



UNIVERSIDAD AGRARIA DE LA HABANA
“Fructuoso Rodríguez Pérez”

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
DEPARTAMENTO DE BIOFERTILIZANTES Y NUTRICIÓN DE
LAS PLANTAS

Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía
inoculación y la fertilización mineral en pastos del género
Brachiaria

Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas

Autor: Ing. Pedro José González Cañizares, M. Sc.

San José de las Lajas, Mayabeque
2014



UNIVERSIDAD AGRARIA DE LA HABANA
“Fructuoso Rodríguez Pérez”

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
DEPARTAMENTO DE BIOFERTILIZANTES Y NUTRICIÓN DE
LAS PLANTAS

Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía
inoculación y la fertilización mineral en pastos del género
Brachiaria

Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas

Autor: Ing. Pedro José González Cañizares, M. Sc.

Tutores: Dr. C. Ramón Rivera Espinosa
Dr. C. Nicolás Medina Basso

San José de las Lajas, Mayabeque
2014

Dedicatoria

A mis padres

A mis hijos

AGRADECIMIENTOS

- A la Revolución Cubana, por posibilitar mis estudios y mi formación profesional.
- A mi familia toda, especialmente a mis padres, porque desde su humildad, supieron hacer de mí un hombre de bien.
- Al Dr. C. Victor Manuel Paneque Pérez, cuyas enseñanzas fueron decisivas en mi formación como investigador.
- Al Dr. C. Gustavo Crespo López, referente imprescindible para los que nos dedicamos al estudio de los pastos, por su inestimable ayuda y estímulo.
- A mis tutores, Dr. C. Ramón Rivera y Dr. C. Nicolás Medina, por su constante apoyo durante el desarrollo de este trabajo.
- Al Dr. C. Alberto Hernández Jiménez, por todo el apoyo brindado para la caracterización de los suelos de las áreas experimentales y por hacerme comprender la importancia del enfoque edafológico en los estudios sobre los agroecosistemas de pastizales.
- A los miembros de la Comisión Científica del departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas por su colaboración, especialmente a los Doctores Rodolfo Plana, amigo y compañero de todas estas lides, José Herrera, Adriano Cabrera y Gloria Martín, así como al M Sc. Jorge Corbera.
- A los Doctores en Ciencias José Roberto Martín, Triana, Eduardo Pérez Ortega, Noel Arozarena Daza y Eduardo Jeréz Mompié, por la revisión del trabajo en algunas de sus fases y sus oportunas sugerencias.
- A mi equipo de trabajo interinstitucional, integrado por mis compañeros y amigos Juan F. Ramírez, Gertrudis Pentón, Joan Arzola Batista, Osvaldo Morgan Rosemond, Evaristo Igarza Plutín, Eduardo Vieito Reyes, Noel Clavel Romero y Delio Fernández Milanés, pues nada de esto hubiera sido posible sin su asistencia y cooperación.
- A los especialistas y técnicos del departamento, en especial a Reinerio Reyes, Herminio Acosta, Gustavo Crespo Flores, Luis Roberto Fundora, Hilda Bompío, Leonor Lugo, Kirenia Aguilera, Walkiria Delgado, Tomás Hernández y Máximo Caruncho, cuyo vínculo directo con este trabajo también hizo posible su ejecución.

A todos, mi sincero agradecimiento

Citación correcta Norma ISO 690

Según Sistema de Referencia Apellido, año

González-Cañizares, P.J. 2014. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía inoculación y la fertilización mineral en pastos del género *Brachiaria*. [Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas] San José de las Lajas, Mayabeque: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. 128 h.

Según Sistema de Referencia Numérico

1. González-Cañizares, P.J. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía inoculación y la fertilización mineral en pastos del género *Brachiaria*. [Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas] San José de las Lajas, Mayabeque: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 2014. 128 h.

SÍNTESIS

El presente trabajo se propuso establecer un manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía inoculación en pastos del género *Brachiaria*, con el propósito de mejorar el rendimiento y el valor nutritivo de la biomasa y reducir el uso de fertilizantes minerales. Se seleccionaron cepas de HMA eficientes para los pastos cultivados en suelos Vertisol Pélico y Ferralítico Rojo Lixiviado; se evaluó la influencia de la fertilización mineral, la especie de pasto, la época del año y el tipo de suelo en la permanencia de la cepa inoculada al momento de la siembra, así como las dosis de inoculante micorrízico para estos cultivos establecidos en el suelo Ferralítico Rojo, con las cuales se pudieran mantener los beneficios de un funcionamiento micorrízico efectivo. Además, se evaluó un esquema de fertilización con la inclusión de cepas eficientes de HMA para *B. decumbens*, cuyos resultados fueron validados a escala de producción. Se encontró una alta especificidad cepa eficiente-tipo de suelo en la respuesta de los pastos a la inoculación de HMA. El tipo de suelo, la especie de pasto y la época del año influyeron en la permanencia del efecto de la cepa introducida, pero en todos los casos los pastos inoculados requirieron dosis menores de fertilizantes que los no inoculados para alcanzar altos rendimientos de biomasa y un adecuado valor nutritivo. La reinoculación con dosis no mayores de 4×10^5 esporas ha^{-1} de la cepa eficiente de HMA cada uno o dos años, en dependencia de la especie de pasto, garantizó la permanencia de un funcionamiento micorrízico efectivo. *B. decumbens*, bajo un régimen de corte intensivo movilizó cantidades importantes de P y K del suelo, las cuales se intensificaron con la inoculación; no obstante, las plantas inoculadas y fertilizadas con dosis de N, P y K ajustadas a sus necesidades, alcanzaron altos rendimientos y un buen estado nutricional. La introducción de un esquema de fertilización para el pasto micorrizado eficientemente vía inoculación en campos de producción de forraje, contribuyó al ahorro de hasta un 57 % de las dosis de fertilizantes que se recomiendan para este cultivo, sin reducir el rendimiento ni la calidad de la biomasa.

Listado de siglas y abreviaturas

Abreviatura	Significado
CCB	Capacidad de intercambio de bases
CIAT	Centro Internacional de Agricultura Tropical
cv.	Cultivar
DMO	Digestibilidad de la materia orgánica
DV	Densidad visual
EPG	Empresa Pecuaria Genética
ES	Error estándar
Esp.	Esporas
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FBN	Fijación biológica del nitrógeno
FND	Fibra neutro detergente
FPP	Factor parcial de productividad
HMA	Hongos micorrizicos arbusculares
IE	Índice de eficiencia
INCA	Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas
Inoc.	Inoculación
INSMET	Instituto de Meteorología (Academia de Ciencias de Cuba)
IUSS	International Union of Soil Science
MINAG	Ministerio de la Agricultura (República de Cuba)
MO	Materia orgánica
MS	Masa seca
MV	Masa verde
PB	Proteína bruta
PGPR	Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (siglas en inglés)
R ²	Coefficiente de determinación
RR	Rendimiento relativo
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences

ÍNDICE

	Pág.	
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1	Características generales y exigencias edafoclimáticas de los pastos del género <i>Brachiaria</i>	4
2.2	Aspectos nutricionales y respuesta a la fertilización de las gramíneas forrajeras del género <i>Brachiaria</i>	5
2.2.1	Fertilización nitrogenada	6
2.2.1.1	La fijación biológica del N en gramíneas forrajeras	8
2.2.2	Fertilización fosfórica	9
2.2.3	Fertilización potásica	11
2.3	Hongos micorrizógenos arbusculares	12
2.3.1	Papel de los HMA en la nutrición de las plantas	13
2.3.2	Las asociaciones micorrízicas en los agroecosistemas de pastizales	16
2.3.3	Factores relacionados con el funcionamiento de la simbiosis micorrízica en los agroecosistemas de pastizales	16
2.3.3.1	Condiciones climáticas	16
2.3.3.2	Características de los suelos	17
2.3.3.3	Especies de pastos y su manejo	19
2.3.4	Perspectivas del manejo efectivo de las asociaciones micorrízicas en los agroecosistemas de pastizales	22
3	MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1	Suelo y clima	25
3.2	Descripción de los experimentos	27
3.2.1	Grupo 1: Selección de cepas de HMA eficientes para pastos del género <i>Brachiaria</i> cultivados en suelos Ferralítico Rojo Lixiviado y Vertisol Pélico	27
3.2.2	Grupo 2: Influencia de la fertilización mineral, la especie de pasto y la época del año, en la efectividad de la inoculación con la cepa eficiente de HMA en <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk y <i>Brachiaria</i> híbrido cv. Mulato, cultivados en suelos Ferralítico Rojo Lixiviado y Vertisol Pélico	28
3.2.3	Grupo 3: Dosis de inoculante micorrízico para <i>B. decumbens</i> cv. Basilisk y <i>B.</i> híbrido cv. Mulato, establecidos en suelo Ferralítico Rojo Lixiviado	30
3.2.4	Grupo 4: Efecto de las inoculaciones sucesivas con HMA sobre los requerimientos de fertilizantes minerales de <i>B. decumbens</i> cv. Basilisk cultivado en el suelo Ferralítico Rojo	31

Continuación		Pág.
3.3	Validación a escala de producción un esquema de fertilización con la inoculación de una cepa eficiente de HMA y la aplicación de dosis de fertilizantes minerales adecuadas para el pasto micorrizado	32
3.4	3.4. Procedimiento general	33
3.4.1	Preparación del suelo y siembra de los experimentos y extensiones	33
3.4.2	Inoculación de HMA	34
3.5	Determinaciones realizadas	34
3.5.1	Rendimiento de masa seca (MS), concentración y extracción de nutrientes en la biomasa aérea y valor nutritivo de los pastos	34
3.5.2	Muestreo de raíces y determinaciones de las variables fúngicas	35
3.5.3	Muestreos y análisis de suelos	37
3.6	Procesamiento estadístico	38
3.7	Valoración económica	38
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
4.1	Grupo 1. Selección de cepas eficientes de HMA para pastos del género <i>Brachiaria</i> cultivados en suelos Ferralítico Rojo Lixiviado y Vertisol Pélico	40
4.2	Grupo 2: Influencia de la fertilización mineral, la especie de pasto y la época del año, en la efectividad de la inoculación con la cepa eficiente de HMA en <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk y <i>Brachiaria</i> híbrido cv. Mulato, cultivados en suelos Ferralítico Rojo Lixiviado y Vertisol Pélico	46
4.2.1	Resultados de la inoculación con <i>G. cubense</i> y la aplicación de dosis de N en los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo	47
4.2.2	Resultados de la inoculación con <i>G. cubense</i> y la aplicación de dosis de P ₂ O ₅ en los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo	50
4.2.3	Resultados de la inoculación con <i>G. cubense</i> y la aplicación de dosis de K ₂ O en los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo	51
4.2.4	Resultados de la inoculación con <i>R. intraradices</i> y la aplicación de dosis de N en los pastos cultivados en el suelo Vertisol Pélico	52
4.2.5	Resultados de la inoculación con <i>R. intraradices</i> y la aplicación de dosis de P ₂ O ₅ en los pastos cultivados en el suelo Vertisol Pélico	53
4.2.6	Resultados de la inoculación con <i>R. intraradices</i> y la aplicación de dosis de K ₂ O en los pastos cultivados en el suelo Vertisol Pélico	55

Continuación		Pág.
4.2.7	Discusión	55
4.3	Grupo 3. Dosis de inoculante micorrízico para <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk y <i>Brachiaria</i> híbrido cv. Mulato, establecidos en suelo Ferralítico Rojo Lixiviado	62
4.4	Grupo 4. Efecto de las inoculaciones sucesivas de HMA sobre los requerimientos de fertilizantes minerales de <i>B. decumbens</i> cv. Basilisk cultivado en el suelo Ferralítico Rojo	65
4.4.1	Fertilización nitrogenada	66
4.4.2	Fertilización fosfórica	71
4.4.3	Fertilización potásica	74
4.5	Validación a escala de producción un esquema de fertilización con la inoculación de una cepa eficiente de HMA y la aplicación de dosis de fertilizantes minerales adecuadas para el pasto micorrizado	83
4.6	Consideraciones económicas sobre la introducción a escala de producción de un esquema de fertilización para el pasto micorrizado eficientemente	88
4.7	Consideraciones generales sobre los esquemas de suministro de nutrientes para los pastos, basados en la inoculación de cepas eficientes de HMA y aplicación de dosis complementarias de fertilizantes minerales	90
3.7	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS ANEXOS	97

1. INTRODUCCIÓN

La producción ganadera en Cuba se sustenta en la uso de los pastos y forrajes como fuentes principales de alimentos para los animales (Herrera, 2005) y ello conlleva la obtención de elevados volúmenes de biomasa con suficiente calidad, para satisfacer sus requerimientos nutricionales. Pero la baja fertilidad de los suelos, así como la imposibilidad de aplicar las cantidades de fertilizantes que demandan estos cultivos debido a razones económicas y ambientales, comprometen su rendimiento y valor nutritivo, y consecuentemente, la productividad de los agroecosistemas ganaderos.

Las exigencias nutricionales de los pastos varían en función de su sistema de explotación. En condiciones de pastoreo, la hojarasca, las deyecciones y la orina de los animales hacen una contribución importante al reciclaje de los nutrientes, disminuyendo los requerimientos de fertilizantes (Franzluebbers, 2010, Crespo, 2012). Sin embargo, en los sistemas de corte y acarreo, la exportación continua de nutrientes a través de la biomasa es considerable y por tanto, mayor la necesidad de aplicar fertilizantes. En tales sistemas, la reducción de la productividad de los pastos en virtud del uso limitado de fertilizantes y enmiendas se hace evidente, aún cuando se utilicen las especies forrajeras más adaptadas a las condiciones edáficas donde estas se cultiven (Costa *et al.*, 2009; Prado, 2010).

En Cuba, la superficie agrícola que se dedica a la ganadería abarca algo más de 2.0 millones de hectáreas (MINAG, 2005), y la información disponible sobre los estudios de suelo de estas áreas, refleja que sólo el 15 % de ellas no poseía factores limitantes para la producción de pastos. Además, el último mapeo agroquímico efectuado en las mismas indicó que alrededor del 50 % de los suelos presenta muy bajos niveles de P asimilable, el 55 % muestra contenidos muy bajos de K asimilable y la tendencia a la acidificación es evidente (Crespo, 2001).

Tal situación, conjuntamente con la creciente demanda de tecnologías menos agresivas al medio ambiente, conduce a la búsqueda de nuevos modelos agrícolas, basados en el manejo eficiente de los procesos biológicos que tienen lugar en el sistema suelo-pasto-animal y en el máximo aprovechamiento de los recursos locales, para lograr la sustentabilidad de la producción ganadera (Martha Jr. *et. al*, 2009; Richardson *et al.*, 2009a).

El manejo efectivo de la asociaciones micorrízicas puede ser una vía para mejorar la productividad de los pastizales, pues los hongos formadores de micorrizas arbusculares

(HMA) son componentes integrales de la rizosfera de estos cultivos, cuyas plantas permanecen estrechamente asociadas mediante una red de hifas interconectadas que incrementan el volumen de suelo que exploran las raíces, mejoran su estructura y facilitan la absorción de los nutrientes y el agua, entre otras funciones importantes (Posada *et al.*, 2008; Leigh *et al.*, 2009).

En Cuba, durante los últimos años se ha logrado un avance progresivo en las investigaciones sobre el uso y manejo de los HMA en una amplia gama de cultivos agrícolas, cuyos resultados han conducido a la obtención de altos rendimientos mediante la inoculación de cepas eficientes, lográndose sustituir entre el 30 y 50 % de los fertilizantes minerales u orgánicos, en dependencia del propio cultivo, el suelo y su disponibilidad de nutrientes (Ruiz, 2001; Sánchez, 2001; Rivera y Fernández, 2003; Martín, 2009).

En relación con los pastos, aunque se reconoce que la introducción de cepas de HMA seleccionadas puede ser una opción necesaria para mejorar su productividad y reducir el uso de fertilizantes (Ojeda, 1998; de Miranda *et al.*, 2008; Carneiro *et al.*, 2010), la información sobre el manejo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía inoculación es escasa, debido probablemente a la complejidad de estos agroecosistemas, y al hecho de que no siempre se dispone de biofertilizantes micorrízicos que se utilicen en bajas dosis, lo cual facilitaría su uso extensivo. De hecho, algunos autores plantean la necesidad de adoptar tecnologías para maximizar el potencial de los HMA y reducir el uso de insumos externos (Delben *et al.*, 2010; Carneiro *et al.*, 2010).

Tales premisas conducen a plantear el siguiente problema científico: **¿se puede lograr un funcionamiento efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular mediante el cual se reduzcan las dosis de fertilizantes minerales a aplicar a los pastos sin comprometer su rendimiento ni su valor nutritivo?**

A partir de este problema se formuló la **hipótesis**:

El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular en los pastos, basado en la inoculación de cepas eficientes de HMA y un suministro óptimo de nutrientes, garantiza altos rendimientos con adecuado valor nutritivo de la biomasa y reduce los requerimientos de fertilizantes minerales.

Para dar respuesta a esta hipótesis, se propusieron los siguientes objetivos:

Objetivo General:

- Establecer un manejo efectivo de las asociaciones micorrízicas arbusculares en pastos del género *Brachiaria* sometidos a un régimen de corte intensivo, donde se integren la inoculación de cepas eficientes de HMA y la aplicación de fertilizantes minerales, así como el uso de indicadores del funcionamiento micorrízico, la fertilidad del suelo y el estado nutricional de las plantas, para su evaluación.

Objetivos Específicos:

1. Seleccionar cepas eficientes de HMA para especies de *Brachiaria*, cultivadas en suelos Ferralítico Rojo y Vertisol Pélico.
2. Evaluar la influencia de la fertilización mineral, la especie de pasto y la época del año, en la efectividad de la inoculación de la cepa eficiente de HMA en ambos tipos de suelos.
3. Caracterizar el funcionamiento micorrízico de los pastos inoculados, evaluar la permanencia de la cepa de HMA introducida y definir la necesidad, el momento y la dosis de inoculante para su reinoculación.
4. Establecer un esquema de fertilización mineral con la inclusión de HMA para *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk y evaluar su efectividad en base a los rendimientos, el valor nutritivo de la biomasa, las extracciones de macronutrientes primarios por las plantas y la disponibilidad de estos en el suelo.
5. Validar a escala de producción un esquema de fertilización para el pasto micorrizado eficientemente, mediante la inoculación de HMA.

Novedad Científica:

El trabajo establece un sistema de suministro de nutrientes para pastos del género *Brachiaria* bajo un régimen de corte intensivo, en el que se integran la inoculación de cepas eficientes de HMA, la aplicación de dosis de fertilizantes minerales adecuadas a las necesidades del pasto inoculado y el uso de indicadores del funcionamiento micorrízico, la fertilidad del suelo y el estado nutricional de las plantas, para su seguimiento y evaluación. Además, se obtiene información sobre el funcionamiento micorrízico de los pastos inoculados y se establecen las bases para el manejo de las asociaciones micorrízicas arbusculares en estos cultivos.

2. Revisión bibliográfica

2.1. Características generales y exigencias edafoclimáticas de los pastos del género *Brachiaria*

El género *Brachiaria* pertenece a la tribu *Paniceae*, subfamilia *Panicoideae* y familia *Poaceae*; sin embargo, los criterios taxonómicos utilizados, tanto para el género como para las especies que lo componen, aun se discuten (Renvoize *et al.*, 1996). En base a estudios florísticos se ha sugerido una nueva nomenclatura para algunas especies, entre las que se incluyen la mayoría de las pratenses y forrajeras más utilizadas para la alimentación del ganado, que si antes se insertaban formalmente dentro del género *Brachiaria*, ahora se propone su inclusión en el género *Urochloa* (González y Morton, 2005).

Lo conforman alrededor de 80 especies anuales y perennes distribuidas en el trópico, con hábitos de crecimiento erecto, decumbente o estolonífero (Renvoize *et al.*, 1996). Sus culmos son fuertes, y la mayoría de las especies emiten raíces en los nudos inferiores, principalmente las decumbentes o estoloníferas. Generalmente poseen rizomas cortos y un sistema radical profuso (Roche *et al.*, 1990; Olivera y Machado, 2004).

La alta variabilidad entre las especies de *Brachiaria* les ha permitido habitar en un amplio rango de condiciones edafoclimáticas. Aunque la mayoría crece bien a alturas desde 0 hasta 2 200 metros sobre el nivel del mar, con precipitaciones entre 1 500 y 3 000 mm al año (Olivera y Machado, 2004), otras se han adaptado a ambientes de extrema sequedad o con prolongados períodos de sequía (Renvoize *et al.*, 1996; Olivera *et al.*, 2007). También se ha observado que logran establecerse en suelos inundables o mal drenados, ácidos e infértiles; sin embargo, otras requieren mejores condiciones de edáficas para expresar su potencial productivo (Renvoize *et al.*, 1996; Olivera *et al.*, 2007).

Las especies y cultivares del género *Brachiaria*, al igual que la mayoría de las gramíneas forrajeras tropicales, presentan una acentuada estacionalidad, con una producción de biomasa durante el período poco lluvioso que decrece bastante en relación con la que se obtiene durante la época donde ocurren altos niveles de precipitaciones. Los principales factores que influyen y condicionan su desarrollo vegetativo son la luz, la temperatura y la humedad (Fagundes *et al.*, 2005; Santos Jr. *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2009).

Los pastos de este género se han convertido en unos de los más cultivados en el trópico latinoamericano, con especies de importancia comercial como *B. decumbens*, *B. brizantha*,

B. dictyoneura, *B. humidicola* y *B. ruziziensis*, debido a su buena adaptación a las condiciones climáticas y edáficas del trópico (Pizarro *et al.*, 1996; Peralta, 2004). Por su importancia en la alimentación del ganado, en los últimos años se acrecentó la necesidad de obtener nuevas especies y cultivares de este género; de este modo, el Proyecto de Forrajes Tropicales del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) obtuvo los híbridos Mulato (*B.* híbrido cv. CIAT 36061) y Mulato II (*B.* híbrido cv. CIAT 36087), los cuales ya se cultivan a escala comercial (Argel *et al.*, 2007).

2.2. Aspectos nutricionales y respuesta a la fertilización de las gramíneas forrajeras del género *Brachiaria*

La fertilización es una de las vías para restituir los nutrientes que se extraen del suelo, pero en los agroecosistemas ganaderos, es también una herramienta para incrementar la oferta forrajera por unidad de superficie y tiempo, y consecuentemente, la producción animal. Un adecuado suministro de nutrientes asegura el establecimiento y la persistencia de los pastos y mejora la calidad del forraje (Padilla y Sardiñas, 2005; Maranhão, 2008; Costa *et al.*, 2009).

Las exigencias nutricionales de los pastos varían en función de su sistema de explotación. En condiciones de pastoreo, una parte importante de los elementos nutritivos que consume el ganado vuelven al medio con las deyecciones y la orina; además, como el porcentaje de utilización de los pastos por los rumiantes en pastoreo suele variar en el orden de 40 a 60 %, no se puede desconocer la contribución de la hojarasca al reciclaje de nutrientes dentro del propio pastizal, la cual puede ser mayor que la que se produce a través de las excreciones de los animales (Franzluebbers, 2010; Crespo, 2012).

Es obvio que en condiciones de pastoreo, el reciclaje de los nutrientes contribuye a reducir las dosis de fertilizantes que demandan estos cultivos y de hecho, a mejorar la eficiencia de su uso, resultando en un mayor retorno económico para el productor y también en una reducción del peligro de contaminación que conlleva la aplicación de altas dosis de fertilizantes (Dubeux, 2005).

Sin embargo, cuando los pastos se siegan para conservarlo como heno, para el ensilado o para el consumo directo por los animales, la extracción de nutrientes del suelo es considerable, de modo que resulta necesario aplicar fertilizantes para restituir los nutrientes

extraídos en la biomasa (Crespo *et al.*, 1986; Souza *et al.*, 2010). En estos casos se necesita aplicar mayores cantidades de fertilizantes que en condiciones de pastoreo (Prado, 2010).

La demanda de nutrientes de los pastos depende de la fertilidad del suelo, la especie o cultivar y su manejo, la intensidad y frecuencia de la defoliación y la época del año, entre otros factores; de modo que la respuesta a la fertilización estará condicionada por la interrelación de cada uno de ellos (Quadros *et al.*, 2002; Fagundes *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2009). Algunos aspectos relacionados con la respuesta a la fertilización mineral de las gramíneas forrajeras, con énfasis en el género *Brachiaria*, se abordan en los siguientes epígrafes.

2.2.1. Fertilización nitrogenada

De todos los nutrientes minerales, el N es cuantitativamente el más importante para las gramíneas forrajeras (Crespo *et al.*, 1986; Primavesi *et al.*, 2005; Magalhães *et al.*, 2007). La importancia del N para los pastos es bien conocida, principalmente por su repercusión inmediata y visible en el aumento de su productividad (Werner, 1986; Monteiro, 1995). En este sentido, Malavolta *et al.* (1974) afirmaron que el potencial de respuesta de los pastos tropicales a la fertilización nitrogenada es alto, pudiendo alcanzar los mayores rendimientos de biomasa con dosis de hasta 1 600 kg N ha⁻¹ año⁻¹. Estos autores observaron que la eficiencia del uso del N se reduce considerablemente a partir de 300 kg ha⁻¹ año⁻¹.

Si bien la respuesta de los pastos a la fertilización nitrogenada suele variar en función del potencial productivo de la especie y su manejo, el tipo de suelo y su fertilidad, así como las condiciones climáticas, entre otros factores (Zhang y Tillman, 2007), muchos autores han observado aumentos lineales de los rendimientos de biomasa con dosis de hasta 300-400 kg N ha⁻¹ (Cecato *et al.*, 2004; Fagundes *et al.*, 2006; Heinrichs *et al.*, 2010).

La mayoría de los estudios realizados en Cuba han mostrado una marcada respuesta de los pastos mejorados a la fertilización nitrogenada en varios tipos de suelos, llegándose a alcanzar extracciones del orden de 300-500 kg N ha⁻¹ año⁻¹ con la aplicación de altas dosis de este elemento (Crespo *et al.*, 1986).

El efecto del N en la producción de biomasa está dado por su influencia en las características morfogénicas del pasto, en razón de su participación en la estructura de las proteínas, la clorofila y otros fotosintatos que intervienen en los procesos fisiológicos del vegetal. Así, el aumento de la disponibilidad de este elemento influye positivamente en la

movilización de las reservas de C y N de la planta después de la defoliación, y ello estimula el crecimiento y la producción de rebrotes y la rápida expansión de las hojas (Santos *et al.*, 2009; Pelletier *et al.*, 2006).

En este sentido, Fagundes *et al.* (2006); Moreira *et al.* (2009) y Santos *et al.* (2009) observaron un efecto significativo del N en la producción de biomasa de *B. decumbens* cv. Basilisk, dado por el incremento en el número y la masa de sus tallos vegetativos y reproductivos. También Costa *et al.* (2009) y Heinrichs *et al.* (2010) encontraron resultados similares en cultivares de *B. brizantha*.

La época de aplicación del fertilizante nitrogenado también tiene un efecto importante en la eficiencia de la utilización de este nutriente. Como se señaló anteriormente, es bien conocida la influencia de las variaciones estacionales del clima de las regiones tropicales en el rendimiento de los pastos (Fagundes *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2009), de modo que las mayores tasas de conversión de biomasa por unidad de N aplicado se obtienen durante el período de mayor crecimiento (Fagundes *et al.*, 2006; Mello *et al.*, 2008).

La fertilización nitrogenada influye en la composición química y el valor nutritivo de los pastos. El aumento de las dosis de N incrementa las concentraciones de N en la parte aérea y de hecho, sus contenidos de proteína bruta (Juárez-Hernández *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2008 a; Moreira *et al.*, 2009). Se conoce que valores de proteína bruta inferiores al 7 %, los cuales son comunes en los pastos no fertilizados con N, provocan una disminución del consumo de masa seca por los animales, en razón de un mayor tiempo de retención del alimento en el rumen (Van Soest, 1994).

El N, al estimular el crecimiento, aumenta la utilización de los carbohidratos disponibles para la formación de células y de protoplasma, en vez de incrementar el grosor de la pared celular. De este modo, se reducen los tenores de fibra y lignina, aumentando la digestibilidad y el valor nutritivo del pasto (Benett, 2007; Fabrício, 2007; Costa *et al.*, 2009). No obstante, las altas dosis de N pueden provocar tenores de nitritos en la biomasa, que pueden resultar tóxicos para los bovinos (Bonta, 2004). El efecto del N en el aumento de la relación hoja/tallo también es importante, pues una mayor proporción de lámina foliar mejora la calidad del pasto (Moreira *et al.*, 2009).

En relación con la influencia de la fertilización nitrogenada en las concentraciones de otros nutrientes en la biomasa, los resultados que aparecen en la literatura no son consistentes.

Algunos autores han observado reducciones en los tenores de K, Ca y Mg con el incremento de las dosis de N (Andrade *et al.*, 2000; Batista, 2002; Batista y Monteiro, 2010) y atribuyen este comportamiento a un efecto de dilución debido a un mayor crecimiento del pasto. Otros refieren un aumento de estos elementos por efecto de la fertilización nitrogenada (Primavesi *et al.*, 2005; Primavesi *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2008 a). Al parecer, el efecto del N en la concentración de estos macronutrientes en la biomasa, depende del nivel de fertilidad del suelo, la aplicación de otros fertilizantes, la especie de pasto, la época del año y las condiciones climáticas, entre otros factores (Crespo *et al.*, 1986).

En los sistemas intensivos de producción de pastos basados en el empleo de fertilizantes nitrogenados, dos razones justifican la necesidad de adoptar prácticas de manejo que contribuyan a mejorar la eficiencia de su utilización. La primera tiene un carácter netamente económico y se sustenta en el hecho de que el incremento creciente de los precios de los fertilizantes nitrogenados pone en riesgo la capacidad del productor para adquirirlos (Martha Jr. y Vilela, 2008). La segunda, con un carácter ambiental, no debe perder de vista la elevada demanda energética de la fabricación de urea, la cual fluctúa de 65 a 79.5 MJ kg⁻¹ N (Wells, 2001), ni el potencial de emisión equivalente de carbono de este proceso, cuyos valores se sitúan en el orden de 0.9 a 1.8 kg C kg⁻¹ de N (Lal, 2004).

2.2.1.1. La fijación biológica del N en gramíneas forrajeras

Si bien el N juega un papel importante en el incremento de la productividad y la calidad de la biomasa, no hay dudas de que la aplicación de las altas dosis de fertilizantes nitrogenados que demanda el monocultivo de pastos mejorados, puede comprometer la sostenibilidad de la producción de alimentos para el ganado, tanto por el aumento creciente de los precios de este insumo, como por los efectos perjudiciales que, en términos ambientales, conlleva el uso de elevados volúmenes de fertilizantes en los agroecosistemas de pastizales (Reis Jr. *et al.*, 2004). En este contexto, en las últimas décadas se ha prestado mucha atención a los estudios sobre la fijación biológica del N en gramíneas pratenses y forrajeras.

Según Neyra y Döbereiner (1977), la primera asociación de una gramínea forrajera tropical con bacterias fijadoras de N estudiada detalladamente, fue aquella descrita entre *Paspalum notatum* y *Azotobacter paspali*. De acuerdo con estos autores, en experimentos realizados

en condiciones controladas se estimaron valores de fijación del N del orden de $300 \text{ g N ha}^{-1} \text{ día}^{-1}$. Los estudios posteriores confirmaron que esta asociación puede garantizar a las gramíneas pratenses y forrajeras, parte del N que necesitan para su normal crecimiento y desarrollo y en consecuencia, reducir las aplicaciones de fertilizantes nitrogenados (Reis *et al.*, 2002). Se ha demostrado que algunas especies del género *Brachiaria* pueden acumular de 30 a 45 kg de N ha^{-1} a través de la fijación biológica (Boddey y Victoria, 1986).

Además de la fijación biológica del N, estas bacterias pueden producir otros beneficios a las plantas, a partir de la producción de auxinas, giberelinas y otras hormonas promotoras del crecimiento vegetal (Bazzicalupo y Okkon, 2000; Reis Jr. *et al.*, 2004).

Aunque los estudios relacionados con la fijación biológica del N en gramíneas forrajeras han demostrado que la contribución de la fijación biológica no sobrepasa el 30-40 % del N acumulado por las plantas, es posible que para sistemas de manejo más extensivos, donde las vías de pérdidas de este elemento sean menos significativas, las cantidades de N fijado sean suficientes para proporcionar un balance equilibrado y hasta positivo, para el sistema suelo-pasto (Reis Jr., *et al.*, 2002).

Más recientemente se han estado evaluando nuevas estirpes de bacterias fijadoras de N, llegándose a seleccionar algunas muy eficientes para promover el crecimiento de las gramíneas pratenses y forrajeras (Mantilla-Paredes *et al.*, 2009; da Silva, 2010). No obstante, existe una gran necesidad de profundizar en las investigaciones dirigidas a evaluar la contribución de la fijación biológica del N y la diversidad de microorganismos diazotróficos que se asocian con las plantas forrajeras, con el objetivo de establecer su verdadero potencial para promover el crecimiento de las plantas. El estudio detallado de esta asociación puede hacer a los pastos menos dependientes de la fertilización nitrogenada (Reis Jr. *et al.*, 2004; da Silva, 2010).

2.2.2. Fertilización fosfórica

Desde el punto de vista nutricional, una de las mayores dificultades para el establecimiento y mantenimiento de los pastos en los agroecosistemas ganaderos de las regiones tropicales se encuentra en los niveles extremadamente bajos de P disponible y total de muchos de sus suelos (Hoffmann *et al.*, 1995; Mesquita *et al.*, 2004). Además, el problema lo acrecienta la alta capacidad de adsorción de P de estos suelos, muy relacionada con sus elevados índices de acidez y altos tenores de Fe y Al (Macedo, 2004; Costa *et al.*, 2008 b).

Varios estudios han demostrado la importancia de la fertilización fosfatada para obtener un adecuado establecimiento y prolongar la vida útil de los pastizales. No obstante, las necesidades de P por los pastos varían en función de las características de los suelos y sus contenidos de este elemento, los requerimientos de las diferentes especies y cultivares de pastos, la disponibilidad de otros nutrientes y las condiciones climáticas, entre otros factores (Soares *et al.*, 2001; Oliveira *et al.*, 2003; Souza *et al.*, 2007; Ieiri *et al.*, 2010).

Las aplicaciones de P generalmente incrementan las concentraciones de este elemento en la biomasa del pasto, sobre todo en suelos muy deficientes, donde se necesitan dosis elevadas de fertilizante fosfatado para aumentar su productividad (Mesquita *et al.*, 2004; Moreira *et al.*, 2006). Sin embargo, el efecto del P en la composición química y el valor nutritivo del pasto parece estar más relacionado con su influencia en la absorción de otros nutrientes, fundamentalmente del N.

Por ejemplo, Mesquita *et al.* (2002) estudiaron el efecto de la aplicación de P en *B. decumbens* y observaron aumentos en los tenores de P y proteína bruta (PB) y en la digestibilidad *in vitro* de la MS, así como reducciones en las concentraciones de fibra neutro detergente (FDN) en la biomasa. Estos autores atribuyeron la influencia del P en el valor nutritivo del pasto, a un incremento de la eficiencia del uso del N. Por su parte, Oliveira *et al.* (2000) verificaron que la aplicación de P en *Panicum maximum* cv. Tanzania disminuyó el tenor de PB, debido a que el nutriente aceleró el crecimiento de la planta, alcanzando más rápido su madurez. Sin embargo, Euclides (1995) indicó que a pesar del efecto positivo del P en la producción de biomasa, este elemento tuvo poco efecto en el valor nutritivo del pasto.

Las recomendaciones de fertilizantes fosfatados para las gramíneas forrajeras tienen en cuenta los requerimientos de P de estas especies, los cuales están condicionados por los factores ya mencionados, y el tenor del elemento en el suelo. De modo que cuando este se encuentra por debajo de los valores óptimos para garantizar sus necesidades, debe esperarse respuesta a la fertilización fosfórica (Bonfim *et al.*, 2004; Souza *et al.*, 2010).

En el caso específico de los pastos del género *Brachiaria*, los mecanismos que contribuyen a su adaptación exitosa a los suelos ácidos e infértiles aun no se conocen en toda su magnitud. A pesar de que la baja disponibilidad de P en el suelo constituye uno de los factores más importantes que limitan el establecimiento de los pastos en el trópico, algunas

especies y cultivares son capaces de crecer y producir cantidades adecuadas de biomasa bajo estas condiciones (Cecato *et al.*, 2004; Magalhães *et al.*, 2007); otras necesitan de la aplicación de dosis relativamente altas de P para alcanzar su mayor productividad y persistencia (Soares *et al.*, 2001; Torteli, 2006).

Algunos estudios han indicado la mayor capacidad de *B. decumbens*, *B. ruziziensis* y *B.* híbrido cv. Mulato, en relación con otras especies de este género, para producir adecuados niveles de biomasa en presencia de muy bajos contenidos de P en el suelo o con la aplicación de dosis muy bajas de fertilizantes fosfatados. Ello se atribuye a su alta capacidad de absorción de nutrientes (Kanno *et al.*, 1999), a la presencia de transportadores de P y al incremento de la síntesis y exudación de ácidos orgánicos por su sistema radical, y también al papel de las micorrizas en la mejora de la nutrición fosfórica de las plantas (Nanamori *et al.*, 2004; Watanabe *et al.*, 2006; Low-Gaume, 2009).

2.2.3. Fertilización potásica

Los fertilizantes potásicos, por sí solos, incrementan poco la productividad de los pastos. Sin embargo, su interacción con el fertilizante nitrogenado es notable, sobre todo con las aplicaciones continuadas de este último (Crespo *et al.*, 1986; Souza *et al.*, 2007). En la medida que se incrementan las dosis de N, también aumenta la necesidad de aplicar K, no solo para obtener altos rendimientos, sino para mantener adecuados tenores de este nutriente en el suelo (Ávila, 1980; Hernández y Cárdenas, 1984; de Souza *et al.*, 2007). No obstante, Neto *et al.* (2009) observaron que la fertilización nitrogenada provocó un aumento lineal de la concentración de K en la biomasa de *B. brizantha* y del tenor de ese nutriente en la capa superficial del suelo (0-5 cm). Esto último lo atribuyen a un mayor retorno del nutriente a través de los residuos del forraje, como consecuencia del aumento de la producción de biomasa.

En condiciones de pastoreo, cantidades importantes de K pueden retornar al suelo con el residuo vegetal u hojarasca y las deyecciones de los animales, que pueden ser aprovechadas por las plantas (Crespo *et al.*, 2005). El K contenido en la hojarasca y las heces puede quedar disponible en un tiempo relativamente breve, ya que este elemento no forma parte de los compuestos orgánicos de tales residuos, sino que se encuentra en estos en forma de ion (Schunke, 2001).

En las áreas de corte fertilizadas con N, las necesidades de K suelen ser mayores y tienden a incrementarse con el tiempo, en función de las cantidades de K que exporta la biomasa; por lo tanto, la fertilización potásica resulta necesaria para no agotar los contenidos del nutriente en el suelo y mantener la productividad de la planta. Algunos autores han encontrado aumentos significativos de los rendimientos de MS en pastos de los géneros *Brachiaria* y *Panicum* cultivados en suelos deficientes en K, con la aplicación de este nutriente vía fertilización (Mattos y Monteiro, 1998; Gama-Rodrigues *et al.*, 2002; Deminicis *et al.*, 2010).

En experimentos realizados en condiciones controladas con especies de estos mismos géneros, se ha encontrado un efecto positivo de la fertilización potásica en el área foliar y la longevidad de las hojas, en el incremento de MS de la parte aérea y de las raíces, y en las concentraciones de K en la biomasa (Mattos y Monteiro, 1999; Gama-Rodrigues *et al.*, 2002; Scaramuzza *et al.*, 2007).

Hasta hace pocos años, las investigaciones relacionadas con la fertilización de los pastos se enfocaban, fundamentalmente, en el incremento de la producción de biomasa por unidad de superficie y el establecimiento de los límites económicos para el uso de los fertilizantes. Actualmente, amén de las consideraciones económicas que conlleva el uso de los fertilizantes, se le concede una importancia primordial a la preservación del ambiente, de modo que se ha acrecentado la necesidad de diseñar estrategias de fertilización que garanticen una nutrición adecuada de los pastos y a la vez, aseguren la protección de los recursos naturales (Martha Jr., 2003; Costa *et al.*, 2006).

2.3. Hongos micorrizógenos arbusculares

El término micorriza se refiere a la asociación simbiótica mutualista que se establece entre la mayoría de las plantas vasculares y ciertos hongos del suelo, los cuales colonizan el tejido cortical de las raíces durante el período de crecimiento activo de la planta (Brundrett, 2002; Smith y Read, 2008).

Actualmente se reconocen siete tipos de asociaciones micorrízicas en base a sus características anatómicas y estructurales; sin embargo, son las micorrizas arbusculares las que constituyen el tipo de asociación simbiótica más extendido en la naturaleza, pues la establecen más del 80 % de las plantas vasculares y se encuentran prácticamente en la totalidad de los ecosistemas terrestres (Allen *et al.*, 2003; Cornejo, 2006).

Los HMA probablemente sean los hongos del suelo más abundantes en los sistemas agrícolas, donde pueden representar más del 30 % de su masa microbiana. Debido a esa ubicuidad, la simbiosis micorrízica ha sido considerada la más importante de todas las que involucran a las plantas (Göransson *et al.*, 2008).

Esta asociación es simbiótica por el hecho de que los organismos coexisten en un mismo ambiente físico: raíz y suelo; y mutualista porque en general ambos simbioses se benefician de la asociación, o sea, la planta sule al hongo con energía para su crecimiento y manutención, vía productos fotosintéticos (Cruz *et al.*, 2007; Smith y Read, 2008), en tanto que el hongo provee a la planta de nutrientes y agua (Berbara *et al.*, 2006; Siddiqui *et al.*, 2008). Los HMA pueden ser canales de drenaje de C desde la atmósfera hacia el suelo, a través de las plantas (Berbara *et al.*, 2006); se estima que globalmente pueden ser responsables del drenaje anual de 5 Gt de este elemento a los suelos (Bago *et al.*, 2000).

Estos microorganismos influyen en el crecimiento de las plantas de varias maneras (Klironomos, 2003; Koide y Mosse, 2004). La hifa extrarradical se extiende varios centímetros en el suelo y ayuda a las plantas a absorber los nutrientes minerales, especialmente los que se encuentran en formas menos disponibles tales como el P, el Zn y el Cu (Marschner y Dell, 1994). Las hifas extrarradicales son más eficientes que las raíces para absorber los nutrientes, pues debido a su estructura extremadamente larga y fina, pueden explorar volúmenes de suelo intangibles para las estructuras radicales de las plantas (Read y Pérez-Moreno, 2002).

Otros beneficios de la asociación también se derivan de una mayor resistencia de la planta micorrizada al ataque de patógenos del sistema radical (Klironomos, 2003; Akhtar y Siddiqui, 2007), a la presencia de metales pesados en el suelo (Klauberger Filho *et al.*, 2005), al estrés hídrico (Montaño *et al.*, 2007) o a condiciones extremas de pH del suelo (Kanno *et al.*, 2006). La red de hifas extrarradicales y ciertas sustancias secretadas por el hongo durante la asociación también contribuyen a la formación de agregados estables en el suelo y de hecho, a la conservación de su estructura física (Rilling, 2004).

2.3.1. Papel de los HMA en la nutrición de las plantas

El papel de las micorizas arbusculares en la nutrición ha sido uno de los aspectos más estudiados, debido a su influencia en el crecimiento y desarrollo de las plantas. La mejora que ocasiona la simbiosis en su estado nutricional, como se planteó anteriormente, está

íntimamente relacionada con el aumento del volumen de suelo que exploran las raíces y con la posibilidad de absorber nutrientes de fuentes minerales y orgánicas no disponibles para las plantas per se. (Clark y Zeto, 2000; Govindarajulu *et al.*, 2005; Covacevich *et al.*, 2006; Leigh *et al.*, 2009).

Entre los nutrientes cuya absorción se favorece por la acción de las micorrizas, el P es uno de los más importantes, pues entre un 95 y un 99 % de las cantidades de este elemento presentes en el suelo se encuentran en formas no disponibles para las plantas (Smith y Read, 2008). El P es un macronutriente presente en el suelo en bajas concentraciones (principalmente en las regiones tropicales) y se caracteriza por su baja movilidad. En esas condiciones los HMA asumen un papel determinante en la supervivencia de diversas especies vegetales, pero sobre todo en aquellas incapaces de absorber formas menos móviles de este elemento (Atul-Nayyar *et al.*, 2009).

La absorción y transferencia de P a la planta mediante las hifas del hongo, es un proceso rápido y eficiente, debido a la presencia de transportadores de H_2PO_4^- de alta afinidad (Requena *et al.*, 2003; Yao *et al.*, 2008). El H_2PO_4^- absorbido es rápidamente transformado en polifosfato en el micelio extrarradical (Ezawa *et al.*, 2004). También se ha señalado la presencia de varios transportadores de H_2PO_4^- en las células colonizadas por arbusculos y que son responsables de la entrada de P en la célula hospedera (Harrison *et al.*, 2002).

Las hifas de los HMA presentan la capacidad de absorber tanto NO_3^- como NH_4^+ del suelo (Toussaint *et al.*, 2004, Govindarajulu *et al.*, 2005) y se ha estudiado la posibilidad de que puedan también absorber cantidades importantes de N orgánico (Gryndler, *et al.*, 2009; Leigh *et al.*, 2009). Se ha descrito la existencia de un transportador de alta afinidad por el NH_4^+ , expresado en las hifas extrarradicales de *Glomus intraradices* (López-Pedrosa *et al.*, 2006).

Aunque no hay evidencia directa de saprotrofia por parte de los HMA (Smith y Read, 2008), las hifas colonizan extensivamente el suelo, incrementando la posibilidad de encontrar material orgánico rico en nutrientes en proceso de descomposición. En un ambiente donde la competencia por los nutrientes es alta, el incremento de la superficie de absorción efectiva podría mejorar el acceso de la planta al N y a otros nutrientes.

Se ha demostrado que los HMA adquieren N de la materia orgánica y lo transfieren a la planta hospedera (Hodge *et al.*, 2001; Reynolds *et al.*, 2005). Estudios realizados por Leigh

et al. (2009), encontraron que estos microorganismos capturaron grandes cantidades de N (hasta un tercio del N absorbido) y lo transfirieron a la planta. Este hallazgo indicó que la absorción de N orgánico puede ser importante en la simbiosis, tanto para la planta como para el hongo y que algunos HMA pueden adquirir N a partir de fuentes orgánicas.

Si bien el papel de los HMA en la mineralización de la materia orgánica aun no está muy documentado, se han encontrado arbusculos y vesículas dentro de la propia materia orgánica, así como evidencias de la absorción de N mineral y aminoácidos procedentes de su descomposición (Aristizábal *et al.*, 2004; Hamel, 2004, Gobindarajulu *et al.*, 2005). Otros estudios más recientes han revelado que el micelio extrarradical de los HMA excretan enzimas hidrolíticas que pueden estar involucradas en la descomposición de la materia orgánica (Gryndler *et al.*, 2009).

En relación con el efecto de los HMA en la absorción de otros nutrientes como el K, Ca, Mg y S, e incluso los microelementos, si bien no abundan los estudios sobre los mecanismos fisiológicos y bioquímicos que gobiernan estos procesos, se ha sugerido que la influencia de los HMA en la absorción y transferencia de tales elementos está directamente relacionada con el aumento del volumen de suelo que pueden explorar las propias micorrizas (Janos, 2007). De hecho, Ryan *et al.* (2003) identificaron en las hifas intrarradicales tenores de K y Ca muy superiores a los encontrados en los suelos y en tejidos vegetales, confirmando la capacidad de los HMA de absorber y acumular ambos elementos minerales.

La interacción de los HMA con otros microorganismos del suelo también puede influir en el estado nutricional de las plantas. Esta interacción incluye el suministro de energía a través de compuestos carbonados procedentes de la planta hospedera, los cambios en el pH de la micorrizosfera inducidos por el hongo y la exudación de sustancias que estimulan o inhiben la actividad de los otros microorganismos (Ike-Izundu, 2007; Atul-Nayyar *et al.*, 2009). En este sentido, Barea *et al.* (2002); Chalk *et al.* (2006) e Ike-Izundu (2007), observaron interacciones sinérgicas entre los HMA y rizobacterias fijadoras de N, solubilizadoras de fosfatos o promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y consecuentemente, mejoras en el estado nutricional de las plantas.

2.3.2. Las asociaciones micorrízicas en los agroecosistemas de pastizales

Los HMA son muy abundantes en los pastizales y de hecho se asume que juegan un papel muy importante en el funcionamiento del ecosistema. Desde la perspectiva de la nutrición de las plantas, la abundancia de arbusculos e hifas extrarradicales, en relación con otras estructuras micorrízicas, puede indicar un funcionamiento mutualista efectivo, debido a que estas están directamente relacionadas con el suministro de nutrientes y agua a la planta hospedera (Johnson *et al.*, 2003).

Según Miller *et al.* (1995), en los suelos cubiertos de pastizales, las hifas extrarradicales forman una extensa red de micelios que puede alcanzar hasta 111 m por cm³ de suelo. Adicionalmente, esas hifas inician nuevos sitios de colonización y conectan los sistemas radicales de las comunidades de plantas que cohabitan en el mismo. Ello, unido a la reproducción asexual del hongo a través de las esporas, contribuye a la extensión y constante renovación de un complejo y eficiente sistema de absorción de nutrientes.

Bingham y Biondini (2009) plantean que la conservación de la red de hifas debe ser uno de los objetivos fundamentales de las prácticas agronómicas para el establecimiento, mantenimiento y restauración de los pastizales debido a dos razones fundamentales: 1) la contribución potencial que la longitud de la hifa puede hacer a la mejora de la productividad y al mantenimiento de la estabilidad de la comunidad de plantas y 2) el efecto recíproco que la diversidad de plantas podría traer a la longitud de las hifas para una utilización más eficiente de los nutrientes.

2.3.3. Factores relacionados con el funcionamiento de la simbiosis micorrízica en los agroecosistemas de pastizales

Varios factores afectan el establecimiento y funcionamiento de la simbiosis micorrízica en los agroecosistemas de pastizales; sin embargo, las condiciones climáticas y las características de los suelos, las especies y cultivares, así como su manejo, influyen decisivamente en estas variables (Leake *et al.*, 2004; Kanno *et al.*, 2006; Santos-González, 2007; Yang *et al.*, 2010).

2.3.3.1. Condiciones climáticas

Las variaciones estacionales del clima influyen directamente en la productividad y calidad de los pastos tropicales y de hecho, en su funcionamiento micorrízico (García y Mendoza, 2008). Así, el rápido crecimiento de las plantas y la alta producción de biomasa que se

produce durante la época donde concurren los mayores niveles de precipitaciones, temperatura y luminosidad, propicia una mayor demanda de nutrientes y en consecuencia, la síntesis de sustancias carbonadas y otros fotosintatos que intervienen en la simbiosis, lo cual se expresa en la formación de mayores cantidades de estructuras fúngicas (Lugo *et al.*, 2003; de Oliveira y de Oliveira, 2005).

