

**CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS NITRIFICANTES EN TRES USOS DEL SUELO,
EN LA ZONA ALTOANDINA DE PASTO, NARIÑO**

**LUBI YOMAIRA CULCHAC CUARAN
JHON SEBASTIAN ESTRADA MARCILLO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROFORESTAL
SAN JUAN DE PASTO
2018**

**CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS NITRIFICANTES EN TRES USOS DEL SUELO,
EN LA ZONA ALTOANDINA DE PASTO, NARIÑO**

**LUBI YOMAIRA CULCHAC CUARAN
JHON SEBASTIAN ESTRADA MARCILLO**

Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de

INGENIERO AGROFORESTAL

Presidente de tesis:

DEISY VIVIANA BENAVIDES ARTEAGA I.AF.

Copresidente:

GERMAN CHAVES JURADO I.A. M. Sc.

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROFORESTAL
SAN JUAN DE PASTO
2018**

NOTA DE RESPONSABILIDAD

“Las ideas y conclusiones aportadas en este Trabajo de Grado, son de responsabilidad exclusiva de los autores”

Artículo 1° del Acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966 emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN

Firma Presidente

Firma Jurado

Firma Jurado

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a Dios y Nuestras Familias por su apoyo durante toda nuestra carrera.

A Viviana Benavides Arteaga, I.AF. Presidente de Tesis. Por sus aportes y colaboración.

A German Chaves Jurado, I.A, M.Sc. Copresidente de Tesis. Por su compromiso y apoyo incondicional, por compartir sus conocimientos y asesoría durante el desarrollo de nuestra tesis.

A Héctor Ramiro Ordoñez, I.F. Ph.D. Por el gran interés y compromiso mostrado en este trabajo.

Al Señor Francisco Santacruz, propietario de la finca “El Rincón” ubicada en la vereda Cruz de Amarillo del Corregimiento de Catambuco por la colaboración prestada en la toma de muestras y permitir que este estudio se desarrolle en su finca.

A la Vicerrectoría de investigaciones, postgrados y relaciones internacionales por la financiación del proyecto de investigación del cual surgió este trabajo.

A la Universidad de Nariño, a la Facultad de Ciencias Agrícolas, al Programa de Ingeniería Agroforestal y los Laboratorios de Docencia.

Y a todas las personas que de una y otra forma colaboraron y apoyaron para que este proyecto se desarrolle a plena satisfacción.

DEDICATORIA

A Dios por guiarme, darme la fortaleza, sabiduría, entendimiento y permitirme alcanzar un logro más en mi vida.

Esta meta alcanzada es principalmente gracias al apoyo incondicional de mi madre María Rosalba Cuarán, quien con todo su esfuerzo me ayudó a conseguir mi formación profesional, gracias por ser el motor que impulsa mi vida en cada momento y demostrarme siempre su amor.

A mi padre, hermanos y sobrinos por su apoyo moral y cariño.

A Mario Botina, por brindarme su amor, sus consejos, su apoyo, comprensión y ayudarme a recorrer con satisfacción el camino hacia la superación. Gracias por haber sido mi fuerte.

A mi compañero Sebastián Estrada, por su disposición, apoyo y por la oportunidad de compartir este logro.

A todos mis maestros, asesores, por todas sus enseñanzas y motivación, que Dios los bendiga, y les dé sabiduría, para que continúen con su ardua labor de seguir formando profesionales íntegros y llenos calidad humana.

Y en general a todas las personas que hicieron parte de este proceso.

Gracias...

Lubi Yomaira Culchac Cuarán.

DEDICATORIA

A Dios por la vida, por darme fortaleza y entereza para enfrentar este reto y culminarlo con éxito.

A mi madre Rocío Marcillo que, con perseverancia y sacrificio, amor y dedicación logra que mis sueños y mis metas se hagan realidad.

A mi hermana Valeria, mi orgullo, mi motivación.

A mi abuela Clara, por ser mi apoyo, mi compañera gracias por tus cuidados Dios las bendiga por acompañarme, alentarme en los momentos difíciles y por estar presente en cada etapa de mi vida, en mis triunfos y por qué sin duda serán partícipes de mis alegrías siempre.

A la memoria de mi tío Alberto y mi primo Jesús Gabriel, sé que desde el cielo me protegerán y guiarán mi camino.

A mi familia que siempre me ha apoyado en este camino.

A mi compañera Lubi Culchac, por su compromiso y perseverancia en este trabajo.

A mis amigos, gracias por todos los momentos compartidos.

A mis Docentes por quienes el conocimiento que aportaron serán las bases para ser ahora un profesional y un gran ser humano en la vida

Jhon Sebastián Estrada Marcillo

Cuantificación de bacterias nitrificantes en tres usos del suelo, en la zona altoandina de Pasto, Nariño.

Quantification of nitrificant bacteria in three uses of the soil, in the altoandina area of the municipality of Pasto.

Lubi Yomaira Culchac C.¹, Jhon Sebastián Estrada M.², Viviana Benavides Arteaga³, German Chaves Jurado⁴

RESUMEN

El estudio se realizó en Pasto - Nariño, con el fin de estimar la cantidad de bacterias oxidadoras de amonio (BOA) y bacterias oxidadoras de nitrito (BON), en tres usos del suelo y dos profundidades. Se utilizó un diseño experimental de Bloques Completos al Azar (BCA), con seis tratamientos y tres repeticiones, para un total de 18 unidades experimentales. La cuantificación se realizó mediante la técnica del número más probable (NMP). El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas altamente significativas para usos y profundidades del suelo en BOA y BON. Igualmente se encontraron diferencias altamente significativas en BOA para la interacción uso x profundidad. La pastura tradicional presento la mayor densidad de BOA a una profundidad de 0-10 cm con 87784,61 UFC gramo-1, y el bosque presento menor densidad con 1312,73 UFC gramo-1. En BON la mayor densidad poblacional se encontró en pastura con 9377,24 UFC gramo-1, y el bosque presentó menor densidad con 3847,74 UFC gramo-1. La mayor densidad de bacteria se presentó de 0 a 10 cm, con valores de densidad para BOA de 37557,19 UFC gramo-1 y para BON de 7306,35 UFC gramo-1, posiblemente a que en los primeros 5 cm del suelo se encuentra la capa biológicamente más activa del suelo. Las mayores densidades de bacterias nitrificantes encontradas en los usos de suelo; pastura tradicional y sistema silvopastoril, pudo estar relacionado a las fertilizaciones orgánicas, la reincorporación del estiércol y orina de los animales, los cuales, son un sustrato ureico promotor de crecimiento de microorganismos.

Palabras claves: bosque, microorganismos, pastura, sistema silvopastoril, suelo.

