Adrián Bozal-Leorri
Universidad Pública de Navarra
Mª Begoña González-Moro, Pedro M Aparicio-Tejo y Carmen González-Murua
Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea

Los inhibidores biológicos de la nitrificación y su importancia en la agricultura*

Los autores analizan la importancia de los inhibidores biológicos de la nitrificación (BNIs) para abordar los retos futuros de la agricultura. Ajustar la dosis de nitrógeno y sincronizar su aplicación con la demanda, emplear cultivos cobertura para retener el nitrógeno reduciendo su lixiviación e implementar la siembra directa para conservar el agua y aumentar las reservas de carbono del suelo, son manejos agrícolas cada vez más utilizados por el agricultor. La reciente obtención de líneas de trigo BNI supone un hito para el control de la nitrificación. La tecnología de los BNI conjuntamente con las anteriores estrategias, así como con la aplicación de inhibidores sintéticos de la nitrificación, abren nuevas perspectivas para lograr una agricultura sostenible.

Palabras clave:
Agricultura | Agrosistemas | Cereales | Fertilización | Nitrógeno.

Como se sabe, el gran reto de la agricultura es abastecer de alimento a la población mundial que se prevé que aumente de los 8.000 millones de personas actuales hasta superar los 10.000 millones a finales del presente siglo (ONU, 2019). Afortunadamente, gracias al periodo conocido como Revolución Verde, la agricultura consiguió multiplicar por tres la producción de los cultivos de cereales, con tan sólo un aumento del 30% de la superficie cultivada (Lassaletta *et al.*, 2014a). Esto ha sido posible gracias a la fuerte inversión en la obtención de variedades mejoradas en combinación con la transformación de la maquinaria agrícola y con el desarrollo de eficientes fitosanitarios y fertilizantes. No obstante, el uso de estas nuevas tecnologías, que ha permitido cambiar el modelo hacia una agricultura intensiva, ha llevado parejo importantes e incluso graves repercusiones medioambientales desde mediados del siglo pasado (Pingali *et al.*, 2012).

El nitrógeno es necesario en la agricultura intensiva

La disponibilidad de nitrógeno es, junto con la del agua, uno de los principales factores limitantes para la productividad de los cultivos. De ahí que la agricultura intensiva sea dependiente del uso de fertilizantes nitrogenados para maximizar el rendimiento de las cosechas. Se espera que su aplicación alcance las 300.000 toneladas de nitrógeno anuales en 2050 requiriendo un gran aporte de energía, ya que, aproximadamente, el 2% de la energía mundial se emplea para la síntesis de dichos fertilizantes (Subbarao *et al.*, 2022). Además, la totalidad del nitrógeno aplicado no es eficientemente absorbido por el cultivo.

Si bien el aporte de fertilizantes se ha multiplicado por nueve desde la década de 1960, la eficiencia del uso del nitrógeno ha descendido desde el 68% al 47% (Lassalet-

▼ *Nota*

* Los autores agradecen al Gobierno Vasco (IT1560-22 y 00048-ID2021-45) y a la Fundación Jesús de Gagoitia Barrera por su interés en este tema.

La disponibilidad de nitrógeno es, junto con la del agua, uno de los principales factores limitantes para la productividad de los cultivos. De ahí que la agricultura intensiva sea dependiente del uso de fertilizantes nitrogenados para maximizar el rendimiento de las cosechas. Se espera que su aplicación alcance las 300.000 toneladas de nitrógeno anuales en 2050 requiriendo un gran aporte de energía, ya que, aproximadamente, el 2% de la energía mundial se emplea para la síntesis de dichos fertilizantes

ta *et al.*, 2014b). Así, el nitrógeno que no es asimilado por el cultivo se pierde al medio ambiente en forma de nitrógeno, haciendo que los sistemas agrícolas sean los principales responsables de la producción de este tipo de nitrógeno reactivo, superando al originado por los procesos naturales terrestres (Rockström *et al.*, 2009). Las vías mayoritarias de pérdidas de nitrógeno reactivo que causan un impacto medioambiental son la lixiviación de nitrato (NO_3^-), la volatilización de amoníaco (NH_3) y las emisiones de gases nitrogenados como el óxido nítrico (NO) y el óxido nitroso (N_2O). Todas estas formas nitrogenadas causan un impacto medioambiental que repercute en la salud humana y en los ecosistemas.

