°C y 32°C durante el día. Para cada planta se utilizó una maceta de 14 l llena con un suelo franco-arenoso (76% arena, 17% limo y 7% arcilla), pH = 7.8, y niveles bajos en CaCO₃ (<1%) y materia orgánica (<0.5%). Los contenidos en fósforo (51 ppm) y potasio (266 ppm) asimilables estaban en el rango óptimo según Legaz y Primo-Millo (1988).

Las plantas se fertilizaron con 12 g N/maceta aplicados en forma de SA (sulfato amónico) (21%N) sólo o con SA + DMPP al 1.0%

(respecto al N-NH₄⁺, esto representa 100 mg de DMPP por cada g de N) inyectados en 6 aplicaciones a intervalos de 20 días, entre julio y octubre. Las plantas se regaron

cada 10 días con 2 l de agua por maceta o agua más los productos de los tratamientos inyectados en un sistema de riego por goteo. Después de la 3ª y 6ª aplicación de



Foto 1. Diseño experimental en invernadero controlado.

N, las plantas se regaron con un exceso de agua para provocar pérdidas de N en la solución de drenaje. Se efectuaron 3 tratamientos con cuatro repeticiones de 1 planta por tratamiento. Las plantas control no se fertilizaron y solo recibieron el N procedente del agua de riego.

Las muestras de suelo se sacaron entre 0 a 20 cm de profundidad cada 20 días (4 días después de cada aplicación y 4, 24 y 44 después de la última) y se determinaron las concentraciones de amonio y nitrato (Bremner, 1965a). Al final del experimento se arrancaron las plantas, se separaron en fracciones (hojas, ramas-tronco y raíces) y se determinó su contenido de N por el método semimicro de Kjeldahl (Bremner, 1965b)

1a. Crecimiento y contenido de nitrógeno en las plantas

El crecimiento fue significativamente superior en las plantas fertilizadas, el mayor peso seco correspondió al tratamiento con inhibidor (Tabla 1). Así mismo, las concentraciones y contenidos de N alcanzaron valores significativamente más altos con la aplicación de SA+DMPP. Además, la aplicación del DMPP provocó una mayor absorción de nitrógeno procedente del fertilizante en los diferentes órganos de las plantas (datos no mostrados).

1b. Evolución del nitrógeno amoniacal y nítrico en el suelo

Cuatro días después de la primera aplicación de abono, la concentración de $N-NH_4^+$ era significativamente superior en el suelo tratado con DMPP que en el tratado sólo con SA (Fig. 2). Esto indica que parte del amonio proce-

Tabla 1. Efecto de los tratamientos sobre el peso seco y el contenido de N en la planta completa.

Tratamientos	Peso seco (g) ^z	%N (peso seco)	N (mg)
Control	205.9a	1.20a	2460a
SA (Sulf. amónico)	244.7b	1.63b	3981b
SA + DMPP	261.5c	1.84c	4811c

z: Letras distintas en la misma columna denotan diferencias significativas según el test de Duncan (P<0.05)

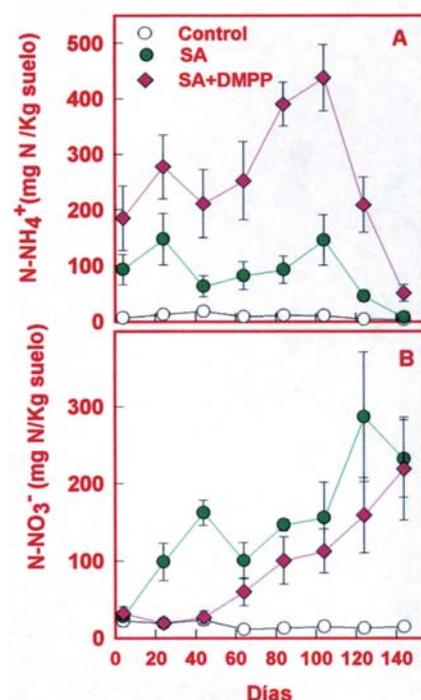


Figura 2. Concentración de amonio y nitrato en el suelo después de sucesivas aplicaciones.

