

EFFECTO DE UN FERTILIZANTE NITROGENADO A BASE DE BENTONITA MODIFICADA Y TENSOACTIVO HDTMA EN EL CRECIMIENTO DE LECHUGA (*Lactuca sativa* L.) HIDROPÓNICA

EFFECT OF A NITROGEN FERTILIZER, BASED ON MODIFIED BENTONITE AND SURFACTANT HDTMA IN THE GROWTH OF HYDROPONIC LETTUCE (*Lactuca sativa* L.)

Mauricio J. Romero-Mendez, Ángel N. Rojas-Velázquez*, José L. Lara Mireles, Paola E. Díaz Flores, José L. Woo Reza

Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Carretera a Matehuala Km. 14.5, Ejido Palma de la Cruz, Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí, México. (angel.rojas@uaslp.mx)

RESUMEN

Para mejorar la eficiencia de los fertilizantes se investiga la factibilidad de usar materiales abundantes y económicos, que permitan la liberación lenta de un fertilizante. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de un fertilizante, preparado por medio de adsorción de nitrato (NO_3^-), una bentonita modificada (OBN) y tensoactivo bromuro de hexa decil trimetil amonio (HDTMA), en el crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y la concentración de NO_3^- bajo un sistema hidropónico. La hipótesis fue que la aplicación de fertilizante a base de OBN y HDTMA, libera NO_3^- a la solución nutritiva y tiene efecto positivo el crecimiento de la lechuga. El diseño experimental fue completamente al azar. Primer experimento: ocho tratamientos con seis repeticiones (48 unidades experimentales): OBN/fertilizante en solución Steiner 0/100, 25/75, 50/50, 75/25, 25/0, 50/0, 75/0 y 100/0. Segundo experimento: 15 tratamientos con seis repeticiones (90 unidades experimentales): 15 dosis de HDTMA con 0, hasta 35 mg L^{-1} . La OBN disminuyó la biomasa seca entre 50 y 70 %. El número de hojas se redujo de 25 a 50 %, la longitud y ancho de hojas disminuyó entre 40 y 55 %. El área foliar se redujo entre 68 y 78 %. La absorción de agua disminuyó 60 %, la concentración de NO_3^- se redujo de 35 a 60 % y la conductividad eléctrica descendió entre 15 y 25 % de la concentración aplicada. El tensoactivo HDTMA oscureció la raíz y afectó la absorción de agua y nutrientes. La organobentonita puede usarse como adsorbente de elementos minerales y como fertilizante; pues, liberó cantidades del NO_3^- en la solución nutritiva. El tipo de tensoactivo puede cambiarse para reducir la fitotoxicidad y eliminar los efectos negativos en el crecimiento.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: enero, 2018. Aprobado: octubre, 2018.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 53: 219-234. 2019.

ABSTRACT

In order to improve the efficiency of fertilizers, we investigate the feasibility of the use of abundant and inexpensive materials that contribute to the slow release of a fertilizer. The aim of this study was to evaluate the effect of a fertilizer, prepared by nitrate (NO_3^-) adsorption, a modified bentonite (OBN) and surfactant hexadecyltrimethylammonium (HDTMA), on the growth of lettuce plants (*Lactuca sativa* L.) and the concentration of NO_3^- under a hydroponic system. The hypothesis was that the application of a fertilizer based on OBN and HDTMA, releases NO_3^- in the nutrient solution and has a positive effect on the growth of lettuce. The experimental design was totally random. First experiment: eight treatments with six repetitions (48 experimental units): OBN/fertilizer in a Steiner solution 0/100, 25/75, 50/50, 75/25, 25/0, 50/0, 75/0 and 100/0. Second experiment: 15 treatments with six repetitions (90 experimental units): 15 doses of HDTMA with 0 up to 35 mg L^{-1} . OBN reduced the dry biomass between 50 and 70 %. The number of leaves decreased from 25 to 50 %, the length and width of leaves fell between 40 and 55 %. The foliar area fell between 68 and 78 %. Water absorption decreased 60 %, the concentration of NO_3^- decreased between 35 and 60 % and electric conductivity descended between 15 and 25 % of the concentration applied. The surfactant HDTMA darkened the root and affected the absorption of water and nutrients. Organobentonite can be used as an adsorbent of mineral elements and as a fertilizer, since it released amounts of the NO_3^- in the nutrient solution. The type of surfactant can be changed to reduce phytotoxicity and eliminate the negative effects on growth.

Key words: *Lactuca sativa* L., adsorption, surfactant, cetrimonium bromide, nitrate, organoclays.

Palabras clave: *Lactuca sativa* L., adsorción, surfactante, bromuro de cetrimonio, nitrato, organoarcillas.

INTRODUCCIÓN

Los fertilizantes químicos son un factor determinante para aumentar la productividad agrícola mundial y para 2015 al 2020 se pronostica un aumento en la demanda de 1.5, 2.2 y 2.4 % de N, P₂O₅ y K₂O, respectivamente (FAO, 2017). El N es un nutriente esencial para el crecimiento de las plantas y el NO₃⁻ es la forma de N incorporada por la mayoría de las especies vegetales (Hawkesford *et al.*, 2012). Sin embargo, su uso puede dañar la salud humana y el ambiente y, además, presenta eficiencia baja de utilización (Cameron *et al.*, 2012). Por lo tanto, se debe lograr una eficiencia mayor en el uso de fertilizantes (Chien *et al.*, 2009). Una opción para mitigar el efecto negativo, es usar fertilizantes de liberación lenta, que liberan gradualmente los nutrientes y prolongan su disponibilidad (De Campos-Bernardi *et al.*, 2016).

Los fertilizantes de liberación lenta se producen formando un revestimiento de polímero en los granos de fertilizantes (Trenkel, 2010), mediante calentamiento, fusión y nebulización, lo que aumenta el costo de estos fertilizantes (Yuan, 2014) y reduce su uso a cultivos de alto valor (Berber *et al.*, 2014). Debido a esto, hay demandas de tecnologías alternativas y más económicas para producir fertilizantes de lenta liberación (De Campos-Bernardi *et al.*, 2016). Para ello se podría utilizar arcillas naturales, como las bentonitas, para una lenta liberación de nutrientes (Bhardwaj *et al.*, 2012), por su capacidad de adsorción e intercambio iónico (Zhou *et al.*, 2011). Las organobentonitas se sintetizan por sorción de un tensioactivo catiónico, que carga de negativo a positivo la superficie externa y el espacio de la capa intermedia (Ceyhan *et al.*, 1999), lo cual aumenta la capacidad de retención del nutriente aniónico, como el NO₃⁻ (Li, 2003).

La capacidad de adsorción de las organoarcillas depende del tipo de surfactante usado en la modificación (Jacob-Azuara *et al.*, 2006), y los más utilizados son alquilos de cadena larga con un grupo amino cuaternario, como el HDTMA (Sheng *et al.*, 1996), que adsorbe aniones en soluciones acuosas (Naghash and Nezamzadeh-Ejhieh, 2015). Pero el HDTMA podría dañar el ambiente (Sarkar *et al.*,

INTRODUCTION

Chemical fertilizers are a decisive factor for the increase in world agricultural productivity, and for 2015 to 2020, and demand is forecasted to increase by 1.5, 2.2 and 2.4 % for N, P₂O₅ and K₂O, respectively (FAO, 2017). Nitrogen is an essential nutrient for plant growth and NO₃⁻ is the form of nitrogen incorporated by most plant species (Hawkesford *et al.*, 2012). However, its use may damage human health and the environment, and it also displays a low efficiency of use (Cameron *et al.*, 2012). Therefore, a greater efficiency must be achieved in the use of fertilizers (Chien *et al.*, 2009). An option to mitigate the negative effect is to use slow-release fertilizers, which gradually release the nutrients and prolong their availability (De Campos-Bernardi *et al.*, 2016).

Slow-release fertilizers are produced by forming a polymer coating on the fertilizer grains (Trenkel, 2010) by heating, fusion and nebulization, which increases the cost of these fertilizers (Yuan, 2014) and reduces its use to high-value crops (Berber *et al.*, 2014). But (Brenda, revise esto en español, y me avisa) there are demands for alternative and inexpensive technologies to produce slow-release fertilizers (De Campos-Bernardi *et al.*, 2016). For this purpose, natural clays such as bentonites could be used for the slow release of nutrients (Bhardwaj *et al.*, 2012), due to their ability of adsorption and ionic exchange (Zhou *et al.*, 2011). Organobentonites are synthesized by the sorption of a cationic surfactant, which charges the external surface and the space of the intermediate layer from negative to positive (Ceyhan *et al.*, 1999), increasing the ability to retain anionic nutrients such as NO₃⁻ (Li, 2003).

The capacity of adsorption of the organoclays depends on the type of surfactant used in the modification (Jacob-Azuara *et al.*, 2006), and the most widely used are long-chain alkyls with a quaternary amino group, such as HDTMA (Sheng *et al.*, 1996), which adsorbs anions in aqueous solutions (Naghash and Nezamzadeh-Ejhieh, 2015). However, HDTMA may harm the environment (Sarkar *et al.*, 2010) in aquatic ecosystems (Tişler *et al.*, 2004), in humans (Momblano *et al.*, 1984), mammals (Andersen, 1997) and the germination of seeds (Song and Kim, 2016). Nevertheless, their toxicity is not yet thoroughly proven (Song and Kim,

2010) en ecosistemas acuáticos (Tišler *et al.*, 2004), en humanos (Mombiano *et al.*, 1984), mamíferos (Andersen, 1997) y germinación de semillas (Song y Kim, 2016). Sin embargo, no se ha demostrado plenamente su toxicidad (Song and Kim, 2016), por lo cual el HDTMA es el más usado para modificar arcillas usadas como adsorbentes en suelo, agua, aire (Ismadji *et al.*, 2015) y como potencial fertilizante de lenta liberación (Bhardwaj *et al.*, 2012).

