

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Production and loss of nitrate in *Brachiaria humidicola* and *Panicum maximum* in the Sinu river valley

Producción y pérdida de nitrato en *Brachiaria humidicola* y *Panicum maximum* en el valle del río Sinú

Manuel Espinosa C.¹, José Marrugo²,
María Hurtado S.³, Sony Reza G.¹

ABSTRACT

Nitrogen loss, from the nitrification of nitrogen fertilizer, creates pollution through nitrous oxide emissions and nitrate leaching. The reports on *Brachiaria* as a biological nitrification inhibitor were evaluated to determine nitrate losses of *Brachiaria humidicola* CIAT 679 (indicator plant for biological nitrification inhibition) and *Panicum maximum* cv. tanzania (non-inhibiting plant). The incubated soil technique was used for the production of nitrate and for losses of nitrate, ion exchange PRSTM Probes resins were used. The nitrogen treatments were 0, 150 and 300 kg ha⁻¹ per year, the resins were installed at three depths in the soil, laboratory analysis was performed using ultraviolet-visible spectroscopy with a wavelength of 410 nm for nitrate. *B. humidicola* reduced outputs of nitrate in the soil and the nitrogen doses did not generate variations in production, which showed an effect on the inhibition of nitrification. Nitrate losses were reduced after 18 months in *B. humidicola*, and *P. maximum* can avoid nitrate losses with its ability to take nitrogen from the soil in an ammonia form, but does not reduce nitrate production, and does not inhibit nitrification. In cattle pasture soils, *B. humidicola* can reduce nitrate production and loss. *P. maximum* with its ability and good response to nitrogenated fertilization could have reduced losses, but failed to reduce nitrate production.

Keywords: loss of nitrate, nitrification, resins, grass

RESUMEN

Las pérdidas de nitrógeno a partir de la nitrificación de las fertilizaciones nitrogenadas generan contaminación por las emisiones de óxido nitroso y lixiviación de nitrato. Los reportes de *Brachiaria* como inhibidor biológico de la nitrificación fueron evaluados al determinar las pérdidas de nitrato de *Brachiaria humidicola* CIAT 679 (planta indicadora de inhibición biológica de nitrificación) y *Panicum maximum* cv. tanzania (planta no inhibidora). Para la producción de nitrato se empleó la técnica de suelo incubado y para las pérdidas de nitrato se emplearon resinas de intercambio iónico PRSTM Probes. Los tratamientos de fertilización nitrogenada fueron de 0, 150 y 300 kg ha⁻¹ por año; las resinas se instalaron a tres profundidades en el suelo, los análisis de laboratorio se realizaron mediante espectroscopía de ultravioleta visible con longitud de onda de 410 nm para nitrato. *B. humidicola* redujo las producciones de nitrato en el suelo y las dosis de nitrógeno no generaron variaciones en las producciones, lo que evidenció un efecto en la inhibición de la nitrificación. Las pérdidas de nitrato, se redujeron después de 18 meses en la *B. humidicola*; y para *P. maximum* puede evitar las pérdidas de nitrato por su habilidad de tomar el nitrógeno en forma amoniacal del suelo, pero no reduce la producción de nitrato, ya que no inhibe la nitrificación. Los suelos dedicados a la producción ganadera con la pastura *B. humidicola* pueden reducir las producciones y las pérdidas de nitrato. *P. maximum*, por su habilidad y buena respuesta a la fertilización nitrogenada pudo reducir las pérdidas, pero no logró reducir las producciones de nitrato.

Palabras clave: pérdida de nitrato, nitrificación, resinas, forrajes

INTRODUCCIÓN

La nitrificación es un proceso microbiano, clave y parte integral del ciclo del nitrógeno en el suelo. La nitrificación determina la forma presente del N y como es absorbido, utilizado o disperso en el ambiente. Esto a su vez tiene amplias implicaciones sobre la productividad de las plantas y la calidad del ambiente (Subbarao *et al.*, 2006a).

Fecha de recepción: 28/12/2011
Fecha de aceptación: 27/02/2012

¹ Centro de Investigación Turipaná, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica, Cereté (Colombia). sreza@corpoica.org.co

² Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Córdoba, Montería (Colombia).

³ Laboratorio de Servicios Ambientales, Centro Internacional de Agronomía Tropical -CIAT, Palmira (Colombia).

Durante el proceso de la nitrificación, la fracción de N amoniacal (NH_4^+) reacciona con el oxígeno y se convierte en nitrito (NO_2^-), este a su vez reacciona y por su fácil volatilidad se pierde en forma de óxido nitroso (N_2O), quien en presencia de oxígeno reacciona y se convierte en la fracción móvil nitrato (NO_3^-), el cual es susceptible a pérdidas por lixiviación y conversión a gases como N_2O vía procesos de desnitrificación (Glass, 2003; Giles, 2005; Subbarao *et al.*, 2006a). Por lo menos un 30% del N aplicado se recupera en los productos finales y el otro 70% se pierde por diferentes rutas; las implicaciones ambientales de las pérdidas de N necesitan ser determinadas para desarrollar sistemas agrícolas que sean económicamente eficientes y ecológicamente aceptables (Raun and Johnson, 1999).