dente del SA se nitrifica en un corto período de tiempo (4 días). En las determinaciones hechas después de las sucesivas aplicaciones de N (24, 44, 64, 84 y 104 días más tarde), los niveles de nitrato aumentaron progresivamente en ambos tratamientos, siendo bastante más altas las concentraciones de nitrato en el suelo no tratado con DMPP. Las concentraciones de $N-NH_4^+$ decayeron rápidamente después de la última aplicación (104 días) en ambos tratamientos y transcurridos 44 días, los niveles de amonio fueron simi-

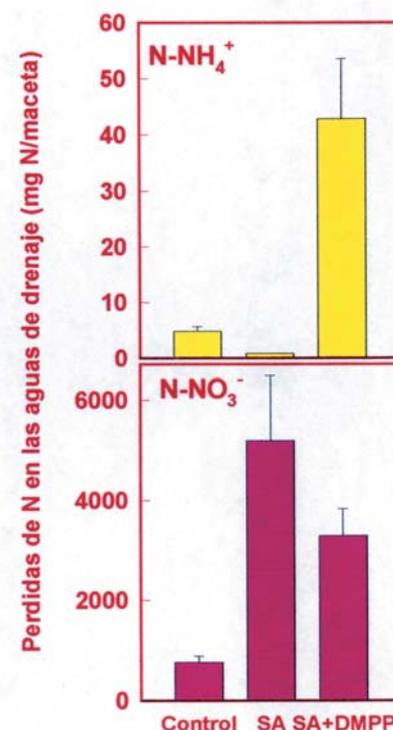


Figura 3. Pérdidas de N en las aguas de drenaje por lixiviación

lares en el control y el tratamiento con SA; pero con el inhibidor la concentración de amonio aún se mantuvo significativamente superior.

1c. Pérdidas de nitrógeno por lavado

Las aguas de drenaje recogidas en las macetas tratadas contenían niveles muy altos de nitrato y muy bajos de amonio (Fig.3). La cantidad total de nitrato lixiviado con el tratamiento SA+DMPP fue mucho

más baja que la encontrada en las macetas fertilizadas sólo con SA. Por el contrario, la cantidad de amonio en las aguas de drenaje de las macetas tratadas con DMPP superaba ampliamente al N lavado en el tratamiento con SA.

La lixiviación originó una pérdida total de nitrógeno de 756, 5190 y 2730 mg para los tratamientos control, SA y SA+DMPP, respectivamente. De modo que, restando el N lixiviado en las macetas control se obtuvieron unas pérdidas del 37.0 % en el tratamiento sin inhibidor y de 16.5 %, en el tratamiento con inhibidor, con respecto al N aplicado.

Los resultados de este ensayo previo en condiciones de invernadero mostraron una notable reducción en la pérdida de N por lixiviación asociada a la inhibición de la nitrificación. Una mejora de la eficiencia del uso de N suministrado, posiblemente debido a que el mantenimiento de niveles altos de amonio en el suelo fertilizado con SA+DMPP favorece la absorción de N por las plantas, ya que los cítricos son capaces de absorber amonio a mayor velocidad que el nitrato (Serna et al, 1992).

2. ENSAYO CON ÁRBOLES ADULTOS EN CONDICIONES DE CAMPO

Se utilizaron árboles de 3.5 m de diámetro de copa, de la variedad Clementina de Nules (*Citrus Clementina* Hort. ex. Tan) injertados sobre citrange Carrizo (*Citrus sinensis* x *Poncirus trifoliata*) y marco de plantación de 4 m x 5 m (Foto 2). El suelo era de carácter básico (pH = 8.2), con un contenido bajo en carbonato cálcico, textura franco-arenosa, bajo contenido en materia orgánica y niveles