En zeolita y montmorillonita modificadas con HDTMA hay estudios en columnas de suelo, donde mejoró la adsorción de NO_3^- y la liberación lenta de este nutriente, con plantas de maíz (Li, 2003), sin plantas (Bhardwaj y Tomar, 2011; Bhardwaj *et al.*, 2012) y como enmienda del suelo disminuyó la lixiviación de NO_3^- en un lisímetro con plantas de maíz (Malekian *et al.*, 2011). La naturaleza hidrofóbica de las organoarcillas sugiere su idoneidad como matriz para la lenta liberación de compuestos solubles y pueden impartir propiedades de lenta liberación a un fertilizante (Basak *et al.*, 2012). Pero, su uso no se ha evaluado suficientemente en plantas y la modificación con HDTMA podría liberar nutrimentos, y otro tipo de fitotóxicos. El cultivo hidropónico aumenta el control de los factores que intervienen en el sistema radical (Podar, 2013). Además, el manejo de los nutrientes en sistemas hidropónicos cerrados, se hace de acuerdo con el principio de “balance de masa”, esto es, que la masa de nutrientes está en solución o en las plantas (Bugbee, 2004). Ello permitiría evaluar la aplicación de los fertilizantes de lenta liberación y el HDTMA en un medio líquido sin interferencias del suelo.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de un fertilizante, con adsorción de NO_3^- en una bentonita modificada (OBN) y tensoactivo bromuro de hexadeciltrimetil amonio (HDTMA), en el crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y la concentración de NO_3^- bajo un sistema hidropónico. La hipótesis fue que la aplicación de fertilizante a base de OBN y HDTMA, libera NO_3^- en la solución nutritiva y afecta positivamente el crecimiento de la lechuga.

MATERIALES Y MÉTODOS

El fertilizante se preparó en el laboratorio de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP). La bentonita provino de un yacimiento

2016), and therefore, HDTMA is the most widely used for modifying clays used as adsorbents in the soil, water, air (Ismadji *et al.*, 2015) and as a potential slow-release fertilizer (Bhardwaj *et al.*, 2012).

In zeolite and montmorillonite modified with HDTMA there are studies on soil columns in which the adsorption of NO_3^- improved, along with the slow release of this nutrient with maize plants (Li, 2003), without plants (Bhardwaj and Tomar, 2011; Bhardwaj *et al.*, 2012) and as a modification of the soil, it reduced the leaching of NO_3^- in a lysimeter with maize plants (Malekian *et al.*, 2011). The hydrophobic nature of the organoclays suggests its suitability as a matrix for the slow release of soluble compounds and may bring slow-release properties to a fertilizer (Basak *et al.*, 2012). However, its use is not evaluated enough in plants and the modification with HDTMA may release nutrients and other types of phytotoxins. Hydroponic cultivation increases the control of the factors that intervene in the root system (Podar, 2013). Additionally, the management of nutrients in closed hydroponic systems is carried out according to the “mass balance” principle, which means that the mass of nutrients is in the solution or in the plants (Bugbee, 2004). This would help to evaluate the application of slow-release fertilizers and the HDTMA in a liquid medium, without the interference of the soil.

The aim of this study was to evaluate the effect of a fertilizer with NO_3^- adsorption in a modified bentonite (OBN) and a surfactant hexadecyltrimethylammonium (HDTMA) on the growth of lettuce plants (*Lactuca sativa* L.) and the concentration of NO_3^- under a hydroponic system. The hypothesis was that the application of OBN- and HDTMA-based fertilizer releases NO_3^- in the nutrient solution and has a positive effect on the growth of lettuce.

MATERIALS AND METHODS

The fertilizer was prepared in the laboratory of the School of Agronomy and Veterinary Sciences of the San Luis Potosí Autonomous University (UASLP). The bentonite came from a deposit in the municipal area of Guadalcázar, San Luis Potosí, Mexico, and the adsorption of the surfactant hexadecyltrimethylammonium bromide (HDTMA $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}$, Aldrich Chemicals). Organobentonite (OB) was obtained using the method proposed by Jacobo-Azuara *et al.* (2006), with the

en el municipio de Guadalcázar, San Luis Potosí, México, y la adsorción del surfactante bromuro de hexadeciltrimetilamonio (HDTMA $C_{19}H_{42}BrN$, Aldrich Chemicals). La organobentonita (OB) se obtuvo con el método propuesto por Jacobo-Azuara *et al.* (2006), con adsorción de la máxima cantidad de HDTMA al formarse una bicapa de surfactante con una superficie cargada positivamente. El fertilizante organobentonita-nitrato (OBN) se obtuvo por adsorción del ion NO_3^- ($Ca(NO_3)_2$), se añadió 400 $mmol L^{-1}$ a la OB, preparada con el método de Jacobo-Azuara *et al.* (2006), y se colocó durante 7 d. Al finalizar se alcanzó el equilibrio de adsorción y se determinó la concentración de NO_3^- en solución. La cantidad de NO_3^- adsorbido sobre la organobentonita fue de 69.77 $mg g^{-1}$, y se determinó con la concentración inicial por la diferencia de la final.

En el Centro de Hidroponía de la Facultad de Agronomía y Veterinaria (UASLP), se establecieron dos experimentos en julio de 2017, en un sistema hidropónico de raíz flotante con plantas de lechuga en invernadero tipo túnel de 9 x 5 m. La temperatura media fue 23.5 °C y una luminosidad media de 17 417 lux. Las semillas fueron de la variedad Montemar, y se sembraron en junio en un sustrato "Sunshine mix 3" en charola de poliestireno, El riego fue diario y la fertilización fue con solución Steiner (Steiner, 1961). El agua tuvo pH de 7.5 y conductividad eléctrica (CE) 0.6 dSm^{-1} . El trasplante, 36 d después de la siembra, fue en el sistema hidropónico, las raíces se lavaron, para retirar el sustrato adherido, y se colocó una planta en un recipiente de plástico con 100 mL de una solución nutritiva Steiner (Steiner, 1961), con composición ($meq L^{-1}$): 6 NO_3^- , 0.5 $H_2PO_4^-$, 3.5 SO_4^{2-} , 3.5 K^+ , 2 Mg^{2+} y 4.5 Ca^{2+} . Agua desionizada se usó para la preparación de solución nutritiva y los fertilizantes fueron $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, KNO_3 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, K_2SO_4 , H_3PO_4 . Los micronutrientes se añadieron con Carboxy Micro, el cual aporta Fe 5 %, Zn 2.5 %, Mn 1 % y B 0.5 % en forma quelatada EDDHA. La aireación de la solución fue con una bomba de pecera (Elite Maxima 2.5 PSI), con una aportación de oxígeno de 3 a 5 $mg L^{-1}$. En este medio se cultivaron las plantas de ambos experimentos, con período de adaptación de 5 d, previos a la aplicación de los tratamientos.

Los 11 d de la evaluación fue tiempo intermedio, basado en experimentos con fertilizantes de lenta liberación. El tiempo fue 15 d, en columnas de suelo que utilizaron Bhardwaj y Tomar (2011), Bhardwaj *et al.* (2012), Hummel y Waddington (1986) y King y Balogh (2000). Esos autores señalaron que usar disolución de fertilizante por 7 d es aceptable para predecir las tasas de liberación en suelo.

Primer experimento. Los tratamientos fueron ocho: solución nutritiva de Steiner (0/100), tres tratamientos con OBN que aportan el 25, 50 y 75 % del N total contenido en la solución Steiner, más una Solución Steiner modificada con NO_3^- reducido,

adsorción de la máxima cantidad de HDTMA cuando formando una bi-capa de surfactante con una superficie cargada positivamente. El fertilizante organobentonita-nitrato (OBN) se obtuvo por adsorción del ion NO_3^- ($Ca(NO_3)_2$), añadiendo 400 $mmol L^{-1}$ a la OB, preparada con el método de Jacobo-Azuara *et al.* (2006), y aplicando durante 7 d. Al final, se alcanzó el equilibrio de adsorción y se determinó la concentración de NO_3^- en solución. La cantidad de NO_3^- adsorbido sobre la organobentonita fue de 69.77 $mg g^{-1}$, y se determinó con la diferencia entre las concentraciones inicial y final.

En el Centro de Hidroponía de la Facultad de Agronomía y Veterinaria (UASLP) se establecieron dos experimentos en julio de 2017, en un sistema hidropónico de raíz flotante con plantas de lechuga en invernadero tipo túnel de 9 x 5 m. La temperatura media fue 23.5 °C y una luminosidad media de 17 417 lux. Las semillas fueron de la variedad Montemar, y se sembraron en junio en un sustrato "Sunshine mix 3" en charola de poliestireno, El riego fue diario y la fertilización fue con solución Steiner (Steiner, 1961). El agua tuvo pH de 7.5 y conductividad eléctrica (EC) de 0.6 dSm^{-1} . El trasplante, 36 d después de la siembra, fue en el sistema hidropónico, las raíces se lavaron, para retirar el sustrato adherido, y se colocó una planta en un recipiente de plástico con 100 mL de una solución nutritiva Steiner (Steiner, 1961), con composición ($meq L^{-1}$): 6 NO_3^- , 0.5 $H_2PO_4^-$, 3.5 SO_4^{2-} , 3.5 K^+ , 2 Mg^{2+} y 4.5 Ca^{2+} . Agua desionizada se usó para la preparación de la solución nutritiva y los fertilizantes fueron $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, KNO_3 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, K_2SO_4 , H_3PO_4 . Los micronutrientes se añadieron con Carboxy Micro, el cual aporta Fe 5 %, Zn 2.5 %, Mn 1 % y B 0.5 % en forma quelatada EDDHA. La solución fue ventilada con una bomba de pecera (Elite Maxima 2.5 PSI), con una aportación de oxígeno de 3 a 5 $mg L^{-1}$. En este medio se cultivaron las plantas de ambos experimentos, con período de adaptación de 5 d, previos a la aplicación de los tratamientos.

