Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria (2011) 12(2), 134-142

artículo científico

Efecto de la fertilización nitrogenada en la dinámica del óxido nitroso y metano en *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickerdt

Iván Pastrana V.[1], Sony Reza G.[1, 4], Manuel Espinosa C.[1], Emiro Suárez P.[2], Eliecer Díaz A.[3]

Effect of nitrogen fertilization on nitrous oxide and methane dynamics in *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickerdt

ABSTRACT

Livestock activities cause a significant impact on the environment due to the release of N into the soil, which in turn results in nitrification and the emissions of greenhouse gases (GHG). At Corpoica's Turipaná Research Center (Cereté, Colombia), we evaluated three different genotypes of *B. humidicola* (CIAT 16888, CIAT 26159, and CIAT 679) with three levels of nitrogen fertilization application (0, 150, and 300 kg ha^{-1}) in order to determine the flow dynamics of GHG and their relationship to growth and forage production. The results indicated that the best genotype, in terms of production, was CIAT 16888, with an dry matter production of 2,075.32 kg ha^{-1}, a height of 46.87 cm, and leaf/stem ratio of 2.51, with no significant differences with genotype CIAT 679, but with genotype CIAT 26159 ($P \leq 0.05$). The flow of GHG (methane and nitrous oxide) increased as the N levels increased, indicating a significant correlation between the grass's growth and total flows.

Keywords: methane, nitrous oxide, *B. humidicola*, nitrification, greenhouse gases.

RESUMEN

Las actividades ganaderas causan un impacto significativo en los cambios ambientales, debido a las altas pérdidas de N que promueven procesos de nitrificación y aumento en emisiones de gases efecto invernadero (GEI). En el Centro de Investigación Turipaná de Corpoica (Cereté, Colombia), se evaluaron tres accesiones de *B. humidicola* (CIAT 16888, CIAT 26159 y CIAT 679) con tres niveles de aplicación de nitrógeno (0, 150 y 300 kg ha^{-1}) con el fin de determinar la dinámica del flujo de gases de efecto invernadero y su relación con el crecimiento y la producción de forraje. Los resultados indicaron que el mejor genotipo, en términos de producción, fue CIAT 16888, con una producción de materia seca 2.075,32 kg ha^{-1}, altura de 46,87 cm y relación hoja/tallo de 2,51, sin diferencias significativas con el genotipo CIAT 679 pero sí con el genotipo CIAT 26159 ($P \leq 0,05$). El flujo de gases de efecto invernadero (metano y óxido nitroso) se incrementó con los niveles de N, lo que indica una correlación significativa entre el crecimiento del pasto y los flujos totales.

Palabras clave: metano, óxido nitroso, *B. humidicola*, nitrificación, gases efecto invernadero.

INTRODUCCIÓN

La fijación de nitrógeno es la conversión del nitrógeno del aire (N_2) a formas distintas susceptibles de incorporarse a la composición del suelo, como el ión amonio (NH_4^+) o los iones nitrito (NO_2^-) o nitrato (NO_3^-) (Capone *et al*., 2006). Las actividades humanas han influenciado el ciclo global del nitrógeno (N) y han generado un rápido aumento en la deposición de nitrógeno atmosférico (Bowman *et al*., 2002). En la superficie global hay cerca de 0,315 ppm de nitrógeno presente en la atmósfera (Khalil *et al*., 2002); sin embargo, sólo las plantas con capacidad de establecer una relación simbiótica con bacterias fijadoras de N atmosférico, pueden utilizar esta vasta reserva de N gaseoso (Mulder *et al*., 1969).

La mayoría de los cultivos alimentarios, tales como los cereales, que no tienen esta capacidad, dependen de la mineralización de la materia orgánica o del suministro de fertilizantes nitrogenados. El N contenido en los

Fecha de recepción: 28/06/2011
Fecha de aceptación: 26/10/2011

[1] Centro de Investigación Turipaná, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica. Cereté (Colombia).
[2] Facultad de Zootecnia, Universidad de Sucre. Sincelejo (Colombia).
[3] Facultad de Ciencias, Departamento de Geociencia, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá (Colombia).
[4] Autor para correspondencia: sreza@corpoica.org.co

© 2011 Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria

fertilizantes, es asimilado por las plantas, una vez que pasa por un proceso de nitrificación que es favorecido por bacterias nitrificantes del suelo (Subbarao *et al*., 2006a). Durante la nitrificación, la fracción inmóvil del N (NH_4^+), se convierte en fracción móvil (NO_3^-). El NO_3^- formado que no es absorbido por las plantas, es altamente susceptible a perderse vía lixiviación o denitrificación (Glass, 2003; Giles, 2005; Subbarao *et al*., 2006b).

Los sistemas ganaderos, manejados de forma intensiva con fertilización nitrogenada (N), pueden tener efectos ambientales adversos, asociados con problemas de contaminación de las aguas con nitratos o con las emisiones de óxido nitroso. El NO_3^- lixiviado, tiene el potencial de contaminar aguas subterráneas y cuerpos de agua, lo cual puede conducir a problemas de salud humana, relacionados con pérdidas de N durante el proceso de nitrificación, pasándose de una fracción de N en forma de amonio (NH_4^+), a una fracción móvil de nitrato (NO_3^-), la cual es susceptible a pérdidas por lixiviación y conversión a gas óxido nitroso (N_2O) mediante procesos de desnitrificación (Sylvester-Bradley *et al.,* 1988; Rao *et al*., 1996; Ciarlo, 2009).

Se estima, que solo un 30% del N aplicado como fertilizante en sistemas agrícolas y pecuarios se recupera en los productos finales del sistema (Raún y Johnson, 1999; Glass, 2003). El N_2O es un potente gas de efecto invernadero (GEI), que tiene potencial de calentamiento global de 296 veces más que el CO_2 y de 13 veces más que el CH_4.

Las dos mayores vías de pérdida de N durante y después de la nitrificación son las emisiones de gases, como N_2 y óxidos de N (N_2O, NO) y la lixiviación de NO_3^-. El óxido nitroso, es producido y emitido del suelo durante la nitrificación, bajo condiciones aeróbicas (cuando el 50% de los espacios porosos del suelo están llenos con agua) y cuando se presenta denitrificación en condiciones anaeróbicas (cuando más del 75% de los espacios porosos del suelo están llenos de agua) (Mosier *et al*., 1996). Estos dos procesos, contribuyen con cerca de 90% de las emisiones de N_2O en los sistemas agrícolas (Smith *et al*., 1997).