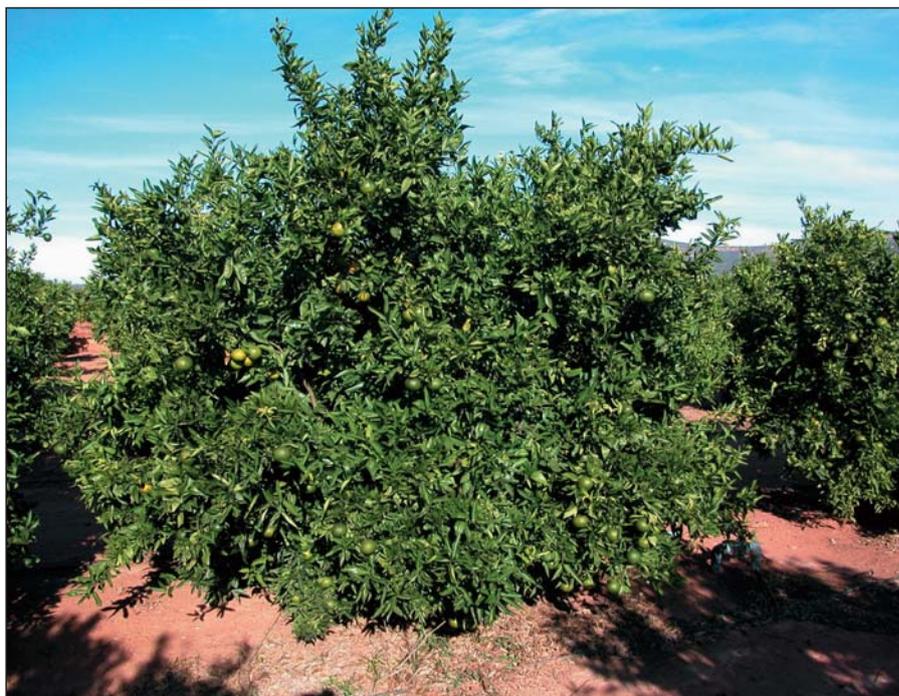


Foto 2. Ensayo en condiciones de campo en una parcela comercial de Puzol.

óptimos en fósforo y potasio asimilables.

Las plantas se fertilizaron con 400 g N/árbol aplicados en forma de SA (21%N) sólo o con DMPP al 0.5% (respecto al $N-NH_4^+$ o sea 50 mg de DMPP por cada g de N) más el N aportado por el agua de riego. Las dosis de N y de N+DMPP se distribuyeron mensualmente en los porcentajes siguientes: marzo (5), abril (10), mayo (15), junio (20), julio (20), agosto (15), septiembre (10) y octubre (5), siguiendo la distribución estacional establecida para cítricos por Legaz & Primo-Millo (1983).

Las plantas control sólo recibieron el N suministrado por el agua de riego que correspondió a 275 ± 15 g N/árbol calculado a partir de la concentración de nitrato del agua del pozo (Martínez et al., 2002). La fertirrigación a goteo básica de P_2O_5 , K_2O y Fe se efectuó en función del diámetro de copa y del estado nutritivo de la plantación (Legaz y Primo-Millo 2000). Todos los años se aplicaron correctores de cinc y manganeso por vía foliar.

El riego se efectuó con un sistema localizado con 2 líneas portagoteros por hilera y 8 emisores de 4 litros por planta. El volumen de agua aportado en cada riego se calculó con la ET_0 de Penman-Monteith (Allen et al., 1998) utilizando los datos de la estación agroclimática del IVIA y la K_C correspondiente al diámetro de copa y al marco de plantación citados (Castel, 1991). Estas se cubrieron con la lluvia y con el agua de riego, que ascendió a $3616 \text{ m}^3/\text{ha}/\text{año}$. Las soluciones de N y N+DMPP se inyectaron en las líneas portagoteros mediante bombas dosificadoras a las frecuencias de 1, 2 o 4 veces al mes. Se compararon 9 tratamientos con 4 repeticiones de 4 árboles por tratamiento, distribuidos al azar en el área experimental:

N₀. Un control sin nitrógeno (sólo el N aportado por el agua de riego)