Hasta ahora la única vía para regular la tasa de nitrificación ha sido mediante la aplicación de inhibidores sintéticos o de lenta liberación en fertilizantes nitrogenados como la nitrapirina, dicianidamida (Amberger, 1989) y DMPP (fosfato de 3,4-dimetilpirazol) quien hace parte del componente del fertilizante nitrogenado comercial ENTEC, el cual se encuentra ampliamente distribuido y comercializado en cultivos como arroz, maíz, pasturas, entre otros (Zerulla *et al.*, 2001). Estudios recientes han determinado que las raíces de *B. humidicola*, producen un compuesto denominado brachialactona, el cual inhibe el proceso de nitrificación en presencia de NH_4^+ (Subbarao *et al.*, 2009), este compuesto mantiene gran estabilidad y eficiencia sobre la reducción de los lixiviados de nitrato y la inhibición de óxido nitroso (Subbarao *et al.*, 2006b; Subbarao *et al.*, 2006c). No obstante este proceso no se evidencia en exudados de raíces de *Panicum maximum* (Subbarao *et al.*, 2006c).

Partiendo de que *B. humidicola* puede reducir la nitrificación del suelo, se tuvo como objetivo principal conocer la pérdida de nitrato en los suelos del valle medio del Sinú, bajo las pasturas *B. humidicola* y *P. maximum* con diferentes niveles de fertilización nitrogenada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio. La investigación fue ejecutada en Corpoica Centro de Investigación Turipaná, ubicado a 13 km vía Montería-Cereté, a 14 msnm, a $8^\circ 50' 79''$ N y $75^\circ 47' 58''$ O; considerado Bosque seco Tropical (bs-T), con una temperatura promedio de 28° C, humedad relativa de 86% y precipitación promedio anual de 1,200 mm; distribuidas en la época de lluvias (abril hasta noviembre) con 85% de la precipitación y una época seca (noviembre hasta abril).

Diseño experimental. El diseño establecido en campo bajo pastoreo contó con un área de 10 ha; 5 ha de *B. humidicola*

CIAT 679 y 5 ha de *P. maximum* cv. Tanzania. Cada pastura fue dividida en parcelas de 0,82 ha para aplicar los niveles de fertilización y conformar los tratamientos. Se seleccionó un área de 100 m² donde se mantuvo el suelo totalmente descubierto como parámetro de medida contra los tratamientos con pastura. En campo quedaron establecidas dos replicas para cada tratamiento.

Las variables evaluadas fueron la pérdida y la velocidad de producción de NO_3^- . Para las pérdidas de NO_3^- en cada tratamiento se evaluaron tres profundidades 0-10, 10-20 y 20-30 cm (Tabla 1) y para la velocidad de producción de NO_3^- se evaluó de 0-10 cm de profundidad. Las evaluaciones de cada variable contaron con cuatro replicas por tratamiento. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques al azar con dos repeticiones. Los resultados se analizaron con un arreglo factorial de $2 \times 3 \times 3$ (pastura-dosis de N-profundidad) usando el procedimiento ANOVA de SAS y la comparación de medias se hizo usando la prueba de Tukey con probabilidad de 5%.

Tabla 1. Conformación de tratamientos en campo para las pérdidas de NO_3^- con dos pasturas y suelo descubierto, para tres niveles de fertilización y tres profundidades

Pasturas	Fertilización nitrógeno anual (kg ha^{-1})	Profundidad (cm)
<i>B. humidicola</i> CIAT 679 y <i>P. maximum</i> cv. Tanzania	0	0 - 10
		10 - 20
		20 - 30
	150	0 - 10
		10 - 20
		20 - 30
	300	0 - 10
		10 - 20
		20 - 30
Suelo descubierto	0	0 - 10
		10 - 20
		20 - 30
	150	0 - 10
		10 - 20
		20 - 30
	300	0 - 10
		10 - 20
		20 - 30

Fertilización nitrogenada. Las aplicaciones se realizaron con urea 46%; en el experimento de 150 y 300 kg ha^{-1} anual, se realizaron seis aplicaciones al voleo de forma manual durante la época de lluvias, a razón de 25 y 50 kg ha^{-1} , respectivamente. Las aplicaciones de fertilizante se realizaron un día después de ser instaladas las resinas, con la condición de estar sucedidas por una precipitación y con crecimiento de las pasturas.

Medición de nitrificación en el suelo. Se usó la metodología de suelo incubado, desarrollada por Watanabe de JIRCAS-Japón, estandarizada por CIAT (Subbarao *et al.*, 2006d). Se realizaron dos evaluaciones, al inicio y al final de las observaciones de pérdida de nitrato con el uso de resinas.