Escudero y Mendoza (2005); Lingfei *et al.* (2005); Mandyam y Jumpponen (2008) y Saito y Sugawara (2010), demostraron la existencia de una marcada estacionalidad, tanto en la actividad de la simbiosis como en la presencia de propágulos infectivos del hongo, cuyos niveles de colonización y presencia de arbusculos, vesículas o esporas, alcanzaron sus máximos valores en el verano, como consecuencia de la mayor actividad metabólica de la planta y humedad del suelo.

Además, como el costo energético de la colonización micorrízica suele ser alto (se plantea que hasta un 20 % del C fijado puede ser entregado al simbionte microbiano), durante la época de mayor crecimiento, las plantas estarían en mejores condiciones de destinar recursos para la formación y el mantenimiento de dichas estructuras (Siddiqui *et al.*, 2008).

Miller *et al.* (1995) observaron que tanto la longitud de las hifas de los HMA como la longitud específica de la raíz se redujeron significativamente durante la época de seca; sin embargo, la recuperación de los pastos con la llegada del período lluvioso estuvo estrechamente relacionada con el aumento de ambas variables.

Los estudios de Johnson *et al.* (2003) realizados en un amplio rango de ecosistemas de pastizales, indicaron que la distribución de las estructuras micorrízicas es dinámica a través del tiempo y puede incrementar o decrecer en respuesta a las variaciones estacionales de las precipitaciones, la temperatura y la radiación solar, y advierte la necesidad de tomar precauciones a la hora de extrapolar los estudios de las variables micorrízicas en cultivos de ciclo largo basados en una simple fecha de muestreo.

2.3.3.2. Características de los suelos

De acuerdo con los principios de la ecología, el éxito de la simbiosis micorrízica depende no solo de los genotipos de plantas y hongos, sino también de las condiciones del ambiente (Herrera *et al.*, 2010). La especificidad funcional que existe entre las plantas y los HMA ha sido bien documentada (Klironomos, 2003; Leake *et al.*, 2004; Göransson *et al.*, 2008) y aunque la influencia del suelo en los genotipos de HMA es aun pobremente entendida,

algunos autores reconocen que el suelo impone una fuerte presión de selección sobre los HMA (Hamel, 2007; Helgason y Fitter, 2009).

Hay mucha evidencia que soporta la hipótesis de que las propiedades del suelo ejercen una gran influencia en los HMA (Johnson *et al.*, 2005; Johnson *et al.*, 2008; Mechri *et al.*, 2008; Gryndler *et al.*, 2009). Por ejemplo, Posada *et al.* (2008) encontraron una mayor cantidad de esporas de HMA en los sitios de mayor fertilidad, de modo que 9 de las 11 propiedades que definen la fertilidad del suelo se relacionaron de manera directa y significativa con esta variable. Por su parte, Oehl *et al.* (2010) observaron que la diversidad y composición de la comunidad de HMA dependió fuertemente del tipo de suelo y la intensidad de su uso.

Otros estudios relacionan la ocurrencia y abundancia de determinadas especies de HMA con las características físicas y químicas del suelo, tales como la textura, el pH, y el contenido de materia orgánica y nutrientes, particularmente con la disponibilidad de P (Uhlmann *et al.*, 2004; Landis *et al.*, 2005; Kanno *et al.*, 2006; Bashan *et al.*, 2007; Peña-Venegas *et al.*, 2007); de este modo, las condiciones edáficas pueden ejercer una fuerte presión selectiva sobre los HMA, resultando en cambios en la composición de la comunidad de estos microorganismos (Mathimaran *et al.*, 2005).

En Cuba, a partir de los años 90 se realizaron varios grupos de experimentos que permitieron establecer las bases para el manejo de las asociaciones micorrízicas partiendo de tres presupuestos principales: la inoculación de especies eficientes de HMA, la importancia del ambiente edáfico en la selección de cepas eficientes y la influencia del suministro de nutrientes sobre la efectividad de la simbiosis (Rivera y Fernández, 2003).

El resultado más interesante de estos estudios fue que, con independencia de los cultivos, existió para cada suelo una cepa altamente eficiente, con cuya inoculación se obtuvieron las mayores respuestas. En todos los casos se observó una alta especificidad suelo-cepa eficiente, de modo que su comportamiento estuvo estrechamente relacionado con el tipo de suelo y presumiblemente, con su fertilidad asociada. Si bien en cierta medida se manifestó la especificidad cepa-cultivo, de ningún modo varió el criterio de selección de cepas eficientes para cada condición edáfica.

Herrera *et al.* (2010), analizando los datos de más de 100 experimentos conducidos en suelos con historiales de agricultura de altos y bajos insumos y con diferentes cultivos,

observaron que la respuesta de la planta a la inoculación con diferentes cepas de HMA en suelos con agricultura de bajos insumos, estuvo relacionada con las propiedades asociadas con los tipos de suelos. Concluyeron que el conocimiento del comportamiento de las cepas de HMA en ambientes determinados, puede ser la clave para el manejo eficiente de la simbiosis micorrízica arbuscular, vía inoculación, en los agroecosistemas.

2.3.3.3. Especies de pastos y su manejo

Según Cornejo (2006), numerosas investigaciones han indicado que, aunque no existe evidencia de una especificidad hongo-planta estricta, no todas las especies de HMA colonizan con la misma intensidad y eficiencia las distintas especies vegetales, lo que demuestra la existencia de distintos grados de compatibilidad funcional en la simbiosis, como resultado de las influencias del ambiente sobre la expresión genotípica de ambos simbioses.

Burrows y Pflieger (2002) aducen que aunque los HMA pueden colonizar un amplio rango de plantas, el grado de beneficio en la interacción HMA-planta hospedera puede depender de las particularidades de los simbioses. De hecho, las variaciones de la dependencia micorrízica de las plantas cultivadas pueden estar relacionadas con su capacidad para la absorción de nutrientes. Otros factores tales como la superficie radical, la abundancia y longitud de los pelos absorbentes de la raíz, la tasa de crecimiento, la respuesta a las condiciones del suelo y los exudados radicales, pueden estar relacionados con la dependencia de la simbiosis para la absorción de nutrientes (Siquiera y Franco, 1988; Sieverding, 1991; Janos, 2007).

En relación con los pastos, un estudio realizado por Saif (1987) con 24 especies forrajeras, incluidas *B. decumbens*, *B. brizantha*, *B. humidicola* y *Panicum maximum*, cultivadas en un Oxisol con pH fuertemente ácido, reveló que la dependencia micorrízica de estas especies fue disminuyendo en ese mismo orden. Sin embargo, Kanno *et al.* (2006), trabajando con estas mismas especies de pastos en un suelo con similar valor de acidez, encontró que la mayor dependencia micorrízica correspondió a *P. maximum*, lo que atribuyó a las características intrínsecas del cultivar de esta especie que incluyó en el estudio.

El impacto del manejo de los pastizales en las poblaciones de HMA y su efecto en la comunidad de plantas aun no se comprende muy bien, pero parece ser sustancial teniendo en cuenta que los HMA adquieren todo su carbono de las plantas vivas. En condiciones

experimentales se ha encontrado que el enriquecimiento de los pastos con N, decrece, aumenta, o no tiene efecto sobre la colonización de las raíces. Tales inconsistencias parecen atribuirse a las diferencias en la fertilidad inicial de los suelos (fundamentalmente N y P), a las condiciones climáticas de cada ecosistema, al propio manejo del pastizal y a la comunidad de hospederos (Corkidi *et al.*, 2002; Johnson *et al.*, 2003; Bradley *et al.*, 2006; Johnson *et al.*, 2008).

En los agroecosistemas de pastizales se ha observado que la disponibilidad de nutrientes en el suelo controla el crecimiento de las estructuras intra y extrarradicales. De este modo, la distribución de arbusculos e hifas extrarradicales se reduce cuando los pastos han sido suficientemente fertilizados, ya que la entrega de tales recursos a la planta hospedera a través de los HMA pierde importancia (Johnson *et al.*, 2003; Gustafson y Casper, 2004).

En este sentido, se ha podido constatar que las aplicaciones sistemáticas de N reducen las estructuras intra y extrarradicales de los pastos, si el P no constituye un nutriente limitante; pero las incrementa cuando existen deficiencias de este elemento, ya que las plantas demandarían más estructuras micorrízicas para garantizar el mayor requerimiento de P que impone el crecimiento del pasto a causa de la fertilización nitrogenada (Johnson *et al.*, 2003; Egerton *et al.*, 2007; Delbem *et al.*, 2010).

Jumpponen (2005) y Santos (2007) encontraron una correlación significativa entre los niveles de N mineral del suelo y el número de HMA en las raíces del pasto, aunque este último autor también plantea la probabilidad de que bajo condiciones de una abundancia relativa de N, las raíces pudieran ser colonizadas predominantemente por especies de HMA con alguna preferencia por este elemento.

Por otra parte, la aplicación excesiva de fertilizante nitrogenado, principalmente en suelos bien abastecidos de P, altera la colonización de las raíces por los HMA, decrece el desarrollo de las hifas extramatriciales, modifica el funcionamiento de la relación simbiote-hospedero y cambia la composición de las comunidades de HMA en los pastizales, pudiendo prevalecer especies con una capacidad inferior o menos eficientes para promover el crecimiento de las plantas (Corkidi *et al.*, 2002; Gustafson y Casper, 2004; Sigüenza *et al.*, 2006). Además, los cambios de pH inducidos por las aplicaciones de altas dosis de N durante períodos prolongados de tiempo también pueden contribuir a modificar las poblaciones y comunidades de HMA (Bradley *et al.*, 2006).

Los efectos de la fertilización fosfórica en las comunidades de HMA están influenciados por la fuente y la cantidad de P que se adiciona al suelo. Las aplicaciones de dosis altas de fertilizantes que aportan P soluble incrementan su concentración en la solución del suelo y en el tejido de las plantas, y a la vez decrecen las estructuras micorrízicas como consecuencia de la disminución su papel en la absorción de este elemento (Santos *et al.*, 2002; Vierheiling, 2004; Lima *et al.*, 2007; Carneiro *et al.*, 2010).

No obstante, el uso de dosis moderadas de P soluble o de fuentes de P menos solubles como las rocas fosfóricas, tienen un menor efecto inmediato en el aumento de los contenidos de P en el suelo y en las concentraciones de P de las plantas y pudieran no tener un efecto inhibitorio sobre las asociaciones micorrízicas (Toro *et al.*, 1997; Covacevich *et al.*, 2006).

Los fertilizantes orgánicos generalmente potencian la formación de estructuras micorrízicas (Muthukumar y Udaiyan, 2002; Ike-Izundu, 2007; da Silva *et al.*, 2008), y ello puede atribuirse a la estimulación de los HMA debido a la presencia de ciertos compuestos orgánicos y a la propia mineralización de la materia orgánica (Gryndler *et al.*, 2009).

Joner (2000) en experimentos de larga duración observó que cantidades moderadas de abono orgánico tuvieron un efecto adverso menor que la aplicación de cantidades equivalentes de nutrientes en fertilizantes minerales, lo cual pudiera deberse a la gradual liberación nutrientes de la fuente orgánica, fundamentalmente P, más acorde con la demanda de las plantas. No obstante, el efecto del uso de fertilizantes orgánicos en las asociaciones micorrízicas parece depender de la fuente de abono orgánico y su tasa de descomposición, así como de la dosis y frecuencia de aplicación del mismo (Millaleo *et al.*, 2006; Ike-Izundu, 2007; Ngosong *et al.*, 2010).

Los beneficios de las enmiendas orgánicas en las poblaciones de HMA también se atribuyen a su efecto en las propiedades físicas del suelo, cuya mejora incrementa la actividad microbiana e influye positivamente en la distribución de los nutrientes a través del perfil (Oehl *et al.*, 2004; Gosling *et al.*, 2006; Alguacil *et al.*, 2009).

En relación con el efecto de la remoción frecuente de la biomasa aérea de los pastos sobre la colonización de las raíces por los HMA, se presentan resultados contradictorios. Algunos autores plantean que el corte o el pastoreo declina (Bethlenfalvay *et al.*, 1984; Staddon *et*

al., 2003), favorece (Eom *et al.*, 2001), o no tiene efecto en las estructuras micorrízicas (Lugo *et al.*, 2003).

Se reconoce que el efecto de los HMA en la mejora de la nutrición de los pastos contribuye a la recuperación de la planta después de la defoliación, especialmente cuando crecen en condiciones de baja disponibilidad de nutrientes. Entonces, las plantas con mayor actividad micorrízica tendrían una mayor capacidad para reemplazar la biomasa aérea perdida (Eom *et al.*, 2001).

En los pastos con abundantes estructuras micorrízicas, las plantas quedan interconectadas y ello contribuye a reducir el estrés que causa el corte o el pastoreo. Además, el aumento de dichas estructuras por efecto de la defoliación parece estar relacionado con el hecho de que la planta, al perder el área fotosintética, incrementa la colonización para mejorar la absorción de nutrientes y con ello estimular el rebrote (Eom *et al.*, 2001; Walling y Zabinski, 2006). No obstante, una alta frecuencia de defoliación puede afectar el suministro de C hacia el hongo y reducir la intensidad de la colonización (Staddon *et al.*, 2003).

El establecimiento de pastizales también modifica las comunidades de HMA, así como su abundancia y efectividad. La reducción de la diversidad de especies vegetales que ocurre cuando se establece una especie de pasto en monocultivo, puede disminuir significativamente la diversidad de especies de HMA, llegando a prevalecer aquellas que mejor se adaptan a la nueva condición, pero no necesariamente las más eficientes para producir un funcionamiento micorrízico adecuado (Burrows y Pflieger; 2002; Egerton *et al.*, 2007; Lingfei *et al.*, 2007; Bingham y Biondini, 2009).

Aunque a través del tiempo se siguen produciendo cambios en las comunidades de HMA debido a las modificaciones que impone el manejo de los pastos en las propiedades de los suelos y hasta en la propia comunidad de plantas (Wilberforce *et al.*, 2003; Hawkes *et al.*, 2006), el ingreso de nuevas especies de HMA o el reingreso de las existentes antes de su establecimiento sería muy poco probable, debido a la baja capacidad de dispersión de los hongos hipógeos (Lovera y Cuenca, 2007).

2.3.4. Perspectivas del manejo efectivo de las asociaciones micorrízicas en los agroecosistemas de pastizales

Una de las causas de la degradación de los pastizales es el empobrecimiento de los suelos en razón de la disminución de su fertilidad. Muchos factores influyen en la pérdida de la

fertilidad de los suelos en estos ecosistemas, entre los cuales se incluyen el clima, la disponibilidad de los nutrientes, el sistema de explotación, la composición de las especies de pastos, el tipo y estructura del suelo, así como los macro, meso y microorganismos que habitan en la comunidad (Herzog *et al.*, 2008; Phoenix *et al.*, 2008).

Algunos estudios sugieren que las micorrizas contribuyen decisivamente a la reducción de la pérdida de los nutrientes en estos agroecosistemas. Por ejemplo, Van der Heijden (2010) observó en tres pastizales micorrizados, formados cada uno por una especie de pasto, que las pérdidas de P y N se redujeron significativamente, en comparación con aquellos formados por esas mismas especies, pero en ausencia de micorrización. Los resultados indicaron que los HMA contribuyeron a la sostenibilidad del ecosistema, promoviendo un ciclo del P cerrado y reduciendo las pérdidas de este elemento.

Entonces, un manejo efectivo de la simbiosis micorrízica que contribuya a reducir las pérdidas de nutrientes y de hecho, las elevadas dosis de fertilizantes que requieren los pastos, puede ser una práctica promisorias, en términos ecológicos, económicos y ambientales (Johnson *et al.*, 2005; Covacevich *et al.*, 2006; Carneiro *et al.*, 2010).

La introducción de cepas de HMA seleccionadas puede ser una opción de manejo deseable e incluso necesaria, en los casos en que los hongos que residen en el suelo no sean lo suficientemente efectivos para producir una respuesta agronómica importante en los cultivos. Esta puede considerarse exitosa si se logra establecer una población adecuadamente alta para competir con los HMA residentes o nativos y obtener los beneficios deseados (Sieverding, 1991; Caravaca *et al.*, 2003; de Miranda, 2008; Carneiro *et al.*, 2010).

Según Berbara *et al.* (2006), el máximo beneficio de la inoculación con HMA solo se conseguirá después de una selección muy controlada del hongo o del consorcio de hongos que demuestren el más alto nivel de compatibilidad funcional y ecológica para cada sistema suelo-planta, y que coexistan con la diversidad natural de las comunidades del ecosistema del que formarán parte.

En los últimos años, a partir del reconocimiento de la importancia funcional y ecológica de los HMA en los agroecosistemas de pastizales, han aumentado los estudios acerca de la influencia de las asociaciones micorrízicas en la mejora de la nutrición y la productividad

de los pastos, así como su efecto en la reducción de las dosis de fertilizantes a aplicar a estos cultivos.

Carneiro *et al.* (2007) observaron que la inoculación de HMA y la aplicación de dosis de P en *Andropogon gayanus* cultivado en sustrato no estéril, promovieron incrementos significativos en la producción de MS y la acumulación de nutrientes por el pasto. Estos efectos fueron mayores con la inoculación de *Glomus clarum* que con la inoculación de HMA nativos.

Carneiro *et al.* (2010) encontraron una reducción del 82.8 y 71.3 % del requerimiento externo de P para el establecimiento de *Stylosanthes guianensis*, mediante la inoculación de *G. clarum* e inóculo nativo, respectivamente. También Fassio *et al.* (2008) observaron que la fertilización mineral combinada con la inoculación con HMA incrementó la producción de biomasa aérea de *B. brizantha* cv Marandú y contribuyó a la recuperación del pasto.

Si bien a partir de estos y otros estudios se infiere que la inoculación de cepas de HMA eficientes puede ser una estrategia promisoriosa para la mejora del estado nutricional y la productividad de los pastos (Díaz y Garza, 2006; Carneiro *et al.*, 2008; Delben *et al.*, 2010), se precisa de nuevas investigaciones que contribuyan a establecer las bases científico-tecnológicas para lograr su manejo efectivo.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron 16 experimentos de campo, los cuales se ubicaron en dos localidades con diferentes condiciones edáficas, todas pertenecientes a la Empresa Pecuaria Genética (EPG) Niña Bonita, situada en el municipio de Bauta, provincia de Artemisa. Las localidades fueron la Microestación de Pastos y Forrajes y el área de producción de forraje Encarnación. Los experimentos se distribuyeron en cuatro grupos:

Grupo 1: Selección de cepas eficientes de HMA para pastos del género *Brachiaria* cultivados en suelos Ferralítico Rojo Lixiviado y Vertisol Pélico.

Grupo 2: Influencia de la fertilización mineral, la especie de pasto y la época del año, en la efectividad de la inoculación con la cepa eficiente de HMA en *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk y *Brachiaria* híbrido cv. Mulato, cultivados en suelos Ferralítico Rojo Lixiviado y Vertisol Pélico.

Grupo 3: Dosis de inoculante micorrízico para *B. decumbens* cv. Basilisk y *B. híbrido* cv. Mulato, establecidos en suelo Ferralítico Rojo Lixiviado.

Grupo 4: Efecto de las inoculaciones sucesivas con HMA sobre los requerimientos de fertilizantes minerales de *B. decumbens* cv. Basilisk cultivado en el suelo Ferralítico Rojo.

A partir de la integración de los resultados de los experimentos, en la Unidad de producción de forraje Chirigota, ubicada en la propia Empresa, se validó a escala de producción un esquema de fertilización con la inclusión de HMA.

3.1. Suelos y clima

Los suelos de la Microestación de Pastos y Forrajes y del área de producción de forraje Encarnación, en los cuales se condujeron los experimentos, se clasificaron como Ferralítico Rojo Lixiviado típico, eutrico y Vertisol Pélico, gleyzoso, carbonatado, respectivamente, según la Nueva Versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba, (MINAG, 1999), y se corresponden, en ese orden, con los suelos Nitisol Ferrálico Lítico, Eutrico, Ródico y Vertisol Stagnico Mólico, Cálcico, Húmico, Pélico, de acuerdo con la Base Referencial Mundial del Recurso Suelo (IUSS, 2008). El suelo de la unidad de producción de forraje de Chirigota, también se clasificó como Ferralítico Rojo Lixiviado, y poseía características morfológicas muy similares al de la Microestación de Pastos y Forrajes. La descripción de los perfiles de los suelos se puede consultar en el Anexo 1 y sus principales características

químicas, así como los contenidos iniciales de esporas de HMA residentes en el horizonte cultivable (0-20 cm), se presentan en la Tabla 1.

Los suelos del tipo Ferralítico Rojo Lixiviado, de la Microestación de Pastos y Forrajes y la unidad de producción de forraje Chirigota, presentaron características químicas muy similares, destacándose un pH ligeramente ácido, bajos contenidos de fósforo asimilable (P_2O_5) y contenidos medios de materia orgánica y potasio intercambiable (K^+). El Ca^{2+} , Mg^{2+} y la capacidad de intercambio de bases (CCB) presentaron valores característicos de este tipo de suelo (Mesa *et al.*, 1984; Paneque y Calaña, 2001).

Tabla 1. Características químicas y contenido de esporas de HMA residentes de los suelos de las áreas experimentales.

Localidad	Tipo de suelo	pH H ₂ O	MO (%)	P ₂ O ₅ (mg 100 g ⁻¹)	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	CCB	Esp. HMA. 50 g ⁻¹ de suelo
					(cmol _c kg ⁻¹)					
Microestación de Pastos	FRL	6.3	3.25	2.8	9.7	2.2	0.15	0.34	12.40	109
	±IC	0.2	0.31	0.6	0.8	0.3	0.02	0.03	0.76	18
Encarnación	VPG	7.2	4.68	12.9	33.2	6.9	0.55	0.41	41.06	312
	±IC	0.3	0.43	1.6	2.7	0.6	0.09	0.12	2.23	32
Chirigota	FRL	6.1	3.17	2.3	8.9	2.0	0.11	0.32	11.33	89
	±IC	0.4	0.37	0.8	0.9	0.4	0.03	0.06	0.81	20

FRL: Ferralítico Rojo Lixiviado, VPG: Vertisol Pélico Gleyzoso IC: intervalo de confianza (P<0.05). MO: materia orgánica. Esp. HMA: número de esporas de HMA en 50 g de suelo seco.

El suelo Vertisol Pélico presentó un pH neutro, alto contenido de P_2O_5 y contenidos medios de materia orgánica y K^+ . La CCB y los contenidos de Ca^{2+} y Mg^{2+} fueron altos (Mesa *et al.*, 1984; Paneque y Calaña, 2001), representativos de este tipo de suelo (MINAG, 1999). El contenido inicial de esporas procedentes de HMA residentes o nativos fue mayor en este suelo que en los Ferralíticos.

En relación con el comportamiento de las variables meteorológicas durante el período en que se realizaron los experimentos, todos los años se observaron dos épocas muy bien definidas, una lluviosa comprendida entre los meses de mayo y octubre, donde se acumuló, como promedio, el 77 % de las precipitaciones anuales, y otra poco lluviosa, donde estas solo representaron el 23 % del total de cada año. El promedio de precipitaciones anuales fue de 1 287 mm. Entre mayo y octubre también se registraron los mayores valores de las temperaturas media (25.7-27.8 °C), máxima (30.5-32.5 °C), y mínima (20.7-23.2 °C), así como de la humedad relativa (INSMET, 2010). En el anexo 2 se muestran los valores

mensuales de precipitaciones, temperatura máxima, media y mínima, y de humedad relativa, durante los años en que se ejecutaron los experimentos.

3.2. Descripción de los experimentos

3.2.1. Grupo 1: Selección de cepas de HMA eficientes para pastos del género *Brachiaria* cultivados en suelos Ferralítico Rojo Lixiviado y Vertisol Pélico

Se ejecutaron dos experimentos, uno en el suelo Ferralítico Rojo Lixiviado y otro en el Vertisol Pélico, con el objetivo de evaluar la efectividad de las cepas de HMA inoculadas y seleccionar las más eficientes para cada condición edáfica y especie de pasto.

En ambos experimentos se incluyeron tres cepas de HMA más un testigo sin inocular y tres especies de pastos (Tabla 2).

Tabla 2. Descripción de los tratamientos de los experimentos del Grupo 1.

Cepas de HMA	Especies de pastos
1. <i>Funneliformes mosseae</i>	1. <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk
	2. <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandú
	3. <i>Brachiaria</i> híbrido cv. Mulato (CIAT 36061)
2. <i>Glomus cubense</i>	1. <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk
	2. <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandú
	3. <i>Brachiaria</i> híbrido cv. Mulato (CIAT 36061)
3. <i>Rizophagus intraradices</i>	1. <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk
	2. <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandú
	3. <i>Brachiaria</i> híbrido cv. Mulato (CIAT 36061)

Las cepas de HMA fueron: INCAM-2: *Funneliformis mosseae* (Nicol. & Gerd.) Walker & Schüßler (Schüßler y Walker, 2010); INCAM-4: *Glomus cubense* (Y. Rodr. & Dalpé) (Rodríguez *et al.*, 2011) e INCAM-11: *Rhizophagus intraradices* (Schenck & Smith) Walker & Schüßler (Schüßler y Walker, 2010), todas procedentes de la colección de cepas de HMA del INCA. Las especies de pastos fueron: *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, *Brachiaria brizantha* cv. Marandú y *Brachiaria* híbrido cv. Mulato (CIAT 36061). Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas. Las parcelas constituyeron la unidad experimental, y tenían una superficie total de 28 m² y un área de cálculo de 21 m².

Los experimentos se sembraron en marzo de 2004 y tuvieron una duración de un año. El primer corte se realizó a los 90 días después de la siembra y posteriormente a intervalos aproximados de 42 y 60 días durante el período lluvioso y poco lluvioso, respectivamente, en dependencia de la producción de biomasa aérea, hasta totalizar seis cortes.

En ambos se utilizó una fertilización de fondo de 150, 30 y 50 kg de N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹, respectivamente. El N se aplicó en dosis fraccionadas a razón de 25 kg N ha⁻¹, a los 30 días posteriores a la siembra y después de cada corte. Para ello se abrieron con una azada pequeños surcos de 5 cm de profundidad, a 10 cm de las hileras de las plantas, y se taparon después de colocados el fertilizante. El P₂O₅ y el K₂O se aplicaron en dosis únicas, y se colocaron el fondo del surco al momento de la siembra. Los portadores utilizados fueron la urea, el superfosfato triple y el cloruro de potasio.

Ambos experimentos recibieron riegos por aspersión, con una norma de 350 m³ ha⁻¹, inmediatamente después de la siembra y posteriormente cada 15 y 21 días en el suelo Ferralítico y Vertisol, respectivamente, excepto durante el período comprendido entre junio y octubre, donde las precipitaciones fueron suficientes para mantener niveles adecuados de humedad en el suelo para los pastos.

Los indicadores evaluados fueron el rendimiento de masa seca (MS), las concentraciones y extracciones de N, P y K en la biomasa de la parte aérea y las variables fúngicas colonización, densidad visual y No. de esporas de HMA en la rizosfera.

3.2.2. Grupo 2: Influencia de la fertilización mineral, la especie de pasto y la época del año, en la efectividad de la inoculación con la cepa eficiente de HMA en *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk y *Brachiaria* híbrido cv. Mulato, cultivados en suelos Ferralítico Rojo Lixiviado y Vertisol Pélico

Se realizaron 12 experimentos, seis en cada tipo de suelo, con el propósito de evaluar, en ambas condiciones edáficas, la influencia de la fertilización mineral, la especie de pasto y la época del año en la efectividad de la inoculación, al momento de la siembra, de una cepa eficiente de HMA en *B. decumbens* cv. Basilisk y *B. híbrido* cv. Mulato (CIAT 36061). En este grupo de experimentos no se incluyó a *B. brizantha*, debido a su poco uso para la producción de forraje en la EPG Niña Bonita, en el momento de su ejecución.

En cada suelo, en ensayos independientes para cada macronutriente y especie de pasto, se evaluaron cuatro dosis de N (0, 100, 200 y 300 kg ha⁻¹ año⁻¹), cuatro de P₂O₅ (0, 30, 60 y 90

kg ha⁻¹ año⁻¹) y cuatro de K₂O (0, 50, 100 y 150 kg ha⁻¹ año⁻¹), solas y combinadas con la inoculación de una cepa eficiente de HMA (Tabla 3), seleccionada a partir de los resultados de los experimentos del grupo anterior. El diseño utilizado en cada experimento fue de bloques al azar con cuatro réplicas. Las parcelas tenían una superficie de 28 m² y un área de cálculo de 21 m².

Tabla 3. Descripción de los tratamientos de cada experimento del grupo 2.

No.	Experimentos con N		Experimentos con P		Experimentos con K	
	N (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	K ₂ O (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.
1	0	NI	0	NI	0	NI
2	100	NI	30	NI	30	NI
3	200	NI	60	NI	60	NI
4	300	NI	90	NI	90	NI
5	0	I	0	I	0	I
6	100	I	30	I	30	I
7	200	I	60	I	60	I
8	300	I	90	I	90	I

Inoc: inoculación NI: no inoculado I: inoculado con la cepa eficiente de HMA.

En estos experimentos se utilizó una fertilización de fondo de 200, 50 y 100 kg de N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹, respectivamente, en dependencia del nutriente evaluado. En todos los casos, el N se aplicó de forma fraccionada y en dosis parciales similares, a los 30 días posteriores a la siembra y después de cada corte, hasta completar la dosis anual indicada para cada tratamiento. El P₂O₅ y el K₂O se aplicaron una vez al año, primero al momento de la siembra y posteriormente, a continuación último corte que se realizó durante cada período poco lluvioso. La forma de adición de los fertilizantes y los portadores de cada nutriente fueron similares a los empleados en los experimentos del grupo 1.

Los experimentos se sembraron en marzo de 2005 y tuvieron una duración de dos o tres años, en dependencia de la permanencia del efecto de la inoculación de la cepa de HMA en los pastos. El primer corte se realizó a los 90 días después de la siembra y posteriormente a intervalos de 42 y 60 días durante el período lluvioso y poco lluvioso, respectivamente, hasta un total de seis cortes por año. Estos se condujeron bajo condiciones de riego, los cuales se aplicaron por aspersión con una norma de 350 m³ ha⁻¹, inmediatamente después de la siembra y posteriormente cada 15 y 21 días en el suelo Ferralítico Rojo Lixiviado y Vertisol Pélico, respectivamente, excepto durante los meses comprendidos entre junio y octubre de cada año, en que solo se regó cuando las precipitaciones no garantizaron niveles

adecuados de humedad en el suelo para el crecimiento de los pastos. Se evaluaron el rendimiento de MS y las variables fúngicas.

3.2.3. Grupo 3: Dosis de inoculante micorrízico para *B. decumbens* cv. Basilisk y *B. híbrido* cv. Mulato, establecidos en suelo Ferralítico Rojo Lixiviado

Se realizaron dos experimentos para definir la dosis de inoculante micorrízico más adecuada para *B. decumbens* cv. Basilisk y *B. híbrido* cv Mulato (CIAT 36061), respectivamente, establecidos en el suelo Ferralítico Rojo. En los dos casos se evaluaron seis dosis de inoculante, expresadas como esporas ha⁻¹ (Tabla 4) de la cepa de HMA más eficiente para ambos pastos en este tipo de suelo, en presencia de las dosis de fertilizantes minerales que garantizaron un funcionamiento micorrízico efectivo (200, 0 y 50 kg N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹, respectivamente), según los resultados obtenidos en los experimentos de los grupos 1 y 2, respectivamente.

Tabla 4. Descripción de los tratamientos de los experimentos del grupo 3.

No.	Esporas ha ⁻¹	Fertilización
1	0	(a)
2	0 (1)	(b)
3	0 (2)	(c)
4	2 x 10 ⁵	(c)
5	4 x 10 ⁵	(c)
6	6 x 10 ⁵	(c)
7	8 x 10 ⁵	(c)
8	10 x 10 ⁵	(c)

(a): No fertilizado.

(b): Dosis de fertilizantes minerales (NPK) adecuadas para los pastos no inoculados.

(c) Dosis de fertilizantes minerales (NPK) adecuadas para los pastos no inoculados.

Asimismo, se incluyeron dos tratamientos de referencia: un testigo absoluto sin inoculación micorrízica ni fertilizantes minerales, y otro con la aplicación de las dosis más adecuadas de fertilizantes para los pastos no inoculados (300, 30 y 100 kg de N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹), las cuales también quedaron definidas con la ejecución de los experimentos del grupo 2. En ambos, se utilizó un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones.

Los experimentos comenzaron en junio de 2007 y tuvieron una duración de dos años. Se seleccionaron dos áreas con una superficie de 1500 m² cada una, cultivadas desde junio de 2005 con los pastos señalados, y en ellas se delimitaron 32 parcelas de 28 m², en las cuales se distribuyeron los ocho tratamientos descritos, en un diseño de bloques al azar con cuatro

réplicas. Durante los dos años anteriores al inicio del experimento, los pastos se cultivaron bajo condiciones de riego y recibieron cuatro cortes al año, con una fertilización de 50 kg de N ha⁻¹ por corte, y 50 y 100 kg de P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹.

En los experimentos, el fertilizante nitrogenado se distribuyó de forma fraccionada y en dosis parciales similares, al inicio y después de cada corte; mientras que los fertilizantes fosfórico y potásico se aplicaron en dosis anuales únicas, al inicio y a los 12 meses. La forma de fertilización y los portadores de cada nutriente fueron similares a los utilizados en los experimentos de los grupos anteriores. Los cortes del pasto se hicieron cada 42 y 60 días durante el período lluvioso y poco lluvioso, respectivamente, hasta totalizar 6 cortes por año, todos a una altura de 10 cm de la superficie del suelo.

El experimento se condujo bajo condiciones de riego, y estos se aplicaron por aspersión, con una norma de 350 m³ ha⁻¹ y a intervalos de 15 días, excepto durante el período lluvioso de cada año, en que solo se regó cuando las precipitaciones no garantizaron niveles adecuados de humedad en el suelo para el crecimiento de los pastos. Los indicadores evaluados fueron el rendimiento de MS y las variables fúngicas.

3.2.4. Grupo 4: Efecto de las inoculaciones sucesivas con HMA sobre los requerimientos de fertilizantes minerales de *B. decumbens* cv. Basilisk cultivado en el suelo Ferralítico Rojo

En el suelo Ferralítico Rojo, los experimentos con *B. decumbens* que se describieron en el epígrafe 3.2.2 se continuaron ejecutando hasta el año 2010 con el mismo esquema de fertilización anual, para evaluar el efecto de las inoculaciones sucesivas de la cepa de HMA eficiente, en el funcionamiento micorrízico, el rendimiento y el valor nutritivo de la biomasa, así como en la dinámica de los macronutrientes primarios en el sistema suelo-pasto. Para este estudio se escogió el suelo Ferralítico Rojo, debido a que estos predominan en los campos de producción de forraje permanente de la EPG Niña Bonita, y de otras entidades ganaderas ubicadas en su entorno geográfico.

A partir del tercer año, después de desaparecido el efecto de la inoculación inicial, los experimentos se reinocularon, por primera vez con una dosis alta de inoculante (1 x 10⁶ esporas ha⁻¹, equivalente a 50 kg de inoculante micorrízico ha⁻¹) tratando de garantizar un funcionamiento micorrízico efectivo, y posteriormente con la dosis y frecuencia de

aplicación más adecuadas de inoculante, obtenidas de los resultados de los experimentos del grupo 3.

En estos se evaluaron el rendimiento de MS, las concentraciones y extracciones de N, P y K en la biomasa de la parte aérea, las variables fúngicas, los indicadores del valor nutritivo del pasto proteína bruta (PB), fibra neutro detergente (FND) y digestibilidad de la materia orgánica (DMO), así como los contenidos de materia orgánica (MO), P asimilable, K intercambiable y K difícilmente intercambiable del suelo.

3.3. Validación a escala de producción un esquema de fertilización con la inoculación de una cepa eficiente de HMA y la aplicación de dosis de fertilizantes minerales adecuadas para el pasto micorrizado

Los resultados obtenidos en los experimentos fueron validados en dos campos de producción de forraje de la EPG Niña Bonita cultivados de *B. híbrido* cv. Mulato II (CIAT 36087), cuya biomasa se destinó al consumo directo por los animales, al ensilaje y a la producción de heno. Ambos ocuparon una superficie de 450 ha, que representó el 33 % del área total que se dedica a la producción forraje permanente en la Empresa. Cada campo constituyó una extensión, y en ellos se compararon tres tratamientos o variantes de fertilización:

1. Esquema de fertilización para los pastos micorrizados eficientemente, vía inoculación.
2. Esquema de fertilización según las dosis indicadas por el Plan Director de la Empresa.
3. Testigo absoluto, sin fertilizantes minerales ni HMA.

En el primer campo, el tratamiento 1 ocupó una superficie de 100 ha. El pasto se inoculó con la cepa eficiente de HMA en el momento de la siembra, y se fertilizó con dosis que se adecuaron a las necesidades del pasto inoculado (197, 38 y 50 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O, respectivamente). Los otros dos tratamientos ocuparon una superficie de 25 ha cada uno, y en el correspondiente a la fertilización recomendada por el Plan Director, se aplicaron 213, 90 y 117 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O.

Este campo se sembró en junio de 2007 y se evaluó durante cuatro años. El pasto se cultivó bajo condiciones de riego, cuyas normas y frecuencias de aplicación fueron similares a las utilizadas en los experimentos que se condujeron en el suelo Ferralítico Rojo. El primer corte se realizó a los 90 días después de la siembra y posteriormente cada 45 y 90 días,

durante el período lluvioso y poco lluvioso, respectivamente, para un total de cinco cortes anuales.

En el segundo campo, el tratamiento 1 ocupó una superficie de 200 ha y el esquema de fertilización e inoculación micorrízica fue similar al tratamiento 1 del campo anterior, pero en este caso el pasto se inoculó únicamente al momento de la siembra, ya que el período de evaluación se extendió sólo hasta el segundo año y no fue necesario reinocular. Las otras dos variantes ocuparon una superficie de 50 ha cada una.

Este se sembró en junio de 2008, y debido a dificultades técnicas con su sistema de riego, solo se efectuaron tres cortes anuales, el primero a los 90 días después de la siembra y los demás a intervalos aproximados de 45 días, pero solo durante el período lluvioso de cada año. Por tanto, las dosis de N, tanto para el pasto inoculado como para el no inoculado, se adecuaron a las necesidades del cultivo bajo el régimen de corte señalado. En el tratamiento correspondiente al Plan Director, se aplicaron 97, 38 y 50 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O, respectivamente. Como portadores se utilizaron el fertilizante compuesto con la fórmula 14-20-26, el cual se aplicó al momento de la siembra y cada doce meses, y la urea, cuyas aplicaciones se hicieron después de cada corte. Para la colocación de los fertilizantes se procedió de forma similar a los experimentos de campo, pero esta se realizó de forma mecanizada.

En el área ocupada por cada tratamiento se delimitaron 10 parcelas de 1 ha cada una que, en un diseño muestral, se distribuyeron uniformemente a lo largo y ancho del campo, y en las cuales se hicieron las mediciones (rendimiento de MS y variables fúngicas) para el seguimiento y evaluación de los tratamientos. Los campos utilizados para la validación del sistema de suministro de nutrientes propuesto, constituyeron áreas demostrativas para los productores y fuentes de datos para evaluar su impacto económico en las áreas de producción de forraje de la Empresa.

3.4. Procedimiento general

3.4.1. Preparación del suelo y siembra de los experimentos y extensiones

El suelo se preparó de forma convencional, con una secuencia de labores de roturación (arado), grada, cruce (arado) y grada, a intervalos aproximados de 20 días entre cada una. Los pastos se sembraron por semillas, en surcos separados a 70 cm y a chorrillo, a una profundidad de 1.5 cm. Para la siembra se utilizó una dosis entre 8 y 10 kg de semilla total

ha⁻¹, según su valor cultural, para entregar 1 kg de semilla pura germinable ha⁻¹. En las extensiones, la siembra se realizó de forma mecanizada.

3.4.2. Inoculación de HMA

Los pastos se inocularon al momento de la siembra por el método del recubrimiento de las semillas (Fernández *et al.*, 2001). Para ello se utilizó el inoculante micorrízico EcoMic[®], producido en el Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las plantas del INCA, con una concentración de entre 20 y 30 esporas de la cepa de HMA a evaluar, por gramo de inoculante. En el caso los pastos establecidos, se preparó una suspensión de inoculante micorrízico sólido y agua en una relación 1:10, la cual se aplicó con una mochila manual durante el período lluvioso e inmediatamente después de un corte, en el fondo de pequeños surcos hechos previamente con un azadón, a 10 cm de cada hilera de plantas.

En las extensiones, debido al alto volumen de semillas a sembrar, el recubrimiento se realizó con una máquina de la marca Bandeirante, que garantizó una dosis de inoculante equivalente al 6 % de la masa total de las semillas. Este modelo de recubrimiento mecánico fue evaluado previamente por Hernández Zardón *et al.* (2005) para la aplicación de biofertilizantes micorrízicos, con resultados satisfactorios.

Para la reinoculación de la extensión 1, se utilizó una asperjadora mecánica de la marca Jacto, a la cual se le retiró parte de los aditamentos de sus boquillas para evitar la tupición con el inoculante micorrízico sólido. La asperjadora se cargó con una suspensión de inoculante sólido y agua en una relación 1:10, y se distribuyó sobre la superficie del pasto recién cortado y al inicio del período lluvioso. Inmediatamente después de cada inoculación o reinoculación del pasto establecido, tanto en los experimentos como en las extensiones, se realizó un riego por aspersión para garantizar el descenso de las esporas introducidas y el mayor contacto con las raíces de los pastos.

3.5. Determinaciones realizadas

3.5.1. Rendimiento de masa seca (MS), concentración y extracción de nutrientes en la biomasa aérea y valor nutritivo de los pastos

En los experimentos, en cada corte se cosechó la masa verde (MV) de la parte aérea de las plantas que se encontraban en el área de cálculo de las parcelas; en las extensiones, previo a cada corte mecanizado del forraje, en las parcelas de 1 ha se distribuyeron al azar 20 marcos de 0.25 m², cuya MV también fue cosechada. En ambos casos esta se pesó con una

balanza de 0.5 kg de precisión, y se tomó una muestra de 200 g, la cual se llevó a una estufa de circulación de aire a 70 °C hasta alcanzar una masa constante, para determinar el porcentaje de masa seca (MS), de acuerdo con la fórmula siguiente:

$$MS (\%) = [MS \text{ de la muestra (g)} / \text{masa fresca de la muestra (g)}] \times 100$$

El rendimiento de MS se estimó a partir del rendimiento de MV y el porcentaje de MS, mediante la siguiente fórmula:

$$MS (\text{t ha}^{-1}) = [MV (\text{kg parcela}^{-1}) \times MS (\%) / 100] \times f$$

Donde: f = factor para convertir el rendimiento de MS de kg parcela⁻¹ a t ha⁻¹ (0.48 para las parcelas de 21 m² de los experimentos y 2 para la superficie muestreada en las parcelas de 1 ha de las extensiones).

En cortes alternos, a las muestras secas en la estufa se le determinaron las concentraciones de N, proteína bruta (N x 6.25), P, K, la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) y el contenido de fibra neutro detergente (FND). Las concentraciones de N P K se determinaron como porcentaje de la masa seca, según los siguientes métodos analíticos (Paneque *et al.*, 2011):

- N: digestión húmeda con H₂SO₄ + Se y determinación colorimétrica con el reactivo de Nessler.
- P: digestión húmeda con H₂SO₄ + Se y determinación colorimétrica con el reactivo molibdato de amonio.
- K: digestión húmeda con H₂SO₄ + Se y determinación por fotometría de llama.

La DMO (KOH) se determinó según Kesting (1977) y la FND, de acuerdo con Van Soest *et al.* (1991).

La extracción de N, P y K en la biomasa aérea se calculó a partir del rendimiento de MS de la parte aérea y su correspondiente concentración de cada elemento (% N, P ó K), por la siguiente fórmula:

$$\text{Extracción de N, P ó K (kg ha}^{-1}\text{)} = [\text{MS (t ha}^{-1}\text{) de la parte aérea} \times \text{concentración (\%)} \text{ del elemento en la MS de la parte aérea}] \times 10$$

3.5.2. Muestreo de raíces y determinaciones de las variables fúngicas

En cortes alternos y al momento de la cosecha de la masa verde, de cada parcela se tomaron 10 submuestras de suelo de la rizosfera a una profundidad de 0-20 cm, mediante el empleo de un cilindro metálico de 2.5 cm de diámetro y 20 cm de altura, que se distribuyeron en puntos equidistantes y separados a 10 cm de los surcos, siguiendo el protocolo utilizado por

Johnson *et al.* (2003) para la determinación de las estructuras micorrízicas en pastizales. Estas se homogenizaron para formar una muestra compuesta por parcela, de las cuales se extrajo 1 g de raicillas que después de lavadas, se secaron en estufa a 70 °C para su tinción y clarificación, según la metodología de Phillips y Hayman (1970).

La colonización micorrízica se determinó por el método de los interceptos (Giovanetti y Mosse, 1980), y la densidad visual (DV) o intensidad de la colonización, según la metodología descrita por Trouvelot (1986), con la que se evaluó la ocupación fúngica de cada intercepto y se le asignó un nivel, en función del porcentaje de ocupación observado (tabla 5).

Tabla 5: Transformación de los porcentajes de ocupación fúngica intrarradical en niveles, según Trouvelot (1986).

Nivel de evaluación	% de ocupación observado
0	0
1	1
2	2.5
3	15.5
4	35.5
5	47.5

Posteriormente se realizó el cálculo según la fórmula:

$$\% DV = \frac{\sum A}{\sum Z}$$

Donde Z: número de interceptos contados en cada nivel y A: multiplicación del número de interceptos contados en cada nivel (Z), por el porcentaje de ocupación observada.

Para la determinación del número de esporas se tomaron 50 g de suelo de la rizosfera, de acuerdo con el método de extracción descrito por Gerdeman y Nicolson (1963) y modificado por Herrera *et al.* (1995), basado en el tamizado y decantado por vía húmeda de los propágulos del hongo. Las esporas se colectaron sobre una malla de 40 µm de apertura, se separaron por centrifugación con sacarosa y Tween 80 y se observaron posteriormente en un estereomicroscopio óptico (40-50x).

En los experimentos del grupo 1 se determinó el índice de eficiencia (IE) de las cepas de HMA inoculadas así como su grado de participación en la nutrición de los pastos. El IE se calculó, según Siquiera y Franco (1988), mediante la fórmula:

$$IE (\%) = \left[\frac{\text{Rendimiento MS (t ha}^{-1}\text{) del tratamiento inoculado} - \text{rendimiento MS (t ha}^{-1}\text{) del testigo}}{\text{rendimiento de MS (t ha}^{-1}\text{) del testigo}} \right] \times 100.$$

Para calcular la participación de las cepas de HMA en la nutrición de los pastos se utilizó la siguiente fórmula (Rivera y Fernández, 2003):

$$\text{Participación (\%)} = \left[\frac{\text{Concentración de N, P o K (\%)} \text{ de la biomasa aérea del tratamiento inoculado} - \text{concentración de N, P o K (\%)} \text{ en la biomasa aérea del tratamiento testigo}}{\text{concentración de N, P o K (\%)} \text{ en la biomasa aérea del tratamiento inoculado}} \right] \times 100.$$

En los experimentos del grupo 4 que se realizaron en el suelo Ferralítico Rojo, se utilizó el factor parcial de productividad (FPP), como índice agronómico de la eficiencia del uso del N y el K, según el experimento (Dobermann, 2007), el cual se calculó mediante la fórmula:
$$\text{FPP (kg de rendimiento kg}^{-1} \text{ del nutriente aplicado)} = (\text{rendimiento de MS (kg ha}^{-1}) / \text{dosis (kg ha}^{-1}) \text{ del nutriente aplicado.}$$

En los experimentos con K, también se calculó la cantidad de este elemento absorbida por la biomasa aérea del pasto, procedente de formas no intercambiables en el suelo (Castillos *et al.*, 2002), conforme a la ecuación:

$$\text{K absorbido de formas no intercambiables (kg ha}^{-1}) = \text{K total (kg ha}^{-1}) \text{ absorbido por la biomasa aérea} - [(\text{K intercambiable (kg ha}^{-1}) \text{ inicial} - \text{K intercambiable (kg ha}^{-1}) \text{ final}) + \text{K aportado por la fertilización (kg ha}^{-1})]$$

3.5.3. Muestreos y análisis de suelos

En todos los experimentos se hicieron muestreos para el análisis químico del suelo, al inicio y posteriormente una vez al año. En puntos equidistantes ubicados en el área de cálculo, se tomaron 5 submuestras de suelo a una profundidad de 0-20 cm, para formar una muestra compuesta por parcela.

En los experimentos del grupo 2 en que se evaluaron dosis de fertilizante potásico en presencia o no una cepa eficiente de HMA para *B. decumbens* cultivado en suelo Ferralítico Rojo, se tomaron al inicio y a los seis años, muestras compuestas de tres submuestras por cada parcela, a las profundidades de 0-20, 20-40, 40-60, 60-80 y 80-100 cm, obteniéndose por cada tratamiento y momento de muestreo, cuatro muestras compuestas representativas de cada profundidad, a las cuales se les determinaron los contenidos de K intercambiable y difícilmente intercambiable.

Para los análisis se emplearon los siguientes métodos:

- pH en H₂O: Potenciometría, relación suelo-agua: 1:2.5 (NC ISO 10390, 1999).
- MO: Walkley y Black (NC 51, 1999).
- Cationes intercambiables: extracción con NH₄Ac 1 mol L⁻¹ a pH 7 y determinación por compejometría (Ca y Mg) y fotometría de llama (Na y K), según NC 65 (2000).
- P₂O₅ asimilable: Oniani (extracción con H₂SO₄ 0.025 M, desarrollo de color con molibdato de amonio y determinación por espectrómetro UV-visible (NC 52, 1999).

- K difícilmente intercambiable: extracción con HNO₃ hirviendo durante 10 minutos, a una concentración de 1 mol L⁻¹ y determinación por fotometría de llama (Helmke y Sparks, 1996).

3.6. Procesamiento estadístico

El procesamiento estadístico de los datos se hizo mediante el análisis de varianza, según el diseño experimental utilizado, y cuando se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, las medias se compararon según la dócima de Duncan (1955). En algunas variables, cuyos resultados se muestran en gráficos, se utilizó el intervalo de confianza de las medias ($P < 0.05$) como criterio estadístico para su comparación. Todas las variables cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, por lo que en todos los casos se analizaron los datos originales (Vásquez, 2011).