SA (**A₀**) y SA+DMPP (**A₁**) en 4 aplicaciones iguales al mes

SA (**B₀**) y SA+DMPP (**B₁**) en 2 aplicaciones iguales al mes

SA (**C₀**) y SA+DMPP (**C₁**) en

1 aplicación al mes

Sólo el primer año, se determinó la dinámica de las concentraciones de NO_3^- y NH_4^+ en el suelo hasta una profundidad de 20 cm. Las muestras de suelo se tomaron al final de cada mes y siempre a los 28, 14 y 7 días (después de la última aplicación) para las frecuencias de aplicación de 1, 2 y 4 respectivamente.

Para evaluar la influencia de los tratamientos sobre la concentración foliar de N se tomaron mensualmente muestras de hojas de brotes de la primavera sin fruto terminal, de 6 a 8 meses de edad, según las especificaciones recomendadas por Legaz et al., (1995).

En cada campaña se tomaron muestras de fruto en el momento de la recolección, y se determinaron los parámetros de producción y calidad del fruto según Serna et al., (1996).

2a. Evolución del N en las hojas de la brotación de primavera

La concentración foliar de N fue mayor en los tratamientos con SA que llevaban incorporado el DMPP para todas las frecuencias de aplicación estudiadas y durante los años 1999 a 2001 (Fig. 4). Posiblemente debido a que la concentración temporal de amonio se mantuvo más alta en el suelo tratado con DMPP y esto podría favorecer la absorción del amonio (Serna et al., 1996, 2000). Esta tendencia también se observó en la campaña del 2000 (datos no presentados). De mayo a junio el nivel foliar de N mantuvo una tendencia decreciente, debido a que las hojas de la brotación de primavera se transforman en fuente de N en el período de cuajado del fruto (Legaz et al., 1982). Posteriormente, la concentración de N aumentó

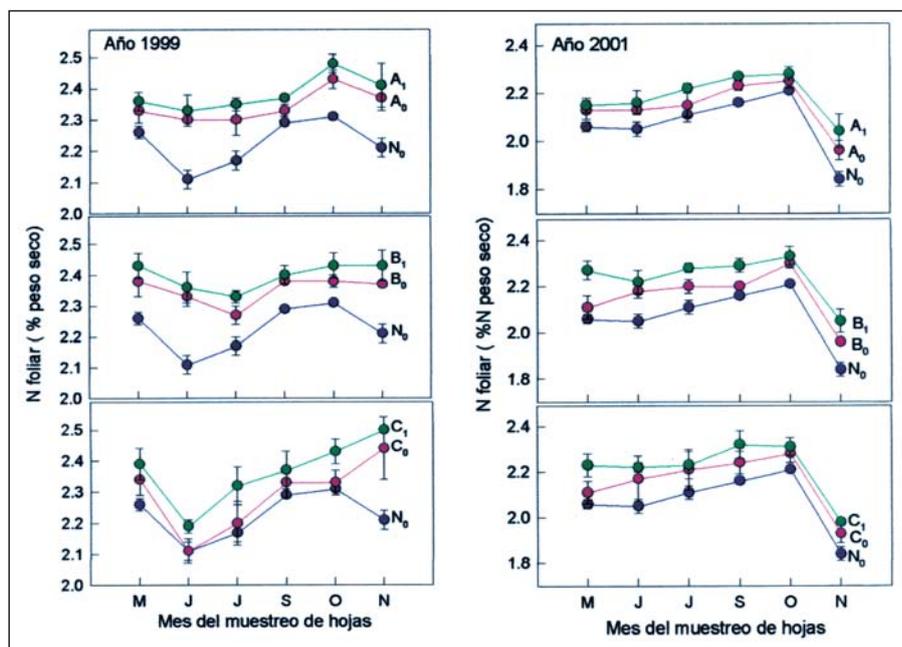


Figura 4. Evolución de %N en las hojas de la brotación de primavera a lo largo del período de aplicación de abonado.

progresivamente hasta octubre, como consecuencia de que en esta época tiene lugar una mayor tasa de absorción de N por la planta (Legaz y Primo-Millo, 1983).