Los 11 d de la evaluación fue tiempo intermedio, basado en experimentos con fertilizantes de lenta liberación. El tiempo fue 15 d, en columnas de suelo que utilizaron Bhardwaj y Tomar (2011), Bhardwaj *et al.* (2012), Hummel y Waddington (1986), y King y Balogh (2000). Estos autores señalan que usar la disolución de fertilizante por 7 d es aceptable para predecir las tasas de liberación en el suelo.

Primer experimento. Hubo ocho tratamientos: solución nutritiva de Steiner (0/100), tres tratamientos con OBN que aportan el 25, 50 y 75 % del N total contenido en la solución Steiner, más una solución Steiner modificada con NO_3^- reducido, y cuatro tratamientos con OBN 25, 50, 75 y 100 % en la misma solución Steiner modificada sin

al 75, 50 y al 25 % para completar el 100 % de N total (25/75, 50/50 y 75/25) y cuatro tratamientos con OBN 25, 50, 75 y al 100 % en la misma solución Steiner modificada sin NO_3^- (25/0, 50/0, 75/0 y 100/0). En los tres tratamientos con NO_3^- reducido y en el 100/0, la cantidad de OBN agregada se calculó para que la suma del NO_3^- adsorbido más el disuelto en la solución inicial fuera igual a la de NO_3^- en la solución Steiner (6 meq L^{-1}). Durante este período se agregó cada día agua desionizada para mantener constante el volumen inicial y se renovó la solución nutritiva cada vez que la planta consumió un tercio del volumen inicial para que la CE fuera constante (Bugbee, 2004) lo cual solo se cumplió en el tratamiento 0/100 en dos ocasiones (días 5 y 8).

Cada 24 horas se midió el consumo de agua (con bureta graduada), CE (Medidor Orión 155, USA) y contenido de NO_3^- en la solución nutritiva (ionómetro Laqua Twin, Horiba, Japan). Las variables medidas al final de la evaluación fueron biomasa seca de raíz, hojas y total (con estufa de secado de aire forzado Omron, a 70 °C por 72 h, hasta peso constante, en balanza digital (Ohaus PAJ4102N Gold series), anchura, longitud, número de hojas, área foliar (software imageJ) de las hojas, clorofila a, b y total en hojas exteriores y hojas interiores por espectrofotometría con el procedimiento EPA-ERT (1994). El diseño experimental fue un completamente al azar con seis repeticiones por tratamiento (48 unidades experimentales) y una planta como una unidad experimental.

Segundo experimento. Los tratamientos fueron 15: 0, 0.5, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 30, 35 mg L^{-1} de HDTMA agregados a la solución nutritiva Steiner (Steiner, 1961). Las variables medidas fueron conductividad eléctrica (Medidor Orión 155, USA) y contenido de NO_3^- (ionómetro Laqua Twin, Horiba, Japan) en la solución nutritiva y consumo de agua cada día (con bureta graduada). El diseño experimental fue completamente al azar con 6 repeticiones por tratamiento, 90 unidades experimentales, y cada planta fue una unidad experimental.

Los datos obtenidos en los dos experimentos se analizaron con ANDEVA, las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) para lo cual se usó SAS versión 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1:

El consumo de agua (Figura 1) mostró diferencias significativas. En el tratamiento sin OBN (0/100) se repuso la mayor cantidad de agua diaria (26 mL) y al final del estudio se había agregado el mayor volumen (291 mL). Desde el primer día el consumo de agua disminuyó 37 % en los tratamientos con aplicación

NO_3^- (25/0, 50/0, 75/0 y 100/0). In the three treatments with reduced NO_3^- and in the 100/0, the amount of added OBN was calculated so the sum of the NO_3^- adsorbed plus the one dissolved in the initial solution was equal to the NO_3^- in the Steiner solution (6 meq L^{-1}). During this period, deionized water was added on a daily basis and the nutrient solution was replaced after the plant had consumed a third of the initial volume, in order for the EC to remain constant (Bugbee, 2004) which only occurred in treatment 0/100 twice (days 5 and 8).

Every 24 h (Brenda, revise en español), we measured water intake (using a burette), EC (Orion 155, USA) and content of NO_3^- in the nutrient solution (Laqua Twin ionometer, Horiba, Japan). The variables measured at the end of the evaluation were root, leaf and total dry biomass (with an Omron forced air drying oven, at 70 °C for 72 h, until a constant weight was obtained, on a digital scale (Ohaus PAJ4102N Gold series), width, length, number of leaves, foliar area (software image J), total, a and b chlorophyll in exterior and interior leaves by spectrophotometry with the procedure EPA-ERT (1994). The experimental design was completely at random with six repetitions per treatment (48 experimental units) and one plant as an experimental unit.

Second experiment. The treatments were 15: 0, 0.5, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 30, 35 mg L^{-1} of HDTMA added to the Steiner (Brenda, revise en español) nutrient solution (Steiner, 1961). The variables measured were electric conductivity (Orion 155, USA) and content of NO_3^- (Laqua Twin ionometer, Horiba, Japan) in the nutrient solution and daily water intake (using a burette). The experimental design was totally random with 6 repetitions per treatment, 90 experimental units, and each plant was one experimental unit.

The data obtained in both experiments were analyzed with an ANOVA and the treatments means were compared using a Tukey test ($p \leq 0.05$), performed with SAS version 9.0.

RESULTS AND DISCUSSION

Experiment 1.

Water intake (Figure 1) displayed significant differences. The highest amount of daily water (26 mL) was replaced in the treatment without OBN (0/100), and at the end of the study, it had added the highest volume (291 mL). From the first day, the intake of water decreased 37 % in the treatments with an application of OBN. Treatment 75/0 consumed 61.5 % less than 0/100. In the following days, intake was affected by 60 % with the treatments 25/75, 50/50 and 75/25, as well as 80 to 88 % at 25/0, 50/0, 75/0 and 100/0 in comparison with 0/100. At the end of the evaluation, the same

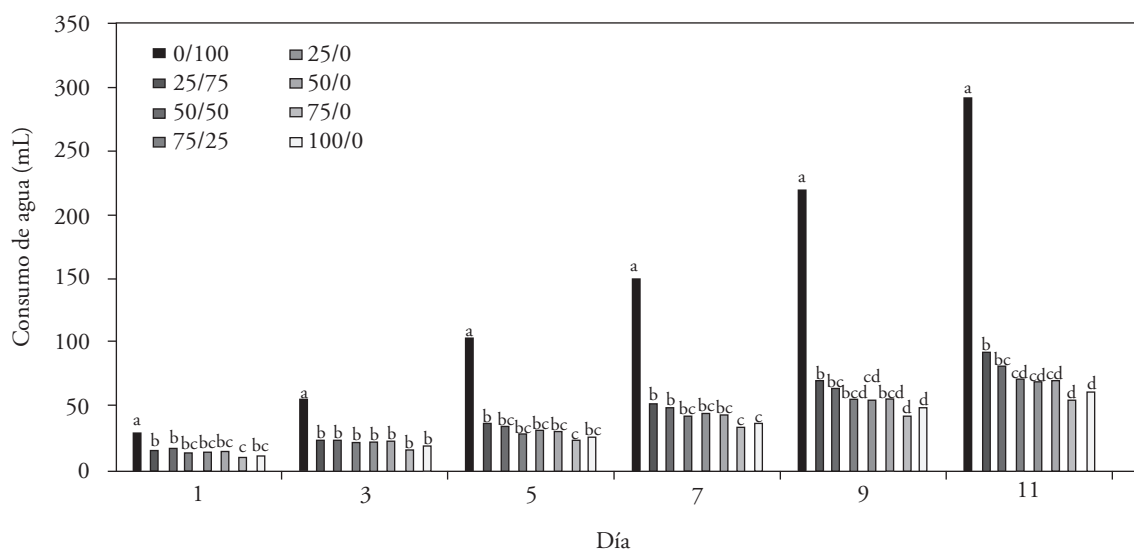


Figura 1. Consumo de agua durante el periodo de contacto de los tratamientos con OBN/Fertilizante en Solución Steiner, para determinar el efecto de un fertilizante nitrogenado a base de bentonita modificada y tensoactivo HDTMA en el crecimiento de lechuga hidropónica. Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas (Tukey; $p \leq 0.05$).

