

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**INHIBIDORES DE LA NITRIFICACIÓN Y BIOESTIMULANTES: SU EFECTO
EN LA EFICIENCIA DE NITRÓGENO Y MITIGACIÓN DE EMISIONES DE
GASES DE EFECTO INVERNADERO EN TRIGO CANDEAL**

POR

BÁRBARA CONSTANZA FRANCISCA GARCÍA CORREA

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERA AGRÓNOMA.**

**CONCEPCIÓN – CHILE
2025**

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**INHIBIDORES DE LA NITRIFICACIÓN Y BIOESTIMULANTES: SU EFECTO EN
LA EFICIENCIA DE NITRÓGENO Y MITIGACIÓN DE EMISIONES DE
GASES DE EFECTO INVERNADERO EN TRIGO CANDEAL**

POR

BÁRBARA CONSTANZA FRANCISCA GARCÍA CORREA

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERA AGRÓNOMA.**

**CONCEPCIÓN – CHILE
2025**

Aprobada por:

Profesor Asociado, Mauricio Schoebitz C.

Ing. Agrónomo, Dr.

Guía

Investigadora INIA, Dalma Castillo

Ing. Agrónomo, Dra.

Asesora

Profesor Asociado, Nelson Zapata.

Ing Agrónomo, Dr.

Asesor

Profesor Asociado, Guillermo Wells M.

Ing. Agrónomo, Mg. Cs.

Decano

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen.....	¡Error! Marcad or no definido .
Summary.....	2
Introducción.....	2
Materiales y métodos.....	5
Resultados y discusión.....	8
Conclusiones.....	23
Referencias.....	24

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

		Página
Tabla 1	Propiedades químicas iniciales del suelo.....	5
Figura 1	Nitrógeno (N), Nitrato (NO ₃ ⁻) y Amonio (NH ₄ ⁺) en el suelo de plantas de trigo candeal en noviembre	8
Figura 2	pH, Nitrógeno (N), Nitrato (NO ₃ ⁻) y Amonio (NH ₄ ⁺)	9
Figura 3	Nitrógeno (N) foliar en noviembre y diciembre en plantas de trigo bajo los tratamientos.....	9
Figura 4	Concentraciones de Óxido nitroso (N ₂ O) a lo largo.....	10
Figura 5	Concentraciones de Metano (CH ₄) a lo largo.....	10
Figura 6	Rendimiento en quintales por hectárea en trigo.....	11
Figura 7	Diámetro de raíces (D(cm)), densidad de área radicular (RAD (cm ² cm ⁻³)).....	12
Figura 8	Nitrógeno (N), Nitrato (NO ₃ ⁻) y Amonio (NH ₄ ⁺) en el suelo de plantas de trigo candeal en noviembre	12
Figura 9	pH, Nitrógeno (N), Nitrato (NO ₃ ⁻) y Amonio (NH ₄ ⁺)	13
Figura 10	Nitrógeno (N) foliar noviembre y diciembre en trigo bajo los tratamientos.....	13
Figura 11	Concentraciones de Óxido nitroso (N ₂ O) a lo largo.....	14

Figura 12	Concentraciones de Metano (CH_4) a lo largo.....	15
Figura 13	Rendimiento en quintales por hectárea en trigo.....	15
Figura 14	Diámetro de raíces ($D(\text{cm})$), densidad de área radicular ($\text{RAD} (\text{cm}^2 \text{cm}^{-3})$).....	16

BIOESTIMULANTES E INHIBIDORES DE LA NITRIFICACIÓN: SU EFECTO EN LA EFICIENCIA DE NITRÓGENO Y MITIGACIÓN DE EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO EN TRIGO CANDEAL

BIOSTIMULANTS AND NITRIFICATION INHIBITORS: THEIR EFFECT ON NITROGEN USE EFFICIENCY AND GREENHOUSE GAS EMISSION MITIGATION IN DURUM WHEAT

Palabras índice adicionales: Trigo candeal, bioestimulantes, inhibidores de la nitrificación, eficiencia en el uso de nitrógeno, emisiones de gases de efecto invernadero.

RESUMEN

El presente estudio evaluó la eficiencia de uso del nitrógeno (N) en trigo candeal (*Triticum turgidum* var. *durum* L.), en un suelo Andisol de la región de Ñuble, Chile, mediante la aplicación de inhibidores de la nitrificación (IN) basados en 3,4 Dymethyl Psyrazol Phosphate (DMPP), 3,5 Dymethyl Psyrazol Phosphate y bioestimulantes bacterianos basados en bacterias promotoras del crecimiento radicular (PGPR) (*Bacillus safensis* y *Methylobacterium symbioticum*). Fueron siete tratamientos y cuatro repeticiones, monitoreando la dinámica de N mineral en el suelo, las emisiones de óxido nitroso (N₂O) y metano (CH₄), rasgos radiculares por profundidad y el rendimiento. Los resultados mostraron que 3,4 DMPP incrementó transitoriamente Amonio (NH₄⁺) mientras que 3,5 DMPP mostró retención consistente. Ningún inhibidor redujo significativamente N₂O o CH₄ frente a la fertilización convencional, los menores valores totales se observaron en 250 kg/ha de N y el testigo, aunque sin diferencias estadísticas. Los bioestimulantes no modificaron significativamente el N disponible, la absorción o el rendimiento, a pesar, de que *M. symbioticum* haya mostrado tendencias de mayor desarrollo radicular, mientras que *B. safensis* presentó respuestas irregulares. Se concluye que ni inhibidores ni bioestimulantes por si solos mejoran la relación disponibilidad de N y emisiones, ni el rendimiento del trigo candeal.

SUMMARY

The present study evaluated nitrogen (N) use efficiency in durum wheat (*Triticum turgidum* var. *durum* L.) in a silt-loam Andisol soil in the Ñuble region, Chile, through the application of 3,4 Dymethyl Psyrazol Phosphate (DMPP) and 3,5 Dymethyl Psyrazol Phosphate based nitrification inhibitors (IN) and bacterial biostimulants based on plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) (*Bacillus safensis* and *Methylobacterium symbioticum*). There were seven treatments and four replicates, monitoring soil mineral N dynamics, nitrous oxide (N₂O) and methane (CH₄) emissions, root traits by depth, and yield. The results showed that 3,4 DMPP transiently increased NH₄⁺, whereas the 3,5 DMPP showed consistent retention. Neither inhibitor significantly reduced N₂O or CH₄ compared to conventional fertilization; the lowest total values were observed with 250 kg/ha of N and in the control, although without overall statistical differences. The biostimulants did not significantly modify available N, uptake, or yield, despite *M. symbioticum* showing trends toward greater root development, while *B. safensis* displayed irregular responses. It's concluded that, in this Andisol, neither inhibitors nor biostimulants alone improved the relationship between N availability and emissions, nor yield.

INTRODUCCIÓN

El trigo candeal (*Triticum turgidum* var. *durum* L.) es esencial para la industria de pastas por su alto contenido de proteína y vitreosidad (Farías, 2019). En Chile se cultiva principalmente en la zona centro-sur y centro norte, aproximadamente 23 mil ha al año en la temporada 2022 - 2023, con un 90% de su superficie utilizada por variedades desarrolladas por el Programa de Mejoramiento Genético de Trigo del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA); entre ellas, Queule-INIA que destaca por altos valores en contenido proteico, peso del hectolitro y vitreosidad, sin embargo, un rendimiento levemente inferior a otras, en la Región de Ñuble el promedio de rendimiento del trigo candeal es 52 qq/ha para 2022 - 2023 (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, 2023; Castillo *et al.*, 2016). En este cultivo, la disponibilidad de nitrógeno (N) es un factor decisivo para el rendimiento y calidad del grano, además, la parcialización de la fertilización entre siembra y macolla suele

mejorar la eficiencia y el contenido proteico (Hirzel *et al.*, 2010). No obstante, el manejo de la fertilización con N tiene implicancias ambientales. La agricultura contribuye a las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), tales como, óxido nitroso (N_2O) y metano (CH_4), siendo de los GEI más relevantes en los procesos relacionados con el cambio climático, teniendo una incidencia sobre este de 310 y 28 veces más, respectivamente, que el GEI más conocido en este ámbito, el CO_2 (IPCC, 2014). En la última década, las concentraciones atmosféricas de CH_4 y N_2O se han situado entre las más altas registradas, impulsadas por emisiones antropogénicas; su acumulación responde al desbalance entre fuentes (incluida la agricultura) y sumideros terrestres y oceánicos, lo que intensifica el efecto invernadero (IPCC, 2014; Canadell *et al.*, 2021). Desde 1750 a 2019, el CH_4 aumentó 156% y alcanzó 1866,3 partes por billón (ppb), pese a su vida media relativamente corta (~9,1 años), con un aumento significativo desde 2007 asociado principalmente al uso de combustibles fósiles y actividades agrícolas (Jackson *et al.*, 2020; Canadell *et al.*, 2021). En paralelo, el N_2O posee un tiempo de permanencia en la atmosfera de 116 años y se incrementó un 40%, desde 1980 y 2020, llegando a los 331 ppb en 2018, aumentado de manera sostenida, sobre todo por la aplicación intensiva de fertilizantes nitrogenados, principal fuente de este GEI, ya que, cuando parte del N aplicado no es aprovechado por los cultivos se puede llegar a convertir en N_2O (Canadell, *et al.*, 2021; Tian *et al.*, 2020; Tian *et al.*, 2024).

En sistemas agrícolas del sur de Chile, se ha observado que, a mayor dosis de fertilización nitrogenada, mayores emisiones de GEI emanan desde el suelo del cultivo (Alfaro *et al.*, 2024). Este patrón sucede en las zonas de agricultura intensiva, tales como, las de trigo candeal, mostrando concentraciones elevadas de N_2O , tendencia que se mantendrá mientras la producción de alimentos dependa de altos insumos de N (Canadell *et al.*, 2021). La mayor disponibilidad de N mineral intensifica las tasas microbianas de nitrificación y desnitrificación, elevando la liberación de N_2O (Hui *et al.*, 2024; Dlamini *et al.*, 2022). La magnitud de estas emisiones está modulada por factores edáficos —materia orgánica, textura, pH y humedad— que regulan estas transformaciones y, por ende, las emisiones de N_2O (Wang *et al.*, 2017). En conjunto, la evidencia vincula dosis crecientes de N con

mayores flujos de N_2O , modulados por el ambiente edáfico, lo que justifica evaluar estrategias de manejo que optimicen el uso de N y mitiguen emisiones en cereales del sur de Chile. La estrategia debe optimizar la aplicación de fertilizantes nitrogenados, promoviendo una agricultura sostenible con el medio ambiente sin comprometer el rendimiento del cultivo (Bhupenchandra *et al.*, 2022). En el presente estudio, se analizaron dos estrategias bajo la premisa descrita.

La primera estrategia consta de inhibidores de la nitrificación (IN), los cuales actúan bajo el mecanismo 3,4-Dimethyl Pyrazol Phosphate (DMPP), y 3,5 DMPP. Estos poseen un efecto bacteriostático sobre el género *Nitrosomonas*, impidiendo que estas bacterias que convierten el NH_4^+ en nitrito (NO_2), y por ende ocurra la nitrificación. Este mecanismo mantiene una fase activa de cuatro a diez semanas (Zerulla *et al.*, 2001), modulado por temperatura, contenido de materia orgánica (MO), textura y pH del suelo (Cui *et al.*, 2021). La evidencia muestra que el DMPP reduce significativamente el N_2O sin afectar la oxidación de CH_4 del suelo (Zhu *et al.*, 2019).