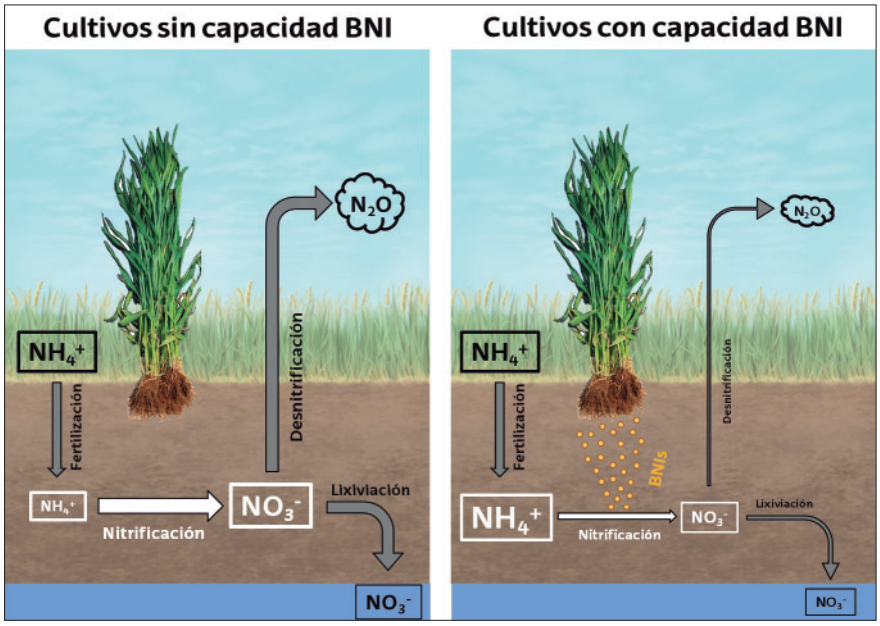
El N_2O es el principal gas de efecto invernadero generado en la agricultura como consecuencia del uso excesivo de fertilizantes nitrogenados. Se estima que el sector agrario es el responsable de la emisión de más de 11.500 toneladas de N_2O por año, lo que supone el 1% del nitrógeno aplicado por los fertilizantes, y representa alrededor del 19% del total de N_2O emitido mundialmente y el 49% de las emisiones de N_2O de origen antropogénico (Fowler *et al.*, 2009).

El N_2O es una molécula de gran potencial de calentamiento global, de media 298 veces superior al dióxido de carbono (CO_2) (IPCC, 2014), por lo que pequeños cambios en el flujo neto de este gas pueden contribuir significativamente al cambio climático. Los procesos microbianos de los suelos como la nitrificación y, mayoritariamente, la desnitrificación son los responsables de la generación y emisión de este gas a la atmósfera (Li *et al.*, 2016).

La nitrificación es la oxidación aeróbica secuencial de formas reducidas de nitrógeno a NO_3^-. En suelos con disponibilidad de oxígeno, el amonio (NH_4^+) es oxidado a hidroxilamina (NH_2OH) por la acción del enzima amonio monooxigenasa que poseen arqueas y bacterias oxidantes de amonio (AOA y AOB). La NH_2OH se oxida a nitrito (NO_2^-) y, por último, las bacterias oxidantes del nitrito (NOB) lo oxidan a nitrato (Arp y Stein, 2003; Lücker *et al.*, 2010). El NO_3^- formado es susceptible de perderse por lixiviación, causando eutrofización y contaminación de las reservas de aguas subterráneas. Además, en suelos poco aireados, es decir, con baja concentración o ausencia de oxígeno, el NO_3^- es utilizado por organismos desnitrificantes. Así, durante la desnitrificación, el NO_3^- es secuencialmente reducido a NO_2^-, NO, N_2O y/o a nitrógeno molecular (N_2) (Hochstein y Tomlinson, 1988).