ABSTRACT

The study was performed in Pasto - Nariño, with the purpose of to estimate the amount of ammonium oxidizing bacteria (BOA) and nitrite oxidizing bacteria (BON), in three soil uses and two depths. An experimental design of Randomized Complete Blocks (BCA) was used, with six treatments and three repetitions, for a total of 18 experimental units. Quantification was performed using the most probable number technique (NMP). The analysis of variance showed highly significant statistical differences for land use and depth in BOA and BON. Likewise, highly significant differences were found in BOA for the interaction use x depth. The traditional pasture presented the highest density of BOA at a depth of 0-10 cm with 87784.61 CFU gram⁻¹, and the forest presented lower density with 1312.73 CFU gram⁻¹. In BON the highest population density was found in pasture with 9377.24 CFU gram⁻¹, and the forest presented lower density with 3847.74 CFU gram⁻¹. The highest density of bacteria was presented from 0 to 10 cm, with density values for BOA of 37557.19 CFU gram⁻¹ and for BON of 7306.35 CFU gram⁻¹, possibly because in the first 5 cm of the soil find the most biologically active layer of soil. The highest densities of nitrifying bacteria found in land uses; traditional pasture and silvopastoral system, could be related to organic fertilizations, the reincorporation of animal manure and urine, which are a substrate ureic promoter of growth of microorganisms.

Key words: BOA, BON, Silvopastoral System, Most Probable Number (NMP), Colony Forming Units (UFC gramo⁻¹)

¹Estudiante teista de Ingeniería Agroforestal. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño, San Juan de Pasto, Colombia, lubys020@hotmail.com.

² Estudiante tesista de Ingeniería Agroforestal. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño, San Juan de Pasto, Colombia., johnestradam2013@gmail.com.

³Ingeniera Agroforestal. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño, San Juan de Pasto, Colombia, dvbenavides@gmail.com.

⁴ Profesor Hora Cátedra Asociado IA. M. Sc. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño, San Juan de Pasto, Colombia, g-ch-j@hotmail.com.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	11
2. MATERIALES Y MÉTODOS	13
2.1. Localización	13
2.2. Diseño experimental.	14
2.3. Muestreo de suelos.....	15
2.4. Aislamiento de bacterias nitrificantes.....	16
2.5. Presencia y cuantificación de bacterias nitrificantes.	17
2.6. Análisis estadístico.....	19
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
3.1. Presencia y cuantificación de Bacterias Oxidadoras de Amonio (BOA).	19
3.2. Presencia y cuantificación de Bacterias Oxidadoras de Nitrito BON.....	23
4. CONCLUSIONES	27
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Esquema del diseño experimental utilizado, Finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018	144
Tabla 2. Descripción de usos evaluados para cuantificación de bacterias nitrificantes, Finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018.	144
Tabla 3. Guía para cuantificar la población total de bacterias nitrificantes mediante software MPNes ®. TABLA DE NÚMERO MÁS PROBABLE MPN PARA BASE DE DILUCIÓN RADIO 10 y P(0,95).	188
Tabla 4. Análisis de Varianza para cuantificación de Bacterias Oxidadoras de Amonio (BOA), Finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018.....	20
Tabla 5. Prueba de Comparación de Medios de Tukey para Uso * Profundidad del suelo de Bacterias Oxidadoras de Amonio (BOA), Finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018.....	21
Tabla 6. Prueba de Comparación de Medias de Tukey para la profundidad del suelo de Bacterias Oxidadoras de Amonio (BOA), Finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018.....	22

Tabla 7. Cuadro de Análisis de Varianza para cuantificación de Bacterias Oxidadoras de Nitrito, Finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018.....	233
Tabla 8. Prueba de Comparación de Medias de Tukey para uso del suelo de Bacterias Oxidadoras de Nitrito (BON), Finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018.....	244
Tabla 9. Prueba de Comparación de Medias de Tukey para la profundidad del suelo de Bacterias Oxidadoras de Nitrito (BON), Finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018	24

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Toma de muestras de suelo. Finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018.	145
Figura 2. Siembra de muestras de suelo, Laboratorio de Biología, Universidad de Nariño.	187
Figura 3. Prueba para cuantificación de bacterias nitrificantes, Laboratorio de Biología, Universidad de Nariño.	207

1. INTRODUCCIÓN

Los modelos tradicionales productivos agropecuarios y la limitada aplicabilidad de sistemas sostenibles aceleran la pérdida de la biodiversidad de microorganismos del suelo y finalmente limitan su productividad, incrementando así los costos biológicos y económicos (López, 2002).

Estas actividades productivas desarrolladas por el hombre muestran poco interés en la conservación del recurso suelo, es así, como el uso indiscriminado de agroquímicos, la aplicación excesiva de plaguicidas, el bajo conocimiento sobre el manejo de sistemas de riego, los monocultivos y las prácticas de labranza intensiva, conllevan a la destrucción del desarrollo del edafón, el cual hace parte fundamental de la meteorización y/o disponibilidad de nutrientes para las plantas (López, 2002).

De igual forma, la actividad ganadera en las zonas Alto Andinas del departamento de Nariño, se caracterizan, porque la base de sus praderas, están constituidas por pasto kikuyo, principalmente, en las zonas de mayor altitud, donde los cultivos agrícolas están restringidos o son imposibles de establecer (Guevara y Zamora, 2012). Esta actividad, conlleva a una alta degradación de las praderas, debido a las deficientes prácticas de manejo de la fertilización y al sobrepastoreo, de esta forma, el establecimiento de los sistemas ganaderos, afecta la biodiversidad, modifica el balance de los nutrientes, aumenta la compactación en un tiempo relativamente corto (menor que 2 ó 3 años), reduce el volumen de los espacios porosos, contribuye a la disminución de la biota, disminuye la velocidad del flujo del agua y propicia la erosión (Steinfeld *et al.*, 2009).

A pesar, de que se ha determinado que las prácticas de manejo agrícola tienen un efecto sobre la calidad del suelo y la productividad, es poco conocido, el efecto que estas tienen sobre las comunidades microbianas edáficas y el impacto sobre el funcionamiento del suelo (Feng *et al.*, 2003). Para evaluar su impacto sobre los microorganismos edáficos se pueden emplear dos aproximaciones: monitoreando la diversidad estructural y funcional en la comunidad microbiana total edáfica y evaluando los grupos funcionales específicos, que se encuentran conectados con procesos involucrados en el ciclaje de nutrientes, tales como las bacterias fijadoras de nitrógeno, bacterias oxidadoras de amonio (BOA), bacterias oxidadoras de nitritos (BON) y bacterias desnitrificantes (BD) (Coleman & Whitman, 2005). Dichos estudios, suministran información acerca de la relación existente entre la diversidad microbiana, las funciones ecosistémicas y las interacciones ecológicas entre grupos funcionales, lo cual es prioridad en estudios de ecología microbiana (Collof *et al.*, 2008; Malchair *et al.*, 2010).

Por otra parte, estudios previos llevados a cabo por De la Paz-Jiménez *et al.* (2002) han demostrado, que los microorganismos presentan una elevada sensibilidad a disturbios antropogénicos, respondiendo en escalas de tiempo mucho más cortas en comparación con los físicos o químicos. Entre los parámetros microbianos utilizados, vale la pena mencionar los grupos funcionales de bacterias nitrificantes, es así, como la presencia, ausencia o densidad

y actividad de estos organismos, los convierte en un buen indicador para determinar la calidad de suelos en una variedad de ecosistemas.