Se ha demostrado, que la especie de pastura tropical *B. humidicola,* tiene la capacidad de inhibir la nitrificación en suelos ácidos (Rao *et al*., 1996), lo cual permite por tanto, reducir las emisiones de GEI's a la atmósfera. Subbarao *et al*. (2009), indican que la inhibición se debe a que las plantas de *Brachiaria humidicola,* liberan exudados a través de las raíces, fenómeno denominado inhibición de la nitrificación biológica (INB). Los exudados liberados son un compuesto denominado ''brachialactona''; este inhibidor contribuye con un 60% a 90% de la actividad inhibitoria, en la rizósfera de esta gramínea tropical.

El objetivo central de esta investigación, fue evaluar la capacidad de reducir emisiones de óxido nitroso y metano, de tres genotipos de *B. humidicola*, y correlacionar algunas variables de crecimiento, con estas emisiones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El trabajo se realizó en el C.I. Turipaná de Corpoica (Cereté, Colombia), a 14 msnm, 8° 50′ 79" de latitud norte y 75° 47′ 58" de longitud oeste. Considerado bosque húmedo tropical (Bs-T); ambientalmente se cuenta con una temperatura promedio de 28°C, humedad relativa de 87% y precipitación promedio anual de 1.200 mm (Palencia et al, 2006); distribuidas en la época de lluvia, de mediados de abril a noviembre, donde cae aproximadamente el 85% de la precipitación y una época seca de noviembre a mediados de abril.

Descripción del experimento

Características del área de estudio. Físicamente, estos suelos presentan una granulometría heterogénea por su origen aluvial, la fracción arcillosa dominante corresponde a materiales del tipo 2:1; son plásticos y pegajosos, la textura predominante es francos a franco limosos. Químicamente se clasifica como ligeramente ácidos a moderadamente ácidos (5,16 – 6,66). Los niveles de materia orgánica son bajos (0,68% – 1,89%), los niveles de fósforo (P), son bajos, con valores de 7,72 a 11,2 mg kg^{-1}.

Establecimiento y manejo de parcelas experimentales. Se estableció un ensayo en parcelas de 30 m^2, para cada una de las tres accesiones de *B. humidicola* (CIAT 679; CIAT 16888; CIAT 26159), con diferente capacidad de inhibir nitrificación (Subbarao *et al*., 2007, 2009) y tres niveles de fertilización nitrogenada (0, 150 y 300 kg ha^{-1}). El suelo fue mecanizado con dos pases de rastra pesada. La siembra se realizó con semilla sexual (8 kg ha^{-1}) a inicios del período lluvioso y una vez establecidas las parcelas experimentales se realizaban mensualmente cortes de uniformización de las parcelas, dejándolas a una profundidad aproximada de pastoreo (10 cm).

Fertilización nitrogenada. El nitrógeno correspondiente a cada tratamiento, se fraccionó en seis dosis y se aplicó al voleo en época de lluvia, después de cada corte de uniformización de las parcelas. La fuente de N que se utilizó, fue úrea (46% de N).

Diseño y análisis estadístico de datos. Los datos fueron analizados usando el programa *Statistical Analysis System* (SAS versión 9.1) mediante un análisis de varianza (PROC GLM),

para determinar diferencias en tratamientos y luego prueba de rangos múltiples de Tukey, cuando el análisis de varianza detectó diferencias con probabilidad de 5%. Las variables estudiadas fueron altura, rendimiento de materia seca, índice de área foliar y relación hoja/tallo, en relación a las accesiones evaluadas, y emisiones de metano y óxido nitroso Para las variables altura, rendimiento de materia seca, metano y óxido nitroso, los análisis fueron realizados por fecha de evaluación y para variables de rendimiento, crecimiento y los flujos netos acumulados de óxido nitroso y metano se utilizó la sumatoria de todas las fechas de evaluación.

Se utilizó un diseño en bloques completos al azar, con arreglo factorial 3 x 3 (accesiones de *Brachiaria* x dosis de fertilización), con tres repeticiones, para un total de 27 unidades experimentales. El modelo matemático que describió el diseño fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_i + G_j + N_k + (GxN)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

donde, μ = media; β_i = efecto del bloque; G_j = efecto de gramínea; N_k = efecto del nivel de N; $(GxN)_{jk}$ = efecto interacción; ε_{ijk} = error experimental.

Crecimiento y producción de materia seca

Se evaluaron las siguientes variables de crecimiento y producción de materia seca:

Altura de la pastura. Se midió antes de cada corte de uniformización, la altura de la pastura. Se tomó a partir de un promedio de tres mediciones, desde el suelo hasta la altura del pecíolo de la última hoja.

Producción de materia seca. Se cortó el rebrote, 30 d después de un corte de uniformización, a una altura de 10 cm, usando un marco de 1 m^{-2}, simulando el pastoreo animal. Se pesó en fresco la muestra y se tomó una muestra de 250 g que se secó en horno por 3 d a 70°C para determinar el porcentaje de materia seca, así:

Materia seca (kg m^{-2}) = (pfm –pssm)/pfsm
pfm = peso fresco de muestra
pfsm = peso fresco de la submuestra
pssm = peso seco de submuestras

Los valores analizados corresponden a las evaluaciones individuales y al promedio de cuatro evaluaciones realizadas.

Índice de área foliar. Se midió la relación, entre la superficie foliar de cada una de las accesiones de *B. humidicola,* respecto a la superficie del suelo (m^2/m^2). Se utilizó un ceptómetro (LP-80 AccuPAR®), el cual, calcula este índice a partir de la radiación del ambiente y la interna de la pastura.

Relación hoja/tallo. Se seleccionó una macolla entre 5-7 tallos, la cual se cortó a ras del suelo y se separaron los tallos y hojas para luego pesarlos individualmente y el cociente de ambos pesos, se tomó como el índice de relación hoja/tallo. Esta variable, se realizó a cada 30 d, durante cuatro veces consecutivas y coincidiendo con la evaluación de disponibilidad de materia seca.

Evaluación de las emisiones de GEI

Recolección, medición y análisis de metano y óxido nitroso. Para medir los gases de efecto de invernadero emitidos del suelo se usó la técnica de la cámara cerrada (*closed-chamber technique* - CCT) (Rondón, 2000; Montenegro y Abarca, 2000), la cual es utilizada a nivel internacional para la medición de los gases de efecto invernadero y se encuentra estandarizada y validada en CIAT (Chu *et al*., 2007). En cada tratamiento, se instalaron cuatro cámaras, en las cuales se tomaron cuatro muestras de gases por cada cámara, como se describe a continuación.

