

## Efecto de la actividad microbiana sobre la nitrificación en suelos cultivados con *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweicerdt en Cereté, Córdoba

### Effect of the microbial activity on nitrification in soils cultivated with *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweicerdt in Cerete, Cordoba

Liliana M. Grandett<sup>1\*</sup>, Sony De la C. Reza<sup>2</sup>, Juan Jaraba<sup>3</sup>, Yuri J. Pardo<sup>4</sup>.

Recibido para publicación: Mayo 1 de 2015 – Aceptado para publicación: Noviembre 25 de 2015

#### RESUMEN

Los fertilizantes nitrogenados en la agricultura han incrementado las emisiones de óxidos de Nitrógeno a la atmósfera. En este trabajo se evaluó la producción de NO<sub>2</sub>- (nitrito) y NO<sub>3</sub>- (nitrato) de microorganismos del suelo durante la época seca y de lluvias, en el Centro Investigación Turipaná de Corpoica, Cereté, Colombia. Se utilizó un diseño de parcelas divididas con bloques completamente al azar, con tres accesiones de *Brachiaria humidicola* (CIAT 16888, CIAT 26159 y CIAT 679), tres dosis de nitrógeno (0, 150 y 300 kg ha<sup>-1</sup>), dos épocas de aplicación y tres repeticiones por tratamiento. Parcelas sin cobertura vegetal fueron usadas como control. Se determinó el número más probable (NMP) de colonias de bacterias productoras de nitrito y nitrato en la época seca y lluviosa, se evaluó la velocidad de producción de nitritos, nitratos y nitratos totales (nitritos + nitratos) en la época lluviosa, al inicio (Mayo) y al final (Septiembre) de la fertilización nitrogenada. El mayor NMP se encontró a 300 kg ha<sup>-1</sup> de N y la más alta producción de nitritos y nitratos se encontró en las parcelas sin cobertura. Las accesiones CIAT 16888 y CIAT 279 presentaron las menores producciones de nitratos y nitratos en todos los tratamientos en ambos muestreos. Las accesiones de *B. humidicola* utilizadas en este estudio redujeron la producción de nitritos y nitratos en condiciones de campo, por lo que constituyen una pastura importante en las estrategias de reducción de emisiones de óxidos nitrosos a la atmósfera.

**Palabras claves:** Nitrógeno, nitritos, nitratos y *Brachiaria humidicola*.

#### ABSTRACT

Nitrogen fertilizers used in agriculture have increased the emissions of nitrogen oxides to the atmosphere. This study evaluated the production of NO<sub>2</sub>- (nitrite) and NO<sub>3</sub>- (nitrate) by soilborne bacteria during the dry and the rainy seasons in The Reseach Center Turipaná, Corpoica, (Cereté, Colombia). A split plot desing with three accessions of *Brachiaria humidicola* (CIAT 16888, CIAT 26159 and CIAT 679), three levels of nitrogen (0, 150 and 300 kg ha<sup>-1</sup>) and two time of applications (rainy and dry season) were used. Unplanted plots were used as a control. The Most Probably Number (MPN) of bacterial colonies (Log NMP/10g of soil) was assessed in the rainy and dry season. In addition, the speed of nitrite and nitrate production (mg N-NO<sub>2</sub>- kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) by soilborne bacteria was determined at the beginning (May) and the end of the rainy season (September). The results showed that the number of bacterial colonies were directly proportional to the nitrogen levels. Consequently, the highest number of MPN of bacterial colonies was observed at the highest level of nitrogen (300 kg ha<sup>-1</sup>). The nitrite and nitrate production was higher in planted plots compared to unplanted plots. However, the higher production of oxides of nitrogen was observed at the beginning of the rainy season. *B. humidicola* CIAT 26159 showed the highest production of nitrite at the level of 300 kg of N ha<sup>-1</sup> compared to the other two *B. humidicola* accessions and the control in May. In contrast, *B. humidicola* CIAT679 was more efficient in the nitrite production compared to the other treatments.

**Key words:** Nitrogen, NMP, nitrites, nitrates and *Brachiaria humidicola*.

<sup>1\*</sup> Ms. C. Investigador, Centro de Investigación Turipaná CORPOICA, Kilómetro 13 vía Montería – Cereté. Teléfono: 3152444667; correo electrónico: lgrandett@corpoica.org.co.

<sup>2</sup> Ph.D. Investigador Centro de Investigación Turipaná CORPOICA, sreza@corpoica.org.co. Kilómetro 13 vía Montería – Cereté.

<sup>3</sup> Ph. D. Profesor, Departamento de Ingeniería Agronómica y Desarrollo Rural, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia.