Cómo evitar pérdidas del nitrógeno en los agrosistemas

La agricultura debe orientarse hacia criterios de sostenibilidad que nos permitan mantener niveles de producción adecuados, a la vez que se reduce la cantidad de nitrógeno reactivo que se libera al medioambiente. Las prácticas basadas en aumentar la eficiencia en el uso del nitrógeno por parte del cultivo se consideran buenas estrategias. Entre ellas las más relevantes son: ajustar la dosis de nitrógeno y sincronizar su aplicación con la demanda de la planta según su ciclo de desarrollo; emplear cultivos cobertura en lugar de dejar el suelo en barbecho para retener el nitrógeno en el agrosistema, controlar las malas hierbas, reducir la lixiviación de nu-



Desde la industria se ha impulsado la utilización de nuevas formulaciones de fertilizantes con el objetivo de mejorar su eficiencia y reducir su impacto ambiental. Principalmente hay dos líneas de actuación: el uso de fertilizantes de liberación lenta, y la adición de inhibidores sintéticos de la nitrificación (SNIs). Los SNIs más utilizados a nivel mundial son la nitrapirina (2-cloro-6-[triclorometil]-piridina), el DCD (diciandiamida) y el DMPP (3,4-dimetilpirazol fosfato)

trientes y la erosión del suelo (Garland *et al.*, 2021) e implementar la siembra directa para conservar el agua y aumentar las reservas de carbono del suelo (Álvaro-Fuentes y Cantero-Martínez, 2010).

Además, desde la industria se ha impulsado la utilización de nuevas formulaciones de fertilizantes con el objetivo de mejorar su eficiencia y reducir su impacto ambiental. Principalmente hay dos líneas de actuación: el uso de fertilizantes de liberación lenta, y la adición de inhibidores sintéticos de la nitrificación (SNIs). Los SNIs más utilizados a nivel mundial son la nitrapirina (2-cloro-6-[triclorometil]-piridina), el DCD (diciandiamida) y el DMPP (3,4-dimetilpirazol fosfato). Estas moléculas son añadidas a los fertilizantes de base amoniacal con el fin de inhibir la actividad de la enzima amonio monooxigenasa, lo que permite mantener en el suelo el nitrógeno como NH_4^+ durante periodos de tiempo más prolongados, siendo eficaces en la reducción de las pérdidas de NO_3^- por lixiviación (Ábalos y col., 2014).

Con todo ello, se ha observado que el empleo de los SNIs mejora el uso eficiente del nitrógeno por parte de la planta entre un 7% y un 16%, a la vez que se reducen las emisiones de N_2O entre un 35% y un 40% (Ruser y Schulz, 2015). En algunos cultivos se ha descrito que los SNIs también pueden aumentar el rendimiento, y si bien lo hacen en un porcentaje reducido, éste sería suficiente para compensar con creces su coste en los cultivos de países desarrollados (Kanter y Searchinger, 2018).

La inhibición biológica de la nitrificación

Desafortunadamente, el coste de estos fertilizantes y, en ocasiones, su falta de rentabilidad, hace que el uso de los SNIs no sea una práctica extendida por los agricultores de todo el mundo (Subbarao *et al.*, 2017). Además, su eficiencia ambiental se ve seriamente afectada por las características físico-químicas del suelo. Así, el contenido de arcilla de los suelos agrícolas puede producir una separación espacial parcial del NH_4^+ y del SNI cuando se aplican conjuntamente. De esta forma, a menor contenido de arcilla, los sitios de unión del NH_4^+ al suelo disminuyen, mientras que el SNI puede seguir retenido en el suelo (Subbarao y Searchinger, 2021).