Instalación de cámaras. El proceso de instalación consta de la selección del sitio de seguimiento, inserción de los anillos en el suelo y al momento del muestreo, se instalaron cámaras de PVC (10 cm de alto, 25 cm diámetro), sobre los anillos instalados en el campo. Las cámaras se cerraban herméticamente con una banda de caucho. Para cada cámara, se tomaron muestras de aire, correspondientes a los tiempos 0, 10, 20 y 30 min, contados a partir de la instalación de la cámara. Se utilizaron cámaras con un orificio de venteo para equilibrar la presión (Chu *et al*., 2007; Reza *et al*., 2011).

Toma y recolección de muestra de aire. Se utilizó el mecanismo de inyección en frascos de vidrio sometido previamente a vacío con jeringas de 20 mL y control de flujo con válvula de plástico (Rondón, 2000; Chu *et al*., 2007).

Mediciones de temperatura y humedad. Durante cada muestreo, se colocó paralelamente en cada cámara un termómetro para registrar la temperatura del aire dentro de la cámara (Reza *et al*., 2011). Así mismo durante las lecturas, a un lado de cada cámara, se tomaron muestras de suelo, para determinar la humedad (la muestra se sometió a secado en horno a 105°C durante 24 h).

Frecuencia de toma de muestras. Los muestreos para la determinación de gases efecto invernadero fueron realizados, cada mes, durante 8 meses, en la época lluviosa, entre abril y noviembre de 2010.

Análisis de las muestras. Las muestras fueron analizadas en un cromatógrafo de gases Shimadzu GC-14A, equipado con detector de ionización de llama (FID), para el análisis del

metano y detector de captura de electrones (ECD), para el análisis del óxido nitroso; la operatividad y condiciones del cromatógrafo fueron las aplicadas en el laboratorio de servicios ambientales del CIAT (Rondón, 2000; Reza *et al.*, 2011).

Finalmente, con las concentraciones que registró el equipo, las temperaturas tomadas en campo, las dimensiones de la cámara de muestreo y la ecuación de los gases, se obtuvieron los flujos netos del metano y el óxido nitroso por fecha de evaluación. Con los muestreos, a lo largo del tiempo, se establecieron los flujos netos acumulados de estos gases de efecto invernadero.

La formula usada para calcular el flujo de óxido nitroso y metano en laboratorio fue:

$$Flujo_{(CH_4,N_2O)} = \frac{\Delta C_{concentración}}{\Delta t_{tiempo}} \cdot V_{Cámara} \Big/ A_{área} = \frac{(C_2 - C_1)}{(t_2 - t_1)} . H_a$$

Flujo (CH_4, N_2O) = μg m^{-2} h^{-1}; ΔC = variación de concentración; Δt = variación de tiempo; V = volumen de la cámara; A = área de la cámara; (C_2 – C_1) = diferencia concentración final e inicial; (t_2 – t_1) = diferencia del tiempo final e inicial; H = altura de la cámara.

Relación entre el crecimiento y producción de materia seca con los flujos de gases efecto invernadero

Para establecer la relación existente entre el crecimiento de cada una de las accesiones y las emisiones de gases, se correlacionaron las variables de crecimiento y los flujos mensuales medidos, a la vez que se correlacionó, el promedio de las evaluaciones de forraje y el flujo acumulado medido durante 8 meses, mediante la estimación del coeficiente de correlación Spearman (Glasser y Winter, 1961).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables de crecimiento y producción de forraje en diferentes accesiones de *B. humidicola*

Se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), excepto para la variable IAF ($P \leq 0,05$). La accesión que mejor respuesta presentó en cada una de las variables evaluadas fue CIAT 16888. Para cada unas de las accesiones, a medida que se incrementaron los niveles de nitrógeno, también se incrementó la altura de forraje, producción de materia seca y relación hoja/tallo. En cuanto a la variable IAF, la accesión CIAT 16888, fue la que mostró mejor respuesta con 1,99; en comparación con las accesiones CIAT 679 y CIAT 26159, cuyos valores de IAF fueron de 1,91 y 1,88; respectivamente (Tabla 1).

En general *B. humidicola* CIAT 16888, fue la que mejor respuesta presentó, en todas las variables medidas ($P \leq 0,05$). La producción de forraje para ésta accesión, fue de 2.075,3 kg ha^{-1}, significativamente superior a *B. humidicola* CIAT 26159 con 1.378,4 kg ha^{-1}, mientras que respecto a *B. humidicola* CIAT 679, no hubo diferencias significativas ($P \leq 0,05$). También se pudo evidenciar, el efecto de la fertilización nitrogenada, en la respuesta de las variables altura, producción de forraje y relación Hoja/Tallo, la cual aumentó con la dosis de N aplicado ($P \leq 0,05$), mientras que para la variable de IAF, no se detectó diferencia alguna entre las dosis de N ($P \leq 0,05$) (Tabla 1).

Tabla 1. Variables de crecimiento y producción de forraje de diferentes accesiones de *B. humidicola* y niveles de nitrógeno

Descripción	Altura (cm)	Materia seca total (kg ha^{-1})	IAF	Relación hoja/tallo
Accesiones				
CIAT 16888	46,87 a	2.075,32 a	1,99 a	2,51 a
CIAT 26159	40,38 b	1.387,37 b	1,88 a	2,34 a
CIAT 679	46,48 a	1.873,57 a	1,91 a	1,51 b
Dosis de nitrógeno (kg ha^{-1}-año)				
0	40,94 b	1.397,48 b	1,90 a	1,84 b
150	44,81 a	1.745,35 b	1,96 a	2,14 ab
300	47,97 a	2.193,43 a	1,92 a	2,39 a

IAF, índice de área foliar.
Promedios en la misma columna con letras diferentes, presentan diferencias según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Específicamente se evidenció que las accesiones CIAT 16888 y CIAT 679, no presentaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre las dosis de fertilización nitrogenada para la variable altura de planta y materia seca, mientras que CIAT 26159, se diferenció estadísticamente de las anteriores en las mismas variables. En la variable relación hoja/tallo, la accesión que manifestó los mejores valores fue CIAT 16888 y no manifestó diferencias ($P \leq 0,05$) con respecto a la accesión CIAT 26159 en las dosis de N 150 y 300 kg ha^{-1} (Tabla 2).