La segunda estrategia corresponde a los bioestimulantes, que incluyen bacterias promotoras de crecimiento (PGPR), que pueden ser una alternativa ecológica eficaz para reducir la aplicación de fertilizantes (Alvarez *et al.*, 2024), capaces de estimular procesos naturales como la fijación del N y la regulación hormonal, mejorando las condiciones del cultivo, con potenciales beneficios sobre absorción de nutrientes y productividad (Hamid *et al.*, 2021). En trigo candeal se ha demostrado el uso de bacterias bioestimulantes, aumentando el rendimiento y la cantidad de proteínas del grano, siendo una opción para la producción sostenible (Picheraux *et al.*, 2019; Ibarra-Villarreal *et al.*, 2023). Entre las cepas evaluadas destacan *Bacillus safensis*, asociada a la absorción de nutrientes, producción de fitohormonas y tolerancia a estrés abiótico (Hamid *et al.*, 2021), y *Methylobacterium symbioticum*, bacteria aislada por Pascual *et al.* (2020), con evidencia de fijación biológica de N y mejoras fisiológicas que podrían sostener rendimientos con un 25% menos de fertilización nitrogenada (Torres *et al.*, 2024; Pascual *et al.*, 2020)

A pesar de los avances, falta evidencia sobre IN DMPP y bioestimulantes bacterianos en Andisoles, por lo tanto, el objetivo fue evaluar el uso eficiente del N

en trigo candeal mediante dos mecanismos que mitigan las emisiones de GEI. El primer mecanismo basado en inhibidores de la nitrificación DMPP y el segundo basado en bioestimulantes PGPR.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y caracterización del sitio experimental

El experimento se llevó a cabo en el Campo Experimental Santa Rosa de INIA, ubicado en la región de Ñuble (36°32'S,71°54'W), en un clima mediterráneo, sobre un suelo de la serie Diguillín, de origen volcánico de orden Andisol, textura franco-limosa y clasificado como: Typic Haploxerands (Soil Survey Staff 2014; Stolpe 2006).

Tabla1. Propiedades químicas iniciales del suelo (profundidad 0 – 30 cm): Materia orgánica, pH, Nitrógeno disponible (N disponible), Fósforo Olsen (P Olsen) y Potasio disponible (K disponible).

Materia orgánica	pH	N disponible	P Olsen	K disponible
11,3 %	5,2	49 mg kg ⁻¹	7 mg kg ⁻¹	137 mg kg ⁻¹

Caracterización de los inhibidores de nitrificación y bioestimulantes.

Inhibidores de nitrificación. NovaTec Solub 21 (Compo Expert): Fertilizante hidrosoluble que aporta nitrógeno amoniacal, azufre y 3,4-Dimetil 1H-Pirazol Fosfato (3,4 DMPP) para fertirriego; Summit Ready (Summit Agro): Fertilizante hidrosoluble que aporta nitrógeno, fósforo y 3,5 DMPP para fertirriego.

Bioestimulantes. BlueN (Symborg): Compuesto de *Methylobacterium symbioticum* SB23; Bioestimulante del laboratorio de suelos UdeC: Compuesto de *Bacillus safensis*.

Establecimiento del experimento

Se utilizó trigo candeal var. Queule-INIA, que posee alta vitreosidad (97,3) en dosis de 220 kg/ha de semilla certificada, sembrado el nueve de septiembre con XX además de una adición de 590 g de mezcla base de un microblend (Vitra) a cada parcela, por otro lado, en macolla y encañado se fertilizó con 93 g de urea y 68 g de urea, dependiendo de la dosis de N del tratamiento, 250 unidades de nitrógeno (UN)

y 188 UN respectivamente. Las parcelas fueron de 2,8 m de ancho y 3 m de largo (8,4 m²), dispuestas en un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones. Riego por aspersión en macolla y antesis. Herbicida adicionado: Bacará (0.8 L/ha) en siembra. Fungicida adicionado: MiraviS aeon.

Tratamientos y Diseño Experimental

Se evaluaron dos experimentos, el primer experimento incluyó una dosis reducida de N, una dosis convencional de N y dos inhibidores de la nitrificación. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones cada uno (cuatro bloques): 250 N: 250 UN/ha (dosis habitual de N), 188 N: 188 UN/ha (25% menos de la dosis habitual de N), 3,4 DMPP + 188 N: 188 UN/ha + el inhibidor de nitrificación 3,4 DMPP, 3,5 DMPP + 188 N: 188 kg N/ha + el inhibidor de nitrificación 3,5 DMPP.

En el segundo experimento se incluyó una dosis reducida de N, una dosis convencional de N y dos bioestimulantes. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones cada uno (cuatro bloques): 250 N: 250 UN/ha (dosis habitual de N), 188 N: 188 UN/ha (25% menos de la dosis habitual de N), *M. symbioticum* + 188 N: 188 UN/ha + el bioestimulante de *M. symbioticum* marca Symborg (BlueN), *B. safensis* + 188 N: 188 UN/ha + el bioestimulante de *B. safensis*.

Evaluaciones

Gases de Efecto Invernadero (GEI). El método de medición fue a través del uso de cámaras estáticas cerradas descritas por Saggari *et al.* (2004). La colecta de los gases acumulados se almacenó en viales de vidrio sellados al vacío de 22 ml. El muestreo se realizó a los 0, 30, 40 min en cada parcela una vez a la semana además de cada vez que se aplicó fertilización nitrogenada y cada vez que hubo un evento de pluviometría desde el 10 de septiembre hasta el 07 de diciembre del 2022. El procedimiento que se empleó para este análisis de gases fue, a través, de un cromatógrafo (Perkin Elmer Precisely, modelo Clarus 600, Shelton, EE. UU.), el cual se utilizó para la cuantificación de CH₄ y N₂O a los 20, 40 y 60 segundos (Michigan State University, Kahmark, Millar, & Robertson, 2020).

Determinación de biomasa radicular. Se realizó un muestreo en cada parcela a diferentes profundidades, se recolectaron muestras de suelo en el estado fenológico de macolla con raíces de 0 - 20 cm, 20 - 40 cm, 40 - 60 cm, a través de un tubo muestreador hidráulico montado en un tractor de 3,5 de diámetro, hasta una profundidad de 60 cm. Luego se separaron las raíces de las muestras de suelo y se lavaron para eliminar el suelo adherido (Qin *et al.* 2019). Los parámetros que se eligieron para la medición fueron según longitud, diámetro, área y volumen de raíces en estas profundidades, se determinaron utilizando un sistema computarizado de análisis de imágenes WinRhizo (Regent instruments Inc., Quebec, Canadá), considerando el tubo extractor de muestras y centímetros de profundidad. (Wang *et al.*, 2021) La densidad de longitud radicular (RLD, cm cm^{-3}) fue calculada según la definición clásica de Newman (1966) y Van Noordwijk and Van de Geijn (1996), definida como la longitud total de raíces por unidad de volumen de suelo.

Determinación de contenido de N. Se tomaron muestras de biomasa aérea del trigo para todos los tratamientos, en 0,5 m lineales (0,1 m^2). Los muestreos se realizaron en los estados de crecimiento según escala de Zadoks (1979): Vaina engrosada (Z4.1), Espigado (Z5.9). Se midió el contenido de N mediante el método de digestión Kjeldahl.

Determinación del N en el suelo. Se aplicó una modificación del método de incubación "*in situ*" de Raison *et al.* (1987), instalando tubos de PVC enterrados entre las hileras de trigo (cinco por unidad experimental, uno muestreado en cada fecha). Las muestras se tomaron en los estados fenológicos de vaina engrosada (Z4.1) y grano lechoso (Z7.5), y el N mineral se determinó por extracción con KCl 2N 1:10 y autoanalizador a inyección de flujo segmentado (SKALAR, SA 4000, Breda, The Netherlands).

Evaluación de Rendimiento. Para la medición de rendimiento se cosecharon las semillas de las parcelas el 25 de enero de 2023, se calculó mediante el pesaje de semillas recolectadas de un metro lineal en la fila central de cada parcela, comprendiendo una superficie de 2 m^2 . Para la cosecha, se utilizó un equipo automotriz (Winterseiger). Componentes de rendimiento: Se determinó el número de espigas por metro cuadrado, el número de granos por espiga y el peso de 1000

semillas, para estas dos últimas se determinaron en 25 espigas tomadas al azar.

Análisis Estadístico

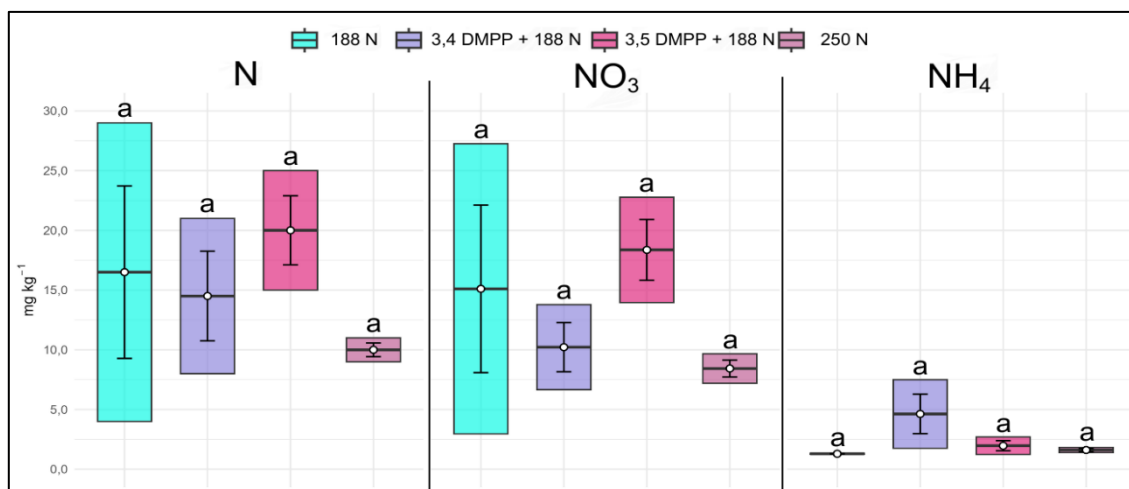
Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y un análisis no paramétrico (Friedman). Los resultados con un valor P menor de 0,05 se consideraron estadísticamente significativos. La comparación de medias se determinó con la prueba LSD de Fisher y Conover-Holm, respectivamente. Para el análisis estadístico se utilizó el programa R, así como, para visualización de datos. Para la verificación de los supuestos de normalidad y homogeneidad se aplicaron las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene/Bartlett con significancia del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de los tratamientos con Inhibidores de nitrificación

Se realizaron distintos análisis de contenido de N, emisiones de GEI, rendimiento de grano y variables morfológicas radiculares para evaluar el uso de los IN.