La temperatura del suelo es otro de los factores determinantes en la estabilidad y comportamiento de los SNIs: el DMPP es más eficaz a temperaturas por debajo de los 15ºC (Menéndez *et al.*, 2012) y la vida media del DCD se reduce de 120 a 20 días cuando la temperatura aumenta de 8 a 20ºC (Kelliher *et al.*, 2008). La alta volatilidad que presenta la nitrapirina hace que cuanto mayor sea la temperatura del suelo, mayor cantidad pueda volatilizarse y perderse a la atmósfera, reduciendo su efecto inhibidor. Además, y de forma general, los SNIs solo actúan sobre las bacterias, con escaso o nulo efecto sobre las arqueas (Ruser y Schulz, 2015), aspecto que está siendo objeto de estudio para el desarrollo de nuevos y más eficaces SNIs.

En la década de 1960 se observó que ciertos pastizales y bosques presentaban bajas tasas de nitrificación, atribuyéndose a que los exudados de sus raíces inhibían la nitrificación (Subbarao *et al.*, 2015). Sin embargo, los agrónomos sólo empezaron a interesarse por estos exudados cuando se observaron bajas tasas de emisión de N_2O en suelos de *Brachiaria humidicola*, debidas a la exudación de una molécula denominada brachialactona (Subbarao *et al.*, 2009a).

La capacidad de exudar moléculas inhibidoras de la nitrificación (BNIs) parece estar relacionada con la capacidad de adaptación de las plantas a entornos con bajo contenido de nitrógeno (Subbarao *et al.*, 2015). Así, *Panicum*, un pasto tropical adaptado a suelos con alto contenido de nitrógeno, presenta una actividad inhibitoria de la nitrificación relativamente débil, mientras que la ya mencionada *B. humidicola*, que está adaptada a ambientes bajos en nitrógeno, presenta una alta actividad BNI en las raíces (Subbarao *et al.*, 2009b).

Estudios de campo con plantas de *B. humidicola* indicaron una reducción del 90% en la oxidación del NH_4^+ del suelo y de las emisiones de N_2O a la atmósfera. Todo ello acorde con una baja abundancia de las poblaciones AOB y AOA, pero con escaso efecto en el resto de la comunidad microbiana del suelo. Eso permitió concluir que los BNIs exudados por *B. humidicola* presentaban una inhibición altamente específica de los microorganismos nitrificantes, tanto arqueas como bacterias (Egenolf *et al.*, 2020). Esta contribución es muy relevante, ya que se estima que las plantas de *B. humidicola* podrían liberar una cantidad de BNIs equivalente a 6,2 - 18 kg de nitrapirina por hectárea y año (Subbarao *et al.*, 2009b).

La capacidad BNI en cereales

La capacidad de exudar BNIs en los cultivos de cereales también está relacionada con suelos pobres en nitrógeno. Un buen ejemplo es el sorgo, ya que, al estar adaptado a entornos de bajo nitrógeno, tiene una capacidad BNI más potente que otros cereales como el trigo y el maíz que requieren de altos aportes de nitrógeno para su crecimiento y desarrollo (Subbarao *et al.*, 2007).

Los BNIs caracterizados en los exudados de sorgo son de dos tipos: hidrofóbicos, como el sorgoleone, e hidrofílicos, como el MHPP (3-[4- hidroxifenil] propionato) (Subbarao *et al.*, 2013). Los BNIs hidrofóbicos permanecen cerca de los sistemas radiculares, mientras que los BNIs hidrofílicos salen de la rizosfera, complementando a los hidrofóbicos y aumentando la capacidad para suprimir la nitrificación en regiones más amplias del suelo (Subbarao y col., 2013). La capacidad de producir y exudar moléculas BNIs continúa hasta cerca de la madurez fisiológica del sorgo, lo que asegura la inhibición de la nitrificación a lo largo de todo el periodo de crecimiento del cultivo. Además, variedades de sorgo tolerantes a la sequía, se han propuesto como candidatas para la rotación de cultivos, como cultivos de cobertura o en intercultivos (Bozal-Leorri *et al.*, 2023; Subbarao *et al.*, 2023).