Tabla 2. Comportamiento general de las variables de crecimiento y producción de forraje de diferentes accesiones de *B. humidicola*

Accesiones	Dosis de N (kg ha^{-1})	Altura (cm)	Materia seca (kg ha^{-1})	Relación hoja/tallo
CIAT 16888	0	42,33 cd	1.462,60 bc	2,21 bcd
	150	47,53 abc	2.118,31 ab	2,54 abc
	300	50,75 a	2.645,05 a	2,80 a
CIAT 26159	0	38,31 d	1.233,58 c	2,04 cde
	150	40,17 cd	1.242,09 c	2,28 abc
	300	42,67 bcd	1.686,45 bc	2,69 ab
CIAT 679	0	42,19 cd	1.496,27 bc	1,26 f
	150	46,75 abc	1.875,64 abc	1,59 ef
	300	50,50 ab	2.248,79 ab	1,67 def

Promedios en la misma columna con letras diferentes, presentan diferencias según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Se ha determinado que algunas gramíneas como *B. humidicola,* tienen la capacidad de inhibir la nitrificación y existe una variación interespecífica entre las diferentes accesiones (Subbarao *et al*., 2006c, 2007, 2009); sin embargo, aún no se había estudiado la relación que existe, entre las emisiones de estos gases y el crecimiento de las pasturas.

Otros investigadores también han sostenido esta idea de la capacidad de las plantas de suprimir la nitrificación (Jarvis y Barraclough, 1991; Lata *et al*., 1999). La presencia de altas concentraciones de NH_4^+ en comparación con NO_3^- en pastizales naturales dominados por especies de *Andropogon* es un ejemplo de ello (Subbarao *et al*., 2006a). Las poblaciones de bajos nitrificantes y bajos niveles de NO_3^-, son también características de los pastizales dominados por *Brachiaria humidicola*. Se sugiere que el NO_3^- no se acumula después de la adición de NH_4^+ cuando fue utilizado como evidencia, para apoyar la tesis de que la nitrificación fue suprimida por exudados de raíces (Sylvester-Bradley *et al*., 1988).

Algunos autores indican que *B. humidicola,* es una especie de alto rendimiento de materia seca. En una evaluación de distintas gramíneas forrajeras (Tejos *et al*., 1996), reportaron un rendimiento de materia seca 3.545 kg ha^{-1} por corte. En este trabajo, el rendimiento de materia seca fue de 2.645 kg ha^{-1} con una fertilización nitrogenada de 300 kg ha^{-1}.

Evaluación de flujos de gases de efecto invernadero

Fueron ocho seguimiento durante 205 d de evaluación, donde se observó el comportamiento de las emisiones de metano, durante el período lluvioso del año 2010, comprendido entre los meses de abril a noviembre; nótese, que no existió un patrón definido en las emisiones, lo cual pudo deberse a las diferentes condiciones ambientales en términos de humedad del suelo y precipitación durante los días de evaluación, que pudieron influir de manera indirecta sobre los flujos parciales de metano (Reay *et al*., 2007b; Klein *et al*., 2008; Ciarlo, 2009) (Figura 1).