<sup>4</sup> Ms. C. Profesor grupo de investigaciones en bioquímica. Universidad de Córdoba, Montería, Colombia. Correo electrónico yurijanio2011@gmail.com

## INTRODUCCIÓN

El nitrógeno es un componente esencial para cualquier cultivo, por ello el uso de fertilizantes orgánicos y minerales es una práctica extendida en sistemas agropecuarios. Sin embargo, la utilización masiva de fertilizantes nitrogenados en los suelos ha dado lugar a un aumento importante en las emisiones de óxidos de nitrógeno a la atmósfera. De todos ellos, se destaca el óxido nitroso ( $N_2O$ ), un potente Gas de Efecto Invernadero (GEI) implicado en la destrucción de la capa de ozono. La producción de  $N_2O$  en los suelos ocurre tanto por el proceso oxigénico de nitrificación como por el anoxigénico de desnitrificación y está sujeta a las condiciones ambientales y al tipo de manejo al que los suelos son sometidos (Bronson 1994).

La nitrificación es un proceso bioquímico importante para la fertilidad del suelo por el cual las bacterias nitrificantes transforman el amonio en nitratos ( $NO_3^-$ ) para ser utilizado por las plantas. Sin embargo, algunos aspectos negativos de este proceso han sido objeto de estudio, especialmente la lixiviación de  $NO_3^-$  y emisión de óxido nítrico (NO) y  $N_2O$ . La desnitrificación es el proceso por el cual el nitrógeno en forma de nitrato pasa a  $NO_2^-$ ,  $N_2O$  y  $N_2$ , los cuales tienen un gran potencial en las pérdidas de nitrógeno en los sistemas agrícolas. Se han estimado pérdidas debidas a la desnitrificación de hasta 73% del nitrógeno aplicado en el fertilizante (Knowles 1982; Sanaa 1993).

Varias prácticas de mitigación del calentamiento global han sido propuestas, entre ellas se consideran las dosis, fuentes y modos de aplicación de fertilizantes, como también, el uso de productos químicos y biológicos de la nitrificación. Los inhibidores químicos son compuestos que disminuyen la tasa de nitrificación al interferir con las actividades de las bacterias del grupo de las

nitrosomonas, bloqueando la transformación de  $NH_3$  en  $NO_2^-$ , conservando la forma amoniacal menos sujeta a pérdidas (Subbarao et al. 2006a). Sin embargo, los trabajos realizados en campo con estos productos no han arrojado resultados consistentes y de difícil reproducibilidad (Subbarao et al. 2006a). Los inhibidores biológicos de la nitrificación (INB) en el suelo han sido reportada (Lodhi 1982; White 1991). Algunos estudios sugieren que ciertos pastos tropicales son capaces de inhibir la nitrificación (Lata et al. 2000). Estudios realizados el CIAT- JIRCAS (Japón) en Colombia, encontraron que las especies *B. humudicola*, *B. decumbens*, *B. brizantha* y *B. dyctioneura* inhiben la nitrificación, debido a la producción de exudados en las raíces, (Brachialactona) estimulados por la presencia de amonio ( $NH_4^+$ ) en el suelo (Subbarao et al. 2006 a y b; Subbarao et al. 2009).

En Córdoba, se desconoce si las especies de *Brachiaria* cultivadas tienen capacidad inhibitoria de la nitrificación y cómo esa capacidad se comporta durante la temporada seca y de lluvias. Por lo anterior, se planteó el presente estudio para determinar la capacidad inhibitoria de nitrificación y reducción de óxido nitroso en campo de tres accesiones de *Brachiaria humudicola* en las épocas seca y lluviosa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización del estudio

El experimento se desarrolló en el Centro de Investigaciones "Turipaná" de Corpoica, en el Departamento de Córdoba Municipio de Cereté, kilómetro 13 sobre la vía Montería-Cereté a 14 msnm,  $8^{\circ} 50' 986''$  de latitud Norte y  $75^{\circ} 48' 907''$  de longitud Oeste con una temperatura promedio de  $28^{\circ}C$ , humedad relativa de 87% y precipitación promedio anual de 1200 mm, distribuidas en las épocas de lluvias (Abril a inicios de Noviembre) y una época seca (finales de Noviembre a mediados de Abril).

### **Diseño experimental**

Se estableció un experimento con tres repeticiones y tres accesiones de *Brachiaria humidicola*. La parcela principal (100 m<sup>2</sup>) fue la accesión de *Brachiaria* y las parcelas secundarias (33 m<sup>2</sup>), la accesión y dosis de nitrógeno (urea al 46%). Se utilizó un área (100 m<sup>2</sup>) desprovista de vegetación como control.