Lamentablemente, los cereales de mayor interés agrícola, como es el caso del trigo, no producen BNIs, debido a que la domesticación les ha hecho muy dependientes del nitrógeno. De hecho, el cultivo de trigo consume el 20% de los fertilizantes nitrogenados producidos a nivel mundial y es, por ello, uno de los cultivos donde más se ha recomendado el empleo de SNIs (Tilman y col., 2002).

La introgresión de genes de *Leymus racemosus*

Una amplia red de investigadores está trabajando intensamente para identificar la capacidad de inhibición biológica en especies silvestres parientes de cultivos de interés agronómico, como son el trigo, maíz y arroz. El principal objetivo es incorporar este carácter a variedades de cultivos de alto rendimiento, utilizando tanto herramientas de mejora clásicas como basadas en marcadores moleculares (Subbarao y Searchinger, 2021).

En este sentido, los resultados de trigo son los más avanzados. *Leymus racemosus* es un pariente silvestre del trigo, que posee gran capacidad BNI, habiéndose identificado la región cromosómica que le confiere dicha capacidad. Con la idea de dotar de la capacidad BNI a los cultivares modernos de trigo, se retrocruzó *L. racemosus* con un cultivar de trigo ancestral CHINESE SPRING, logrando así la producción y exudación de BNIs en dicha variedad (Subbarao *et al.*, 2021). Más tarde, mediante posteriores cruzamientos, el carácter BNI se transfirió con éxito de CHINESE SPRING-BNI a dos cultivares de trigo élite (ROELFS y MUNAL), cuya producción de grano es superior a las 10 toneladas por hectárea (Subbarao *et al.*, 2021).

En los cultivos de ROELFS-BNI y MUNAL-BNI las poblaciones nitrificantes, tanto de bacterias como de arqueas, se ven muy reducidas (Subbarao *et al.*, 2021; Bozal-Leorri *et al.*, 2022), lo que conlleva un aumento de la disponibilidad de NH_4^+ en el suelo para la planta y, consecuentemente, una reducción

La tecnología BNI aplicada a los cultivos élite es una solución basada en la naturaleza, que permitirá una escalabilidad y adopción más amplia, ya que se establece mediante métodos de mejora tradicional. De esta manera, los agricultores mantendrán una producción elevada con la misma calidad de grano, al mismo tiempo que la exudación de las raíces de estas plantas minimizarán las pérdidas de nitrógeno reactivo a los acuíferos y a la atmósfera

en la formación de NO_3^-, disminuyendo la pérdida por lixiviación o por emisiones de óxidos de nitrógeno. Además, se ha observado que la capacidad de producir BNIs no tiene un coste metabólico para las plantas ROELFS-BNI y MUNAL-BNI, ya que la producción de grano se mantiene, siendo incluso mayor en algunos casos.

Debido a la capacidad de producir BNIs, estas nuevas líneas de trigo muestran una mayor plasticidad en el uso del amonio como fuente de nitrógeno, ya que presentan menor actividad nitrato reductasa, pero mayores niveles de aminoácidos en las hojas, en comparación con sus respectivas líneas de procedencia ROELFS y MUNAL (Bozal-Leorri *et al.*, 2022).

Los cultivos élite con capacidad BNI

El desarrollo de estas nuevas variedades de trigo productoras de BNIs marca un hito importante en el camino hacia la sostenibilidad de los cultivos, al conseguir la reducción de la nitrificación en suelos agrícolas. La humanidad no podrá resolver el problema del nitrógeno reactivo a menos que encuentre la manera de evitar sus pérdidas al medio ambiente. La aparición de la tecnología BNI puede representar un avance en este sentido, ya que los escasos estudios *ex ante* realizados sugieren que, si el cultivo de este tipo de trigos se adoptara mundialmente, podría reducirse hasta en un 15% la necesidad del aporte de fertilizantes nitrogenados (Leon *et al.*, 2021).