En los experimentos del grupo 1 se realizó un análisis multivariado de componentes principales para evaluar por tipo de suelo, la respuesta de cada especie de pasto a la inoculación micorrízica, y seleccionar las cepas más eficientes de HMA para cada condición. En todos los casos se utilizó el programa estadístico SPSS 11.5 para Windows (SPSS, 2002).

En los experimentos del grupo 2 que se realizaron en el suelo Ferralítico Rojo, mediante el método estadístico propuesto por Cate y Nelson para determinar el nivel crítico de un nutriente en el suelo (Waugh, Cate y Nelson, 1972), en los tratamientos inoculados se estableció una relación entre el contenido de esporas de HMA en la rizosfera en el momento de realizarse un corte de la biomasa aérea, y la permanencia del efecto de la inoculación inicial, evaluada a partir del rendimiento de MS de los pastos en el corte posterior. La descripción del modelo utilizado se presenta en el anexo 3.

3.7. Valoración económica

La valoración económica se realizó mediante la comparación de los costos de la fertilización de los tratamientos que se aplicaron en las extensiones. Estos fueron:

1. Esquema de suministro de nutrientes para los pastos micorrizados eficientemente, vía inoculación, y la aplicación de dosis complementarias de fertilizantes minerales.
2. Esquema de fertilización según las dosis indicadas por el Plan Director de la Empresa.

Se utilizaron los siguientes indicadores, todos expresados en CUP, moneda con la cual opera la Empresa:

- Costos de la fertilización (CUP ha⁻¹): sumatoria de los gastos incurridos por la aplicación de los fertilizantes minerales y el inoculante micorrízico, que incluyeron los gastos para la adquisición de los fertilizantes y el inoculante, así como de la maquinaria, el combustible y mano de obra utilizada para estas labores.
- Costo de la fertilización por cada unidad de forraje producido (CUP t⁻¹ MS): relación entre el costo de la fertilización (CUP ha⁻¹) y el rendimiento del forraje (t ha⁻¹ MS)
- Ahorro (CUP ha⁻¹): diferencia entre los costos de producción de cada variante de fertilización.

Para el cálculo de estos indicadores, se utilizó como información básica la ofrecida en la Tabla 6.

Tabla 6. Costos de la fertilización y de la aplicación del inoculante micorrízico en los campos de producción de forraje permanente de la EPG Niña Bonita.

Indicador	Unidad	Valor	Referencia
Precio del fertilizante fórmula 14-20-26	CUP t ⁻¹	395.35	(MINAG, 2007)
Precio de la urea	CUP t ⁻¹	370.00	(MINAG, 2007)
Precio del inoculante micorrízico EcoMic [®]	CUP kg ⁻¹	2.50	Ficha de Costo EcoMic [®] (INCA, 2005)
Costo de las labores para la fertilización mineral (maquinaria, combustible y mano de obra)	CUP ha ⁻¹ año ⁻¹	18.53	Fichas de costo de nuevos cultivos forrajeros (Cino <i>et al.</i> , 2007)

4. Resultados y discusión

4.1. Grupo 1. Selección de cepas eficientes de HMA para pastos del género *Brachiaria* cultivados en suelos Ferralítico Rojo Lixiviado y Vertisol Pélico

En la Tabla 7 se muestran los resultados del análisis multivariado de componentes principales con el cual se evaluó la efectividad de la inoculación de las cepas de HMA en especies de *Brachiaria* cultivadas en ambos tipos de suelos. En los dos casos se presentan los datos de la primera componente (C_1) ya que con ella se extrajo el 84.43 y el 87.89 % de la variabilidad total observada en los experimentos que se realizaron en los suelos Vertisol y Ferralítico, respectivamente.

Tabla 7. Extracción de la variabilidad total y contribución de las variables a la formación de la componente principal C_1 en cada tipo de suelo.

Variables	Tipos de suelos	
	Vertisol Pélico	Ferralítico Rojo
Extracción variabilidad (%)	84.43	87.89
Rendimiento de MS	0.84	0.98
Colonización	0.96	0.99
Densidad visual	0.96	0.95
No esporas/50 g	0.97	0.98
Extracción N en la biomasa aérea	0.98	0.99
Extracción P en la biomasa aérea	0.89	0.96
Extracción K en la biomasa aérea	0.97	0.99
Concentración de N en la biomasa aérea	0.96	0.96
Concentración de P en la biomasa aérea	0.60	0.47
Concentración de K en la biomasa aérea	0.97	0.99

%; porcentaje de extracción explicado de la variabilidad total en C_1 .

Todas las variables, excepto las concentraciones de P en la biomasa de la parte aérea, mostraron una alta contribución a la formación de la componente C_1 , lo que evidenció una relación directa entre el comportamiento de las variables fúngicas, el rendimiento de MS, las concentraciones de N y K, y las extracciones de N, P y K en la biomasa de la parte aérea de los pastos. El comportamiento diferente de las concentraciones de P en la biomasa puede atribuirse al hecho de que la dosis de P_2O_5 que se aplicó en ambos experimentos con la fertilización de fondo, unido a los contenidos de este elemento en el suelo, fueron suficientes para alcanzar valores indicativos de un abastecimiento adecuado de P (Mesquita

et al., 2004; Moreira et al., 2006), y ello en consecuencia, redujo el beneficio de las cepas introducidas sobre esta variable, tal como se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Efecto de las cepas en las concentraciones (%) de nutrientes en la biomasa aérea de los pastos.

Cepas de HMA	Suelo Vertisol Pélico								
	<i>B. decumbens</i>			<i>B. brizantha</i>			<i>B. híbrido</i>		
	N	P	K	N	P	K	N	P	K
Testigo	1.25 c	0.22	1.23 c	1.23 c	0.22	1.22 c	1.20 c	0.23	1.25 c
<i>G. cubense</i>	1.37 b	0.23	1.39 b	1.57 a	0.24	1.64 a	1.43 b	0.24	1.39 b
<i>F. mosseae</i>	1.38 b	0.23	1.42 b	1.38 b	0.23	1.43 b	1.39 a	0.24	1.41 a
<i>R. intraradices</i>	1.65 a	0.24	1.58 a	1.63 a	0.24	1.61 a	1.59 a	0.25	1.61 a
ES	0.02**	0.01	0.03**	0.03**	0.01	0.04**	0.02**	0.01	0.03**
Suelo Ferralítico Rojo									
Testigo	1.21 c	0.20	1.25 c	1.25 c	0.21	1.27 c	1.23 c	0.20	1.26 c
<i>G. cubense</i>	1.60 a	0.22	1.63 a	1.63 a	0.23	1.60 a	1.65 a	0.22	1.60 a
<i>F. mosseae</i>	1.42 b	0.21	1.40 b	1.41 b	0.22	1.47 b	1.40 b	0.21	1.48 b
<i>R. intraradices</i>	1.39 b	0.21	1.43 b	1.57 a	0.23	1.58 a	1.37 b	0.21	1.49 b
ES	0.03**	0.01	0.04**	0.04**	0.01	0.03**	0.04**	0.01	0.03**

Promedios con letras no comunes en la misma columna y para cada suelo, difieren significativamente a $P < 0.05$, según dócima de Duncan.

Los resultados de las Tablas 9 y 10 muestran que en los dos tipos de suelos se encontraron correlaciones significativas ($P < 0.05$) o altamente significativas ($P < 0.01$) entre las diferentes variables, indicando que la producción de biomasa, la extracción de nutrientes y el funcionamiento micorrízico estuvieron altamente relacionados y por ende existió una respuesta positiva de los pastos a la inoculación de cepas de HMA. La excepción lo fue la concentración de P en la biomasa de la parte aérea de los pastos en ambos tipos de suelos, hecho que refuerza el criterio del poco beneficio de las cepas de HMA introducidas en la absorción del nutriente, a partir una adecuada disponibilidad de P.

En correspondencia con la información de las tablas anteriores, la representación gráfica de la componente C_1 mostró una respuesta positiva de los pastos a la inoculación, pues en todas las especies de *Brachiaria* y tipos de suelos, las cepas de HMA alcanzaron en la componente mayores valores que testigo sin inocular (Figura 1). Ello indicó que las cepas introducidas fueron más efectivas que los HMA residentes para mejorar los indicadores del funcionamiento micorrízico, las concentraciones y extracciones de nutrientes en la biomasa y los rendimientos de los pastos, y consecuentemente, que el manejo de la simbiosis micorrízica vía inoculación puede asumirse, al menos en las condiciones en que se realizó

Tabla 9. Matriz de correlaciones entre el rendimiento, las estructuras micorrízicas y las concentraciones y extracciones de macronutrientes en la biomasa aérea de los pastos cultivados en el suelo Vertisol Pélico.

Variables	Masa seca (t ha ⁻¹)	Colonización (%)	Densidad visual (%)	Número de esporas 50 g ⁻¹	Extracción (kg ha ⁻¹) con la biomasa aérea			Concentraciones (%) en la biomasa aérea		
					N	P	K	N	P	K
MS (t ha ⁻¹)	1									
Colonización (%)	.710(**)	1								
Densidad visual (%)	.679(*)	.986(**)	1							
No. esporas 50 g ⁻¹	.719(**)	.978(**)	.981(**)	1						
Extracción N (kg ha ⁻¹)	.909(**)	.926(**)	.912(**)	.924(**)	1					
Extracción P (kg ha ⁻¹)	.982(**)	.751(**)	.729(**)	.780(**)	.931(**)	1				
Extracción K (kg ha ⁻¹)	.929(**)	.911(**)	.897(**)	.910(**)	.995(**)	.937(**)	1			
Concentración N (%)	.671(*)	.980(**)	.984(**)	.975(**)	.917(**)	.737(**)	.889(**)	1		
Concentración P (%)	.364	.513	.544	.624(*)	.513	.533	.457	.616(*)	1	
Concentración K (%)	.727(**)	.987(**)	.992(**)	.984(**)	.937(**)	.769(**)	.927(**)	.983(**)	.531	1

*Significativa P < 0.05. ** Significativa P < 0.01.

Tabla 10. Matriz de correlaciones entre el rendimiento, las estructuras micorrízicas y las concentraciones y extracciones de macronutrientes en la biomasa aérea de los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo.

Variables	Masa seca (t ha ⁻¹)	Colonización (%)	Densidad visual (%)	Número de esporas 50 g ⁻¹	Extracción (kg ha ⁻¹) con la biomasa aérea			Concentraciones (%) en la biomasa aérea		
					N	P	K	N	P	K
MS (t ha ⁻¹)	1									
Colonización (%)	.937(**)	1								
Densidad visual (%)	.917(**)	.941(**)	1							
No. esporas 50 g ⁻¹	.927(**)	.989(**)	.928(**)	1						
Extracción N (kg ha ⁻¹)	.980(**)	.976(**)	.945(**)	.971(**)	1					
Extracción P (kg ha ⁻¹)	.983(**)	.916(**)	.875(**)	.896(**)	.950(**)	1				
Extracción K (kg ha ⁻¹)	.989(**)	.966(**)	.942(**)	.957(**)	.996(**)	.969(**)	1			
Concentración N (%)	.898(**)	.970(**)	.902(**)	.975(**)	.964(**)	.861(**)	.943(**)	1		
Concentración P (%)	.469	.415	.294	.360	.393	.622(*)	.445	.319	1	
Concentración K (%)	.937(**)	.978(**)	.920(**)	.971(**)	.980(**)	.923(**)	.976(**)	.981(**)	.446	1

*Significativa P < 0.05. ** Significativa P < 0.01.

el presente estudio, como una práctica agronómica válida para mejorar la nutrición y la productividad de estas especies.

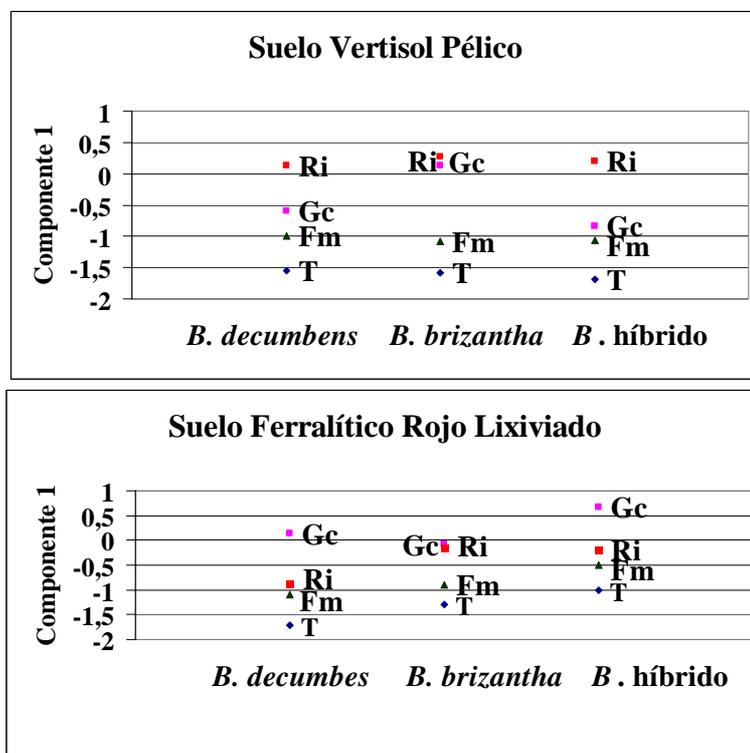


Figura 1. Representación gráfica del efecto de la inoculación con cepas de HMA en especies de *Brachiaria* cultivadas en suelos Vertisol Pélico y Ferralítico Rojo, según el componente principal C₁.

T: testigo; Ri: *Rizophagus intraradices*; Gc: *Glomus cubense*; Fm: *Funneliformis mosseae*.

En la propia figura se observa que las cepas de HMA presentaron un comportamiento diferenciado en función del tipo de suelo; es decir, con la respuesta positiva a la inoculación micorrízica también se constató que para cada suelo existió una cepa altamente efectiva, la cual produjo los mayores efectos en las tres especies de pastos. La cepa de HMA con mejor comportamiento para todos los pastos cultivados en el suelo Vertisol fue *R. intraradices*, mientras que en el suelo Ferralítico lo fue *G. cubense*, lo que indica la existencia de una alta especificidad cepa eficiente de HMA-tipo de suelo, así como de una baja especificidad cepa eficiente de HMA-especie de pasto, regularidades encontradas anteriormente en otros cultivos con diferentes patrones de crecimiento y requerimientos nutricionales, en un grupo importante de suelos, incluyendo los que aquí se estudiaron (Rivera *et al.*, 2007).

En relación con el efecto de la inoculación de los HMA, aunque se reconoce que la respuesta de los pastos suele variar en función de muchos factores debido a que la ecofisiología de estos cultivos es compleja (Leake *et al.*, 2004; Göransson *et al.*, 2008), los resultados aquí obtenidos refuerzan lo planteado por Sieverding (1991); Caravaca *et al.* (2003); de Miranda *et al.* (2008) y Carneiro *et al.* (2010), quienes argumentaron que su introducción puede ser una opción de manejo deseable e incluso necesaria, en los casos en que los HMA residentes no sean lo suficientemente efectivos o no se encuentren en cantidades adecuadas para producir una respuesta agronómica importante en los cultivos.

El comportamiento diferenciado de las cepas de HMA parece estar relacionado con los diferentes niveles de fertilidad de los suelos. De este modo, *R. intraradices* tuvo una mayor efectividad en el suelo Vertisol, caracterizado por su reacción neutra, altos contenidos de Ca y Mg intercambiables (33 y 7 $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$, respectivamente) y nivel medio de MO, en tanto *G. cubense* fue más efectiva en el suelo Ferralítico, con una reacción ligeramente ácida, menores contenidos de Ca y Mg intercambiables (9 y 2.3 $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ respectivamente) y un nivel de MO que aunque también resultó intermedio (Paneque y Calaña, 2001), fue alrededor de 1.5 unidades porcentuales más bajo que el observado en el suelo Vertisol.

En este sentido, se ha observado que la esporulación, desarrollo, funcionamiento y sobrevivencia de los HMA están estrechamente ligados a propiedades del suelo muy vinculadas a su fertilidad, como el contenido de materia orgánica, la relación N:P, las fracciones de P, la capacidad de intercambio catiónico y el pH, entre otras (Becerra *et al.*, 2007; Peña-Venegas *et al.*, 2007). Por su parte, Rivera y Fernández (2003) asociaron el comportamiento diferenciado de las cepas de HMA con la fertilidad de los suelos, expresada por los contenidos de Ca y Mg intercambiables, así como con el pH, y realizaron recomendaciones de cepas eficientes HMA para suelos de baja, media y alta fertilidad.

En el caso de *B. brizantha*, tanto *G. cubense* como *R. intraradices* resultaron igualmente efectivas en ambos tipos de suelos, probablemente como resultado de un alto grado de compatibilidad funcional entre la especie hospedera y ambas cepas de HMA, criterio que concuerda con lo planteado por Klironomos (2003) y Cornejo (2006); sin embargo, esto no varió la regularidad de alta especificidad cepa eficiente HMA-tipo de suelo.

Resultados similares fueron encontrados por Ruiz (2001), quien al evaluar el efecto de la inoculación de cepas de HMA en raíces y tubérculos, observó que aunque *Glomus clarum* alcanzó una alta eficiencia en la yuca en todas las condiciones edáficas evaluadas, este cultivo no dejó de asociarse de manera igualmente efectiva con *Glomus intraradices* en el suelo Pardo con Carbonato y con *Glomus mosseae* en el Ferralítico Rojo, que fueron las cepas de mejor comportamiento en uno y otro suelo, respectivamente, para el resto de los cultivos en estudio.

La influencia del suelo sobre la efectividad de la inoculación también quedó demostrada cuando se compararon los índices de eficiencia, calculados en base a los rendimientos de MS de los pastos, que alcanzaron las cepas de HMA en los dos tipos de suelos (Tabla 11). *R. intraradices* y *G. cubense* fueron las más eficientes para mejorar los rendimientos de MS de los pastos cultivados en los suelos Vertisol y Ferralítico, respectivamente, confirmando la alta especificidad cepa de HMA eficiente-tipo de suelo ya señalada.

Tabla 11. Efecto de la inoculación de las cepas de HMA en el rendimiento de MS de los pastos e índices de eficiencia (IE) de las cepas.

Cepas de HMA	Suelo Vertisol Pélico					
	<i>B. decumbens</i>		<i>B. brizantha</i>		<i>B. híbrido</i>	
	MS (t ha ⁻¹)	IE (%)	MS (t ha ⁻¹)	IE (%)	MS (t ha ⁻¹)	IE (%)
Testigo	11.90 c	-	10.14 c	-	12.14 c	-
<i>G. cubense</i>	13.3 b	11.8	12.88 a	27.0	13.52 b	11.4
<i>F. mosseae</i>	12.43 b	4.5	11.00 b	8.5	12.95 b	6.7
<i>R. intraradices</i>	14.87 a	25.0	12.93 a	27.5	15.12 a	24.5
ES	0.35**	-	0.32**	-	0.35**	-
Suelo Ferralítico Rojo						
Testigo	12.15 c	-	13.51 c	-	14.21c	-
<i>G. cubense</i>	16.11 a	32.6	18.05 a	33.6	18.72 a	31.7
<i>F. mosseae</i>	14.09 b	16.0	15.53 b	15.0	16.55 b	16.5
<i>R. intraradices</i>	13.91 b	14.5	17.9 a	32.5	15.87 b	11.7
ES	0.38**	-	0.35**	-	0.33**	-

Promedios con letras no comunes en la misma columna y para cada suelo, difieren significativamente a $P < 0.05$, según dócima de Duncan.

Pero las cepas de HMA más efectivas exhibieron diferentes índices de eficiencia en cada condición edáfica. En el suelo Vertisol, *R. intraradices* alcanzó un índice de eficiencia promedio de 26 %, mientras que en el Ferralítico Rojo, este indicador se elevó hasta un 33 % con *G. cubense*. Aunque las cepas eficientes para cada condición edáfica mostraron diferentes índices de eficiencia ya que la participación de las micorrizas en la nutrición de las plantas pudo haber disminuido con el aumento de la fertilidad del suelo, (Johnson *et al.*,

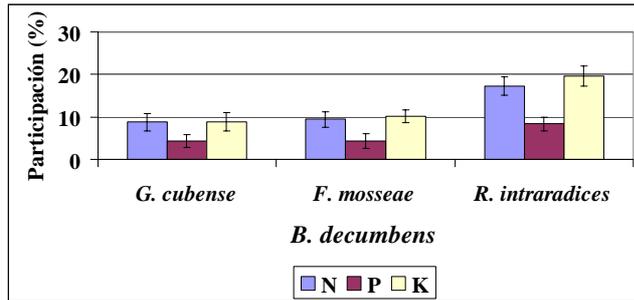
2003; Rivera y Fernández, 2003; Egerton *et al.*, 2007; Hoeksema *et al.*, 2010), no puede descartarse el hecho de que el crecimiento de los pastos se haya limitado en el suelo Vertisol, debido a que sus características físicas son menos favorables que las del Ferralítico, para el desarrollo de las especies de *Brachiaria* incluidas en este estudio (Argel *et al.*, 2007). No obstante, se demostró que los beneficios de la inoculación de cepas de HMA en los pastos se pueden extender también a los suelos con mayores contenidos de nutrientes, como es el caso del suelo Vertisol.

La efectividad de una u otra cepa de HMA en cada tipo de suelo también quedó demostrada al evaluar su participación en la nutrición de los pastos, a partir de su influencia en las concentraciones de macronutrientes en la biomasa aérea (Figura 2). *R. intraradices* alcanzó una mayor participación en la nutrición de las especies cultivadas en el suelo Vertisol, donde incrementó los tenores de N y K hasta cerca de un 20 %, en relación con el tratamiento no inoculado. En el suelo Ferralítico Rojo, los mayores efectos se obtuvieron con *G. cubense*, cuyos aumentos en las concentraciones de N y K con respecto al testigo fueron de alrededor de un 26 %. Este efecto, también refuerza el criterio de que la efectividad de una u otra cepa de HMA en cada condición edáfica, estuvo relacionada con la mejora del estado nutricional de las plantas, tal como lo observaron Díaz y Garza (2006) y Carneiro *et al.* (2007), al inocular cepas de HMA en gramíneas forrajeras.

En la propia figura se observa que las cepas de HMA contribuyeron de manera muy similar, en términos cuantitativos, al incremento de las concentraciones de N y K en la biomasa de la parte aérea de los pastos cultivados en ambos tipos de suelos, mientras su efecto en el aumento de los tenores de P fueron significativamente menores, aún con aquellas que resultaron las más eficientes en cada condición edáfica, coincidiendo con los resultados expuestos en la Tabla 8.

Tal comportamiento parece estar estrechamente relacionado con los contenidos de estos elementos en el suelo, con el efecto de la fertilización y con las propias necesidades de las plantas. Como se señaló anteriormente, la dosis de fósforo que se aplicó en ambos experimentos, unido a los contenidos de P asimilable de los suelos, al parecer fueron suficientes para los pastos, y ello pudo haber minimizado el efecto de la cepa sobre la absorción de este nutriente. De hecho, la baja contribución las concentraciones de P de la biomasa de la parte aérea a la formación de C_1 , así como los bajos coeficientes de

Suelo Vertisol Pélico



Suelo Ferralítico Rojo Lixiviado

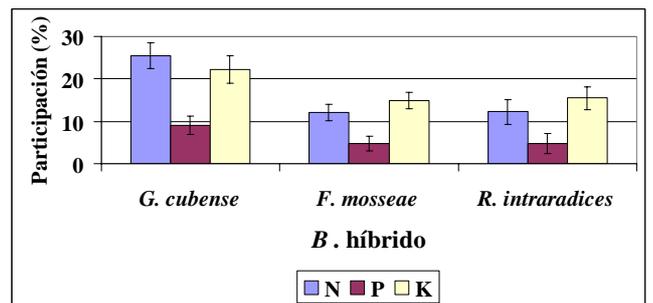
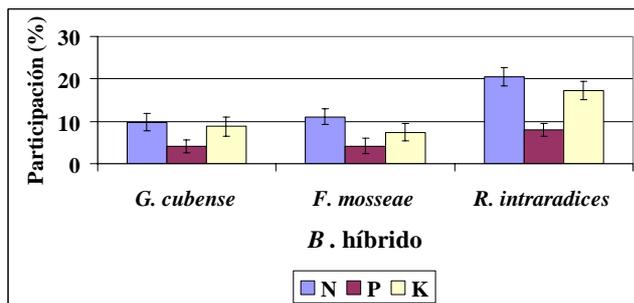
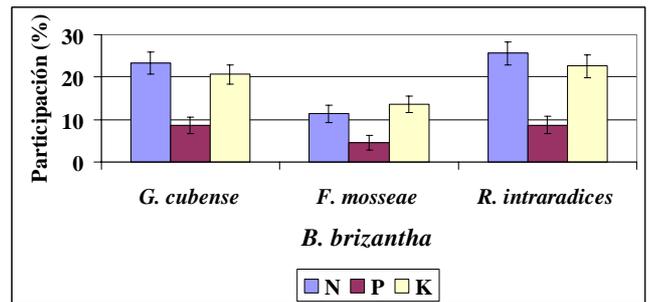
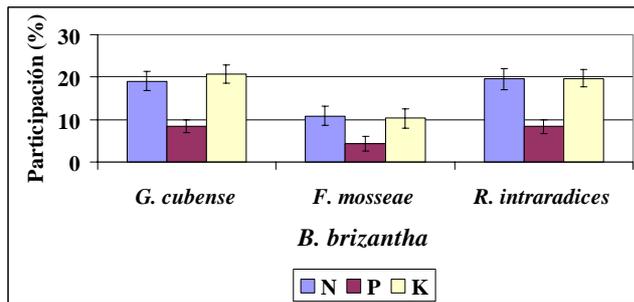
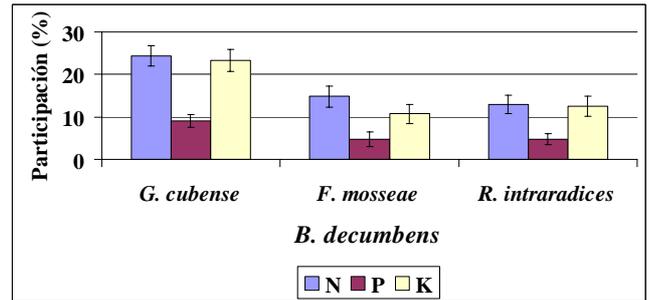


Figura 2. Participación de las cepas de HMA en el incremento de las concentraciones de N, P y K en la biomasa de la parte aérea de los pastos.
Las barras verticales muestran el intervalo de confianza ($P < 0.05$).

correlación que se observaron entre esta y el resto de las variables, también corrobora lo señalado. Sin embargo, aunque no existió un efecto significativo de la cepa eficiente de HMA en la absorción de P, sí se observó una respuesta positiva y significativa de los pastos a su inoculación, lo que indica que el funcionamiento micorrízico efectivo estuvo relacionado fundamentalmente con mejoras de la nutrición nitrogenada y potásica.

Rivera y Fernández (2003), al evaluar la contribución de la inoculación de cepas de HMA a la nutrición de diferentes cultivos, plantearon que la simbiosis micorrízica, más que favorecer la absorción de uno u otro elemento, se comportó como un mecanismo que permitió a las plantas obtener sus requerimientos nutricionales, en dependencia de sus propias necesidades y de la disponibilidad de los mismos en el sistema. Otros autores también han arribado a conclusiones similares (Atul-Nayyar *et al.*, 2009).

Los resultados de estos experimentos indicaron una respuesta positiva de los pastos a la inoculación de cepas de HMA en ambos tipos de suelos, así como la existencia de una alta especificidad cepa eficiente HMA-tipo de suelo y una baja especificidad cepa eficiente de HMA-especie de pasto, en *B. decumbens* cv. Basilisk, *B. brizantha* cv. Marandú y *B. híbrido* cv. Mulato (CIAT 36061). *R. intraradices* resultó la cepa de HMA más eficiente para mejorar el estado nutricional e incrementar los rendimientos de los pastos cultivados en el suelo Vertisol Pélico, en tanto que *G. cubense* lo fue para los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo Lixiviado. Se corroboró que la inoculación de una cepa eficiente de HMA fue una vía efectiva para incrementar los rendimientos de los pastos, y que su influencia en la mejora del estado nutricional de las plantas estuvo relacionada con el contenido de nutrientes del suelo y con sus propios requerimientos.

4.2. Grupo 2: Influencia de la fertilización mineral, la especie de pasto y la época del año, en la efectividad de la inoculación con la cepa eficiente de HMA en *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk y *Brachiaria* híbrido cv. Mulato, cultivados en suelos Ferralítico Rojo Lixiviado y Vertisol Pélico

Se presentan los resultados de los experimentos donde se evaluó la influencia de la fertilización nitrogenada, fosfórica y potásica, así como de la especie de pasto y la época del año, en la efectividad de la inoculación, en el momento de la siembra, con la cepa de HMA más eficiente para *B. decumbens* y *B. híbrido* cv. Mulato, cultivados en los suelos Ferralítico Rojo y Vertisol Pélico.

4.2.1. Resultados de la inoculación con *G. cubense* y la aplicación de dosis de N en los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo

4.2.1.1. Rendimientos

En ambas especies de pastos se encontró una respuesta significativa a la fertilización nitrogenada. En los tratamientos que no fueron inoculados, los mayores rendimientos de MS se obtuvieron con la dosis más alta de N (Tablas 12 y 13). Este efecto se encontró tanto en el período lluvioso como en el poco lluvioso de cada año y demostró la necesidad de aplicar dosis elevadas de N para obtener altas producciones de biomasa.

Durante el primer año, la inoculación con *G. cubense* más la adición del fertilizante nitrogenado produjo efectos beneficiosos hasta la dosis de 200 kg N ha⁻¹, ya que incrementó significativamente el rendimiento de los pastos, en comparación con los tratamientos que recibieron las mismas dosis de N y no fueron inoculados; de este modo, los rendimientos alcanzados con 200 kg N ha⁻¹ en presencia de *G. cubense* no difirieron de los obtenidos con 300 kg N ha⁻¹ en ausencia de inoculación. Con la mayor dosis de fertilizante nitrogenado no se encontró efecto de la inoculación micorrízica sobre el rendimiento de los pastos.

A partir del segundo año, el comportamiento de los tratamientos inoculados difirió entre una y otra especie de pasto. En *B. decumbens* (Tabla 12) si bien el efecto de la inoculación se mantuvo con las adiciones de 100 y 200 kg N ha⁻¹, ya que con ambas se obtuvieron nuevamente rendimientos significativamente mayores que con esas mismas dosis de N sin inocular, con 200 kg de N ha⁻¹ en presencia de *G. cubense* ya no se alcanzaron resultados similares a los que se lograron con 300 kg N ha⁻¹ de N en ausencia de inoculación, y ello indicó una disminución de la efectividad de la cepa introducida, que desapareció totalmente durante la época menos lluviosa de este mismo año.

En *B. híbrido* (Tabla 13) se observó un comportamiento diferente, ya que durante el segundo año, tanto en el período lluvioso como en el poco lluvioso, *G. cubense* produjo un efecto similar al primero; es decir, con 0, 100 y 200 kg N ha⁻¹ se obtuvieron nuevamente rendimientos de MS significativamente mayores que con esas mismas dosis de N sin inocular, y con 200 kg N ha⁻¹, similares a los obtenidos con 300 kg N ha⁻¹ en ausencia de inoculación. Este efecto ya no se mantuvo durante el tercer año.

Asimismo, fue interesante el comportamiento diferenciado de ambas especies de pastos en relación con la producción anual y estacional de MS. Con los tratamientos donde se

Tabla 12. Efecto de la fertilización nitrogenada y la inoculación con *G. cubense* en el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. decumbens* cultivado en el suelo Ferralítico Rojo.

Tratamientos		Primer año			Segundo año		
N (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	NI	7.71 d	3.10 d	10.81 d	5.74 f	2.96 d	8.69 f
100	NI	9.78 c	4.24 c	14.02 c	7.78 e	4.04 c	11.82 e
200	NI	12.81 b	5.31 b	18.13 b	10.74 c	4.82 b	15.56 c
300	NI	15.06 a	6.36 a	21.42 a	13.68 a	6.08 a	19.76 a
0	I	9.69 c	4.32 c	14.01 c	5.77 f	3.04 d	8.81 f
100	I	12.55 b	5.40 b	17.95 b	9.13 d	4.08 c	13.20 d
200	I	15.04 a	6.35 a	21.39 a	12.18 b	4.83 b	17.01 b
300	I	15.18 a	6.35 a	21.53 a	13.55 a	6.06 a	19.61 a
	ES	0.46**	0.22**	0.48**	0.43**	0.20**	0.47**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*. Fertilización de fondo: 50 y 100 kg P₂O₅ y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P< 0.05, según dócima de Duncan.

Tabla 13. Efecto de la fertilización nitrogenada y la inoculación con *G. cubense* en el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. híbrido cv. Mulato* cultivado en el suelo Ferralítico Rojo.

Tratamientos		Primer año			Segundo año			Tercer año		
N (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	NI	11.14 d	4.53 d	15.67 d	10.39 d	4.31 d	14.70 d	8.39 f	3.51 d	11.90 f
100	NI	13.20 c	6.20 c	19.40 c	12.45 c	5.42 c	17.87 c	11.96 d	4.65 c	16.61 e
200	NI	15.23 b	6.84 bc	22.07 b	14.34 b	6.48 b	20.82 b	14.36 c	5.84 b	20.19 c
300	NI	17.55 a	8.45 a	26.00 a	16.54 a	7.54 a	24.08 a	17.29 a	6.95 a	24.24 a
0	I	13.08 c	6.17 c	19.25 c	12.40 c	5.42 c	17.81 c	8.45 f	3.56 d	12.01 f
100	I	15.05 b	6.93 b	21.98 b	14.57 b	6.51 b	21.08 b	13.51 c	4.72 c	18.23 d
200	I	17.32 a	8.52 a	25.84 a	16.61 a	7.61 a	24.21 a	15.68 b	5.88 b	21.56 b
300	I	17.67 a	8.47 a	26.14 a	16.56 a	7.58 a	24.14 a	17.35 a	7.02 a	24.38 a
	ES	0.50**	0.24**	0.53**	0.49**	0.24**	0.52**	0.47**	0.20**	0.50**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*. Fertilización de fondo: 50 y 100 kg P₂O₅ y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P< 0.05, según dócima de Duncan.

obtuvieron los mayores efectos de la fertilización nitrogenada y la inoculación micorrízica en *B. híbrido* cv Mulato, los rendimientos oscilaron entre 24 y 26 t MS ha⁻¹ año⁻¹, de los cuales entre 7 y 8.5 t ha⁻¹ se produjeron durante los períodos menos lluviosos, mientras que con esos mismos tratamientos, las producciones anuales de MS en *B. decumbens* fluctuaron entre 19 y 22 t ha⁻¹ año⁻¹ y de ellas, alrededor de 6 t ha⁻¹ se produjeron durante las épocas de menores precipitaciones.

4.2.1.2. Variables fúngicas

En la Figura 3 se presenta el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la efectividad de la inoculación con *G. cubense* en *B. decumbens* y *B. híbrido* cv Mulato, expresada a través de las variables fúngicas porcentaje de colonización, densidad visual y número de esporas en la rizosfera. Para facilitar la comprensión de esta y el resto de las figuras que muestran el comportamiento de tales variables en este grupo de experimentos, en las mismas se incluyó solamente el tratamiento sin la aplicación del elemento (N, P o K, según el experimento), en representación de aquellos que no fueron inoculados, ya que en todos los casos presentaron valores muy similares, sin diferencias significativas entre sí, según se muestra en los Anexos del 4 al 9.

La inoculación con *G. cubense* incrementó significativamente las variables fúngicas durante el primer año del establecimiento de los pastos, tanto en el período lluvioso como en el poco lluvioso, a pesar de estas mostraron marcadas diferencias entre ambas épocas, con valores significativamente mayores durante el período lluvioso. Todos los tratamientos inoculados incrementaron los niveles de colonización, densidad visual y el número de esporas, en relación con los no inoculados, aunque los mayores valores se alcanzaron donde se inoculó la cepa de HMA y se aplicó 200 kg N ha⁻¹, los cuales no difirieron de los obtenidos con 100 kg N ha⁻¹.

Durante el primer año y en la época de lluvias, si bien los porcentajes de colonización asociados con la dosis de 200 kg N ha⁻¹ fueron similares en ambas especies de pastos y del orden del 62 %, los porcentajes de densidad visual y el número de esporas fueron mayores en *B. híbrido*. En la época de seca, estos indicadores disminuyeron considerablemente, no obstante, *B. híbrido* mantuvo una densidad visual cercana a 4.5 % y alrededor de 600 esporas 50 g⁻¹, ambos mayores a los alcanzados por *B. decumbens* en ese mismo período.

Con la inoculación con *G. cubense* más la aplicación de 300 kg N ha⁻¹ se observaron porcentajes de colonización micorrízica, densidad visual y contenidos de esporas significativamente menores que en presencia de 100 y 200 kg N ha⁻¹; además, con esa dosis de N, el efecto de *G. cubense* sobre las variables fúngicas de ambos pastos también fue menor en el tiempo, pues sólo se manifestó durante el período lluvioso del primer año.

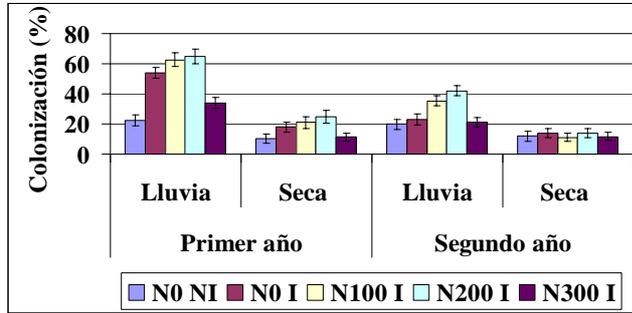
A partir de ese momento, la inoculación de *G. cubense* más la adición de 300 kg N ha⁻¹ mostró valores similares a los que se obtuvieron en los tratamientos que no fueron inoculados, cuyas variables reflejaron el nivel de ocupación radical de los HMA residentes, dejando claro el efecto depresivo de la dosis más alta de este nutriente sobre la efectividad de la inoculación.

En el segundo año, el efecto de la inoculación mostró marcadas diferencias entre las especies de pastos. En *B. decumbens*, si bien con las aplicaciones de 100 y 200 kg N ha⁻¹ se incrementaron significativamente los porcentajes de colonización y densidad visual, así como el número de esporas en la época de lluvias, sus valores solo llegaron hasta 40 %, 3 % y 300 esporas 50 g⁻¹, respectivamente, siendo muy inferiores a los obtenidos en la misma época durante el primer año. Ya en el período menos lluvioso no se observó ningún efecto de la inoculación sobre las variables fúngicas del pasto.

En *B. híbrido cv Mulato*, en la época de lluvias del segundo año tales indicadores se incrementaron nuevamente, y en este caso se obtuvieron los mismos efectos que durante el primero; de modo que con 200 kg N ha⁻¹ se volvieron a alcanzar los mayores porcentajes de colonización micorrízica (65 %), densidad visual (8 %) y número de esporas (1000 esporas 50 g⁻¹), cuyos valores fueron muy similares a los observados en el primer año. El efecto de la inoculación también se mantuvo durante el período poco lluvioso del segundo año, aunque ya las cantidades de esporas fueron significativamente inferiores a las obtenidas durante esa misma época del año anterior.

En el tercer año, los efectos de la inoculación sobre las variables fúngicas disminuyeron significativamente, y aunque estas se incrementaron durante la época de lluvias, los valores que se alcanzaron, aún en los tratamientos donde se obtuvieron los mayores efectos de la inoculación, fueron inferiores a los obtenidos en los años anteriores, pues los porcentajes de colonización, densidad visual y el número de esporas no sobrepasaron las cifras de 40 %, 4

B. decumbens



B. híbrido cv. Mulato

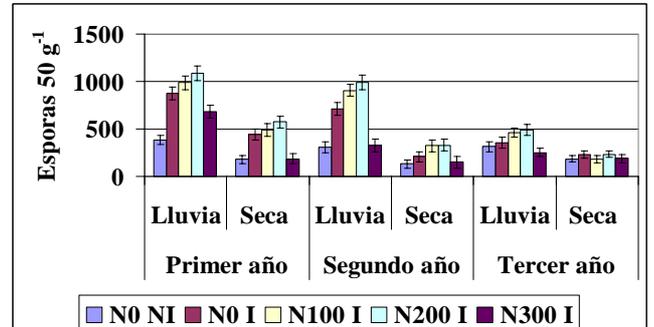
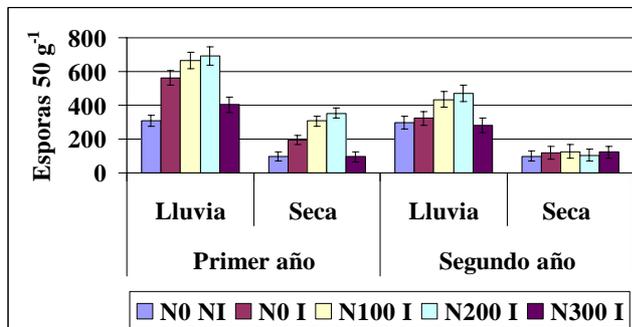
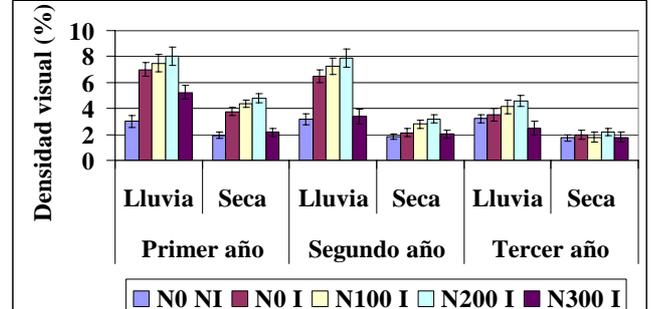
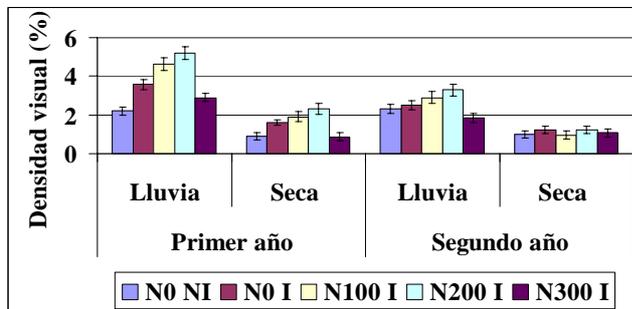
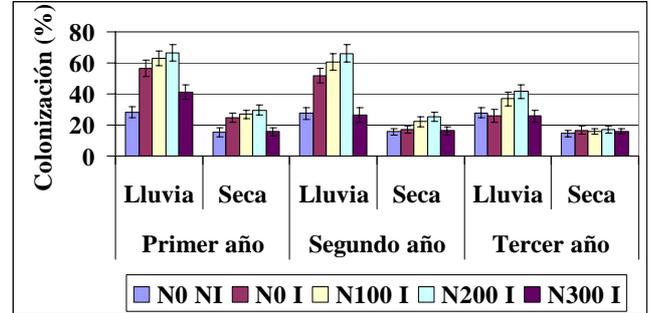


Figura. 3. Efecto de la fertilización nitrogenada y la inoculación con *G. cubense* en las variables fúngicas de los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo. N0 NI: 0 kg de N ha⁻¹ sin inoculación; N0 I: 0 kg de N ha⁻¹ inoculado con *G. cubense*; N100 I: 100 kg de N ha⁻¹ inoculado con *G. cubense*; N200 I: 200 kg de N ha⁻¹ inoculado con *G. cubense*; N300 I: 300 kg de N ha⁻¹ inoculado con *G. cubense*. Lluvia: período lluvioso, Seca: período poco lluvioso. Fertilización de fondo: 50 y 100 kg P₂O₅ y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza (P<0.05).

% y 400 esporas 50 g^{-1} , respectivamente. Ya en la época menos lluviosa, el efecto de la inoculación desapareció totalmente.

4.2.2. Resultados de la inoculación con *G. cubense* y la aplicación de dosis de P_2O_5 en los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo

4.2.2.1. Rendimientos

Se encontró un efecto significativo de la fertilización fosfórica sobre la producción de MS de los pastos (Tablas 14 y 15). En ambas especies, en ausencia de *G. cubense*, los mayores rendimientos se obtuvieron a partir de la aplicación de $30 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. Sin embargo, cuando *G. cubense* se combinó con la fertilización fosfórica, la adición de P_2O_5 resultó innecesaria, al menos durante el primer año en *B. decumbens* y durante los dos primeros en *B. híbrido*.

Si bien la influencia de *G. cubense* se observó hasta la época lluviosa del segundo año en *B. decumbens* y del tercero en *B. híbrido*, su efecto en la reducción de la dosis de P_2O_5 no se mantuvo, ya que durante uno y otro período se obtuvieron rendimientos más bajos que con la adición del fertilizante fosfórico. De este modo, a partir del primero y el segundo año para una y otra especie de pasto, respectivamente, se constató una disminución de la efectividad de la inoculación con *G. cubense*. En los tratamientos donde se obtuvieron los mayores rendimientos, los valores absolutos del rendimiento de los pastos, tanto anuales como estacionales, continuaron siendo mayores en *B. híbrido* que en *B. decumbens*.

4.2.1.2. Variables fúngicas

Los niveles más altos de colonización, densidad visual y número de esporas se observaron durante el período lluvioso de cada año; pero dentro de cada época, *G. cubense* produjo los mayores efectos en ausencia de P_2O_5 , o con la dosis más baja de este nutriente (Figura 4). Los valores de las variables fúngicas fueron disminuyendo a medida que aumentaron las dosis del fertilizante fosfórico hasta alcanzar, con $90 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$, cifras significativamente más bajas que con las dosis menores.

Las variables fúngicas de las especies de pastos mostraron valores diferentes. Durante el período lluvioso del primer año, en los tratamientos donde se obtuvieron los mayores efectos de la inoculación, *B. decumbens* alcanzó 60 % de colonización, 6 % de densidad visual y cerca de 600 esporas 50 g^{-1} , mientras que en ese mismo período, en *B. híbrido* estos fueron de 64 %, 8 % y 1000 esporas 50 g^{-1} , respectivamente. En la época menos

Tabla 14. Efecto de la fertilización fosfórica y la inoculación con *G. cubense* en el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. decumbens* cultivado en el suelo Ferralítico Rojo.

Tratamientos		Primer año			Segundo año		
P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	NI	11.82 b	5.23 b	17.05 b	9.01 c	4.24 b	13.25 c
30	NI	15.24 a	6.10 a	21.34 a	12.10 a	5.12 a	17.22 a
60	NI	15.11 a	5.70 a	20.81 a	11.84 a	4.93 a	16.77 a
90	NI	15.24 a	6.07 a	21.32 a	12.25 a	4.82 a	17.07 a
0	I	14.89 a	5.97 a	20.86 a	10.40 b	4.31 b	14.71 b
30	I	15.06 a	6.08 a	21.13 a	11.92 a	4.98 a	16.90 a
60	I	14.94 a	5.98 a	20.92 a	12.11 a	4.93 a	17.04 a
90	I	15.28 a	5.95 a	21.24 a	11.80 a	5.00 a	16.80 a
ES		0.40**	0.21**	0.43**	0.37**	0.19**	0.41**

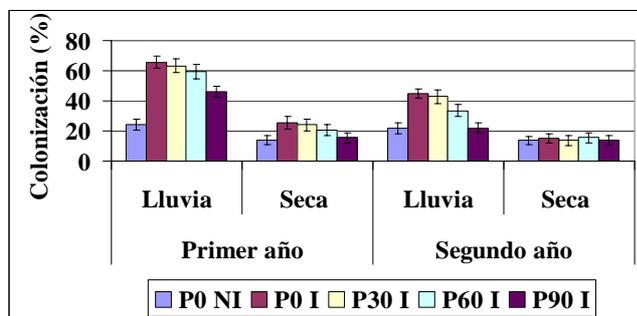
Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P < 0.05, según dócima de Duncan.

Tabla 15. Efecto de la fertilización fosfórica y la inoculación con *G. cubense* en el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. híbrido* cv. Mulato cultivado en el suelo Ferralítico Rojo.

Tratamientos		Primer año			Segundo año			Tercer año		
P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	NI	15.90 b	6.97 b	22.86 b	14.87 b	5.92 b	20.79 b	12.89 c	3.97 b	16.86 c
30	NI	17.91 a	7.95 a	25.86 a	16.91 a	6.86 a	23.76 a	15.87 a	5.08 a	20.95 a
60	NI	18.23 a	8.06 a	26.29 a	17.07 a	6.98 a	24.05 a	15.89 a	5.13 a	21.02 a
90	NI	17.99 a	8.18 a	26.17 a	16.97 a	7.08 a	24.05 a	16.15 a	5.06 a	21.21 a
0	I	18.06 a	8.15 a	26.21 a	17.00 a	7.17 a	24.17 a	14.31 b	4.15 b	18.46 b
30	I	18.03 a	8.02 a	26.05 a	17.01 a	7.01 a	24.02 a	16.02 a	5.10 a	21.12 a
60	I	17.32 a	8.12 a	25.44 a	16.46 a	7.13 a	23.59 a	15.98 a	4.94 a	20.92 a
90	I	17.74 a	8.04 a	25.78 a	16.28 a	7.08 a	23.36 a	16.12 a	5.05 a	21.17 a
ES		0.45**	0.25**	0.48**	0.44**	0.24**	0.46**	0.42**	0.23**	0.44**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P < 0.05, según dócima de Duncan.