Por las anteriores consideraciones, la investigación tuvo como objetivo principal, la cuantificación de bacterias nitrificantes como indicadores de calidad de suelo, debido a su gran sensibilidad frente a cambios ambientales y actividades antropogénicas, en tres usos de suelo, mediante métodos de aislamiento, presencia y cuantificación, para poder determinar en cuál de los usos existió mayor presencia de bacterias nitrificantes tanto BOA como BON.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Localización

La investigación, se desarrolló en la finca El Rincón, ubicada en Vereda Cruz de Amarillo, localizada al Suroccidente del Municipio de Pasto, con límites próximos al municipio de Tangua, a una altura de 2820 msnm, con una temperatura promedio de 12°C y una precipitación de 806 mm año⁻¹ (IDEAM, 2016); geográficamente se encuentra localizado a 1° 08' 12,3" Latitud Norte y 77° 18' 57,42" Longitud Oeste. La zona de vida de Holdridge para esta zona es Bosque Húmedo Montano "Bh-M", cuenta con un relieve montañoso y volcánico representado por altas pendientes y vertientes bien formadas y representativas (CORPONARIÑO, 2011).

Los suelos se clasifican como Typic melanudands, desarrollados a partir de cenizas volcánicas, las cuales originan un horizonte superficial espeso, de color negro. A partir de los 35 cm de profundidad existe un horizonte B estructural de color pardo grisáceo oscuro, textura franca y tixotrópica que descansa sobre un horizonte C de color pardo oliva. Son suelos muy profundos, bien drenados, de relieve quebrado a fuertemente quebrado, con textura franca a franco-arenosa, el pH varía entre 4 y 5.7, presentan altos contenido de carbono orgánico. Químicamente son suelos de reacción ácida, de baja a muy baja saturación de bases, de alta capacidad de intercambio catiónico, de contenido de fósforo bajo y de fertilidad moderada. Son suelos limitados en su uso por las bajas temperaturas y los fuertes vientos. (IGAC, 2004).

2.2. Diseño experimental.

Se utilizó un diseño experimental de Bloques Completos al Azar (BCA), bajo un arreglo bifactorial 3x2 con seis tratamientos y tres repeticiones, para un total de 18 unidades experimentales (Tabla 1). El factor A correspondió a usos del suelo, con los siguientes niveles 1: Bosque secundario (plantado y en regeneración natural); 2: Pastura tradicional compuesta por kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst. Ex Chiov.) Morrone.)), 3: Arreglo silvopastoril de árboles dispersos con aliso (*Alnus acuminata* L) y kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst. Ex Chiov.) Morrone.)); el factor B hizo referencia a las profundidades del suelo evaluadas con los siguientes niveles: 1: profundidad de 0 -10 cm y 2: profundidad de 10 - 20 cm (Tabla 2).

Tabla 1. Esquema del diseño experimental utilizado.

Tratamiento	Bloque 1	Bloque 2
T1	BS * Profundidad 0 - 10 Uso 1 * Profundidad 1	BS * Profundidad 0 - 10 cm Uso 1 * Profundidad 1
T2	BS * Profundidad 10- 20 Uso 1 * Profundidad 2	BS * Profundidad 10- 20 cm Uso 1 * Profundidad 2
T3	PT * Profundidad de 0 - 10 Uso 2 * Profundidad 1	PT * Profundidad de 0 - 10 cm Uso 2 * Profundidad 1
T4	PT * Profundidad de 10 - Uso 2 * Profundidad 2	PT * Profundidad de 10 - 20 cm Uso 2 * Profundidad 2
T5	SSP * Profundidad de 0 - Uso 3 * Profundidad 1	SSP * Profundidad de 0 - 10 cm Uso 3 * Profundidad 1
T6	SSP * Profundidad de 10 - Uso 3 * Profundidad 2	SSP * Profundidad de 10 - 20 cm Uso 3 * Profundidad 2

BS: bosque secundario, PT: pastura tradicional, SSP: sistema silvopastoril de árboles dispersos, P1: profundidad uno 0-10 cm, P2: profundidad dos 10 – 20 cm. Época 1: invierno, Época 2: verano.

Modelo estadístico

$$Y = \mu + \text{Bloque} + \text{Uso} + \text{Profundidad} + \text{Error}$$

$$Y = \mu + \beta_i + U_j + P_k + \epsilon_{ijk}$$

Donde

μ : Media

β_i = Efecto del bloque (Época)

U_j = Efecto del uso del suelo

P_k = Efecto de la profundidad de muestreo

ϵ_{ijk} = Error

Tabla 2. Descripción de los usos evaluados para la cuantificación de bacterias nitrificantes, finca El Rincón, vereda Cruz de Amarillo, 2018.

USOS	DESCRIPCIÓN
USO 1	Bosque natural secundario producto de la regeneración natural y siembra de aliso (<i>A. acuminata</i>), aproximadamente 28 años de edad.
USO 2	Lote con pastura tradicional de pasto kikuyo (<i>Cenchrus clandestinus</i>), área de 2000 m ² , con preparación y aplicación de abono orgánico a base de estiércol y melaza, y un historial de manejo mayor a 5 años.
USO 3	Lote con sistema silvopastoril de árboles dispersos (<i>A. acuminata</i>) sembrados a 3x3 metros y pasto kikuyo (<i>Cenchrus clandestinus</i>), área total de 2 hectáreas, con aplicación de abono orgánico de estiércol bovino, melaza, y un historial de manejo de 7 años.

2.3. Muestreo de suelos.

El muestreo para los análisis microbiológicos consistió en seleccionar tres puntos al azar en el área de muestreo de cada uso del suelo, en los cuales, se extrajo con ayuda de una pala, un monolito de suelo de 20 cm de largo x 20 cm de ancho y 25 cm de profundidad, el cual fue separado en dos secciones (0–10 cm y 10–20 cm). De cada sección, se extrajo la porción del tercio medio (100 g de suelo) la cual se empaco en bolsas plásticas auto-sellables, con el propósito de no contaminar las muestras, se sellaron y rotularon adecuadamente. Para no alterar la representatividad de los resultados, la muestra se conservó dentro de una hielera durante el transporte al Laboratorio de Biología de la Universidad de Nariño, a una temperatura de 4-6°C por 24 horas. Se realizaron diluciones seriales e inoculación en medios selectivos de cultivo (Vallejo *et al.*, 2011).

Para el análisis físico-químico del suelo según los tratamientos, se ubicaron 15 sitios al azar en forma de zigzag en el área de muestreo de cada uso definido en la investigación; aquí se limpió el área de donde se extrajo la muestra de cualquier cobertura presente, hasta lograr que el suelo quede desnudo. Con ayuda de un barreno cilíndrico, se extrajo las submuestras, de las cuales se seleccionó la porción de suelo del tercio medio de la muestra extraída, estas submuestras se homogenizaron en un recipiente plástico libre de impurezas, desinfectado con hipoclorito de sodio al 3% y luego se tomó una muestra representativa de 1 kg que se

colocó en una bolsa plástica autosellable (Figura 1) y se llevó al Laboratorio de Suelos de la Universidad de Nariño, para su posterior análisis.