Sin embargo, a partir de octubre, la tendencia de la concentración foliar de N va a depender de la cantidad de N aportada y, sobre todo, de las condiciones climáticas. Con relación a esto, el marcado descenso de N observado en todos los tratamientos entre octubre y noviembre en el año 2001 posiblemente se originaron por: 1) las intensas lluvias producidas en estos meses (430 mm) situaron por debajo del sistema radicular el ion nitrato, 2) en esta época se dejó de aportar el N procedente del agua de riego, y 3) el desarrollo de la brotación de otoño removilizó N de las hojas de primavera.

Por otro lado, las hojas de las plantas tratadas con el inhibidor en condiciones de invernadero o de campo presentaron un color verde

más intenso. En este sentido, Thomson et al., (1993) sugieren que la nutrición amónica disminuye el pH en la rizosfera y esto puede favorecer la absorción y transporte de Fe en la planta. Serna et al., (1992) también encontraron un aumento en la concentración foliar de Fe al aumentar la relación amonio/nitrato en cultivo hidropónico de arena y esto explicaría el aumento en el color verde de las hojas.

Estos hallazgos indican que el DMPP aumentó la eficiencia de utilización del N y del Fe por las plantas.

2b. Producción y calidad de fruto

La producción de los árboles tratados con SA+DMPP presentó un incremento entre un 9 a 13% comparados con los que solo recibieron el SA (Tabla 2); la misma

Tabla 2. Efecto de los tratamientos sobre la producción y calidad de color del fruto en Clementina de Nules.

Tratamientos	N ₀	A ₀	A ₁	B ₀	B ₁	C ₀	C ₁	Sig.
Producción	30a	32ab	35cd	34.5	37d	31a	35cd	*
(tn fruta ha ⁻¹) ^z Ea ^y	-	1.0a	2.5b	2.0b	3.5c	0.5a	2.5b	*
Peso fruto (g)	101	103.4	100.0	97.9	97.7	102.3	98.2	N.S.
Nº frutos/árbol	599a	618ab	706bcd	704bcd	777de	635abc	716cd	*
Índice color	6.6	4.7	4.2	6.9	5.1	6.5	4.1	N.S.

z: Media de los valores de los tres años de ensayo.

* letras distintas en la misma fila denotan diferencias significativas según el test de Duncan (P<0.05).

N.S.: no hay diferencias significativas.

y: Ea: Eficiencia agronómica = $P - P_0 / \text{dosis N aplicada (200 Kg N/ha)} \times 100 (\%)$.

donde P es la producción para cualquier tratamiento y P₀ es la producción para el tratamiento control.

tendencia se observó cuando la producción se expresó como eficiencia agronómica (Ea). Este índice nos muestra que con el uso del DMPP se aumentó el rendimiento por cada unidad de fertilizante aplicada. El número de frutos por árbol aumentó de forma significativa con la adición del DMPP para todas las frecuencias estudiadas.

Esto sugiere que el inhibidor indujo un cuajado más efectivo. Este hecho y el aumento en la producción originaron una ligera reducción en el peso medio del fruto, aunque siempre se mantuvo dentro de un buen calibre comercial.

En este sentido, Serna et al., (1992) también encontraron un mayor número de frutos recolectados conforme aumentó la proporción amonio/nitrato en la solución nutritiva. Los mismos autores, en cítricos tratados con DCD, también obtuvieron un aumento de la producción del 15% debido a un incremento en el número de frutos (Serna et al., 1996).

El índice de color decreció ligeramente en los frutos de los árboles tratados con el inhibidor. Esto indica que los frutos presentaron un ligero retraso en su cambio de coloración. Serna et al., (1996) también encontraron un menor índice de color en los frutos de los árboles cultivados con una mayor proporción amonio/nitrato. Huff (1983)

observó que el amonio aplicado a la piel de cítricos retardaba la degradación de la clorofila.