B. decumbens



B. híbrido cv. Mulato

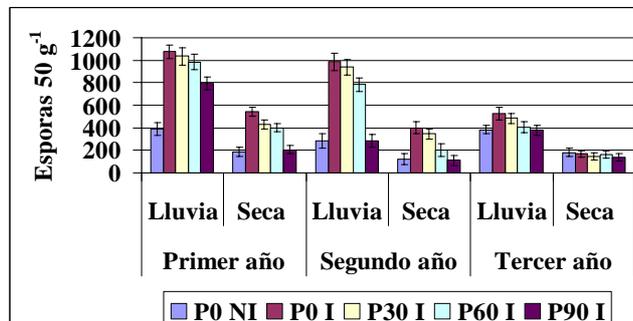
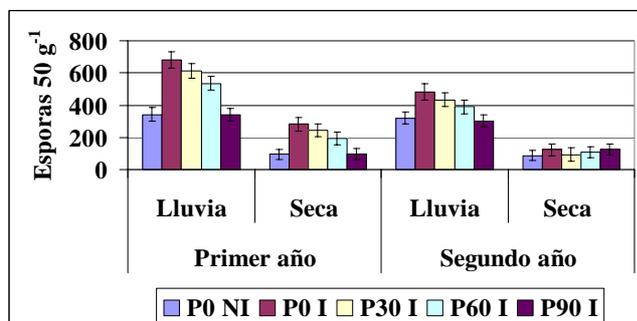
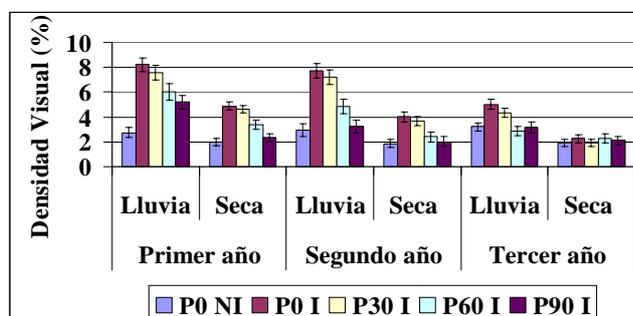
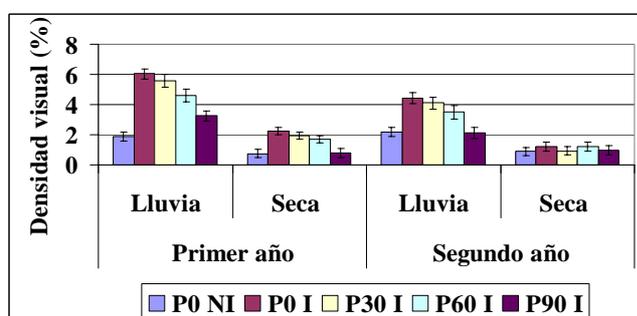
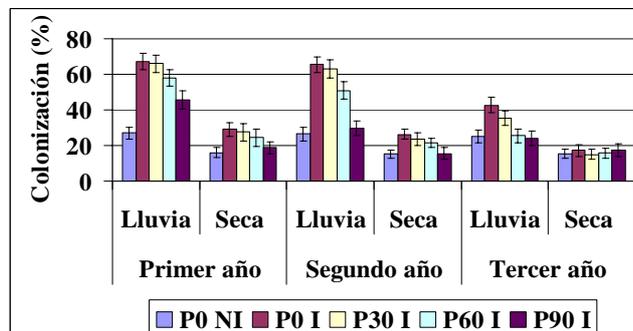


Figura 4. Efecto de la fertilización fosfórica y la inoculación con *G. cubense* en las variables fúngicas de los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo. P0 NI: 0 kg de P₂O₅ ha⁻¹ sin inoculación; P0 I: 0 kg de P₂O₅ ha⁻¹ inoculado con *G. cubense*; P30 I: 100 kg de P₂O₅ ha⁻¹ inoculado con *G. cubense*; P60 I: 60 kg de P₂O₅ ha⁻¹ inoculado con *G. cubense*; P90 I: 90 kg de P₂O₅ ha⁻¹ inoculado con *G. cubense*. Lluvia: período lluvioso, Seca: período poco lluvioso. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza (P<0.05).

lluviosa, la densidad visual y el número de esporas continuaron siendo mayores en *B. híbrido*, con valores cercanos, en ese orden, a 4.5 % y 600 esporas 50 g^{-1} . Los valores de las variables fúngicas en ambas épocas fueron muy similares a los encontrados para una y otra especie de pasto, en los tratamientos donde se obtuvieron los mayores efectos de la inoculación en los experimentos de fertilización nitrogenada.

A partir del segundo año, el comportamiento de tales variables fue diferente en cada especie de pasto. En *B. decumbens*, si bien en los tratamientos donde se obtuvieron los mayores efectos de la inoculación, la colonización, la densidad visual y el número de esporas se incrementaron nuevamente durante el período lluvioso, los valores alcanzados fueron significativamente menores que durante esa misma época en el primer año; ya en el período poco lluvioso desapareció el efecto de *G. cubense* en estos indicadores.

En *B. híbrido*, durante el segundo año se obtuvieron nuevamente altos porcentajes de colonización, densidad visual y densidad de esporas, similares a los obtenidos durante el primero, aunque se mantuvieron las diferencias significativas entre cada época. Ya en el tercer año, prácticamente desapareció el efecto de la inoculación, y aunque en el período lluvioso estas se incrementaron ligeramente en relación con el tratamiento no inoculado, no alcanzaron los valores obtenidos durante esta misma época en los años anteriores; además, el efecto de la inoculación desapareció completamente en el período menos lluvioso.

Se demostró nuevamente que los mayores efectos de la inoculación en las variables fúngicas se obtuvieron durante el primer año en *B. decumbens*, y durante los dos primeros años en *B. híbrido*, coincidiendo con los resultados obtenidos en los experimentos con N.

4.2.3. Resultados de la inoculación con *G. cubense* y la aplicación de dosis de K_2O en los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo

4.2.3.1. Rendimientos

Se encontró un efecto significativo de la fertilización potásica sobre el rendimiento de MS de los pastos, cuyos valores en los tratamientos no inoculados fueron aumentando con el incremento de las dosis, hasta $100 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ (Tablas 16 y 17). Sin embargo, cuando *G. cubense* se incluyó en el esquema de fertilización potásica, en ambas especies solo se necesitó aplicar $50 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ para obtener resultados similares a los que se lograron con $100 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ sin inoculación.

Tabla 16. Efecto de la fertilización potásica y la inoculación con *G. cubense* en el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. decumbens* cultivado en el suelo Ferralítico Rojo.

Tratamientos		Primer año			Segundo año		
K ₂ O (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	NI	11.65 c	4.23 c	15.88 c	7.02 e	3.87 c	10.89 e
50	NI	12.85 b	5.17 b	18.02 b	9.77 c	4.16 b	13.93 c
100	NI	14.10 a	6.23 a	20.33 a	12.87 a	5.27 a	18.14 a
150	NI	14.78 a	6.19 a	20.97 a	12.53 a	5.24 a	17.77 a
0	I	12.72 b	5.13 b	17.85 b	8.41 d	3.93 c	12.34 d
50	I	14.61 a	6.20 a	20.81 a	11.13 b	4.20 b	15.33 b
100	I	14.78 a	6.23 a	21.01 a	12.78 a	5.31 a	18.09 a
150	I	15.02 a	6.17 a	21.19 a	12.67 a	5.25 a	17.92 a
ES		0.41**	0.21**	0.44**	0.40**	0.21**	0.45**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P < 0.05, según d'Arcangelo de Duncan.

Tabla 17. Efecto de la fertilización potásica y la inoculación con *G. cubense* en el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. híbrido* cv. Mulato cultivado en el suelo Ferralítico Rojo.

Tratamientos		Primer año			Segundo año			Tercer año		
K ₂ O (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	NI	13.89 c	5.83 c	19.72 c	12.24 c	4.91 c	17.15 c	8.51 e	4.11 c	12.62 d
50	NI	15.92 b	7.20 b	23.12 b	15.61 b	6.32 b	21.93 b	10.21 d	5.55 b	15.76 c
100	NI	18.59 a	8.32 a	26.91 a	17.79 a	7.28 a	25.07 a	15.33 a	6.6 a	21.93 a
150	NI	18.46 a	8.36 a	26.82 a	17.55 a	7.34 a	24.89 a	15.11 a	6.64 a	21.75 a
0	I	15.58 b	7.23 b	22.81 b	15.25 b	6.18 b	21.43 b	11.87 c	4.07 c	15.94 c
50	I	18.76 a	8.33 a	27.09 a	17.63 a	7.20 a	24.83 a	13.49 b	5.62 b	19.11 b
100	I	18.64 a	8.29 a	26.93 a	17.81 a	7.31 a	25.12 a	15.09 a	6.58 a	21.67 a
150	I	18.83 a	8.30 a	27.13 a	17.63 a	7.28 a	24.91 a	15.21 a	6.62 a	21.83 a
ES		0.49**	0.23**	0.52**	0.51**	0.23**	0.53**	0.46**	0.20**	0.49**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P < 0.05, según d'Arcangelo de Duncan.

La influencia de *G. cubense* en el aumento de los rendimientos y en la reducción de la dosis de K_2O , al igual que en los experimentos anteriores, se observó con mayor efectividad durante el primer año en *B. decumbens*, y durante los dos primeros años en *B. híbrido*. De igual modo, *B. híbrido* continuó presentando rendimientos anuales y estacionales mayores que *B. decumbens*.

4.2.3.2. Variables fúngicas

G. cubense incrementó significativamente los porcentajes de colonización, densidad visual y el número de esporas en ambas especies de pastos (Figura 5), pero los mayores efectos se obtuvieron donde la cepa de HMA se combinó con 50 y 100 kg $K_2O\ ha^{-1}$. La dosis de 150 kg $K_2O\ ha^{-1}$ disminuyó significativamente los valores de estas variables.

Al igual que en los experimentos anteriores, en los tratamientos donde se obtuvieron los mayores efectos de la inoculación, *B. decumbens* alcanzó porcentajes de colonización similares a *B. híbrido*, pero porcentajes de densidad visual y cantidades de esporas inferiores a esta especie de pasto. Los valores de estas variables fueron significativamente mayores en la época de lluvias que en la época de seca.

También es de destacar que los mayores efectos de la inoculación se obtuvieron durante el primer año en *B. decumbens* y hasta el segundo año en *B. híbrido*, de modo que en todos los experimentos que se realizaron en el suelo Ferralítico Rojo se observó una correspondencia, tanto en el espacio como en el tiempo, del comportamiento de las variables micorrízicas en cada especie de pasto.

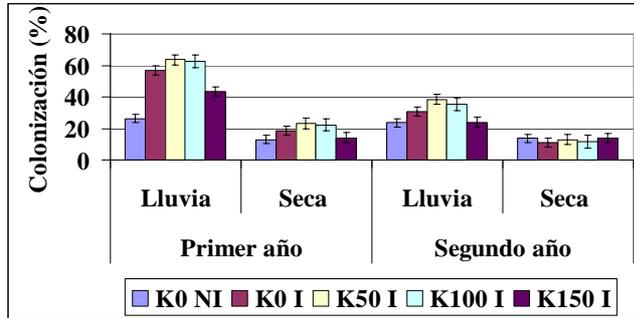
4.2.4. Resultados de la inoculación con *R. intraradices* y la aplicación de dosis de N en los pastos cultivados en el suelo Vertisol Pélico

4.2.4.1. Rendimientos

En el suelo Vertisol, los pastos respondieron significativamente a las aplicaciones de dosis crecientes de N (Tablas 18 y 19), y al igual que en el suelo Ferralítico Rojo, los mayores rendimientos se obtuvieron con 300 kg $N\ ha^{-1}\ año^{-1}$. La inoculación de *R. intraradices* también modificó la respuesta de los pastos a la fertilización nitrogenada, pues cuando se combinó con 0, 100 y 200 kg $N\ ha^{-1}$, durante el primer año produjo rendimientos significativamente mayores que con esas mismas dosis de N sin inocular.

Durante ese período, tanto en la época lluviosa como en la poca lluviosa, con 200 kg de $N\ ha^{-1}$ más la inoculación con *R. intraradices* se obtuvieron rendimientos similares a los

B. decumbens



B. híbrido cv. Mulato

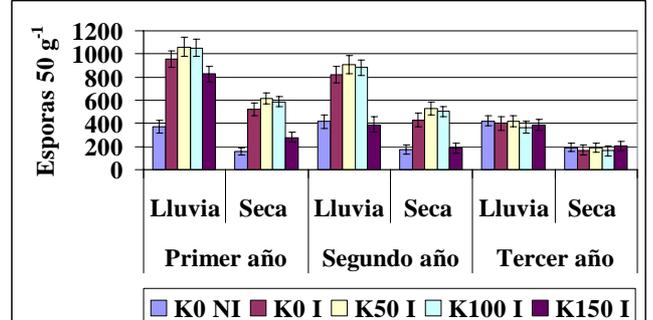
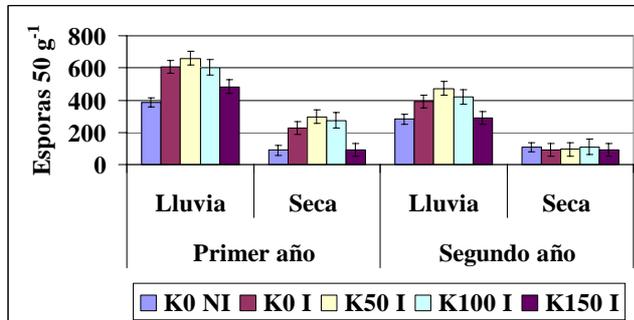
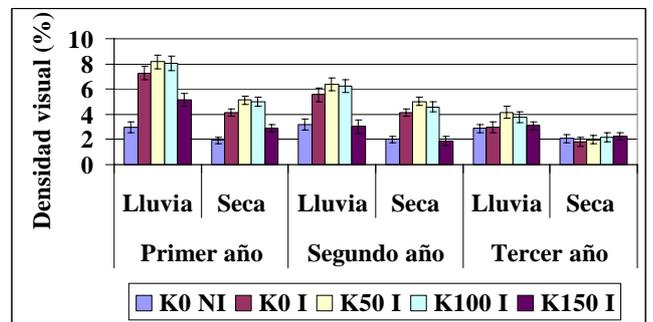
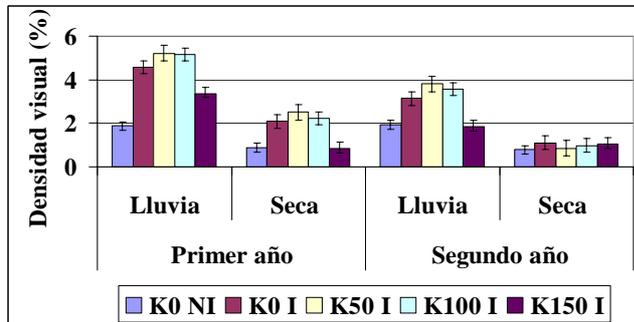
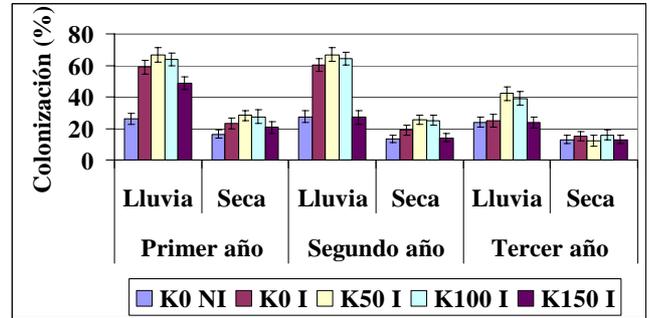


Figura 5. Efecto de la fertilización potásica y la inoculación con *G. cubense* en las variables fúngicas de los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo. K0 NI: 0 kg de K₂O ha⁻¹ sin inoculación; K0 I: 0 kg de K₂O ha⁻¹ inoculado con *G. cubense*; K50 I: 50 kg de K₂O ha⁻¹ inoculado con *G. cubense*; K100 I: 100 kg de K₂O ha⁻¹ inoculado con *G. cubense*; K150 I: 150 kg de K₂O ha⁻¹ inoculado con *G. cubense*. Lluvia: periodo lluvioso, Seca: periodo poco lluvioso. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza (P<0.05).

alcanzados con 300 kg N ha⁻¹ sin inocular. En el segundo año, la cepa no tuvo efectos en los rendimientos de ninguna de las especies de pastos. En este suelo, las diferencias entre los rendimientos anuales y estacionales de una y otra especie de pasto fueron menos marcadas que en el Ferralítico.

4.2.4.2. Variables fúngicas

R. intraradices incrementó la colonización micorrízica, la densidad visual y el número de esporas, tanto en *B. decumbens* como en *B. híbrido*, y en ambos pastos se obtuvieron los mayores valores con 100 y 200 kg N ha⁻¹ (Figura 6). Cuando su inoculación se combinó con la aplicación de 300 kg N ha⁻¹, se obtuvieron valores similares al tratamiento no inoculado, lo que evidenció un efecto depresivo de la dosis más alta de N sobre estos indicadores del funcionamiento micorrízico.

De forma similar a los experimentos de fertilización nitrogenada que se realizaron en el suelo Ferralítico Rojo, en los tratamientos donde se obtuvieron los mayores efectos de la inoculación, durante la época de lluvias del primer año ambas especies de pastos presentaron porcentajes de colonización similares, los cuales estuvieron alrededor del 60 %; pero la densidad visual y el número de esporas fueron mayores en *B. híbrido*, con valores cercanos al 8 % y a 900 esporas 50 g⁻¹, respectivamente. En el período poco lluvioso, aunque se mantuvo el efecto significativo de la inoculación sobre las variables micorrízicas, estas disminuyeron considerablemente en relación con el período lluvioso. A diferencia de los experimentos de N que se condujeron en el suelo Ferralítico Rojo, el efecto positivo de la cepa sobre las variables fúngicas, solo se observó durante el primer año.

4.2.5. Resultados de la inoculación con *R. intraradices* y la aplicación de dosis de P₂O₅ en los pastos cultivados en el suelo Vertisol Pélico

4.2.5.1. Rendimientos

En el suelo Vertisol, las aplicaciones de P₂O₅ no incrementaron el rendimiento de los pastos (Tablas 20 y 21), lo que indicó que los tenores de P asimilable en este suelo fueron suficientes para satisfacer sus requerimientos; sin embargo, con la inoculación de *R. intraradices*, sola o combinada con 0, 30 y 60 kg P₂O₅ ha⁻¹, se obtuvieron rendimientos significativamente más altos que con cualquier dosis P₂O₅ sin la presencia de la cepa. De este modo, ambas especies de pastos alcanzaron los mayores rendimientos con la sola inoculación de la cepa de HMA y sin necesidad de aplicar fertilizante fosfórico. El efecto

Tabla 18. Efecto de la fertilización nitrogenada y la inoculación con *R. intraradices* en el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. decumbens* cultivado en el suelo Vertisol Pélico.

Tratamientos		Primer año			Segundo año		
N (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	NI	6.99 d	2.32 d	9.31 d	6.10 d	2.45 d	8.55 d
100	NI	11.88 c	3.40 c	15.28 c	9.39 c	3.50 c	12.89 c
200	NI	14.11 b	4.47 b	18.58 b	12.16 b	4.40 b	16.56 b
300	NI	16.01 a	5.55 a	21.56 a	15.26 a	5.48 a	20.74 a
0	I	11.05 c	3.46 c	14.51 c	6.25 d	2.53 d	8.78 d
100	I	13.75 b	4.59 b	18.34 b	10.03 c	3.61 c	13.64 c
200	I	15.64 a	5.52 a	21.16 a	12.28 b	4.23 b	16.51 b
300	I	15.98 a	5.12 a	21.40 a	15.17 a	5.32 a	20.49 a
	ES	0.52**	0.22**	0.56**	0.53**	0.22**	0.55**

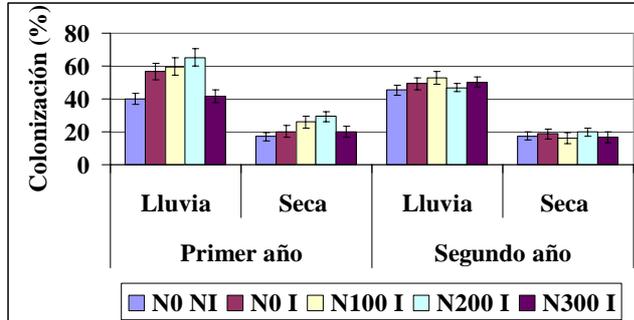
Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *R. intraradices*. Fertilización de fondo: 50 y 100 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P< 0.05, según d^ocima de Duncan.

Tabla 19. Efecto de la fertilización potásica y la inoculación con *R. intraradices* en el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. híbrido cv. Mulato* cultivado en el suelo Vertisol Pélico.

Tratamientos		Primer año			Segundo año		
N (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	NI	8.87 d	3.66 d	12.53 d	7.89 d	3.26 d	11.15 d
100	NI	10.69 c	4.79 c	15.48 c	10.89 c	4.30 c	15.19 c
200	NI	13.98 b	5.88 b	19.86 a	12.89 b	5.03 b	17.92 b
300	NI	16.21 a	6.92 a	23.12 a	14.95 a	6.65 a	21.59 a
0	I	10.86 c	4.89 c	15.75 c	7.97 d	3.17 d	11.14 d
100	I	13.72 b	5.97 b	19.69 a	10.90 c	4.08 c	14.96 c
200	I	16.29 a	6.90 a	23.19 a	12.94 b	5.02 b	17.96 b
300	I	16.25 a	6.93 a	23.18 a	15.08 a	6.68 a	21.76 a
	ES	0.52**	0.22**	0.56**	0.53**	0.22**	0.55**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *R. intraradices*. Fertilización de fondo: 50 y 100 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P< 0.05, según d^ocima de Duncan.

B. decumbens



B. híbrido cv. Mulato

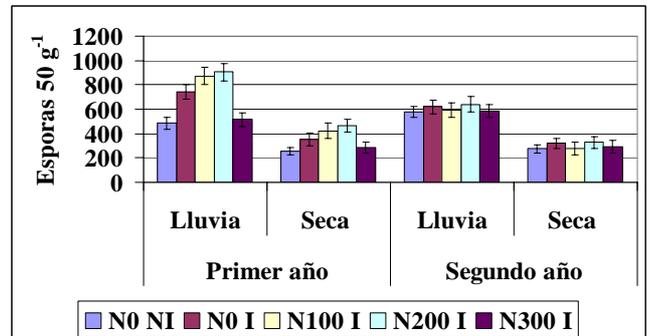
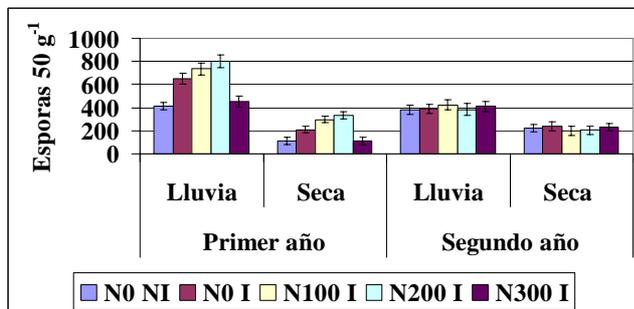
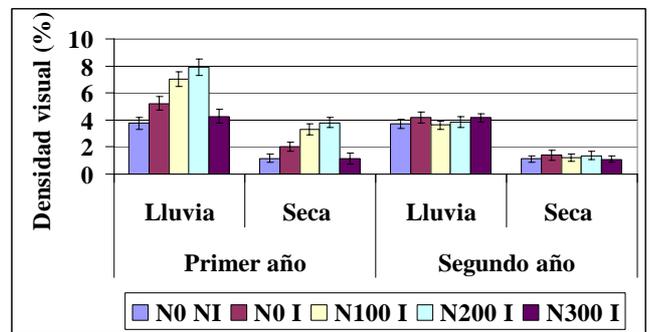
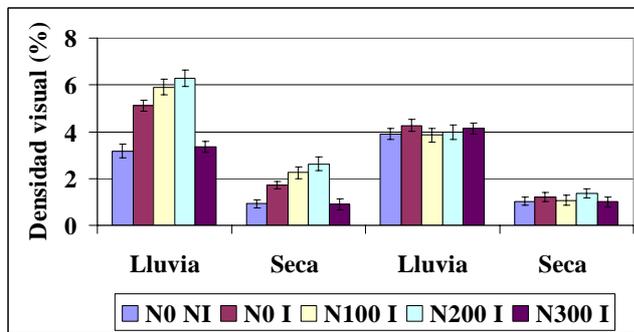
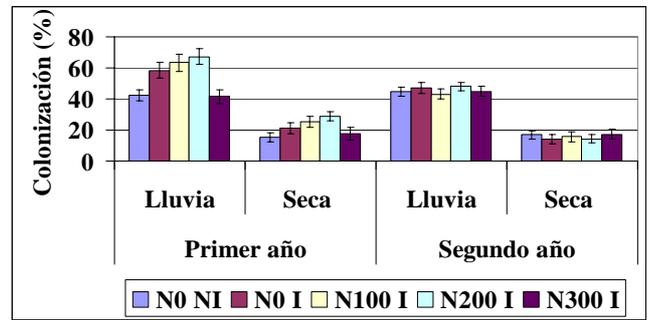


Figura 6. Efecto de la fertilización nitrogenada y la inoculación con *R. intraradices* en las variables fúngicas de los pastos cultivados en el suelo Vertisol Pélico. N0 NI: 0 kg de N ha⁻¹ sin inoculación; N0 I: 0 kg de N ha⁻¹ inoculado con *R. intraradices*; N100 I: 100 kg de N ha⁻¹ inoculado con *R. intraradices*; N200 I: 200 kg de N ha⁻¹ inoculado con *R. intraradices*; N300 I: 300 kg de N ha⁻¹ inoculado con *R. intraradices*. Lluvia: período lluvioso, Seca: período poco lluvioso. Fertilización de fondo: 50 y 100 kg P₂O₅ y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza (P<0.05).

Tabla 20. Efecto de la fertilización fosfórica y la inoculación con *R. intraradices* en el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. decumbens* cultivado en el suelo Vertisol Pélico.

Tratamientos		Primer año			Segundo año		
P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	NI	13.86 b	4.44 b	18.30 b	12.98	4.17	17.12
30	NI	14.29 b	4.25 b	18.54 b	13.42	3.91	17.33
60	NI	13.73 b	4.31 b	18.04 b	12.71	4.11	16.82
90	NI	14.30 b	4.18 b	18.48 b	13.27	3.89	17.16
0	I	15.97 a	5.18 a	21.15 a	13.35	3.97	17.32
30	I	16.28 a	5.20 a	21.48 a	12.83	4.13	16.96
60	I	15.86 a	5.08 a	20.94 a	13.15	3.93	17.08
90	I	13.53 b	4.27 b	17.80 b	12.79	4.05	16.84
	ES	0.49**	0.24**	0.52**	0.45	0.22	0.47

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *R. intraradices*. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna, para cada especie de pasto, difieren significativamente a P < 0.05, según dócima de Duncan.

Tabla 21. Efecto de la fertilización fosfórica y la inoculación con *R. intraradices* en el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. híbrido cv. Mulato* cultivado en el suelo Vertisol Pélico.

Tratamientos		Primer año			Segundo año		
P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	NI	11.85 b	5.01 b	16.86 b	14.03	4.93	18.96
30	NI	10.92 b	4.93 b	15.85 b	13.49	5.16	18.65
60	NI	11.18 b	5.19 b	16.67 b	14.11	5.11	19.22
90	NI	10.23 b	4.95 b	15.18 b	13.87	5.19	19.06
0	I	12.95 a	6.07 a	19.02 a	13.91	4.95	18.86
30	I	13.22 a	6.13 a	19.35 a	14.13	5.15	19.28
60	I	13.53 a	5.22 b	18.75 a	13.72	5.18	18.90
90	I	10.68 b	5.18 b	15.86 b	14.08	4.91	18.99
	ES	0.51**	0.23**	0.54**	0.49	0.22	0.53

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *R. intraradices*. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna, para cada especie de pasto, difieren significativamente a P < 0.05, según dócima de Duncan.

de *R. intraradices* se observó tanto en el período lluvioso como en el poco lluvioso, pero solo durante el primer año del establecimiento de los pastos.

En el caso de estos experimentos, en los que no se obtuvo respuesta a la fertilización fosfórica y sí a la inoculación de *R. intraradices*, se incluyeron los análisis de las concentraciones de macronutrientes (N, P y K) en la biomasa de la parte aérea de los pastos durante el primer año, para conocer si el efecto de la cepa estuvo relacionado con la mejora de la nutrición con algunos de estos elementos.

Los resultados de la Tabla 22 indicaron que la fertilización fosfórica no influyó en las concentraciones de P en la biomasa, y que *R. intraradices* incrementó sus tenores de N y K, excepto en el tratamiento donde se aplicó 90 kg P₂O₅ ha⁻¹, dejando claro que el efecto de la cepa en los rendimientos de ambos pastos en este tipo de suelo, estuvo más relacionado con la mejora de la nutrición nitrogenada y potásica que con la propia nutrición fosfórica.

Tabla 22. Efecto de la fertilización fosfórica y la inoculación de *R. intraradices* en las concentraciones (%) de N, P y K en la biomasa de la parte aérea de *B. decumbens* y B.

híbrido cv. Mulato, cultivados en el suelo Vertisol Pélico.

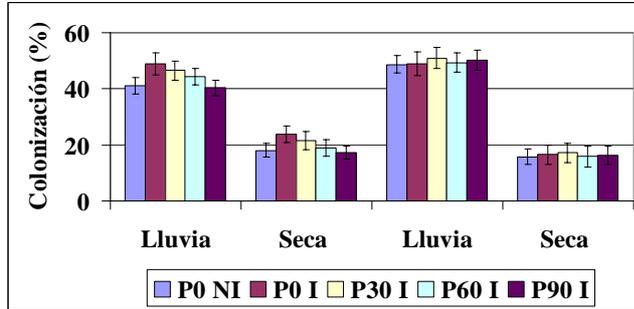
Tratamientos		<i>B. decumbens</i>			<i>B. híbrido</i>		
P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹)	Inoc.	N	P	K	N	P	K
0	NI	1.59 b	0.22	1.48 b	1.62 b	0.24	1.55 b
30	NI	1.58 b	0.21	1.52 b	1.64 b	0.23	1.57 b
60	NI	1.51 b	0.20	1.55 b	1.59 b	0.23	1.60 b
90	NI	1.59 b	0.21	1.49 b	1.60 b	0.23	1.58 b
0	I	1.78 a	0.22	1.68 a	1.86 a	0.24	1.76 a
30	I	1.80 a	0.20	1.72 a	1.82 a	0.22	1.79 a
60	I	1.73 a	0.21	1.64 a	1.78 a	0.23	1.68 a
90	I	1.59 b	0.21	1.50 b	1.61 b	0.23	1.56 b
ES		0.04**	0.01	0.05**	0.05**	0.01	0.03**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P < 0.05, según dócima de Duncan.

4.2.5.2. Variables fúngicas

R. intraradices incrementó los porcentajes de colonización, la densidad visual y el número de esporas en la rizosfera de los pastos durante el primer año de su establecimiento, tanto en la época lluviosa como en la poco lluviosa (Figura 7); aunque estas variables manifestaron una tendencia a ir disminuyendo a medida que aumentaron las aplicaciones de fertilizante fosfórico hasta alcanzar, con 90 kg ha⁻¹ P₂O₅, valores similares a los encontrados en el tratamiento sin inocular.

B. decumbens



B. híbrido cv. Mulato

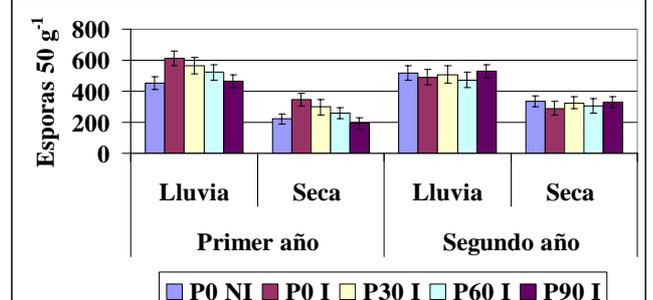
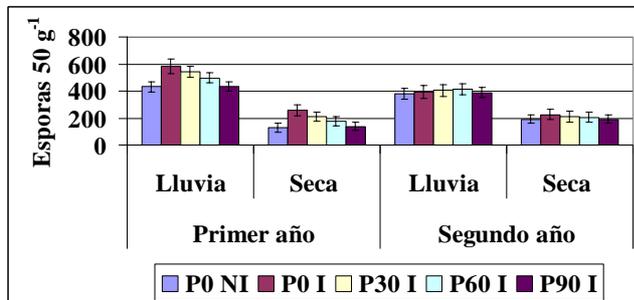
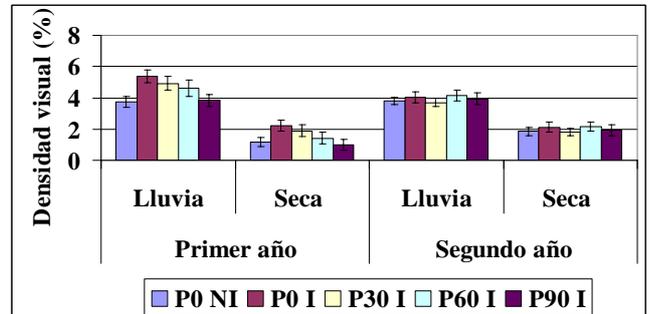
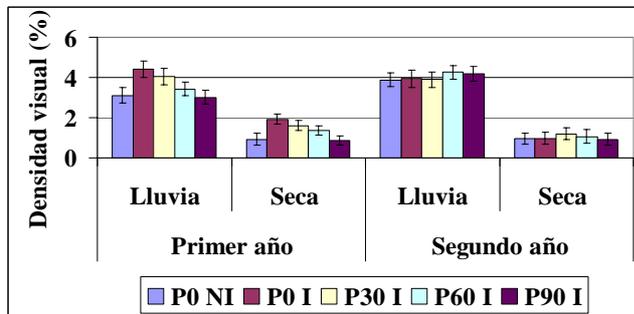
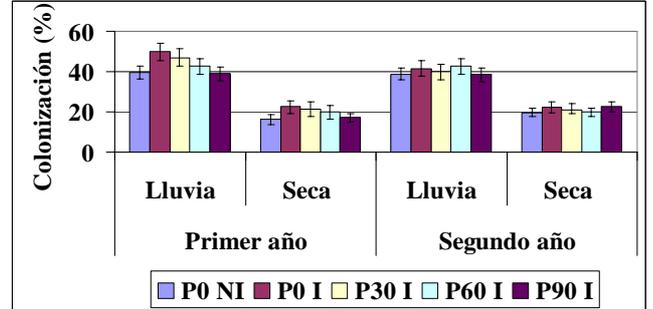


Figura. 7. Efecto de la fertilización fosfórica y la inoculación con *R. intraradices* en las variables fúngicas de los pastos cultivados en el suelo Vertisol Pélico. P0 NI: 0 kg de P_2O_5 ha^{-1} sin inoculación; P0 I: 0 kg de P_2O_5 ha^{-1} inoculado con *R. intraradices*; P30 I: 30 kg de P_2O_5 ha^{-1} inoculado con *R. intraradices*; P60 I: 60 kg de P_2O_5 ha^{-1} inoculado con *R. intraradices*; P90 I: 90 kg de P_2O_5 ha^{-1} inoculado con *R. intraradices*. Lluvia: período lluvioso, Seca: período poco lluvioso. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K_2O ha^{-1} , respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza ($P < 0.05$).

En ambos pastos, en los tratamientos donde se obtuvieron los mayores efectos de la inoculación en las variables micorrízicas, durante el período lluvioso del primer año se alcanzaron porcentajes de colonización, densidad visual y número de esporas cercanos a 50 %, 4.5 % y 600 esporas 50 g^{-1} , respectivamente. En el segundo año desapareció la influencia de *R. intraradices* en estas variables.

4.2.6. Resultados de la inoculación con *R. intraradices* y la aplicación de dosis de K_2O en los pastos cultivados en el suelo Vertisol Pélico

4.2.6.1. Rendimientos

En el suelo Vertisol Pélico también se encontró un efecto significativo de la inoculación con *R. intraradices* y la fertilización potásica en el rendimiento de los pastos (tablas 23 y 24). Las aplicaciones de dosis crecientes de K, sin la inclusión de la cepa, produjeron incrementos proporcionales en esta variable y en ambas especies se obtuvo el mayor beneficio con la dosis más alta ($150 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$). En los tratamientos donde se inoculó *R. intraradices*, con las adiciones de 0, 50 y $100 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1}$ se alcanzaron rendimientos significativamente más altos que con esas mismas dosis de K_2O sin inocular, de modo que en presencia de la cepa eficiente, fue necesario aplicar solamente $100 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1}$ para alcanzar un resultado similar al que se logró con $150 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1}$ en ausencia de inoculación. El efecto de la cepa se observó solamente durante el primer año del establecimiento de los pastos.

4.2.6.2. Variables fúngicas

R. intraradices influyó significativamente en las variables fúngicas de los pastos (Figura 8). Su inoculación, sin la adición de fertilizante potásico, incrementó la colonización, la densidad visual y el número de esporas, en relación con el tratamiento no inoculado; sin embargo, los valores de estos indicadores se fueron incrementando a medida que aumentaron las dosis de K_2O , hasta alcanzar los más altos con 100 y $150 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1}$. En el segundo año desapareció el efecto de la cepa sobre las variables micorrízicas.

4.2.7. Discusión

Varios aspectos deben resaltarse, a partir del análisis integral de los resultados de los experimentos del grupo 3, en los que se evaluaron los efectos de la inoculación con la cepa eficiente de HMA y la aplicación de fertilizantes minerales, en los pastos cultivados en ambos tipos de suelos. En primer lugar, la respuesta de estos cultivos a la fertilización

Tabla 23. Efecto de la fertilización potásica y la inoculación con *R. intraradices* en el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. decumbens* cultivado en el suelo Vertisol Pélico.

Tratamientos		Primer año			Segundo año		
K ₂ O (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	NI	9.08 d	3.03 d	12.11 d	7.83 d	2.89 d	10.72 d
50	NI	11.17 c	4.10 c	15.27 c	9.77 c	3.10 c	12.87 c
100	NI	13.35 b	5.15 b	18.50 b	11.85 b	4.05 b	15.90 b
150	NI	15.26 a	6.07 a	21.33 a	13.23 a	5.17 a	18.40 a
0	I	10.93 c	4.21 c	15.14 c	8.11 d	2.93 d	11.04 d
50	I	13.93 b	5.21 b	19.14 b	10.13 c	3.15 c	13.28 c
100	I	15.49 a	5.94 a	21.43 a	11.35 c	4.13 b	15.48 b
150	I	15.23 a	6.12 a	21.35 a	13.07 a	5.12 a	18.99 a
ES		0.42**	0.22**	0.45**	0.45**	0.24**	0.47**

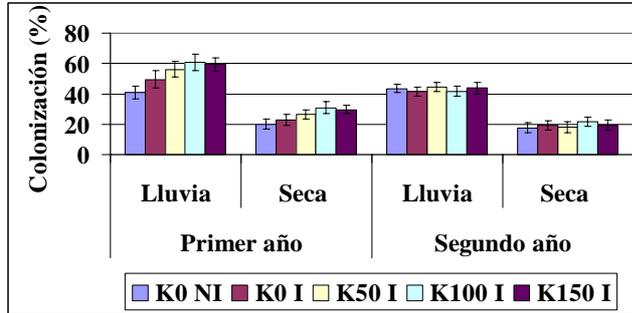
Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *R. intraradices*. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna, para cada especie de pasto, difieren significativamente a P < 0.05, según dócima de Duncan.

Tabla 24. Efecto de la fertilización potásica y la inoculación con *R. intraradices* en el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. híbrido cv. Mulato* cultivado en el suelo Vertisol Pélico.

Tratamientos		Primer año			Segundo año		
K ₂ O (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	NI	8.56 d	3.52 d	12.08 d	7.03 d	3.12 d	10.15 d
50	NI	10.31 c	4.31 c	14.62 c	9.39 c	4.05 c	13.44 c
100	NI	12.03 b	5.19 b	17.22 b	11.15 b	4.89 b	16.04 b
150	NI	13.83 a	6.05 a	19.88 a	13.27 a	5.63 a	18.90 a
0	I	10.56 c	4.23 c	14.79 c	7.41 d	3.08 d	10.49 d
50	I	11.93 b	5.15 b	17.08 b	9.21 c	4.11 c	13.32 c
100	I	14.01 a	5.63 a	19.64 a	10.92 b	4.93 b	15.85 b
150	I	13.88 a	6.29 a	20.17 a	13.15 a	5.77 a	18.92 a
ES		0.50**	0.23**	0.54**	0.49**	0.22**	0.55**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *R. intraradices*. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna, para cada especie de pasto, difieren significativamente a P < 0.05, según dócima de Duncan.

B. decumbens



B. híbrido cv. Mulato

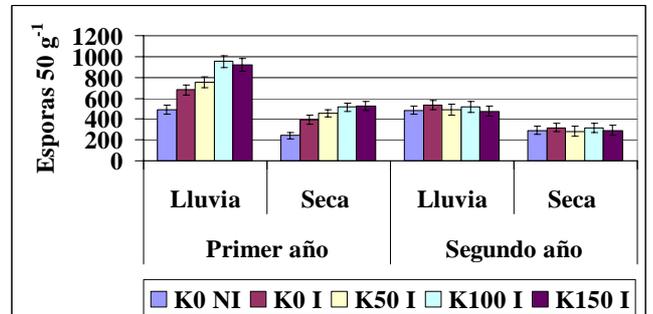
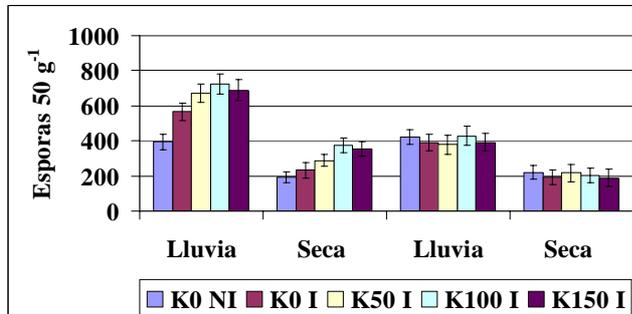
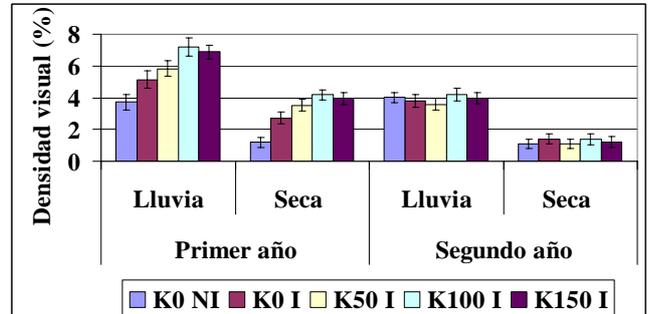
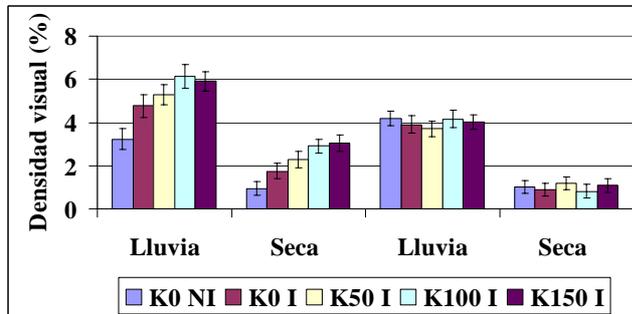
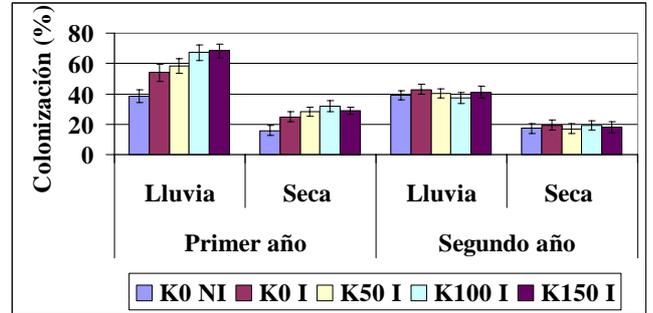


Figura 8. Efecto de la fertilización potásica y la inoculación con *R. intraradices* en las variables fúngicas de los pastos cultivados en el suelo Vertisol Pélico. K0 NI: 0 kg de K₂O ha⁻¹ sin inoculación; K0 I: 0 kg de K₂O ha⁻¹ inoculado con *R. intraradices*, K50 I: 50 kg de K₂O ha⁻¹ inoculado con *R. intraradices*; K100 I: 100 kg de K₂O ha⁻¹ inoculado con *R. intraradices*, K150 I: 150 kg de K₂O ha⁻¹ inoculado con *R. intraradices*. Lluvia: período lluvioso, Seca: período poco lluvioso. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza (P<0.05).

mineral, en segundo lugar, la necesidad aplicar dosis adecuadas de nutrientes para obtener un óptimo funcionamiento micorrízico y altos rendimientos de biomasa en los pastos inoculados, y en tercero, la influencia de la especie de pasto y el tipo de suelo en la permanencia del efecto de la inoculación.

Tanto en el suelo Ferralítico Rojo como en el Vertisol Pélico, se encontró una respuesta positiva de los pastos a la fertilización nitrogenada, lo que corroboró los elevados requerimientos de este nutriente por parte de las gramíneas forrajeras del género *Brachiaria*, cuando son sometidas a regímenes intensivos de corte (Santos *et al.*, 2009; Costa *et al.*, 2009; Heinrichs *et al.*, 2010), y a las escasas posibilidades de ambos suelos, a juzgar por sus contenidos iniciales de materia orgánica, para satisfacer tales necesidades. En todos los exèrimentos, los mayores rendimientos se obtuvieron con la dosis más alta de N (300 kg ha⁻¹ año).

En el caso del fósforo, sólo se encontró respuesta a la fertilización en el suelo Ferralítico Rojo, lo que sin dudas parece estar relacionado con los contenidos iniciales de fósforo asimilable de los suelos. Sin embargo, llama la atención el hecho de que en este propio suelo los pastos hayan alcanzado el rendimiento más alto con la dosis más baja del fertilizante (30 kg P₂O₅ ha año⁻¹), a pesar de su bajo contenido inicial de P₂O₅ asimilable. Tal comportamiento pudiera atribuirse a las mayores posibilidades de las especies de *Brachiaria* utilizadas, en relación con otras de este género, para acceder a formas de P en el suelo menos disponibles para otros cultivos, lo que define sus bajos requerimientos de fósforo, vía fertilización (Nanamori *et al.*, 2004; Watanabe, 2006; Low-Gaume, 2009). Algunos autores atribuyen a estas características la mayor capacidad de las gramíneas del género *Brachiaria*, con respecto a otras forrajeras, para producir cantidades importantes de biomasa en suelos con muy bajos contenidos de P asimilable (Cecato *et al.*, 2004; Magalhães *et al.*, 2007).

En relación con la fertilización potásica, los pastos respondieron a la aplicación de dosis relativamente altas, a pesar de que los suelos poseían contenidos iniciales medios de este nutriente. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que estos cultivos estuvieron sometidos a un régimen de corte intensivo, con aplicaciones frecuentes y altas de N, lo que incrementó la demanda de K en función de las cantidades de este elemento que se extraen con la biomasa y en consecuencia, la necesidad de adicionar dosis mayores del nutriente vía fertilización,

resultados que concuerdan con lo planteado por Crespo *et al.* (1986); de Souza *et al.* (2007) y Neto *et al.* (2009).

Otros autores también han demostrado que en los sistemas de explotación intensivos, con aplicaciones de altas dosis de fertilizante nitrogenado, las especies de este género suelen extraer altas cantidades de K, incluso mayores que las de N, lo que conduce a la aplicación de dosis elevadas de fertilizante potásico para mantener sus producciones de biomasa (Costa *et al.*, 2009; Batista y Monteiro, 2010; Deminicis *et al.*, 2010).

El hecho de que en el suelo Vertisol Pélico los pastos necesitaran 50 kg K₂O ha⁻¹ más que en el Ferralítico Rojo para alcanzar los mayores rendimientos, a pesar de que ambos poseían contenidos iniciales de K intercambiable muy similares y que los cultivos estuvieron sometidos a un régimen de corte semejante, pudiera atribuirse a la expresión de un posible antagonismo entre los iones K y Ca en el suelo Vertisol, debido a su alto tenor de Ca intercambiable. En este sentido, Neto *et al.* (2009), encontraron un efecto de inhibición competitiva entre la absorción de K y Ca en *B. brizantha* cv. Marandú cultivado en un suelo con alto contenido de Ca intercambiable, y sugirieron aplicar mayores cantidades de K, vía fertilización, para mejorar la nutrición potásica de la planta.

No hay dudas de que la efectividad de las cepas de HMA estuvo estrechamente relacionada con la disponibilidad de nutrientes, lo cual ya había sido encontrado por diversos autores (Ruiz, 2001; Sánchez, 2001; Rivera y Fernández, 2003) en otros cultivos. Si bien con su inoculación se logró un efecto positivo en las variables fúngicas y en el rendimiento de los pastos, los mejores resultados se produjeron cuando se acompañó de un suministro de nutrientes vía fertilización, excepto en el caso del P, ya que los contenidos de este elemento en el suelo fueron adecuados para los pastos inoculados.

En los experimentos con N en ambos tipos de suelos, los pastos inoculados con la cepa más eficiente para cada condición edáfica, alcanzaron los mayores rendimientos con la aplicación de 200 kg N ha⁻¹. En los experimentos con P que se realizaron en el suelo Ferralítico Rojo, donde se encontró una respuesta positiva de los pastos a la fertilización fosfórica, con la sola inoculación de la cepa de HMA las aplicaciones de este elemento resultaron innecesarias. En el caso del K, los mayores rendimientos de los pastos inoculados se obtuvieron con las dosis de 50 kg K₂O ha⁻¹ en el suelo Ferralítico Rojo y 100 kg K₂O ha⁻¹ en el suelo Vertisol Pélico. De modo que en todos los casos, las dosis de

fertilizantes con las cuales se obtuvieron los mayores rendimientos en los pastos inoculados, fueron menores que las necesarias para obtener similares niveles de rendimientos en ausencia de inoculación.

Estas dosis complementarias de fertilizantes estuvieron asociadas a un adecuado funcionamiento micorrízico, con el cual se obtuvieron los más altos niveles de colonización, densidad visual y número de esporas en la rizosfera, y cuyos valores fueron, en ese orden, entre 60-65 %, 5-8 % y entre 700-1000 esporas 50 g^{-1} durante la época de lluvia y entre 25-30 %, 2.5-3 % y 350-600 esporas 50 g^{-1} durante el período menos lluvioso. Los mayores valores de estas variables, fundamentalmente de la densidad visual y del número de esporas, correspondieron a *B. híbrido*. Aplicaciones de dosis menores o mayores de fertilizantes promovieron un menor desarrollo de las estructuras micorrízicas y limitaron en el espacio y en el tiempo, el efecto beneficioso de la inoculación de la cepa en el rendimiento de los pastos.

El efecto de la inoculación de las cepas eficientes de HMA en la reducción de las dosis de fertilizantes puede atribuirse a un mejor aprovechamiento de los nutrientes, en virtud del mayor volumen de suelo que pudieron explorar las raíces, lo que se infiere a partir de aumento de las variables micorrízicas en los pastos. Pero además del efecto físico de los HMA en la extensión del sistema de absorción de las plantas, otros mecanismos relacionados con su capacidad para acceder, como en el caso del P, a formas menos disponibles de los nutrientes del suelo y facilitar su absorción, también pudieran explicar la influencia de la cepa introducida en la reducción de las dosis de fertilizantes a aplicar a los pastos (Ezawa *et al.*, 2004; Govindarajulu *et al.*, 2005; Covacevich *et al.*, 2006).