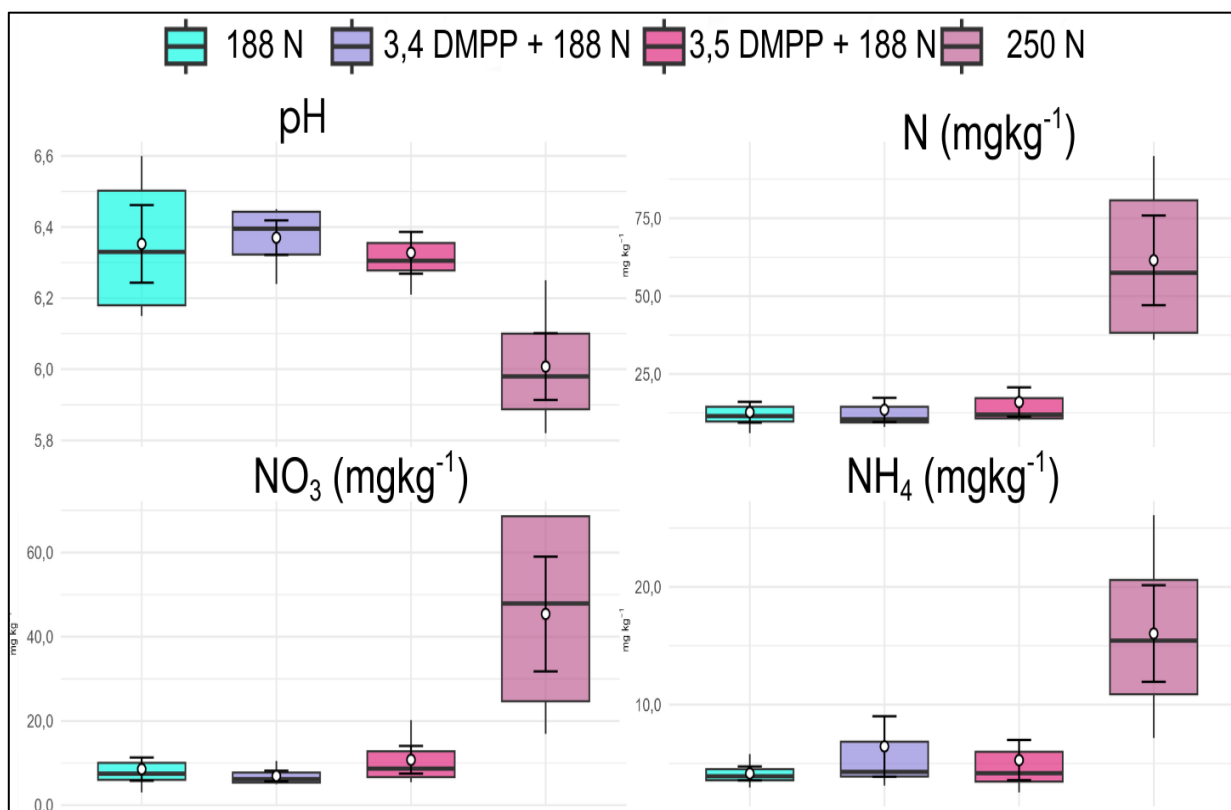
Figura 1. Nitrógeno (N), Nitrato (NO_3^-) y Amonio (NH_4^+) en el suelo de plantas de trigo candeal en noviembre bajo tratamientos «188 N», «3,4 DMPP + 188 N», «3,5 DMPP + 188 N» y «250 N».



La prueba de Friedman no evidenció diferencias entre tratamientos para ninguna de las variables ($P > 0,05$). No se realizaron comparaciones *post-hoc*; en las figuras se muestran medias \pm Error Estándar (EE). Muestras tomadas el cuatro de noviembre. En las concentraciones de N, los tratamientos más altos son 3,5 DMPP + 188 N, y 188 N, respectivamente. En cambio, en las concentraciones de NH_4^+ el

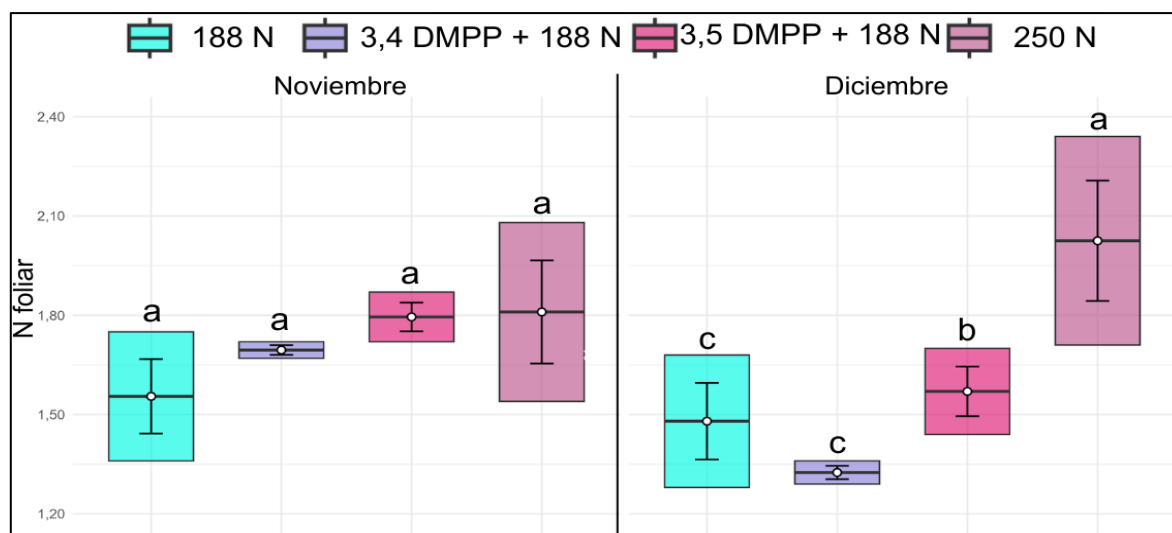
más alto es 3,4 DMPP + 188 N, en las concentraciones de NO_3^- el tratamiento más alto es 3,5 DMPP + 188 N y luego 188 N.

Figura 2. pH, Nitrógeno (N), Nitrato (NO_3^-) y Amonio (NH_4^+) en el suelo de plantas de trigo candeal en diciembre bajo tratamientos «188 N», «3,4 DMPP + 188 N», «3,5 DMPP + 188 N» y «250 N».



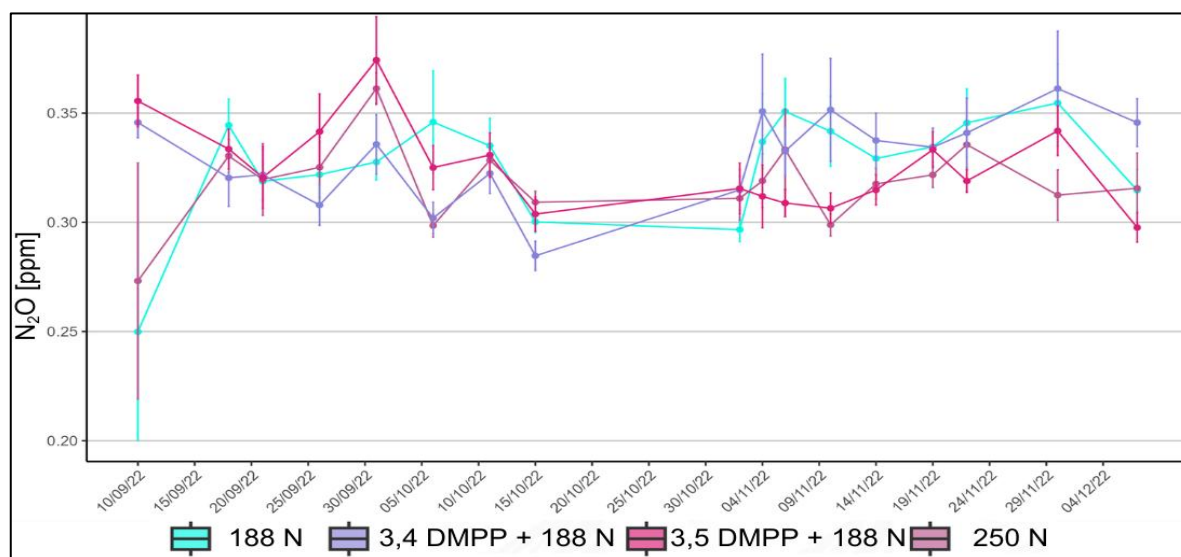
La prueba de Friedman no evidenció diferencias entre tratamientos para ninguna de las variables ($P > 0,05$). No se realizaron comparaciones *post-hoc*; en las figuras se muestran medias \pm EE, todos los tratamientos llevan “a”. Muestras tomadas el veintitrés de diciembre. 250 N muestra la mayor concentración en N, NH_4^+ y NO_3^- . Por otro lado, el pH, indica que los tratamientos están en un pH parcialmente neutro, a diferencia de el pH inicial ácido. Esto indica que no hubo interferencia en la absorción de N por el pH del suelo.

Figura 3. Nitrógeno (N) foliar en noviembre y diciembre en plantas de trigo bajo los tratamientos «188 N», «3,4 DMPP + 188 N», «3,5 DMPP + 188 N» y «250 N».



La prueba de Friedman ($P < 0,05$) no fue significativa para noviembre ($P = 0,66$), pero si para diciembre ($P = 0,013$). Muestras tomadas el siete de noviembre y uno de diciembre. El orden de rangos medios fue: $250\text{ N} > 3,5\text{ DMPP} + 188\text{ N} > 188\text{ N} = 3,4\text{ DMPP} + 188\text{ N}$. En las figuras se muestran medias \pm EE; las letras corresponden a Conover–Holm sobre los rangos de Friedman.

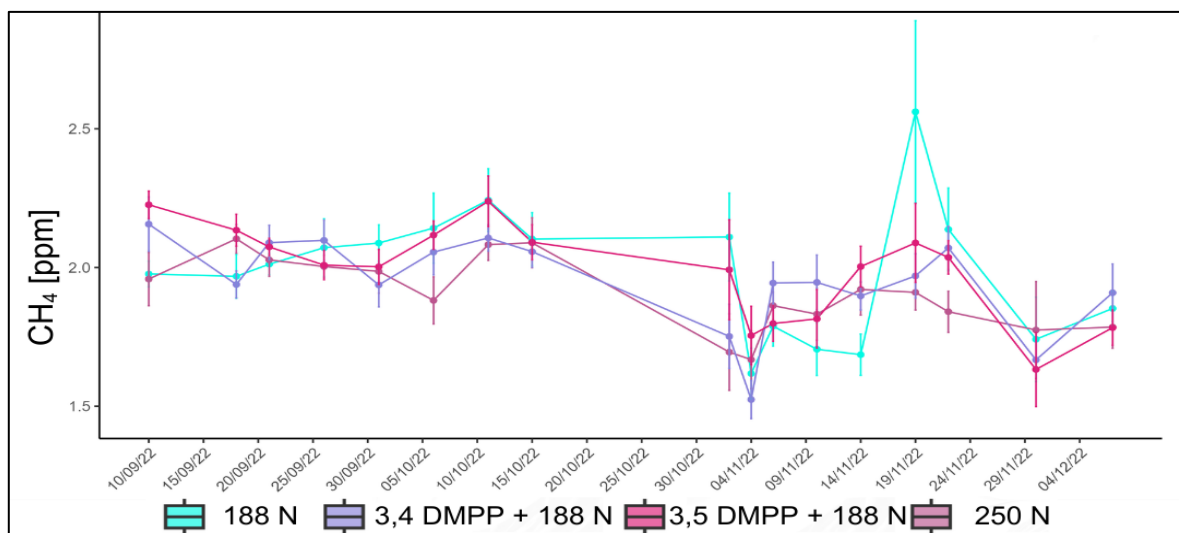
Figura 4. Concentraciones de Óxido nítrico (N_2O) a lo largo del cultivo en plantas de trigo candeal bajo los tratamientos «188 N», «3,4 DMPP + 188 N», «3,5 DMPP + 188 N» y «250 N».