Uso de resinas de intercambio iónico para la pérdida de nitrato NO_3^- en el suelo. Las resinas de intercambio iónico fueron selectivas para NO_3^- referenciadas como PRS™ Probes (Plant Root Simulator) (Western AG, Canadá). La toma de muestras mediante las resinas requirió cuatro pasos fundamentales, la activación de resinas, la instalación en campo, la extracción del NO_3^- por KCl y análisis; los protocolos han sido establecidos por Western Ag Innovations (www.westernag.ca/innov/prs-probes/faqs/probesAnalysed) (Sturit *et al.*, 2007). Para la cuantificación del NO_3^- las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Servicios Ambientales del CIAT Palmira, donde se obtuvo la concentración de NO_3^- mediante espectroscopía de ultravioleta visible a una longitud de onda de 410 nm.

Línea base del suelo y seguimiento de condiciones climáticas. El análisis de la línea base de suelo consistió en determinar las propiedades físicas y químicas del suelo del área de estudio, para ello se tomaron muestras representativas en el lote y fueron enviadas al Laboratorio de Suelos de la Universidad de Córdoba para su procesamiento. El seguimiento de las condiciones climáticas estuvo enfocado hacia el registro de las precipitaciones y los resultados se obtuvieron de la estación climática ubicada en Corpoica C.I. Turipaná, y cercana al área de estudio aproximadamente 500 m.

RESULTADOS

Clima. Durante el primer seguimiento de la pérdida y velocidad de producción de NO_3^- se registraron 275 mm de precipitación, para la fecha se realizaron dos aplicaciones de fertilización nitrogenada; en el segundo seguimiento se registraron 1,164 mm de precipitación acumulados, realizándose seis aplicaciones de fertilizante nitrogenado en total (Figura 1).

Suelo del área de estudio. Físicamente se caracterizó por tener texturas franco arcillosas hasta los primeros 40 cm de profundidad; estructuralmente, caracterizado por bloques subangulares, de tamaño y grado de desarrollo creciente en función de la profundidad, con alta plasticidad y pegajosidad, no permitiendo un adecuado intercambio gaseoso e hídrico, generando problemas de retención de humedad reflejado en mal drenaje natural. El pH, fue de reacción ligera a moderadamente ácido (5,16 - 6,66); la materia orgánica varió entre contenidos medio y altos (2,64 - 4,19%), lo que generó diferentes contenidos de nitrógeno total (0,13 - 0,21%); el azufre fue de medio a alto y en algunas áreas éste se encontró excesivo (7,2 - 175,0 mg kg^{-1}), los contenidos de fósforo fueron bajos (7,72 - 11,2 mg kg^{-1}), los niveles de bases cambiables (Ca, Mg, Na, K) fueron altos en todo el lote, al igual que la capacidad de intercambio catiónico CIC (24,5-39,7 cmol kg^{-1}). La alta variabilidad de los resultados indica el comportamiento natural de los suelos del valle medio del Sinú, donde las condiciones topográficas, el material de origen y las reacciones originadas por el mal drenaje natural del suelo, conllevan a la generación de altas acumulaciones de elementos como el azufre, acumulaciones de la materia orgánica y por ende altas variaciones en los contenidos de pH y la solución de otros elementos.

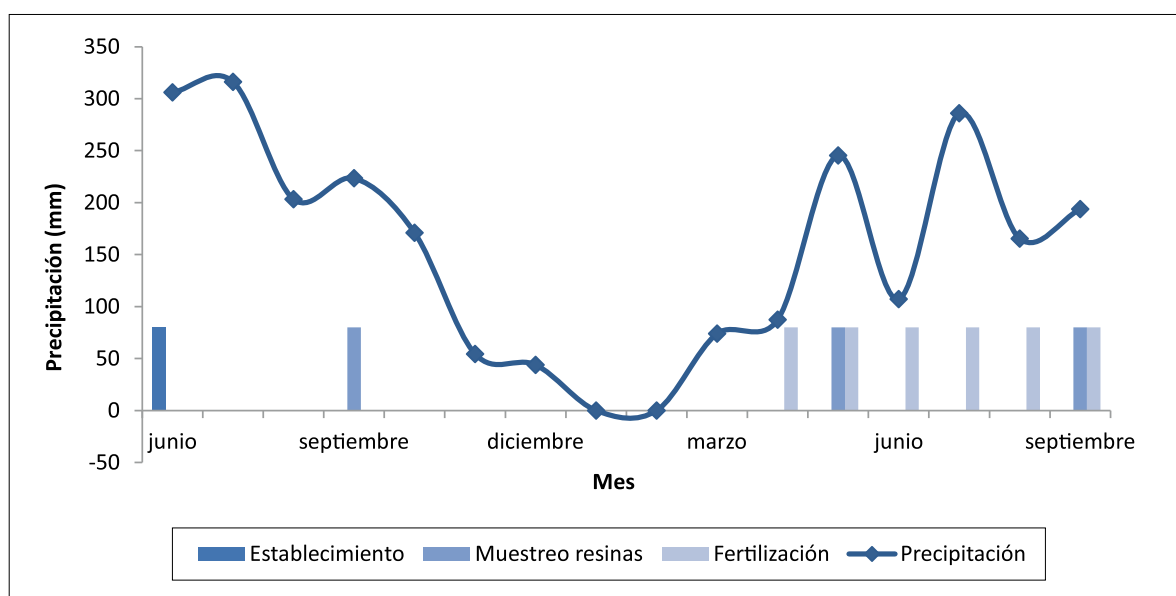


Figura 1. Seguimiento al registro de precipitaciones y eventos durante la evaluación de las diferentes variables entre 2009-2010