Figure 1. Intake of water during the period of contact of the treatments with OBN /Fertilizer with Steiner solution, to determine the effect of a nitrogenated fertilizer based on modified bentonite and surfactant HDTMA on the growth of hydroponic lettuce. Different letters in treatments indicate significant differences (Tukey; $p \leq 0.05$).

de OBN. El tratamiento 75/0 consumió 61.5 % menos comparado con el 0/100. En los siguientes días el consumo se afectó 60 % con los tratamientos 25/75, 50/50 y 75/25 y de 80 a 88 % a 25/0, 50/0, 75/0 y 100/0 comparados con el 0/100. Al final de la evaluación sigue la misma tendencia, el tratamiento 0/100 consumió un 68.3 % más que 25/75 y 50/50 y un 81.3 % más que los otros tratamientos. En este sentido, al aplicar los tratamientos con OBN se observó un oscurecimiento en el sistema radical 1 h después de la aplicación y una necrosis al final de la evaluación (Figura 2 B), lo cual también afectó la parte aérea de la planta (Figura 2 A). Este efecto se pudo deber a que en la elaboración de la OBN se utilizó el tensoactivo HDTMA y este alcanzó a generar una toxicidad en la planta. Según Song and Kim (2016), en estudios de germinación con lechuga se afectó la elongación de la raíz y el tallo por la acumulación del HDTMA. Por tanto, las raíces dañadas reducen la actividad metabólica y la tasa de respiración comparadas con las raíces blancas (Baldi *et al.*, 2010) y, además, disminuye la capacidad de absorción de agua (Gu *et al.*, 2015).

El tratamiento 0/100 aumentó 22.58 % el número de hojas respecto a los tratamientos 25/75 y 50/50, y 48.4 % más que los otros tratamientos (Cuadro 1 y Figura 2 A). Este resultado pudo deberse al estrés

trend continues: treatment 0/100 consumed 68.3 % more, then, 25/75 and 50/50 and 81.3 % more than other treatments. In this sense, when applying treatments with OBN, we observed a darkening of the root system 1 h after application and a necrosis at the end of the evaluation (Figure 2B), which also affected the aerial part of the plant (Figure 2 A). This effect may be due to the use of the surfactant HDTMA in the production of the OBN, and it generated toxicity in the plant. According to Song and Kim (2016), in germination studies with lettuce, the elongation of the root and the stem was affected due to the accumulation of the HDTMA. Therefore, the damaged roots reduce metabolic activity and the respiration rate in comparison with white roots (Baldi *et al.*, 2010), and also reduces the water absorption ability (Gu *et al.*, 2015).

Treatment 0/100 increased the number of leaves 22.58 % in regard to treatments 25/75 and 50/50, and 48.4 % more than the other treatments (Table 1 and Figure 2A). This result may be due to the stress produced by OBN, due to dehydration of the roots. Sirousmehr *et al.* (2014) pointed out that water stress reduces the number of leaves when the water becomes a limitation for the roots, due to the ageing and the high concentration of ethylene that reduces perspiration.



Figura 2. Hojas (A) y raíces (B) de plantas de lechuga de los tratamientos con OBN/Fertilizante en Solución Steiner, para evaluar el efecto de un fertilizante nitrogenado a base de bentonita modificada y tensoactivo HDTMA en el crecimiento de lechuga hidropónica.

Figure 2. Leaves (A) and roots (B) from lettuce plants of the treatments with OBN/Fertilizer in Steiner solution, to evaluate the effect of a nitrogenated fertilizer based on modified bentonite and surfactant HDTMA on the growth of hydroponic lettuce.

que produjo OBN, por deshidratación en las raíces. Sirousmehr *et al.* (2014) señalaron que el estrés hídrico reduce el número de hojas cuando el agua llega a ser limitante para las raíces, debido al envejecimiento y a la concentración alta de etileno que disminuye la transpiración.

El tratamiento con 0/100 mostró 42.2 % más longitud de la hoja respecto al 25/75 y 50/50 y 56.4 %

The treatment with 0/100 displayed 42.2 % more length of the leaf in regard to 25/75 and 50/50, and 56.4 % more than 75/25 and 75/0, and there were no differences in the other treatments (Table 1, Figure 2A). The width of the leaf under treatment 0/100 presented the highest values, it decreased 41.4 % with treatment 25/75 and 52.5% with 75/25, 50/0, 75/0, 100/0, and the other treatments had values

Cuadro 1. Características de las hojas de lechuga de los tratamientos con OBN/Fertilizante en solución Steiner, para evaluar el efecto de un fertilizante nitrogenado a base de bentonita modificada en el crecimiento de lechuga hidropó.

Table 1. Characteristics of lettuce leaves in treatments with OBN/Fertilizer in Steiner solution to evaluate the effect of a nitrogenated fertilizer based on modified bentonite on the growth of hydroponic lettuce.

Tratamiento	NH (cm)	LH (cm)	AH (cm)	AFH (cm ²)	AFT (cm ²)
0/100	7.75a	11.59a	8.84a	60.52a	328.05a
25/75	5.75b	6.70b	5.18b	26.55b	104.13b
50/50	6.00b	6.35bc	4.53bc	19.35c	97.52bc
75/25	3.75c	5.05d	3.80c	14.73c	79.17bc
25/0	4.00c	5.70cd	4.35bc	16.93c	76.75bc
50/0	3.75c	5.43cd	4.20c	15.88c	70.16c
75/0	4.00c	4.83d	3.85c	13.55c	65.84c
100/0	3.75c	5.53cd	4.20c	16.33c	79.73bc
DMS	1.15	0.99	0.95	7.11	33.29
CV	10.11	6.61	8.32	13.22	10.44

Letras distintas en los tratamientos por columna indican diferencias significativas (Tukey; $p \leq 0.05$). NH: número de hojas, LH: longitud de hoja, AH: ancho de hoja, AFH: área foliar de hoja, AFT: área foliar total
 ♦ Different letters in each column indicate significant differences (Tukey; $p \leq 0.05$). NH: number of leaves, LH: length of leaves, AH: width of leaves, AFH: foliar area of leaves, AFT: total foliar area

más que el 75/25 y 75/0, y no hubo diferencias en los demás tratamientos (Cuadro 1, Figura 2 A). La anchura de la hoja del tratamiento 0/100 presentó los valores mayores, disminuyó 41.4 % con el tratamiento 25/75 y 52.5 % con 75/25, 50/0, 75/0, 100/0, y los otros tratamientos tuvieron valores entre los anteriores. El área foliar de la hoja recientemente madura decreció 56.1 % con el 25/75 y 68 % con los demás tratamientos, respecto a 0/100 que tuvo el valor mayor. Lisar *et al.* (2012) señalaron que el tamaño de las hojas se reduce por el estrés hídrico que provoca cambios en la anatomía y ultraestructura de las hojas. Esta disminución se considera beneficiosa para las plantas, porque se asocia a una tasa de transpiración menor (Forni *et al.*, 2017). Lo anterior pudo haber sucedido en nuestro estudio debido al efecto de OBN.

En el área foliar total (Cuadro 1 y Figura 2 A) el tratamiento 0/100 mostró los valores más altos, la aplicación de 25/75 disminuyó un 68.3% y un 78.6 % con 50/50 y 75/0. En los demás tratamientos se conservó un área foliar entre estos últimos porcentajes. La disminución del AFT posiblemente se debió al daño radical que presentó la raíz al aplicar los tratamientos con OBN, lo cual causó un estrés por falta de agua. Sirousmehr *et al.* (2014) mencionaron que

among those presented above. The foliar area of the recently matured leaf decreased 56.1 % with the 25/75 and 68 % with the other treatments, in regard to 0/100, which had the highest value. Lisar *et al.* (2012) pointed out that the size of leaves decreases by the water stress that causes changes in the anatomy and ultrastructure of the leaves. This reduction is considered beneficial for the plants, because it is related with a lower perspiration rate (Forni *et al.*, 2017). This may have occurred in our study due to the effect of OBN.

In the total foliar area (Table 1 and Figure 2A), treatment 0/100 displayed the highest values; the application of 25/75 decreased by 68.3 %, and 78.6 % with 50/50 and 75/0. In the other treatments, foliar areas remained between these percentages. The reduction of the total foliar area is possibly due to the radical change presented by the root when applying the treatments with OBN, which led to stress due to lack of water. Sirousmehr *et al.* (2014) mentioned that the lack of water reduces growth, cell division and lengthening in leaves. This reduced the foliar area and accelerated the ageing of old leaves (Figure 2A). Gepstein and Glick (2013) observed that plants in conditions of drought accelerated ageing and abscission of older leaves.

la falta de agua disminuye el crecimiento, la división y alargamiento celular en las hojas. Lo anterior redujo el área foliar y aceleró la senescencia de las hojas viejas (Figura 2 A). Gepstein y Glick (2013) observaron que las plantas en sequía aceleraron la senescencia y abscisión de las hojas más viejas.

En la biomasa seca total, hojas y raíz (Figura 3 A) se mostró la misma tendencia. Así, el tratamiento 0/100 presentó los valores más altos, en BST 58.8 % más que OBN con fertilizante (25/75, 50/50 y 75/25) y 73.1 % OBN sin fertilizante (25/0, 50/0,

The total, leaf and root dry biomass (Figure 3A) showed the same tendency. In this way, treatment 0/100 presented the highest values, in BST, 58.8 % more than OBN with fertilizer (25/75, 50/50 and 75/25) and 73.1 % OBN without fertilizer (25/0, 50/0, 75/0 and 100/0). In leaves, treatment 0/100 presented 65.5 % more than in most treatments, and only with treatment 75/0, was there 77.9 %.