### **Establecimiento del experimento**

Se estableció un experimento con tres accesiones de *Brachiaria humidicola* (CIAT 679, CIAT 16888 y CIAT 26159) y tres niveles de nitrógeno (0, 150 y 300 kg ha<sup>-1</sup>) con tres repeticiones. Las propiedades físicas y químicas del suelo se determinaron en el área de estudio. Los análisis físicos se realizaron en el laboratorio de suelos del CIAT según la metodología del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (SoilSurveyStaff 1999) y los análisis químicos se realizaron en el laboratorio de suelos de la Universidad de Córdoba según la metodología estandarizada por el Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC 1990).

El lote experimental se preparó con dos pases de rastra pesada y dos de pulidor. La aplicación de fertilizante base (100 kg ha<sup>-1</sup> de DAP y 50 kg ha<sup>-1</sup> de KCl) se hizo antes del último pase con base en los resultados de los análisis del suelo, de acuerdo al Manual de Asistencia Técnica No. 25 ICA (1992). Las accesiones fueron sembradas a 50 cm x 60 cm posterior a la aplicación de fertilizantes. Para simular el pastoreo, las dosis de nitrógeno se dividieron en seis aplicaciones durante la época de lluvias, las cuales se realizaron cada 28 días, después de cada corte de la pastura.

### **Parámetros evaluados**

Se determinó el número más probable (NMP) de colonias de bacterias productoras de nitrito y nitrato (Log NMP/10 g de suelo) en las épocas seca y lluviosa, la velocidad de producción de nitritos (mg N-NO<sub>2</sub>-kg<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>), nitratos (mg N-NO<sub>3</sub>-kg<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) y el total (nitritos + nitratos) en la época lluviosa.

El NMP se determinó durante cada época del estudio. De cada unidad experimental y de las parcelas sin cobertura vegetal, se tomó una muestra de suelo compuesta de cinco submuestras. Las diluciones para determinar el NMP fueron seleccionadas con base en una prueba preliminar, tomando una muestra de cada accesión en las subparcelas con 0 aplicación de N, donde se cuantificó el NMP usando la metodología propuesta por Saad y Conrad (1993). Brevemente, se hicieron diluciones seriadas de suelo-solución buffer de fosfato estéril desde 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-9</sup>. Se transfirió 1 mL de cada dilución a tubos de ensayos con medio de cultivo, usando como control tubos con medios no inoculados. Se realizaron cuatro réplicas por dilución. Los tubos fueron incubados a una temperatura entre 25 – 30 °C en la oscuridad durante tres semanas y posteriormente de cada tubo, se transfirió una alícuota de 0,1 ml a una placa teste, donde se adicionó una gota de Diazotizing Reagent y Coupling Reagenty se observó si los tubos se tornaban color rosa a rojo (positivos) indicando que NO<sub>2</sub>- estaba presente y en la dilución había presencia de bacterias amonio-oxidantes. Los tubos donde no se produjo alteración del color del medio, fueron considerados negativos. El NMP se determinó cuantificando el número de tubos positivos en cada dilución. Las diluciones seleccionadas en esta prueba fueron utilizadas para monitorear el NMP en cada uno de los tratamientos durante ocho semanas utilizando el procedimiento anteriormente descrito.

La velocidad de producción de nitrito y nitrato se determinó durante la época lluviosa y estuvo sujeta al tiempo en el cual se realizaron las aplicaciones de nitrógeno. Se realizaron dos muestreos, uno después de la primera aplicación de N (Mayo) y otro después de la segunda (Septiembre), usando la metodología de suelo incubado desarrollada por Watanabe y estandarizada por el CIAT (CIAT, 2006 y 2007). La velocidad de obtención de nitritos y nitratos se determinó a partir de la pendiente entre la

concentración de nitrito y nitrato en relación al tiempo.

### Análisis de la información

La información obtenida fue analizada estadísticamente mediante análisis de varianza y la comparación de medias de rango múltiple de Tukey ( $P < 0.05$ ), así como los coeficientes de determinación y regresión utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Presencia de colonias productoras de nitrito en el proceso de nitrificación.

Se detectó actividad microbiana en ambas épocas de estudio en las tres accesiones de *B. humificans* (Tablas 1 y 2). Sin embargo, el NMP fue mayor en la época lluviosa, lo cual pudo estar influenciado por la fertilización nitrogenada y mejores condiciones de humedad del suelo. En ambas épocas, a partir de la semana 6 de incubación el NMP tiende a disminuir, probablemente debido al agotamiento de nutrientes del medio de crecimiento de estos

organismos, lo cual es típico en la tendencia del NMP de colonias en *Brachiaria*. El comportamiento del NMP en ambas épocas y en las diferentes semanas de evaluación está acorde con las afirmaciones de Sextone et al. (1985), quienes determinaron que la humedad, la acidez, la temperatura, la concentración de oxígeno entre otros, influyen en el crecimiento y desarrollo de los microorganismos.