Los contenidos de N total presente en el suelo antes de iniciar las fertilizaciones en los diferentes tratamientos fue mayor en la pastura *P. maximum* con un promedio de $0,32 \pm 0,12\%$; seguida de la pastura *B. humidicola* con $0,27 \pm 0,10\%$ y menor en el suelo desnudo con $0,23 \pm 0,03\%$. Durante el último seguimiento realizado en la medición de las pérdidas de NO_3^- en el suelo, se observó que los contenidos de N disminuyeron con respecto al primer seguimiento; no obstante entre *P. maximum* y *B. humidicola* no se presentaron diferencias en sus promedios, con valores de $0,21 \pm 0,02\%$ y $0,20 \pm 0,01\%$, respectivamente.

Producción de nitrato. Se presentaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0,0001$) entre las pasturas y las dosis de fertilización para cada uno de los seguimientos realizados. En la Tabla 2, se presentan los resultados del seguimiento inicial manifestándose una reducción de la velocidad de producción de NO_3^- en la dosis de 0 kg ha^{-1} anual de nitrógeno para la pastura *B. humidicola*. Durante el seguimiento final en la dosis de 0 kg ha^{-1} , la pastura *B. humidicola* presentó las menores producciones de NO_3^- . En las dosis de 150 y 300 kg ha^{-1} , para ambas pasturas hubo incremento en la producción de NO_3^- , sin embargo en *B. humidicola* los registros fueron menores que los registrados en la pastura *P. maximum*. La producción de NO_3^- en suelo desnudo, presentó los menores y mayores niveles respectivamente en los tratamientos 0 y 300 kg ha^{-1} , tanto para el seguimiento inicial como el seguimiento final.

Tabla 2. Comportamiento de la velocidad de producción de nitrato (NO_3^- mg $\text{kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) durante dos seguimientos

Pasturas	Dosis de nitrógeno anual (kg ha^{-1})		
	0	150	300
Seguimiento inicial			
<i>B. humidicola</i> CIAT 679	1,14 c	2,56 b	1,22 c
<i>P. maximum</i> cv. tanzania	2,99 b	1,13 c	7,76 a
Suelo desnudo	$2,14 \pm 0,3$	$3,23 \pm 0,5$	$8,67 \pm 0,2$
	$r = 0,985$	$\text{Cv} = 12,37$	$P = 0,0001$
Seguimiento final			
<i>B. humidicola</i> CIAT 679	2,96 c	5,33 b	5,21 b
<i>P. maximum</i> cv. tanzania	7,82 a	7,05 ba	6,90 ba
Suelo desnudo	$14,5 \pm 0,4$	$21,09 \pm 0,1$	$23,56 \pm 0,6$
	$r = 0,892$	$\text{Cv} = 11,63$	$P = 0,0001$

Medias con letras distintas en columna y fila difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Pérdida de nitrato. El seguimiento de esta variable se presentó en tres fases; línea base, antes de realizar las aplicaciones de nitrógeno, y dos evaluaciones de seguimiento con fertilización nitrogenada.

Línea base de pérdida de nitrato. El análisis estadístico indicó, que la pérdida de NO_3^- en el suelo para las pasturas *B. humidicola* y *P. maximum* a las profundidades de $0-10 \text{ cm}$ y $10-20 \text{ cm}$ no presentó diferencia significativa ($P \leq 0,05$); Los

niveles encontrados en los primeros 10 cm de profundidad ($28,84 \mu\text{g } 10 \text{ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$) indicaron que *B. humidicola*, presentó mayores niveles de pérdida de nitrato que *P. maximum* cv. Tanzania a la misma profundidad ($26,55 \mu\text{g } 10 \text{ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$). El suelo descubierto para la profundidad de $0-10 \text{ cm}$ presentó pérdidas de $140,2 \mu\text{g } 10 \text{ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$, superando entre $4,9$ y $5,3$ veces las pérdidas en las pasturas *B. humidicola* y *P. maximum*, respectivamente.

Seguimientos a las pérdidas de NO_3^- . El primer seguimiento posterior a la línea base manifestó diferencias estadísticas ($P \leq 0,05$) entre los tratamientos de fertilización para las dos pasturas en las tres profundidades evaluadas. Se presentó una respuesta creciente de las pérdidas de NO_3^- con las dosis de N, donde a mayor dosis mayor fue la pérdida de NO_3^- , este patrón en las pérdidas se conservó para las dos pasturas, siendo mayor en *B. humidicola*. En los diferentes tratamientos se observó que las pérdidas de NO_3^- tuvieron su mayor nivel a la profundidad de $0-10 \text{ cm}$ y disminuyeron conforme disminuyó la profundidad. Los resultados del suelo descubierto mostraron las mayores pérdidas de NO_3^- , aún en el tratamiento sin fertilización, así mismo se observó que las medias entre las diferentes dosis y profundidades no presentaron un comportamiento o patrón diferencial (Tabla 3).