Esto explicaría que los frutos de los árboles tratados con el inhibi-

dor presentaron un color más verdoso (Foto 3). Los tratamientos efectuados no afectaron de forma significativa a otros parámetros de calidad del fruto como porcentaje



Foto 3. Frutos tratados con DMPP al cambio de color.

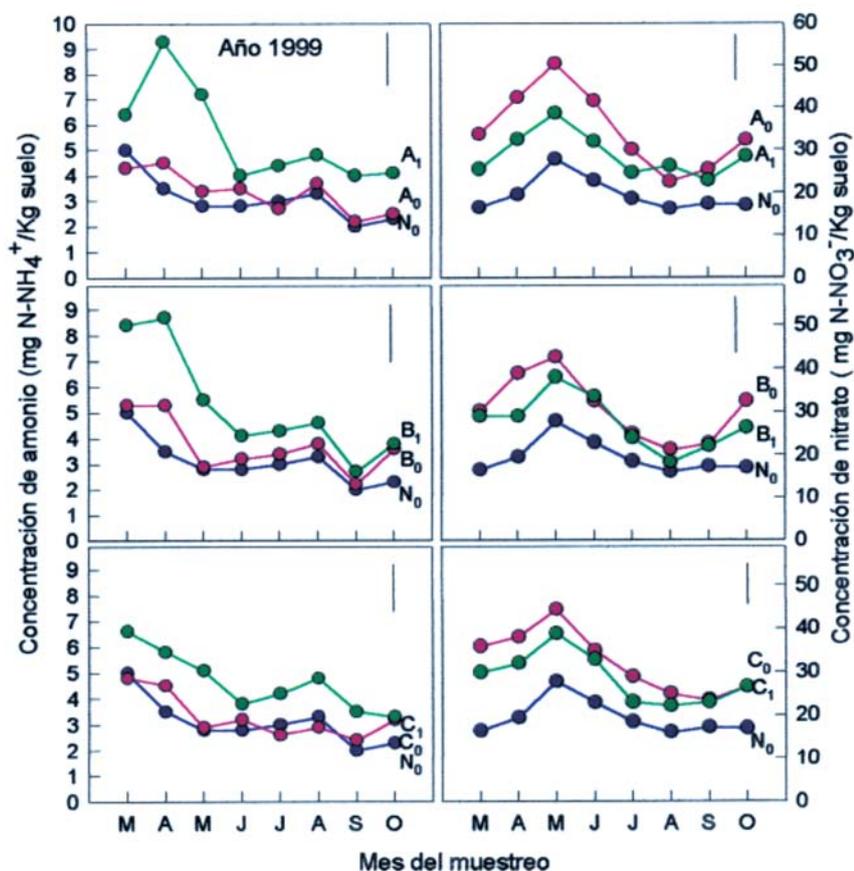


Figura 5. Evolución de la concentración de amonio y nitrato en el suelo (0-20 cm) a lo largo del período de aplicación del abonado. Cada valor es la media de 4 repeticiones; la barra vertical representa la máxima desviación estándar

de corteza y zumo, espesor de corteza, sólidos solubles, acidez total e índice de madurez (datos no mostrados).

2c. Evolución del nitrógeno amoniacal y nítrico en el suelo

La concentración de amonio en el suelo fue superior en los tratamientos de SA +DMPP para todas las frecuencias de aplicación estudiadas y durante todo el ciclo vegetativo (Fig. 5). Por otro lado, se observó un efecto más acusado del DMPP en las tres primeras épocas de muestreo (marzo-mayo), cuando las temperaturas son más suaves.

En este sentido, Slangen y Kerkhoff (1984) y Zerulla et al., (2001) encontraron que la efectivi-

dad del DMPPP en retardar la oxidación del amonio del N del fertilizante disminuía al aumentar la temperatura del suelo. Por el contrario, el ion nitrato alcanzó mayor concentración en todos los tratamientos con SA sin inhibidor.