Figura 1. Toma de muestras de suelo. Finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018

2.4. Aislamiento de bacterias nitrificantes.

Para el aislamiento, se utilizaron 100 g de suelo, proveniente de diferentes puntos o al azar, de los tres usos del suelo a evaluar seleccionados a dos profundidades de 0-10 y 10-20 cm, las cuales fueron mezcladas y homogenizadas en el muestreo.

En el aislamiento de las bacterias nitrificantes, se utilizó dos medios de cultivo: caldo amonio y caldo nitrito y se siguió la metodología del número más probable NMP de Schmidt & Belser (1994); la técnica se basa en la determinación de presencia o ausencia (positiva o negativa) en réplicas de diluciones consecutivas, de atributos particulares de microorganismos presentes en muestras de suelo u otros ambientes, modificado por Rodríguez *et al.*, (2007) para lo cual, se realizaron diluciones hasta que el microorganismo de interés no esté presente. Se utilizaron tres tubos como repeticiones para cada dilución y se sembró en medio de cultivo líquido (Figura 2). Las bacterias se incubaron por 15 días, en el Laboratorio de Biología de Docencia de la Universidad de Nariño, periodo en el cual se presentó un mayor crecimiento, posteriormente se realizó la identificación y cuantificación de las bacterias.



Figura 2. Siembra de muestras de suelo, Laboratorio de Biología, Universidad de Nariño.

2.5. Presencia y cuantificación de bacterias nitrificantes.

Para conocer la actividad puntual y detectar la presencia de NO_2^- originado por la acción oxidativa de BOA a partir de NH_4^+ , se realizó la prueba con el reactivo Griess-Ilosvay (Figura 3), que utiliza reactivo diazotizante y reactivo acoplante, indicador que se tornará de color fucsia para tubos positivos. Para observar la presencia de NO_3^- producto de la actividad oxidativa de BON a partir de NO_2^- , se realizó la prueba de colorante nitrato o prueba de la difenilamina, adicionando reactivo colorante nitrato, cuyo indicador, es el color azul oscuro en forma de precipitado para tubos positivos (Gallego, 2012).



Figura 3. Prueba para cuantificación de bacterias nitrificantes, Laboratorio de Biología, Universidad de Nariño.

Se tuvo en cuenta que, coloraciones extremadamente tenues en ambas pruebas, pueden parecer como negativas, debido a la presencia de nitrito en cantidades trazas insuficientes para desarrollar el complejo Azo de coloración fuerte y estable. De igual modo, en algunos casos, la

ausencia o debilidad del color, se debe a que las BOA, realizaron su trabajo oxidativo del amoníaco hasta NO_2^- , pero en algunas ocasiones, las BON pueden sobrevivir en el mismo medio de cultivo, tomando este ion y oxidándolo hasta NO_3^- , limitando la presencia de trazas que puedan reaccionar con el complejo Azo (Gallego, 2012).

Las respectivas lecturas y cuantificación de poblaciones fueron expresadas en UFC gramo⁻¹ suelo húmedo y por medio de correcciones de humedad; finalmente se obtuvieron los datos expresados en unidades UFC gramo⁻¹ suelo seco (Gallego, 2012) con base en la tabla guía para cuantificar poblaciones de bacterias nitrificantes (Tabla 3).

Tabla 3 Guía para cuantificar la población total de bacterias nitrificantes mediante software MPNes®.

Tubos Positivos						
10⁻¹	10⁻²	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶	BOA yBON UFCgramo⁻¹
4	0	0	0	0	0	87,5
4	1	0	0	0	0	136,6
4	1	1	0	0	0	206,9
4	2	0	0	0	0	233,5
4	2	1	0	0	0	352,3
4	3	0	0	0	0	427,5
4	3	1	0	0	0	605,6
4	3	2	0	0	0	810,7
4	3	2	1	0	0	1021,8
4	3	3	1	0	0	1293
4	4	0	0	0	0	875,1
4	4	1	0	0	0	1365,8
4	4	1	1	0	0	2068,8
4	4	2	0	0	0	2333,3
4	4	2	1	0	0	3521,3
4	4	2	2	1	0	6166
4	4	3	0	0	0	4273,1
4	4	3	1	0	0	6055
4	4	3	1	1	0	7911
4	4	3	2	0	0	8096,9
4	4	3	2	2	0	12552
4	4	4	0	0	0	8765,1

4	4	4	1	0	0	13665,5
4	4	4	1	1	0	20793,3
4	4	4	2	0	0	23169,3
4	4	4	3	1	0	61781,5
4	4	4	3	2	0	80791,1
4	4	4	3	3	0	95047,8
4	4	4	4	0	0	104553,3
4	4	4	4	1	0	133033,9
4	4	4	4	2	0	228113
4	4	4	4	3	0	456200

Fuente: Tabla de número más probable MPN para base de dilución radio 10 y P (0,95), (Neuza Asakawa, CIAT, 2013).

2.6. Análisis estadístico.

La información obtenida en el ensayo fue sometida a Análisis de Varianza (ANAVA), mediante el programa estadístico INFOSTAT. En aquellos casos donde se detectó diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$), se realizó la Prueba de Comparación de Medias de Tukey para agrupar a los tratamientos que tuvieron mayor aporte a la variabilidad de los datos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Presencia y cuantificación de Bacterias Oxidadoras de Amonio (BOA).

La nitrificación, es llevada a cabo en dos etapas y catalizada por dos grupos de bacterias filogenéticamente distintas. En la primera, participan las bacterias oxidadoras de amonio (BOA), las cuales tienen la habilidad de utilizar amonio, como única fuente de energía y oxidarlo hasta nitrito, también necesitan de CO_2 , como fuente de carbono y oxígeno, como aceptor final de electrones (Balows *et al.*, 2001); estas bacterias, se encuentran en ambientes aerobios donde está disponible el amoniaco, a través de la mineralización de la materia orgánica o por fuentes antropogénicas. La segunda etapa de nitrificación es llevada a cabo por las BON, grupo de microorganismos, que se caracterizan por su habilidad de utilizar el nitrito como fuente de energía y el CO_2 como fuente de carbono.

De acuerdo con los resultados obtenidos, en el presente ensayo a partir de las pruebas bioquímicas para el aislamiento e incubación en los medios diferenciales, mostraron la presencia de BOA y BON, según la coloración característica mencionada por Schmidt & Belser, (1994) y Sylvia *et al.*, (2005) para cada microorganismo y proceso de transformación de NH_4^+ a NO_3^- , donde el color violeta o morado, indica la presencia de BOA y el azul de BON.