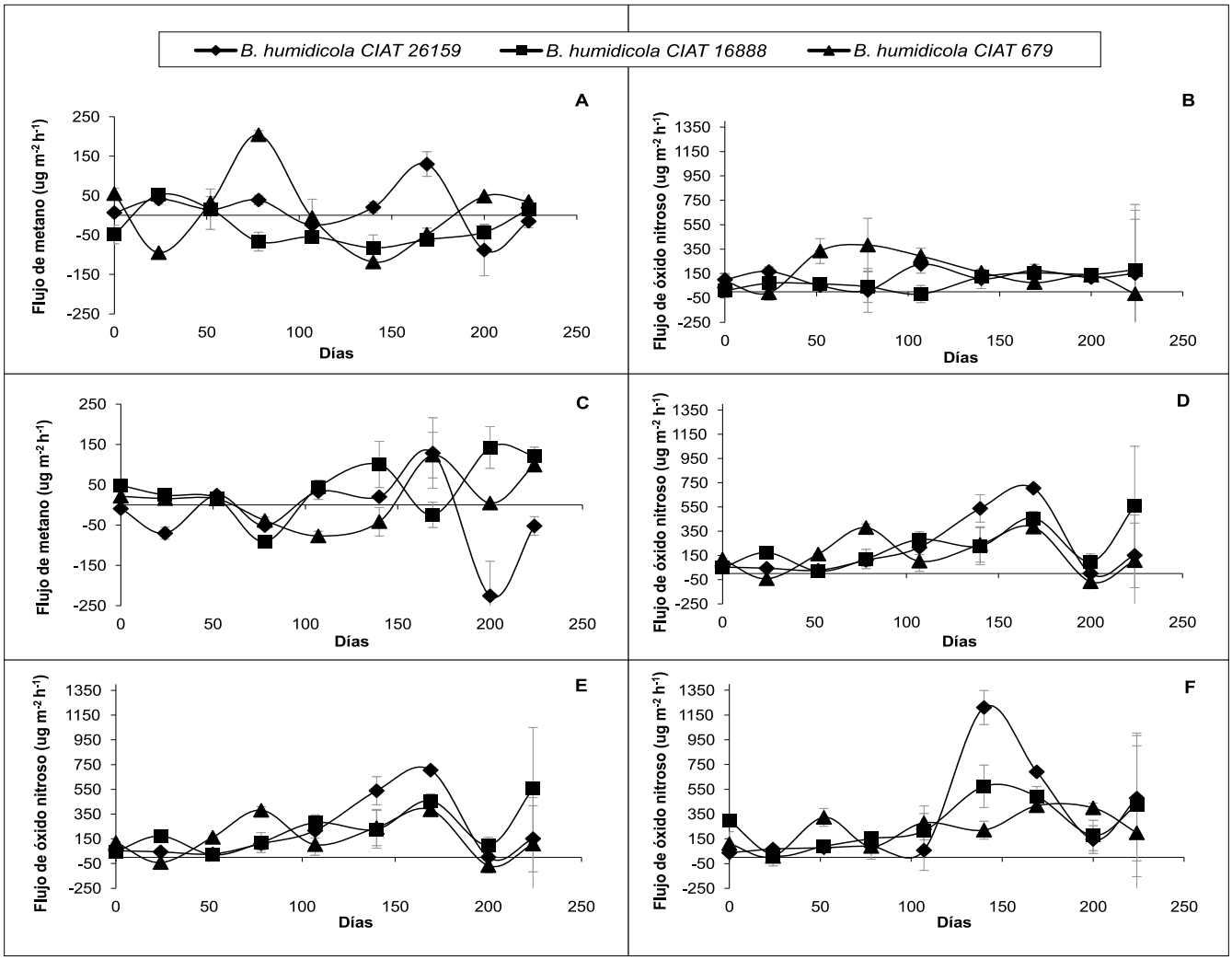

Figura 1. Dinámica de los flujos promedios y desviación estándar con límite de confianza al 90% de metano y óxido nitroso (µg m^{-2} h^{-1}) en accesiones de *B. humidicola* con tres dosis de N durante la época lluviosa, en el valle del Sinú medio. A y B, sin fertilización; C y D,150 kg ha^{-1}; E y F, 300 kg ha^{-1}

Se aprecia un comportamiento estable de los flujos en la accesión *B. humidicola* CIAT 16888. Los flujos de metano oscilaron en todas las accesiones entre valores de flujo negativo y positivo (-225 y 204 μg m^{-2} h^{-1}), lo cual denotó cambios en la capacidad sumidero y emisiones de metano respectivamente. Diversos autores han evidenciado que durante la época de lluvias las emisiones incrementan ya que se puede ver con mayor incidencia las condiciones anaerobias por saturación de agua y por lo tanto una mayor producción de metano por la metanogénesis en el suelo y cuando las condiciones de humedad se reducen, asociado directamente con una disminución de las precipitaciones, empiezan a generarse procesos oxidativos donde actúan las bacterias aeróbicas que favorecen las acumulaciones de metano, llegando a niveles donde el comportamiento es de sumideros de metano (Klemedtsson y Klemedtsson, 1997; Kammann *et al*., 2001; Dunfield, 2007; Visscher *et al*., 2007; Reay *et al*., 2007a; Ferreira, 2008).

Por otra parte, en cuanto a la dinámica de las emisiones de óxido nitroso, se presentaron flujos con mayor estabilidad, en comparación con las emisiones de metano. Los valores de emisiones estuvieron normalmente por debajo de los 400 μg m^{-2} h^{-1} de N_2O en *B. humidicola* CIAT 679, mientras que para las otras dos accesiones, no superaron los 230 μg m^{-2} h^{-1}. Nótese además, que cuando se fertilizó, los flujos mensuales de óxido nitroso aumentaron con los niveles de N aplicado, aumentándose significativamente las emisiones, hasta tal punto que los valores negativos son muy pocos con la fertilización de 300 kg ha^{-1} anual de N.

La accesión *B. humidicola* CIAT 16888 fue la que mayor emisiones de N_2O presentó con un promedio de 1853 μg m^{-2} h^{-1}; sin embargo, este no tuvo diferencia estadística ($P \leq 0,05$) respecto a las emisiones de *B. humidicola* CIAT 26159 con 1636 μg m^{-2} h^{-1}; *B. humidicola* CIAT 679 fue la que registró menores emisiones con 1548 μg m^{-2} h^{-1}, pero a su vez no presentó diferencia estadística respecto a la accesión *B. humidicola* CIAT 26159. En cuanto al gas metano, nótese que existen diferencias altamente significativas ($P \leq 0,001$) entre las accesiones, siendo *B. humidicola* CIAT 26159 la de mejor comportamiento por generar efecto sumidero de metano en el suelo, ya que presentó flujos negativos (-119 μg m^{-2} h^{-1}), mientras que las otras dos accesiones presentaron flujos de metano positivos, indicando liberación de este gas a la atmósfera (Tabla 3)

El análisis de varianza detectó diferencias significativas ($P \leq 0,05$) y altamente significativas ($P \leq 0,001$), para los promedios de flujos acumulados de metano y óxido nitroso, respectivamente. Nótese para el gas metano, que cuando no se aplicó N, el gas se comportó como sumidero en el suelo (flujo negativo), mientras que cuando se aplicó N si existieron emisiones de este gas hacia la atmósfera, indiferente de la dosis de nitrógeno aplicada. Por otra parte, para el caso de óxido nitroso, existieron emisiones de gases con o sin fertilización nitrogenada, sin embargo, esta aumentó con el incremento de los niveles de N aplicados a la pastura.

Tabla 3. Flujos de GEI en las tres accesiones de *B. humidicola* y tres niveles de fertilización nitrogenada

Accesiones	CH_4 (μg m^{-2} h^{-1})	N_2O (μg m^{-2} h^{-1})
Bh16888	124,5 a	1853,7 a
Bh26159	-119,1 b	1636,4 ab
Bh679	138,6 a	1548,2 b
Probabilidad	<0,0001	0,0096
Cv (%)	18,44	11,19
r^2	0,92	0,94
Fertilización nitrogenada (kg ha^{-1} - año)		
0	-23,6 b	1061,1 c
150	107,9 a	1670,6 b
300	59,7 ab	2306,4 a
Probabilidad	0,01	<0,0001
Cv (%)	18,45	11,19
r^2	0,92	0,94

Promedios en la misma columna con letras diferentes, presentan diferencias según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

En evaluaciones de flujos acumulados de óxido nitroso, realizadas por el CIAT, en dos genotipos de *B. humidicola* 679 y 16888, se encontraron diferencias estadísticas significativas, mostrando emisiones de 380 mg y 679 N_2O m^{-2} $año^{-1}$ respectivamente, mientras que el control absoluto con suelo desnudo y con soya mostraron valores de 1.026 y 969 mg N_2O m^{-2} $año^{-1}$ respectivamente. Esto significa, una reducción de más del 50% de las emisiones de N_2O, comparado con los controles (CIAT, 2007). Las emisiones encontradas en este trabajo para el mismo GEI, están por el orden de 400 μg m^{-2} h^{-1} de N_2O en *B. humidicola* CIAT 679, mientras que para el genotipo CIAT 16888, no supera los 230 μg m^{-2} h^{-1}.