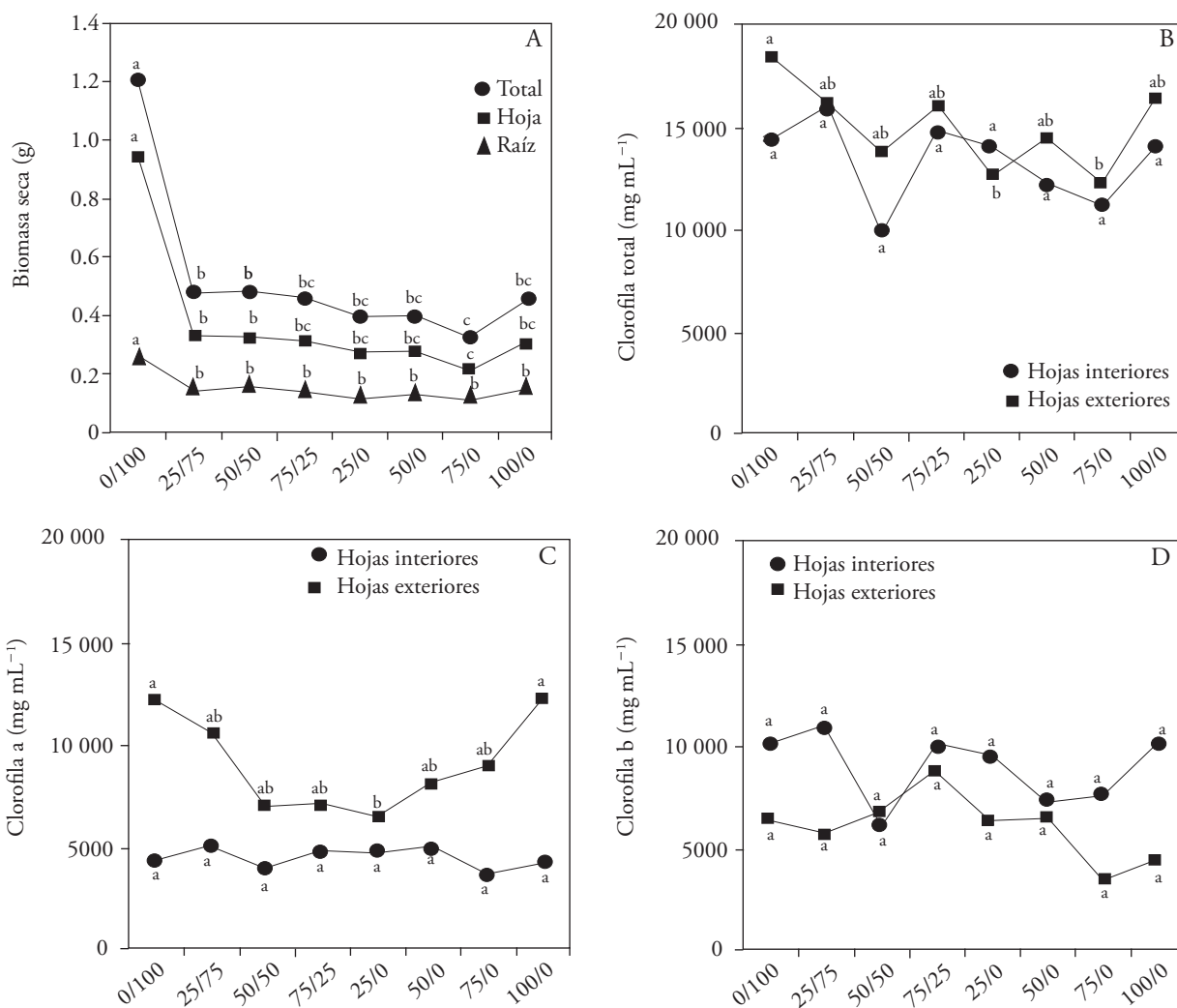


Figura 3. Biomasa seca (A); clorofilas: total (B), a (C) y b (D) en hojas interiores y exteriores de los tratamientos con OBN/Fertilizante en solución Steiner, para evaluar el efecto de un fertilizante nitrogenado a base de bentonita modificada en el crecimiento de lechuga hidropónica. Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas (Tukey; $p \leq 0.05$).

Figure 3. Dry biomass (A); chlorophyll: total (B), a (C) and b (D) in interior and exterior leaves of treatments with OBN/Fertilizer in Steiner solution, to evaluate the effect of a nitrogenated fertilizer based on modified bentonite on the growth of hydroponic lettuce. Different letters in treatments indicate significant differences (Tukey; $p \leq 0.05$).

75/0 y 100/0). En hojas el tratamiento 0/100 evidenció 65.5 % más que la mayoría de los tratamientos y solo con el tratamiento 75/0 un 77.9 %. En raíz el tratamiento 0/100 mostró un 42.4 % sobre todos los tratamientos. Esto indicó que la aplicación de la OBN con y sin NO_3^- en la solución Steiner, decrece el contenido en la biomasa seca debido al daño radical que presentó la planta. Lo anterior ocasionó falta de agua, lo que provocó el cierre de estomas, la inhibición del flujo de CO_2 y la absorción de nutrientes por las raíces. Ello reduce la fotosíntesis y la producción de carbohidratos (Pan *et al.* 2011), y el tamaño de planta la biomasa seca disminuye (Stagnari *et al.*, 2014).

El contenido de clorofila total (Figura 3 B) en hojas interiores no mostró diferencias significativas, y solo en hojas exteriores donde se observó la más alta concentración con el tratamiento 0/100, con 31.25 %, comparado con 25/0 y 75/0; en los otros tratamientos no hubo diferencias estadísticas. La disminución en el contenido de clorofila por déficit hídrico, presenta estrés oxidativo y puede ser el resultado de la fotooxidación del pigmento y la degradación de la clorofila (Anjum *et al.*, 2011). En la clorofila a en las hojas interiores (Figura 3 C) no hubo diferencias entre tratamientos. En las hojas exteriores la más alta concentración se observó en 0/100 y 100/0 con 48.4 % comparado con 25/0, pero estos tres tratamientos no fueron diferentes a los demás. En la concentración de clorofila b (Figura 3 D) no hubo diferencias en hojas interiores y exteriores. En este sentido, Filimon *et al.* (2016) mencionan que las variaciones en las relaciones clorofila a/b son indicadores de senescencia o estrés y afectan el curso normal de los procesos biológicos de las plantas.

Los valores de conductividad eléctrica (CE) (Figura 4 A) de la solución nutritiva con el tratamiento sin OBN (0/100) tuvieron un descenso pronunciado y fue diferente a los demás tratamientos; en contraste, en todos los tratamientos con OBN el descenso de la CE fue gradual. El 0/100 tuvo la mayor disminución de CE (61.53 %), seguido de los tratamientos OBN con fertilizante (25/75, 50/50, 75/25) con 34.51 % y los tratamientos con OBN sin fertilizante (25/0, 50/0, 75/0 y 100/0) con 16 % de la solución inicial. Paulus *et al.* (2012) señalaron que la CE en la solución nutritiva desciende a lo largo del ciclo de un cultivo debido al consumo de nutrientes (Silva *et al.*, 2016).

solution, reduces the content of dry biomass due to the root damage displayed by the plant. This led to a shortage of water, causing stomata to close, the flow of CO_2 to become inhibited, and nutrient absorption through the roots. This reduces photosynthesis and the production of carbohydrates (Pan *et al.* 2011), and the size of the plant the dry biomass decreases (Stagnari *et al.*, 2014).

The content of total chlorophyll (Figure 3B) in interior leaves displayed no significant differences, and it was only in exterior leaves that the highest concentration was apparent in treatment 0/100, with 31.25 %, compared with 25/0 and 75/0; there were no statistical differences in the other treatments. The reduction in the content of chlorophyll due to water deficit presents oxidative stress and may be the result of the photooxidation of the pigment the degradation of chlorophyll (Anjum *et al.*, 2011). In chlorophyll in interior leaves (Figure 3C) there were no differences between treatments. In the exterior leaves, the highest concentration was observed in 0/100 and 100/0 with 48.4 % as compared to 25/0, but these treatments were no different to the others. In the concentration of chlorophyll b (Figure 3D), there were no differences between interior and exterior leaves. In this sense, Filimon *et al.* (2016) pointed out that the variations in the chlorophyll a/b ratio are indicators of senescence or stress, and they affect the normal biological processes of the plants.

The electric conductivity (EC) values (Figure 4A) for the nutrient solution with the treatment without OBN (0/100) underwent a sharp decrease and it was different to the other treatments; by contrast, the decrease in EC was gradual in all treatments with OBN. The 0/100 treatment had the lowest reduction in EC (61.53 %), followed by the OBN treatments with fertilizer (25/75, 50/50, 75/25) with 34.51 % and the treatments with OBN without fertilizer (25/0, 50/0, 75/0 and 100/0) with 16 % of the initial solution. Paulus *et al.* (2012) pointed out that the EC in the nutrient solution decreases throughout the planting cycle due to the intake of nutrients (Silva *et al.*, 2016).