El Análisis de Varianza (ANDEVA), (Tabla 4), mostró diferencias estadísticas altamente significativas para los tres usos del suelo (Bosque secundario, Pastura tradicional y Sistemas Silvopastoriles con árboles dispersos de Aliso con un ($p = 0,0001$), igualmente se encontró diferencias altamente significativas para las dos profundidades del suelo realizadas (0-10 cm y de 10 - 20 cm) con un ($p=0,0001$), así como también para la interacción entre usos a diferentes profundidades.

Tabla 4. Análisis de varianza para cuantificación de bacterias oxidadoras de amonio (BOA), finca El Rincón, vereda Cruz de Amarillo, 2018.

F. V	SC	GL	CM	F	P
MODELO	13924764696,87	6	2320794116,14	4539,16	<0,0001
EPOCA	199,33	1	199,33	0,00039	0,9850
USO	13584222757	2	6792111378,40	13284,45	0,0001**
PROF	289760361,9	1	289760361,90	566,73	0,0001**
USO * PROF	50781378,84	2	25390689,42	49,66	0,0005**
ERROR	2556413,33	5	511282,67		
TOTAL	13927321110	11			

*Diferencias estadísticas significativas; $p < 0,05$, **: Diferencias estadísticas altamente significativas; $p < 0,01$, ns: no Significativas.

La comparación de medias se realizó por medio de la Prueba de Tukey para las interacciones uso * profundidad con los diferentes usos de suelo (Tabla 5). La interacción que presentó mayor abundancia de bacteria oxidadoras de amonio (BOA), fue la pastura tradicional con 87784,61 UFC gramo^{-1} a una profundidad de muestreo de 0- 10 cm, seguido del mismo uso de suelo pero a una a profundidad de 10-20 cm, con 72143,15 UFC gramo^{-1} , mientras el sistema silvopastoril presento una abundancia de 16858,59 UFC gramo^{-1} a una profundidad 1 (0- 10 cm), sin embargo, el SSP a una profundidad 2 (10-20 cm) y el bosque secundario a una profundidad 1 no son significativamente diferentes. Finalmente, el uso 3 a una profundidad 2 fue el que presento menor abundancia con 1312,73 UFC gramo^{-1} .

Tabla 5. Prueba de comparación de Medias de Tukey para uso * profundidad del suelo de bacterias oxidadoras de amonio (BOA), finca El Rincón, vereda Cruz de Amarillo, 2018.

Uso	Profundidad	Medias	Significancia
Pastura Tradicional	1	87784,61	A
Pastura Tradicional	2	72143,15	B
Sistema Silvopastoril	1	16858,59	C
Sistema Silvopastoril	2	9732,11	D
Bosque Secundario	1	8028,36	D
Bosque Secundario	2	1312,73	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Estos resultados concuerdan, con estudios realizados por Murgueitio, (2003) donde los mayores recuentos de BOA, se encontraron en los usos de suelo de pastizal, posiblemente, este comportamiento se puede asociar a las modificaciones que se generan en el ambiente por las actividades agropecuarias, de esta manera, los suelos con uso agronómico, muestran altas tasas de nitrificación, lo cual se puede atribuir al elevado uso de insumos externos, principalmente fertilizantes nitrogenados, que al ser adicionados en los suelos, aceleran la transformación de C durante la oxidación de materia orgánica en dióxido de carbono (CO_2) y contribuyen en el aumento de la mineralización del nitrógeno orgánico en nitrógeno mineral (NH_4^+) por parte de los microorganismos, ofreciendo un ambiente favorable para el crecimiento de bacterias nitrificantes (Bruns *et al.*, 1999).

Además, se sabe que el pastoreo modifica las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, y también afecta los procesos hidrológicos, el ciclo de nutrientes y la producción vegetal en el sistema, por lo tanto, los cambios en las comunidades microbianas de grupos funcionales, pueden explicarse a través de los efectos directos e indirectos como: a) cambios en la porosidad del suelo debido al pisoteo de los animales, b) cambios en la competencia de N entre los microorganismos y de las plantas recientemente defoliadas, c) cambios en las tasas de ingreso y calidad de residuos y exudados de raíces debido a la defoliación, lo cual se estima, genera un impacto en la abundancia de microorganismos implicados en el ciclaje de N (McNaughton *et al.*, 1997; Busso *et al.*, 2001; Patra *et al.*, 2006).

Los cambios en las comunidades microbianas de grupos funcionales, también pueden explicarse a través de los efectos generados por los productos metabólicos de la orina y heces del ganado vacuno, que posiblemente favorecen el crecimiento de las bacterias nitrificantes, puesto que la orina emitida por estos animales contiene urea, la cual es hidrolizada hasta el carbonato de amonio y las heces contienen grandes cantidades de materia proteínica, las cuales son convertidas hasta NH_4^+ por bacterias saprófitas bajo condiciones aerobias o anaerobias (Murgueito, 2003), que favorece el crecimiento de poblaciones bacterianas, puesto que es un insumo necesario para el crecimiento de bacterias nitrificantes BOA y BON, siendo la fuente principal de energía (Pacheco *et al.*, 2002). Es así como, la concentración de amonio es uno de los factores que más afecta la comunidad de bacterias nitrificantes (Le Roux *et al.*, 2008).

Igualmente, se realizó la Prueba de Comparación de Medias de Tukey, para las dos profundidades (Tabla 6), la cual indica que la profundidad que presentó mayor abundancia de bacterias nitrificantes BOA fue la de 0 a 10 cm, con 37557,19 UFC gramo⁻¹ y la de la menor abundancia la profundidad 2 de 10 a 20 cm.

Tabla 6. Prueba de Comparación de Medias de Tukey para la profundidad del suelo de Bacterias Oxidadoras de Amonio (BOA), finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018.

Profundidad	Medias	Significancia
1	37557,19	A
2	27729,33	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Al comparar la densidad poblacional de bacterias nitrificantes (BOA y BON) en las dos profundidades de usos de suelo evaluadas, se pudo determinar, que en la profundidad de 0 a 10 cm se presentó mayor cantidad de bacterias nitrificantes en los diferentes usos de suelo, resultados similares se encontraron en estudios realizados por Mcneill y Unkovich, (2007) en los que afirman, que en los primeros 5 cm de profundidad del suelo gracias a la difusión del oxígeno, se realiza de forma más eficiente el proceso de mineralización, ya que esta superficie, es la capa biológicamente más activa del suelo.