Esto podría favorecer que una mayor cantidad de nitrato se desplazase a capas más profundas, que no pueden ser exploradas por las raíces y esto conduciría a un riesgo potencial de pérdida de nitrato por lixiviación en condiciones de lluvias intensas o riegos excesivos. Las diferencias en la concentración tanto de amonio como de nitrato entre los tratamientos con y sin inhibidor fueron más acusadas conforme aumentó la frecuencia de aplicación.

Esto puede ser debido a que la transformación total del amonio

aplicado a nitrato suele durar entre 20 a 40 días (Bañuls et al., 2000; Serna et al., 2000). De modo que al aumentar la frecuencia de aplicación, de 1 a 4 veces al mes, el tiempo transcurrido entre la última aplicación mensual y el muestreo de suelo decreció de 28 a 7 días respectivamente.

CONCLUSIONES

La adición del inhibidor de la nitrificación DMPP a abonos tradicionales que contienen amonio proporciona las siguientes ventajas:

- Aumento en la eficiencia de la utilización del N por la planta
- Reduce la contaminación potencial por lixiviación del ion nitrato
- Mejora la producción y algunos parámetros de la calidad del fruto

AGRADECIMIENTOS

Queremos dar las gracias a Eduardo Casanova por la cesión de la parcela comercial utilizada en el ensayo. También queremos agradecer a Hijos de Vicent Climent, BASF Española y COMPO por su ayuda. Además agradecemos a M.C. Prieto, A Boix, J.B. Alberola, J. Giner y B. Martín por su apoyo técnico. Este trabajo ha sido financiado por los proyectos INIA SC97-104 y RTA01-116. JB está financiada con un contrato Ramón y Cajal del Ministerio de Ciencia y Tecnología

El inhibidor de la nitrificación (DMPP) ha sido desarrollado por la Empresa Alemana BASF. Actualmente este producto se comercializa bajo el nombre de ENTEC SOLUB por la empresa COMPO.