Tabla 3. Primer seguimiento a las pérdidas de nitrato (NO_3^- $\mu\text{g } 10 \text{ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$) en los diferentes tratamientos

Tratamiento/ Pastura	Dosis anual de N (kg ha^{-1})	Profundidad (cm)		
		0-10	10-20	20-30
<i>B. humidicola</i>	0	16,42 dc	5,52 b	6,05 b
	150	20,49 dc	13,47 b	8,57 ba
	300	132,44 a	42,97 a	17,48 a
<i>P. maximum</i>	0	7,46 d	3,1 b	3,88 b
	150	33,62 c	8,55 b	7,8 ba
	300	62,08 b	14,29 b	8,18 ba
Suelo desnudo	0	$286,4 \pm 12,9$	$248,9 \pm 32,1$	$237,3 \pm 18,8$
	150	$260,4 \pm 7,9$	$285,6 \pm 2,8$	$267,8 \pm 19,9$
	300	$234,4 \pm 15,3$	$287 \pm 18,5$	$298,7 \pm 5,1$

Medias con letras distintas para cada profundidad difieren estadísticamente para la prueba de Tukey con probabilidad ($P \leq 0,05$).

El segundo seguimiento de las pérdidas de NO_3^- para los diferentes tratamientos se presentan en la Tabla 4; indicando que, los niveles de NO_3^- variaron ($P \leq 0,05$) de acuerdo a la profundidad, las dosis de fertilización nitrogenada y las pasturas; en el suelo desnudo las menores pérdidas se encontraron en el tratamiento de cero fertilización y a la profundidad de $0-10 \text{ cm}$. Con la dosis de 300 kg ha^{-1} y a la profundidad de $10-20 \text{ cm}$ se presentaron las mayores pérdidas de NO_3^- .

Los resultados estadísticos manifestaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en el tratamiento de dosis 0 kg ha^{-1} entre las pasturas *B. humidicola* y *P. maximum*; la pastura

B. humidicola, presentó las menores pérdidas, mientras que *P. maximum* manifestó las mayores pérdidas de NO_3^- ; para el mismo tratamiento de nitrógeno en la pastura *B. humidicola*, se evidenció que a mayor profundidad menor fue la pérdida de NO_3^- , sin embargo, con la pastura *P. maximum* ocurrió lo contrario donde a mayor profundidad mayores pérdidas de NO_3^- se observaron. De manera detallada se evidenció que durante esta evaluación, los niveles de pérdida de nitrato en *P. maximum* sin fertilización fueron mayores a los registrados en los tratamientos bajo fertilización (Tabla 4).

Tabla 4. Segundo seguimiento a las pérdidas de nitrato (NO_3^- μg 10 cm^{-2} día $^{-1}$) en los diferentes tratamientos

Tratamiento/ Pastura	Dosis anual de N (kg ha^{-1})	Profundidad (cm)		
		0-10	10-20	20-30
<i>B. humidicola</i>	0	2,36 b	1,37 b	2,19 b
	150	6,36 ba	2,09 b	2,21 b
	300	11,79 a	1,91 b	2,47 b
<i>P. maximum</i>	0	5,7 ba	8,08 a	7,87 a
	150	5,93 ba	3,7 ba	3,28 b
	300	3,74 b	1,69 b	6,12 ba
Suelo desnudo	0	120,4 \pm 2,6	186,2 \pm 73,4	261,3 \pm 31,0
	150	141,4 \pm 55,2	400,0 \pm 1,8	320,7 \pm 76,7
	300	365,7 \pm 10,3	410,0 \pm 83,0	256,3 \pm 26,5

Medias con letras distintas para cada profundidad difieren estadísticamente para la prueba de Tukey con probabilidad ($P \leq 0,05$).

Específicamente a la profundidad de 0-10 cm las pérdidas de NO_3^- en *B. humidicola* fueron mayores a los observados en *P. maximum* cuando se aplicó la dosis de N 300 kg ha^{-1} . No obstante, de forma consistente y significativa ($P \leq 0,05$) se evidenció que en la profundidad de 20-30 cm la *B. humidicola*, presentó las menores pérdidas de NO_3^- al compararse con *P. maximum*. Estos resultados manifestaron que *B. humidicola* reduce las pérdidas de nitrato a medida que aumenta la profundidad y en *P. maximum* se incrementaron los niveles de nitrato a medida que aumentó la profundidad del suelo.

DISCUSIÓN

Suelo. El componente químico evaluado en el suelo del área de estudio, manifestó diferentes variaciones en el tiempo y en el espacio. Este tipo de comportamientos es considerado normal en los suelos del valle medio del Sinú, donde el material de origen, las condiciones topográficas, el estado de drenaje natural, condicionan las reacciones que ocurren en el suelo y por consiguiente las variaciones que generan. Un análisis de correlación entre las propiedades químicas, las producciones y pérdidas de nitrato, no generó relación alguna entre las variables de estudio, lo cual no hace parte de la discusión de los resultados, sin dejar de lado, que se deberán tener en cuenta evaluaciones de las diferentes variables a las

mismas profundidades de cada una de ellas, con el fin de aproximarse al entendimiento de los resultados.