A ello también habría que sumarle la reducción del gasto energético que supone la propia producción y el transporte del fertilizante. Es más, el aumento de la absorción de nitrógeno proveniente de la mineralización de la materia orgánica podría indicar una mejor adaptación de las líneas BNI a sistemas con bajos aportes de nitrógeno como, por ejemplo, en la agricultura de países en vías de desarrollo (Subbarao *et al.*, 2021). Teniendo en cuenta el pronóstico de inseguridad alimentaria, una buena productividad por parte de la tecnología BNI en entornos de cultivo con un limitado aporte de nitrógeno sería aún más valiosa.

Reflexiones finales

El Acuerdo COP21 de París sobre Cambio Climático de 2015, ratificado por la mayoría de los países desarrollados, establece el compromiso de reducir las emisiones de gases de efecto invernadero en la agricultura en un 30% para el año 2050. Estos países podrían ser los primeros en utilizar los trigos BNI en los sistemas de producción intensiva, reduciendo el uso de fertilizantes sin comprometer la producción actual. Es más, el uso de cultivos con capacidad BNI se postula cada vez más como una opción real, puesto que ha entrado en la agenda de la cumbre del G7 de Hiroshima (Japón) en mayo de 2023.

Actualmente, el Consorcio Internacional de BNI reúne a investigadores de diversos continentes, que están dirigiendo sus esfuerzos a conseguir dotar de la capacidad BNI a otros cultivos de interés. Se están obteniendo avances prometedores en sorgo y arroz, y, aunque son aún preliminares, también en maíz (Otaka *et al.*, 2022). Otro de los objetivos del consorcio es mejorar la eficiencia en el uso del nitrógeno por los culti-

vos y, así, reducir las pérdidas al ambiente, aplicando esta tecnología con diferentes manejos agrícolas, como cultivos de cobertera o intercultivos.

La tecnología BNI aplicada a los cultivos élite es una solución basada en la naturaleza, que permitirá una escalabilidad y adopción más amplia, ya que se establece mediante métodos de mejora tradicional. De esta manera, los agricultores mantendrán una producción elevada con la misma calidad de grano, al mismo tiempo que la exudación de las raíces de estas plantas minimizarán las pérdidas de nitrógeno reactivo a los acuíferos y a la atmósfera. ■

▼ *Referencias bibliográficas*

ÁBALOS, D.; S. JEFFERY; A. SANZ-COBENA; G. GUARDIA, and A. VALLEJO (2014), "Meta-analysis of the effect of urease and nitrification inhibitors on crop productivity and nitrogen use efficiency", *Agriculture, Ecosystems and Environment*, vol.189, pp. 136-144.

ÁLVARO-FUENTES, J. and C. CANTERO-MARTÍNEZ (2010), "Potential to mitigate anthropogenic CO_2 emissions by tillage reduction in dryland soils of Spain", *Spanish Journal of Agricultural Research*, vol. 8, pp. 1271-1276.

ARP, D.J. and L.Y. STEIN (2003), "Metabolism of inorganic N compounds by ammonia-oxidizing bacteria", *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 38, pp. 471-495.

BOZAL-LEORRI, A.; G.V. SUBBARAO; M. KISHII; L. URMENETA; V. KOMMERELL; H. KARWAT; H.J. BRAUN; P.M. APARICIO-TEJO; I. ORTIZ-MONASTERIO; C. GONZALEZ-MURUA, and M.B. GONZALEZ-MORO (2022), "Biological nitrification inhibitor-trait enhances nitrogen uptake by suppressing nitrifier activity and improves ammonium assimilation in two elite wheat varieties", *Frontiers of Plant Science* vol. 13, 103421.

BOZAL-LEORRI, A.; M. CORROCHANO-MONSALVE; L.M. ARREGUI; P.M. APARICIO-TEJO, and C. GONZÁLEZ-MURUA (2023), "Evaluation of a crop rotation with biological inhibition potential to avoid N_2O emissions in comparison with synthetic nitrification inhibition", *Journal of Environmental Sciences*, vol.127, pp. 222-233.