La necesidad de un suministro de nutrientes, ya sea procedente de fuentes minerales u orgánicas, para garantizar un óptimo funcionamiento micorrízico y adecuados rendimientos de biomasa, ha sido un tema abordado por Rivera *et al.* (2003) al evaluar los resultados de la inoculación de cepas eficientes de HMA por tipos de suelos en una amplia gama de cultivos agrícolas. Los autores demostraron que tales necesidades son menores que las que demandan estos propios cultivos en ausencia de inoculación.

Aunque en los pastos este tema no ha sido suficientemente estudiado, algunos autores reconocen el efecto positivo de una fertilización adecuada, en la formación de estructuras micorrízicas y en la producción de biomasa, así como la influencia negativa que sobre estos

indicadores ejerce la adición de cantidades de nutrientes que exceden sus requerimientos (Egerton *et al.*, 2007; Cornejo *et al.*, 2008; Delbem *et al.*, 2010).

La efectividad y permanencia del efecto de la inoculación en el momento de la siembra también dependió de la especie de pasto y su influencia sobre la reproducción de las esporas de HMA, así como del tipo de suelo. En los experimentos que se realizaron en el suelo Ferralítico Rojo, aun cuando *B. decumbens* y *B. híbrido* se inocularon con la misma cepa de HMA y se cultivaron bajo las mismas condiciones, la mayor permanencia de la inoculación se observó en *B. híbrido*, lo cual evidenció una mayor capacidad de esta especie para prolongar en el tiempo el efecto de la cepa introducida.

Cuando se comparan los rendimientos de biomasa de ambos pastos en los tratamientos donde se obtuvieron los mayores beneficios de la inoculación o de la aplicación de los fertilizantes minerales sin la inclusión de la cepa de HMA, se observa que los niveles de producción de MS de *B. híbrido* superaron, según el año, entre 2 y 6 t ha⁻¹ de MS durante el período lluvioso, y entre 2 y 3 t ha⁻¹ de MS durante el período menos lluvioso, a los obtenidos en *B. decumbens*. Además, en estos tratamientos, los valores absolutos de la densidad visual, pero sobre todo de la densidad de esporas durante el período lluvioso de los dos primeros años del establecimiento de los pastos, fueron también mayores en *B. híbrido*.

Dado que un incremento de la producción de biomasa implica un aumento de los requerimientos y de hecho, de la absorción de nutrientes para garantizar el crecimiento de los pastos (Maranhão, 2008; Costa *et al.*, 2009), ello puede explicar el mayor incremento de las variables fúngicas en *B. híbrido*, en relación con *B. decumbens*, para garantizar el acceso de las plantas a tales recursos y en consecuencia, la prolongación en el tiempo del efecto de la cepa inoculada, como resultado de una mayor producción de propágulos micorrízicos, tal como lo señalaron Kanno *et al.* (2006), Santos *et al.* (2007) y Yang *et al.* (2010) al relacionar los rendimientos de especies forrajeras con el comportamiento de las estructuras micorrízicas.

Al evaluar integralmente el comportamiento de las variables fúngicas en las dos especies de pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo, se pudo establecer una relación entre la densidad de esporas en la rizosfera y la efectividad de la inoculación a través del tiempo. Mediante el método de Cate y Nelson (Waugh, Cate y Nelson, 1972), comúnmente

utilizado para determinar los índices críticos de los nutrientes en el suelo, se encontró una alta relación entre los valores de la densidad de esporas en la rizosfera al realizar un corte de la biomasa aérea, y la permanencia del efecto de la inoculación, expresada a través del rendimiento relativo que alcanzaron los pastos en el corte posterior.

La representación gráfica del comportamiento de la densidad de esporas y el rendimiento relativo de los pastos inoculados (Figura 9), indicó que siempre que en la rizosfera haya una cantidad ≥ 580 esporas 50 g^{-1} y se mantenga el suministro adecuado de nutrientes, se puede esperar que la efectividad de la inoculación permanezca en el corte posterior. Esto se justifica por el hecho de que con tal densidad de esporas, los tratamientos inoculados que recibieron las dosis de fertilizantes necesarias para un óptimo funcionamiento micorrízico, en el próximo corte alcanzaron los máximos rendimientos, expresados como 100 % del rendimiento relativo, y precisamente, es en este punto donde se alcanza el mayor valor de R^2 .

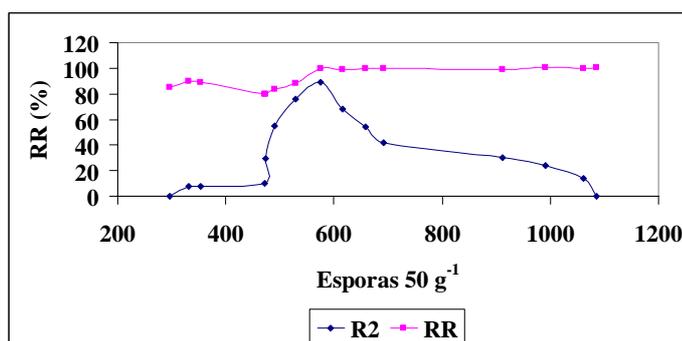


Figura 9. Influencia del número de esporas de HMA en la rizosfera de los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo sobre la permanencia del efecto de la inoculación de *G. cubense*.

R^2 : coeficiente de determinación. RR: rendimiento relativo.

Todos los puntos corresponden a tratamientos que recibieron las dosis adecuadas de fertilizantes para un óptimo funcionamiento micorrízico.

Es decir, el método de Cate y Nelson logra la separación de los puntos experimentales en dos poblaciones, una por debajo del punto crítico en la que se pierde el efecto de permanencia de la inoculación inicial y otra por encima del mismo, en la cual se mantiene el efecto, expresado en la obtención del 100 % del rendimiento relativo durante el corte posterior.

Los valores de esporas, indicativos de la permanencia del efecto de la inoculación, se corroboraron en los experimentos ejecutados en el suelo Vertisol, cuyos tratamientos inoculados, en presencia de un suministro adecuado de nutrientes, alcanzaron cifras mayores de 600 esporas 50 g^{-1} durante el período lluvioso del primer año, mientras que en la época menos lluviosa no rebasaron las 450 unidades 50 g^{-1} , y consecuentemente, el efecto de la inoculación inicial no duró más allá del primer año (Figuras 6, 7 y 8).

Además de la especie de pasto, el contenido de propágulos micorrízicos de los HMA residentes, el tipo de suelo, y probablemente la cepa de HMA introducida, también pudieron influir en la permanencia de la efectividad de la inoculación. En relación con lo primero, se observó que el efecto de la cepa permaneció hasta el segundo o tercer años en el suelo Ferralítico Rojo, y solo durante el primer año en el suelo Vertisol Pélico.

Teniendo en cuenta los mayores porcentajes de colonización por HMA residentes que presentaron los pastos no inoculados en el suelo Vertisol con respecto al Ferralítico (lo cual se pudo observar al comparar los valores que alcanzó esta variable en los tratamientos no inoculados), se infiere que en el Vertisol se estableció una mayor competencia entre estos y *R. intraradices* para ocupar los sitios de colonización de las raíces de los pastos, y ello limitó la permanencia de la cepa en el sistema suelo-planta.

En este sentido, se reconoce que el tipo de suelo determina la composición de las comunidades de HMA (de Miranda *et al.*, 2008; Tchabi *et al.*, 2008; Oehl *et al.*, 2010), de modo que la capacidad de las cepas introducidas para competir con los HMA residentes y establecerse durante un mayor o menor tiempo en el sistema suelo-planta, también pudo estar influida por las características de los HMA que forman tales poblaciones.

Tampoco puede descartarse la influencia de las características genóticas de las cepas introducidas, ni su capacidad para colonizar las raíces de las plantas bajo las condiciones de cada suelo, en la competitividad, efectividad y permanencia del efecto de su inoculación. Los estudios de comparación de cepas realizados en Cuba, si bien han demostrado la existencia de una alta especificidad cepa eficiente de HMA-tipo de suelo (Rivera *et al.*, 2007; Herrera *et al.*, 2010), también han señalado la mayor competitividad de *G. cubense* para establecer una simbiosis efectiva, tanto en los suelos donde se recomienda su inoculación como en otros donde esta cepa no es la más eficiente (Martín, 2010).

No menos interesantes resultaron las variaciones estacionales que presentaron las variables micorrízicas de los pastos, ya que durante el período lluvioso de cada año, en todos los tratamientos se observaron niveles de colonización, densidad visual y número de esporas, significativamente mayores que durante el período de menores precipitaciones, coincidiendo con la distribución de la producción de biomasa a lo largo del año.

Tal situación puede explicarse por el hecho de que durante la época de lluvias ocurre un rápido crecimiento de los pastos en virtud de los mayores niveles de precipitaciones, temperaturas y luminosidad, la absorción de una mayor cantidad de nutrientes para la formación de biomasa y consecuentemente, la formación de mayores cantidades de estructuras micorrízicas para garantizar el acceso a esos nutrientes (Lingfei *et al.*, 2005; Mandyam y Jumpponen, 2008). Además, un mayor crecimiento del pasto propicia la síntesis de sustancias carbonadas y otros fotosintatos que intervienen en la simbiosis, y ello también se expresa en el aumento de dichas estructuras (Saito y Sugawara, 2010; Yang *et al.*, 2010).

En este grupo de experimentos se demostró que la inoculación con la cepa de HMA eficiente para cada tipo de suelo al momento de la siembra, acompañada de un adecuado suministro de nutrientes vía fertilización mineral, incrementó las estructuras fúngicas y el rendimiento de *B. decumbens* y *B. híbrido* cultivados en los suelos Ferralítico Rojo y Vertisol Pélico, manteniendo un funcionamiento micorrízico efectivo, al menos durante el primer año. En *B. híbrido* cultivado en el suelo Ferralítico Rojo, la permanencia del efecto de la inoculación se mantuvo de forma efectiva hasta el segundo año.

Dado que los pastos se cultivan de modo permanente y que las necesidades de fertilizantes pudieran incluso aumentar con el tiempo, resulta necesario evaluar el efecto de la reinoculación de las cepas eficientes de HMA como vía para mantener un óptimo funcionamiento micorrízico, que asegure la reducción del uso de los fertilizantes y a la vez, la obtención de adecuados rendimientos de biomasa.

4.3. Grupo 3. Dosis de inoculante micorrízico para *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk y *Brachiaria* híbrido cv. Mulato, establecidos en suelo Ferralítico Rojo Lixiviado

En este grupo, se definen las dosis de inoculante micorrízico para los pastos *B. decumbens* y *B. híbrido* ya establecidos en el suelo Ferralítico Rojo, con las cuales, una vez desaparecido el efecto de la inoculación inicial, se puedan obtener nuevamente los beneficios de una micorrización efectiva.

El efecto de las diferentes dosis de inoculante micorrízico, expresadas como número de esporas de *G. cubense* ha⁻¹, sobre el rendimiento de MS de *B. decumbens* y *B.* híbrido se presentan en las Tablas 25 y 26. En los tratamientos donde se aplicaron los fertilizantes químicos, sin la inclusión de la cepa de HMA, los mayores efectos se alcanzaron con 300, 60 y 100 kg N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹ en ambas especies, lo cual corroboró la necesidad de añadir, bajo un régimen de corte intensivo, altas dosis de fertilizantes para incrementar la productividad de los pastos.

Se encontró una respuesta positiva de los pastos al inoculante micorrízico formulado con *G. cubense*. Su aplicación a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ en *B. decumbens* y 2 x 10⁵ esporas ha⁻¹ en *B.* híbrido, cada una acompañada de las dosis de fertilizantes minerales que resultaron adecuadas para los pastos inoculados, fueron suficientes para alcanzar los efectos de una micorrización efectiva, que se expresó en la obtención de rendimientos similares a los alcanzados con las dosis adecuadas de fertilizantes para los pastos no inoculados, de acuerdo con los resultados del grupo anterior de experimentos.

Al igual que en los experimentos donde *G. cubense* se inoculó al momento de la siembra, su mayor efectividad en el rendimiento se observó durante el primer año en *B. decumbens*, y aunque en *B.* híbrido el ensayo no se extendió más allá del segundo, durante todo este período la cepa resultó igualmente efectiva; de modo que en los pastos establecidos sobre el suelo Ferralítico Rojo, se evidenció la necesidad de hacer reinoculaciones anuales en *B. decumbens*, y al menos cada dos años en *B.* híbrido, para alcanzar, con menores dosis de fertilizantes, rendimientos similares a los que se obtienen con la adición de mayores niveles de nutrientes en ausencia de inoculación.

De igual forma se encontró un efecto significativo de la inoculación con *G. cubense* en las variables fúngicas (Figura 10). Todos los indicadores alcanzaron los mayores valores a partir de la aplicación de 4 x 10⁵ y 2 x 10⁵ esporas ha⁻¹ en *B. decumbens* y *B.* híbrido, respectivamente. Con estas dosis, con las cuales se alcanzaron también los mayores rendimientos en los tratamientos inoculados, *B. decumbens* exhibió durante el primer año porcentajes de colonización, densidad visual y cantidades de esporas de alrededor de 60 %, 5 % y 600 esporas 50 g⁻¹ en el período lluvioso, y 22 %, 2 % y 300 esporas 50 g⁻¹ en el período poco lluvioso, respectivamente. En ese orden, *B.* híbrido alcanzó valores cercanos a

Tabla 25. Efecto de las dosis de inoculante micorrízico (esporas ha⁻¹ de *G. cubense*) sobre el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. decumbens*.

Tratamientos				Primer año			Segundo año		
Esporas ha ⁻¹	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	0	0	0	6.41 c	2.42 c	8.83 c	7.12 d	3.04 b	10.16 e
0 (1)	300	30	100	13.17 a	4.45 a	17.62 a	14.33 a	4.63 a	18.96 a
0 (2)	200	0	50	9.63 b	3.53 b	13.16 b	10.37 c	3.32 b	13.69 d
2 x 10 ⁵	200	0	50	9.79 b	3.29 b	13.08 b	10.91 c	3.18 b	14.09 cd
4 x 10 ⁵	200	0	50	12.94 a	4.39 a	17.33 a	12.57 b	3.21 b	15.78 b
6 x 10 ⁵	200	0	50	13.09 a	4.42 a	17.51 a	12.33 b	3.29 b	15.62 b
8 x 10 ⁵	200	0	50	12.89 a	4.50 a	17.39 a	11.59 b	3.43 b	15.02 bc
10 x 10 ⁵	200	0	50	13.02 a	4.61 a	17.63 a	11.93 b	3.11 b	15.04 bc
	ES			0.32**	0.18**	0.34**	0.34**	0.21**	0.36**

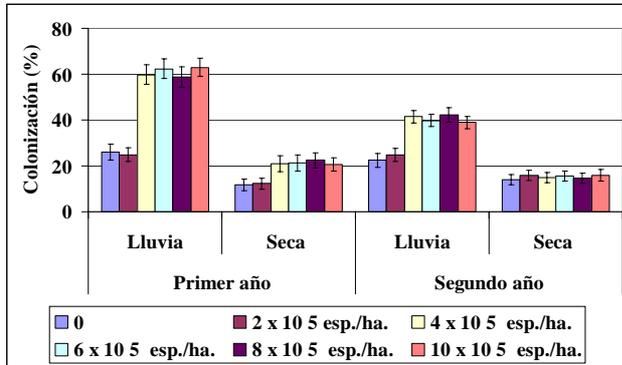
(1): Dosis de N, P₂O₅ y K₂O adecuadas para el pasto no inoculado (2): Dosis de N, P₂O₅ y K₂O adecuadas para el pasto inoculado con *G. cubense*.
Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna, para cada especie de pasto, difieren significativamente a P< 0.05, según dócima de Duncan.

Tabla 26. Efecto de las dosis de inoculante micorrízico (esporas ha⁻¹ de *G. cubense*) sobre el rendimiento de MS (t ha⁻¹) de *B. híbrido*.

Tratamientos				Primer año			Segundo año		
Esporas ha ⁻¹	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Total
0	0	0	0	7.02 c	4.21 c	11.23 c	6.57 c	4.35 c	10.92 c
0 (1)	300	30	100	14.27 a	6.32 a	20.59 a	15.12 a	7.13 a	22.25 a
0 (2)	200	0	50	11.06 b	5.23 b	16.29 b	12.21 b	6.11 b	18.32 b
2 x 10 ⁵	200	0	50	14.18 a	6.36 a	20.54 a	15.07 a	6.97 a	22.04 a
4 x 10 ⁵	200	0	50	14.91 a	6.49 a	21.40 a	14.63 a	7.21 a	21.84 a
6 x 10 ⁵	200	0	50	14.12 a	6.41 a	20.53 a	15.21 a	7.05 a	22.26 a
8 x 10 ⁵	200	0	50	13.99 a	6.45 a	20.44 a	14.93 a	6.83 a	21.76 a
10 x 10 ⁵	200	0	50	14.17 a	6.33 a	20.50 a	15.11 a	6.96 a	22.07 a
	ES			0.39**	0.23**	0.42**	0.42**	0.24**	0.45**

(1): Dosis de N, P₂O₅ y K₂O adecuadas para el pasto no inoculado (2): Dosis de N, P₂O₅ y K₂O adecuadas para el pasto inoculado con *G. cubense*.
Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna, para cada especie de pasto, difieren significativamente a P< 0.05, según dócima de Duncan.

B. decumbens



B. híbrido cv. Mulato

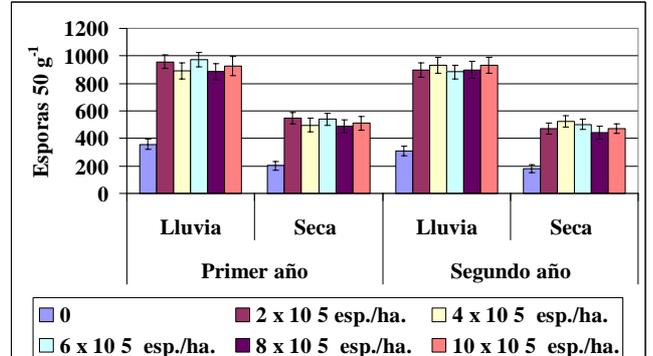
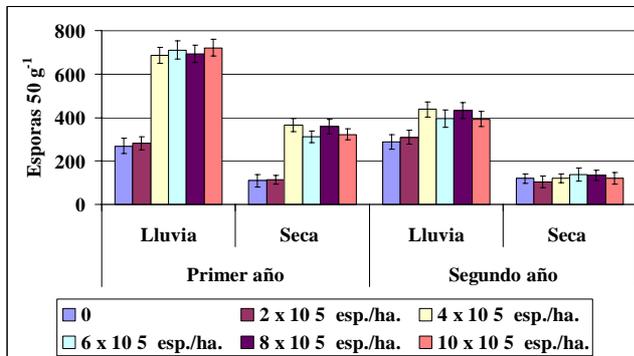
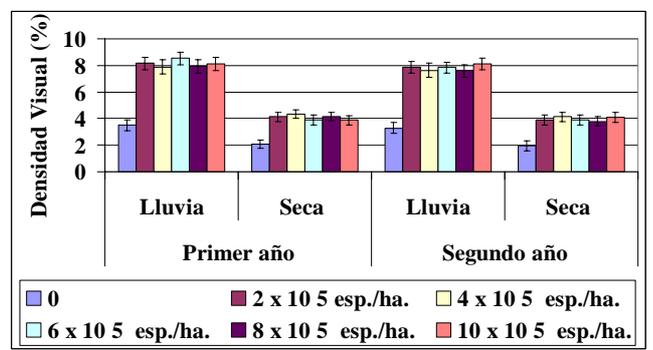
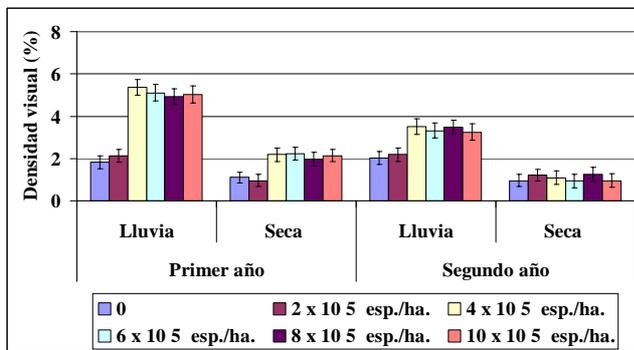
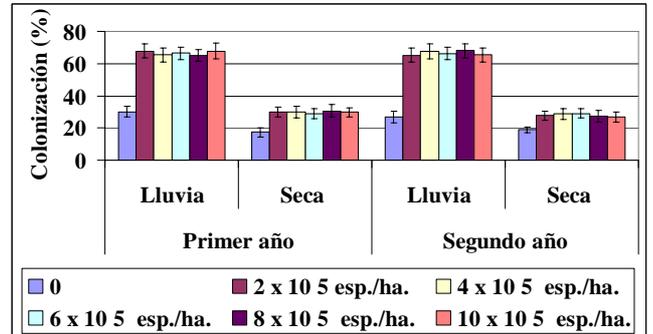


Figura 10. Efecto de la aplicación de dosis de inoculante micorrízico formulado con la cepa de HMA *G. cubense* en las variables fúngicas de *B. decumbens* y *B. híbrido* establecidos en el suelo Ferralítico Rojo. Lluvia: período lluvioso, Seca: período poco lluvioso. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza ($P < 0.05$).

65 %, 8 % y 900 esporas 50 g^{-1} , durante el período lluvioso, y a 30 %, 4 % y 500 esporas 50 g^{-1} durante el período poco lluvioso de los dos primeros años.

Tales valores fueron similares a los encontrados para cada especie de pasto en los experimentos que se realizaron en el suelo Ferralítico Rojo, específicamente en los tratamientos inoculados que recibieron las dosis de fertilizantes con las cuales se obtuvieron los mayores efectos en las variables micorrízicas y los rendimientos, de modo que se ratifican como indicadores de un funcionamiento micorrízico efectivo.

De hecho, los valores más bajos de las estructuras micorrízicas que se observaron en *B. decumbens* después del primer año de la inoculación y que coincidieron con la obtención de rendimientos significativamente menores que los alcanzados con las dosis más altas de fertilizantes durante ese período, también indicaron una disminución de la efectividad de la cepa introducida y la necesidad de reinocular en el segundo año, para garantizar un adecuado funcionamiento de la simbiosis e incrementar la productividad del pasto. De igual modo, los altos niveles de colonización, densidad visual y número de esporas observados en *B. híbrido* durante los dos primeros años de la inoculación, demostraron que no es necesario introducir nuevamente la cepa eficiente de HMA, al menos durante ese período.

De acuerdo con el comportamiento de las esporas a través del tiempo en ambas especies de pastos, un contenido cercano a 600 esporas 50 g^{-1} , tanto en la época de lluvias como en la poco lluviosa, también parece ser un buen indicador de la continuidad de una simbiosis micorrízica efectiva para la época subsiguiente, y de hecho, de la necesidad o no de reinoculación en los pastos establecidos, tal como se demostró en los experimentos anteriores mediante el modelo discontinuo de Cate y Nelson.

Resulta interesante el hecho de que con dosis relativamente bajas de inoculante micorrízico (4 y 2×10^5 esporas ha^{-1} , que equivalen a cantidades no mayores de 10 y 20 kg ha^{-1} de inoculante, teniendo en cuenta que este poseía una concentración mínima de 20 esporas g^{-1}) se haya podido lograr una micorrización efectiva en los pastos ya establecidos. Sin embargo, los contenidos relativamente bajos de propágulos micorrízicos de las poblaciones residentes y probablemente su baja eficiencia, a juzgar por los bajos valores de las variables fúngicas en los tratamientos no inoculados, así como la alta eficiencia y competitividad de *G. cubense* (Martín, 2010), pueden explicar este comportamiento.

También debe tenerse en cuenta que la inoculación se realizó en primavera, después de la siega del pasto y que posteriormente se aplicó un riego, lo que sin dudas contribuyó a depositar las esporas de la cepa introducida muy cerca de la zona de crecimiento de las nuevas raíces, facilitando el contacto temprano entre esta estructura del hongo y la planta.

Según Miranda *et al.* (2005), la eficiencia del hongo introducido depende de su capacidad para competir con los HMA residentes, lo cual está relacionado con su infectividad, la densidad de propágulos del inóculo y su capacidad para formar hifa externa, la velocidad de la hifa para colonizar las raíces y la habilidad del hongo introducido para mantener un nivel de colonización en condiciones competitivas.

Por su parte, Carneiro *et al.* (2008) al citar a varios autores, concluyen que el número de esporas a partir del cual se obtiene una respuesta a la inoculación parece depender de la capacidad infectiva de los HMA residentes y su contenido de propágulos micorrízicos en el suelo o sustrato, de la capacidad infectiva de la cepa introducida y de la habilidad del cultivo para establecer con esta, una simbiosis efectiva.

Los resultados de estos experimentos demostraron que en los pastos establecidos, mediante la aplicación de dosis relativamente bajas de inoculante micorrízico formulado con la cepa eficiente de HMA recomendada para el tipo de suelo donde se cultiven, y la adición de dosis de fertilizantes adecuadas para una óptima micorrización, se pueden incrementar los rendimientos. Además, la reinoculación de la cepa de HMA, cuando la disminución de su efectividad así lo aconseje, es una vía con la cual se vuelven a obtener los beneficios de su inclusión en el esquema de fertilización de los pastos.

4.4. Grupo 4. Efecto de las inoculaciones sucesivas de HMA sobre los requerimientos de fertilizantes minerales de *B. decumbens* cv. Basilisk cultivado en el suelo Ferralítico Rojo

Para la ejecución de este grupo de experimentos, se continuaron los ensayos donde se evaluó la respuesta de *B. decumbens* cv. Basilisk a la fertilización nitrogenada, fosfórica y potásica en presencia o no de *G. cubense*, y cuyos resultados fueron discutidos en los epígrafes 4.2.1, 4.2.2, y 4.2.3. Después de evaluado el efecto de la inoculación inicial durante los dos primeros años del establecimiento del pasto, a partir del tercero se hicieron aplicaciones anuales del inoculante micorrízico, la primera vez con una dosis alta de inoculante (1×10^6 esporas ha^{-1} , equivalente a 50 kg de inoculante ha^{-1}), tratando de

garantizar un funcionamiento micorrízico efectivo, y posteriormente, a razón de 4×10^5 esporas ha^{-1} , según los resultados del grupo de experimentos anterior, expuestos en el epígrafe 4.3.

Para simplificar la presentación, se seleccionaron los tratamientos que mejor explicaron la respuesta del pasto a la fertilización y a la aplicación del inoculante micorrízico. No se incluyeron los resultados del segundo año, pues como se explicó, durante ese período se continuó evaluando la efectividad de la inoculación de la cepa al momento de la siembra y no se aplicó inoculante.

4.4.1. Fertilización nitrogenada

En la Tabla 27 se muestra el efecto de los tratamientos seleccionados, sobre el rendimiento anual de MS de *B. decumbens* durante los seis años de establecido el pasto. En los tratamientos no inoculados, la aplicación de $300 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ produjo los mayores rendimientos, lo cual corroboró la necesidad de aplicar dosis elevadas de este nutriente para garantizar altas producciones de biomasa bajo un sistema de corte intensivo. Sin embargo en presencia de *G. cubense*, ya sea inoculada al momento de la siembra o reinoculada anualmente a partir del tercer año, solo se necesitó aplicar $200 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ para alcanzar rendimientos similares a los obtenidos con $300 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ sin inocular.

Tabla 27. Efecto de la aplicación anual de *G. cubense* y fertilizante nitrogenado sobre el rendimiento ($\text{t ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ de MS) de *Brachiaria decumbens*.

N ($\text{kg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$)	Inoc.	Primer año	Tercer año	Cuarto año	Quinto año	Sexto año
0	NI	10.81 c	7.90 c	6.89 c	6.56 c	5.74 c
300	NI	21.42 a	18.36 a	17.73 a	17.14 a	16.77 a
0	I	14.01 b	11.23 b	10.28 b	10.00 b	9.01 b
200	I	21.39 a	18.33 a	17.39 a	17.54 a	16.52 a
	ES	0.44**	0.43**	0.52**	0.51**	0.44**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense* al momento de la siembra y a razón de 4×10^5 esporas $\text{ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ a partir del tercer año. Fertilización de fondo: 50 y 100 $\text{kg P}_2\text{O}_5$ y $\text{K}_2\text{O ha}^{-1}$, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a $P < 0.05$, según dócima de Duncan.

La aplicación de *G. cubense* sin la adición de fertilizante nitrogenado, aunque incrementó el rendimiento en relación con el tratamiento sin N y no inoculado, sus valores fueron significativamente menores que cuando se acompañó con $200 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, y ello indicó que la reinoculación anual del pasto también debe ir acompañada de un suministro óptimo de N para alcanzar los mayores rendimientos, y que las cantidades a aplicar continúan

siendo menores que las necesarias para obtener resultados similares en ausencia de inoculación. En todos los tratamientos se observó una disminución paulatina de los rendimientos en el transcurso de los seis años.

G. cubense influyó significativamente en el comportamiento de las variables fúngicas durante la época de lluvias de cada año (Figura 11), y en el tratamiento donde la cepa se acompañó con 200 kg N ha⁻¹ año⁻¹, se alcanzaron porcentajes de colonización y densidad visual de alrededor de 65 y 6 % respectivamente y cerca de 650 esporas 50 g⁻¹, los cuales indicaron un funcionamiento micorrízico efectivo, de acuerdo con la información obtenida en los experimentos anteriores.

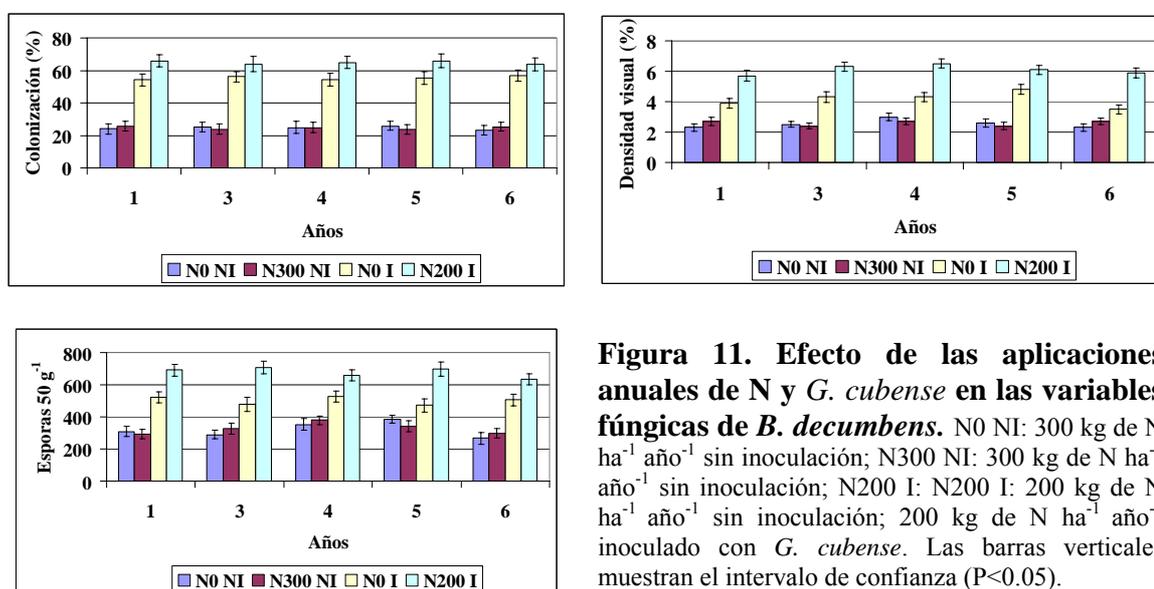


Figura 11. Efecto de las aplicaciones anuales de N y *G. cubense* en las variables fúngicas de *B. decumbens*. N0 NI: 300 kg de N ha⁻¹ año⁻¹ sin inoculación; N300 NI: 300 kg de N ha⁻¹ año⁻¹ sin inoculación; N200 I: 200 kg de N ha⁻¹ año⁻¹ sin inoculación; 200 kg de N ha⁻¹ año⁻¹ inoculado con *G. cubense*. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza (P < 0.05).

De igual modo, se observó un efecto significativo de la fertilización nitrogenada en las concentraciones de N de la biomasa de la parte aérea (Tabla 28), cuyos mayores valores, en ausencia de *G. cubense*, se alcanzaron con 300 kg N ha⁻¹ año⁻¹. Sin embargo, con la inoculación anual de la cepa de HMA y la adición de 200 kg N ha⁻¹ año⁻¹, las concentraciones de este elemento no difirieron de las que se obtuvieron con la dosis mayor de N en ausencia de inoculación, lo que corroboró nuevamente la contribución de *G. cubense* a la mejora de la absorción del N por el pasto.

En relación con el valor nutritivo de la biomasa, cuyos datos se presentan en la propia Tabla 28, se constató un incremento significativo del contenido de PB y de la DMO, así como una disminución significativa del contenido de FND, como resultado del efecto de la

fertilización nitrogenada en el aumento de las concentraciones de N en la biomasa aérea, lo cual coincidió con lo observado por Primavesi *et al.* (2006); Bennett *et al.* (2008); Santos *et al.* (2009).

Tabla 28. Efecto de la aplicación anual de *G. cubense* y fertilizante nitrogenado en las concentraciones de N en la biomasa de la parte aérea y el valor nutritivo de *B. decumbens*.

		N (%)				
N (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Primer año	Tercer año	Cuarto año	Quinto año	Sexto año
0	NI	1.15 c	1.20 c	1.17 c	1.19 c	1.23 c
300	NI	1.73 a	1.81 a	1.85 a	1.79 a	1.83 a
0	I	1.45 b	1.39 b	1.42 b	1.37 b	1.44 b
200	I	1.83 a	1.75 a	1.85 a	1.80 a	1.77 a
	ES	0.05**	0.04**	0.04**	0.05**	0.03**
		PB (%)				
0	NI	7.19 c	7.50 c	7.31 c	7.43 c	7.69 c
300	NI	10.81 a	11.31 a	11.56 a	10.97 a	11.42 a
0	I	9.06 b	8.69 b	8.88 b	8.56 b	9.00 b
200	I	11.31 a	10.94 a	11.56 a	11.25 a	11.00 a
	ES	0.17**	0.15**	0.18**	0.16**	0.17**
		FND (%)				
0	NI	71.87 b	72.23 b	73.05 b	71.55 b	73.07 b
300	NI	68.82 a	69.18 a	70.33 a	68.71 a	69.85 a
0	I	71.53 b	71.97 b	72.89 b	71.23 b	72.89 b
200	I	69.05 a	68.82 a	69.95 a	68.87 a	70.05 a
	ES	0.29**	0.33**	0.30**	0.32**	0.29**
		DMO (%)				
0	NI	62.19 b	61.23 b	64.51 b	61.96 b	63.18 b
300	NI	66.37 a	64.87 a	67.52 a	64.87 a	64.83 a
0	I	63.87 b	60.89 b	64.28 b	62.07 b	62.89 b
200	I	66.53 a	65.15 a	67.15 a	65.22 a	65.07 a
	ES	0.36**	0.38**	0.41**	0.35**	0.39**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense* al momento de la siembra y a razón de 4×10^5 esporas ha⁻¹ año⁻¹ a partir del tercer año. PB: proteína bruta, FND: fibra neutro detergente, DMO: digestibilidad de la materia orgánica. Fertilización de fondo: 50 y 100 kg P₂O₅ y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a $P < 0.05$, según dócima de Duncan.

Aunque el valor nutritivo depende de la especie de pasto y su régimen de corte o pastoreo, el tipo de suelo y su disponibilidad de nutrientes, así como de las condiciones climáticas, entre otros factores (Juárez-Hernández *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2009; Moreira *et al.*, 2009), los valores de PB, DMO y FND que se obtuvieron con la aplicación de 300 kg de N ha⁻¹ año⁻¹ coinciden con los encontrados por Correa *et al.* (2007); Fabrício, (2007) y Costa *et al.* (2009) en pastos del género *Brachiaria* bien abastecidos de N, y lo atribuyen al hecho de que la adición de este nutriente estimula el crecimiento de la planta y

aumenta la utilización de los carbohidratos disponibles para la formación de células y de protoplasma, en vez de provocar el engrosamiento de la pared celular por su acumulación en los tejidos.

Sin embargo, lo más interesante fue que con la inoculación o reinoculación anual de *G. cubense* y la aplicación de 200 kg de N ha⁻¹ año⁻¹; estas variables alcanzaron durante los seis años valores similares a los obtenidos con las adiciones anuales de 300 kg de N ha⁻¹ año, de modo que la disminución de la dosis de N que se obtuvo con la inclusión de la cepa de HMA eficiente, no implicó una reducción del valor nutritivo de la biomasa del pasto.

Al comparar la eficiencia de uso del N mediante el factor parcial de productividad (FPP), entre los tratamientos que produjeron las mayores respuestas del pasto a la adición de este nutriente (Figura 12 A), se observó que con la inoculación anual de *G. cubense* y la adición de 200 kg N ha⁻¹ año⁻¹, por cada kg de N aplicado se obtuvo entre 82 y 107 kg MS, o sea, alrededor de 30 kg MS por encima de lo alcanzado con la dosis de 300 kg N ha⁻¹ año⁻¹; de modo que la introducción de la cepa de HMA, al reducir la dosis de fertilizante nitrogenado sin disminuir el rendimiento, contribuyó a hacer un uso más racional del N aplicado.

En las gramíneas forrajeras tropicales, la magnitud de la producción de forraje en función del uso del fertilizante nitrogenado suele variar ampliamente, dada su dependencia de factores relacionados con el suelo, el clima, el manejo, la época del año y las especies y cultivares, entre muchos otros (Yuan *et al.*, 2005; Martha Jr. y Vilela, 2008; Santos *et al.*, 2009). No obstante, el aumento del FPP dejó claro el efecto de la inoculación de *G. cubense* en el aumento de la eficiencia del uso del N.

En la propia Figura (12 B) se observa que en ambos tratamientos, las cantidades de N extraídas por las cosechas sucesivas de biomasa fueron mayores que las aplicadas con la fertilización, aunque las mayores diferencias o desbalances se observaron con la inoculación de *G. cubense* y la aplicación de 200 kg N ha⁻¹ año⁻¹, ya que si bien las extracciones de N fueron similares en uno y otro tratamientos (ver Anexo 10), en este se aplicó una dosis anual menor de este nutriente.

En relación con el comportamiento de la MO del suelo (Figura 12 C), se observó que sus contenidos permanecieron estables el tiempo y sin diferencias significativas entre ambos tratamientos, a pesar los desbalances entre las entradas de N vía fertilización y las salidas de este nutriente con las cosechas sucesivas de la biomasa aérea.

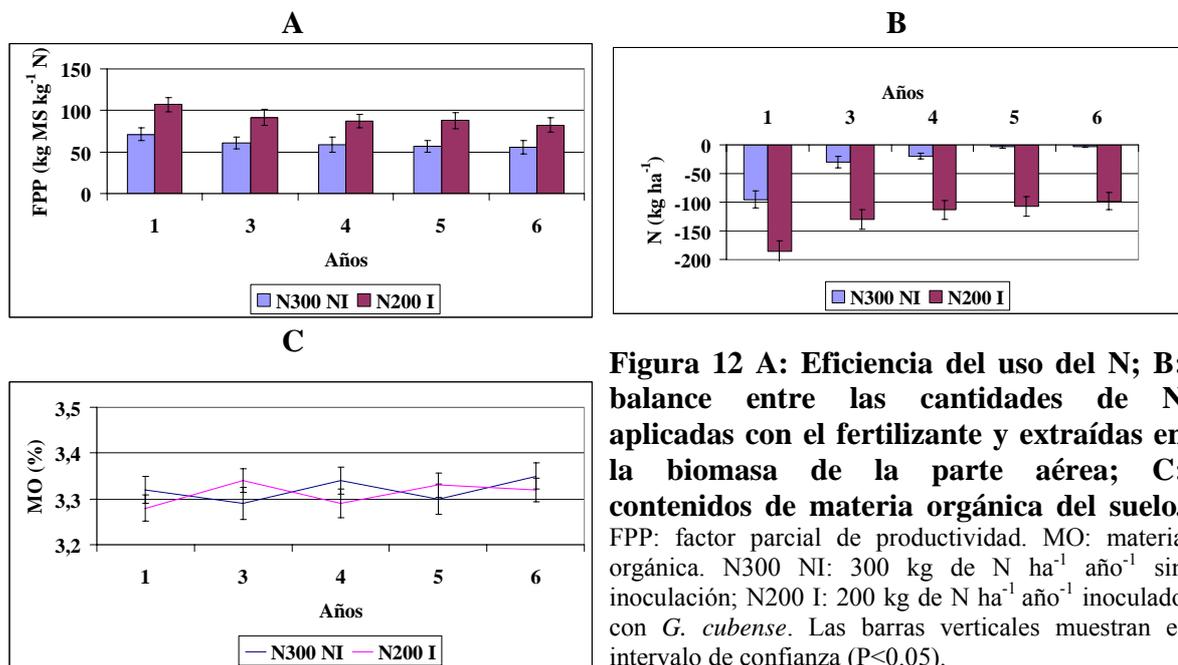


Figura 12 A: Eficiencia del uso del N; B: balance entre las cantidades de N aplicadas con el fertilizante y extraídas en la biomasa de la parte aérea; C: contenidos de materia orgánica del suelo. FPP: factor parcial de productividad. MO: materia orgánica. N300 NI: 300 kg de N ha⁻¹ año⁻¹ sin inoculación; N200 I: 200 kg de N ha⁻¹ año⁻¹ inoculado con *G. cubense*. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza (P<0.05).

Si bien los tenores de MO de los suelos tropicales suelen ser bajos, se ha encontrado una relación directa entre su aumento y el incremento de la producción de biomasa de los pastos, debido fundamentalmente a una mayor disponibilidad de N (Lima *et al.*, 2007); sin embargo, tenores cercanos al 3 %, muy similares a los encontrados en este suelo, no garantizan niveles de N disponible suficientes para satisfacer las necesidades de los pastos mejorados, requiriéndose de fuentes externas de este nutriente para incrementar su productividad (Fagundes *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2009; Heinrichs *et al.*, 2010).

De este modo, puede presumirse, a partir de la baja contribución que pudo hacer el N procedente de la materia orgánica a la nutrición nitrogenada del pasto y de las diferencias entre los aportes de N vía fertilización y las extracciones de este nutriente en la biomasa aérea, que la fijación biológica de este elemento (FBN) desempeñó un papel importante en ambos tratamientos, pero sobre todo en aquel donde se hicieron aplicaciones anuales de *G. cubense* y 200 kg N ha⁻¹, contribuyendo a reducir tales diferencias.

Se ha confirmado que las bacterias fijadoras de N pueden garantizar, al menos parcialmente, las necesidades de este nutriente para las gramíneas forrajeras y en consecuencia, reducir sus requerimientos de fertilizantes nitrogenados (Boddey y Victoria, 1986; Reis Jr. *et al.*, 2002; Baldani y Baldani., 2005). Igualmente, se ha demostrado que hasta un 40 % del nitrógeno acumulado por gramíneas forrajeras del género *Brachiaria*,

puede provenir de la fijación biológica (Reis, 2004; da Silva, 2010; Kelemu *et al.*, 2012). Por otra parte, se conoce que un funcionamiento micorrízico efectivo influye positivamente sobre las comunidades de microorganismos rizosféricos, con contribuciones importantes a la FBN (Artursson *et al.*, 2006; Tajini y Drevon, 2012).

4.4.2. Fertilización fosfórica

Las aplicaciones anuales de fertilizante fosfórico o de *G. cubense* produjeron efectos similares en el rendimiento del pasto a lo largo de los seis años en que se condujo el experimento (Tabla 29). Es decir, entre los tratamientos no inoculados, el mayor rendimiento se obtuvo con la adición de 30 kg de P₂O₅ ha⁻¹ año⁻¹, mientras que con la inoculación anual de la cepa, la fertilización fosfórica continuó siendo innecesaria durante todo ese período.

Tabla 29. Efecto de la aplicación anual de *G. cubense* y fertilizante fosfórico en el rendimiento (t MS ha⁻¹) de *Brachiaria decumbens*.

P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Primer año	Tercer año	Cuarto año	Quinto año	Sexto año
0	NI	17.95 b	15.03 b	14.06 b	13.23 b	11.98 b
30	NI	21.34 a	19.40 a	18.15 a	16.05 a	15.14 a
0	I	20.96 a	18.89 a	18.05 a	15.98 a	15.12 a
	ES	0.44**	0.43**	0.41**	0.34**	0.36**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense* al momento de la siembra y a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ año⁻¹ a partir del tercer año. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹ año⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P < 0.05, según dócima de Duncan.

En relación con las variables fúngicas (Figura 13), los niveles de colonización, densidad visual y el número esporas que se obtuvieron con la inoculación de *G. cubense* durante el período lluvioso de cada año, fueron significativamente mayores que los observados en los tratamientos no inoculados, y durante los seis años exhibieron valores indicativos de un funcionamiento micorrízico efectivo, según los resultados ya discutidos.

Las concentraciones de P en la biomasa de la parte aérea del pasto fertilizado con este elemento o inoculado con *G. cubense* fueron similares, y significativamente más altas que las que se observaron en el testigo sin P y sin la cepa de HMA (Tabla 30), lo cual también indicó que *G. cubense* contribuyó a garantizar un buen abastecimiento de este nutriente, a partir sus contenidos en el suelo. En la propia Tabla 30 se observa que la fertilización fosfórica no influyó sobre el valor nutritivo de la biomasa; no obstante la inoculación anual de *G. cubense* mantuvo contenidos de proteína bruta significativamente mayores que en los

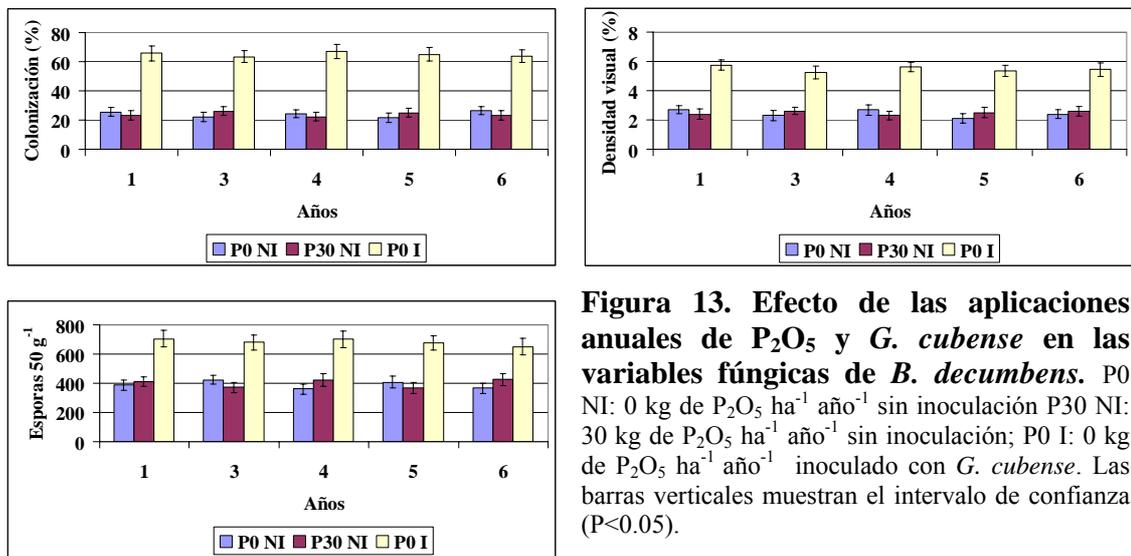


Tabla 30. Efecto de la aplicación anual de *G. cubense* y fertilizante fosfórico en las concentraciones de P en la biomasa de la parte aérea y el valor nutritivo de *Brachiaria decumbens*.

		P (%)				
P_2O_5 (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Primer año	Tercer año	Cuarto año	Quinto año	Sexto año
0	NI	0.18 b	0.17 b	0.18 b	0.19 b	0.17 b
30	NI	0.21 a	0.20 a	0.22 a	0.22 a	0.21 a
0	I	0.22 a	0.21 a	0.23 a	0.23 a	0.20 a
	ES	0.01**	0.01**	0.01**	0.01**	0.01**
		PB (%)				
0	NI	9.57 b	8.96 b	9.35 b	8.87 b	9.72 b
30	NI	9.81 b	8.87 b	9.72 b	8.56 b	9.53 b
0	I	10.84 a	10.95 a	11.08 a	11.17 a	10.73 a
	ES	0.17**	0.17**	0.15**	0.18**	0.16**
		FND (%)				
0	NI	67.93	68.13	69.15	68.63	69.83
30	NI	68.11	67.98	68.83	68.57	70.21
0	I	67.81	67.91	68.91	69.15	69.87
	ES	0.29	0.32	0.35	0.30	0.33
		DMO (%)				
0	NI	66.57	66.23	67.11	65.89	67.05
30	NI	65.93	65.57	66.89	66.18	66.79
0	I	66.85	65.83	67.23	65.91	66.93
	ES	0.36	0.36	0.38	0.41	0.35

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense* al momento de la siembra y a razón de 4×10^5 esporas ha⁻¹ año⁻¹ a partir del tercer año. PB: proteína bruta, FND: fibra neutro detergente, DMO: digestibilidad de la materia orgánica. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a $P < 0.05$, según dócima de Duncan.

tratamientos no inoculados, debido al efecto de la cepa en el incremento del N en la biomasa de la parte aérea, ya observado en el experimento anterior, e incluso en los experimentos con P en el suelo Vertisol, aun cuando en este suelo los pastos no respondieron a la fertilización fosfórica (epígrafe 4.2.5).

Debe tenerse en cuenta que en este experimento se utilizó una fertilización de fondo de 200 kg N ha⁻¹ año⁻¹, la cual, en presencia de *G. cubense* fue capaz de producir concentraciones de este elemento en la biomasa y rendimientos similares a los alcanzados con la dosis de 300 kg de N ha⁻¹ año⁻¹ en ausencia de inoculación, según los resultados ya expuestos; por lo tanto, la influencia de *G. cubense* en el contenido de PB es una consecuencia de su efecto en la mejora del aprovechamiento de este nutriente.

Resultados similares han reportado diversos investigadores (Mesquita *et al.*, 2002; Mesquita *et al.*, 2004; Moreira *et al.*, 2006), quienes encontraron que la fertilización fosfórica tiene poca influencia sobre el valor nutritivo de los pastos y en los casos en que se ha encontrado una respuesta significativa a las aplicaciones de P, se ha atribuido a su efecto positivo en la absorción de N.

En este experimento también se observó un balance negativo entre cantidades de P aportadas por la fertilización y las extraídas con las cosechas sucesivas de biomasa de la parte aérea del pasto, pues estas últimas fueron mayores que las que aportó el fertilizante fosfórico (Figura 14 A).