Producción de Nitrato. Los resultados demuestran que la pastura *B. humidicola* si presenta una inhibición biológica en la producción de NO_3^- en el suelo, ya que en el experimento de 0 kg ha^{-1} de N al año, la diferencia con respecto a *P. maximum* es de 2,6 veces menos. Subbarao *et al.* (2006d), demostraron que la actividad inhibitoria de *B. humidicola* sobre la nitrificación se debe principalmente a la presencia de NH_4^+ en el suelo, más no a la presencia de NO_3^- ; lo anterior permite inferir que las menores cantidades obtenidas de NO_3^- , se asocian principalmente al residuo de la reacción durante el proceso de la nitrificación y es parte del NH_4^+ que no logra ser inhibido o consumido y pasa a convertirse en NO_2^- y por último a NO_3^- ; por lo tanto, se afirma que sí existe una inhibición en el proceso de nitrificación del suelo por parte de la pastura (Fillery, 2007). Cabe resaltar que la acción de la pastura *B. humidicola* en la inhibición biológica de la nitrificación, tiene un efecto positivo sobre la dinámica del nitrógeno (Subbarao *et al.*, 2006c), ya que reduce significativamente su pérdida en el suelo.

Investigaciones realizadas en el CIAT después de analizar el comportamiento de 32 accesiones de *Brachiaria humidicola*, manifestaron que CIAT 679, estuvo presente entre las siete con mejor respuesta a la inhibición de la nitrificación. La eficiencia fue medida con las unidades de actividad de inhibición de la nitrificación cuantificadas como AT (equivalentes a inhibición con alitiourea). Se encontró que CIAT 679 requería alrededor de 17 unidades con actividad inhibitoria en presencia de NH_4^+ y 69 unidades en agua para reducir la nitrificación, lo cual mostró el efecto del NH_4^+ sobre la estimulación de la reducción de la nitrificación (Subbarao *et al.*, 2006c).

Con estos resultados, se puede definir que a pesar de no conocer las unidades de actividad para reducir la nitrificación por parte de CIAT 679 en este estudio, se puede evidenciar que esta especie tiene un efecto en la inhibición de la nitrificación (Rao *et al.*, 1996; Subbarao *et al.*, 2006b; Subbarao *et al.*, 2009; Subbarao *et al.*, 2006c) y que con la dosis de fertilizante, existe la posibilidad de aumentar las unidades de actividad, pero a su vez, faltaría por demostrar si lo producido es suficiente para inhibir biológicamente la nitrificación ó se requerirá de mayor tiempo para que haya una mayor acumulación de exudados y por ende una mayor inhibición cuando se realizan aplicaciones con altas dosis de nitrógeno en el suelo. Sin obviar que las accesiones de *Brachiaria humidicola* no responden significativamente a las altas dosis de nitrógeno adicionadas al suelo en la producción de forraje (Subbarao *et al.*, 2006d).

Pérdida de nitrato. Durante el seguimiento de línea base, *Panicum maximum* cv. Tanzania, presenta menores pérdidas de NO_3^- al ser comparado con *Brachiaria humidicola* CIAT 679; A *P. maximum*, por no ser efectiva en la inhibición biológica de la nitrificación (Subbarao *et al.*, 2006b), se le pueden atribuir su baja pérdida de NO_3^- a una fácil absorción de NH_4^+ proveniente de las reacciones presentes en el suelo (Clarkson *et al.*, 1982; Mora *et al.*, 2007).

En el primer seguimiento, los resultados son contradictorios a estudios realizados en el CIAT, ya que no se observó para ésta evaluación, un efecto en la reducción de las pérdidas de NO_3^- por parte de *B. humidicola*, aún después de determinar que si hubo inhibición biológica de la nitrificación (INB); a diferencia de *P. maximum*, quien manifestó tener menos pérdidas de NO_3^- pero ningún control sobre la inhibición de la nitrificación en el suelo (Rao *et al.*, 1996; Subbarao *et al.*, 2006c). Este comportamiento, se podría asociar al lento crecimiento que presenta la pastura *B. humidicola* en su etapa inicial de desarrollo donde pudo tener bajo crecimiento radicular (observación de raíces a <20 cm de profundidad), que al ser comparada contra *P. maximum* tiene desventajas puesto que esta pastura tiene un mayor crecimiento radicular (observación de raíces >30 cm de profundidad) y por ende una mayor demanda de nitrógeno en forma amoniacal (Subbarao *et al.*, 2006d).