BIBLIOGRAFÍA

- Ali IA, Kafkafi U, Ymaguchi I, Sugimoto Y and Inanaga S (1998) Response of oilseed rape plant to low root temperature and nitrate:ammonium ratios. *J Plant Nutr.* 21: 1463-1481
- Allen RG, Pereira LS, Raes D and Smith M (1998) Crop evapotranspiration (guidelines for computing crop water requirements). *FAO irrigation and Drainage Paper*, N° 56, FAO, Rome
- Bañuls J, Serna MD, Quiñones A, Martín B, Primo-Millo E y Legaz F (2000) Optimización de la fertilización nitrogenada con el inhibidor de la nitrificación (DMPP) con riego por goteo en cítricos. *Levante Agrícola* 351, 117-121
- Bremner J. (1965a) Inorganic forms of nitrogen. In: C. A. Black (ed), *Methods of soil analysis.* Agronomy 9, Am Soc of Agron Madison. WI. pp 1179-1137.
- Bremner, J. (1965b). Total nitrogen. In: C. A. Black (ed) *Methods of soil analysis.* Agronomy 9, Am. Soc. of Agron. Madison. WI. pp 11499-1178.
- Castel, J.R. (1991). El riego en los cítricos. *Hortofruticultura*, 5:41-52.
- Feigenbaum S., IH Bielora, Y Erner and Dasberg S (1987). The fate of 15N labeled nitrogen applied to mature citrus trees. *Plant and Soil* 97: 179-187
- Gerendás J and Sattelmacher B (1995) Einfluss des ammoniumangebots auf Wachstum, Mineralstoff- und Polyamingehalt unger Maispflanzen. *Z. Pflanzenernaehr Bodenkd* 158: 299-305
- Huff A (1983) Nutritional control of regreening and degreening in Citrus peel segments *Plant Physiol.* 73: 243-249
- Liu SL, EC Varsa, G Kapusta and DN Mburu (1984). Effect of etridiazole and nitrapyrin treated N fertilizers on soil mineral N status and wheat yields. *Agron. Journal* 76: 265-270
- Legaz F, E Primo-Millo, E Primo-Yúfera, C Gil and JL Rubio (1982) Nitrogen fertilization in Citrus. I. Absorption and distribution of nitrogen in Calamondin trees (*Citrus mitis* Bl.) during flowering, fruit set and initial fruit development periods. *Plant and Soil* 66: 339-351
- Legaz F and E Primo-Millo. (1983) Dynamics of 15N-labelled nitrogen nutrition in Valencia orange trees. *Proc.Int.Soc.Citriculture* 2: 575-82. IV International Citrus congress, Tokio, Japón
- Legaz, F y E Primo-Millo (1988). Normas para la fertilización de los agrios. *Serie Fullets Divulgació* n° 5-88. Conselleria d'Agricultura i Pesca. Generalitat Valenciana, 29 pp.
- Legaz F y E Primo-Millo (1992). Influencia de la fertilización nitrogenada en la contaminación por nitratos de las aguas subterráneas. *Levante Agrícola*, 317-318:4-15
- Legaz F, Serna MD, Ferrer P, Cebo-lla V y Primo-Millo E (1995). Análisis de hojas, suelos y aguas para el diagnóstico nutricional de plantaciones de cítricos. *Procedimientos de toma de muestras.* Servicio de Tecnología Agraria. Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació. Generalitat Valenciana, 28 pp.
- Legaz F y Primo-Millo E (2000) Normas para la fertilización de los agrios en riego localizado. In: Giner J F, M. V Phytoma-España, S.L. (ed.). *Fertirrigation in Citrus.* Polytechnic University of València. Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació. Generalitat Valenciana, 137-155
- Martínez JM, Bañuls J, Quiñones A, Martín B, Primo-Millo E and Legaz F (2002) Fate and transformations of 15N labelled nitrogen applied in spring to Citrus trees. *J. Hort. Sci. & Biotech.* 77(3):361-367
- McCarty GW and Bremner JM (1989) Inhibition of nitrification in soil by heterocyclic nitrogen compounds *Biol Fertil Soils* 8: 204-211
- Rochester IJ, GA Constable and PG Saffigna (1996). Effective nitrification inhibitors may improve fertilizer recovery in irrigated cotton. *Biol. Fertil. Soils* 23: 1-6
- Serna MD, Borrás R, Legaz F and Primo-millo E (1992) The influence of nitrogen concentration and ammonium/nitrate ratio on N-uptake, mineral composition and yield of Citrus. *Plant Soil* 147: 13-23.
- Serna MD, Legaz F and Primo-millo E (1994) Efficacy of Dicyandiamide as a soil nitrification inhibitor in Citrus production. *Soil Sci Soc Am J* 58:1817-1824
- Serna MD, Legaz F and Primo-millo E (1996) Improvement of the N fertilizer efficiency with dicyandiamide (DCD) in Citrus trees. *Fert Research* 43:137-142
- Serna MD, Bañuls J, Quiñones A, Primo-millo E and Legaz F (2000). Evaluation of 3,4-dimethylpyrazole phosphate as a nitrification inhibitor in a Citrus-cultivated soil. *Biol Fertil Soils* 32: 41-46
- Slangen JHG and Kerkhoff P (1984) Nitrification inhibitors in agriculture and horticulture: a literature review. *Fert Res* 5: 1-76
- Thomson CJ, Marschner H and Römmheld V (1993) Effect of nitrogen fertilizer form on the pH of the bulk soil and rhizosphere, and on the growth, phosphorous, and micronutrient uptake by bean *J Plant Nutr* 16: 493-506
- Wang X and Below FE (1996) Cytokinins enhanced growth and tillering of wheat induced by mixed nitrogen source. *Crop Sci* 36: 121-126.
- Wang MY, Glass ADM, Shaff JE and Kochian LV (1994) Ammonium uptake by rice roots. III. Electrophysiology. *Plant Physiol.* 104: 899-906
- Zerulla W, Barth T, Dressel J, Erhardt K, von Locquenghien K, Pasda G, Rädle M and Wissemeyer A (2001) 3,4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP)- a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture *Biol Fertil Soils* 34: 79-84