Ese desbalance se observó, tanto en el tratamiento que recibió 30 kg de P₂O₅ ha⁻¹ año⁻¹ como en el que solo fue inoculado anualmente con *G. cubense*, aunque aquí las diferencias fueron más acentuadas, debido al hecho de no contar con entradas del nutriente a través de la fertilización; no obstante, en ambos casos los contenidos de P asimilable del suelo mantuvieron valores similares a lo largo del tiempo (Figura 14 B), y ello reflejó la contribución de otras formas de P a la nutrición fosfórica del pasto, la cual parece haberse acentuado en presencia de un funcionamiento micorrízico efectivo.

En este sentido, y como ya fue expuesto, mecanismos bioquímicos inherentes a las características genotípicas del género *Brachiaria*, relacionados con sus posibilidades para acceder a fuentes de P no asimilables para otros cultivos a partir de la exudación de ácidos orgánicos a través de las raíces, le confieren una mayor capacidad, en relación con los

pastos de otros géneros, para adaptarse bien a suelos con muy bajos tenores de este elemento (Begum *et al.*, 2006).

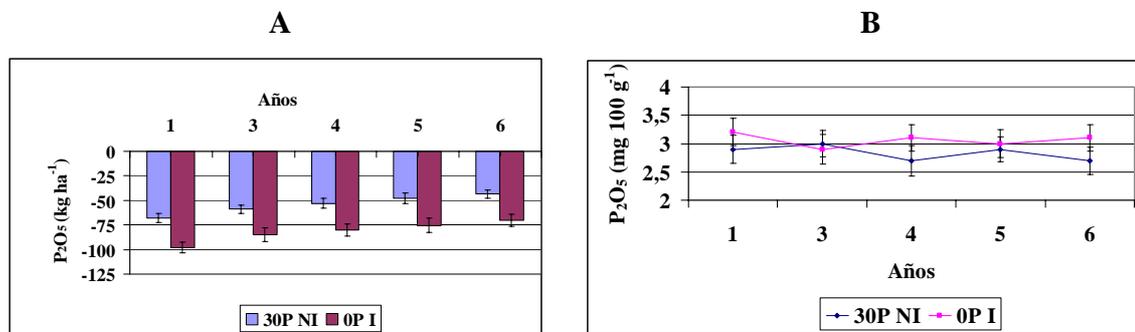


Figura 14 A: Balance entre las cantidades de P₂O₅ aplicadas con el fertilizante y extraídas en la biomasa de la parte aérea de *B. decumbens*; B: Contenidos de P asimilable del suelo. P30 NI: 30 kg de P₂O₅ ha⁻¹ año⁻¹ sin inoculación; P0 I: 0 kg de P₂O₅ ha⁻¹ año⁻¹ inoculado con *G. cubense*. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza (P<0.05).

Por otra parte, se reconoce el efecto directo de las micorrizas arbusculares en la mejora de la nutrición fosfórica de las gramíneas forrajeras con la adición de cantidades muy bajas e incluso nulas de este nutriente (Carneiro *et al.*, 2007); así como el efecto positivo de otros microorganismos del suelo para solubilizar el P no asimilable y contribuir a su absorción por los pastos, cuya acción puede incrementarse al interactuar con los HMA (Richardson *et al.*, 2009 b; Richardson *et al.*, 2011; Wakelin *et al.*, 2012).

Todo ello puede explicar el hecho de que con aplicaciones de 30 kg P₂O₅ ha⁻¹ año⁻¹ sin *G. cubense*, o con su inoculación anual en ausencia de fertilizante fosfórico, durante seis años se hayan obtenido rendimientos mayores que los alcanzados cuando no se adicionó este elemento ni se inoculó la cepa, aun cuando las extracciones de P en la biomasa fueron mayores que las que aportó la fertilización.

4.4.3. Fertilización potásica

El pasto respondió significativamente a las aplicaciones de fertilizante potásico (Tabla 32), siendo necesarias, en ausencia de *G. cubense*, dosis anuales de 100 K₂O ha⁻¹ durante los primeros cuatro años, y de 150 kg K₂O ha⁻¹ a partir del quinto, para garantizar las mayores producciones de biomasa. Sin embargo, en presencia de la cepa, las dosis óptimas disminuyeron a 50 y 100 kg K₂O ha⁻¹ durante los períodos señalados. Es decir, durante los seis años, e independientemente del aumento de la necesidad de fertilizante potásico en los

últimos dos años, cuando el pasto se inoculó con *G. cubense*, las dosis para alcanzar los mayores rendimientos se redujeron en 50 kg K₂O ha⁻¹ año⁻¹.

Al igual que en los experimentos anteriores, con la sola inoculación de *G. cubense* se obtuvieron rendimientos significativamente mayores que con el testigo que no recibió ni fertilizante potásico ni inoculante micorrízico; sin embargo, estos fueron menores que los alcanzados en los tratamientos inoculados y fertilizados con 50 y 100 kg K₂O ha⁻¹ año⁻¹, de modo que para alcanzar los mayores rendimientos, el pasto inoculado también necesitó un suministro complementario de fertilizante potásico, pero las cantidades a aplicar fueron menores que las que necesitó el pasto no inoculado para obtener rendimientos similares. En este experimento también se observó una disminución paulatina de los rendimientos en el transcurso de los seis años.

Tabla 32. Efecto de las aplicaciones anuales de *G. cubense* y fertilizante potásico en el rendimiento (t MS ha⁻¹) de *Brachiaria decumbens*.

K ₂ O (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Primer año	Tercer año	Cuarto año	Quinto año	Sexto año
0	NI	15.88 c	12.21 c	11.63 c	9.88 d	8.39 d
100	NI	20.33 a	18.73 a	17.47 a	14.79 b	13.55 b
150	NI	20.97 a	18.97 a	17.73 a	17.15 a	16.07 a
0	I	17.85 b	14.05 b	13.52 b	12.87 c	11.60 c
50	I	20.81 a	18.01 a	17.33 a	15.09 b	14.02 b
100	I	21.01 a	17.81 a	17.69 a	16.92 a	15.90 a
ES		0.49**	0.47**	0.43**	0.45**	0.45**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense* al momento de la siembra y a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ año⁻¹ a partir del tercer año. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P < 0.05, según dócima de Duncan.

En relación con las variables fúngicas (Figura 15), se constató que entre el primero y el cuarto año, los tratamientos inoculados que recibieron 50 y 100 kg K₂O ha⁻¹, exhibieron durante el período lluvioso de cada año, porcentajes de colonización, densidad visual y un número de esporas, que indicaron un adecuado funcionamiento micorrízico.

A partir del quinto año, la aplicación de 50 kg K₂O ha⁻¹ año⁻¹, no solo resultó insuficiente para obtener los mayores rendimientos de biomasa, (como se observó en la Tabla 29), sino también para que las variables fúngicas mantuvieran tales valores, los cuales se alcanzaron entonces con 100 kg de K₂O ha⁻¹ año⁻¹.

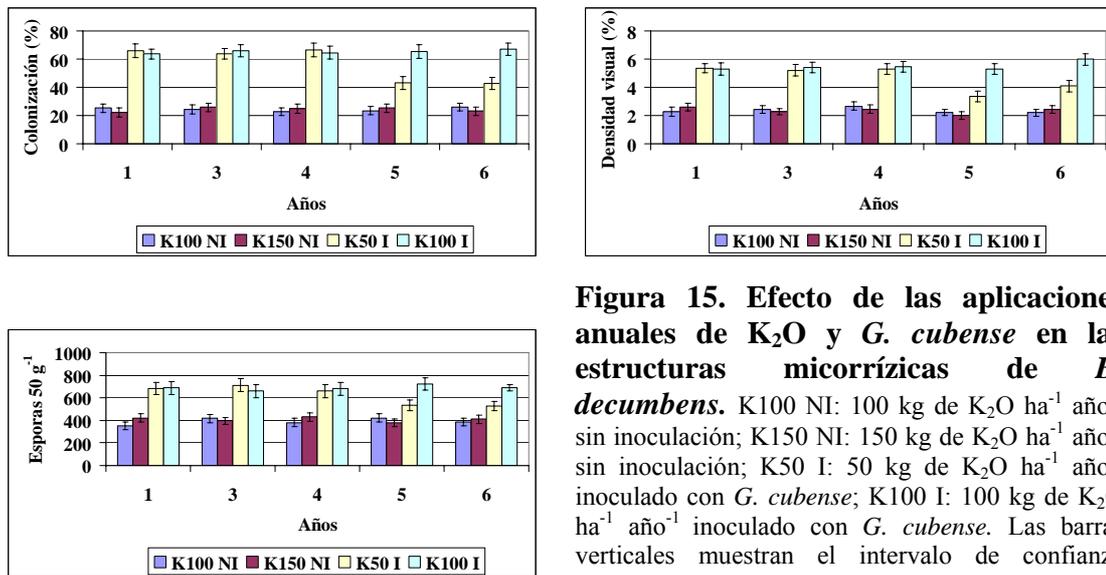


Figura 15. Efecto de las aplicaciones anuales de K_2O y *G. cubense* en las estructuras micorrízicas de *B. decumbens*. K100 NI: 100 kg de K_2O ha⁻¹ año⁻¹ sin inoculación; K150 NI: 150 kg de K_2O ha⁻¹ año⁻¹ sin inoculación; K50 I: 50 kg de K_2O ha⁻¹ año⁻¹ inoculado con *G. cubense*; K100 I: 100 kg de K_2O ha⁻¹ año⁻¹ inoculado con *G. cubense*. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza (P<0.05).

La influencia de la aplicación anual de *G. cubense* y de dosis complementarias de fertilizante potásico también se reflejó en las concentraciones de K en la biomasa de la parte aérea del pasto (Tabla 33). Con 50 y 100 kg K_2O ha⁻¹ más la inoculación de la cepa, durante los cuatro primeros años se observaron tenores similares a los que se alcanzaron con 100 y 150 kg K_2O ha⁻¹ sin inocular. A partir del quinto, los mayores efectos se obtuvieron con las dosis más altas, de modo que la adición de 50 kg K_2O ha⁻¹ en presencia de *G. cubense*, o de 100 kg K_2O ha⁻¹ en ausencia de inoculación, resultaron insuficientes para conseguir tenores adecuados del nutriente (Costa *et al.*, 2008 a).

En la propia Tabla 33 se observa que la fertilización potásica de por sí no afectó los tenores de PB, FND ni la DMO de los pastos, y las diferencias significativas que se observaron en el contenido de PB fueron explicables por la mejora en la nutrición nitrogenada en los tratamientos inoculados, para los cuales la dosis de fondo de 200 kg de N ha⁻¹ año⁻¹ resultó suficiente para garantizar los requerimientos de este nutriente y ello obviamente, se reflejó en este indicador del valor nutritivo del pasto.

Tabla 33. Efecto de la aplicaciones anuales de *G. cubense* y fertilizante potásico en las concentraciones de K en la biomasa aérea y el valor nutritivo de *B. decumbens*.

		K (%)				
K ₂ O (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Primer año	Tercer año	Cuarto año	Quinto año	Sexto año
0	NI	1.29 c	1.32 c	1.25 c	1.30 c	1,27 c
100	NI	1.57 a	1.65 a	1.56 a	1.47 b	1,45 b
150	NI	1.59 a	1.67 a	1.57 a	1.63 a	1,67 a
0	I	1.42 b	1.46 b	1.40 b	1.44 b	1,44 b
50	I	1.59 a	1.63 a	1.55 a	1.43 b	1,43 b
100	I	1.58 a	1.64 a	1.57 a	1.63 a	1,66 a
	ES	0.03**	0.04**	0.03**	0.05**	0.05**
		PB (%)				
0	NI	9.78 b	9.27 b	8.79 b	10.15 b	8.91 b
100	NI	10.03 b	8.93 b	9.12 b	9.87 b	8.73 b
150	NI	9.89 b	8.95 b	9.08 b	10.17 b	9.15 b
0	I	11.20 a	11.51 a	10.89 a	11.93 a	10.58 a
50	I	10.93 a	11.93 a	11.33 a	12.11 a	10.87 a
100	I	11.17 a	12.07 a	10.81 a	11.87 a	11.13 a
	ES	0.19**	0.17**	0.19**	0.18**	0.19**
		FND (%)				
0	NI	67.15	69.45	68.87	69.11	69.37
100	NI	67.83	68.83	69.23	69.27	68.81
150	NI	68.56	68.64	69.15	68.78	69.29
0	I	68.27	69.25	68.47	68.89	69.11
50	I	67.52	68.33	68.59	69.35	68.83
100	I	68.19	69.41	69.27	68.72	68.87
	ES	0.37	0.36	0.39	0.37	0.35
		DMO (%)				
0	NI	67.25	65.89	66.83	65.93	66.89
100	NI	66.83	65.53	67.22	66.27	67.25
150	NI	66.89	66.12	67.10	65.89	66.97
0	I	67.12	65.89	66.72	66.42	67.72
50	I	66.79	66.21	66.51	65.81	66.78
100	I	67.19	66.13	67.28	65.73	66.83
	ES	0.40	0.38	0.42	0.39	0.37**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense* al momento de la siembra y a razón de 4×10^5 esporas ha⁻¹ año⁻¹ a partir del tercer año. PB: proteína bruta, FND: fibra neutro detergente, DMO: digestibilidad de la materia orgánica. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a $P < 0.05$, según d^ocima de Duncan.

El hecho de que con aplicaciones de cantidades menores de K en los tratamientos inoculados, se hayan obtenido rendimientos similares a los alcanzados con dosis mayores de este nutriente en ausencia de la inoculación, indica que la aplicación de *G. cubense* mejoró el aprovechamiento del fertilizante potásico por el pasto, y ello también se reflejó en el FPP, índice agronómico utilizado para evaluar la eficiencia del uso de este nutriente (Figura 16 A). Como puede observarse, con la adición de 50 kg K₂O ha⁻¹ año⁻¹ más la

inoculación de anual de *G. cubense*, a lo largo de los seis años se obtuvo el mayor rendimiento de MS por cada kg de K₂O aplicado; no obstante, con el resto de los tratamientos también se produjeron altas cantidades de biomasa por unidad de fertilizante potásico (entre 100 y 200 kg de MS por cada kg de K₂O), lo que hace pensar que además del K del fertilizante, el procedente del suelo jugó un papel importante en la nutrición del pasto.

Ello también se reflejó al cuantificar el balance entre las entradas de K al sistema suelo-pasto a través de la fertilización y las salidas de este elemento con las cosechas sucesivas de biomasa, cuyos resultados también se muestran en la Figura 16 B. En todos los tratamientos, las cantidades de K que se extrajeron con la biomasa de la parte aérea fueron mayores que las que se aplicaron con el fertilizante, aunque las mayores diferencias se observaron en los tratamientos inoculados, debido a las altas extracciones anuales de K (ver Anexo 10) y a las menores aplicaciones anuales de este elemento.

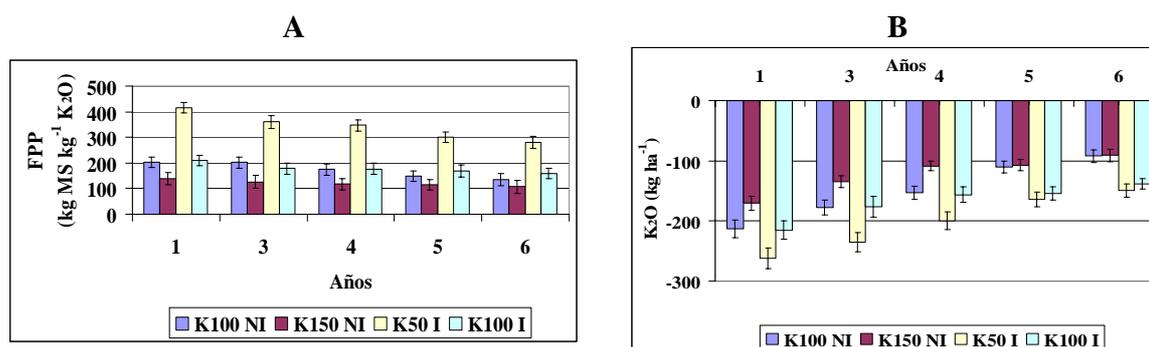


Figura 16 (A): Eficiencia del uso del K; (B): balance entre las cantidades de K₂O aplicadas con el fertilizante y extraídas en la biomasa de la parte aérea. FPP: factor parcial de productividad. K100 NI: 100 kg de K₂O ha⁻¹ año⁻¹ sin inoculación; K150 NI: 150 kg de K₂O ha⁻¹ año⁻¹ sin inoculación; K50 I: 50 kg de K₂O ha⁻¹ año⁻¹ inoculado con *G. cubense*; K100 I: 100 kg de K₂O ha⁻¹ año⁻¹ inoculado con *G. cubense*. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza (P<0.05).

Sin embargo, el hecho de que los tratamientos donde se obtuvieron los rendimientos más altos, con los cuales se encontraron también los mayores desbalances entre las entradas y salidas K por las vías señaladas, exhibieran durante los seis años tenores de este nutriente en la biomasa indicativos de un adecuado abastecimiento (Costa *et al.*, 2008 a), reveló que, independientemente de la dosis aplicada y de la inoculación o no de *G. cubense*, el K del suelo desempeñó una participación muy importante en la nutrición del cultivo.

La dinámica de los contenidos de K intercambiable y difícilmente intercambiable del suelo a la profundidad de 0-20 cm durante el período experimental, así lo confirma (Figura 17), pues ambos indicadores fueron disminuyendo significativamente con el tiempo, y en todos los tratamientos alcanzaron sus tenores más bajos en el quinto y sexto años. Debe recordarse que durante los dos últimos dos años, tanto el pasto inoculado como el no inoculado, necesitaron dosis mayores de fertilizante potásico que en etapas anteriores, para alcanzar los mayores rendimientos.

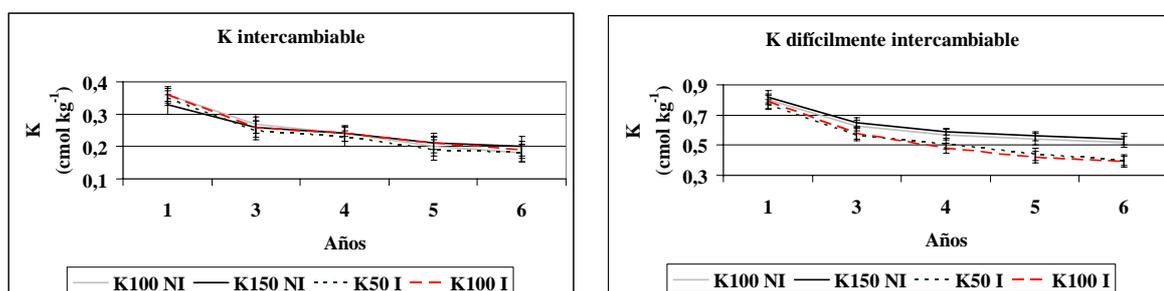


Figura 17. Dinámica del K intercambiable y difícilmente intercambiable del suelo en el transcurso de seis años. K100 NI: 100 kg de K_2O ha^{-1} $año^{-1}$ sin inoculación; K150 NI: 150 kg de K_2O ha^{-1} $año^{-1}$ sin inoculación; K50 I: 50 kg de K_2O ha^{-1} $año^{-1}$ inoculado con *G. cubense*; K100 I: 100 kg de K_2O ha^{-1} $año^{-1}$ inoculado con *G. cubense*. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza ($P < 0.05$).

Es de señalar que si bien la disminución del K intercambiable ocurrió de manera muy similar en todos los tratamientos, con reducciones de alrededor de $0.02 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1} \text{ año}^{-1}$, la del potasio difícilmente intercambiable fue mucho más intensa, pues disminuyó en aproximadamente $0.07 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1} \text{ año}^{-1}$, incrementándose en los tratamientos inoculados y fertilizados con 50 y 100 kg de K_2O ha^{-1} $año^{-1}$. Estos tratamientos, que siempre mostraron una tendencia a presentar los menores valores de K difícilmente intercambiable, durante los dos últimos años difirieron significativamente del resto. Precisamente, con ambos se observaron las mayores diferencias entre las cantidades de K aportadas por la fertilización y las extraídas en la biomasa de la parte aérea.

De este modo, se deduce que el potasio difícilmente intercambiable tuvo una participación destacada en la nutrición potásica del pasto, la cual se incrementó durante los dos últimos años en los tratamientos inoculados y fertilizados con menores dosis de fertilizante potásico, indicando una mayor movilización de las reservas de este elemento en el suelo.

Los resultados de los análisis de las muestras de suelo que se tomaron al inicio y al final del experimento hasta la profundidad de 100 cm, y a las cuales se les determinaron los contenidos de K intercambiable y difícilmente intercambiable, arrojaron que las mayores variaciones provocadas por los tratamientos, entre una y otra épocas de muestreo, se obtuvieron a las profundidades de 0-20 y 20-40 cm (ver los Anexos 11 y 12), por eso se tomaron los contenidos de cada forma de potasio a esas profundidades, para calcular, en cada tratamiento, su participación en la nutrición del pasto.

En la tabla 34 se observa que en todos los tratamientos las formas no intercambiables de K presentaron una participación importante en la nutrición, lo cual también explica que se haya podido mantener una respuesta significativa a la fertilización potásica, aun cuando las cantidades anuales de K que aportó el fertilizante fueron inferiores a las exportadas con las cosechas de la biomasa; de hecho, las mayores cantidades de estas formas del elemento que se extrajeron con las aplicaciones de 100 y 150 kg K₂O ha⁻¹ año⁻¹ en presencia de *G. cubense* refuerza este planteamiento, pues con ambas se observaron los mayores desbalances entre el K aportado por el fertilizante y el exportado en la biomasa aérea, así como las mayores disminuciones de los contenidos de esta forma de K durante los dos últimos años.

Tabla 34. K extraído por la biomasa de la parte aérea del pasto en el transcurso de seis años, procedente de formas no intercambiables (calculado hasta la profundidad de 40 cm).

Tratamientos		K aportado por la fertilización	K extraído por la biomasa	Δ K intercambiable	K extraído de formas no intercambiables	
K ₂ O (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.				(kg K ₂ O ha ⁻¹)	(%)
0	NI	0	1007.2	337.8	669.4	66.5
100	NI	600	1840.8	328.4	912.4	49.6
150	NI	900	1979.3	337.8	741.5	37.5
50	I	300	1809.7	328.4	1181.3	65.3
100	I	600	1951.1	347.2	1003.9	51.5

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense* al momento de la siembra y a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ año⁻¹ a partir del tercer año. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. K extraído de formas no intercambiables (kg K₂O ha⁻¹) = K extraído por la biomasa aérea (kg K₂O ha⁻¹) - [Δ K intercambiable (kg K₂O ha⁻¹) + K aportado por la fertilización (kg K₂O ha⁻¹)]. Donde: Δ K intercambiable (kg K₂O ha⁻¹) = K intercambiable (kg K₂O ha⁻¹) al inicio del experimento - K intercambiable (kg K₂O ha⁻¹) a los seis años.

En términos porcentuales, la contribución de las formas no intercambiables de K a la nutrición fue disminuyendo a medida que aumentaron las dosis de fertilizante potásico, sobre todo en los tratamientos no inoculados, de modo que el valor más alto correspondió al tratamiento donde no se aplicó este nutriente; sin embargo, en presencia de *G. cubense* y adiciones anuales de 50 y 100 kg de K₂O ha⁻¹, la mayor parte del K extraído en la biomasa provino de esta forma del elemento.

Las cantidades de K difícilmente intercambiable que se movilizaron del suelo en el transcurso de seis años, fueron menores que las que se extrajeron en la biomasa aérea del pasto, procedentes de formas no intercambiables, lo que parece indicar que otras formas de K, además del intercambiable y del difícilmente intercambiable, también pudieran estar participando en la nutrición del pasto (Tabla 35). No obstante, las mayores diferencias se observaron con las aplicaciones de 50 y 100 kg K₂O ha⁻¹ año⁻¹ en presencia de *G. cubense*, lo que fue consecuencia de las altas extracciones de K y las dosis menores de fertilizante potásico que recibieron ambos tratamientos.

Tabla 35. Comparación entre el K difícilmente intercambiable movilizado (calculado hasta la profundidad de 40 cm) y el K extraído de formas no intercambiables en la biomasa de la parte aérea del pasto en el transcurso de seis años (kg de K₂O ha⁻¹).

Tratamientos		Movilización del K difícilmente intercambiable del suelo	K extraído de formas no intercambiables	Diferencia
K ₂ O (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.			
0	NI	572,4	669,4	-97,0
100	NI	769,5	912,4	-142,9
150	NI	666,3	741,5	-75,2
50	I	891,5	1181,3	-289,8
100	I	778,9	1003,9	-225,0

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense* al momento de la siembra y a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ año⁻¹ a partir del tercer año. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio.

En este sentido, Simonsson *et al.* (2009) y Rosolem *et al.* (2012) plantearon que el cultivo de plantas como *Brachiaria ruziziensis*, con elevada capacidad de absorber K, puede influir en la relación entre las reservas de este elemento y su disponibilidad, al actuar sobre los minerales potásicos del suelo.

Según Kaminski *et al.* (2010), hay evidencias de que la disponibilidad de formas inicialmente no intercambiables de K depende más de la demanda de las plantas que de las

propiedades del suelo como la textura y la mineralogía; y en el caso específico de los pastos del género *Brachiaria*, se ha demostrado que son capaces de absorber K, tanto de formas asimilables como de no asimilables e incluso, inducir la liberación de este elemento inicialmente presente en el suelo en formas no asimilables (García *et al.*, 2008; Rosolem *et al.*, 2012).

Así, pudiera explicarse el hecho de que el pasto haya estado bien abastecido de K durante los seis años, aun cuando en todo ese período las cantidades del elemento aportadas por la fertilización hayan sido inferiores a las extraídas por las cosechas sucesivas de la biomasa de la parte aérea. Pero además, la disminución paulatina de los tenores de K intercambiable y difícilmente intercambiable también lo confirma, pues en última instancia, la reducción del K intercambiable es también una consecuencia de la reducción de las reservas de este elemento en el suelo (Darunsontaya *et al.*, 2012).

Si bien la inoculación de *G. cubense* y la aplicación de dosis menores de fertilizante potásico acentuó el desbalance entre las cantidades de este elemento aportadas por la fertilización y las extraídas en la biomasa de la parte aérea así como la disminución del K difícilmente intercambiable del suelo, este fenómeno se observó aun con la adición de las dosis más adecuadas de K para el pasto no inoculado. De modo que cualquier estrategia de fertilización dirigida a mantener o aumentar las reservas de este elemento en el suelo, no solo debe circunscribirse a los esquemas de suministro de nutrientes con la inclusión de cepas eficientes de HMA, sino también a aquellos basados en el uso de fertilizantes minerales solamente.

El hecho de que durante los seis años los requerimientos de fertilizante potásico para obtener los mayores rendimientos en los tratamientos inoculados hayan sido menores que en los tratamientos no inoculados, y que en ambos casos las concentraciones de este elemento en la biomasa aérea del pasto hayan sido similares e indicativas de un estado nutricional adecuado, como se señaló anteriormente, sugiere que las plantas estuvieron bien abastecidas de K, a expensas de la movilización de formas no disponibles de este nutriente. Todo parece indicar, no solo a partir de lo planteado por García *et al.* (2008), Simonsson *et al.* (2009), y Rosolem *et al.* (2012), sino de la propia información experimental obtenida, que la alta participación de formas no intercambiables de potasio en la nutrición de *B.*

decumbens debe conducir a la inclusión de estas formas del elemento en el establecimiento de los índices críticos de potasio en el suelo para esta especie.

Siqueira y Franco (1988) plantearon que los índices críticos de las plantas micorrizadas eficientemente son menores que los de las plantas no inoculadas, lo cual, en unión del incremento del coeficiente de aprovechamiento de los fertilizantes que se logra con una micorrización efectiva (Rivera y Fernández, 2003), explican la obtención de rendimientos similares, tanto en las plantas inoculadas como en las no inoculadas, aun cuando en aquellas se hayan aplicado menores dosis de fertilizantes. Por tanto, es muy importante continuar estos trabajos para determinar la contribución de las formas no intercambiables de K a la nutrición potásica del pasto, así como los índices críticos a partir de los cuales se pueden limitar los rendimientos, tanto de las plantas micorrizadas como de las no micorrizadas.

En los tres experimentos se observó una disminución del rendimiento en el transcurso del tiempo, que no estuvo asociada a un déficit en el suministro de N, P y K, pues las concentraciones de tales macronutrientes en la biomasa, que se alcanzaron durante ese período en los tratamientos con los cuales se obtuvieron los mayores rendimientos, indicaron que las plantas estuvieron bien abastecidas de los mismos.

Tales disminuciones parecen estar relacionadas con un agotamiento paulatino de la acumulación de sustancias de reservas, debido a la alta frecuencia de corte a la que estuvo sometido el pasto. Se conoce que la frecuencia e intensidad de la cosecha del forraje son los dos componentes del manejo que determinan mayormente el rendimiento, calidad y persistencia del pasto (Martínez *et al.*, 2008; Cruz *et al.*, 2011). De modo que con defoliaciones muy frecuentes, el pasto no alcanza el índice de área foliar óptimo y ello disminuye su tasa de crecimiento e incide negativamente en su persistencia, al afectar la acumulación de los carbohidratos de reserva (Thornton *et al.*, 2000; Ramírez *et al.*, 2010).

4.5. Validación a escala de producción un esquema de fertilización con la inoculación de una cepa eficiente de HMA y la aplicación de dosis de fertilizantes minerales adecuadas para el pasto micorrizado

La introducción de un sistema de fertilización basado en la inoculación de una cepa de eficiente de HMA y la aplicación de dosis complementarias de fertilizantes minerales en

campos de *B. híbrido cv. Mulato II* dedicados a la producción de forraje, permitió validar, a escala de producción, los resultados obtenidos en los experimentos de campo.

En el campo 1 (Tabla 36), mediante la inoculación de *G. cubense* en el momento de la siembra por el método del recubrimiento de la semilla, y la aplicación de 190, 38 y 50 kg de N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹, dosis que con excepción del P₂O₅ se adecuaron a las necesidades del pasto inoculado, se obtuvieron durante los dos primeros años rendimientos de MS similares a los alcanzados con la fertilización recomendada por el Plan Director de la EPG Niña Bonita para los campos de producción de forraje permanente (263, 90 y 117 kg de N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹), de modo que en una superficie de 100 ha, en la cual se le aplicó la variante de fertilización con la inclusión de la cepa de HMA, se corroboraron los resultados obtenidos en los experimentos, en relación con las menores cantidades de nutrientes a aplicar al pasto inoculado, para obtener altos rendimientos.

Tabla 36. Efecto de las variantes de fertilización en el rendimiento y el valor nutritivo del forraje de *B. híbrido cv. Mulato II* (campo 1).

Variantes de fertilización				MS (t ha ⁻¹)			
N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Inoc.	Inoculación primer año	Segundo año	Reinoculación tercer año	Cuarto año
(kg ha ⁻¹ año ⁻¹)							
0	0	0	NI	10.21 b	8.87 b	7.53 b	8.79 b
263	90	117	NI	22.32 a	20.60 a	17.45 a	19.51 a
197	38	50	I	21.90 a	20.98 a	18.27 a	20.82 a
	ES			0.47**	0.43**	0.40**	0.45**
				PB (%)			
0	0	0	NI	7.21 b	8.04 b	7.05 b	6.89 b
263	90	117	NI	10.13 a	10.87 a	9.92 a	11.15 a
197	38	50	I	9.87 a	11.13 a	10.15 a	10.94 a
	ES			0.16**	0.17**	0.16**	0.15**
				FND (%)			
0	0	0	NI	67.23 b	68.13 b	66.88 b	69.12 b
263	90	117	NI	62.51 a	61.23 a	62.16 a	63.53 a
197	38	50	I	62.39 a	60.93 a	61.87 a	63.45 a
	ES			0.43**	0.40**	0.42**	0.41**
				DMO (%)			
0	0	0	NI	61.23 b	62.47 b	60.98 b	61.56 b
263	90	117	NI	65.51 a	66.33 a	64.93 a	65.97 a
197	38	50	I	65.83 a	66.59 a	65.11 a	66.09 a
	ES			0.41**	0.43**	0.40**	0.42**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*. MS: masa seca, PB: proteína bruta, FND: fibra neutro detergente, DMO: digestibilidad de la materia orgánica. Portadores: urea y fertilizante con fórmula 14-20-26. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P < 0.05, según dócima de Duncan.

Debe aclararse que para la fertilización de los campos de producción, dada la carencia de portadores simples, se utilizó una fórmula completa que inevitablemente aportó cantidades innecesarias de P_2O_5 para el pasto inoculado, aunque menores que las recomendadas por el Plan Director.

En la propia Tabla 36 se observa que los indicadores del valor nutritivo de la biomasa, expresados en las concentraciones de PB, así como en los contenidos de FND y la DMO, se comportaron de manera similar al rendimiento, pues aunque respondieron positivamente a aplicaciones de las altas dosis de fertilizantes minerales recomendadas por el Plan Director, sus valores no difirieron de los alcanzados con la inoculación de *G. cubense* y la adición de cantidades de nutrientes adecuadas a las necesidades del pasto inoculado.

Dado que los experimentos indicaron que la permanencia efectiva de la inoculación de *G. cubense* en *B. híbrido cv. Mulato* cultivado en suelo Ferralítico Rojo Lixiviado se mantuvo durante los dos primeros años, y teniendo en cuenta que la validación se realizó en el mismo tipo de suelo y con *B. híbrido cv. Mulato II*, un pasto que, al igual que el anterior, es de alta producción forrajera (Argel *et al.*, 2007), al comienzo del período lluvioso del tercer año se inoculó nuevamente, con una dosis de 4×10^5 esporas ha^{-1} de *G. cubense*, según los resultados de los experimentos donde se evaluaron dosis de inoculante micorrízico para pastos establecidos, la cual se logró con la aplicación de $20 \text{ kg } ha^{-1}$ del mencionado inoculante.

Ello permitió extender hasta el cuarto año los resultados obtenidos durante los dos primeros. Es decir, en el transcurso de los cuatro años se observó que la inoculación de *G. cubense* en el momento de la siembra, así como su reinoculación en el tercer año, conjuntamente con la adición de dosis anuales de fertilizantes minerales adecuadas para el pasto inoculado, produjo rendimientos de forraje con un valor nutritivo similares a los alcanzados con las aplicaciones de las dosis de fertilizantes recomendadas por el Plan Director.

Durante los tres años en que se evaluó el comportamiento de las variables micorrízicas, estas alcanzaron los mayores valores con la aplicación de *G. cubense* en presencia de dosis de fertilizantes adecuadas a las necesidades del pasto inoculado (Figura 18), y de acuerdo con los resultados obtenidos en los experimentos con *B. híbrido cv. Mulato* que se realizaron en el suelo Ferralítico Rojo, indicaron un funcionamiento micorrízico efectivo.

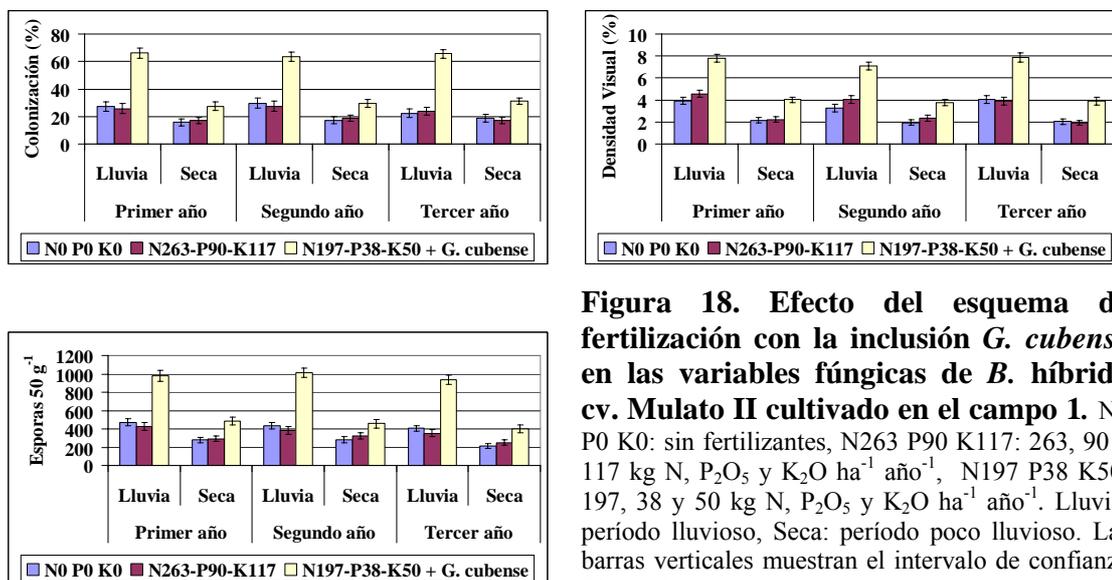


Figura 18. Efecto del esquema de fertilización con la inclusión *G. cubense* en las variables fúngicas de *B. híbrido* cv. *Mulato II* cultivado en el campo 1. N0 P0 K0: sin fertilizantes, N263 P90 K117: 263, 90 y 117 kg N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹, N197 P38 K50: 197, 38 y 50 kg N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹. Lluvia: período lluvioso, Seca: período poco lluvioso. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza (P<0.05).

En el campo 2, en el cual el tratamiento inoculado poseía una superficie de 200 ha, se obtuvieron resultados similares (Tabla 37). Durante los dos primeros años, período en que se le dio seguimiento al sistema de fertilización, con la inoculación de *G. cubense* más la adición de 95, 38 y 50 kg de N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹, se alcanzaron rendimientos de forraje (t MS ha⁻¹), con contenidos de PB, FND y DMO, que no difirieron de los alcanzados con las dosis de fertilizantes indicadas por el Plan Director (163, 90 y 117 kg de N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹). De igual modo, el pasto inoculado, a juzgar por los porcentajes de colonización, densidad visual y las cantidades de esporas que exhibió durante los dos años (Figura 19), mantuvo durante ese período índices de una micorrización efectiva.

Este campo, diseñado originalmente para un régimen de corte intensivo, tuvo dificultades con el sistema de riego, de modo que sólo se pudo cortar tres veces cada año, únicamente durante el período lluvioso. Debido a que la urea se aplicó en dosis fraccionadas (34 y 50 kg de N ha⁻¹ por corte en la variante con la inclusión de *G. cubense* y en la recomendada por el Plan Director, respectivamente), ello explica por qué las cantidades de este elemento que se aplicaron anualmente, y en consecuencia los rendimientos de MS, fueron más bajos que en el campo anterior.

Tabla 37. Efecto de las variantes de fertilización en el rendimiento y el valor nutritivo del forraje del campo 2.

				MS (t ha ⁻¹)	
Variantes de fertilización				Primer año	Segundo año
N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Inoc.		
(kg ha ⁻¹ año ⁻¹)					
0	0	0	NI	9.47 b	8.12 b
163	90	117	NI	14.89 a	13.15 a
95	38	50	I	15.22 a	14.93 a
ES				0.47**	0.43**
				PB (%)	
0	0	0	NI	7.11 b	7.03 b
163	90	117	NI	8.92 a	9.18 a
95	38	50	I	9.27 a	8.93 a
ES				0.19**	0.17**
				FND (%)	
0	0	0	NI	68.23 b	69.25 b
163	90	117	NI	66.11 a	67.22 a
95	38	50	I	65.89 a	66.93 a
ES				0.38**	0.40**
				DMO (%)	
0	0	0	NI	60.22 b	59.97 b
163	90	117	NI	63.91 a	64.19 a
95	38	50	I	64.17 a	63.86 a
ES				0.41**	0.37**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*. MS: masa seca, PB: proteína bruta, FND: fibra neutro detergente, DMO: digestibilidad de la materia orgánica. Portadores: urea y fertilizante con fórmula 14-20-26. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P<0.05, según dócima de Duncan.

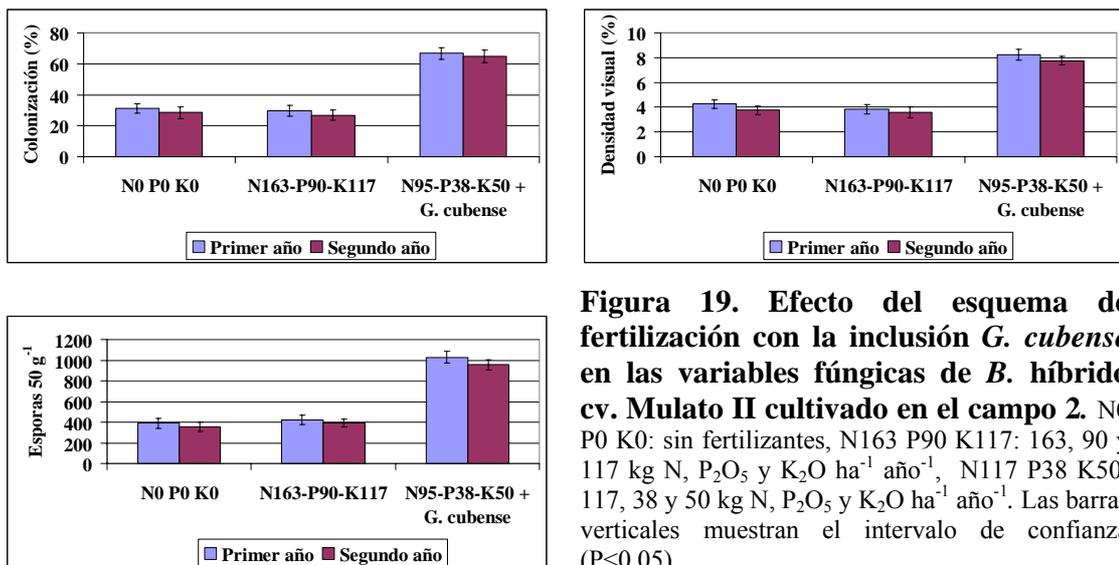


Figura 19. Efecto del esquema de fertilización con la inclusión *G. cubense* en las variables fúngicas de *B. híbrido* cv. Mulato II cultivado en el campo 2. N0 P0 K0: sin fertilizantes, N163 P90 K117: 163, 90 y 117 kg N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹, N117 P38 K50: 117, 38 y 50 kg N, P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza (P<0.05).

4.6. Consideraciones económicas sobre la introducción a escala de producción de un esquema de fertilización para el pasto micorrizado eficientemente

La introducción del sistema de suministro de nutrientes con la inclusión de *G. cubense* en campos de producción de forraje de *B.* híbrido cv. Mulato II, redujo considerablemente las cantidades de fertilizantes a aplicar, en relación con las recomendadas en el Plan Director, y ello representó un ahorro importante de tales insumos para la Empresa. En el campo No. 1 (Tabla 38), la dosis de fertilizante balanceado con la fórmula 14-20-26 disminuyó en 258 kg ha⁻¹ año⁻¹, para un ahorro de 1 032 kg ha⁻¹ durante los cuatro años en que se aplicó esta variante de fertilización.

La dosis de urea también se redujo en 145 kg ha⁻¹, excepto en el tercer año, donde la reducción fue de 109 kg ha⁻¹ ya que sólo se hicieron cuatro cortes y consecuentemente, cuatro aplicaciones de este fertilizante en vez de las cinco que se realizaron el resto de los años. De este modo, durante los cuatro años, en la variante inoculada se ahorraron 544 kg ha⁻¹ de urea.

Tabla 38. Cantidades de fertilizantes aplicados por año con cada variante en el campo de forraje No. 1 y ahorros por la introducción del esquema de suministro de nutrientes con la inclusión de HMA.

Variantes de fertilización				Fertilizante 14-20-26 (kg ha ⁻¹)	Ahorro (kg ha ⁻¹)	Urea (kg ha ⁻¹)	Ahorro (kg ha ⁻¹)
N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Inoc.				
Primer año							
263	90	117	NI	450	-	436	-
197	38	50	I	192	258	291	145
Segundo año							
263	90	117	NI	450	-	436	-
197	38	50	I	192	258	291	145
Tercer año							
213	90	117	NI	450	-	327	-
164	38	50	I	192	258	218	109
Cuarto año							
263	90	117	NI	450	-	436	-
197	38	50	I	192	258	291	145
Ahorro total				-	1 032	-	544

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*.

En el campo No. 2 (Tabla 39), con la inoculación de *G. cubense* las cantidades de fertilizante balanceado y urea también se redujeron en 258 y 72 kg ha⁻¹ año⁻¹, respectivamente, y en 516 y 144 kg ha⁻¹, durante los dos años.

Tabla 39. Cantidades de fertilizantes aplicados por año con cada variante en el campo de forraje No. 2 y ahorros por la introducción del sistema de suministro de nutrientes con la inclusión de HMA.

Variantes de fertilización				Fertilizante	Ahorro	Urea	Ahorro
N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Inoc.	14-20-26 (kg ha ⁻¹)	(kg ha ⁻¹)	(kg ha ⁻¹)	(kg ha ⁻¹)
Primer año							
163	90	117	NI	450	-	218	-
95	38	50	I	192	258	146	72
Segundo año							
163	90	117	NI	450	-	218	-
95	38	50	I	192	258	146	72
Ahorro total				-	516	-	144

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*.

En términos globales, la aplicación de un esquema de suministro de nutrientes con la inclusión de *G. cubense* y la aplicación de dosis complementarias de fertilizantes minerales, en 300 ha cultivadas de *B. híbrido cv. Mulato II* para la producción de forraje, implicó para la EPG Niña Bonita un ahorro de 206.4 t de fertilizante balanceado y 83.2 t de urea, lo que sin dudas repercutió favorablemente en la economía de la entidad.

Desde el punto de vista económico, la reducción de las dosis de fertilizantes minerales tuvieron un peso preponderante en la reducción de los costos de la fertilización, los cuales disminuyeron entre 91 y 155 CUP ha⁻¹ año⁻¹ en el campo 1, y entre 126 y 128 CUP ha⁻¹ año⁻¹ en el campo 2 (Tablas 40 y 41).

De este modo, los costos de la fertilización para producir una tonelada de MS de forraje en uno y otro campo disminuyeron en 7 y 10 CUP, respectivamente. Ello significó que durante los cuatro años en que se introdujo el esquema de suministro de nutrientes con la inclusión de *G. cubense*, en 300 ha cultivadas de *B. híbrido cv. Mulato II* para la producción de forraje, la Empresa ahorró un total de 103.9 M CUP.

A partir de estos resultados, y de la necesidad de hacer un uso más racional de los fertilizantes, el Plan Director de la EPG Niña Bonita incorporó, desde el año 2009, los esquemas de fertilización basados en la inoculación de HMA, como un modelo de suministro de nutrientes a aplicar a los campos de *Brachiaria* dedicados a la producción de forraje y cultivados en suelos Ferralíticos Rojos o con características químicas similares, siempre que se disponga de inoculante micorrízico, y consecuentemente, las cantidades de fertilizantes recomendadas se reducen a 34 kg de N ha⁻¹ por corte, y a 192 kg ha⁻¹ año⁻¹ de

la fórmula 14-20-26, para garantizar dosis anuales adecuadas a las necesidades del pasto inoculado.

Tabla 40. Costos anuales de la fertilización del campo No. 1 y ahorros por la inclusión de los inoculantes micorrízicos en el manejo del pastizal.

Variantes de fertilización				Costos de la fertilización			Ahorro (CUP ha ⁻¹)	Costo de la fertilización t ⁻¹ de forraje (CUP t MS ⁻¹)
N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Inoc.	Fertilización mineral (CUP ha ⁻¹)	Inoculante micorrízico (CUP ha ⁻¹)	Total (CUP ha ⁻¹)		
(kg ha ⁻¹ año ⁻¹)								
Primer año								
263	90	117	NI	357.31	-	357.31	-	16.01
197	38	50	I	202.21	2.50	204.71	152.60	9.35
Segundo año								
263	90	117	NI	357.31	-	357.31	-	17.35
197	38	50	I	202.21	-	202.21	155.10	9.64
Tercer año								
213	90	117	NI	317.09	-	317.09	-	18.17
197	38	50	I	175.28	50.00	225.28	91.81	12.33
Cuarto año								
263	90	117	NI	357.31	-	357.31	-	18.31
197	38	50	I	202.21	-	202.21	155.10	9.71
Ahorro total				-	-	-	554.61	-

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*.

Tabla 41. Costos anuales de la fertilización del campo No. 2 y ahorros por la inclusión de los inoculantes micorrízicos en el manejo del pastizal.

Variantes de fertilización				Costo de la fertilización			Ahorro (CUP ha ⁻¹)	Costo de la fertilización t ⁻¹ de forraje (CUP t MS ⁻¹)
N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Inoc.	Fertilización mineral (CUP ha ⁻¹)	Inoculante micorrízico (CUP ha ⁻¹)	Total (CUP ha ⁻¹)		
(kg ha ⁻¹ año ⁻¹)								
Primer año								
163	90	117	NI	276.87	-	276.87	-	18.59
117	38	50	I	148.33	2.50	150.83	126.04	9.91
Segundo año								
163	90	117	NI	276.87	-	276.87	-	21.05
117	38	50	I	148.33	-	148.33	128.54	9.94

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*.

4.7. Consideraciones generales sobre los esquemas de suministro de nutrientes para los pastos, basados en la inoculación de cepas eficientes de HMA y aplicación de dosis complementarias de fertilizantes minerales

Los resultados expuestos integran aspectos novedosos sobre el manejo de simbiosis micorrízica arbuscular en los pastos, vía inoculación de cepas eficientes de HMA, un tema que a pesar de concedérsele gran importancia debido a las potencialidades de estos

microorganismos para mejorar la nutrición y la productividad de estos cultivos, de acuerdo con la literatura revisada, ha carecido de un enfoque sistémico.

A lo largo de la investigación se demostró, primero, la importancia de una correcta selección de la cepa de HMA a inocular a los pastos, como requisito indispensable para lograr un manejo efectivo de la simbiosis. Los estudios que condujeron a la selección de cepas de HMA para pastos del género *Brachiaria* cultivados en suelos Ferralítico Rojo Lixiviado y Vertisol Pélico, demostraron una alta especificidad cepa eficiente de HMA-tipo de suelo, así como una baja especificidad cepa eficiente de HMA-especie de pasto.

La inoculación sistemática de dicha cepa, conjuntamente con la adición de dosis óptimas de fertilizantes minerales para los pastos inoculados, garantizó durante seis años altos rendimientos de biomasa con adecuado valor nutritivo, y redujo las dosis de N, P₂O₅ y K₂O en 100, 30 y 50 kg ha⁻¹ año⁻¹, respectivamente, en comparación con las que necesitaron los pastos no inoculados para alcanzar resultados similares.

Tales reducciones de los requerimientos de fertilizantes fueron sustentadas por un funcionamiento micorrízico efectivo, el cual se manifestó no solo con el incremento de los rendimientos, sino también con el aumento de las variables fúngicas, cuyos máximos valores también se alcanzaron en presencia de las dosis óptimas de fertilizantes para los pastos inoculados. La no aplicación de fertilizantes o el uso cantidades menores o mayores que las óptimas, influyeron negativamente en el funcionamiento micorrízico, expresado en menores valores de dichas variables y en la obtención de rendimientos más bajos.