El último seguimiento a las pérdidas de NO_3^- en *B. humidicola* fueron menores a los observados en *P. maximum* a las profundidades 10-20 y 20-30 cm con las diferentes dosis de fertilización, no obstante el análisis estadístico solo manifestó diferencias en el tratamiento de 0 kg ha^{-1} de N al año, lo cual podría explicar el efecto natural de *B. humidicola* sobre la (INB), siendo indiferente a los niveles de nitrógeno aplicado, apoyando las afirmaciones donde la Brachialactona tiene alta estabilidad en el ambiente (Rao *et al.*, 1996; Subbarao *et al.*, 2006b; Subbarao *et al.*, 2009; Subbarao *et al.*, 2006c). En la pastura *P. maximum*, se puede asociar dicha respuesta a la habilidad de consumir el amonio y la estimulación de los microorganismos del suelo para el consumo del nitrógeno, disminuyendo los niveles de manera indirecta especialmente en los tratamientos con alta fertilización. Esta hipótesis valdría la pena asociarla a nuevos objetivos de estudio para entender el comportamiento entre los microorganismos y las producciones y pérdidas de nitrato en el suelo.

En la profundidad de 0-10 cm, los niveles de pérdida de nitrato fueron levemente mayores, lo cual sugiere acumulación de NO_3^- asociada a la posible hidrólisis de NH_4^+ en esta parte del perfil y al poco efecto de las raíces sobre la inhibición de la nitrificación, que al no hacer un bloqueo en la hidrólisis de NH_4^+ el NO_3^- se concentra en el perfil del suelo (Subbarao *et al.*, 2006d). No obstante, era de esperarse que este nitrato se perdiera por su habilidad

de lixiviarse, lo cual no se evidenció en los resultados de esta investigación. Esto hace necesario plantearse nuevas hipótesis que puedan orientar hacia el entendimiento de este comportamiento, enfocándose hacia el estudio de los microorganismos asociados a estas reacciones en el suelo, ya que al depender de las condiciones de humedad, podrían generarse pérdidas en forma de óxido nitroso en el proceso de la denitrificación y por lo tanto reducir las pérdidas de nitrato en el perfil del suelo, pero aumentarlas hacia la atmosfera en forma de N_2O (Ciarlo, 2009)

Así mismo, se ha estudiado que las raíces de *B. humidicola* no responden directamente en la presencia de NO_3^- , si no en presencia de NH_4^+ (Rao *et al.*, 1996; Subbarao *et al.*, 2006b; Subbarao *et al.*, 2009; Subbarao *et al.*, 2006c), y si éste, no es inhibido por las raíces, se transforma fácilmente en nitrato, situación que pudo generar los altos niveles en los primeros centímetros de profundidad. La cantidad de nitrógeno utilizados en este estudio (150 y 300 kg ha^{-1} de N anual), no manifestaron una diferenciación en las producciones y pérdidas de NO_3^- , dicho comportamiento se podría asociar a una estimulación en el consumo del nitrógeno presente, bien sea por parte de las plantas y por los microorganismos asociados a las reacciones de la nitrificación o por la estabilidad de los exudados de las raíces (Subbarao *et al.*, 2009).

El hecho de evidenciar una reducción en las pérdidas de NO_3^- a medida que se incrementa la profundidad del suelo con la pastura *B. humidicola*, manifiesta la ventaja que tiene para evitar las pérdidas de nitrógeno y por consiguiente las acumulaciones de NO_3^- , las cuales podría reaccionar en condiciones anaeróbicas y generar emisiones de óxido nitroso (N_2O) por procesos de denitrificación (Ciarlo, 2009). Es así como *B. humidicola* se convierte en una alternativa viable y eficiente en el uso de la (INB) (Subbarao *et al.*, 2006b; Subbarao *et al.*, 2006c; Subbarao *et al.*, 2006d) y bajo el efecto de su enzima Brachialactona (Subbarao *et al.*, 2009), la cual es sumamente estable en diferentes ambientes, que permita diseñar estrategias de manejo a las pérdidas de nitrógeno, obviando los mecanismos empleados por compuestos sintéticos desarrollados para tal fin (Slangen y Kerkhoff, 1984; Prasad y Power, 1995; McCarty, 1999).

Los resultados evidenciados, pueden brindar estrategias de manejo en sistemas intensivos de producción, con el fin de evitar las pérdidas de nitrógeno a partir de la fertilización nitrogenada. En Colombia, y especialmente en el departamento de Córdoba, la especie *B. humidicola*, se encuentra ampliamente distribuida en zonas con suelos de baja calidad nutricional, ventajosamente el crecimiento y desarrollo de la pastura permite la implementaciones de sistemas ganaderos sostenibles, los cuales en un futuro podrán ofrecer al mercado un valor agregado en su producción, ligada a la reducción de las emisiones de gases contaminantes y pérdidas de nitrato vía lixiviación.

CONCLUSIONES

La *B. humidicola* CIAT 679 inhibe la nitrificación en los suelos del valle medio del río Sinú y evita las pérdidas de NO_3^- ; para ello requiere de un tiempo amplio para iniciar su proceso INB, durante el cual logra colonizar con sus raíces el perfil del suelo y participar activamente en la reducción de las pérdidas de nitrógeno.