Se observaron diferencias significativas en el NMP entre accesiones en cada período. Durante la época seca la accesión CIAT 16888 mostró el mayor NMP de colonias durante las dos primeras semanas de evaluación (semana 3 y 4) comparada con las otras accesiones (Tabla 1). Durante la época lluviosa, la accesión CIAT 16888 fue superior en el NMP que la CIAT 679 en las primeras semanas de evaluación, mientras que en las últimas semanas la accesión CIAT 16888 fue superior en el NMP a la CIAT 26159 (Tabla 2). Estas diferencias en el NMP muestran que las accesiones tienen diferente capacidad de asociación con este tipo de bacterias, pese a que se encuentren en condiciones similares de suelo, ambiente y manejo.

**Tabla 1.** Medias logarítmicas del NMP de colonias por accesión de *B. humificans* desde la semana tres hasta la semana ocho de incubación en la época seca año 2010.

Accesión	Sem 3	Sem 4	Sem 5	Sem 6	Sem 7	Sem 8
CIAT 26159	5,45 b*	6,18 b	5,92 a	4,93 b	3,05 a	2,74 a
CIAT 16888	9,38 a	9,74 a	7,42 a	6,79 b	3,66 a	2,74 a
CIAT 679	6,60 b	6,40 b	7,40 a	8,43 a	6,45 a	3,56 b
**SC	81,39	71,61	36,91	55,27	59,20	5,40
***CM	40,69	35,80	6,67	276,36	29,60	27,02
F	13,92	11,56	0,72	3,58	3,25	0,41
P	0,0002	0,0006	0,5001	0,0491	0,0637	0,6723
CV	24,59	23,62	43,99	41,33	68,26	84,32
R <sup>2</sup>	0,64	0,63	0,16	0,52	0,37	0,24

\*Medias en una misma columna con letras diferentes, presentan diferencia significativa según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ).

\*\* Suma de cuadrados. \*\*\* Cuadrado medio. SEM: Semana

**Tabla 2.** Medias logarítmicas del NMP de colonias en tres accesiones de *B. humidicola* desde la semana tres hasta la semana ocho de incubación en la época lluviosa año 2010.

Accesiones	Sem 3	Sem 4	Sem 5	Sem 6	Sem 7	Sem 8
CIAT 26159	5,44 ab*	6,23 ab	4,85 b	5,78 b	3,97 b	3,14 b
CIAT 16888	7,04 a	7,74 a	8,91 a	9,51 a	7,59 a	5,83 ab
CIAT 679	4,49 b	5,02 b	5,82 a	6,75 ab	7,47 a	7,05 a
**SC GEN	29,96	33,43	81,03	67,62	76,17	66,21
***CM GEN	14,98	16,72	40,52	33,81	38,09	33,10
F	4,68	8,16	8,71	4,17	7,83	8,42
P	0,0315	0,0058	0,0046	0,0421	0,0067	0,0061
CV	31,62	22,59	33,02	38,71	34,76	365,099
R <sup>2</sup>	0,63	0,795	0,71	0,54	0,81	0,84

\*Medias en una misma columna con letras diferentes, presentan diferencia significativa según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ). \*\* Suma de cuadrados del genotipo. \*\*\* Cuadrado medio del genotipo.

Los coeficientes de variación del NMP oscilaron entre del 23,6% al 84,3%, característico de este tipo de investigación, probablemente debido a la presencia de otros microorganismos oxidantes de amonio a nitrito en las muestras de suelo analizadas, que no se evidenciaron durante este estudio. Sommer et al. (1976), reportan que existen otras bacterias como la *Nitrosospira* y *Nitrosocystus* y algunos hongos heterotróficos como el *Aspergillus flavus* que también desempeñan un papel importante en el proceso de nitrificación.