Efecto de las accesiones de *B. humidicola* y la fertilización nitrogenada en los flujos acumulados de metano y óxido nitroso

Hay interacción significativa entre los factores evaluados (accesiones de *B. humidicola* y dosis de N), causando efecto sobre los flujos acumulados de metano y óxido nitroso durante el período de evaluación de GEI ($P \leq 0,001$). En la Figura 2, las accesiones *B. humidicola* CIAT 16888 y 679, presentaron una tendencia a aumentar las emisiones con el aumento de los niveles de N, lo cual es más evidente en el primero; sin embargo, en la accesión *B. humidicola* CIAT 26159, la respuesta fue inversa, ya que la captura de gas metano, aumentó con la dosis de N. Aunque la respuesta de este último, podría evidenciar claramente un efecto de la accesión, se debe considerar antes que las condiciones

de establecimiento de éste, respecto a los otros dos fue más lenta y desuniforme, lo cual pudo haber causado una respuesta anómala a los tratamientos evaluados, no obstante, de acuerdo a los errores estándar (Figura 2), estos resultados son confiables, lo cual podría llevar a la conclusión, de un efecto importante de la accesión sobre las emisiones de gas metano a la atmósfera.

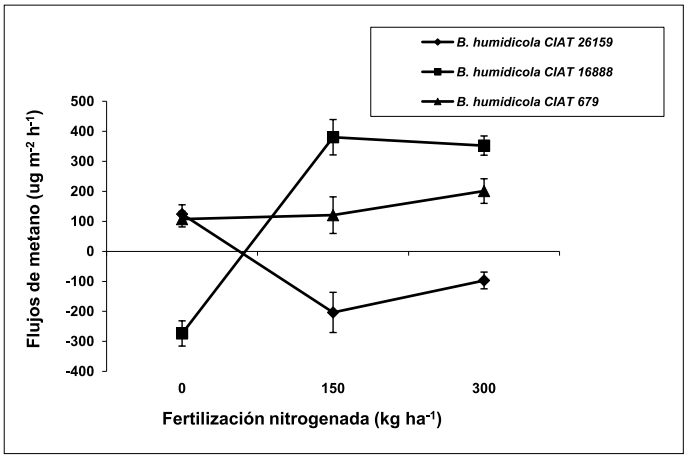

Figura 2. Flujo acumulado de metano de las accesiones de *B. humidicola* evaluadas en función de la dosis de N aplicado durante la época lluviosa, en el valle del Sinú medio

Por otra parte, existe un efecto muy evidente de la aplicación de diferentes niveles de N sobre las emisiones de óxido nitroso (Figura 3), en la cual también se logró detectar con el análisis de varianza, una interacción significativa, entre los factores evaluados ($P \leq 0{,}001$). Nótese, que *B. humidicola* CIAT 679, fue la que menores y más estables flujos de óxido nitroso tuvo con respecto a la dosis de nitrógeno empleada, mientras que *B. humidicola* CIAT 16888 fue el que mayores emisiones de este GEI presentó.

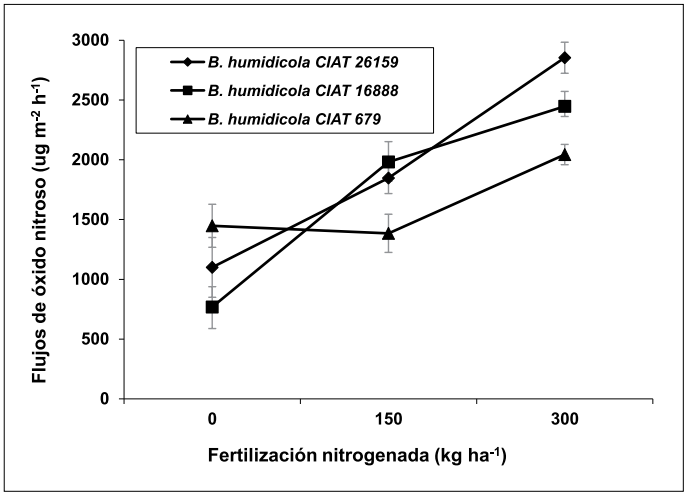

Figura 3. Flujo acumulado de óxido nitroso de las accesiones de *B. humidicola* evaluadas en fun ción de la dosis de N aplicado durante la época lluviosa, en el valle del Sinú medio

Probablemente el factor más intensamente investigado que regula la absorción de metano es el nitrógeno del suelo. La fertilización nitrogenada por lo general inhibe la oxidación del metano (Visscher *et al.*, 2007). Sin embargo, en algunos casos, la fertilización con nitrógeno no es inhibitorio de metano y en casos raros puede incluso estimular la oxidación del metano (Dunfield, 2007). Visscher *et al.* (2007) manifestaron la alta influencia del nitrógeno inorgánico en la oxidación microbiana del CH_4 y lo extremadamente complejo de las reacciones a tal punto de no entenderlas completamente. Esto es porque el nitrógeno inorgánico puede actuar como inhibidor de nutrientes y de microorganismos metanotrófos. El papel del nitrógeno en las emisiones CH_4, depende del pH, el tipo de metanotrófos de la forma y la concentración de nitrógeno presente (NH_4^+, NO_2^- o NO_3^-), por tanto se puede explicar el comportamiento de los flujos de metano.

En cuanto a la fertilización nitrogenada, algunos autores sugieren mejorar la eficiencia del N, como una de las principales estrategias para reducir las emisiones de N_2O. En Canadá, durante 1996, las emisiones directas de fertilizante representaron un 13% del total de las emisiones de N_2O del agro (Desjardins y Keg, 1999), con más de un 90% del fertilizante sintético que se usó en sistemas de cultivos herbáceos. Lo anterior permite ratificar lo que se encontró en este trabajo, que es una influencia directa de la fertilización con N, sobre las emisiones de metano y óxido nitroso.

El efecto de las aplicaciones de fertilizante nitrogenado de forma fraccionada y posteriores a un evento de fertilización no han sido estudiadas al detalle, teniendo en cuenta el efecto del agua en el suelo y/o de la lluvia en los patrones de emisión seguidas de la aplicación de fertilizante (Ruz *et al*., 1995; Velthof *et al*., 2003); estos autores sugirieron que el efecto de esta práctica puede reducir hasta en un 50% las emisiones de óxido nitroso, no obstante este mismo patrón operativo fue empleado en este estudio, lo cual pudo generar en las emisiones un factor de regulación, ya que se fraccionaron las dosis de nitrógeno y por lo tanto se favoreció la mayor absorción por parte de la planta, evitando en ese sentido las pérdidas por las diferentes rutas. Sin embargo, para corroborar la hipótesis propuesta por los autores de los estudios anteriores se deberá analizar en detalle y comparar en el tiempo y en el espacio, tanto el comportamiento de las emisiones como las fertilizaciones, las dosis y la humedad durante el tiempo de observación.