EGENOLF, K.; J. CONRAD; J. SCHÖNE; C. BRAUNBERGER; U. BEIFUß; F. WALKER, and F. RASCHE (2020), "Brachialactone isomers and derivatives of *Brachiaria humidicola* reveal contrasting nitrification inhibiting activity", *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 154, pp. 491-497.

FOWLER, D.; K. PILEGAARD; M.A. SUTTON; P. AMBUS; M. RAIVONEN; J. DUYZER, and J.W. ERISMAN (2009), "Atmospheric composition change: ecosystems–atmosphere interactions", *Atmospheric Environment*, vol. 43, pp. 5193-5267.

GARLAND, G.; A. EDLINGER; S. BANERJEE; F. DEGRUNE; P. GARCÍA-PALACIOS; D.S. PESCADOR, and M.G. VAN DER HEIJDEN (2021), "Crop cover is more important than rotational diversity for soil multifunctionality and cereal yields in European cropping systems", *Nature Food*, vol. 2, pp. 28-37.

HOCHSTEIN, L.I. and G.A. TOMLINSON (1988), "The enzymes associated with denitrification", *Annual Reviews in Microbiology*, vol. 42, pp. 231-261.

IPCC CC (2014), *Synthesis Report Summary Chapter for Policymakers*, Ipcc, 31.

KANTER, D.R. and T.D. SEARCHINGER (2018), "A technology-forcing approach to reduce nitrogen pollution", Nature Sustainability, vol.1, pp. 544-552.

KELLIHER, F.M.; T.J. CLOUGH; H. CLARK; G. RYS, and J.R. SEDCOLE (2008), "The temperature dependence of dicyandiamide (DCD) degradation in soils: a data synthesis", *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 40, pp. 1878-1882.

LASSALETTA, L.; G. BILLEN; B. GRIZZETTI; J. GARNIER; A.M. LEACH, and J.N. GALLOWAY (2014a), "Food and feed trade as a driver in the global nitrogen cycle: 50-year trends", *Biogeochemistry*, vol. 118, p. 225-241.

LASSALETTA, L.; G. BILLEN; B. GRIZZETTI; J. ANGLADE, and J. GARNIER (2014b), "50-year trends in nitrogen use efficiency of world cropping systems: the relationship between yield and nitrogen input to cropland", *Environmental Research Letters*, vol. 9, pp. 105011-105021.

LEON, A.; G.V. SUBBARAO; M. KISHII; N. MATSUMOTO, and G. KRUSEMAN (2021), "An ex-ante life cycle assessment of wheat with high biological nitrification inhibition capacity", *Environmental Science and Pollution*, vol. 29, pp. 7153–7169.

LI, X.; P. SØRENSEN; J.E. OLESEN, and O. PETERSEN (2016), "Evidence for denitrification as main source of N_2O emission from residue-amended soil", *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 92, pp. 153-160.

LÜCKER, S.; M. WAGNER; F. MAIXNER; E. PELLETIER; H. KOCH; B. VACHERIE, and H. DAIMS (2010), "A *Nitrospira* metagenome illuminates the physiology and evolution of globally important nitrite-oxidizing bacteria", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 107, pp. 13479-13484.

MENÉNDEZ, S.; I. BARRENA; I. SETIÉN; C. GONZÁLEZ-MURUA, and J.M. ESTAVILLO (2012), "Efficiency of nitrification inhibitor DMPP to reduce nitrous oxide emissions under different temperature and moisture conditions", *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 53, pp. 82-89.

OTAKA, J.; G.V. SUBBARAO; H. ONO, and T. YOSHIHASHI (2022), "Biological nitrification inhibition in maize isolation and identification of hydrophobic inhibitors from root exudates", *Biology and Fertility of Soils*, vol. 58, pp. 251-264.

PINGALI, P.L. (2012), "Green revolution: impacts, limits, and the path ahead", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 109, pp. 12302-12308.

ROCKSTRÖM, J.; W. STEFFEN; K. NOONE; Å. PERSSON; F.S. CHAPIN III; E. LAMBIN, and J. FOLEY (2009), "Planetary boundaries: exploring the safe operating space for humanity", *Ecology and Society*, vol.14.