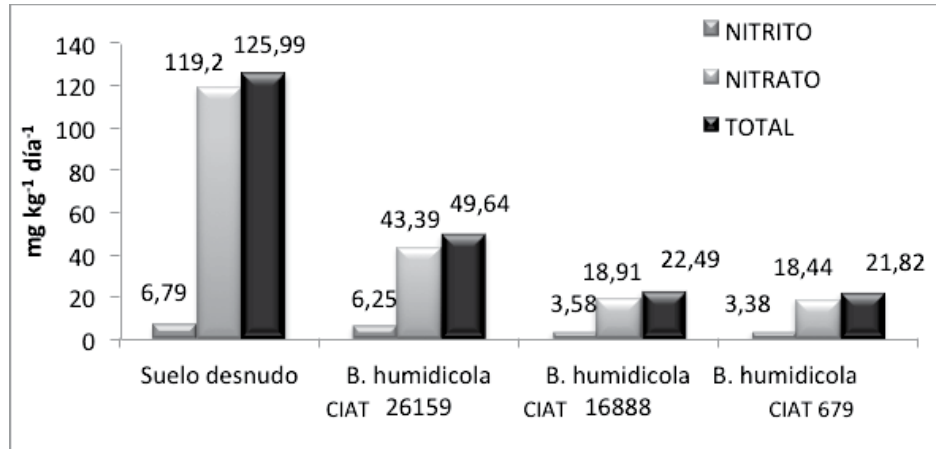
En las parcelas sin cobertura vegetal, no se observó un patrón definido del NMP durante el período de evaluación en la época seca, mientras que en la lluviosa el mayor NMP se presentó en la dosis de 300 kg ha<sup>-1</sup>. La ausencia de cobertura vegetal hace que las condiciones de humedad y temperatura del suelo sean variables con respecto a los suelos con vegetación, lo que afecta el establecimiento de microorganismos que intervienen en la descomposición de materia orgánica, por lo que los productos de la mineralización del nitrógeno puede ser lixiviados o emitidos a

la atmósfera con mayor facilidad en suelos sin vegetación, comparado con aquellos que la tienen (Trevors 1998; Montañó y Sánchez-Yañez 2014).

Los valores encontrados en el NMP en esta investigación coinciden con los hallados por Franklin y Mills (2003). Además, el NMP de microorganismos oxidadores de amonio a nitrito en este estudio, siguen la tendencia general de la curva de crecimiento de los microorganismos, en donde las primeras tres semanas de incubación el crecimiento es lento, pero a partir de la cuarta o quinta semana es rápido, disminuyendo a partir de esta última semana (Negroni 2009; Cerón y Ancizar 2012).

### 3.2. Producción de nitritos y nitratos

Las mayores producciones de nitritos y nitratos se encontraron en el suelo desnudo, comparados con las detectadas en los suelos sembrados con cada una de las accesiones de *Brachiaria* (Figura 1). Estos resultados muestran la capacidad que tiene *B. humidicola* de inhibir nitrificación, lo cual concuerda con los estudios del CIAT (2007) en Colombia y a



**Figura 1.** Producción de nitritos, nitratos y el total (nitrito + nitrato) en mg kg<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>, en tres accesiones de *Brachiaria humidicola* y en el suelo desnudo.

los realizados por Subbarao (2009), donde se demostró la capacidad de ésta planta de reducir la producción de nitritos y nitratos y que dicha capacidad está asociada con la producción de exudados (Brachialactona) en las raíces.

### Velocidad de producción de nitritos

Se observó que existen diferencias en la producción de nitritos en las dos épocas de muestreo y entre accesiones. Durante el muestreo inicial (May-10) la producción de nitrito fue mayor que en el segundo (Sep-10) en las tres accesiones de *B. huminicola* (Figura 2). Dentro de las accesiones, en el primer muestreo la accesión CIAT 26159 fue estadísticamente superior ( $P < 0.05$ ) comparada con las otras dos accesiones, al mostrar la producción más alta de  $\text{NO}_2^-$  ( $1,75 \text{ mg-N-NO}_2^- \text{ kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ) en la primera evaluación, mientras que en el segundo, la accesión CIAT 679 presentó la mayor producción de nitritos comparado a la CIAT 16888. La accesión CIAT 26159 presentó resultados intermedios. Esto indica que posiblemente las accesiones de mejor desempeño tuvieron mayor producción de Brachialactona.

La influencia de las dosis de fertilizantes en la producción de  $\text{NO}_2^-$  en las dos evaluaciones fue

contundente. Se observó que la dosis de  $300 \text{ kg de N ha}^{-1}$  en ambas evaluaciones fue superior ( $P < 0.05$ ) en la producción de  $\text{NO}_2^-$  con respecto a la no aplicación del fertilizante, mientras que la dosis de  $150 \text{ kg de N ha}^{-1}$  presentó resultados intermedios. De lo anterior se puede inferir que el efecto de las aplicaciones de nitrógeno sobre la producción de nitritos, es mayor que el producido por la enzima inhibidora de la nitrificación, posiblemente, debido a la mayor disponibilidad, en el suelo, de  $\text{NH}_4^+$  para la nitrificación. Además, se prevé que las mayores producciones del mes de mayo (época lluviosa), se deben a las condiciones ambientales y edáficas propias de la época (Grageda 2000).