In the final content of NO_3^- in the nutrient solution (Figure 4B) differences were found between treatments, and in 0/100, 88.68 % of said element decreases due to the absorption the plant had to carry out (Brenda, debo revisar esta palabra en español) its functions. Bugbee (2004) mentioned that in

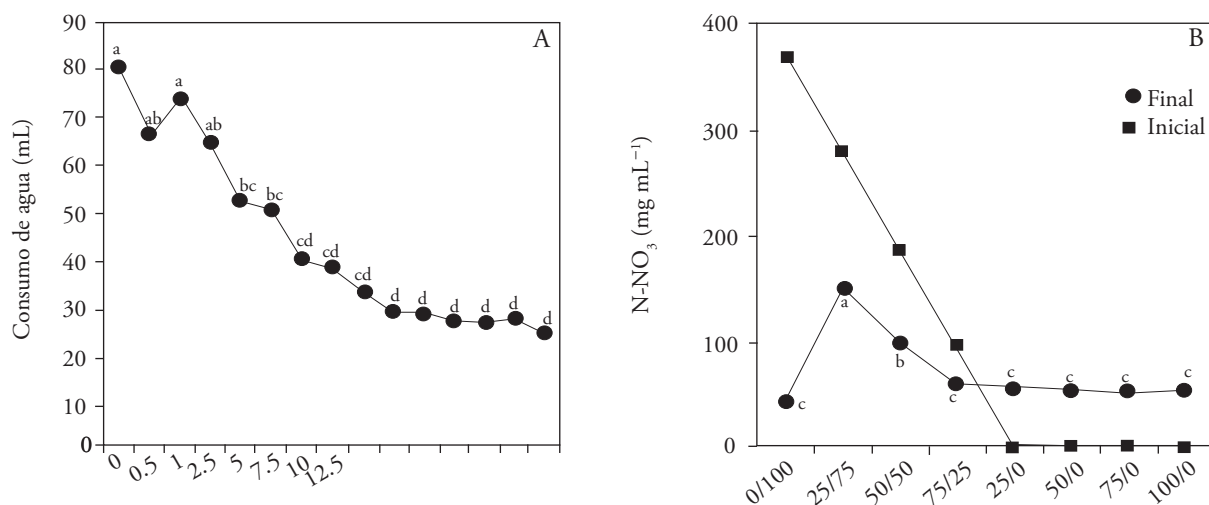


Figura 4. Comportamiento de la solución nutritiva al final del experimento: A) conductividad eléctrica, B) contenido de nitratos de los tratamientos con OBN/Fertilizante en solución Steiner, para evaluar el efecto de un fertilizante nitrogenado a base de bentonita modificada en el crecimiento de lechuga hidropónica. Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas (Tukey; $p \leq 0.05$).

Figure 4. Behavior of the nutrient solution at the end of the experiment: A) electric conductivity, B) content of nitrates of the treatments with OBN/Fertilizer in Steiner solution, to evaluate the effect of a nitrogenated fertilizer, based on modified bentonite on the growth of hydroponic lettuce. Different letters in the treatments indicate significant differences (Tukey; $p \leq 0.05$).

En el contenido final de NO_3^- de la solución nutritiva (Figura 4 B) se detectaron diferencias entre los tratamientos, y con el 0/100 disminuyó 88.68 % del elemento por la absorción que tuvo la planta para realizar sus funciones. Bugbee (2004) mencionó que en sistemas hidropónicos las plantas remueven rápidamente algunos nutrientes como el N y en unas pocas horas puede bajar la concentración a niveles bajos. En los otros tratamientos, al tener baja absorción del NO_3^- la solución nutritiva no se renovó como en el caso del 0/100. Al considerar solo la aplicación de fertilizante N-NO_3^- a través de la solución Steiner, la absorción comparada con el 0/100 en el tratamiento 25/75 es de 44.64 % y 50/50 de 47.89 % y 75/25 de 36.44 %. Ingestad y Agren (1995) mencionaron que la demanda de nutrientes de las plantas tiene relación directa con la tasa de crecimiento de éstas, donde los nutrientes se absorben de acuerdo con la síntesis de nueva biomasa, lo cual en nuestro experimento se puede ver en el tratamiento, 0/100 con más biomasa seca (Figura 3 A).

Los tratamientos con solo OBN que no tenían N-NO_3^- en la solución Steiner, 25/0, 50/0, 75/0 y 100/0, mostró (Figura 4 B) una liberación de 50 a 60 mg L^{-1} de N-NO_3^- , esto confirmó que la bentonita

hydroponic systems, plants quickly remove nutrients such as N, and in a few hours, can reduce the concentration to low levels. In the other treatments, due to their low absorption of NO_3^- the nutrient solution was not renewed, as in the case of the 0/100. When considering only the application of fertilizer N-NO_3^- through the Steiner solution, the complete absorption compared with the 0/100 in treatment 25/75 is 44.64 % and 50/50 of 47.89 % and 75/25 of 36.44 %. Ingestad and Agren (1995) pointed out that the demand for nutrients of plants is directly related to their growth rate, in which the nutrients are absorbed according to the synthesis of new mass, which, in our experiment, can be observed in treatment 0/100 with more dry biomass (Figure 3A). The treatments with only OBN that had no N-NO_3^- in the Steiner solution, 25/0, 50/0, 75/0 and 100/0, displayed (Figure 4B) a release of 50 to 60 mg L^{-1} of N-NO_3^- , confirming that the modified bentonite with a surfactant such as HDTMA adsorbed and released the nutrient used, which gives around 15 % of the value applied, as compared to 0/100 with the Steiner solution. In experiments in lettuce with N-NO_3^- , Mahlangu *et al.* (2016) observed that this concentration is enough for the growth and

modificada con un surfactante como el HDTMA adsorbió y liberó el nutriente utilizado, lo que da alrededor del 15 % del valor aplicado comparado con el 0/100 con la solución Steiner. En experimentos en lechuga con dosis de N con 60 mg L^{-1} Mahlangu *et al.* (2016) observaron que esta concentración es suficiente para el crecimiento y rendimiento de las plantas. En nuestra evaluación, las cantidades del NO_3^- encontrado en la solución probablemente no fue la limitante mayor para las diferencias de crecimiento respecto a 0/100; la limitante pudo ser por otros factores, como el daño radical y el consumo de agua. Además, en la demanda de nutrientes, en especial N, las plantas pueden movilizarlo de las hojas senescentes a las hojas en expansión (Masclaux-Daubresse *et al.*, 2010), asociado esto con una mejor movilización de compuestos de N endógenos (Gombert *et al.*, 2010). Esto podría explicar el amarillamiento de las hojas senescentes en las plantas con los tratamientos con OBN (Figura 2 A) lo cual podría haber reducido la cantidad de N-NO_3^- utilizado en las plantas (Figura 4 B).

Experimento 2:

Con las concentraciones bajas de 0 a 2.5 mg L^{-1} de HDTMA el consumo de agua presentó 34.1 % más que 5 mg L^{-1} y un 63.6 % a partir de 17.5 mg L^{-1} (Figura 5 A), y es evidente que el efecto del surfactante limita la absorción de agua. Debido a un daño radical que oscurece la parte inferior de la raíz, alcanzando un color café oscuro y una necrosis al final de la evaluación (Figura 6), y es muy similar a la del experimento 1 (Figura 2 B). Este efecto se puede atribuir a las sales cuaternarias de amonio que en altas concentraciones podrían conducir a un daño de la membrana celular de la raíz, y los componentes tóxicos podrían entrar a las partes internas de la planta (Liu *et al.*, 2013; Cvjetko-Bubalo *et al.*, 2014), como es el caso del HDTMA que ocasiona un daño en la raíz de lechuga Song y Kim (2016). Así se comprueba que el HDTMA es considerablemente tóxico para las plantas en medios líquidos. Además, confirma que su uso es un peligro potencial para el medio ambiente, humanos, mamíferos y organismos acuáticos (Ismadji *et al.*, 2015; Pawłowska y Biczak, 2016) y plantas.

En CE se observó (Figura 5 B) que con las concentraciones de 0 a 5 mg L^{-1} el comportamiento fue similar al tratamiento sin HDTMA; en los tratamientos de 7.5 mg L^{-1} la disminución fue mayor (56.4 %), con una tendencia creciente en los tratamientos de

yield of plants. In our evaluation, the amounts of NO_3^- in the solution was probably not the greatest limitation for the differences in growth as compared with 0/100; the limitation could be due to other factors, such as damage to the roots and water intake. Likewise, in the demand for nutrients, particularly N, plants can move it from senescent leaves to the leaves in expansion (Masclaux-Daubresse *et al.*, 2010), related to a better mobilization of endogenous N compounds (Gombert *et al.*, 2010). This may explain the yellowing of senescent leaves in treatments with OBN (Figure 2A), which might reduce the amount of N-NO_3^- used in the plants (Figure 4B).

Experiment 2:

With the low concentrations of 0 to 2.5 mg L^{-1} of HDTMA, water intake displayed 34.1 % more than 5 mg L^{-1} and 63.6 % from 17.5 mg L^{-1} (Figure 5A), and it is evident that the effect of the surfactant limits water absorption, due to damages in the roots that darken the lower part of the root, reaching a dark brown color and a necrosis at the end of the evaluation (Figure 6), which is very similar to that in experiment 1 (Figure 2B). This effect may be due to the quaternary ammonium salts that, in high concentrations, could lead to damages in the cell membrane of the roots, and toxic components could reach the internal parts of the plant (Liu *et al.*, 2013; Cvjetko-Bubalo *et al.*, 2014), as in the case of the HDTMA that causes damage in the root of the lettuce plant Song y Kim (2016). This shows that HDTMA is considerably toxic for plants in liquid media. It also confirms that its use is a potential hazard for the environment, humans, mammals and aquatic organisms (Ismadji *et al.*, 2015; Pawłowska and Biczak, 2016) and plants.

In EC it was observed (Figure 5B) that with the concentrations of 0 to 5 mg L^{-1} the behavior was similar to the treatment without HDTMA; in the treatments of 7.5 mg L^{-1} , reduction was greater (56.4 %), with a growing tendency in the treatments of higher concentrations (84.5 %); this indicated that the HDTMA limited the reduction in EC. Song and Kim (2016) pointed out that the HDTMA significantly affects root elongation in seedlings, and as a consequence, growth is altered. In this case, since the root is damaged, nutrient intake is limited, therefore the EC barely reduces.