Relación entre crecimiento y producción de materia seca de accesiones de *B. humidicola* y las emisiones de gases efecto invernadero

Con el fin de establecer la relación existente entre las variables de crecimiento y producción de la *B. humidicola*,

y las emisiones de GEI, se hicieron correlaciones entre las variables de crecimiento y los flujos acumulados totales de metano y óxido nitroso, encontrándose correlaciones significativas ($P \leq 0,05$), teniendo en cuenta los flujos totales acumulados y el promedio de las evaluaciones de las variables de crecimiento y producción de materia seca.

Los coeficientes de correlación calculados para cada una de las variables se evidencian en la Tabla 4. Nótese que las variables que más relación tienen con los flujos de GEI son altura y producción de materia seca. En el caso de la primera, se encontró un $r = 0,65$ ($P \leq 0,0001$) para la relación con metano y $r = 0,532$ ($P \leq 0,004$) para óxido nitroso. Para la variable de producción de materia seca, en el caso de metano el $r = 0,692$ ($P \leq 0,0001$) y para óxido nitroso 0,459 ($P \leq 0,016$). Lo anterior indica, que estas dos variables están estrechamente ligadas al comportamiento de flujos de GEI, esto es, a medida que hay un mayor crecimiento de las plantas y producción de materia seca, las emisiones de metano y óxido nitroso aumentarán. Las variables IAF y relación hoja/tallo, no presentaron relación alguna con las emisiones de estos gases, lo cual se evidencia también por el hecho de que fueron las variables que menos estaban influenciadas por los factores evaluados (accesiones de *B. humidicola* y dosis de N).

Tabla 4. Valores de los coeficientes de correlación (Spearman), entre crecimiento, producción de materia seca y flujos de gases efecto invernadero en las accesiones de *B. humidicola* evaluadas, en el valle medio del río Sinú

Variable	Metano		Óxido nitroso	
	Coef. de Correlación	Prof>|r|*	Coef. de Correlación	Prof>|r|
Altura	0,650	0,000	0,532	0,004
Materia seca (Kg ha^{-1})	0,692	<,0001	0,459	0,016
Índice de área foliar	0,122	0,546	-0,027	0,893
Relación hoja/tallo	-0,048	0,812	0,417	0,031

*Coeficiente de correlación (Spearman)

Estudios realizados evidencian que las accesiones de *B. humidicola* no responden significativamente a las altas dosis de nitrógeno adicionadas al suelo en la producción de forraje (Subbarao *et al.*, 2006c); sin embargo, los resultados encontrados en el Valle medio del río Sinú evidencian lo contrario, de allí que se deberá seguir investigando en este tipo de variables, con el fin de encontrar mayor soporte a los resultados e incluyendo a su vez la correlación con otras variables que puedan estar actuando y no fueron incluidas durante este estudio. No sin dejar de lado investigar el efecto de las raíces de *B. humidicola* en presencia de NO_3^- y NH_4^+, siendo este último quien favorece la producción del exudado brachialactona (Subbarao *et al.*, 2006a, 200b, 2007, 2009); dichos autores, manifiestan a su vez que la unidades inhibidoras de nitrificación están favorecidas por la presencia de NH_4^+, pero no se ha hecho esta relación con variables fisiológicas de las accesiones de *Brachiaria humidicola*.

CONCLUSIONES

Existe un efecto importante de la fertilización nitrogenada, sobre el aumento de la respuesta de cada una de las variables de crecimiento en estudio, para los genotipos de *B. humidicola*.

La dinámica de flujos de metano a través del tiempo de GEI, tuvo una respuesta directa entre las emisiones y las dosis de nitrógeno en las accesiones CIAT 16888 y CIAT 679, mientras que en CIAT 26159 el comportamiento fue diferente al observar un mayor incremento en el efecto sumidero a medida que se incrementó la dosis de nitrógeno, lo cual se convierte en un interrogante para nuevas investigaciones.

Los flujos de óxido nitroso fueron consistentes y directamente proporcionales con las dosis de nitrógeno aplicado, siendo esta una estrategia de manejo, en sistemas de producción intensiva.

Existe una correlación significativa, entre el crecimiento de la pastura en altura y la producción de materia seca, con los flujos totales de metano y óxido nitroso, mientras que para los flujos parciales, no se registraron correlaciones significativas.

Agradecimientos

Al programa de jóvenes investigadores e innovadores "Virginia Gutiérrez de Pineda" de Colciencias y a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, por brindar la oportunidad de desarrollar este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bouwman AF, Van Vuuren DP, Derwent RG, Posch, M. 2002. A global analysis of acidification and eutrophication of terrestrial ecosystems. Water Air Soil Poll 141:349-382.

Capone DG, Popa R, Flood B, Nealson KH. 2006. Geochemistry. Follow the nitrogen. Science 312(5774):708-709.

Chu H, Hosen Y, Yagi K. 2007. NO, N_2O, CH_4 and CO_2 fluxes in winter barley field of Japanese Andisol as affected by N fertilizer management. Soil Biol Biochem 39:330-339.

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 en Ciencias Agrícolas]. Buenos Aires: Facultad de Agronomía Universidad de Buenos Aires.

[CIAT] Centro Internacional de Agricultura Tropical. 2007. Annual Report Climate Change Project, Informe Anual 2007. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT.

Desjardins RL, Keng JC. 1999. Nitrous oxide emissions from agricultural sources in Canada. En: Desjardins RL, Keng JC, Hauguen-Kozyra K, editores. Proceedings of the International Workshop on Reducing Nitrous Oxide Emissions from Agroecosystems, Edmonton, Canadá: Agriculture and Agri-Food Canada, Research Branch; Alberta Agriculture, Food and Rural Development, Conservation and Development Branch.

Dunfield PF. 2007. The soil methane sink. En: Reay DS, Hewitt CN, Smith KA, Grace J, editors. Greenhouse gas sinks. Wallingford, UK: CAB International. pp 152-170.

Ferreira O. 2008. Flujos de gases de efecto invernadero, potencial de calentamiento global y evaluación de emergía del sistema agroforestal quesungual en el sur de Lempira, Honduras [Tesis de maestría]. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

Giles J. 2005. Nitrogen study fertilizes fears of pollution. Nature 433:791-799.