En las concentraciones de N_2O se observa que entre tratamientos se presentan

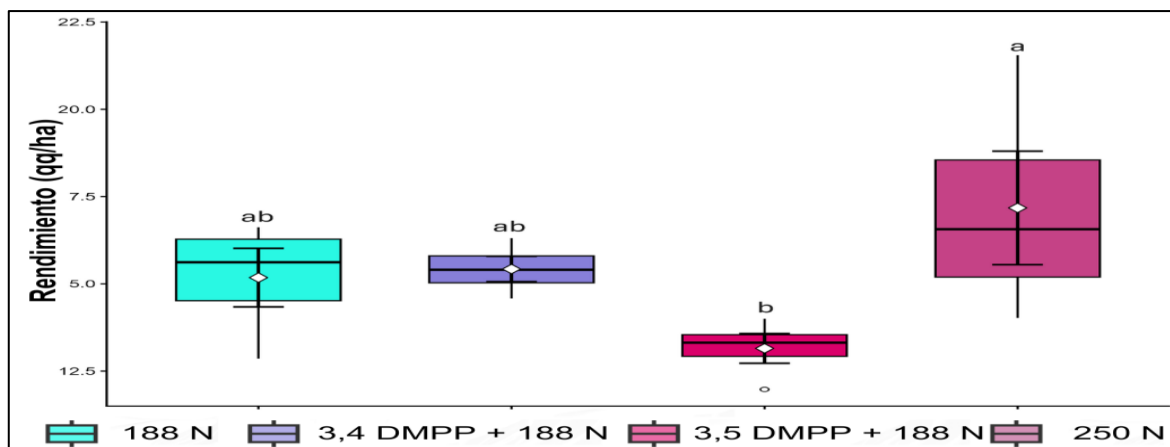
fluctuaciones similares en el tiempo, estas oscilan entre 0,2 y 0,5 ppm. La prueba de Friedman ($P < 0,05$) fue significativa estas fechas: 10/09/22 ($P = 0,029$), 15/10/22 ($P = 0,02$), 10/11/22 ($P = 0,005$), 30/11/22 ($P = 0,032$) y 07/12/22 ($P = 0,002$), en las figuras se muestran medias \pm EE. El *post-hoc* Conover-Holm mostró diferencias para esas fechas, por lo tanto, el orden de rangos medios fue: 10/09/22: 3,4 DMPP + 188 N (a) > 250 N (b) > 188 N (b) > 3,5 DMPP + 188 N (c), 15/10/22: 3,5 DMPP + 188 N (a) > 3,4 DMPP + 188 N (b) > 250 N (c) > 188 N (d), 10/11/22: 188 N (a) > 3,4 DMPP + 188 N (a) > 3,5 DMPP + 188 N (b) > 250 N (b), 30/11/22: 250 N (a) > 188 N (ab) > 3,5 DMPP + 188 N (ab) > 3,4 DMPP + 188 N (b) y 07/12/22: 188 N (a) > 3,4 DMPP + 188 N (ab) > 3,5 DMPP + 188 N (ab) > 250 N (b).

Figura 5. Concentraciones de Metano (CH_4) a lo largo del cultivo de trigo bajo los tratamientos «188 N», «3,4 DMPP + 188 N», «3,5 DMPP + 188 N» y «250 N».



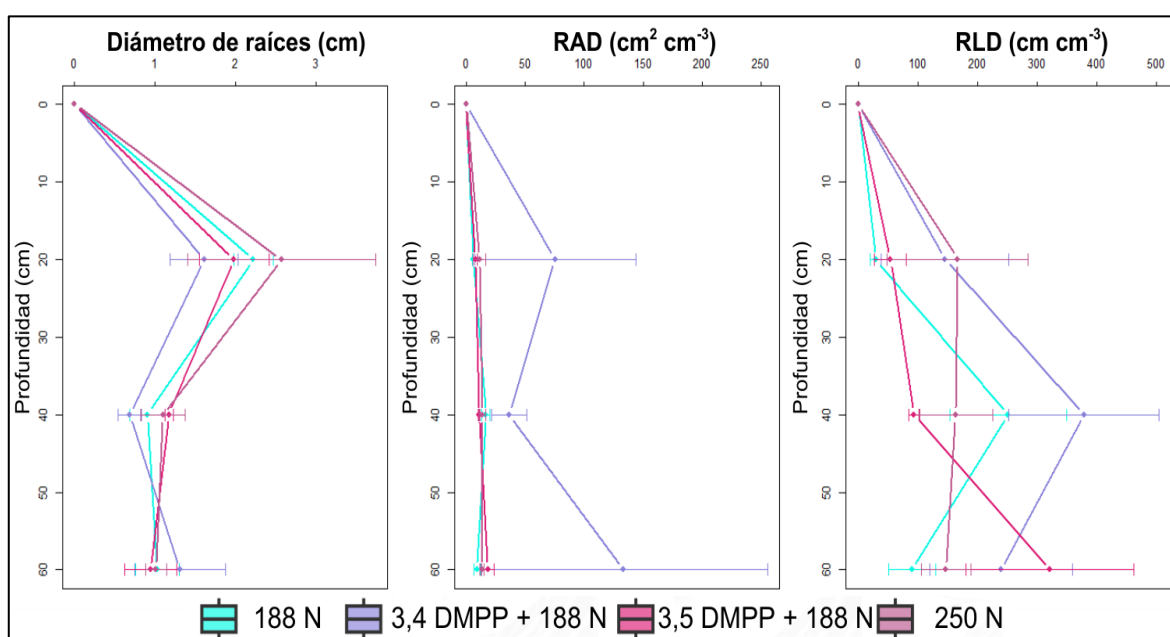
En las concentraciones de CH_4 se observa que entre tratamientos hay fluctuaciones muy similares en el tiempo, las concentraciones oscilan entre 1,5 y 2,9 ppm. La prueba de Friedman ($P < 0,05$) fue significativa para estas fechas: 10/11/22 ($P = 0,029$) y 14/11/22 ($P = 0,002$), en la figura se muestran medias \pm EE. El *post-hoc* Conover-Holm mostró diferencias significativas, por lo tanto, el orden de rangos medios fue: 3,4 DMPP + 188 N (a) > 3,5 DMPP + 188 N (ab) > 250 N (ab) > 188 N (b) y 3,5 DMPP + 188 N (a) > 3,4 DMPP + 188 N, respectivamente. No existe evidencia de que las emisiones de CH_4 respondan al inhibidor de nitrificación.

Figura 6. Rendimiento en quintales por hectárea en trigo bajo los tratamientos «188 N», «3,4 DMPP + 188 N», «3,5 DMPP + 188 N» y «250 N».



La prueba de LSD-Fisher fue significativa ($P = 0,049$), en las figuras se muestran medias \pm EE, el orden de promedios fue: 250 N (a) > 3,4 DMPP + 188 N (ab) > 188 N (ab) > 3,5 DMPP + 188 N (b). En forma descriptiva, la adición de inhibidores no incrementó el rendimiento respecto de 188 N, ya que, 250 N es el más alto, lo que reafirma que el factor de adición de fertilizante nitrogenado es el más relevante para el rendimiento, es más, 3,5 DMPP + 188 N produjo el menor rendimiento.

Figura 7. Diámetro de raíces (D(cm)), densidad de área radicular (RAD ($\text{cm}^2 \text{cm}^{-3}$)) y densidad de longitud radicular (RLD (cm cm^{-3})) en trigo bajo tratamientos. «188 N», «3,4 DMPP + 188 N», «3,5 DMPP + 188 N» y «250 N» a profundidades.

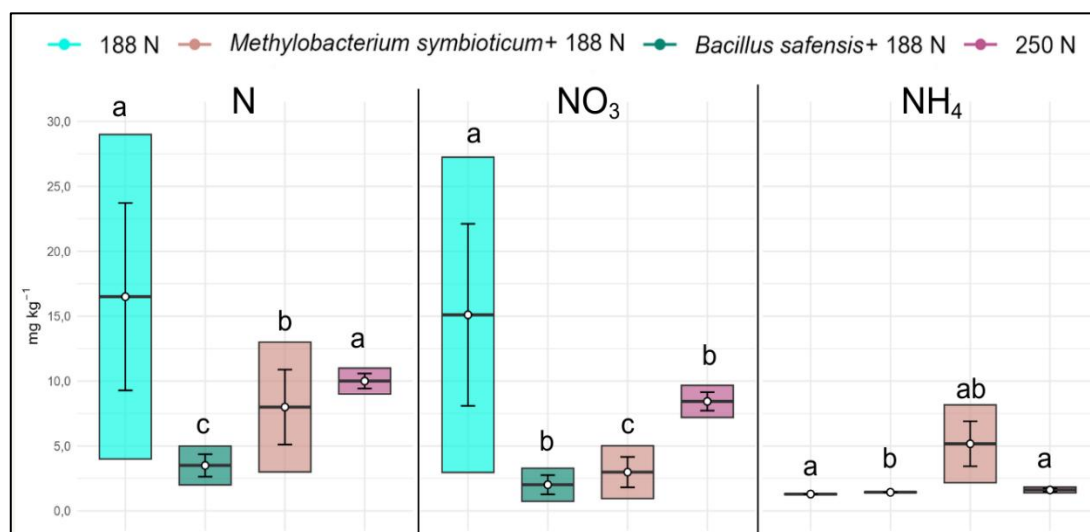


La prueba de Friedman no evidenció diferencias entre tratamientos para ninguna de las variables ($P > 0,05$). No se realizaron comparaciones *post-hoc*; en las figuras se muestran medias \pm EE, todos los tratamientos llevan “a”. En forma descriptiva, 3,4 DMPP + 188 N genera un sistema “profundo”. A partir de 40 cm la densidad de longitud de raíces (RLD) y, sobre todo, su densidad de área de raíces (RAD) se duplican o triplican respecto de los otros tratamientos. En conjunto, las diferencias son descriptivas y no alcanzaron significancia.

Análisis de tratamientos con Bioestimulantes

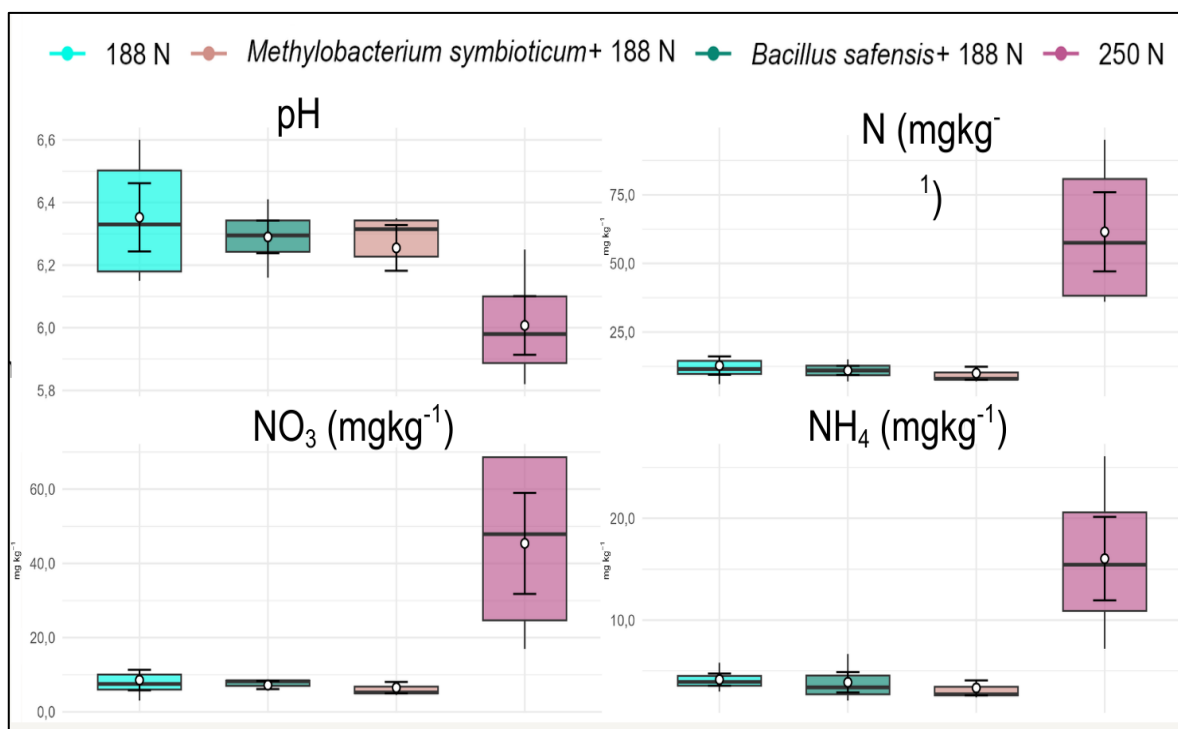
Se realizaron análisis de contenido de N, emisiones de GEI, rendimiento de grano y variables morfológicas radiculares para evaluar el uso de los bioestimulantes.

Figura 8. Nitrógeno (N), Nitrato (NO_3^-) y Amonio (NH_4^+) en el suelo de plantas de trigo candeal en noviembre bajo tratamientos «188 N», «*B. safensis* + 188 N», «*M. symbioticum* + 188 N» y «250 N».