Las aplicaciones de nitrógeno en las pasturas generan variaciones en las pérdidas de nitrato; sin embargo, no se observó un comportamiento diferencial con la dosis de nitrógeno empleada, lo cual evidencia la respuesta y el estímulo de las pasturas ante la presencia de este elemento generando menor pérdida de nitrato.

Por su rápido crecimiento *P. maximum* cv. Tanzania en sus etapas iniciales del establecimiento y crecimiento juega un

papel importante sobre la absorción de NO_3^- ; sin embargo, esta pastura no evidenció una respuesta a la inhibición de la nitrificación.

RECOMENDACIONES

Para futuras investigaciones, se deberá conocer simultáneamente el comportamiento fisiológico de las pasturas, donde se describa la respuesta del crecimiento de forraje, radicular y concentración de nitrógeno con las diferentes dosis de fertilización. Así mismo, se deberá estudiar en detalle, los microorganismos que actúan en las reacciones durante el proceso de nitrificación-denitrificación y las producciones de nitrato mediante la técnica de suelo incubado a las diferentes profundidades donde se evalúen las pérdidas con resinas, con el fin de separar el efecto suelo sobre la pastura en la inhibición de la nitrificación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amberger A. 1989. Research on dicyandiamide as a nitrification inhibitor and future outlook. *Comm Soil Sci Plant Anal* 20:1933-1955.
- Ciarlo E. 2009. Controles biológicos y no biológicos de las emisiones de gases nitrogenados (N_2O y N_2) en suelos agrícolas y ganaderos [Tesis de doctorado]. Buenos Aires: Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
- Clarkson DT, Hopper MJ, Jones LH. 1986. The effect of root temperature on the uptake of nitrogen and the relative size of the root system in *Lolium perenne*. I. Solutions containing both NH_4^+ and NO_3^- . *Plant Cell Environ* 9:535-545.
- Fillery I. 2007. Plant-based manipulation of nitrification in soil: a new approach to managing N loss? *Plant Soil* 294:1-4.
- Giles J. 2005. Nitrogen study fertilizes fears of pollution. *Nature* 433:791.
- Glass A. 2003. Nitrogen use efficiency of crop plants: physiological constraints upon nitrogen absorption. *Crit Rev Plant Sci* 22:453-470.
- McCarty GW. 1999. Modes of action of nitrification inhibitors. *Biol Fertil Soils* 29:1-9.
- Mora M, Cartes P, Núñez P, Salazar M, Demanet R. 2007. Movement of NO_3^- -N and NH_4^+ -N in an Andisol and its influence on ryegrass production in a short term study. *Rev Cienc Suelo Nutr Veg* 7(2):46-64.
- Prasad R, Power JF. 1995. Nitrification inhibitors for agriculture, health, and the environment. *Adv Agron* 54:233-281.
- Rao IM, Kerridge PC, Macedo M. 1996. Adaptation to low fertility acid soils and nutritional requirements of *Brachiaria*. In: Miles JW, Maass BL, do Valle CB, editors. *The biology, agronomy and improvement of Brachiaria*. Cali, Colombia: CIAT. pp 53-71.
- Raun WR, Johnson GV. 1999. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. *Agron J* 91:357-363.
- Slangen JH, Kerkhoff P. 1984. Nitrification inhibitors in agriculture and horticulture: a literature review. *Fert Res* 5:1-76.
- Sturite I, Henriksen TM, Breland TA. 2007. Longevity of white clover (*Trifolium repens*) leaves, stolons and roots, consequences for nitrogen dynamics under northern temperature climatic conditions. *Ann Bot* 100:33-40.
- Subbarao GV, Ito O, Sahrawat KI, Berry WL, Ankara K, Ishikawa T, Watanabe T, Suenaga K, Rondon M, Rao I. 2006a. Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems? challenges and opportunities. *Crit Rev Plant Sci* 25:1-33.
- Subbarao GV, Ito O, Sahrawat KL, Berry WL, Nakahara K, Ishikawa T, Watanabe T, Suenaga K, Rondon M, Rao IM. 2006b. Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems—challenges and opportunities. *Crit Rev Plant Sci*. 25:1-33.
- Subbarao GV, Ishikawa T, Ito O, Nakahara K, Wang H, Berry W. 2006c. A bioluminescence assay to detect nitrification inhibitors released from plant roots? a case study with *Brachiaria humidicola*. *Plant Soil* 288:101-112.
- Subbarao G, Rondon M, Ito O, Ishikawa T, Rao I, Nakahara K, Lascano C, Berry W. 2006d. Biological nitrification inhibition (BNI)—is it a widespread phenomenon? *Plant Soil* 294(1/2):5-18.
- Subbarao GV, Nakahara K, Hurtado M, Onoc H, Moretab D, Salcedob A, Yoshihashia A, Ishikawaa T, Ishitanib M, Ohnishi-kameyamac M, et al. 2009. Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. *PNAS* 106:17302-17307.
- Zerulla W, Barth T, Dressel J, Erhardt K, Locquenghien KH Von, Pasda G, Radle M, Wissemeyer AH. 2001. 3,4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP)—a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture. *Biol Fertil Soils* 34:79-84.