Al evaluar el comportamiento de las variables fúngicas, se demostró que estas dependieron no solo de la fertilización aplicada, sino también de la especie de pasto, el tipo de suelo y la época del año; no obstante, tanto en *B. decumbens* como en *B. híbrido* cv. Mulato, se pudieron establecer los valores asociados con un funcionamiento micorrízico efectivo.

Se observó una marcada estacionalidad de las variables micorrízicas, en correspondencia con la estacionalidad de la producción de biomasa de los pastos; de este modo, los mayores valores que se alcanzaron durante el período lluvioso, sugirieron que estas estuvieron directamente relacionadas con la demanda de recursos de las plantas y que, durante el período de mayor crecimiento de los pastos, se necesitaron mayores cantidades de estructuras fúngicas para mantener un adecuado funcionamiento micorrízico.

Dos aspectos resultan muy importantes para mantener los beneficios de una micorrización efectiva, vía inoculación, en cultivos perennes como los pastos: primero, evaluar la permanencia del efecto de la inoculación inicial; y segundo, definir los momentos en que es necesario reinocular y las dosis de inoculante micorrízico a aplicar. La mayoría de las especies y cultivares del género *Brachiaria* poseen una elevada dependencia micorrízica (Saif, 1987; Kanno *et al.*, 2004; de Miranda *et al.*, 2008) y un sistema radical profuso, características apropiadas para prolongar el efecto de la inoculación de HMA, a partir de la reproducción de una gran cantidad de esporas y otros propágulos como las hifas extrarradicales y las propias raíces colonizadas.

La información obtenida en estos experimentos, tanto de los datos del rendimiento como de las variables que caracterizan el funcionamiento micorrízico, demostraron que la permanencia de la inoculación al momento de la siembra, en el suelo Ferralítico Rojo se mantuvo durante el primer año en *B. decumbens* y durante los dos primeros en *B.* híbrido cv. Mulato, lo cual estuvo en correspondencia con el mayor grado de ocupación fúngica y producción de esporas de esta última especie, y consecuentemente, con su más alta producción de biomasa, fundamentalmente durante el periodo poco lluvioso.

El análisis de la propia información también permite plantear que la cantidad de propágulos micorrízicos que acumulan los pastos durante el período poco lluvioso, definirá la prolongación del efecto de la inoculación de la cepa de HMA durante la época subsiguiente.

Tal planteamiento se basa en la correspondencia que existió entre la cantidad de esporas acumuladas en la rizosfera de los pastos inoculados durante el período poco lluvioso, y la permanencia del efecto de la cepa introducida, expresada en el rendimiento que se obtiene durante el período lluvioso posterior; de modo que esta variable se presenta como un indicador muy prometedor para predecir el funcionamiento micorrízico del pasto durante la época subsiguiente y consecuentemente, la necesidad de una nueva inoculación.

Teniendo en cuenta que la inoculación inicial de los pastos se realizó al momento de la siembra, por el método del recubrimiento de la semilla, y que una nueva inoculación se haría sobre pastos ya establecidos, fue necesario determinar las dosis y frecuencias de aplicación del inoculante micorrízico, con las cuales se pudieran obtener nuevamente los beneficios de una micorrización efectiva.

De este modo se determinó que las dosis de inoculante micorrízico a razón de 4×10^5 esporas ha^{-1} cada año para *B. decumbens*, y de 2×10^5 esporas ha^{-1} , al menos cada dos años para *B. híbrido*, conjuntamente con la aplicación de las dosis de fertilizantes minerales recomendadas para los pastos inoculados, permitieron alcanzar nuevamente los beneficios de un funcionamiento micorrízico efectivo, expresado en la obtención de rendimientos similares a los que se lograron con la aplicación de niveles más altos de fertilizantes en ausencia de inoculación. Esas cantidades de esporas se corresponden con dosis no mayores de 10 y 20 kg ha^{-1} del inoculante micorrízico utilizado, el cual garantiza un contenido mínimo es de 20 esporas g^{-1} .

La reinoculación anual de la cepa eficiente de HMA, de acuerdo con los resultados ya señalados, acompañada de un suministro adecuado de fertilizante nitrogenado, fosfórico y potásico, permitió mantener un óptimo funcionamiento de la simbiosis y reducciones de 100, 30 y 50 $\text{kg de N, P}_2\text{O}_5 \text{ y K}_2\text{O ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, en relación con las necesidades de fertilizantes del pasto no inoculado, sin afectar el estado nutricional, los rendimientos ni el valor nutritivo de la biomasa. No hay dudas de que tales disminuciones en los requerimientos de fertilizantes para los pastos micorrizados se explican su mayor aprovechamiento de los nutrientes procedentes de los fertilizantes y del suelo.

Con independencia de lo anterior, se conoce que los pastos del género *Brachiaria*, cuando se someten a un régimen de corte intensivo y a la aplicación de altas dosis de fertilizantes, extraen altas cantidades de nutrientes del suelo, algunos de los cuales se encuentran en formas no disponibles para otros cultivos, y ello sugiere que para la determinación de los índices críticos de los nutrientes en el suelo, deben tenerse en cuenta estas particularidades. Tales características de estos pastos se hicieron evidentes en los experimentos, donde se observaron diferencias notables entre las cantidades de macronutrientes (N, P y K) aportadas por los fertilizantes y las extraídas con las cosechas sucesivas de la biomasa de la parte aérea, tanto con el esquema de fertilización basado solamente en la adición de dosis de fertilizantes minerales, como en el que se incluyó la inoculación anual de la cepa de HMA.

La dinámica de los contenidos de estos nutrientes en el suelo y en la planta, permitieron identificar al menos dos mecanismos que explican por qué aún con estos aparentes desbalances, que fueron más pronunciados en presencia de la cepa de HMA, el pasto

inoculado logra mantener niveles de rendimientos y un estado nutricional similares al no inoculado, el cual recibió dosis mayores de fertilizantes.

En el caso del nitrógeno, presumiblemente la fijación biológica (FBN) permitió garantizar altos rendimientos con adecuado valor nutritivo, con la adición de cantidades del elemento inferiores a las extraídas en la biomasa aérea, y aunque esto ocurrió tanto en presencia como en ausencia de la cepa de HMA, las mayores diferencias que se observaron en el pasto inoculado sugiere que un funcionamiento micorrízico efectivo también incrementó la participación de la FBN en la nutrición nitrogenada del pasto.

En los pastos del género *Brachiaria* abundan los reportes sobre la contribución de la FBN a la nutrición nitrogenada (Reis Jr. *et al.*, 2004; dos Santos, 2009; da Silva, 2010), y en estos y otros cultivos, también se reconoce el efecto sinérgico entre los HMA y los microorganismos que participan en la FBN (Artursson *et al.*, 2006; Richardson *et al.*, 2009; Tajini y Drevon, 2012).

En el caso del fósforo, las cantidades aportadas por la fertilización también fueron menores que las extraídas con las cosechas sucesivas de biomasa, y en el pasto inoculado, la no aplicación de este elemento durante seis años contribuyó a aumentar tales diferencias. Sin embargo, durante ese período no se encontraron disminuciones significativas en los contenidos de fósforo asimilable del suelo, sugiriendo la participación de formas de este elemento no disponibles para otros cultivos, en la nutrición fosfórica del pasto, tal como lo han comprobado otros autores (Nanamori *et al.*, 2004; Watanabe, 2006; Low-Gaume, 2009; Richardson *et al.*, 2009).

En relación con el K se observó un comportamiento diferente, pues aunque la dosis de este elemento para alcanzar los mayores rendimientos en el pasto inoculado continuó siendo menor que en el no inoculado, con ambos esquemas de fertilización se constató un aumento de las necesidades de este nutriente a partir del quinto año, que sin dudas estuvo relacionado con la disminución de los contenidos de K intercambiable y difícilmente intercambiable del suelo.

Es de destacar que aún con las disminuciones de los contenidos de estas formas de K, el pasto inoculado mantuvo a través del tiempo concentraciones de K en la biomasa de la parte aérea similares al no inoculado, y las mismas indicaron un abastecimiento adecuado del nutriente, lo que sugiere que tanto en uno como en el otro esquema de fertilización, las

plantas garantizaron una nutrición potásica adecuada a expensas de las reservas del nutriente en el suelo. De este modo, tanto en los esquemas de suministro de nutrientes con la inclusión de cepas eficientes de HMA, como en los basados solamente en el uso de fertilizantes minerales, se deben evaluar estrategias de fertilización dirigidas a utilizar adecuadamente las reservas del suelo y evitar disminuciones irreversibles de su fertilidad.

Los resultados también indicaron que el establecimiento de esquemas de suministro de nutrientes con la inclusión de HMA, conlleva no solo una redefinición de los requerimientos de fertilizantes de los pastos, sino también de los índices críticos de los nutrientes en el suelo, que en el caso del género *Brachiaria*, deben incluir otras formas menos disponibles para otros cultivos.

Por tanto, es de primer orden el establecer experimentos a largo plazo que permitan evaluar estas interacciones, redefinir los índices críticos y aprovechar los beneficios de una micorrización efectiva, que no solo se expresan mediante el aumento de los rendimientos como resultado de un mejor aprovechamiento de los nutrientes, como se pudo constatar en este trabajo, sino también mediante la mejora de las propiedades físicas del suelo (Rilling, 2004; Bedini *et al.*, 2007), la interacción beneficiosa con otros microorganismos rizosféricos, como ya se señaló, e incluso en la bioprotección de las plantas (de la Noval, 2010, Pérez, 2011).

Por último, la introducción de un esquema de suministro de nutrientes basado en la inoculación de la cepa eficiente de HMA y la aplicación de dosis complementarias de fertilizantes minerales, en 300 ha cultivadas de *B. híbrido* cv. Mulato II (CIAT-36087) en suelo Ferralítico Rojo para la producción de forraje, permitió validar los resultados obtenidos en los experimentos de campo, y demostró la factibilidad económica de su aplicación, pues se lograron importantes ahorros de fertilizantes minerales, sin disminuir los rendimientos ni el valor nutritivo de la biomasa.

Y aunque no se evaluaron directamente los beneficios ambientales que se lograron con la introducción de este modelo de suministro de nutrientes, la reducción de las cantidades de fertilizantes químicos a aplicar a los campos de forraje, sugirió una disminución de los riesgos de contaminación asociados a la aplicación sistemática de las dosis de fertilizantes recomendadas por el Plan Director de la EPG Niña Bonita, que de acuerdo con los resultados experimentales, excedieron las necesidades del pasto. Por otra parte, el

establecimiento de una simbiosis micorrízica efectiva, así como su contribución al incremento de la productividad y el valor nutritivo del forraje, también constituyó un reflejo de la mejora de las propiedades biológicas del suelo.

Estos resultados, obtenidos en una empresa ganadera, también vislumbran la contribución a la reducción de las importaciones que pudiera obtenerse mediante el escalado de un esquema de fertilización basado en la inoculación de cepas eficientes de HMA, con el cual se puedan reducir las dosis de nutrientes a aplicar, sin comprometer los rendimientos ni el valor nutritivo de la biomasa de los pastos.

CONCLUSIONES:

- La respuesta de *B. decumbens* cv. Basilisk, *B. brizantha* cv. Marandú y *B.* híbrido cv. Mulato (CIAT 36061) a la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares presentó una alta especificidad cepa eficiente de HMA-tipo de suelo y una baja especificidad cepa eficiente de HMA-especie de pasto. *G. cubense* resultó la cepa más eficiente para los pastos cultivados en el suelo Ferralítico Rojo Lixiviado, mientras que *R. intraradices* lo fue para los cultivados en el suelo Vertisol Pélico.
- El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular en pastos del género *Brachiaria* requirió de dosis complementarias de fertilizantes minerales para alcanzar un óptimo funcionamiento micorrízico, un buen estado nutricional y altos rendimientos de biomasa. Estas dosis fueron menores que las que garantizaron un estado nutricional y rendimientos similares en los pastos no inoculados.
- La magnitud de las variables fúngicas variaron en función de la época del año y de la especie de pasto, obteniéndose los valores más altos en los periodos de mayor producción de biomasa y en *B.* híbrido cv. Mulato II (CIAT-36087). Tanto para esta especie como para *B. decumbens* cv. Basilisk, se establecieron valores de estos indicadores asociados con un funcionamiento micorrízico efectivo.
- La permanencia del efecto de la inoculación de la cepa eficiente HMA dependió del tipo de suelo y de la especie de pasto. El momento de reinoculación estuvo altamente relacionado con el número de esporas en la rizosfera, de forma que valores ≤ 580 esporas 50 g^{-1} indicaron una disminución de la efectividad de la cepa introducida y la necesidad de reinocular.
- En el suelo Ferralítico Rojo, las dosis y frecuencias de reinoculación con las cuales se logró mantener un funcionamiento micorrízico efectivo, fueron del orden de 2 y 4×10^5 esporas ha^{-1} cada uno y dos años, para *B. decumbens* y *B.* híbrido cv. Mulato, respectivamente.
- *B. decumbens*, bajo un régimen de corte intensivo movilizó cantidades importantes de P y K del suelo. Este proceso se intensificó cuando se inoculó la cepa eficiente de HMA y se hizo más evidente en el caso del potasio; no obstante, las plantas inoculadas y fertilizadas con dosis adecuadas de N, P y K para el pasto inoculado,

durante seis años garantizaron altos rendimientos de biomasa con adecuado valor nutritivo.

- La introducción de un esquema de fertilización para el pasto micorrizado eficientemente vía inoculación en campos de producción de forraje de *B. híbrido* cv. Mulato II (CIAT-36087), permitió un ahorro de hasta un 57 % de las dosis de fertilizantes que se recomiendan para este cultivo, sin reducir el rendimiento ni el valor nutritivo de la biomasa.

RECOMENDACIONES:

- Continuar generalizando los esquemas de suministro de nutrientes con la inoculación de *G. cubense* y la aplicación de dosis complementarias de fertilizantes minerales, en pastos del género *Brachiaria* cultivados en suelos Ferralíticos Rojos para la producción de forraje.
- Evaluar a escala de producción los esquemas de fertilización para pastos del género *Brachiaria* micorrizados eficientemente, en suelos Vértisoles Pélicos.
- Continuar perfeccionando los criterios de disponibilidad e índices críticos de nutrientes para pastos del género *Brachiaria* inoculados con cepas eficientes de HMA.
- Evaluar, como parte de los esquemas de suministro de nutrientes recomendados, estrategias de manejo de los fertilizantes que permitan mantener un adecuado funcionamiento micorrízico, garantizar altos rendimientos de los pastos y a la vez, mejorar la fertilidad de los suelos.
- Utilizar los resultados obtenidos en la docencia de pre y postgrado de las ciencias agrícolas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Akhtar, M. S.; Siddiqui, Z. A. 2007. Effects of *Glomus fasciculatum* and *Rhizobium* sp. on the growth and root-rot disease complex of chickpea. Arch. Phytopathol. Plant Protec. 40: 37–43.
2. Alguacil, M. M.; Díaz-Pereira, E.; Caravaca, F.; Fernández, D.; Roldán, A. 2009. Increased diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment via application of organic amendments to a semiarid degraded soil. Appl. Environm. Microb., 75 (13): 4254–4263.
3. Allen, M. F.; Swenson, W.; Querejeta, J. I.; Egerton-Warburton, L. M.; Treseder, K. K. 2003. Ecology of mycorrhizae: a conceptual framework for complex interactions among plants and fungi. Ann. Rev. Phytopathol. 41: 271–303.
4. Andrade, A. C.; Fonseca, D. M.; Gomide, J. A.; Alvarez, V.H.; Martins, C. E.; Souza, D. P. H. 2000. Produtividade e valor nutritivo do capim elefante cv. Napier sob doses crescentes de nitrogênio e potássio. Rev. Brás. Zootec., 29 (6): 1589-1595.
5. Argel, P. J.; Miles, J. W.; Guiot, J. D.; Cuadrado, H.; Lascano, C. E. 2007. Cultivar Mulato II (*Brachiaria* híbrido CIAT 36087). Gramínea de alta calidad y producción forrajera, resistente al salivazo y adaptada a suelos tropicales ácidos bien drenados. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 22 p.
6. Aristizábal, C.; Rivera, E. L.; Janos, D. P. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi colonize decomposing leaves of *Myrica parvifolia*, *M. pubescens* and *Paepalanthus* sp. Mycorrhiza 14: 221-228.
7. Artursson, V.; Finlay, R. D.; Jansson, J. K. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. Environ. Microbiol., 8: 1-10.
8. Atul-Nayyar, A; Hamel, C; Hanson, K; Germida, J. 2009. The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. Mycorrhiza. 19 (4): 239-246.
9. Ávila, A. 1980. Fertilización nitrogenada y contenido de potasio de un suelo Pardo Tropical. Ciencia y Téc. Agric. Suelos y Agroquímica. 3 (1): 19-28.
10. Bago, B.; Shachar-Hill, Y.; Pfeffer, P. 2000. Dissecting carbon pathways in arbuscular mycorrhizas with NMR spectroscopy. En Current advances in mycorrhizae research. Edited by Gopi K, Podila and Douds D. D. The American Phytopathological Society, Minnesota, p: 111-126.
11. Baldani, J. I.; Baldani, V. L. D. 2005. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 77 (3): 549-579.
12. Barea, J. M.; Gryndler, M.; Lemanceau, P.; Schüepp, H; Azcón, R. 2002. The rhizosphere of mycorrhizal plants. In Mycorrhizal Technology in Agriculture: From

Genes to Bioproducts. Edited by S. Gianinazzi, H. Schüepp, J. M. Barea and K. Haselwandter. Birkhäuser Verlag, Basel, p: 1-18.

13. Bashan, Y.; Khaosaad, T.; Salazar, B. G.; Ocampo, J. A.; Wiemken, A.; Oehl, F.; Vierheilig, H. 2007. Mycorrhizal characterization of the boojum tree, *Fouquieria columnaris*, an endemic ancient tree from the Baja California Peninsula, Mexico. *Trees* 21, 329-335.
14. Batista, K. 2002. Respostas do capim-marandu a combinações de doses de nitrogênio e enxofre. Tese de Mestrado, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 91p.
15. Batista, K.; Monteiro, F. A. 2010. Variações nos teores de potássio, cálcio e magnésio em capim-marandu adubado com doses de nitrogênio e de enxofre. *R. Bras. Ci. Solo*, 34: 151-161.
16. Bazzicalupo, M.; Okkon, Y. 2000. Associative and endophytic symbiosis. En: Pedrosa, F.; Hungria, M.; Yates, M. G.; Newton, W. E. (Eds). Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity. Dodrecht: Kluwer Academia, 409 p.
17. Becerra, A. G.; A, Arrigo, N. M.; Bartoloni, N.; Domínguez, L. S.; Cofré, M. N. 2007. Arbuscular mycorrhizal colonization of *Alnus acuminata* Kunth in Northwestern Argentina in relation to season and soil parameters. *Ci. Suelo (Argentina)*, 25 (1): 7-13.
18. Bedini, E.; Avio, L.; Agrese, E.; Giovannetti, M. 2007. Effects of long-term land use on arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin-related soil protein. *Agric., Ecosyst. and Environm.*, 20: 463-466.
19. Begum, H. H.; Mitsuru, O.; Nanamori, M.; Watanabe, T.; Shinano, T.; Rao, I. M. 2006. Role of phosphoenolpyruvate carboxylase in the adaptation of a tropical forage grass to low-phosphorus acid soils. *J. Plant Nutr.*, 29 (1): 35-57.
20. Benett, C. G. S. 2007. Produtividade e composição bromatológica do capim marandu a fontes e doses de nitrogênio. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 48 p.
21. Benett, C. G. S.; Buzetti, S.; Silva, K. S.; Bergamaschine, A. F.; Fabrício, J. A. 2008. Produtividade e composição bromatológica do capim marandu a fontes e doses de nitrogênio. *Ciência e Agrotec.*, 32 (5): 1629-1636.
22. Berbara, R. L. L.; Souza, F. A.; Henrique, M. A. C. 2006. III-fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. P: 53-85. En: *Nutrição Mineral de Plantas*, SBCS, Viçosa, 2006, (ed. Fernandes, M. S.). 432p.
23. Bethlenfalvay, G. J.; Dakessian, S. 1984. Grazing effects on mycorrhizal colonization and floristic composition of the vegetation on a semiarid range in Northern Nevada. *Journal of Range Manag.*, 37:312-316.
24. Bingham, M. A.; Biondini, M. 2009. Mycorrhizal hyphal length as a function of plant community richness and composition in restored northern tallgrass prairies (USA). *Rangeland Ecol. Manag.* 62: 60-67.

25. Boddey, R. M.; Victoria, R. L. 1986. Estimation of biological nitrogen fixation associated with *Brachiaria* e *Paspalum notatum* cv. Batatais using ^{15}N labelled organic matter and fertilizer. *Plant and Soil*, 90: 265-292.
26. Bonfim, E. M. S.; Freire, F. J.; Santos, M. V. F.; Silva, T. J. A.; Freire, B. G. S. 2004. Níveis críticos de fósforo para *Brachiaria brizantha* e suas relações com características físicas e químicas em solos de Pernambuco. *R. Bras. Ci. Solo*, 28: 281-288, 2004.
27. Bonta, L. 2004. Reduction of nitrate leaching with haying or grazing and omission of nitrogen fertilizer. *J. Environm. Qual.*, 33: 1230-1237.
28. Bradley, K.; Drijber, R. A.; Knops, J. 2006. Increased N availability in grassland soils modifies their microbial communities and decreases the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.*, 38: 1583–1595.
29. Brundrett, M. C. 2002. Co-evolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol.*, 154: 275-304.
30. Burrows, R. L.; Pflieger, F. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity. *Can. J. Bot.*, 80: 120–130.
31. Caravaca, F.; Barea, J. M.; Palenzuela, J.; Figueroa, D.; Alguacil M. M.; Roldán, A. 2003. Establishment of shrub species in a degraded semiarid site after inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi. *Appl. Soil Ecol.*, 22: 103-111.
32. Carneiro, R. F. V.; Martins, M. A.; Freitas, M. S. M.; Detmann E.; Vasquez, H. M. 2007. Inoculação micorrízica arbuscular e doses de fósforo na produção do capim-andropogon, em substrato não estéril. *Rev. Bras. Cienc. Agr.*, 2 (3): 212-218.
33. Carneiro, R. F. V.; Martins, M. A.; Freitas, M. S. M.; Detmann, E.; Vasquez, H. M. 2008. Efeito de residuo agroindustrial e micorriza sobre o crescimento do estilosantes. *Arch. Zootec.*, 57 (218): 259-269.
34. Carneiro, R.F.V.; Martins, M.A.; Vásquez, H.M.; Detmann, E. 2010. Doses de fósforo e inoculação micorrízica no cultivo de estilosantes em solo sob condições naturais. *Arch. Zootec.*, 59 (227): 415-426.
35. Castilhos, D. D.; Meurer, E. J.; Kampf, N.; Pinto, L. F. S. 2002. Mineralogia e fontes de potássio em solos do Rio Grande do Sul cultivados com arroz irrigado. *R. Bras. Ci. Solo*, 26: 579-587.
36. Cecato, U.; Pereira, L. A.; Galbeiro, S; dos Santos, G. T.; Damasceno. J. C.; Machado, A. O. 2004. Influência das adubações nitrogenada e fosfatada sobre a produção e características da rebrota do capim Marandu (*Brachiaria brizantha* (Hochst) Stapf cv. Marandu). *Acta Scientiarum*, 26, (3); 399-407.
37. Celik, I.; Ortas, I.; Kilic, S. 2004. Effects of compost, mycorrhiza, manure and fertilizer on some physical properties of a Chromo-xerert soil. *Soil Tillage Res.*, 78: 59–67.

38. Chalk, P. M.; de Souza, F. R.; Urquiaga, S.; Alves, B. J. R.; Boddey, R. M. 2006. The role of arbuscular mycorrhiza in legume symbiotic performance. *Soil Biol. Biochem.*, 38: 2944-2951.
39. Cino, D. M.; Padilla, C.; Sardiñas, Y. 2007. Propuesta de fichas de costo de nuevos cultivos forrajeros. *Revista ACPA*, 26 (2): 48-49.
40. Clark, R. B.; Zeto, S. 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *J. Plant Nutr.*, 23: 867-902.
41. Corkidi L.; Rowland, D. L.; Johnson, N. C.; Allen, E.B. 2002. Nitrogen fertilization alters the functioning of arbuscular mycorrhizas at two semiarid grasslands. *Plant and Soil* 240:299–310.
42. Cornejo, P. E. 2006. Influencia de la cobertura vegetal sobre la diversidad y estructura de las comunidades de hongos micorrícicos y sus efectos en la estabilización de suelos degradados. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. Facultas de Ciencias. 2006. ISBN 978-84-338-4026-4. Estación Experimental del Zaidín. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Granada.
43. Costa, K. A.; Oliveira, I. P.; Faquin, V.; Figueiredo, F. C.; Rodrigues, C. R.; Nascimento, P. P. 2008 a. Adubação nitrogenada e potássica na concentração de nutrientes do capim-xaraés. *Ciência Animal Bras.*, 9: 86-92.
44. Costa, S. E.; Neto, A. E.; de Resende, A. V.; da Silva, T. O.; da Silva, T. R. 2008 b. Crescimento e nutrição da braquiária em função de fontes de fósforo. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1419-1427.
45. Costa, K. A.; Severiano, E. C.; Simon, G. A.; Carrijo, M. S. 2009. Extração de nutrientes do capim-marandu sob doses e fontes de nitrogênio. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, 10 (4): 801-812.
46. Costa, K. A.; Oliveira, I. P.; Faquin, V. 2006. Adubação nitrogenada para pastagens do gênero *Brachiaria* em solos do Cerrado. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, ISSN 1678-9644; 192.
47. Covacevich, F.; Echeverria, H. E.; Aguirrezabal, L. A. N. 2007. Soil available phosphorus status determines indigenous mycorrhizal colonization of field and glasshouse-grown spring wheat from Argentina. *Appl. Soil Ecol.* 35:1-9.
48. Covacevich, F.; Marino, M. A.; Echeverría, H. E. 2006. The phosphorus source determines the arbuscular mycorrhizal potential and the native mycorrhizal colonization of tall fescue and wheatgrass. *European J. Soil Biol.*, 42: 127-138.
49. Crespo, G. 2012. El Reciclaje de nutrientes y su impacto en sistemas ganaderos en el occidente de Cuba. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias. Universidad Agraria de La Habana Fructuoso Rodríguez Pérez, Instituto de Ciencia Animal, La Habana, 182 p.
50. Crespo, G. 2001. La problemática de la degradación de los suelos en áreas ganaderas de América Tropical. Vías sostenibles de recuperación. I Forum Latinoamericano de Pastos y Forrajes. La Habana, Cuba [cd-room].

51. Crespo, G., Aspiolea, J. L.; López, M. 1986. Nutrición de pastos. En: Los pastos en Cuba. Tomo I. Segunda edición. Editorial ICA, MES.
52. Crespo, G.; Rodríguez, I.; Ortiz, J.; Torres, V.; Cabrera, C. 2005. El reciclaje de los nutrientes en el sistema suelo-planta-animal. Una contribución al conocimiento científico en Cuba. (Eds): Gustavo Crespo López e Idalmis Rodríguez García. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba. 86 p.
53. Cruz, A.; Hernández, A.; Enriquez, J. F.; Gómez, A.; Ortega, E.; Maldonado, N. M. 2011. Producción de forraje y composición morfológica del pasto Mulato (*Brachiaria* híbrido 36061) sometido a diferentes regímenes de pastoreo. Rev. Mex. Cienc. Pecu., 2 (4): 429-443
54. Cruz, C.; Egsgaard, H.; Trujillo, C.; Ambus, P.; Requena, N.; Martins-Loucao, M. A.; Jakobsen, I. 2007, Enzymatic evidence for the key role of arginine in nitrogen translocation by arbuscular mycorrhizal fungi. Plant Physiol., 144: 782–792.
55. Cuenca, G.; Cáceres, A.; Oirdobro, G.; Hasmy, Z.; Urdaneta, C. 2007. Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. Interciencia, 31 (1): 23-29.
56. Darunsontaya, T.; Suddhiprakarn, A.; Kheoruenromne, I.; Prakongkep, N.; Gilkes, R. J. 2012. The forms and availability to plants of soil potassium as related to mineralogy for upland Oxisols and Ultisols from Thailand. Geoderma, 170: 11–24.
57. Delbem, F. C.; Scabora, M. H; Filho, C. V. S.; Heinrichs, R.; Ferrari, T. A.; Cassiolato, A. M. R. 2010. Colonização micorrízica e fertilidade do solo submetido a fontes e doses de adubação nitrogenada em *Brachiaria brizantha*. Acta Scientiarum. Agronomy, 32 (3): 455-461.
58. Deminicis, B. B.; Abreu, J. B. R.; Vieira, H. D.; Araújo, S. A. C. 2010. *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick em diferentes idades de rebrota submetida a doses de nitrogênio e potássio. Ciênc. Agrotec., Lavras, 34 (5): 1116-1123.
59. Díaz, A.; Garza, I. 2006. Colonización micorrízica arbuscular y crecimiento de genotipos de pasto buffel (*Cenchrus ciliaris* L.). Rev. Fitotéc. Mex. 29 (3): 203-206.
60. Dobermann, A.; Cassman, K. G.; Waters, D. T.; Witt, C. 2007. Balancing short and long term goals in nutrient management. En: Proceedings of the Symposium on Information Technology in Soil Fertility and Fertilizer Management, a satellite symposium at the XV International Plant Nutrition Colloquium, Beijing, China, sept. 14-16.
61. Dubeux Jr, J. C. B. 2005. Management strategies to improve nutrient cycling in grazed Pensacola bahiagrass pastures. Tesis de Ph. D. University of Florida. 204 p.
62. Duncan, D. B. 1955. Multiple ranges and multiple F test. Biometrics. 11: 1.
63. Egerton, Louise, M., Collins, N.; Allen Edith, B. 2007. Mycorrhizal community dynamics following nitrogen fertilization: a cross-site test in five grasslands. Ecol. Monographs. 77 (4): 527-544.

64. Eom, A. H., Wilson, G. W. T.; Hartnett, D. C. 2001. Effect of ungulate grazers on arbuscular mycorrhizal symbiosis and fungal community structure in tallgrass. *Micología*. 93: 233-242.
65. Escudero, V.; Mendoza, R. 2005. Seasonal variation of arbuscular mycorrhizal fungi in temperate grasslands along a wide hydrologic gradient. *Mycorrhiza*, 15: 291–299.
66. Euclides, V. P. B. 1995. Valor nutritivo de espécies forrageiras do gênero *Panicum*. En Simpósio sobre Manejo de Pastagem, 12. Anais. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP., p: 245-74.
67. Ezawa, T.; Cavagnaro, T. R.; Smith, S. E.; Smith, F.A.; Ohtomo, R. 2004. Rapid accumulation of polyphosphate in extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus as revealed by histochemistry and a polyphosphate kinase/luciferase system. *New Phytol.* 161: 387-392.
68. Fabricio, J. A. 2007. Produtividade e composição bromatológica do capim - Tobiata em função da adubação NPK. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. 56 p.
69. Fagundes, J. L.; da Fonseca, D. M.; Mistura, C.; de Moraes, R. V.; Vitos, C. M. T.; Gomide, J. A.; do Nascimento Junior, D.; Casagrande, D. R.; da Costa, L. T. 2006. Características morfogênicas e estruturais do capim-braquiária em pastagem adubada com nitrogênio avaliadas nas quatro estações do ano. *R. Bras. Zootec.*, v.35, n.1, p.21-29, 2006.
70. Fagundes, J. L.; da Fonseca, D. M.; Gomide, J.A. 2005. Acúmulo de forragem em pastos de *Brachiaria decumbens* adubados com nitrogênio. *Pesq. Agrop. Bras.*, 40 (4): 397-403.
71. Fassio, P. O.; Duarte, N. F.; de Melo, P. F.; Pinto, D. M., Oliveira, J. R. 2008. Recuperação de pastagem degradada de *Brachiaria brizantha* cv Marandu sob diferentes adubações associadas à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. I Jornada Científica e VI FIPA do CEFET Bambuí, Bambuí/MG.
72. Fernández, F. 1999. Manejo de las asociaciones micorrízicas arbusculares sobre la producción de posturas de cafeto (*C. arabica* L. var. Catuai) en algunos tipos de suelos. Tesis de grado (Dr. En Ciencias Agrícolas), INCA, La Habana, 102 p.
73. Fernández, F.; Gómez, R.; Vanegas, L. F.; Martínez, M. A.; de la Noval, B. M.; Rivera, R. 2001. Producto inoculante micorrizógeno. Oficina Nacional de Propiedad Industrial. Cuba, Patente No. 22641.
74. Franzluebbers, A. J. 2010. Soil organic carbon in managed pastures of the southeastern United States of America. *Grassland carbon sequestration: management, policy and economics.* 11: 163-175.
75. Gama-Rodrigues, A. C.; Rossiello, R. O. P.; Carvalho, C. A. B.; Adesi, B. 2002. Produção e partição de matéria seca em *Brachiaria brizantha* em resposta à fertilização potássica e às datas de corte. *Agronomia*, 36 (1-2): 23-28.

76. García, I. V.; Mendoza, R. E. 2008. Relationships among soil properties, plant nutrition and arbuscular mycorrhizal fungi-plant symbioses in a temperate grassland along hydrologic, saline and sodic gradients. *FEMS Microb. Ecol.*, 63: 359.
77. Garcia, R. A.; Crusciol, C. A. C.; Calonego, J. C.; Rosolem, C. A. 2008. Potassium cycling in a corn-*brachiaria* cropping system. *Eur. J. Agron.*, 28: 579-585.
78. Gerdemann, J. W.; Nicholson, T. H. 1963. Spore of mycorrhizae endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 46: 235-244.
79. Giovannetti, M.; Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84: 489 – 500.
80. Göransson, P.; Olsson, P. A.; Postma, J.; Falkengren-Grerup. U. 2008. Colonisation by arbuscular mycorrhizal and fine endophytic fungi in four woodland grasses-variations in relation to pH and aluminium. *Soil Biol. Biochem.*, 40: 2260–2265.
81. Gosling, P.; Hodge, A.; Goodlass, G.; Bending, G. D. 2006, Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agric. Ecos. Environ.*, 113: 17–35.
82. Govindarajulu, M., Pfeffer, P., Jin, H., Abubaker, J., Douds, D. D., Allen, J. W., Bücking, H., Lammers, P. J., Shachar-Hill, Y. 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature*, 435: 819–823.
83. Gryndler, M., Hřelová, H.; Cajthaml, T.; Havránková, M.; Řezáčová, V.; Gryndlerová, H.; Larsen, J. 2009. Influence of soil organic matter decomposition on arbuscular mycorrhizal fungi in terms of aymbiotic hyphal growth and root colonization. *Mycorrhiza*, 19: 255-266.
84. Gustafson, D. J.; Casper, B. B. 2004. Nutrient addition affects AM fungal performance and expression of plant/fungal feedback in three serpentine grasses. *Plant and Soil*, 259: 9–17.
85. Hamel, C. 2004. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on N and P cycling in the root zone. *Can. J. Soil Sci.*, 84: 383-395.
86. Hamel, C. 2007. Extraradical arbuscular mycorrhizal mycelia: shadowy figures in the soil. In: Hamel C, Plenchette C (eds) *Mycorrhizae in crop production: applying knowledge*. Haworth, Binghampton, pág: 1–36.
87. Harrison, M. J.; Dewbre, G. R.; and Liu, J. 2002. A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Cell*, 14: 2413–2429.
88. Hawkes, C. V.; Belnap, J.; D'Antonio, C. D.; Firestone, M. K. 2006. Arbuscular mycorrhizal assemblages in native plant roots change in the presence of invasive exotic grasses. *Plant and Soil*, 281: 369–380.
89. Heinrichs, R.; Corsi, M.; Filho, C. V.; Benedito. S. C.; Figueiredo, P. A. 2010. Produção e qualidade de forragem de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés adubada com nitrogênio. XXIX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas; XIII Reunião Brasileira sobre Micorrizas e XI Simpósio Brasileiro de Microbiologia

- do Solo; VIII Reunião Brasileira de Biologia do Solo. Centro de Convenções do SESC, Guarapari – ES, Brasil, 13 a 17 de setembro de 2010.
90. Helmke, P. A.; Sparks, D. L. 1996. Boiling nitric acid extraction method. p. 561–562. En: Methods of soil analysis. Chemical methods. Part 3. J. M. Bigham (ed.) Agron. Monogr., 9. SSSA y ASA, Madison, Wi.
 91. Hernández, M.; Cárdenas, M. 1984. Respuesta del buffel (*Cenchrus ciliaris* cv. Biloela) a niveles de NK. Pastos y Forrajes, 7 (3): 369-379.
 92. Hernández Zardón, A. 2005. Informe final sobre la gestión realizada en la República de Bolivia con la empresa Desarrollos Agrícolas S. A. (DESA). Documento del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), diciembre de 2005, 73 p.
 93. Herrera R. A.; Ferrer R. L.; Furrázola E.; Orozco M. O. 1995. Estrategia de funcionamiento de las micorrizas VA en un bosque tropical. Biodiversidad en Iberoamérica. Ecosistemas, Evolución y Procesos Sociales. (Eds. Maximina Monasterio) programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Subprograma XII, Diversidad Biológica, Mérida.
 94. Herrera, R.; Hamel, C.; Fernández, F.; Ferrer, R.; Furrázola, E. 2011. Soil-strain compatibility: the key to effective use of arbuscular mycorrhizal inoculants? Mycorrhiza, 21: 183-193.
 95. Herrera, R. S. 2005. Evaluación de gramíneas. Contribución del Instituto de Ciencia Animal. Rev. Cub. Cienc. Agr., 39 (3): 253-259.
 96. Herzog, F.; Prasuhn, V.; Spiess, E.; Richner, T. 2008. Environmental cross-compliance mitigates nitrogen and phosphorus pollution from Swiss agriculture. Environmental Science and Policy, 11: 655–668.
 97. Hoeksema, J. D.; Bala, V.; Gehring, C. A.; Johnson, N. C.; Karst, J.; Koide, R. T.; Pringle, A.; Zabinski, C.; Bever, J. D.; Moore, J. C.; Wilson, G. W. T.; Klironomos, J. N.; Umbanhowar, J. 2010. A meta-analysis of context-dependency in plant response to inoculation with mycorrhizal fungi. Ecology Letters, 13: 394–407.
 98. Hodge, A., Campbell, C. D., Fitter, A. H. 2001. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires directly from organic material. Nature, 413: 297-299.
 99. Hoffmann, C. R.; Faquin, V.; Guedes, G. A. A. 1995. O nitrogênio e o fósforo no crescimento da braquiária e do colônio em amostras de um Latossolo da região Noroeste do Paraná. R. Bras. Ci. Solo, 19: 79-86.
 100. Ieiri, A. Y.; Lana, R. M.; Korndörfer, G. H.; Pereira, H. S. 2010. Fontes, doses e modos de aplicação de fósforo na recuperação de pastagem com *Brachiaria*. Ciênc. Agrotec., Lavras, 34 (5): 1154-1160.
 101. INSMET. 2010. Boletín Agrometeorológico Nacional. Instituto de Meteorología. CITMA, Cuba. ISSN 1029-2055.
 102. IUSS. 2008. Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. Informe sobre recursos mundiales de suelos. No. 103. FAO, Roma, 117 p.

103. Janos, D. P. 2007, Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. *Mycorrhiza*, 17: 75–91.
104. Johnson, D.; Leake, J. R.; Read, D. J. 2005. Liming and nitrogen fertilization affects phosphatase activities, microbial biomass and mycorrhizal colonisation in upland grassland. *Plant and Soil*, 271: 157–164.
105. Johnson, N. C.; Rowland, D. L.; Corkidi, L. y Allen, E. B. 2008. Plant winners and losers during grassland N-eutrophication differ in biomass allocation and mycorrhizas. *Ecology*, 89 (10): 2868-2878.
106. Johnson, N. C.; Rowland, D. L.; Corkidi, L.; Egerton, L. M.; Allen, E. B. 2003. Nitrogen enrichment alters mycorrhizal allocation at five mesic to semi-arid grasslands. *Ecology*, 84 (7): 1895-1908.
107. Joner, E. J.; Aarle, I. M.; Vosatka, M. 2000. Phosphatase activity of extra-radical arbuscular mycorrhizal hyphae: a review. *Plant and Soil*, 226: 199–210.
108. Juárez-Hernández, J.; Bolaños-Aguilar, E. D.; Aranda, E. M.; Reinoso, M. 2005. Productive and nutritional performance of *Brachiaria brizantha* x *B. ruziziensis* (ruzi grass) in humid tropical conditions. *Cuban J. of Agric. Sci.*, 39 (4): 599-607.
109. Jumpponen, A.; Trowbridge, J.; Mandyam, K.; Johnson, L. 2005. Nitrogen enrichment causes minimal changes in arbuscular mycorrhizal colonization but shifts community composition-evidence from rDNA data. *Biol. Fertil. Soils*, 41: 217-224.
110. Kaminski, J.; Moterle, D.V.; Rheinheimer, D.S.; Gatiboni, L. C.; Brunetto, G. 2010. Potassium availability in a Hapludalf soil under long term fertilization. *R. Bras. Ci. Solo*, 34:783-791.
111. Kanno, T.; Macedo, M. C.; Bono, J.A. 1999. Growth responses of *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk and *Brachiaria brizantha* cv. Marandú to phosphorus supply. *Grassland Sci.*, 45 (1): 1-8.
112. Kanno, T.; Saito, M., Ando, Y., Macedo, M. C. M.; Miranda, C. H. B. 2006. Importance of indigenous arbuscular mycorrhiza for growth and phosphorus uptake in tropical forage grasses growing on an acid, infertile soil from the Brazilian savannas. *Trop. Grass.*, 40: 94-101.
113. Kelemu, S.; Fory, P.; Zuleta, C.; Ricaurte, J.; Rao, I.; Lascano, C. 2011. Detecting bacterial endophytes in tropical grasses of the *Brachiaria* genus and determining their role in improving plant growth. *African J. Biotech.*, 10 (6): 965-976.
114. Kesting J. 1977. Uber nevario engobnisson sur verdesserung der in vitro methoden zurshiihungder varelanrickeit vort ragstegen dar gasells choft fur krnahrungder. DDR Sektion Tratreharung, Leipzig 1: 306.
115. Klauberg-Filho, O.; Siqueira, J. O.; Moreira, F. M. S.; Soarez, C. R. F.; Silva, S. 2005. Ecologia, função e potencial de aplicação de fungos micorrízicos arbusculares em condições de excesso de metais pesados. *Tópicos Ci. Solo*, 4: 85-144.
116. Klironomos, J. N. 2003, Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology*, 84: 2292–2301.

117. Koide, R. T.; Mosse, B. 2004. A history of research on arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 14: 145-163.
118. Lal, R. 2004. Carbon emission from farm operations. *Environ. Intern.*, 30: 981-990.
119. Landis, F. C.; Gargas, A.; Givnish, T. J. 2004. The influence of arbuscular mycorrhizae and light on Wisconsin (USA) sand savanna understories 1: Plant community composition. *Mycorrhiza*, 15: 547-553.
120. Leake, J. R.; Johnson, D.; Donnelly, D. P.; Muckle, G. E.; Boddy, L.; Read, D. J. 2004. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Can. J. Bot.*, 82: 1016–1045.
121. Leigh, J.; Hodge, A.; Fitter, A. H. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. *New Phytol.* 181: 199–207.
122. Lima de, J. J.; da Mata, J. D. V.; Neto, R. P.; Scapim, C. A. 2007. Influência da adubação orgânica nas propriedades químicas de um Latossolo Vermelho distrófico e na produção de matéria seca de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. *Acta Sci. Agron.*, 29: 715-719.
123. Lima, R. L. F. A.; Salcedo, I. H., Fraga, V. S. 2007. Propágulos de fungos micorrízicos arbusculares em solos deficientes em fósforo sob diferentes usos, da região semi-árida no nordeste do Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, 31: 257-268.
124. Lingfei, L.; Zhang, Y.; Zhao, Z. W. 2007. Arbuscular mycorrhizal colonization and spore density across different land-use types in a hot and arid ecosystem, Southwest China. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 170, 419–425.
125. Lingfei, Li.; Anna, Y.; Zhiwei, Z. 2005, Seasonality of arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes in a grassland site in southwest China. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 54: 367–373.
126. López-Pedrosa, A.; González-Guerrero, M.; Valderas, A.; Azcón-Aguilar, C.; Ferrol, N. 2006. *GintAMT1* encodes a functional high-affinity ammonium transporter that is expressed in the extraradical mycelium of *Glomus intraradices*. *Fungal Genet. Biol.*, 43: 102-110.
127. Lovera, M; Cuenca, G. 2007. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y potencial micorrízico del suelo de una sabana natural y una sabana perturbada de la Gran Sabana, Venezuela. *Interciencia*, 32 (2): 108-114.
128. Low-Gaume, A. E. 2009. Morphological, physiological and biochemical adaptation of *Brachiaria* grasses to low phosphorus supply. Dissertation for the degree of Doctor of Sciences. Federal Institute of Technology (ETH), Swiss.
129. Lugo, M. A.; González, M. E.; Cabello, M. N. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi in a mountain grassland II: Seasonal variation of colonization studied, along with its relation to grazing and metabolic host type. *Mycologia*, 95: 407.

130. Macedo, M. C. M. 2004. Adubação fosfatada em pastagens cultivadas com ênfase na região do Cerrado. In: Simpósio sobre Fósforo na Agricultura Brasileira. Yamada, T.; Abdalla, S.R.S. (Eds.). Piracicaba: POTAFOS, p: 359-400.
131. Magalhaes, A. F.; Pires, A. J. V.; Carvalho, G. G. P.; Silva, F. F.; Sousa, R. S.; Veloso, C. M. 2007. Influência do nitrogênio e do fósforo na produção do capim-braquiária. Rev. Brás. Zoot., 36 (5): 1240-1246.
132. Malavolta, E.; Haag, H. P.; Mello, F. A. F.; Brasil Sobrinho, M. C. 1974. Nutrição mineral e adubação de plantas cultivadas, São Paulo, Livraria pioneira, 727 p.
133. Mandyam, K.; Jumpponen, A. 2008. Seasonal and temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal and dark septate endophytic fungi in a tallgrass prairie ecosystem are minimally affected by nitrogen enrichment. Mycorrhiza, 18: 145–155.
134. Mantilla-Paredes, A. J.; Cardona, G. I.; Peña Venegas, C. P.; Murcia, U.; Rodríguez, M.; Zambrano, M. M. 2009. Distribución de bacterias potencialmente fijadoras de nitrógeno y su relación con parámetros fisicoquímicos en suelos con tres coberturas vegetales en el sur de la Amazonia colombiana. Rev. Biol. Trop., 57 (4): 915-927.
135. Maranhão, C. M. A. 2008. Características produtivas, morfogênicas e estruturais do capim-braquiária submetido a intervalos de cortes e adubação nitrogenada. Tese para obtenção do título de Mestre em Zootecnia. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. 61 p.
136. Marschner, H.; Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil, 159: 89-102.
137. Martha Jr, G. B.; Vilela, L. 2002. Pastagem no Cerrado: baixa produtividade pelo uso limitado de fertilizantes / Geraldo Bueno, Martha Junior, Lourival Vilela. Planaltina: EMBRAPA Cerrados, Documentos EMBRAPA Cerrados, ISSN 1517-5111; 50, 32 p.
138. Martha Jr., G. B.; Corsi, M.; Trivelin, P. C. O.; Vilela, L. R. 2009. Recuperação de ¹⁵N-ureia no sistema solo-planta de pastagem de capim-tanzânia. R. Bras. Ci. Solo, 33: 95-101.
139. Martha Jr., G.B. 2003. Produção de forragem e transformações do nitrogênio do fertilizante em pastagem irrigada de capim-tanzânia. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 149 p.
140. Martha Jr., G. B.; Vilela, L. 2008. Eficiência de uso de fertilizantes na integração lavoura-pecuária no Cerrado. R. Política Agríc., 17: 92-93.
141. Martín, G. 2009. Manejo de la inoculación micorrízica arbuscular, la *Canavalia ensiformis* y la fertilización nitrogenada en plantas de maíz (*Zea mays*) cultivadas sobre suelos Ferralíticos Rojos de La Habana. Tesis de grado (Dr. En Ciencias Agrícolas), INCA, La Habana, 105 p.
142. Martínez, D.; Hernández, A.; Enríquez, J. F.; Pérez, J.; González, S. S.; Herrera, J. G. 2008. Producción de forraje y componentes del rendimiento del pasto *Brachiaria*

humidicola CIAT 6133 con diferente manejo de la defoliación. *Téc. Pecu. Méx.*, 46 (4): 427-438.

143. Mathimaran, N.; Ruh, R.; Vullioud, P.; Frossard, E.; Jansa, J. 2005. *Glomus intraradices* dominates arbuscular mycorrhizal communities in a heavy textured agricultural soil. *Micorriza*, 16: 61–66.
144. Mattos, W. T.; M Monteiro, F. A. 1998. Resposta de *Braquiaria brizantha* a doses de potássio. *Scientia Agrícola*, 55 (3): 428-437.
145. Mechri, B.; Mariem, F. B.; Baham, M.; Elhadj, S. B.; Hammami, M. 2008. Change in soil properties and the soil microbial community following land spreading of olive mill wastewater affects olive trees key physiological parameters and the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.*, 40: 152–161.
146. Mello, S. Q. S.; França, A. F. S.; Lanna, A. C.; Bergamaschine, A. F.; Klimann, H. J.; Rios, L. C.; Soares, T. V. 2008. Adubação nitrogenada em capim-mombaça: produção, eficiência de conversão e recuperação aparente do nitrogênio. *Ciência Animal Brasileira*, 9 (4): 935-947.
147. Mesa, A.; Naranjo, M.; Cancio, R.; Martí, A.; Clemente, B.; Suárez, O.; Pacheco, E. 1984. Manual de interpretación de los índices físico-químicos y morfológicos de los suelos cubanos. 2^{da} Ed. Ed. Pueblo y Educación, Ciudad de La Habana, Cuba, 101 p.
148. Mesquita, E. E.; Fonseca, D. M.; Nascimento Jr, D.; Pereira, O. G.; Pinto, J. C. 2002. Efeitos de métodos de estabelecimento de braquiária e estilosantes e de doses de calcário, fósforo e gesso sobre alguns componentes nutricionais da forragem. *R. Bras. Zootec.*, 31 (6): 2186-2196.
149. Mesquita, E. E.; Pinto, J. C.; Furtini, A. E.; dos Santos, I. P. A.; Tavares, V. B. 2004. Teores Críticos de Fósforo em Três Solos para o Estabelecimento de Capim-Mombaça, Capim-Marandu e Capim-Andropogon em Vasos. *R. Bras. Zootec.*, 33 (2): 290-301.
150. Millaleo, R.; E Montecinos, C.; Rubio, R.; Contreras, A.; Borie, F. 2006. Efecto de la adición de compost sobre propágulos micorrícicos arbusculares en un suelo volcánico del centro sur de Chile. *Rev. Cienc. Suelo y Nutr. Veg.*, 6 (3): 26-39
151. Miller, R. M.; Reinhardt, D. R.; Jastrow, J. D. 1995. External hyphal production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in pasture and tallgrass prairie communities. *Oecologia*, 103: 17-23.
152. MINAG. 1999. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. La Habana. Agrinfor. 64 p.
153. MINAG. 2007. Precios de los fertilizantes. La Habana. Ministerio de la Agricultura. Cuba.
154. MINAG. 2005. Programa para la reconstrucción de la masa ganadera. Síntesis del informe "Análisis integral de la situación actual y perspectiva del desarrollo de la ganadería vacuna en el país". Ministerio de la Agricultura. Cuba. 16 p.