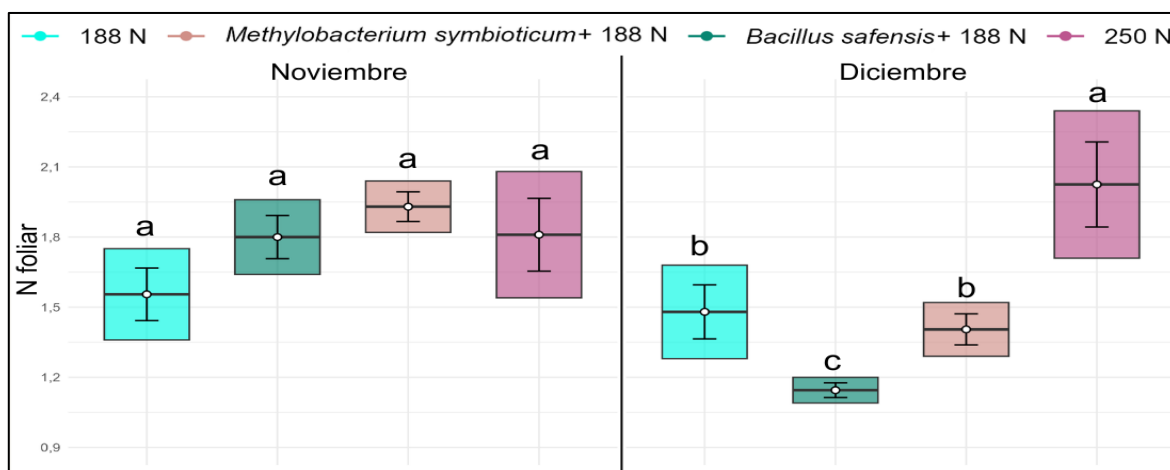
La prueba de Friedman fue significativa para N ($P = 0,038$), NH_4^+ ($P = 0,0128$) y NO_3^- ($P = 0,0128$). Muestras tomadas el cuatro de noviembre. El orden de rangos medios para N fue: 188 N (a) > 250 N (a) > *M. symbioticum* + 188 N (b) > *B. safensis* + 188 N (c), para NH_4^+ fue: *M. symbioticum* + 188 N (ab) > 250 N (a) > *B. safensis* (b) > 188 N (a), para NO_3^- fue: 188 N (a) > 250 N (b) > *M. symbioticum* (c) > *B. safensis* (b). La figura muestra las medias \pm EE; las letras corresponden a la prueba Conover–Holm sobre los rangos de Friedman.

Figura 9. pH, Nitrógeno (N), Nitrato (NO_3^-) y Amonio (NH_4^+) en el suelo de plantas de trigo candeal en diciembre bajo tratamientos «188 N», «*B. safensis* + 188 N», «*M. symbioticum* + 188 N» y «250 N».



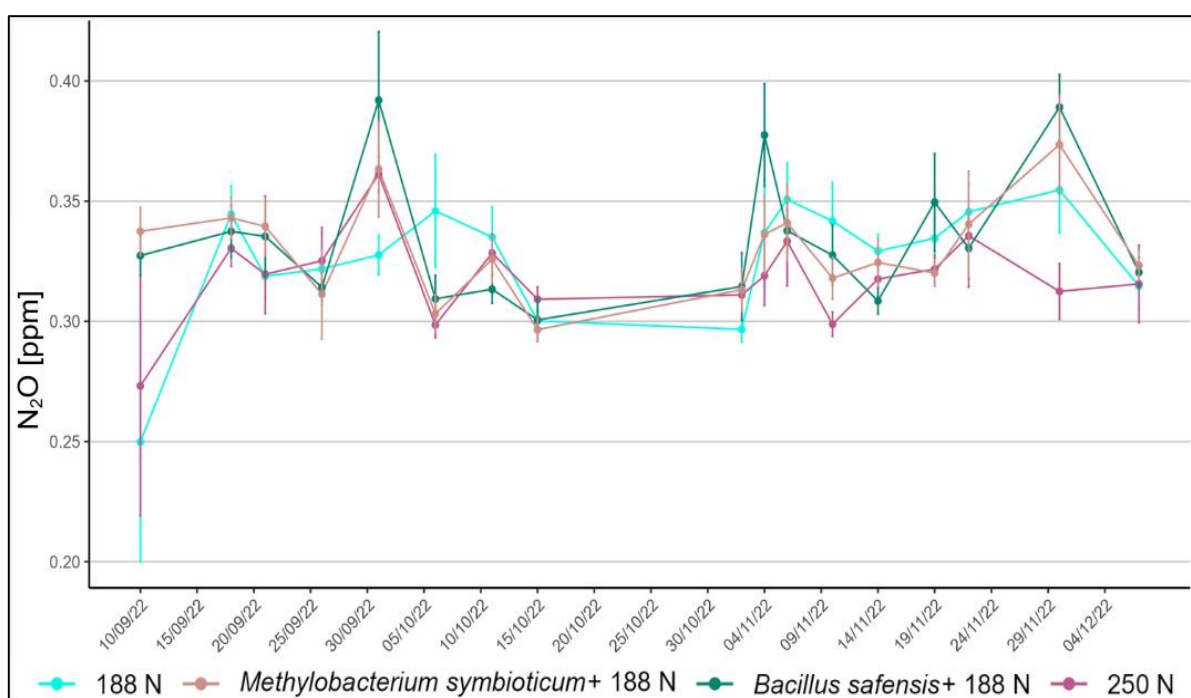
La prueba de Friedman resultó significativa solo para NH_4^+ ($P = 0,044$; Kendall's $W = 0,675$). Muestras tomadas el veintitrés de diciembre. Sin embargo, la prueba Conover con ajuste de Holm no detectó diferencias puntuales entre tratamientos. En las figuras se muestran medias \pm EE.

Figura 10. Nitrógeno (N) foliar noviembre y diciembre en plantas de trigo bajo los tratamientos «188 N», «*B. safensis* + 188 N», «*M. symbioticum* + 188 N» y «250 N».



La prueba de Friedman ($P < 0,05$) no fue significativa para noviembre ($P = 0,07$). Muestras tomadas el siete de noviembre y uno de diciembre. No se realizaron comparaciones *post-hoc*. La prueba de Friedman fue significativa para diciembre ($P = 0,013$). El orden de rangos medios fue: 250 N (a) > 188 N = *M. symbioticum* + 188 N (b) > *B. safensis* + 188 N (c). En las figuras se muestran medias \pm EE; las letras corresponden a Conover–Holm sobre los rangos de Friedman.

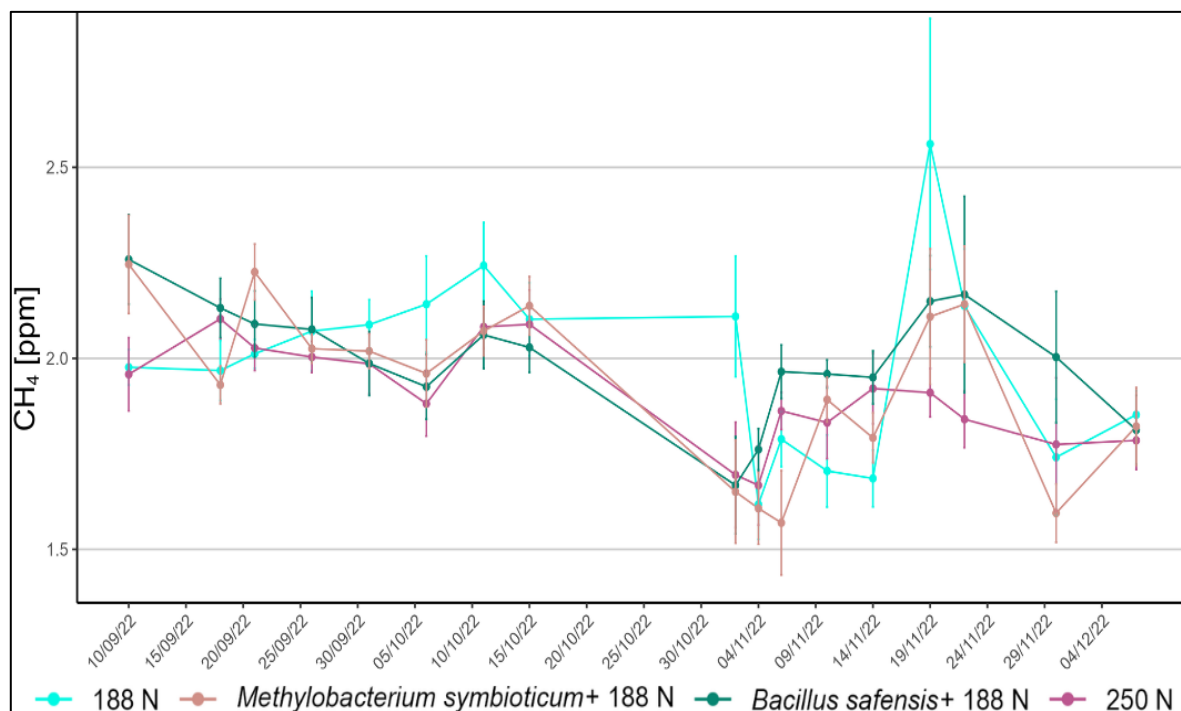
Figura 11. Concentraciones de Óxido nitroso (N_2O) a lo largo del cultivo en plantas de trigo candeal bajo los tratamientos «188 N», «*B. safensis* + 188 N», «*M. symbioticum* + 188 N» y «250 N».



En las concentraciones de N_2O se presentan fluctuaciones muy similares entre tratamientos, las concentraciones oscilan entre 0,26 y 0,53 ppm. La prueba de Friedman ($P < 0,05$) fue significativa para algunas fechas, tales como, 01/10/22 ($P = 0,02$), 10/11/22 ($P = 0,019$) y 30/11/22 ($P = 0,003$). En las figuras se muestran medias \pm EE. El *post-hoc* Conover-Holm mostró diferencias, por lo tanto, el orden de rangos medios fue: 01/10/22: *B. safensis* + 188 N (a) > 250 N (a) > *M. symbioticum* + 188 N (ab) > 188 N (b), 10/11/22: 188 N (a) > *M. symbioticum* + 188 N (ab) > *B. safensis* + 188 N (ab) > 250 N (b) y 30/11/22: *B. safensis* + 188 N (a) > *M. symbioticum* + 188 N (ab) > 188 N (b) > 250 N (c). No se evidenció un patrón que

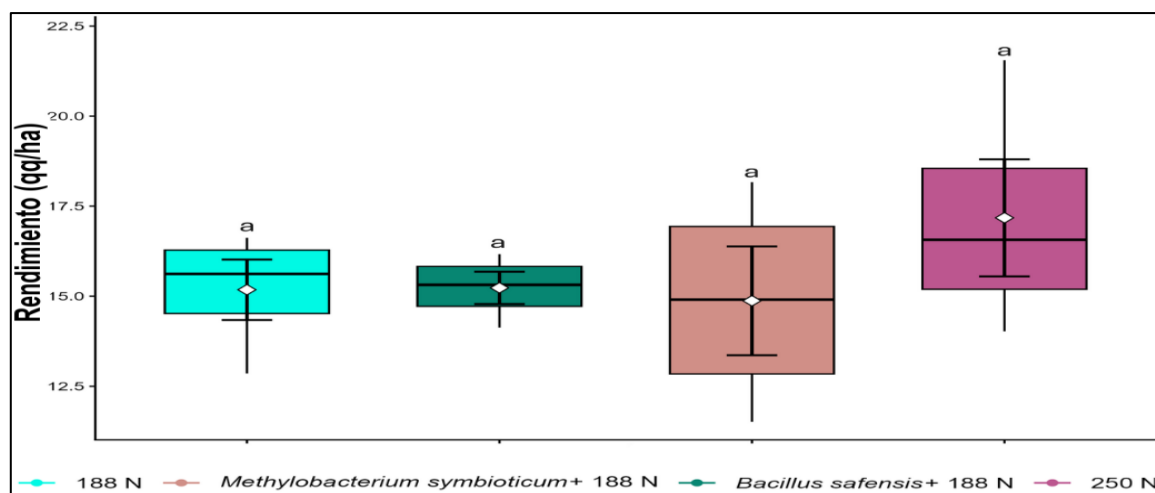
indique reducción de N_2O por uso de bioestimulantes bajo estas condiciones.