The NO_3^- present in the nutrient solution (Figure 5C), with 0 to 2.5 mg L^{-1} of HDTMA was 32.8 %

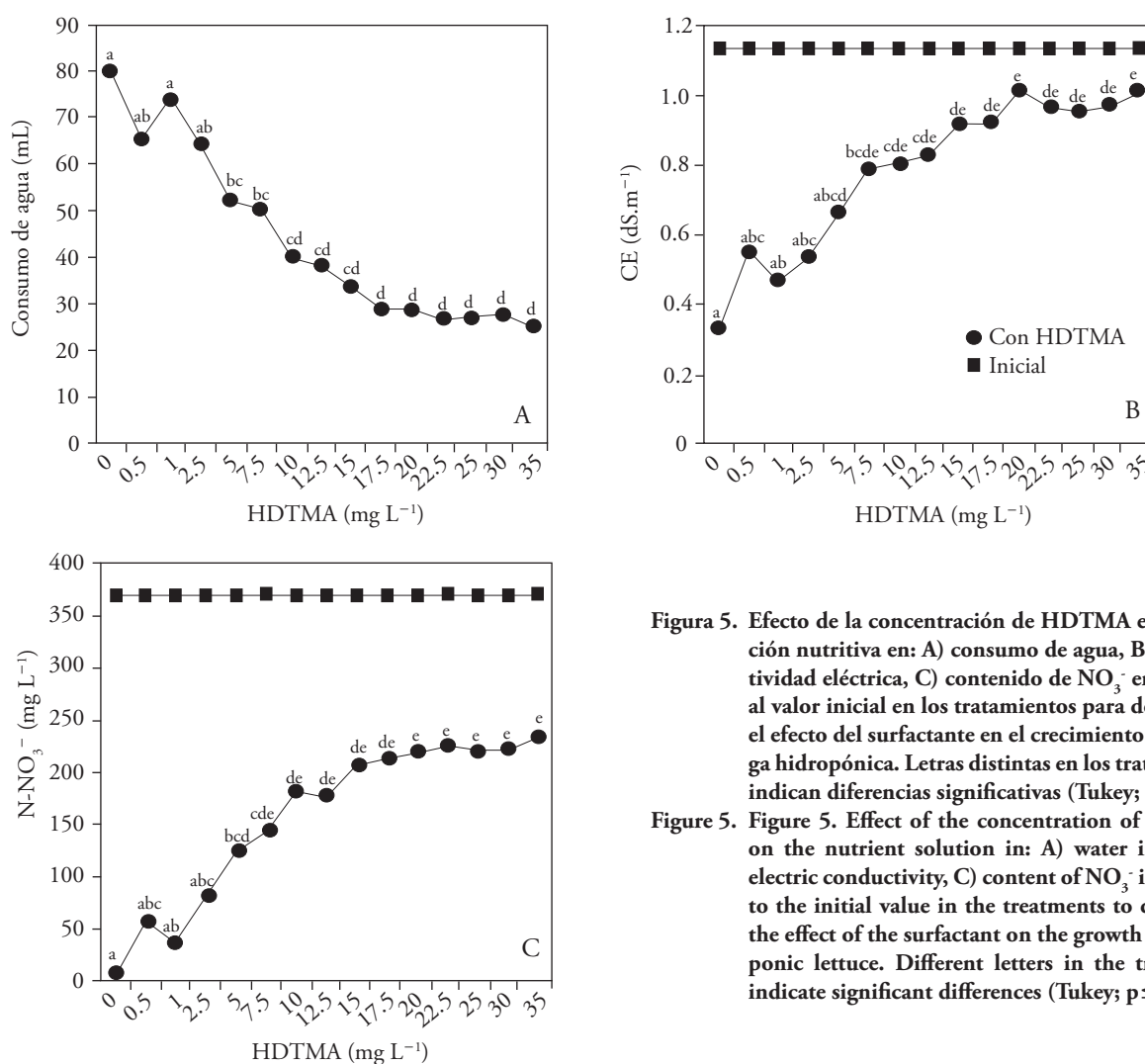


Figura 5. Efecto de la concentración de HDTMA en la solución nutritiva en: A) consumo de agua, B) conductividad eléctrica, C) contenido de NO₃⁻ en relación al valor inicial en los tratamientos para determinar el efecto del surfactante en el crecimiento de lechuga hidropónica. Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas (Tukey; $p \leq 0.05$).

Figure 5. Effect of the concentration of HDTMA on the nutrient solution in: A) water intake, B) electric conductivity, C) content of NO₃⁻ in relation to the initial value in the treatments to determine the effect of the surfactant on the growth of hydroponic lettuce. Different letters in the treatments indicate significant differences (Tukey; $p \leq 0.05$).

concentraciones mayores (84.5 %); esto indicó que el HDTMA limitó el descenso de la CE. Song y Kim (2016) señalaron que el HDTMA afecta significativamente la elongación de la raíz en plántulas y como consecuencia el crecimiento se altera. En este caso al estar dañada la raíz la toma de nutrientes es limitada por lo que la CE casi no disminuye.

El NO₃⁻ en la solución nutritiva (Figura 5 C), con 0 a 2.5 mg L⁻¹ de HDTMA fue 32.8 % mayor que con 5 mg L⁻¹ y 58.4 % que con 20 mg L⁻¹. Por lo tanto, la absorción del contenido de este nutriente fue limitada debido al efecto del HDTMA. Salas y Urrestarazu (2004) indicaron que, bajo condiciones de estrés, la absorción de minerales está vinculada al consumo de agua, y estos procesos no se afectan similarmente por las condiciones medioambientales.

higher than with 5 mg L⁻¹ and 58.4 % than with 20 mg L⁻¹. Therefore, the absorption of the content of this nutrient was limited, due to the effect of the HDTMA. Salas and Urrestarazu (2004) pointed out that, under stress conditions, mineral intake is linked to the intake of water, and these processes are not similarly affected by environmental conditions.

In lettuce planting, we observed a release of the N-NO₃⁻ in OBN of the liquid medium; root damage (experiment 1) was attributed to the surfactant HDTMA (experiment 2). Therefore, in the production of slow-release fertilizers with bentonites, the surfactant can be changed for another compound with similar characteristics to produce the OBN, but less harmful to plants. In other conditions, such as in the soil, the compound can be applied (Pawłowska



Figura 6. Efecto de la concentración de HDTMA en la solución nutritiva en las plantas de lechuga.
 Figure 6. Effect of the concentration of HDTMA on the nutrient solution on lettuce plants.

En el cultivo de lechuga se observó liberación del N-NO_3^- en OBN del medio líquido; el daño radical (experimento 1) se atribuyó al tensoactivo HDTMA (experimento 2). Por lo tanto, en la fabricación de fertilizantes de lenta liberación con bentonitas el tensoactivo puede cambiarse por otro compuesto con características similares para elaborar la OBN, pero menos nocivo para las plantas. En otras condiciones, como en el suelo, el compuesto podría aplicarse (Pawłowska y Biczak, 2016). Ivanković y Hrenović (2010) señalaron que en el ambiente los tensoactivos se degradan principalmente por la actividad microbiana y que la adsorción en el suelo o en los sedimentos puede reducir su toxicidad.

CONCLUSIONES

El material fertilizante organobentonita-nitrato afecta negativamente el crecimiento de lechuga, porque disminuye la biomasa seca total en hoja y raíz, el tamaño y número de hojas y el área foliar. El tensoactivo HDTMA usado para fabricar la organobentonita es tóxico para la raíz y afecta el consumo de agua y nitratos de la solución nutritiva. La organobentonita

and Biczak, 2016). Ivanković and Hrenović (2010) pointed out that, in the environment, the surfactants are degraded, mainly due to microbial activity and to the fact that adsorption in the soil or in the sediments can reduce its toxicity.

CONCLUSIONS

The fertilizing material organobentonite-nitrate negatively affects the growth of lettuce, since it reduces the total dry biomass in leaves and roots, size and number of leaves, and foliar area. The surfactant HDTMA used to produce organobentonite is toxic for the root and affects the intake of water and nitrates from the nutrient solution. Organobentonite can be used as an adsorbent of nutrients and fertilizing material, since it releases nitrate; although the surfactant must be selected in order to reduce negative effects on growth.

—End of the English version—

---*---

se podría usar como adsorbente de nutrientes y material fertilizante, ya que libera el nitrato; aunque debe seleccionarse tensoactivo para reducir los efectos negativos en el crecimiento.