Glass D. 2003. Nitrogen use efficiency of crop plants: Physiological constraints upon nitrogen absorption. Crit Rev Plant Sci 22:453-470.

Glasser GJ, Winter RE. 1961. Critical valúes of the coefficient of rank correlation for testing the hypothesis of independence. Biometrika 48:444-448.

Jarvis SC, Barraclough D. 1991. Variation in mineral nitrogen under grazed grassland swards. Plant Soil 138:177-188.

Kammann C, Grünhage L, Jäger HJ, Wachinger G. 2001. Methane fluxes from differentially managed grassland study plots: the important role of CH_4 oxidation in grassland with a high potential for CH_4 production. Environ Poll 115:261-273.

Khalil MAK, Rasmussen RA, Shearer MJ. 2002. Atmospheric nitrous oxide: pattern of global change during recent decades and centuries. Chemosphere 47:807-821.

Klein C, Pinares C, Waghorn G. 2008. Greenhouse gas emissions. En: McDowell RW, editors. Environmental impacts of pasture-based farming. Wallingford, UK: CAB International. pp 1-32.

Klemedtsson AK, Klemedtsson L. 1997. Methane uptake in Swedish forest soil in relation to liming and extra N-deposition. Biol Fert Soils 25:296-301.

Lata JC, Durand J, Lensi R, Abbadie L. 1999. Stable coexistence contrasted nitrification statuses in a wet tropical savanna system. Fun Ecol 13:762-763.

Montenegro J, Abarca S. 2000. Fijación de carbono, emisión de metano y de óxido nitroso en sistemas de producción bovina en Costa Rica. En: Pomareda C, Steinfeld H, editores. Intensificación de la ganadería en Centroamérica: beneficios económicos y ambientales. San José: CATIE; FAO; SIDE. pp 151-173.

Mosier A, Duxbury J, Freney J, Heinemeyer O, Minami K. 1996. Nitrous oxide emissions from agricultural fields: Assessment, measurement, and mitigation. Plant Soil 181:95-108.

Mulder EG, Lie TA, Woldendorp JW. 1969. Biology and soil fertility. En: Soil biology. Natural resources research IX. Pub. 741. Paris: UNESCO pp 163-201.

Palencia G, Mercado T, Combatt E. 2006. Estudio agroclimático del departamento de Córdoba. Montería: Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Córdoba.

Rao IM, Kerridge PC, Macedo M. 1996. Adaptation to low fertility acid soils and nutritional requirements of *Brachiaria*. En: Miles JW, Maass BL, do Valle CB, editores. The biology, agronomy and improvement of *Brachiaria.* Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT. pp 53-71.

Raún WR, Johnson GV. 1999. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. Agron J 91:357-363.

Reay D, Hewitt C, Smith K. 2007b. Nitrous oxide: importance, sources and sinks. En: Reay DS, Hewitt CN, Smith KA, Grace J, editors. Greenhouse gas sinks. Wallingford, UK: CAB International. pp 201-206.

Reay D, Smith K, Hewitt C. 2007a. Methane: importance, sources and sinks. En: Reay DS, Hewitt CN, Smith KA, Grace J, editors. Greenhouse gas sinks. Wallingford, UK: CAB International. pp 143-151.

Reza S, Mejia S, Torregroza L, Jiménez N, Espinosa M, Suárez E, Pastrana I, Novoa R. 2011. Emisiones de gases de efecto invernadero por tres accesiones de *Brachiaria humidicola* y *Panicum maximum* cv tanzania en el valle medio del Sinú. Boletín Técnico. Cereté, Colombia: Corpoica.

Rondón M. 2000. Land use and balances of greenhouse gases in Colombian tropical savannas [Tesis de doctorado]. Ithaca, NY: Cornell University.

Ruz BE, White RE, Ball PR. 1995. A comparison of nitrate leaching under clover- based pastures and nitrogen-fertilized grass grazed by sheep. J Agr Sci 125:361-369.

Smith KA, Mctaggart IP, Tsuruta H. 1997. Emissions of N_2O and NO associated with nitrogen fertilization in intensive agriculture, and the potencial for mitigation. Soil Use Manage 13:296-304.

[SAS] Statistical Analysis System Institute. 2007. SAS STAT User's guide. Versión 9.1. Cary: SAS Institute.

Subbarao G, Nakahara K, Hurtado M, Ono H, Moreta D, Salcedo A, Yoshihashi A, Ishikawa T, Ishitani M, Ohnishi-Kameyama M, *et al*. 2009. Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. PNAS 106(41):17302-17307.

Subbarao GV, Ishikawa T, Ito O, Nakahara K, Wang HY, Berry WL. 2006b. A bioluminescence assay to detect nitrification inhibitors released from plant roots: a case study with *Brachiaria humidicola*. Plant Soil 288:101-112.

Subbarao GV, Ito O, Sahrawat KL, Berry WL, Ankara K, Ishikawa T, Watanabe T, Suenaga K, Rondon M, Rao IM. 2006a. Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems–Challenges and opportunities. Crit Rev Plant Sci 25:303-325.

Subbarao G, Wang H, Ito O, Nakahara K, Berry W. 2006c. NH_4^+ triggers the synthesis and release of biological nitrification inhibition compounds in *Brachiaria humidicola* roots. Plant Soil 290:245-257.

Subbarao G, Rondon M, Ito O, Ishikawa T, Rao IM, Nakahara K, Lascano C, Berry W. 2007. Biological nitrification inhibition (BNI) is it a widespread phenomenon? Plant Soil 294:5-18.

Sylvester-Bradley R, Mosquera D, Mendez JE. 1988. Inhibition of nitrate accumulation in tropical grassland soils: effect of nitrogen fertilization and soil disturbance. J Soil Sci 39:407-416.

Tejos R, Rodríguez C, Pérez N, Rivero L, Terán, Colmenares M. 1996. Gramíneas forrajeras promisorias para el llano bajo. En: II Seminario Manejo y Utilización de Pastos y Forrajes en Sistemas de Producción Animal. Barinas: Universidad Nacional Ezequiel Zamora. pp. 9-14.

Velthof GL, Kuikman PJ, Oenema O. 2003. Nitrous oxide emission from animal manures applied to soil under controlled conditions. Biol Fertil Soils 37:221-230.

Visscher A, Boeckx P, Cleemput O. 2007. Artificial methane sinks. En: Reay DS, Hewitt CN, Smith KA, Grace J, editors. Greenhouse gas sinks. Wallingford, UK: CAB International. pp 184-200.