Figura 12. Concentraciones de Metano (CH_4) a lo largo del cultivo de trigo bajo los tratamientos «188 N», «*B. safensis* + 188 N», «*M. symbioticum* + 188 N» y «250 N».



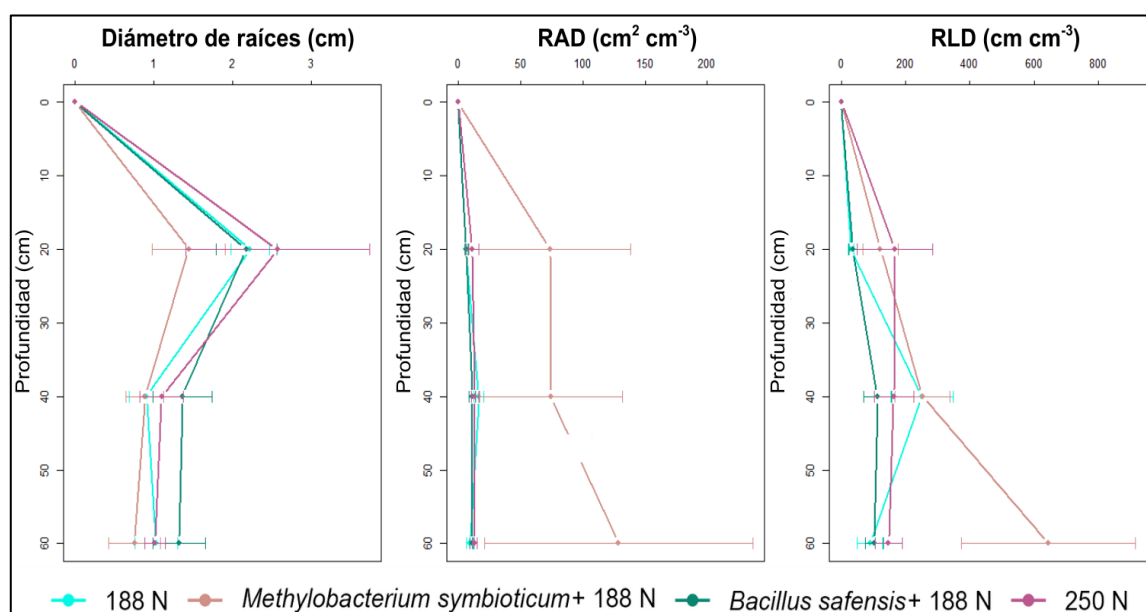
En las concentraciones de CH_4 se observa que entre los tratamientos se presentan fluctuaciones similares, estas oscilan entre 1 y 4 ppm. La prueba de Friedman ($P < 0,05$) fue significativa para estas fechas: 10/09/22 ($P = 0,03$); 15/10/22 ($P = 0,02$); 10/11/22 ($P = 0,01$); 30/11/22 ($P = 0,03$) y 07/12/22 ($P = 0,002$), en la figura se muestran medias \pm EE. El *post-hoc* Conover-Holm detectó diferencias entre tratamientos, por lo tanto, el orden de rangos medios para esas fechas fue: 02/11/22: 188 N (a) > *M. symbioticum* + 188 N (ab) > 250 N (b) > *B. safensis* + 188 N (b); 06/11/22: *B. safensis* + 188 N (a) > 250 N (ab) > 188 N (b) > *M. symbioticum* + 188 N (b) y 14/11/22: 250 N = *B. safensis* + 188 N (a) > *M. symbioticum* + 188 N (ab) > 188 N (b). No se evidenció un patrón de CH_4 asociado los bioestimulantes.

Figura 13. Rendimiento en quintales por hectárea en plantas de trigo bajo los tratamientos «188 N», «*B. safensis* + 188 N», «*M. symbioticum* + 188 N» y «250 N».



La prueba de LSD-Fisher ($P = 0,478$) no fue significativa, en las figuras se muestran medias \pm EE, el orden de las medias fue: $250\text{ N} \geq B. safensis + 188\text{ N} \geq 188\text{ N} \geq M. symbioticum + 188\text{ N}$. En forma descriptiva, la incorporación de bioestimulantes no incrementó el rendimiento respecto de 188 N, ya que, 250 N es el valor más alto, es más, *M. symbioticum* + 188 N produjo un rendimiento menor respecto de 188 N, de todas maneras, las diferencias observadas no alcanzaron significancia estadística.

Figura 14. Diámetro de raíces (D(cm)), densidad de área radicular (RAD ($\text{cm}^2\text{ cm}^{-3}$)) y densidad de longitud radicular (RLD (cm cm^{-3})) en trigo bajo tratamientos. «188 N», «*B. safensis* + 188 N», «*M. symbioticum* + 188 N» «250 N» a profundidades.



La prueba de Friedman no evidenció diferencias entre tratamientos para ninguna de las variables ($P > 0,05$). No se realizaron comparaciones *post-hoc*; en la figura se muestran medias \pm EE. Descriptivamente, *M. symbioticum* + 188 N presentó RAD elevada en todo el perfil con EE alto y diámetro decreciente con la profundidad; *B. safensis* + 188 N mostró RLD y RAD bajas y diámetro relativamente alto a lo largo del perfil; 250 N tendió a D y RLD mayores en 0–20 cm con descenso en profundidad y RAD baja; y 188 N se mantuvo en valores intermedios. Sirve como referencia para ver que las bacterias podrían presentar una arquitectura más profunda de raíces con *M. symbioticum*, y raíces más gruesas con *B. safensis*.

Eficacia de los inhibidores de nitrificación DMPP

El rendimiento del cultivo de trigo aumenta a medida que aumenta la aplicación de N, a pesar de que su respuesta depende del suelo y del manejo. Hirzel *et al.* (2021) estudiaron suelos andisoles del sur de Chile (Chillán, Temuco y Osorno), y observaron que la corrección de acidez permitió sostener altos rendimientos de trigo, destacando que el estado químico del Andisol condiciona la eficiencia del N y el potencial productivo. En el presente estudio, el pH se mantuvo sobre 6 en todos los tratamientos, por lo que no sería un factor que afecte el rendimiento. Asimismo, Torabian *et al.* (2023) realizaron un ensayo de inhibidores de la nitrificación en suelo franco arenoso de pH 6,3 y observaron que los tratamientos con tasas de 100% N, 85% N, 85% + inhibidor presentaron valores similares de rendimiento en trigo primavera, siendo 225 kg de N/ha la tasa de 100% N, indicando que pudo ocurrir un exceso en la aplicación de fertilizante nitrogenado, también observaron que los inhibidores no produjeron un efecto significativo en el contenido de N del suelo, se presume que puede deberse a las condiciones ambientales y de riego frecuente del estudio. De Silva *et al.* (2018) destacaron que en suelo andisol la acumulación de N entre el encañamiento e inicios de antesis es fundamental para sostener altos rendimientos y un uso eficiente de N, incluso se demuestra que las aplicaciones en antesis son principalmente para la proteína del grano, sin incrementar el rendimiento, ya que, la mayor parte del N del grano proviene del asimilado antes de la antesis. En este estudio el mayor rendimiento fue el tratamiento 250 N, el cual

tuvo la acumulación de N mineral más alta en el suelo, y el N foliar más alto en diciembre *i.e.* etapa de espigado, esto explicaría en parte por qué el mayor rendimiento fue con tratamiento 250 N, ya que, los tratamientos con inhibidores mostraron una acumulación de N en el suelo considerablemente menor de N mineral. A su vez los tratamientos con inhibidores tuvieron una baja acumulación de N foliar durante el espigado, por lo tanto, no alcanzaron la misma acumulación de N que 250 N en el momento clave, por eso no superaron en rendimiento.

Lei *et al.* (2022) realizaron un análisis de estudios entre 2010 y 2021 para comprobar si los inhibidores de la nitrificación funcionan inhibiendo las bacterias oxidantes de amoníaco, en ello, concluyeron que la temperatura del suelo es un factor determinante en los DMPP, comprobando que cualquier temperatura por sobre los 15 °C disminuye su efecto ya que, su descomposición por parte de los microorganismos del suelo sería más rápida. Además, determinaron que el aumento de concentración de NH_4^+ por los inhibidores DMPP a 15 °C fue 56 veces mayor que a 25 °C, ya que, la molécula DMPP permanece mayor tiempo a 15 °C. Inclusive DMPP puede mantenerse activo en el suelo durante una semana, un mes y más de tres meses cuando la temperatura del suelo es de 30, 20 y 10 °C, respectivamente. En este estudio las temperaturas del suelo se mantuvieron en menores o iguales a 15 °C hasta mediados de noviembre, luego incrementaron manteniéndose en un rango de entre 17 – 20 °C.

Por otra parte, en el mes de noviembre las concentraciones de NH_4^+ más alta se presentó en el tratamiento 3,4 DMPP + 188 N, seguido por 3,5 DMPP + 188 N y finalmente 250 N. Mientras que el tratamiento 188 N presentó la más baja.

En el mes de diciembre en cambio, el único tratamiento con una concentración alta de NH_4^+ fue el de 250 N. Estos datos permiten inferir que los inhibidores de nitrificación no cumplieron su función debido a la alta temperatura del suelo luego del 15 de noviembre.

Respecto a las emisiones de GEI se ha demostrado que la adición de inhibidores de la nitrificación suele ser efectiva para disminuir emisiones de N_2O . Vistoso *et al.*, (2012) realizaron un estudio para ver el comportamiento de los inhibidores del N en pradera en un suelo Andisol en INIA Remehue Osorno, Chile. Demostraron que se

pueden reducir las emisiones de N_2O provocadas por la fertilización con urea, hasta en un 29% si se le adhiere un inhibidor de la nitrificación y/o inhibidor de la ureasa al fertilizante. Incluso los tratamientos que redujeron mayormente las emisiones de N_2O acumuladas fueron los que utilizaron ambos inhibidores.

En cambio, en el presente estudio, la acumulación de emisiones más bajas fueron en el tratamiento 250 N (32,81 ppm), de todas maneras, no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos. Al comparar la emisión del tratamiento 3,5 DMPP + 188 N y 188 N, se observó que el primero fue levemente inferior que el segundo, con 33,20 ppm y 33,62 ppm, respectivamente. Esto permite inferir que la acción de los IN no se cumplió, debido a eventos de lluvia y temperaturas de suelo muy altas, es decir, por sobre los 15 °C.

Subbarao *et al.* (2006) los IN son menos eficaces en suelos de textura gruesa, alto contenido de M.O., y altas temperaturas. Friedl *et al.*, (2020) comparó el DMPP en un suelo arenoso y uno franco, demostró que DMPP redujo significativamente la emisión de N_2O en suelo arenoso, pero no tuvo efecto en las emisiones de N_2O del suelo franco, esto podría explicar por qué el DMPP de este estudio de suelo franco no tuvo reducción, ni diferencias significativas. Cui *et al.* (2021) hizo un estudio sobre los efectos de los inhibidores de nitrificación en tres suelos con distinto pH, en donde DMPP fue eficiente en suelos arcillosos con pH alcalino y bajo contenido de M.O. en cambio, diciandiamida (DCD) fue eficaz en suelos francos con pH neutro y mayor contenido de M.O.