En la interacción entre las accesiones y dosis de nitrógeno, sobre la velocidad de producción de nitrito ( $\text{mg N-NO}_2^- \text{ kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ) en ambas fechas de evaluación, se observó producciones bajas de nitritos en las parcelas cultivadas en comparación con el suelo desnudo, mientras que entre accesiones hubo diferencias claras. En el primer muestreo no se presentaron diferencia estadística entre los tratamientos a excepción de *B.h* CIAT 26159 en dosis de  $300 \text{ kg de N ha}^{-1}$ , que fue superior con  $3,27 \text{ mg N-NO}_2^- \text{ kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$ , comparada con las otras dos accesiones. En el segundo muestreo, las accesiones CIAT

16888 y CIAT 26159 fueron las que presentaron producciones de  $\text{NO}_2^-$ - superiores a la CIAT 679 en todos los tratamientos.

Estos resultados confirman que las accesiones tienden a ser más eficientes en la inhibición de la nitrificación para los dos muestreos, lo cual probablemente se debió a que en el suelo desnudo estuvo sometido con mayor rigor a los cambios climáticos y a los factores edáficos, por lo tanto, la regulación de la producción de nitritos se ve afectada, mostrando una tendencia a producir mayor cantidad en la primera evaluación. Ello significa, que en los suelos sin cobertura vegetal las pérdidas de nitrógeno son mayores, lo cual pueden incrementar la problemática del calentamiento global, por lo que el establecimiento de pasturas beneficia el equilibrio ambiental, ya que tienen la capacidad de inhibir el proceso de nitrificación.

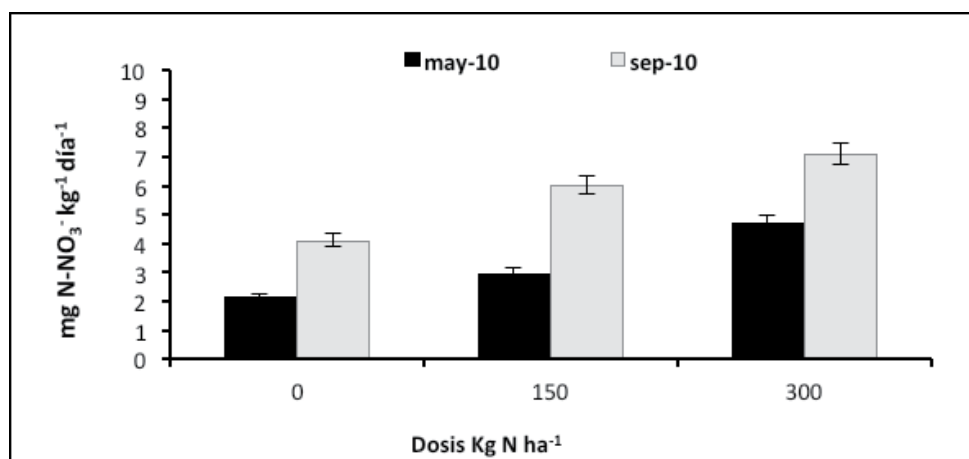
### Velocidad de producción de nitratos

La producción de nitrato presentó la misma tendencia de la de nitritos en ambos muestreos. En el primer muestreo la accesión CIAT16888, con  $1,31 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$ , fue la más eficiente de las tres accesiones al presentar la menor producción de este compuesto, mientras que en el segundo muestreo, las accesiones CIAT 16888 y CIAT 679 ( $4,99$  y  $3,84 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$

$\text{día}^{-1}$ , respectivamente) fueron más eficientes en este proceso. Este comportamiento reafirma, que la condición de humedad, propia de la época lluviosa, es adecuada para el crecimiento y desarrollo de bacterias que oxidan los nitritos a nitratos, el cual a su vez, es más estable que el ion nitrito, por consiguiente permanece más tiempo en el medio.

La producción de nitratos fue mayor en las parcelas fertilizadas comparadas con el control en ambas épocas (Figura 2). En adición, en el primer muestreo, la producción de nitratos estuvo directamente relacionada con las dosis del fertilizante, con la mayor producción en las parcelas y con la mayor aplicación. El efecto de las dosis de nitrógeno en las dos evaluaciones mostró estar relacionadas con la producción de nitratos, lo cual corrobora los resultados de los experimentos anteriormente descritos.

Las accesiones de *B. humidicola* presentaron diferencias en la capacidad de reducir nitratos en ambas épocas de evaluación (Tabla 3). Se observó que las *B. humidicola* CIAT 16888 y CIAT 679 presentaron producciones menores de nitratos, confirmando que estas accesiones tienden a ser más eficientes en la inhibición de la nitrificación en las dos evaluaciones.