Adicionalmente estos suelos son provenientes de cenizas volcánicas, que resultan del movimiento explosivo natural del volcán Galeras ubicado en la cordillera Central, igualmente los valores de material orgánico en la mayoría de los casos son superiores en el horizonte superficial que en los subsuperficiales (IDEAM, 1997). Por esta razón se generan condiciones ideales para la producción agrícola, debido a que presentan gran contenido de materia orgánica que garantiza una buena estructura y niveles de importantes de nitrógeno orgánico, y también la estructura de sus gránulos beneficia el proceso de aireación, favoreciendo el crecimiento y desarrollo de los microorganismos (UTP, 2001)

Además, el proceso de nitrificación requiere de la presencia de oxígeno, por consiguiente sucede solamente en ambientes aerobios, como las aguas que circulan o en las capas superficiales de los suelos y sedimentos la supervivencia de las bacterias nitrificantes en ambientes donde hay concentraciones bajas de oxígenos dependerá de su capacidad para competir con las raíces de las plantas y con organismos heterótrofos (Lata *et al.*, 2004), la adición de plaguicidas, al manejo de pastoreo intensivo, fertilización química del suelo, así como a actividades de labranza, generan alteraciones a nivel de las propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo.

Así mismo, estudios llevados a cabo por Enwall *et al.*, (2007), demostraron que los diferentes tipos de fertilización tienen efectos claros sobre la actividad y composición de las BOA y que aquellos suelos fertilizados con residuos orgánicos, tienen una comunidad de BOA más activa y diversa, lo cual tiene mucha relación con los resultados obtenidos en la investigación donde la mayor presencia y densidad de BOA, fue en pastura tradicional, seguramente, porque el productor realiza una fertilización de las pasturas y el SSP con abono orgánico que el mismo elabora con estiércol de ganado y melaza.

3.2. Presencia y cuantificación de Bacterias Oxidadoras de Nitrito BON

El Análisis de Varianza (ANDEVA), encontró diferencias estadísticas altamente significativas para los diferentes usos y profundidades del suelo con un ($p=0,0001$), para las interacciones no se encontró diferencias estadísticas (Tabla 7).

Tabla 7. Cuadro de Análisis de Varianza para cuantificación de Bacterias Oxidadoras de Nitrito.

F. V	S	GL	C	F	P
------	---	----	---	---	---

MODELO	70523359,8	6	11753893,31	603,77	<0,0001
EPOCA	1,	1	1,	0,00008	0,9930
USO	61752027,2	2	30876013,61	1586,0	0,0001*
PROF	8713830,2	1	8713830,26	447,61	0,0001*
USO *	57500,70	2	28750,35	1,48	0,3133
ERROR	97337,93	5	19467,59		
TOTAL	70620697,7	1			

*: Diferencias significativas; $p < 0,05$, **: Diferencias altamente significativas; $p < 0,01$, ns: no significativas.

La prueba de comparación de medias de Tukey para uso (Tabla 8) indicó, que los usos de suelo que presentaron mayor abundancia de BON, fueron el SSP y la pastura tradicional, siendo bosque el de menor abundancia.

Tabla 8. Prueba de Comparación de Medias de Tukey para uso del suelo de Bacterias Oxidadoras de Nitrito (BON), finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018.

USO	MEDIAS	SIGNIFICANCIA
Pastura Tradicional	9377,24	A
Sistema Silvopastoril	6137,64	B
Bosque Secundario	3847,74	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

De igual forma, al realizar la misma prueba para profundidad (Tabla 9) la cual indica que la profundidad que presentó mayor abundancia de BON fue la de 0 a 10 cm con 7306,35 UFC gramo⁻¹ y la de la menor abundancia la de 10 a 20 cm con 5602,06 UFC gramo⁻¹

Tabla 9. Prueba de Comparación de Medias de Tukey para la profundidad del suelo de Bacterias Oxidadoras de Nitrito (BON), finca El Rincón, Vereda Cruz de Amarillo, 2018.

Profundidad	Medias	Significancia
1	7306,35	A
2	5602,06	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Las mayores densidades poblacionales, para el caso de BOA como de BON, se presentaron en Pastura Tradicional y SSP con árboles dispersos de aliso, en las dos estaciones climáticas evaluadas (invierno y verano). Estos usos de suelo, se caracterizan por tener una alta intervención antropogénica, principalmente la actividad ganadera. En los pastizales se emplean monocultivos para una producción masiva de alimento para ganado, siendo necesario el uso de

fertilizantes químicos NPK y fertilizantes orgánicos como la pollinaza en combinación con la labranza (Murgueitio, 2003).

Sin embargo, en los agroecosistemas como los pastizales, donde la presión por la productividad de los cultivos demanda un uso intensivo de fertilizantes, las tasas de nitrificación, se han incrementado, lo que conlleva a que se presenten una serie de consecuencias como la lixiviación del nitrógeno, contaminación de las aguas y la atmósfera (Liu *et al.*, 2013, Subbarao *et al.*, 2012).

La comunidad microbiana que habita estos ecosistemas, se adapta a la alta oferta de nutrientes, adoptando mecanismos que hace más eficiente la transformación del exceso de N (Liu *et al.*, 2013). Bajo esta condición, se da una rápida conversión de amonio (proveniente de fertilizantes o mineralización de materia orgánica) a NO_3^- (Cui *et al.*, 2011) el cual, es un componente temporal en la solución del suelo, ya que su carga negativa, no le permite ser retenido y se pierde rápidamente por lixiviación, contaminando cuerpos de agua, o es denitrificado (reducido) produciendo óxido nitroso, un gas con efecto invernadero (Reay *et al.*, 2012). Alrededor del 70% de los fertilizantes nitrogenados aplicados en ecosistemas intervenidos, se pierden a través de la nitrificación y procesos asociados.

La conversión rápida de NH_4^+ a NO_3^- en el suelo, limita la efectividad de la mayor parte del N aplicado en forma de fertilizante. Alrededor del 90% de los fertilizantes nitrogenados, se aplican al suelo en forma de NH_4^+ , el cual es en su mayoría nitrificado dentro de cuatro semanas después de la aplicación. Aparte de la volatilización del amoníaco (Grant *et al.*, 1996) la nitrificación se asocia con la mayoría de las principales vías de pérdidas de N, la desnitrificación y la pérdida de NO_3^- por lixiviación. Desde el punto de vista agrícola, mantener el N en la forma de NH_4^+ , tiene la ventaja de extender el tiempo que el N se mantiene en la rizosfera, permitiendo a la planta más tiempo para que pueda absorberlo (Subbarao *et al.*, 2009). Las dos principales rutas de pérdidas de N durante y después del proceso de la nitrificación son emisiones gaseosas como dinitrógeno (N_2), óxidos de N (N_2O , NO), además de la lixiviación de NO_3^- (Canfield *et al.*, 2010).

De acuerdo con los resultados obtenidos, el uso de suelo tres (SSP), obtuvo una presencia y cantidad alta, tanto de BOA como BON, seguramente porque este tipo de SSP a diferencia de los sistemas de producción convencional, se caracterizan por ser altamente diversificados, autosuficientes; contribuyen a generar impactos positivos sobre la calidad del suelo, lo cual, asociado con la alta cobertura arbórea y baja realización de prácticas agropecuarias convencionales de producción como la labranza y la quema, contribuyen a favorecer procesos naturales e interacciones biológicas, que benefician procesos ecosistémicos fundamentales, tales como el ciclaje de nutrientes, el control biológico, el secuestro de C, el mantenimiento de la estructura edáfica, la fertilidad y consecuentemente su productividad (Vallejo, 2012).