Las emisiones de CH_4 no se vieron afectadas significativamente, al igual que en N_2O . Han *et al.*, (2016) hicieron un análisis sobre los inhibidores DCD y DMPP y el N, demostraron que al igual que en este estudio las emisiones de CH_4 no tuvieron diferencias significativas entre los tratamientos con DMPP. En cambio, en otro estudio Lin *et al.*, (2022) obtuvo una disminución de CH_4 a mayor tasa de aplicación de inhibidores DMPP y DCD. Sin embargo, la causa de la disminución la atribuyeron a un aumento de NH_4^+ del suelo, que probablemente fue utilizado por los organismos metanotrofos del suelo en vez de CH_4 . En el presente estudio las concentraciones de NH_4^+ en diciembre en el tratamiento 250 N fueron las más altas entre tratamientos, esto podría explicar porque el tratamiento 250 N fue el que obtuvo

menores emisiones de CH₄, debido a la mayor adición de fertilizante.

Impacto de los bioestimulantes bacterianos

M. symbioticum demostró no tener un efecto significativo en el rendimiento, ni en un mayor N absorbido por la planta. Valente *et al.* (2024) realizaron un estudio de *M. symbioticum* en trigo, con dosis reducidas de 180 y 130 kg N/ha, correspondientes al 100 y 75 % de N adicionado, respectivamente, en un suelo franco-arenoso, determinaron que el rendimiento y otros parámetros productivos no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, ni una tendencia específica, a pesar de que se observaron mejoras en índices de vegetación reafirmando la bacteria como PGPR, este estudio propone que podría existir un beneficio significativo por parte de la bacteria con una fertilización de N reducida del 25% o 50%, ya que, si bien no presentó diferencias significativas en el rendimiento, el rendimiento de 75% N + bacteria redujo 6% del rendimiento respecto al de control (100% N), en cambio, 100% N + bacteria redujo en un 7% el rendimiento vs. control. Además 75% N + bacteria fue el único que mejoró parámetros fotosintéticos respecto del control.

En este estudio tampoco hubo un efecto significativo por parte de la bacteria en el rendimiento, por lo tanto, esta bacteria fijadora de N no muestra influencia en los parámetros de rendimiento del trigo candeal. Por otra parte, Torres Vera *et al.*, (2024) proponen que la bacteria *M. symbioticum* mantuvo el rendimiento de maíz y fresa en tratamientos con dosis reducidas de N, producto de la asimilación de NO₃⁻, a través, de la fijación de N. Sus resultados sugieren que el tratamiento con *M. symbioticum* podría aportar el N faltante a una fertilización con el 50% del N convencional en maíz, además de aumentar el 21% del rendimiento. En los resultados de este estudio las fertilizaciones fueron de 250 N y 188 N, como 100 y 75 % N adicionado convencionalmente, respectivamente, por lo tanto, se puede sugerir que la reducción no fue la suficiente para los beneficios de la bacteria, es decir, *M. symbioticum* puede beneficiar mayormente a la planta en condiciones de estrés nutricional. Falta mayor investigación para examinar los potenciales efectos de *M. symbioticum* en *T. turgidum* en estas condiciones ambientales.

B. safensis también indicó no tener mayor efecto en el rendimiento, ni en un mayor N absorbido por la planta. Hamid, *et al.* (2021) mostró que *B. safensis*

aumentó las concentraciones de nutrientes en la planta, aumentando el rendimiento. Chakraborty *et al.*, (2018) realizaron un estudio de seis variedades de *T. aestivum*, en donde aplicaron la bacteria *B. safensis* aislada de uno de los cultivares de trigo, esta promovió el crecimiento de los seis cultivares de trigo, tales como, biomasa de raíces y brotes. En otro estudio de *B. safensis* en *Stevia rebaudiana* por Prakash *et al.* (2022) se observaron propiedades bioestimulantes de *B. safensis*, es decir, aumentó parámetros de crecimiento, incluso características de biocontrol. *B. safensis* presenta dificultad para lograr un rendimiento consistente, se presume que puede ser debido a que los factores abióticos y bióticos son variables. Según Breedt *et al.* (2017) y Breedt *et al.* (2025) la bacteria *B. safensis* aplicada individualmente no mejoraría de manera significativa el cultivo del trigo, sin embargo, esta bacteria aplicada junto con otros aislados microbianos supera de manera considerable el rendimiento del trigo, con disminución de aplicaciones de N. Se sugiere que utilizar una mezcla de aislados de PGPR sería mucho más adecuado o significativo que individualmente. De igual manera, al igual que para *M. symbioticum* en algunos estudios, tales como, Sheirdil *et al.* (2019), el uso de bioestimulantes PGPR, específicamente *B. safensis* la dosis de fertilizante N influyó en el rendimiento, es decir, en los tratamientos con 100% de N + bacteria el rendimiento fue incluso menor que para 50% N + bacteria, siendo 100 kg N ha⁻¹ la dosis de 100% de N.

Se sugiere que para la aplicación de *M. symbioticum* y *B. safensis* la reducción de la dosis de N no fue suficiente, por lo que, estas bacterias bioestimulantes actúan como mitigadoras de estrés nutricional, y *T. turgidum* se puede ver beneficiado con estos bioestimulantes con menores dosis de N. Falta recurrir a mayor investigación para examinar los potenciales efectos de *M. symbioticum* y *B. safensis* en *T. turgidum* en las condiciones edafoclimáticas del centro- sur de Chile.

Respuesta morfológica del sistema radicular

Rojas *et al.* (2020) realizaron un estudio en trigo candeal que reporta que la co-inoculación de cepas de *Bacillus* promovió aumentos significativos en variables morfométricas radiculares como longitud y área, mientras que la inoculación individual no generó mejoras y en algunos casos resultó negativa, sugiriendo que el

efecto positivo proviene de la interacción en consorcio. Ronquillo *et al.* (2024) evaluaron el uso de *M. symbioticum* en arroz, y aunque no encontraron diferencias en longitud de raíces ni en el crecimiento vegetativo, sí observaron mejoras en productividad y eficiencia de asimilación de nutrientes, indicando que el impacto sobre parámetros radiculares puede ser limitado o depender de condiciones específicas del cultivo. En este estudio, los resultados no mostraron diferencias significativas entre tratamientos respecto de los parámetros radiculares, sin embargo, sugieren una tendencia respecto de la modificación de la estructura radicular por bioestimulantes, como *M. symbioticum* presentó los valores más altos de RAD y, salvo en los primeros 20 cm, también de RLD, en contraste, *B. safensis* no mostró incrementos relevantes, lo que coincide con lo descrito en la literatura sobre la variabilidad de la respuesta bajo inoculaciones individuales. Finalmente, el tratamiento 250 N tendió a superar a los tratamientos con bioestimulantes lo que sugiere que, los bioestimulantes evaluados no lograron un efecto significativo en longitud, área y diámetro radicular.

Aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros radiculares, se apreciaron tendencias contrastantes entre tratamientos con IN. Mousavi Shalmani *et al.* (2017) y Zaman *et al.* (2022) encontraron que en ciertos genotipos de trigo se desarrollaron sistemas radiculares más profundos y eficientes en la absorción de NH_4^+ , lo que mejoró su rendimiento, además al mantener el NH_4^+ disponible en la rizosfera mediante IN como DMPP, las raíces incrementan la liberación de compuestos, favoreciendo la absorción de nutrientes, mejorando la eficiencia en el uso de N. En este estudio, el tratamiento 3,4 DMPP + 188 N presentó una tendencia hacia un sistema radicular más profundo y con mayor exploración en estratos subsuperficiales, mientras que 3,5 DMPP + 188 N no solo obtuvo el rendimiento más bajo, sino también valores reducidos de RAD y RLD, lo que demuestra una menor eficiencia en el desarrollo radicular.

CONCLUSIONES

Los inhibidores de nitrificación 3,4-DMPP y 3,5-DMPP no lograron mantener NH_4^+ , ni redujeron $\text{N}_2\text{O}/\text{CH}_4$ de forma consistente; 3,4-DMPP solo elevó NH_4^+

transitoriamente (noviembre) y el efecto se disipó con mayor temperatura, mientras 3,5-DMPP no retuvo NH_4^+ y se asoció a menor rendimiento. Los bioestimulantes (*B. safensis*, *M. symbioticum*) no mostraron efectos significativos en N mineral, ni en mayor absorción de N, ni rendimiento; en raíces, no cambiaron la estructura radicular, sin embargo, *M. symbioticum* + 188 N presentó una tendencia a mayores valores de RAD y RLD en comparación con *B. safensis* + 188 N. 3,4 DMPP + 188 N tendió a generar un sistema radicular más profundo y con mayor exploración subsuperficial, mientras que 3,5 DMPP + 188 N obtuvo valores bajos en RAD y RLD.

En este contexto ambiental y edáfico, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos con inhibidores de nitrificación, bioestimulantes y fertilización convencional en GEI; el tratamiento que obtuvo el mayor balance entre rendimiento y emisiones fue 250 N. En estas condiciones, los resultados sugieren que el efecto positivo de bioestimulantes e inhibidores de nitrificación podría tener mayor efecto bajo condiciones de mayor estrés nutricional, suelos más pobres en M.O. y en combinación con otros aislados microbianos. Lo que indica la necesidad de explorar el uso de bioestimulantes en consorcio con reducciones más drásticas de fertilización nitrogenada, y los inhibidores en condiciones ambientales de suelos alcalinos, con menor M.O. y levemente más fríos.

REFERENCIAS

1. Alfaro, M., Hube, S., Salazar, F., Beltrán, I., Ramírez, L., and Saggar, S. (2024). Optimising Nitrogen Fertilisation in a Potato–Oat Rotation and Implications for Nitrous Oxide Emissions in Volcanic Soils. *Agronomy*, 14(10). <https://doi.org/10.3390/agronomy14102202>
2. Alvarez, I.Z., Ahmed, M., McSorley, G. *et al.* An overview of biostimulant activity and plant responses under abiotic and biotic stress conditions. *Syst Microbiol and Biomanuf* 4, 39–55 (2024). <https://doi.org/10.1007/s43393-023-00182-3>
3. Breedt, G., Korsten, L., and Jarishma Keriuscia Gokul. (2025). Enhancing multi-season wheat yield through plant growth-promoting rhizobacteria using consortium and individual isolate applications. *Folia Microbiologica*. <https://doi.org/10.1007/s12223-025-01245-9>

4. Breedts, G., Labuschagne, N., and Coutinho, T. A. (2017). Seed treatment with selected plant growth-promoting rhizobacteria increases maize yield in the field. *Annals of Applied Biology*, 171(2), 229–236. <https://doi.org/10.1111/aab.12366>.
5. Bhupenchandra, I., Chongtham, S. K., Devi, E. L., Ramesh, R., Choudhary, A. K., Salam, M. D., Sahoo, M. R., Bhutia, T. L., Devi, S. H., Thounaojam, A. S., Behera, C., Harish, M. N., Kumar, A., Dasgupta, M., Devi, Y. P., Singh, D., Bhagowati, S., Devi, C. P., Singh, H. R., and Khaba, C. I. (2022). Role of biostimulants in mitigating the effects of climate change on crop performance. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.967665>.
6. Canadell, J.G., P.M.S. Monteiro, M.H. Costa, L. Cotrim da Cunha, P.M. Cox, A.V. Eliseev, S. Henson, M. Ishii, S. Jaccard, C. Koven, A. Lohila, P.K. Patra, S. Piao, J. Rogelj, S. Syampungani, S. Zaehle, and K. Zickfeld, 2021: Global Carbon and other Biogeochemical Cycles and Feedbacks. In *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, pp. 673–816, doi: 10.1017/9781009157896.007.
7. Castillo R., Dalma; Alfaro J., Christian; Madariaga B., Ricardo; Matus T., Iván; Hirzel C., Juan; Vera P., Carola. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (Chile). 2016. Manual de buenas prácticas para el manejo del trigo candeal Instituto de Investigaciones Agropecuarias (Chile). Quilamapu. <https://bibliotecadigital.ciren.cl/handle/20.500.13082/29312>
8. Chakraborty, U., Chakraborty, B. N., Dey, P., and Chakraborty, A. P. (2018). *Bacillus safensis* from wheat rhizosphere promotes growth and ameliorates salinity stress in wheat. *Indian Journal of Biotechnology*, 17(3), 466–479. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/328871668_Bacillus_safensis_from_wheat_rhizosphere_promotes_growth_and_ameliorates_salinity_stress_in_wheat
9. COMPO EXPERT. (2025, June 20). *NovaTec® Solub 21*. COMPO EXPERT. <https://www.compo-expert.com/es-CL/productos/novatec-solub-21>
10. Cui, L., Li, D., Wu, Z., Xue, Y., Xiao, F., Zhang, L., ... Cui, Y. (2021). Effects of Nitrification Inhibitors on Soil Nitrification and Ammonia Volatilization in Three Soils with Different pH. *Agronomy*, 11(8), 1674. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081674>