**Figura 2.** Producción de nitratos en tres dosis de nitrógeno, en las dos épocas de muestreos, época seca y lluviosa durante el 2010. \*Medias en una misma serie con letras diferentes, presentan diferencia significativa Tukey ( $P < 0.05$ )

**Tabla 3.** Interacción entre las accesiones y dosis de nitrógeno, sobre la velocidad de producción de nitrato ( $\text{mg N-NO}_3\text{- kg}^{-1}\text{ día}^{-1}$ ) dos épocas de evaluación durante la temporada de lluvias durante el año 2010.

Primera evaluación (mayo 10)			
Accesiones	Dosis $\text{kg N ha}^{-1}$		
	0	150	300
<i>B.humidicola</i> CIAT 26159	4,8 b	6,35 a	7,27 a
<i>B.humidicola</i> CIAT 16888	0,15 e	1,74 cd	2,05 c
<i>B.humidicola</i> CIAT 679	1,4 cd	0,73 d	4,78 b
S.C		12.47825	
C.M		3.11955	
p		<.0001	
Suelo desnudo	2,15	3,23	54,67
Segunda evaluación (sep 10)			
<i>B.humidicola</i> CIAT 26159	4,01 cde	10,82 a	10,14 a
<i>B.humidicola</i> CIAT 16888	6,77 bc	5,16 bcd	3,04 de
<i>B.humidicola</i> CIAT 679	1,45 e	2,05 e	8,03 ab
S.C		143.4469	
C.M		35.8617	
p		<.0001	
Suelo desnudo	14,50	21,09	23,56

\*Medias en una misma columna con letras diferentes, presentan diferencia significativa según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ )

Es importante tener en cuenta que las aplicaciones de urea en la forma fraccionada posteriores a los eventos de las precipitaciones, como se realizaron en esta investigación, influyeron en el comportamiento y respuesta de las plantas sobre la velocidad de nitrificación, siendo una estrategia de manejo para reducir las pérdidas de nitrógeno (Raun y Johnson 1999; Dinnes et al. 2002; Canchila et al. 2011; Elda y Perotti 2015). Estos resultados conllevan a sugerir investigaciones que incluyan mayor tiempo y otros suelos del Valle del Sinú donde se siembra *Brachiaria* para el pastoreo y disminuir los riesgos del calentamiento global. Sousa y Lobato (2004) y Chaves-Bedoya et al. (2013)

reportan que la baja eficiencia en el uso de fertilizantes nitrogenados y la contaminación potencial que proviene de sus pérdidas son las principales preocupaciones de la agricultura moderna.

## CONCLUSIONES

El comportamiento de los microorganismos oxidantes de amonio a nitrito en la época seca y lluviosa fue diferente, por la humedad y la aplicación de fertilizantes, siendo la accesión *B. humidicola* CIAT 16888, la que registró los mayores valores de NMP de organismos oxidantes de amonio a nitrito.



Las producciones de nitritos y nitratos fueron menores en las accesiones *B. h.* CIAT 16888, CIAT 679 y CIAT 26159 en comparación con el suelo desnudo, indicando la acción inhibidora de la Brachialactona.