Por otra parte, al comparar las poblaciones de BOA y BON en los usos de suelo evaluados, se determinó, que el uso de suelo en bosque, presentó las poblaciones más bajas; los bajos recuentos de bacterias nitrificantes encontrados en esta cobertura, posiblemente pueden relacionarse, a que estos sitios se caracterizan por presentar mayor cantidad de materia orgánica, lo cual, puede inhibir de forma indirecta a las bacterias nitrificantes (Bruns *et al.*, 1999). Este tipo de bacterias, se inhibe por ser quimioautótrofas, las cuales tienen una alta especificidad por la fuente de carbono y energía inorgánica disponible.

En estudios de Brouwer *et al.*, (2006) en bosques frondosos de Falmouth, Massachusetts (E.U), observaron menores tasas de nitrificación, al compararlo con suelos agrícolas, debido posiblemente a una alta concentración de carbono en la hojarasca y de lignina en el material leñoso, siendo la lignina estructuralmente resistente a la descomposición y permitiendo a su vez que en los suelos de bosque no varíe el contenido de carbono.

Igualmente, Verhagen y Laanbroek, (1995) al realizar estudios de competición por amonio entre bacterias heterótrofas y nitrificantes en raíces de plantas, en presencia de altas concentraciones de carbono orgánico, encontraron que los competidores más débiles por amonio eran las nitrificantes y por tales razones, su densidad fue la más baja, concluyendo que las bacterias heterótrofas eran mejores competidoras por presentar mayores tasas de crecimiento.

La menor población de bacterias nitrificantes en bosques, pueden también ser causada por el proceso de alelopatía característico de estas coberturas, en el cual, se liberan compuestos como taninos que influyen en el desarrollo forestal y evitan la pérdida de nitrato del ecosistema (Blanco, 2012). Estudios de Lata *et al.*, (2004), sugirieron que se presentaba una relación directa entre la liberación de compuestos alelopáticos y la inhibición del crecimiento de bacterias nitrificantes en los bosques.

Las BON, presentaron una baja densidad poblacional en el uso de suelo en bosque, lo cual puede estar relacionado principalmente con la baja cantidad de sustrato proveniente de la oxidación de NH_4^+ en esta cobertura, realizada por BOA.

Los resultados reportados en los estudios encontrados en la literatura guardan relación con los obtenidos en las coberturas de Pastura Tradicional y SSP, uso en el cual, se realiza fertilización orgánica con compost de estiércol de ganado y biofertilizantes aplicados por el productor; estos resultados presentaron las mayores densidades de bacterias nitrificantes.

4. CONCLUSIONES

La densidad poblacional de BOA y BON en diferentes profundidades del suelo, se ve afectada por la cobertura vegetal y manejo del mismo. Los mayores valores de UFC gramo^{-1} para los dos grupos biológicos estudiados se presentaron en la pastura compuesta y el sistema silvopastoril con *A. acuminata* y *P. clandestinum*.

En ambos casos, las bacterias nitrificantes (BOA y BON) se encuentran en mayor proporción a una profundidad de 0 a 10 cm, dado que en el suelo superficial está la capa biológicamente más activa del suelo.

En la cobertura de bosque hubo menores densidades de bacterias nitrificantes (BOA y BON), se hizo evidente la sensibilidad de las bacterias a la humedad, poca aireación, y los altos contenidos de materia orgánica

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Balows, A., Truper, H., Dworkin, M., Harder, Win. & Scheleifer, K. (2001). Los procariotas: un manual sobre hábitats, aislamiento e identificación de bacterias. Segunda Edición. New York. USA: Editorial Springer-Verlag. 2302 p.
- Blanco, J. A. (2012). Más allá de los modelos de crecimiento: modelos ecológicos híbridos en el contexto del manejo forestal sostenible. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales, 34: 11-25
- Brouwer, B., Neill, C., & Johnston, C. (2006). Impactos del uso histórico de la tierra en los ciclos de nitrógeno del suelo en Falmouth, MA y la amenaza de la enmienda crónica demostrada en el bosque de Harvard LTER, Petersham, MA.

- Bruns, M. A., Stephen, J. R., Kowalchuk, G. A., Prosser, J. I., & Paul, E. A. (1999). Comparative diversity of ammonia oxidizer 16S rRNA gene sequences in native, tilled, and successional soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(7), 2994-3000.
- Busso, C. A., Briske, D. D., & Olalde-Portugal, V. (2001). Root traits associated with nutrient exploitation following defoliation in three coexisting perennial grasses in a semi-arid savanna. *Oikos*, 93(2), 332-342.
- Canfield, D. E., Glazer, A. N., & Falkowski, P. G. (2010). The evolution and future of Earth's nitrogen cycle. *science*, 330(6001), 192-196.
- Coleman, DC, y Whitman, WB (2005). Vinculación de la riqueza de especies, la biodiversidad y la función de los ecosistemas en los sistemas del suelo. *Pedobiología* , 49 (6), 479-497.
- Colloff, M. J., Wakelin, S. A., Gomez, D., & Rogers, S. L. (2008). Detection of nitrogen cycle genes in soils for measuring the effects of changes in land use and management. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(7), 1637-1645.
- CORPONARIÑO - Corporación Autónoma Regional de Nariño. (2011). Plan de ordenamiento del recurso hídrico quebrada Miraflores. Recuperada de <http://corponarino.gov.co/expedientes/descontaminacion/porhreceoysanjuan.pdf>.
- Cui, M., Sun, X., Hu, C., Di, H. J., Tan, Q., & Zhao, C. (2011). Effective mitigation of nitrate leaching and nitrous oxide emissions in intensive vegetable production systems using a nitrification inhibitor, dicyandiamide. *Journal of Soils and Sediments*, 11(5), 722-730.
- De la Paz-Jimenez, M., de la Horra, A., Pruzzo, L., & Palma, M. R. (2002). Soil quality: a new index based on microbiological and biochemical parameters. *Biology and Fertility of Soils*, 35(4), 302-306.
- Enwall, K., Nyberg, K., Bertilsson, S., Cederlund, H., Stenström, J. & Hallin, S. (2007). Long-term impact of fertilization on activity and composition of bacterial communities and metabolic guilds in agricultural soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(1), 106-115.
- Feng, Y., Motta, A. C., Reeves, D. W., Burmester, C. H., Van Santen, E., & Osborne, J. A. (2003). Soil microbial communities under conventional-till and no-till continuous cotton systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(12), 1693-1703.
- Gallego, J. 2012. Efecto de dos abonos verdes sobre la mineralización del Nitrógeno y la dinámica de bacterias oxidantes del amonio y del nitrito en un ciclo de cultivo de maíz *Zea mays* L. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira, Colombia. 122 p.