RUSER, R. and R. SCHULZ (2015), "The effect of nitrification inhibitors on the nitrous oxide (N_2O) release from agricultural soils—a review", *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, vol.178, pp. 171-188.

SUBBARAO, G.V.; M. RONDON; O. ITO; T. ISHIKAWA; I.M. RAO; K. NAKAHARA; C. LASCANO, and W.L. BERRY (2007), "Biological nitrification inhibition (BNI)—is it a widespread phenomenon", *Plant and Soil*, vol. 294, pp. 5-18.

SUBBARAO, G.V.; M. KISHII; K. NAKAHARA; T. ISHIKAWA; T. BAN; H. TSUJIMOTO; T.S. GEORGE; W.L. BERRY; T. HASH, and O. ITO (2009a), "Biological nitrification inhibition (BNI)-Is there potential for genetic interventions in the Triticeae?", *Breeding Science*, vol. 59, pp. 529-545.

SUBBARAO, G.V.; K. NAKAHARA; M.D.P. HURTADO; H. ONO; D.E. MORETA; A.F. SALCEDO, and O. ITO (2009b), "Evidence for biological nitrification inhibition in Brachiaria pastures", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 106, pp. 17302-17307.

SUBBARAO, G.V.; K. NAKAHARA; T. ISHIKAWA; H. ONO; M. YOSHIDA; T. YOSHIHASHI; Y. ZHU; H.A.K.M. ZAKIR; S.P. DESPHANDE; C.T. HASH, and K.L. SAHRAWAT (2013), "Biological nitrification inhibition (BNI) activity in sorghum and its characterization", *Plant and Soil*, vol. 366, pp. 243-259.

SUBBARAO, G.V.; T. YOSHIHASHI; M. WORTHINGTON; K. NAKAHARA; Y. ANDO; K.L. SAHRAWAT, and H.J. BRAUN (2015), "Suppression of soil nitrification by plants", *Plant Science*, vol. 233, pp. 155-164.

SUBBARAO, G.V.; J. ARANGO; M. KISHII; A.M. HOOPER; T. YOSHIHASHI; Y. ANDO; K. NAKAHARA; S. DESPHANDE; I. ORTIZ-MONASTERIO; M. ISHITANI; M. PETERS; N. CHIRINDA; L. WOLLENBERG; J.C. LATA; B. GERARD; S. TOBITA; I. RAO; H.J. BRAUN; V. KOMMERELL; J. TOHME, and M. IWANAGA (2017), "Genetic mitigation strategies to tackle agricultural GHG emissions: The case for biological nitrification inhibition technology", *Plant Science*, vol. 262, pp. 165-168.

SUBBARAO, G.V. and T.D. SEARCHINGER (2021), "Opinion: A "more ammonium solution" to mitigate nitrogen pollution and boost crop yields", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 118, e2107576118.

SUBBARAO, G.V.; M. KISHII; A. BOZAL-LEORRI; I. ORTIZ-MONASTERIO; X. GAO; M.I. IBBA; H. KARWAT; M.B. GONZALEZ-MORO; C. GONZALEZ-MURUA; T. YOSHIHASHI; S. TOBITA; V. KOMMERELL; H.J. BRAUN, and M. IWANAGA (2021), "Enlisting wild grass genes to combat nitrification in wheat farming: A nature-based solution", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 118, e2106595118.

SUBBARAO, G.V.; J.C. LATA; C. GUBRY-RANGIN; P. NANNIPIERI, and W.H. SCHLESINGER (2022), "Foreword", *Biology and Fertility of Soils*, vol. 58, pp. 193–194.

TILMAN, D.; K.G. CASSMAN; P.A. MATSON; R. NAYLOR, and S. POLASKY (2002), "Agricultural sustainability and intensive production practices", *Nature*, vol. 418, pp. 671-677.

UN DESA (2019), *United Nations, Department of Economic and Social Affairs*, Population Division. World Population Prospects 2019, Highlights.