LITERATURA CITADA

- Andersen, F. 1997. Final report on the safety assessment of cetrimonium chloride, cetrimonium bromide, and steartrimonium chloride. *Int. J. Toxicol.* 16: 195-220.
- Anjum, S.A., X.Y. Xie, L.C. Wang, M.F. Saleem, C. Man, and W. Lei. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *Afr. J. Agric. Res.* 6: 2026-2032.
- Baldi, E., C.E. Wells, and B. Marangoni. 2010. Nitrogen absorption and respiration in white and brown peach roots. *J. Plant Nutr.* 33: 461-469.
- Basak, B.B., S. Pal and S.C. Datta. 2012. Use of modified clays for retention and supply of water and nutrients. *Curr. Sci.* 102: 1272-1278.
- Berber, M. R., I. H. Hafez, K. Minagawa, and T. Mori. 2014. A sustained controlled release formulation of soil nitrogen based on nitrate-layered double hydroxide nanoparticle material. *J. Soils Sediments* 14: 60-66.
- Bhardwaj, D., and R. Tomar. 2011. Use of surface modified inorganic nano materials as slow release nitrogen fertilizer. *In: Behnassi, M., S.A. Shahid, and J. D'Silva (eds). Sustainable Agricultural Development.* Springer Science. Netherlands. pp: 171-184.
- Bhardwaj, D., M. Sharma, P. Sharma, and R. Tomar. 2012. Synthesis and surfactant modification of clinoptilolite and montmorillonite for the removal of nitrate and preparation of slow release nitrogen fertilizer. *J. Hazard. Mater.* 227: 292-300.
- Bugbee B. 2004. Nutrient management in recirculating hydroponic culture. *Acta Hort.* 648: 99-112.
- Cameron, K.C., H.J. Di, and J.L. Moir. 2012. Nitrogen losses from the soil/plant system: a review. *Ann. Appl. Biol.* 162: 145-173.
- Ceyhan, Ö., H. Güler, and R. Güler. 1999. Adsorption mechanisms of phenol and methylphenols on organoclays. *Adsorpt. Sci. Technol.* 17: 469-477.
- Chien, S.H., L.I. Prochnow, and H. Cantarella. 2009. Recent developments of fertilizer production and use to improve nutrient efficiency and minimize environmental impacts. *Adv. Agron.* 102: 267-322.
- Cvjetko-Bubalo, M., K. Radosevic, I. Radojic-Redovnikovic, J. Halambek, and V. G. Srcek. 2014. A brief overview of the potential environmental hazards of ionic liquids. *Ecotox. Environ. Saf.* 99: 1-12
- De Campos-Bernardi, A. C., J. C. Polidoro, M. B. de Melo Monte, E. I. Pereira, C. R. de Oliveira, and K. Ramesh. 2016. Enhancing nutrient use efficiency using zeolites minerals -A Review. *ACES* 6: 295-304.
- EPA-ERT (Environmental Protection Agency, Environmental Response Team). 1994. Chlorophyll Determination, Standard Operating Procedure #2030. Washington, D. C., USA. 6 p.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2017. World fertilizer trends and outlook to 2020. Summary Report. Rome. 27 p.
- Filimon, R. V., L. Rotaru, and R. M. Filimon. 2016. Quantitative investigation of leaf photosynthetic pigments during annual biological cycle of *Vitis vinifera* L. Table Grape Cultivars. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 37: 1-14.
- Forni, C., D. Duca, and B. R. Glick. 2017. Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. *Plant Soil* 410: 335-356.
- Gepstein, S., and B. R. Glick. 2013. Strategies to ameliorate abiotic stress-induced plant senescence. *Plant Mol. Biol.* 82: 623-633.
- Gombert, J., F. Le Dily, J. Lothier, P. Etienne, L. Rossato, J. M. Allirand, A. Jullien, A. Savin, and A. Ourry. 2010. Effect of nitrogen fertilization on nitrogen dynamics in oilseed rape using 15N-labelling field experiment. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 173: 875-884.
- Gu, J., X. Wei, J. Wang, X. Dong, and Z. Wang. 2015. Marked differences in standing biomass, length density, anatomy and physiological activity between white and brown roots in *Fraxinus mandshurica* Rupr. plantation. *Plant Soil* 392: 267-277.
- Hawkesford, M., W. Horst, T. Kichey, H. Lambers, J. Schjoerring, I. S. Møller and P. White. 2012. Functions of macronutrients. *In: Marschner, P. (ed). Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants.* Ed. Elsevier Ltd., Amsterdam, The Netherlands. pp: 135-189.
- Hummel Jr, N. W., and D. V. Waddington. 1986. Field dissolution of sulfur-coated ureas in turfgrass. *HortScience* 21: 1155-1156.
- Ingestad, T., and G. I. Agren. 1995. Plant nutrition and growth: Basic principles. *Plant Soil* 168: 15-20.
- Ismadji, S., F. E. Soetaredjo, and A. Ayucitra. 2015. Clay materials for environmental remediation. *In: Sharma, S. K. (ed). Springer Briefs in Molecular Science. Green Chemistry for Sustainability.* Springer. 123 p.
- Ivanković, T., and J. Hrenović. 2010. Surfactants in the environment. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* 61: 95-110.
- Jacobo-Azuara, A., R. Leyva-Ramos, E. Padilla-Ortega, A. Aragón-Piña, R. M. Guerrero-Coronado, and J. Mendoza-Barrón. 2006. Removal of toxic pollutants from aqueous solutions by adsorption onto an organobentonite. *Adsorpt. Sci. Technol.* 24: 687-699.
- King, K. W. and J. C. Balogh. 2000. Development of a nitrogen-release algorithm for slow-release fertilizers. *Trans ASAE* 43: 661-664.
- Li, Z. 2003. Use of surfactant-modified zeolite as fertilizer carriers to control nitrate release. *Microporous Mesoporous Mater.* 61: 181-188.
- Lisar, S. Y., R. Motafakkerzad, M. M. Hossain, and I. M. Rahman. 2012. Water stress in plants: causes, effects and responses. *In: Rahman, I.M.M., and H. Hazeigawa (eds). Water Stress.* InTech. pp: 1-12.
- Liu, H., S. Zhang, X. Hu, and C. Chen. 2013. Phytotoxicity and oxidative stress effect of 1-octyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid on rice seedlings. *Environ. Pollut.* 181: 242-249.
- Mahlangu, R. I. S., M. M. Maboko, D. Sivakumar, P. Soundy, and J. Jifon. 2016. Lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth,

- yield and quality response to nitrogen fertilization in a non-circulating hydroponic system. *J. Plant Nut.* 39: 1766-1775.
- Malekian, R., J. Abedi-Koupai, and S. S. Eslamian. 2011. Influences of clinoptilolite and surfactant-modified clinoptilolite zeolite on nitrate leaching and plant growth. *J. Hazard. Mater.* 185: 970-976.
- Masclaux-Daubresse, C., F. Daniel-Vedele, J. Dechorgnat, F. Chardon, L. Gaufichon, and A. Suzuki. 2010. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: Challenges for sustainable and productive agriculture. *Ann. Bot.* 105: 1141-1157.
- Momblano, P., B. Pradere, N. Jarrige, D. Concina and E. Bloom. 1984. Metabolic acidosis induced by cetrimonium bromide. *Lancet.* 324: 1045.
- Naghash, A. and A. Nezamzadeh-Ejehieh. 2015. Comparison of the efficiency of modified clinoptilolite with HDTMA and HDP surfactants for the removal of phosphate in aqueous solutions. *J. Ind. Eng. Chem.* 31: 185-191.
- Pan, X., R. R. Lada, C. D. Caldwell, and K. C. Falk. 2011. Water-stress and N-nutrition effects on photosynthesis and growth of *Brassica carinata*. *Photosynthetica* 49: 309-315.
- Paulus, D., E. Paulus, G. A. Nava, and C. A. Moura. 2012. Crescimento, consumo hídrico e composição mineral de alface cultivada em hidroponia com águas salinas. *Rev. Ceres* 59: 110-117.
- Pawłowska, B., and R. Biczak. 2016. Evaluation of the effect of tetraethylammonium bromide and chloride on the growth and development of terrestrial plants. *Chemosphere* 149: 24-33.
- Podar, D. 2013. Plant growth and cultivation. *In*: Frans, J. and M. Maathuis (eds). *Plant Mineral Nutrients: Methods and Protocols. Methods Mol. Biol.* 953: 23-45.
- Salas, S. M. C., y G. M. Urrestarazu. 2004. Métodos de riego y fertirrigación en cultivos sin suelo. *In*: Urrestarazu, G. M. (ed). *Tratado de Cultivo sin Suelo. Mundi-Prensa, Madrid.* pp: 162-236.
- Sarkar, B., M. Megharaj, Y. Xi, G. S. R. Krishnamurti, and R. Naidu. 2010. Sorption of quaternary ammonium compounds in soils: implications to the soil microbial activities. *J. Hazard. Mater.* 184: 448-456.
- Sheng, G., S. Xu, and S. A. Boyd. 1996. Cosorption of organic contaminants from water by hexadecyltrimethylammonium-exchanged clays. *Water Res.* 30: 1483-1489.
- Silva, M. G. D., T. M. Soares, H. R. Gheyi, I. D. S. Oliveira, J. A. D. Silva-Filho, and F. F. D. Carmo. 2016. Frequency of recirculation of nutrient solution in hydroponic cultivation of coriander with brackish water. *Ver. Bras. Eng. Agríc. Ambient.* 20: 447-454.
- Sirousmehr, A., J. Arbabi, and M. R. Asgharipour. 2014. Effect of drought stress levels and organic manures on yield, essential oil content and some morphological characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum*). *Adv. Environ. Biol.* 8: 880-885.
- Song, U., and H. E. Kim. 2016. Assessing the phytotoxicity of cetrimonium bromide in plants using eco-physiological parameters. *J. Ecol. Environ.* 40: 1-5.
- Stagnari, F., A. Galieni, S. Specca, and M. Pisante. 2014. Water stress effects on growth, yield and quality traits of red beet. *Sci. Hort.* 165: 13-22.
- Steiner, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil* 15: 134-154.
- Tišler, T., J. Zagorc-Končan, M. Cotman, and A. Drolc. 2004. Toxicity potential of disinfection agent in tannery wastewater. *Water Res.* 38: 3503-3510.
- Trenkel, M.E. 2010. *Slow-and Controlled-release and Stabilized Fertilizers: An Option for Enhancing Nutrient Use Efficiency in Agriculture.* 2nd ed. International Fertilizer Industry Association, Paris, France. 160 p.
- Yuan, G. 2014. An organoclay formula for the slow release of soluble compounds. *Appl. Clay Sci.* 100: 84-87.
- Zhou, Y., X. Y. Jin, H. Lin, and Z. L. Chen. 2011. Synthesis, characterization and potential application of organobentonite in removing 2, 4-DCP from industrial wastewater. *Chem. Eng. J.* 166: 176-183.