- Grant, C. A., Brown, K. R., Bailey, L. D., & Jia, S. (1996). Volatile losses of NH₃ from surface-applied urea and urea ammonium nitrate with and without the urease inhibitors NBPT or ammonium thiosulphate. *Canadian Journal of Soil Science*, 76(3), 417-419.
- Guevara, J.; Zamora, A. L. 2012. Estrategias de mitigación ante el cambio climático en fincas ganaderas altoandinas del Departamento de Nariño. *Revista Unimar*. 30(1), 1-16.
- IDEAM - Instituto De Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales 1997. Caracterización de los Suelos y las Tierras. Recuperada de <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/005192/macizo/pdf/Capitulo4.pdf>
- IDEAM - Instituto De Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, (2016.) Datos abiertos del IDEAM. Promedios de precipitación y temperatura media. Recuperada de <https://www.datos.gov.co/browse?category=Ambiente+y+Desarrollo+Sostenible&q=Instituto%20de%20Hidrolog%C3%ADa%20Meteorolog%C3%ADa%20Estudios%20Ambientales&sortBy=relevance&utf8=%E2%9C%93..>
- IGAC, Instituto Geográfico Agustín Codazzi. (2004). Estudio General de suelos y zonificación de tierras. Recuperada de <https://www.igac.gov.co/es/ide/contenido/2004>.
- Lata, J. C., Degrange, V., Raynaud, X., Maron, P. A., Lensi, R., & Abbadie, L. (2004). Grass populations control nitrification in savanna soils. *Functional Ecology*, 18(4), 605-611.
- Le Roux, X., Poly, F., Currey, P., Commeaux, C., Hai, B., Nicol, G. W. & Klumpp, K. (2008). Effects of aboveground grazing on coupling among nitrifier activity, abundance and community structure. *The ISME journal*, 2(2), 221.
- Liu, C., Wang, K., & Zheng, X. (2013). Effects of nitrification inhibitors (DCD and DMPP) on nitrous oxide emission, crop yield and nitrogen uptake in a wheat–maize cropping system. *Biogeosciences*, 10(4), 2427-2437.
- López, R. (2002). Degradación del suelo causas, procesos, evaluación e investigación. Centro interamericano de desarrollo e investigación ambiental y territorial. Universidad de los andes. Serie: Suelos y Clima SC-75. Mérida, Venezuela.
- Malchair, S., De Boeck, H. J., Lemmens, C. M. H. M., Ceulemans, R., Merckx, R., Nijs, I., & Carnol, M. (2010). Diversity–function relationship of ammonia-oxidizing bacteria in soils among functional groups of grassland species under climate warming. *Applied Soil Ecology*, 44(1), 15-23.
- McNaughton, S. J., Banyikwa, F. F., & McNaughton, M. M. (1997). Promotion of the cycling of diet-enhancing nutrients by African grazers. *Science*, 278(5344), 1798-1800.
- McNeill, A., & Unkovich, M. (2007). The nitrogen cycle in terrestrial ecosystems. In *Nutrient cycling in terrestrial ecosystems* (pp. 37-64). Springer, Berlin, Heidelberg.

- Murgueitio, E. (2003). Impacto ambiental de la ganadería de leche en Colombia y alternativas de solución. *Livestock Research for Rural Development*, 15(10), 1-16.
- Neuza Asakawa. (2013). Laboratorio de Biología del Suelo, CIAT - Centro Internacional de Agricultura Tropical. Colombia. Recuperada de <http://bdigital.unal.edu.co/12725/1/7012006.2013.pdf>
- Pacheco, J., Pat, R., & Cabrera, A. (2002). Análisis del ciclo del nitrógeno en el medio ambiente con relación al agua subterránea y su efecto en los seres vivos. *Revista Académica Universidad Autónoma de Yucatán*. 6 (3).73-81.
- Patra, A. K., Abbadie, L., Clays-Josserand, A., Degrange, V., Grayston, S. J., Guillaumaud, N., & Philippot, L. (2006). Effects of management regime and plant species on the enzyme activity and genetic structure of N-fixing, denitrifying and nitrifying bacterial communities in grassland soils. *Environmental Microbiology*, 8(6), 1005-1016.
- Reay, D. S., Davidson, E. A., Smith, K. A., Smith, P., Melillo, J. M., Dentener, F., & Crutzen, P. J. (2012). Global agriculture and nitrous oxide emissions. *Nature climate change*, 2(6), 410.
- Rodríguez, C., Toro, M., Martínez, M. & Mercado, R. 2007. Estandarización de Condiciones para la Prueba Cuantitativa del NMP con bacterias nitrificantes y desnitrificantes usando Como matriz compost. *Universitas Scientiarum*, 12(2), 69-81.
- Schmidt E. & Belser L. 1994. Nitrifying bacteria. In A. page (Ed). *Methods of soil analysis, part 2. Chemical and microbiological properties*. pp1027- 1042. Wisconsin: American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America. Madison.
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., & de Haan, C. (2009). La larga sombra del ganado problemas ambientales y opciones. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. United Nations Population Fund. . 431 p
- Subbarao, G. V., Nakahara, K., Hurtado, M. D. P., Ono, H., Moreta, D. E., Salcedo, A. F.,... & Yoshida, M. (2009). Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(41), 17302-17307.
- Subbarao, Gv., Sahrawat, Kl., Nakahara, K., Rao, Im., Ishitani, M., Hash, Ct., Lata, Jc. 2012. A paradigm shift towards low- nitrifying production systems: the role of biological nitrification inhibition (BNI) *Annals of Botany*. 12 (2), 297-316. doi:10.1093/aob/mcs230

- Sylvia, D., Fuhrmann, J., Hartel, P. And Zuberer, D. 2005. Principles and applications of soil microbiology. Editorial Pearson Education. New Jersey. USA: Upper Saddle, River. 26p.
- Vallejo, Victoria E, Gómez, María M, Cubillos, Ana M, & Roldán, Fabio. (2011). Efecto del uso de suelo sobre la densidad de bacterias nitrificantes y desnitrificantes en la Ecorregión Cafetera Colombiana. *Agronomía Colombiana*, 29(3), 455-464. Recuperada de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652011000300015&lng=es&tlng=.
- Vallejo, V. 2012. Efecto del establecimiento de sistemas silvopastoriles sobre la comunidad microbiana edáfica (total y de bacterias oxidadoras de amonio) en la Reserva Natural: El Hatico-Valle. Tesis doctoral. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. 239 p.
- Vergara, A. 2013. “Efecto de abonos verdes sobre la dinámica de hongos micorrizógenos (HMA) y bacterias nitrificantes en un ciclo de cultivo de maíz, *Zea mays* L. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia Facultad De Ciencias Agropecuarias, Coordinación General De Posgrados Sede Palmira. 124p.
- Verhagen, F & Laanbroek, H. 1995. Competition for ammonium between nitrifying and heterotrophic bacteria in dual energy – limited chemostats. *Applied and environmental microbiology*. 57(11): 3255-3263.
- UTP-Universidad Tecnológica de Pereira. (2001). Suelos del eje cafetero. Pereira: Proyecto U.T.P.-GTZ, Facultad de Ciencias Ambientales, Cooperación Alemana al Desarrollo. 199p.