## REFERENCIAS

- Bronson Bronson, K. 1994.** Suppression of methane oxidation in aerobic soil by nitrification inhibitors. *Biology and Fertility Soils* 17. pp. 263-268.
- Canchila, R., Soca, M., Wencomo, H., Ojeda, F., Mateus, H., Romero, E., Argüello, G., Ruiz, R. y Canchila, N. 2011.** Comportamiento agronómico de siete accesiones de *Brachiaria humidicola* durante la fase de establecimiento. *Pastos y Forrajes* 34(2):155-166
- Chaves-Bedoya, G., Ortiz-Moreno, M. y Ortiz-Rojas, L. 2013.** Efecto de la aplicación de agroquímicos en un cultivo de arroz sobre los microorganismos del suelo. *Acta Agron.* vol.62, n.1, pp. 66-72. ISSN 0120-2812.
- Cerón, L. y Aristizábal, A. 2012.** Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. *Rev Col de Biotecnol* vol.14 (1) pp. 285-295
- Dinnes, L., Karlen, L., Jaynes, D., Kasper, C., Hatfield, L., Colvin, S y Cambardella, A. 2002.** Nitrogen management strategies to reduce nitrate leaching in tile drained. Midwest soil. *Agron. J.* 94: 153-171.
- Elda B. y R. Perotti. 2015.** El impacto de la hidroquinona usada como un modelo de efector redox sobre la desnitrificación potencial, la actividad microbiana y las condiciones redox de un suelo cultivable. *Rev Argent Microbiol.* 47(3):212-218
- Franklin, R. y Mills, A. 2003.** Multi-scale variation in spatial heterogeneity for microbial community structure in an eastern Virginia-agricultural field. *FEMS Microb. Ecol.* 44: 335-346.
- Grageda, O., Vermoesen, A., Cleemput, O. y Peña, J. 2000.** Efecto del tipo de suelo, humedad y fuente de nitrógeno en las emisiones de N<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O. *Rev. Terra.* 18(1). pp. 1-10.
- ICA, 1992.** Instituto Colombiano Agropecuario. Fertilización de Diversos Cultivos. Quinta Aproximación. Manual de Asistencia Técnica No. 25. Bogotá. 64p.
- IGAC. 1990.** Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Métodos analíticos del laboratorio de suelos. Bogotá. 5a edición. 664p.
- Knowles, R. 1982.** Denitrification. *Microbiol. Rev.* 46: 43-70.
- Lata, J., Durand, J., Lensi, R. y Abbadoe, L. 2000.** Stable coexistence contrasted nitrification statuses in a wet tropical savanna system, *Fun, Ecol,* 13: 762-763.
- Lodhi, M. 1982.** Additional evidence of inhibition of nitrifiers and possible cycling og inhibitors produced by selected plants in a climax community. *Bull Torrey Bot Club* 109: 199-204.
- Montaño, N. y Sánchez-Yañez, J. 2014.** Nitrificación en suelos tropicales, asunto de competencia microbiana: un modelo basado en la teoría de Lotka-Volterra. *Ecosistemas* 23(3): 98-104. Doi.: 10.7818/ECOS.2014.23-3.13.
- Negróni, M. 2009.** Microbiología estomatológica, fundamentos y guía práctica. Crecimiento, nutrición y metabolismo bacterianos. 2a ed. Buenos

Aire, Argentina. SNB: 978-950-06-1584-6. 656p.

- Raun, R. y Johnson, G. 1999.** Improving nitrogen use efficiency for cereal production. *Agron.J.* 91: 357-363.
- Saad, A. y Conrad, R. 1993.** Temperature dependence of nitrification, denitrification and turnover of nitric oxide in different soils. *Biol. Fert. Soils*, 15: 21-27.
- Sanaa, M. 1993.** Dynamique et bilan de l'azote mineral dans quelques sols calcaires in tunisie. Thèse Docteur en Sciences Agronomiques. Gent, Belgique.
- Sextone, A., Revsbech, N., Parkin, T. y Tiedje, J.. 1985.** Direct measurement of oxygen profiles and denitrificación rates in soil aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 49: 645-651.
- Sommer, K., Mertz, M. y Rossig, K. 1976.** Stickstoff zu weizen mit ammonium nitrificiden. Mitteilung 2: proteingehalte, proteinfraktionen und backfahigkeit. *L. Landwirtschaftliche. Forschung* 29: 161-169.
- Sousa, M. y Lobato, E. 2004.** Adubação com nitrogênio. In 'Cerrado: correção do solo e adubação. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2004'. Eds DMG Sousa, E Lobato pp. 129-144. [www.cpac.embrapa.br/download/1729/t](http://www.cpac.embrapa.br/download/1729/t). [21 de abril del 2015].
- Subbarao, G., Ishikawa, T., Ito, O., Nakahara, K., Wang, H. y Berry, W. 2006a.** A bioluminescence assay to detect nitrification inhibitors released from plant roots a case study with *Brachiaria humidicola*. *Plant Soil*. <http://www.springerlink.com/content/r435654g2r514044>. [Noviembre de 2008].
- Subbarao, G., Rondón, M., Rao, I., Ishikawa, T., Ito, O., Hurtado, M., Amezquita, E., Barrios, E. y Lascano, C. 2006b.** Field validation of the phenomenon of nitrification by *Brachiaria humidicola* and other tropical grasses. In: Suenaga, K., Kudo, H., and Oshio S. (eds) Comprehensive studies on the development of sustainable soybean production technology in south America. JIRCAS. Working Report, 51: 107-112.
- Subbarao, G., Nakahara, K., Hurtado, M., Ono, H., Moreta, D., Salcedo, A., Yoshihashi, A., Ishikawa, T., Ishitani, M., Ohnishi, M., Yoshida, M., Rondón. M., Rao, I., Lascano, C., Berry, W. y Ito, O. 2009.** Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. *Proc Natl Acad Sci USA*. 106:17302-17307.
- Trevors, J. 1998.** Bacterial biodiversity in soil with an emphasis on chemically-contaminated soil. *Water air soil pollut.* 101:45-67.
- Witthe, C. 1991.** The role of monoterpenes in soil nitrogen cycling in ponderosa pine. *Biogeochemistry*. 12:43-68.