11. De silva, S. H. N. P., Takahashi, T., and Okada, K. (2018). Controlling yield and grain protein content of wheat in Japan through pre-anthesis nitrogen application to maximize producers' profit. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 52(3), 205–217. <https://doi.org/10.6090/jarq.52.205>
12. Dlamini, J. C., Cardenas, L. M., Tesfamariam, E. H., Dunn, R. M., Evans, J., Hawkins, J. M. B., Blackwell, M. S. A., and Collins, A. L. (2022). Soil N₂O and CH₄ emissions from fodder maize production with and without riparian buffer strips of differing vegetation. *Plant and Soil*, 477(297 - 318). <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05426-0>
13. Farías Pérez, C., Fernández Barros, G., y Espinoza Hernández, Á. (2019). *El rol indicador del valor del trigo candeal en el funcionamiento del mercado y coordinación de la cadena*. www.odepa.gob.cl
14. Friedl, J., Scheer, C., Rowlings, D. W., Deltedesco, E., Gorfer, M., De Rosa, D., Grace, P. R., Müller, C., and Keiblinger, K. M. (2020). Effect of the nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) on N-turnover, the N₂O reductase-gene nosZ and N₂O:N₂ partitioning from agricultural soils. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59249-z>
15. Hamid, B., Zaman, M., Farooq, S., Fatima, S., Sayyed, R. Z., Baba, Z. A., Sheikh, T. A., Reddy, M. S., El Enshasy, H., Gafur, A., and Suriani, N. L. (2021). Bacterial Plant Biostimulants: A Sustainable Way towards Improving Growth, Productivity, and Health of Crops. *Sustainability*, 13(5), 2856. <https://doi.org/10.3390/su13052856>
16. Han, Y., Fang, Y., D, S., and Shi, Y. (2016). Efficiency of two nitrification inhibitors (dicyandiamide and 3, 4-dimethylpyrazole phosphate) on soil nitrogen transformations and plant productivity: a meta-analysis. *Scientific Reports*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/srep22075>
17. Hirzel C, J. (2010). Manejo de la Fertilización y nutrición. Chillan: Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Vol. no. 208. p. 35-44 <https://hdl.handle.net/20.500.14001/7360>
18. Hirzel, J., Meier, S., Morales, A., Undurraga, P., and Salazar, F. (2021). Soil chemical properties and wheat production in three Andisol with applications of

- materials from the cellulose industry. *Revista Brasileira de Ciência Do Solo*, 45. <https://doi.org/10.36783/18069657rbcS20200193>
19. Hui, D., Ray, A., Kasrija, L., and Christian, J. (2024). Impacts of Climate Change and Agricultural Practices on Nitrogen Processes, Genes, and Soil Nitrous Oxide Emissions: A Quantitative Review of Meta-Analyses. *Agriculture*, 14(2), 240. <https://doi.org/10.3390/agriculture14020240>
 20. Ibarra-Villarreal, A. L., Villarreal-Delgado, M. F., Parra-Cota, F. I., Yopez, E. A., Guzmán, C., Gutierrez-Coronado, M. A., ... De Los Santos-Villalobos, S. (2023). Effect of a native bacterial consortium on growth, yield, and grain quality of durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*) under different nitrogen rates in the Yaqui Valley, Mexico. *PLANT SIGNALING and BEHAVIOR*, 18(1). <https://doi.org/10.1080/15592324.2023.2219837>
 21. IPCC (2014) Cambio climático 2014: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de Trabajo I, II y III al quinto informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático. Retrieved from https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/02/SYR_AR5_FINAL_full_es.pdf
 22. Jackson, R. B., Saunio, M., Bousquet, P., Canadell, J. G., Poulter, B., Stavert, A. R., Bergamaschi, P., Niwa, Y., Segers, A., and Tsuruta, A. (2020). Increasing anthropogenic methane emissions arise equally from agricultural and fossil fuel sources. In *Environmental Research Letters* 15(7). Institute of Physics Publishing. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab9ed2>
 23. Lei, J., Fan, Q., Yu, J., Ma, Y., Yin, J., and Liu, R. (2022). A meta-analysis to examine whether nitrification inhibitors work through selectively inhibiting ammonia-oxidizing bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.962146>
 24. Lin, Y.-P., Ansari, A., Thanh Ngoc-Dan Cao, Shiao, Y.-J., Hsu-Sheng Lur, Muzaffar, A., ... Mukhtar, H. (2022). Using inhibitors to trade greenhouse gas emission for ammonia losses in paddy soil: A zero-sum game. *Environmental Technology and Innovation*, 28, 102547–102547. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102547>

25. Michigan State University, Kahmark, K., Millar, N., & Robertson, P. (2020). Greenhouse Gas Fluxes - Static Chamber Method. Retrieved from Msu.edu website: <https://lter.kbs.msu.edu/protocols/113>
26. Mousavi Shalmani, M. A., Lakzian, A., Khorassani, R., Khavazi, K., and Zaman, M. (2017). Interaction of Different Wheat Genotypes and Nitrification Inhibitor 3,4-Dimethylpyrazole Phosphate Using¹⁵N Isotope Tracing Techniques. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 48(11), 1247–1258. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1261888>
27. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (Odepa). (2023). *Boletín de Cereales diciembre 2023* (pp. 6–8).
28. Pascual, JA, Ros, M., Martínez, J. *et al.* *Methylobacterium symbioticum* sp. nov., a new species isolated from spores of *Glomus iranicum* var. *tenuihypharum* . *Curr Microbiol* 77, 2031–2041 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02101-4>
29. Pichereaux, C., Laurent, E. A., Gargaros, A., Viudes, S., Durieu, C., Lamaze, T., Grieu, P., and Burlet-Schiltz, O. (2019). Analysis of durum wheat proteome changes under marine and fungal biostimulant treatments using large-scale quantitative proteomics: A useful dataset of durum wheat proteins. *Journal of Proteomics*, 200, 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.03.003>
30. Prakash, J., Egamberdieva, D., and Arora, N. K. (2022). A Novel *Bacillus safensis*-Based Formulation along with Mycorrhiza Inoculation for Controlling *Alternaria alternata* and Simultaneously Improving Growth, Nutrient Uptake, and Steviol Glycosides in *Stevia rebaudiana* under Field Conditions. *Plants*, 11(14), 1857. <https://doi.org/10.3390/plants11141857>
31. Rojas Padilla, J., Chaparro Encinas, L. A., Robles Montoya, R. I., and De los Santos Villalobos, S. (2020). Promoción de crecimiento en trigo (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*) por la co-inoculación de cepas nativas de *Bacillus* aisladas del Valle del Yaqui, México. *Nova Scientia*, 12(24). <https://doi.org/10.21640/ns.v12i24.2136>
32. Ronquillo Navarrete, N. Á., and Iler Santos, V. (2024). Efecto de bacteria fijadora de nitrógeno (*Methylobacterium symbioticum*), en dos variedades de arroz, cantón daule provincia del guayas.

33. Sheirdil, R. A., Hayat, R., Zhang, X.-X., Abbasi, N. A., Ali, S., Ahmed, M., ... Ahmad, S. (2019). Exploring Potential Soil Bacteria for Sustainable Wheat (*Triticum aestivum* L.) Production. *Sustainability*, *11*(12), 3361. <https://doi.org/10.3390/su11123361>
34. Subbarao, G. V., Ito, O., Sahrawat, K. L., Berry, W. L., Nakahara, K., Ishikawa, T., Watanabe, T., Suenaga, K., Rondon, M., and Rao, I. M. (2006). Scope and Strategies for Regulation of Nitrification in Agricultural Systems—Challenges and Opportunities. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *25*(4), 303–335. <https://doi.org/10.1080/07352680600794232>
35. Summit Agro Chile. (2019, August 28). *SUMMIT READY FERTILIZANTE*. SummitAgro. <https://summit-agro.com/cl/es/producto/summit-ready/>
36. Tian, H., Pan, N., Thompson, R. L., Canadell, J. G., Suntharalingam, P., Regnier, P., ... Bouwman, A. F. (2024). Global nitrous oxide budget (1980–2020). *Earth System Science Data*, *16*(6), 2543–2604. <https://doi.org/10.5194/essd-16-2543-2024>
37. Tian, H., Xu, R., Canadell, J. G., Thompson, R. L., Winiwarter, W., Suntharalingam, P., Davidson, E. A., Ciais, P., Jackson, R. B., Janssens-Maenhout, G., Prather, M. J., Regnier, P., Pan, N., Pan, S., Peters, G. P., Shi, H., Tubiello, F. N., Zaehle, S., Zhou, F., and Arneeth, A. (2020). A Comprehensive Quantification of Global Nitrous Oxide Sources and Sinks. *Nature*, *586*(7828), 248–256. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2780-0>
38. Torabian, S., Salar Farhangi-Abriz, S., Qin, R., Christos Noulas, and Wang, G. (2023). Performance of Nitrogen Fertilization and Nitrification Inhibitors in the Irrigated Wheat Fields. *Agronomy*, *13*(2), 366–366. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020366>
39. Torres Vera, R., Bernabé García, A. J., Carmona Álvarez, F. J., Martínez Ruiz, J., and Fernández Martín, F. (2024). Application and effectiveness of *Methylobacterium symbioticum* as a biological inoculant in maize and strawberry crops. *Folia Microbiologica*, *69*(1), 121–131. <https://doi.org/10.1007/s12223-023-01078-4>

40. Valente, F., Panozzo, A., Bozzolin, F., Barion, G., Bolla, P. K., Bertin, V., ... Vamerli, T. (2024). Growth, Photosynthesis and Yield Responses of Common Wheat to Foliar Application of *Methylobacterium symbioticum* under Decreasing Chemical Nitrogen Fertilization. *Agriculture*, 14(10), 1670. <https://doi.org/10.3390/agriculture14101670>
41. Van Noordwijk, M., van de Geijn, SC. Root, shoot and soil parameters required for process-oriented models of crop growth limited by water or nutrients. *Plant Soil* 183, 1–25 (1996). <https://doi.org/10.1007/BF02185562>
42. Vistoso, E., Alfaro, M., Surinder Saggarr, and Salazar, F. (2012). Effect of Nitrogen Inhibitors on Nitrous Oxide Emissions and Pasture Growth After an Autumn Application in Volcanic Soil. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(1), 133–139. <https://doi.org/10.4067/s0718-58392012000100021>
43. Wang, Y., Guo, J., Vogt, R. D., Mulder, J., Wang, J., and Zhang, X. (2017). Soil pH as the chief modifier for regional nitrous oxide emissions: New evidence and implications for global estimates and mitigation. *Global Change Biology*, 24(2), e617–e626. <https://doi.org/10.1111/gcb.13966>
44. Zerulla, W., Barth, T., Dressel, J., Erhardt, K., Horchler von Locquenghien, K., Pasda, G., Rädle, M., and Wissemeier, A. (2001). 3,4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP) - a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture. *Biology and Fertility of Soils*, 34(2), 79–84. <https://doi.org/10.1007/s003740100380>
45. Zhu, G., Ju, X., Zhang, J., Müller, C., Rees, R. C., Thorman, R. E., & Sylvester-Bradley, R. (2019). Effects of the nitrification inhibitor DMPP (3,4-dimethylpyrazole phosphate) on gross N transformation rates and N₂O emissions. *Biology and Fertility of Soils*, 55(6), 603–615. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01375-6>