155. MINAG, 2005. Programa para la reconstrucción de la masa ganadera. Síntesis del informe "Análisis integral de la situación actual y perspectiva del desarrollo de la ganadería vacuna en el país". Ministerio de la Agricultura. Cuba. 16 p.
156. Miranda de, E. M.; Saggin, J. O.; da Silva, E. M. R. 2008. Seleção de fungos micorrízicos arbusculares para o amendoim forrageiro consorciado com braquiária. *Pesq. Agropec. Bras.*, 43: 1185-1191.
157. Miranda, J. C. C.; Vilela, L.; Miranda, L. N. 2005. Dinâmica e contribuição da micorriza arbuscular em sistemas de produção com rotação de culturas. *Pesq. Agrop. Bras.*, 40: 1005-1014.
158. Montaña, N. M.; Camargo-Ricalde, S. L.; García-Sánchez, R.; Monroy, A. 2007. Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos (Arbuscular mycorrhizae in arid and semiarid ecosystems). Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundi-Prensa SA de CV, UAM-Iztapalapa, FES Zaragoza, UNAM. Distrito Federal, México. 460 pp.
159. Monteiro, F. A. 1995. Nutrição mineral e adubação. In: Simpósio sobre Manejo de Pastagem, 12. Piracicaba, Anais. Piracicaba: FEALQ, 1995, p: 219-244.
160. Moreira, L. M.; Fonseca, D. M.; Martuscello, J. A.; Nóbrega, E. B. 2006. Absorção e níveis críticos de fósforo na parte aérea para manutenção da produtividade do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Napier). *Ciência e Agrotecnologia*, 30 (6): 1170-1176.
161. Moreira, L. M.; Martuscello, J. A.; Fonseca, D. M.; Mistura, C.; de Moraes, R. V.; Ribeiro Jr, J. I. R. 2009. Perfilhamento, acúmulo de forragem e composição bromatológica do capim-braquiária adubado com nitrogênio. *R. Bras. Zootec.*, 38 (9): 1675-1684.
162. Muthukumar, T.; Udaiyan; K. 2002. Growth and yield of cowpea as influenced by changes in arbuscular mycorrhiza in response to organic manuring. *J. Agron. Crop Sci.*, 188: 123–132.
163. Nanamori, M.; Shinano, T.; Wasaki, J.; Yamamura, T.; Rao, I. M.; Osaki, M. 2004. Low phosphorus tolerance mechanisms: phosphorus recycling and photosynthate partitioning in the tropical forage grass, *Brachiaria* hybrid cultivar Mulato compared with rice. *Plant and Cell Physiol.*, 45 (4): 460-469.
164. NC 51. 1999. Determinación del por ciento de materia orgánica. Comité Técnico de Normalización. No. 3. Calidad del suelo. Análisis químico. La Habana: Oficina Nacional de Normalización.
165. NC 52. 1999. Determinación de las formas móviles de fósforo y potasio. Comité Técnico de Normalización. No. 3. Calidad del suelo. Análisis químico. La Habana: Oficina Nacional de Normalización.

166. NC 65. 2000. Determinación de la capacidad de intercambio catiónico y de los cationes intercambiables del suelo. Comité Técnico de Normalización. No. 3. Calidad del suelo. Análisis químico. La Habana: Oficina Nacional de Normalización.
167. NC ISO 10390. 1999. Determinación de pH. Comité Técnico de Normalización. No. 3. Calidad del suelo. Análisis químico. La Habana: Oficina Nacional de Normalización.
168. Neto, G. B.; Reis, R. A.; Ruggieri, A. C. 2009. Impacts of limestone and nitrogen top dressing application on the potassium content in the soil profile and marandu-grass leaf concentration. R. Bras. Zootec., 38, (7): 1170-1175.
169. Neyra C. A. ; Döbereiner J. 1977. Nitrogen fixation in grasses. Adv. Agron., 29: 1–38.
170. Ngosong, C.; Jarosch, M.; Raupp, J.; Neumann, E.; Ruess, L. 2010. The impact of farming practice on soil microorganisms and arbuscular mycorrhizal fungi. Appl. Soil Ecol., 46: 134–142.
171. Oehl, F.; Laczko, E.; Bogenrieder, A.; Stahr, K.; van der Heijden, R. M.; Sieverding, E. 2010. Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. Soil Biol. Biochem., 42: 724-738.
172. Oehl, F.; Sieverding, E.; Mäder, P.; Ineichen, K.; Boller, T.; Wiemken, A. 2004. Impact of long term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. Oecologia, 138 (4): 574-583.
173. Ojeda, L. 1998. Efecto de micorrizas vesículo arbusculares del género *Glomus* en la producción de leguminosas forrajeras de la cuenca pecuaria El Tablón. Tesis de grado (Dr. En Ciencias Agrícolas), Instituto de Suelos, La Habana, 105 p.
174. Oliveira de, A. N.; L. A. de Oliveira. 2005. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in plants of *Theobroma grandiflorum* Schum and *Paullinia cupana* Mart of an agroforestry system in Central Amazonia, Amazonas State, Brazil. Braz. J. Microbiol., 36: 262–270.
175. Oliveira, I. P.; Castro, C. G. F.; Moreira, F. P.; Paixão, V. V.; Custódio, D. P.; Santos, R. S M.; Faria, C. D.; Costa, K. A. P. 2000. Efeitos qualitativo e quantitativo da aplicação de fósforo no capim-tanzânia. Pesq. Agrop. Trop., 30: 37-41.
176. Oliveira, P. P. A., Trivelin, P. C. O. e Oliveira, W. S. 2003. Eficiência da fertilização nitrogenada com uréia (^{15}N) em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu associada ao parcelamento de superfosfato simples e cloreto de potássio. R. Bras. Ci. Solo, 27 (4). 613-620.
177. Oliveira, P. P. A., Trivelin, P. C. O.; Oliveira, W. S. 2005. Fertilização com N e S na recuperação de pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú. R. Bras. Zootec., 34 (4) 4: 1121-1129.
178. Olivera, Y.; Machado, R. 2004. Evaluación de especies del genero *Brachiaria* en suelos acidos e infértiles durante la época de mínima precipitación. Pastos y Forrajes. 27 (3): 225.

179. Olivera, Y.; Machado, R.; del Pozo, P. P.; Ramírez, J.; Cerero, B. 2007. Evaluación de accesiones de *Brachiaria brizantha* en suelos ácidos. Época de máximas precipitaciones. Pastos y Forrajes, 30 (3): 303-313.
180. Padilla, C; Sardiñas, Y. 2005. Degradación y recuperación de los pastizales. Rev. Cub. Cienc. Agric., 39: 515-521.
181. Paneque, V.M.; Calaña, J. M. 2001. La fertilización de los cultivos. Aspectos teórico-prácticos para su recomendación. Folleto impreso. INCA. 25 p.
182. Paneque, V. M.; Calaña, J. M.; Calderón, M.; Borges, Y.; Hernández, T.; Caruncho, M. 2010. Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos. Ediciones INCA, San José de las Lajas, La Habana, Cuba, 160 p. Disponible en:<ftp://intranet.inca.edu.cu/revista/folletos/folleto_suelos.pdf>. Acceso en: 21 may. 2011
183. Pelletier, Sophie; Bélanger, G.; Tremblay, G. F.; Brégar, A.; Allard, G. 2006. Dietary cation-anion difference of timothy as affected by development stage and nitrogen and phosphorus fertilization. Agron. J., 98: 774-780.
184. Peña-Venegas; C. P.; Cardona, G. I.; Arguelles, J. H.; Arcos, A. L. 2007. Micorrizas arbusculares del sur de la Amazonia Colombiana y su relación con algunos factores fisicoquímicos y biológicos del suelo. Acta Amazónica, 37 (3): 327 - 336
185. Peralta, M. A. 2004. Boletín informativo (*Brachiaria*: potencial y oportunidades de mejoramiento. Iguala, Guerrero, p: 4-22.
186. Pérez, E. 2010. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA) para la bioprotección de patógenos en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Tesis de grado (Dr. en Ciencias Biológicas), Facultad de Biología, Universidad de La Habana. INCA. 100 p.
187. Phillips, D. M.; Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc., 55. 158-161.
188. Phoenix, G. K.; Johnson, D.; Grime, J. P.; Booth, R. E. 2008. Sustaining ecosystem services in ancient limestone grassland: importance of major component plants and community composition. Journal of Ecology 96: 894-902.
189. Pizarro, E. A.; do Valle, C. B.; Keller-Grein; Schultze-Kraft, R.; Zimmer, A. H. 1996. In: Miles, J. W.; Maass, B. L.; Valle, C. B.; Kumble, V. (Eds.). *Brachiaria*: Biology, agronomy, and improvement. CIAT, Cali, Colombia; EMBRAPA, Campo Grande, Brasil.
190. Posada, R. H.; Franco, L. A.; Ramos, C.; Plazas, L. S.; Suárez, J. C. ; Alvarez, F. 2008. Effect of physical, chemical and environmental characteristics on arbuscular mycorrhizal fungi in *Brachiaria decumbens* (Stapf) pastures. J. Appl. Microb., 104: 132.

191. Prado, R. M. 2010. Manual de nutrição de plantas forrageiras. Disponível em: http://www.nutricaoodeplantas.agr.br/site/downloads/sumula_livro_nutricaooforrageira.pdf Acesso em: 2 oct. 2011.
192. Primavesi, A. C.; Primavesi, O.; Corrêa, L. A.; Cantarella, H.; Silva, A. G. 2005. Absorção de cátions e ânions pelo capim-coastcross adubado com ureia e nitrato de amônio. *Pesq. Agropec. Bras.*, 40: 247-253.
193. Primavesi, A. C.; Primavesi, O.; Corrêa, L. A.; Silva, A. G.; Cantarella, H. 2006. Nutrientes na fitomassa de capim-marandu em função de fontes e doses de nitrogênio. *Ciência e Agrotecnologia*, 30 (3): 562-568.
194. Quadros, D. G.; Rodrigues, L. R. A.; A.; Favoretto, V.; Malheiros, E. V.; Herling, V. R.; Ramos, A. K. B. 2002. Componentes da produção de forragem em pastagens dos capins Tanzânia e Mombaça adubadas com quatro doses de NPK. *R. Bras. Zootec.*, 31 (3): 1333-1342.
195. Ramírez, J. L.; Herrera, R. S.; Verdecia, I. L.; Alvarez, Y. 2010. Rendimiento de materia seca y calidad nutritiva del pasto *Brachiaria brizantha* x *Brachairia ruziziensis* vc. Mulato en el Valle del Cauto, Cuba. *Revista Cub. Cienc. Agríc.*, 44 (1): 65-72.
196. Read, D. J.; Pérez-Moreno, J. 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems. *New Phytol.*, 157: 475-492.
197. Reis Jr., F. B.; Silva, M. F.; Teixeira, K. R. S. 2004. Identificação de isolados de *Azospirillum amazonense* associados a *Brachiaria* spp., em diferentes épocas e condições de cultivo e produção de fitormônio pela bactéria. *R. Bras. Ci. Solo*, 28: 103-113.
198. Reis Jr., F. B.; Teixeira, K. R. S.; Reis, V. M. 2002. Fixação biológica de nitrogênio associada a pastagem de braquiária e outras gramíneas forrageiras. Documentos/ Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111; No. 52, 27 p.
199. Renvoize, S. A.; Clayton, W. D. and Kabuye, C. H. S. 1996. In: Miles, J. W.; Maass, B. L.; Valle, C. B.; Kumble, V. (Eds.). *Brachiaria: Biology, agronomy, and improvement*. CIAT, EMBRAPA, CNPGC, CIAT publication No. 259, p. 164-177.
200. Requena, N.; Breuninger, M.; Franken, P.; Ocon, A. 2003. Symbiotic status, phosphate and sucrose regulate the expression of two plasma membrane H⁺-ATPase genes from the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Plant Physiol.*, 132: 1540-1549.
201. Reynolds, H. L.; Hartley, A. E.; Vogelsang, K. M.; Bever, J. D.; Schultz, P. A. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi do not enhance nitrogen acquisition and growth of old-field perennials under low nitrogen supply in glasshouse culture. *New Phytol.*, 167: 869-880.
202. Richardson, A. E.; Barea, J. M.; Mc Neill, A. M.; Prigent-Combare, C. 2009 a. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil*, 321:305-339.

203. Richardson, A. E.; Hocking, P. J.; Simpson, R. J.; George, T. S. 2009 b. Plant mechanisms to optimise access to soil phosphorus. *Crop & Pasture Science*, 60, 124–143.
204. Richardson, A. E.; Lynch, J. P.; Ryan, P. R.; Delhaize, E.; Smith, A.; Smith, S. E.; Harvey, P. R.; Ryan, M. H.; Veneklaas, E. J.; Lambers, H.; Oberson, A.; Culvenor, R.; Simpson, R, J. 2011. Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. *Plant and Soil*, 349:121–156.
205. Rillig, M.C. 2004. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. *Ecology Letters*, 7: 740-754.
206. Rivera, R.; Fernández, F.; Fernández, K.; Ruiz, L.; Sánchez, C.; Riera, M. 2007. Advances in the management of effective arbuscular mycorrhizal symbiosis in tropical ecosystems. Pages 151-196 In: *Mycorrhizae in Crop Production* (eds.) Chantal Hamel y Christian Plenchette. Haworth Press, Binghamton, N. Y. Hard Cover ISBN: 978-1-56022-306-1; Soft Cover ISBN: 978-1-56022-307-8.
207. Rivera, R.; Fernández, K. 2003; Bases científico-técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados. En: Rivera, R. /et al./. *El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe*. La Habana: 49- 94.
208. Roche, R.; Menéndez, J.; Hernández, J. E. 1990. Características morfológicas indispensables para la clasificación de especies del genero *Brachiaria*. *Pastos y Forrajes*. 18 (13): 105.
209. Rodríguez Y.; Dalpé Y.; Séguin S.; Fernández K.; Fernández F.; Rivera, R. A. 2011. *Glomus cubense* sp. nov., an arbuscular mycorrhizal fungus from Cuba. *Mycotaxon*, 118: 337-347.
210. Rosolem, C. A.; Vicentini, J. P.; Steiner, F. 2012. Suprimento de potássio em função da adubação potássica residual em um Latossolo Vermelho do Cerrado. *R. Bras. Ci. Solo*, 36: 1507-1515.
211. Ruiz, L. 2001. Efectividad de las asociaciones micorrízicas en especies vegetales de raíces y tubérculos en suelos Pardos con Carbonatos y Ferralíticos Rojos de la región central de Cuba. Tesis de grado (Dr. En Ciencias Agrícolas), INCA, La Habana, 117 p.
212. Ryan, M. H.; Mc Cully, M. E.; Huang, C. X. 2003. Location and quantification of phosphorus and other elements in fully hydrated, soil-grown arbuscular mycorrhizas: a cryo-analytical scanning electron microscopy study. *New Phytol.*, 160:429–441.
213. Saif, S. R. 1987 Growth responses of tropical plant species to vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. Growth, mineral uptake and mycorrhizal dependency. *Plant and Soil*. 97: 25-35.
214. Saito, K.; Sugawara, K. 2010. Seasonal variation of arbuscular mycorrhizal fungal colonization for coexisting plant species in *Miscanthus*-type semi-natural grassland. *JIFS*, 7: 29-35.

215. Sánchez, C. 2001. Uso y Manejo de hongos micorrizógenos y abonos verdes en la producción de posturas de cafeto en algunos suelos del macizo de Guamuhaya. Tesis de grado (Dr. En Ciencias Agrícolas), INCA, La Habana, 105 p.
216. Santos dos, M. C. M. 2009. Ocorrência de bactérias diazotróficas em gramíneas forrageiras na microrregião de Patos – PB. Disertación (Maestría en Zootecnia), Universidad Federal de Campina Grande, 54 p.
217. Santos, J. C.; Finlay, R. D.; Tehler, A. 2007. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities in roots in a seminatural grassland. *Appl. Environm. Microb.*, 73 (17): 5613-5623.
218. Santos Jr, J. D. G.; Monteiro, F. A.; Macedo, M. C. M. 2006. Sensibilidade de índices dris em folhas diagnósticas de capim-tanzânia ao tempo de rebrotação da pastagem. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 27. Resumos. Viçosa: SBCS/Embrapa Agropecuária Oeste.
219. Santos, Í. P. A.; Pinto, J. C.; Siqueira, J. O.; Morais, A. R.; Santos, C. L. 2002. Influência do fósforo, micorriza e nitrogênio no conteúdo de minerais de *Brachiaria brizantha* e *Arachis pintoi* consorciados. *R. Brás. Zootec.*, 31 (2): 605 – 616.
220. Santos, M. E. R.; da Fonseca, D. M.; Balbino, E. M.; Monnerat, J. P. I. S.; da Silva, S. P. 2009. Capim-braquiária diferido e adubado com nitrogênio: produção e características da forragem. *R. Bras. Zootec.*, 38 (4): 650-656.
221. Santos-González, J. C. 2007. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in grasslands and arable fields. Ecological factors related to community composition and dynamics. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
222. Scaramuzza, W. L.; Rodrigues, R. C.; Monteiro, F. A. 2007. Características produtivas e fisiológicas do capim-mombaça submetido a doses de potássio. *Boletim da Indústria animal*, 64 (3): 213-220.
223. Schunke, R. M. 2001. Interações entre a adubação de pastagens e a suplementação mineral de bovinos. Campo Grande: EMBRAPA Gado de Corte. (Documentos, 110).
224. Shüßler, A.; Walker, C. 2010. The *Glomeromycota*: a species list with new families and new genera. Gloucester: The Royal Botanic Garden Edinburgh, The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University. 58 p.
225. Siddiqui, Z. A.; Sayeed, M.; Futai, K. *Mycorrhizae: sustainable agriculture and forestry*. 2008. Ed: Springer Science + Business Media B. V., 359 p. ISBN: 978-1-4020-8769-1.
226. Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Deutsche Gesellschaft fur Technisch Zusammenarbeit. Eschborn. 371 p.
227. Sigüenza, C.; Corkidi, L.; Allen, E. B. 2006. Feedbacks of soil inoculum of mycorrhizal fungi altered by N deposition on the growth of a native shrub and an invasive annual grass. *Plant and Soil*, 286:153–165.

228. Silva da, D. K. A.; da Silva, F. S. B.; Yano-Melo, A. M.; Maia, L. C. 2008. Uso de vermicomposto favorece o crescimento de mudas de gravioleira (*Annona muricata* L. 'Morada') associadas a fungos micorrízicos arbusculares. *Acta Bot. Bras.*, 22 (3): 863-869.
229. Silva da, M. C. P. 2010. Seleção de estirpes eficientes para fixação biológica de nitrogênio e promoção de crescimento em plantas da espécie *Brachiaria brizantha*. Tesis de Maestría em Agronomia. Área de concentración: Microbiologia Agrícola. Universidad de São Paulo, Piracicaba, 79 p.
230. Simonsson, M.; Hillier, S.; Öborn, I. 2009. Changes in clay minerals and potassium fixation capacity as a result of release and fixation of potassium in long term field experiments. *Geoderma*, 151: 109-120.
231. Siqueira, J. O.; Franco, A. A. 1988. Biotecnología do solo. Fundamento e perspectivas. Brasília: MEC – Ministerio de Educação, ABEAS; Lavras: ESAL, FAEPE. 236 p.
232. Smith, S. E.; Read, D. J. 2008. Mycorrhizal symbiosis. San Diego, CA, USA: Academic Press.
233. Soares, W.V.; Lobato, E.; Souza, D. M. G.; Vilela, L. 2001. Adubação fosfatada para manutenção de pastagem de *Brachiaria decumbens* no Cerrado. Planaltina: EMBRAPA Cerrados. Comunicado Técnico, 53. 5 p.
234. Souza de, M. R. F.; Pinto, J. C.; de Olivaira, I. P.; Muniz, J. A.; Rocha, G. P.; Evangelista, A. R. 2007. Produção de forragem do capim-tanzânia sob intervalos de corte e doses de potássio. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, 31 (5): 1532-1536.
235. Souza de, M. R. F.; Faquin, V.; Sobrinho, R. R. L.; de Olivewira, E. A. B. 2010. Influência de esterco bovino e calcário sobre o efeito residual da adubação fosfatada para a *Brachiaria brizantha* cultivada após o feijoeiro. *R. Bras. Ci. Solo*, 34: 143-150.
236. SPSS. 2002. Statistical software, version 11.5.1. SPSS Institute. Chicago, Illinois.
237. Staddon, P. L.; Ramsey, C. B.; Ostle, N.; Ineson, P.; Fitter, A. H. 2003. Rapid turnover of hyphae of mycorrhizal fungi determined by AMS microanalysis of ¹⁴C. *Science*, 300: 1138–1140.
238. Tajini, F.; Drevon, J. J. 2012. Effect of arbuscular mycorrhizas on P use efficiency for growth and N₂ fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Scientific Research and Essays*, 7 (16): 1681-1689.
239. Tchabi, A.; Coyne, D.; Hountondji, F.; Lawouin, L.; Wiemken, A.; Oehl, F. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungal communities in sub-Saharan savannas of Benin, West Africa, as affected by agricultural land use intensity and ecological zone. *Mycorrhiza*, 18: 181-195.
240. Thornton, B.; Millard, B. P.; Bausenwein, U. 2000. Reserve formation and recycling of carbon and nitrogen during regrowth of defoliated plants. Pág: 85-99. En: G. Lemaire, G.; Hodgson, J.; de Moraes, A.; Nabinger, C. (Ed.). *Grassland ecophysiology and grazing ecology*. CAB International. ISBN 0-85199-452-0

241. Toro, M.; Azcon, R.; Barea, J.M. 1997. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (^{32}P) and nutrient cycling. *Appl. Environm. Microb.*, 63: 4408-4412.
242. Torteli, G.T. 2006. Avaliação agronômica de doses e fontes de fósforo para *Urochloa brizantha* (Stapf) webster cv. Marandú. Jaboticabal. (Trabalho de Graduação) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 42 p.
243. Toussaint, J. P.; St-Arnaud, M.; Charest, C. 2004. Nitrogen transfer and assimilation between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck & Smith and Ri T-DNA roots of *Daucus carota* L. in an in vitro compartmented system. *Can. J. Microb.*, 50: 251–260.
244. Trouvelot, A.; Kough, J.; Gianinazzi-Pearson, V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Proc. 1st Eur. Symp. on Mycorrhizae: Physiological and genetical aspects of mycorrhizae, Dijón. INRA, Paris.
245. Uhlmann, E.; Gorke, C.; Petersen, A.; Oberwinkler, F. 2004. Arbuscular mycorrhizae from semiarid regions of Namibia. *Can. J. Bot.*, 82 (5): 645-653.
246. Van Der Heijden, M. G. A. 2010. Mycorrhizal fungi reduce nutrient loss from model grassland ecosystems. *Ecology*, 91(4): 1163–1171.
247. Van Soest, P. J.; Robertson, J. B.; Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and no starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74: 3583-3597.
248. Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant: plant, animal and environment. 2 ed. New York: Cornell University, 476 p.
249. Vázquez, E. R. 2011. Contribución al tratamiento estadístico de datos con distribución binomial en el modelo de análisis de varianza. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Mayabeque, INCA, 97 p.
250. Vierheilig, H. 2004. Regulatory mechanisms during the plant-arbuscular mycorrhizal fungus interaction. *Can. J. Bot.*, 82:1 166-1176.
251. Wakelin, S.; Mander, C.; Gerarda, E.; Jansab, J.; Erbb, A.; Young, S. Condron, L.; O'Callaghan, M. 2012. Response of soil microbial communities to contrasted histories of phosphorus fertilisation in pastures. *Appl. Soil Ecol.*, 61: 40– 48.
252. Walling, S.; Zabinski, C. A. 2006. Defoliation effects on arbuscular mycorrhizae and plant growth of two native bunchgrasses and an invasive forb. *Appl. Soil Ecol.*, 32: 111–117.
253. Watanabe, T.; Osaki, M.; Yano, O.; Rao, I. M. 2006. Internal mechanisms of plant adaptation to aluminum toxicity and phosphorus starvation in three tropical forages. *J. Plant Nut.* 29 (7): 1243-1255.
254. Waugh, D. L.; Cate Jr., R. B.; Nelson, L. A. 1972. Modelos discontinuos para una rápida correlación, interpretación y utilización de los datos de análisis de suelo y las

respuestas a los fertilizantes. Boletín Técnico (7). Proyecto Internacional de Evaluación y Mejoramiento de la Fertilidad del Suelo. North Carolina State University. 106 p.

255. Wells, C. 2001. Total energy indicators of agricultural sustainability: Dairy farming case study. Wellington, University of Otago, 81p. (Technical Paper 2001/3).
256. Werner, J.C. 1986. Adubação de pastagens. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1986. 49 p. (IZ, Boletim Técnico, 18).
257. Wilberforce, E. M.; Boddy, L.; Griffiths, R.; Griffith, G. W. 2003. Agricultural management affects communities of culturable root-endophytic fungi in temperate grasslands. *Soil Biol. Biochem.*, 35: 1143–1154.
258. Yang, C.; Hamel, C.; Schellenberg, M. P.; Pérez, J. C.; Berbara, R. 2010. Diversity and functionality of arbuscular mycorrhizal fungi in three plant communities in semiarid grasslands National Park, Canada. *Microb. Ecol.*, 59: 724–733.
259. Yao, Q.; Zhu, H. H.; Hu, Y. L.; Li, L. Q. 2008. Differential influence of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi on growth of dominant and subordinate plants. *Plant Ecol.* 196: 261-268.
260. Zhang, B.; Tillman, R. 2007. A decision tree approach to modelling nitrogen fertiliser use efficiency in New Zealand pastures. *Plant. Soil.* DOI 10.1007/s11104-007-9445-8

Anexo 1. Descripción de los perfiles de suelo

No. Perfil: P-1

Fecha: 20-1-09

Clasificación: Ferralítico Rojo Lixiviado típico, éutrico.

Diagnósticos:

Proceso de formación: ferralitización

Horizontes de diagnóstico: horizonte principal ferralítico

Características de diagnóstico: características de color rojo

Localización: Estación Experimental de Pastos y Forrajes de la EPG Niña Bonita.

Coordenadas: N: 358700; E: 345500

Municipio: Bauta

Provincia: Artemisa

Factores de formación:

1. Forma del Terreno

1.1. Posición fisiográfica del lugar: llano

1.2. Topografía del terreno circundante: llano

1.3. Microrrelieve: no hay

2. Pendiente donde se tomó el perfil: menos de 2%

3. Vegetación o uso de la tierra: pastos

4. Material de origen: roca caliza dura

5. Tiempo: cuaternario medio

6. Drenaje: superficial: bueno; Interno: bueno



Descripción

Horizonte	Profundidad (cm)	Descripción
A ₁₁	0 – 7	Color pardo rojizo, arcilloso, estructura granular, friable, ligeramente húmedo, muy poroso, con poros medianos y finos, con muchas raíces finas sin reacción al HCl, transición neta.
A ₁₂	7 – 20	Color pardo rojizo, arcilloso, estructura de bloques subangulares, compactado, ligeramente húmedo, medianamente poroso, con poros finos, mediana cantidad de raíces, con pequeños cutanes, presencia de algunas lombrices, sin reacción al HCl, transición algo notable.
B _{1t}	20 – 50	Color rojo, un poco mas arcilloso, estructura de bloques subangulares, compactado, medianamente poroso, con poros finos, ligeramente húmedo, con muchos cutanes, presencia de lombrices, escasas raíces, sin reacción al HCl, transición algo notable.
B _{2t}	50 – 106	Color rojo, arcilloso, estructura de bloques subangulares menos desarrollada, ligeramente compactado, ligeramente húmedo, muy poroso, con poros finos y algunos grandes, con cutanes, escasas raíces finas, sin reacción al HCl, transición gradual.
B ₃	106 - 143	Color rojo, un poco menos arcilloso, estructura de bloques angulares, menos desarrollada, friable, ligeramente húmedo, con muchos poros finos, muy pocas raíces, con muchos puntos brillantes al parecer de cristales y gravas pequeñas de color oscuro, sin reacción al HCl.

Composición mecánica y factor de dispersión del suelo

Horizonte	Profundidad (cm)	Arena gruesa %	Arena fina %	Limo grueso %	Limo fino %	Arcilla %	Arcilla microagregados %	Factor de dispersión
A ₁₁	0 – 7	7	10	10	8	65	16	24.6
A ₁₂	7 – 20	9	8	8	6	70	21	30.0
B _{1t}	20 – 50	9	4	6	2	85	23	27.1
B _{2t}	50 – 106	9	4	2	2	83	22	26.5

No. Perfil: P-2

Fecha: 20-1-09

Clasificación: Ferralítico Rojo Lixiviado típico, éutrico.

Diagnósticos:

Proceso de formación: ferralitización

Horizontes de diagnóstico: horizonte principal ferralítico

Características de diagnóstico: características de color rojo

Localización: Unidad de producción de Forraje Chirigota.

Municipio: Bauta

Provincia: Artemisa

Factores de formación

1. Forma del Terreno
 - 1.1. Posición fisiográfica del lugar: llano
 - 1.2. Topografía del terreno circundante: llano
 - 1.3. Microrrelieve: no hay
2. Pendiente donde se tomó el perfil: menos de 2%
3. Vegetación o uso de la tierra: pastos
4. Material de origen: roca caliza dura
5. Tiempo: cuaternario medio
6. Drenaje: superficial: bueno; interno: bueno



Descripción

Horizonte	Profundidad (cm)	Descripción
A	0 – 20	Color pardo rojizo, arcilloso, estructura nuciforme y granular en subestructura de bloques subangulares, friable, ligeramente húmedo, muy poroso, con muchas raíces, sin reacción al HCl, transición gradual.
AB	20 – 32	Color pardo rojizo, arcilloso, estructura igual al del horizonte anterior, friable, ligeramente húmedo, poroso, un poco menos de raíces, sin reacción al HCl, transición un poco notable.
B _{1t}	32 – 47	Color rojo a rojo pardusco, arcilloso, estructura de bloques subangulares, compactado, con mediana cantidad de poros medianos, seco a ligeramente húmedo, con cutanes, con pocas raíces, sin reacción al HCl, transición gradual.
B _{2t}	47 – 84	Color rojo, arcilloso, estructura de bloques subangulares, compacto, seco a ligeramente húmedo, con muchos poros finos, con menos raíces, sin reacción al HCl.
B ₃	84 – 130	Color rojo, arcilloso, estructura de bloques angulares, compactado, seco a ligeramente húmedo, con muchos poros finos, escasas raíces, sin reacción al HCl.

Composición mecánica y factor de dispersión del suelo

Horizonte	Profundidad (cm)	Arena gruesa %	Arena fina %	Limo grueso %	Limo fino %	Arcilla %	Arcilla microagregados %	Factor de dispersión
A	0 – 20	6	5	6	6	77	14	18.2
AB	20 – 32	5	8	6	6	75	13	17.3
B _{1t}	32 – 47	5	3	3	2	87	18	20.7
B _{2t}	47 – 84	6	4	6	3	81	19	23.5

No. Perfil: P-3

Fecha: 20-1-09

Clasificación: Vertisol Pélico Gleyzoso Carbonatado.

Diagnósticos:

Proceso de formación: Gleyzación, vertisolización

Horizontes de diagnóstico: horizonte principal vértico

Horizonte normal: mullido

Características de diagnóstico: propiedades gléyicas a menos de 50 cm de profundidad.

Localización: Unidad de producción de Forraje Encarnación.

Municipio: Bauta

Provincia: Artemisa

Coordenadas: N: 352800; E: 339700

Factores de formación

1. Forma del Terreno

1.1. Posición fisiográfica del lugar: llano

1.2. Topografía del terreno circundante: llano

1.3. Microrrelieve: algunas microdepresiones

2. Pendiente donde se tomó el perfil: menos de 2%.

3. Vegetación o uso de la tierra: pastos

4. Material de origen: materiales transportados (deluvio) sobre caliza margosa

5. Drenaje: superficial: deficiente; interno: deficiente.



Descripción		
Horizonte	Profundidad (cm)	Descripción
A ₁₁ mk	0 – 17	Color pardo amarillento oscuro, arcilloso, estructura de bloques subangulares pequeños que se desmenuzan en granular, ligeramente compactado, ligeramente húmedo, poroso, con muchas raíces, algunos nódulos ferruginosos duros y redondeados, gravas muy pequeñas de color blanco, reacciona al HCl, transición gradual.
A ₁₂ mk	17 – 33	Color pardo amarillento oscuro, arcilloso, estructura de bloques subangulares de mayor tamaño que se desmenuza en nuciforme y granular, compactado, medianamente húmedo, poroso, con algunos cutanes pequeños de presión, y algunos moteados de color pardo rojizo, con muchas raíces, gravas muy pequeñas de color blanco, con nódulos ferruginosos pequeños, duros y redondeados, reacción al HCl, transición notable.
B _{1(v)} gk	33 – 58	Amarillo pardusco, con más del 50% de manchas de color pardo, pardo oscuro, gris y pardo rojizas, arcilloso, con pequeños bloques prismáticos con algunas caras de deslizamiento, plástico, muy húmedo, poco poroso, con escasas raíces, reacción al HCl, transición algo notable.
B _{2v} gk	58 – 76	Color amarillo pardusco con mas de 50% de manchas de color rosa y gris, arcilloso, bloques prismáticos con caras de deslizamiento, muy plástico, muy húmedo, casi sin poros, sin raíces, reacción al HCl, transición algo notable.
B _{3v(g)} k	76 – 98	Color amarillo, arcilloso, bloques prismáticos con caras de deslizamiento, muy plástico, húmedo muy poco poroso, sin raíces, reacción al HCl, transición notable.
C	> 98	Caliza margosa de color blanco.

Composición mecánica y factor de dispersión del suelo

Horizonte	Profundidad (cm)	Arena gruesa %	Arena fina %	Limo grueso %	Limo fino %	Arcilla %	Arcilla microagregados %	Factor de dispersión
A ₁₁ mk	0 – 17	34.70	4	4	4	49.30	31.30	63.17
A ₁₂ mk	17 – 33	36.70	4	4	6	49.30	35.30	71.60
B _{1(v)} gk	33 – 58	34.70	2	4	4	55.30	45.30	81.91
B _{2v} gk	58 – 76	20.70	4	6	4	65.30	53.30	81.62
B _{3v(g)} k	76 – 98	40.70	4	4	2	49.30	45.30	91.88
C	> 98	18.70	10	6	12	53.30	37.30	69.98

Nota: la descripción de los perfiles fue realizada por Alberto Hernández, Pedro J. González y Andy Bernal.

Anexo 2. Comportamiento de las variables meteorológicas durante el período en que se ejecutaron los experimentos.

Meses	Años						
	Precipitaciones (mm)						
	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Enero	99.9	31.2	6.7	0	82.6	29.8	5.5
Febrero	60.8	31.2	63.9	22	22.1	45.4	127.1
Marzo	3.2	101.1	0	0	54.2	88.1	68.4
Abril	21.6	66.3	10.2	49.8	122.3	0	92
Mayo	16.3	9.0	199.3	5.1	101.4	231.9	1.5
Junio	112.6	326.1	244.5	139.4	308.6	51.3	103
Julio	77.9	225.3	174.4	137.2	118.2	86.2	120.7
Agosto	195.2	251.5	127.9	218	183.1	152.8	66.1
Septiembre	290	300	41.2	287.4	318.8	63	212.4
Octubre	138.5	211.7	67.9	412.6	259.1	117.4	9.4
Noviembre	27.2	31.9	96.8	0	154.8	38.6	55.3
Diciembre	68.2	7.9	188	12.5	54.6	43.3	7.1
Total	1111.4	1593.2	1220.8	1284.0	1779.8	947.8	868.5
	Temperatura máxima (°C)						
Enero	25.8	25.6	27.4	28.0	26.6	25.7	24.3
Febrero	27.1	26.8	26.8	28.0	28.3	25.3	24.6
Marzo	30.3	27.8	19.4	28.2	28.1	27.7	25.4
Abril	27.4	28.5	30.8	19.2	25.5	30.3	29.3
Mayo	29.9	31.4	30.6	30.4	30.0	32.8	31.2
Junio	32.9	30.6	31.3	31.3	31.5	31.6	32.9
Julio	31.8	31.9	31.9	32.4	31.8	32.9	32.3
Agosto	32.6	32.3	31.8	32.0	32.1	32.9	32.7
Septiembre	31.3	31.5	32.0	31.3	31.3	32.2	32.3
Octubre	31.0	29.5	26.0	30.5	29.4	31.8	29.9
Noviembre	28.8	27.7	23.8	27.6	26.4	28.6	27.8
Diciembre	26.5	27.1	28.6	28.0	26.8	26.1	23.3
	Temperatura media (°C)						
Enero	20.1	20.3	21.6	21.3	21.3	20.2	17.9
Febrero	22.0	20.7	21.1	22.7	23.0	20.2	20.9
Marzo	22.5	22.7	15.3	23.2	23.2	22.1	19.5
Abril	22.7	22.9	24.5	15.8	23.8	24.6	24.1
Mayo	24.1	25.9	24.9	25.8	25.0	26.6	26.5
Junio	27.6	26.9	26.8	26.9	27.0	26.6	28.3
Julio	26.8	27.8	18.3	27.5	27.0	28.2	27.7
Agosto	27.6	28.0	27.0	27.5	27.3	28.0	28.1
Septiembre	27.1	27.3	27.5	26.8	26.9	27.6	27.6
Octubre	26.7	25.9	25.7	26.6	25.4	27.2	25.4
Noviembre	22.7	23.0	23.0	22.4	22.6	23.9	22.8
Diciembre	21.5	21.6	24.7	22.7	21.6	23.3	17.8

Continuación

Meses	Años						
	Temperatura mínima (°C)						
	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Enero	14.4	14.9	15.9	19.9	15.9	14.7	16.6
Febrero	17.0	14.5	15.3	17.0	17.7	15.1	17.2
Marzo	17.0	17.6	11.2	18.5	18.2	16.4	13.5
Abril	18.0	17.3	18.3	9.6	18.7	19.0	19.0
Mayo	18.3	20.5	19.3	21.9	20.1	20.4	21.9
Junio	22.3	23.1	22.7	22.3	22.4	21.5	23.7
Julio	21.9	23.7	15.4	22.5	22.1	23.4	23.1
Agosto	22.5	23.7	22.7	23.0	23.1	23.2	23.5
Septiembre	22.8	23.1	14.9	22.1	22.6	23.1	26.3
Octubre	22.3	22.4	22.3	22.7	21.3	22.5	20.8
Noviembre	18.0	18.4	17.2	16.5	18.8	19.3	17.8
Diciembre	16.4	16.1	20.7	17.1	16.4	18.5	12.4
	Humedad relativa (%)						
Enero	79.7	78.3	80.7	78.3	78.3	78.0	77.3
Febrero	80.3	78.3	81.3	77.3	79.0	70.7	74.3
Marzo	75.0	79.3	50.3	72.3	71.0	72.0	72.0
Abril	75.0	73.7	75.3	48.7	74.3	71.0	75.0
Mayo	79.0	78.3	75.3	72.7	76.7	75.3	77.7
Junio	80.7	86.7	81.7	81.0	81.0	78.7	79.0
Julio	83.7	84.7	54.7	81.7	81.0	78.3	80.7
Agosto	84.0	85.0	82.7	86.7	80.0	81.3	82.3
Septiembre	80.7	86.7	54.7	84.0	84.0	81.7	82.0
Octubre	76.5	86.0	85.3	86.0	82.0	79.0	79.3
Noviembre	79.7	81.7	80.0	79.0	81.7	78.0	75.7
Diciembre	78.3	83.0	78.0	81.3	79.0	81.3	72.3

Anexo 3. Descripción del procedimiento para la determinación del índice crítico de esporas en la rizosfera de los pastos inoculados con una cepa eficiente de HMA, según el modelo discontinuo de Cate y Nelson.

Cate y Nelson demostraron que al relacionarse el rendimiento relativo (RR) de un cultivo con el contenido en el suelo de un nutriente dado, se obtiene un diagrama de dispersión que puede ser dividido esencialmente en dos subpoblaciones, lográndose identificar en ese punto, un nivel crítico del nutriente en el suelo, por debajo o por encima del cual se puede esperar, en ese orden, una alta o baja respuesta del cultivo a su aplicación.

El RR expresa el rendimiento del cultivo con el nutriente al mínimo (límite inferior de la respuesta), como porcentaje del rendimiento máximo estable (límite superior de la respuesta) que se obtiene cuando el suelo está bien abastecido del mismo:

$$RR (\%) = [\text{rendimiento con el nutriente X al mínimo} / \text{rendimiento máximo estable para X}] \times 100.$$

Matemáticamente, el nivel crítico se obtiene cuando, como resultado de la división sucesiva de la población en dos subpoblaciones, se logra entre ambas el mayor coeficiente de correlación (R^2).

Basado en estos preceptos, se empleó este método para determinar el índice crítico de esporas en la rizosfera de los pastos inoculados, a partir del cual se podía predecir la permanencia del efecto de la cepa introducida. Para ello se utilizaron los datos de los tres experimentos que se realizaron en el suelo Ferralítico Rojo, específicamente de los tratamientos que fueron inoculados con *G. cubense* al momento de la siembra y recibieron las dosis óptimas de fertilizantes minerales para esta condición, pues solo así podía alcanzarse un funcionamiento micorrízico efectivo.

Después se relacionó el número de esporas en la rizosfera de los pastos al momento de cada corte, con el RR obtenido en el corte posterior. El RR se calculó como el porcentaje del rendimiento que se logró con la dosis óptima de cada nutriente para el pasto no inoculado (rendimiento meta), pues alcanzarlo sería la expresión de un funcionamiento micorrízico efectivo:

$$RR (\%) = [\text{rendimiento de MS (t ha}^{-1}\text{) del pasto inoculado y fertilizado con las dosis óptimas de N, P y K para el pasto inoculado} / \text{rendimiento de MS (t ha}^{-1}\text{) del pasto no inoculado y fertilizado con las dosis óptimas de N, P y K para el pasto no inoculado}] \times 100.$$

La población se fue dividiendo sucesivamente en dos subpoblaciones, a las cuales se les fue calculando el valor de R^2 , según la fórmula:

$$R^2 = [\text{SCCT} - (\text{SCC}_1 + \text{SCC}_2)] / \text{SCCT}$$

Donde:

R^2 = coeficiente de correlación

SCC = suma corregida de los cuadrados de las desviaciones de las medias de las poblaciones 1 (SCC_1), 2 (SCC_2) o del total (SCCT).

El nivel crítico de esporas se situó en el punto donde se alcanzó el mayor valor de R^2 .

Anexo 4. Efecto de la fertilización nitrogenada en el comportamiento de las variables fúngicas de *B. decumbens* y *B. híbrido* cv.

Mulato, cultivados en el suelo Ferralítico Rojo (tratamientos seleccionados).

N (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Colonización (%)									
		<i>B. decumbens</i>				<i>B. híbrido</i>					
		Primer año		Segundo año		Primer año		Segundo año		Tercer año	
		Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso
0	NI	22.3	10.5	21.2	12.0	27.5	17.1	26.4	18.6	23.9	17.6
100	NI	24.0	12.7	23.5	11.8	25.7	19.0	25.4	16.9	24.3	18.2
200	NI	21.9	10.1	20.7	13.5	26.3	18.9	23.7	17.3	22.4	17.9
300	NI	23.1	11.5	22.3	10.9	24.9	17.3	24.9	19.8	25.0	19.4
	ES	1.2	0.8	1.1	0.6	1.5	0.7	1.5	0.7	1.3	0.6
		Densidad visual (%)									
0	NI	1.70	0.79	1.80	0.79	3.00	1.91	2.87	1.81	3.02	1.74
100	NI	1.58	0.83	1.95	0.84	3.08	2.03	3.05	1.99	2.93	1.90
200	NI	1.73	0.94	1.78	0.70	2.76	1.89	2.95	1.88	2.87	1.79
300	NI	1.65	0.81	1.82	0.88	2.87	2.05	3.13	1.78	3.09	1.87
	ES	0.14	0.07	0.13	0.06	0.17	0.08	0.15	0.07	0.14	0.06
		Esporas 50 g ⁻¹									
0	NI	308	97	298	89	384	182	306	130	374	187
100	NI	283	112	312	97	420	215	283	163	425	218
200	NI	290	99	287	103	356	179	324	144	366	189
300	NI	309	127	329	95	388	193	282	171	411	227
	ES	33	15	29	14	33	19	34	17	29	12

Inoc: inoculación, NI: no inoculado. Fertilización de fondo: 50 y 100 kg P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio.

Anexo 5. Efecto de la fertilización fosfórica en el comportamiento de las variables fúngicas de *B. decumbens* y *B. híbrido* cv.

Mulato, cultivados en el suelo Ferralítico Rojo (tratamientos seleccionados).

P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Colonización (%)									
		<i>B. decumbens</i>				<i>B. híbrido</i>					
		Primer año		Segundo año		Primer año		Segundo año		Tercer año	
		Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso
0	NI	24.2	14.0	21.6	13.8	25.0	16.1	24.5	15.3	23.1	15.5
30	NI	26.7	15.7	23.3	15.9	26.1	15.9	26.0	17.0	25.5	17.3
60	NI	23.5	13.9	20.9	13.9	24.9	18.0	23.2	14.9	24.3	15.4
90	NI	25.8	15.0	21.5	14.1	25.3	16.3	25.3	16.1	23.2	16.6
	ES	1.2	0.8	1.1	0.6	1.4	1.0	1.3	0.9	1.1	0.8
		Densidad visual (%)									
0	NI	1.90	0.75	2.18	0.79	2.73	1.99	2.96	1.87	3.21	1.92
30	NI	2.02	0.83	1.93	0.85	3.26	1.88	3.06	1.73	3.13	1.89
60	NI	1.87	0.76	2.27	0.74	2.99	2.02	2.77	2.08	2.92	2.10
90	NI	1.92	0.87	1.96	0.80	3.37	1.90	3.03	1.89	2.84	1.89
	ES	0.19	0.11	0.14	0.08	0.15	0.09	0.17	0.07	0.14	0.05
		Esporas 50 g ⁻¹									
0	NI	341	95	319	87	389	189	282	122	385	119
30	NI	292	126	294	116	413	195	304	108	419	130
60	NI	314	93	311	95	394	183	326	116	416	117
90	NI	288	109	281	89	432	206	292	122	371	133
	ES	33	17	31	16	56	25	53	23	49	21

Inoc: inoculación, NI: no inoculado. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹ año⁻¹. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio.

Anexo 6. Efecto de la fertilización potásica en el comportamiento de las variables fúngicas de *B. decumbens* y *B. híbrido* cv. Mulato, cultivados en el suelo Ferralítico Rojo (tratamientos seleccionados).

K ₂ O (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Colonización (%)									
		<i>B. decumbens</i>				<i>B. híbrido</i>					
		Primer año		Segundo año		Primer año		Segundo año		Tercer año	
		Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso
0	NI	26.3	12.9	23.5	13.7	26.1	16.4	27.5	13.6	23.9	12.9
50	NI	24.5	14.1	22.9	12.3	25.5	14.9	25.3	14.9	25.1	14.3
100	NI	23.9	11.9	24.0	11.9	24.3	16.1	26.9	15.3	24.7	13.5
150	NI	25.1	13.3	23.2	13.5	23.9	15.3	27.1	14.7	23.5	12.8
	ES	1.6	0.8	1.4	0.7	1.4	0.9	1.5	0.9	1.3	0.7
		Densidad visual (%)									
0	NI	1.87	0.89	1.93	0.78	2.73	1.99	2.96	1.87	3.21	1.92
50	NI	2.14	0.93	1.87	0.86	3.26	1.88	3.06	1.73	3.13	1.89
100	NI	1.93	0.94	2.02	0.73	2.99	2.02	2.77	2.08	2.92	2.10
150	NI	2.09	0.82	1.95	0.79	3.37	1.90	3.03	1.89	2.84	1.89
	ES	0.14	0.08	0.13	0.07	0.15	0.09	0.17	0.07	0.14	0.05
		Esporas 50 g ⁻¹									
0	NI	427	88	281	109	374	157	415	173	419	183
50	NI	383	96	315	88	409	189	409	185	405	169
100	NI	420	102	293	117	393	165	378	194	386	187
150	NI	355	93	301	91	427	183	392	179	397	175
	ES	34	18	30	16	31	20	32	21	27	18

Inoc: inoculación, NI: no inoculado. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹ año⁻¹. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio.

Anexo 7. Efecto de la fertilización nitrogenada en el comportamiento de las variables fúngicas de *B. decumbens* y *B. híbrido* cv.

Mulato, cultivados en el suelo Vertisol Pélico (tratamientos seleccionados).

N (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Colonización (%)							
		<i>B. decumbens</i>				<i>B. híbrido</i>			
		Primer año		Segundo año		Primer año		Segundo año	
		Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso
0	NI	40.1	19.1	49.4	17.5	42.3	17.2	44.6	16.9
100	NI	43.2	17.4	52.2	19.1	40.6	18.9	43.3	14.7
200	NI	39.6	18.5	48.7	16.9	38.9	16.7	46.5	15.4
300	NI	41.2	17.9	50.8	15.3	41.4	18.1	44.7	16.1
	ES	1.4	0.9	1.2	0.8	1.6	0.8	1.4	0.8
		Densidad visual (%)							
0	NI	3.17	0.92	3.90	1.03	3.97	1.18	3.73	1.12
100	NI	2.94	1.11	4.18	1.17	4.06	0.99	4.04	1.31
200	NI	3.10	0.97	3.92	0.98	4.31	1.17	3.63	1.17
300	NI	3.21	1.09	4.12	0.94	4.18	0.95	3.70	1.10
	ES	0.18	0.07	0.15	0.05	0.19	0.11	0.14	0.07
		Esporas 50 g ⁻¹							
0	NI	410	111	379	221	487	255	576	265
100	NI	375	134	427	186	516	330	623	315
200	NI	392	117	395	211	473	277	589	287
300	NI	424	122	420	179	525	322	615	291
	ES	43	25	39	23	60	26	52	23

Inoc: inoculación, NI: no inoculado. Fertilización de fondo: 50 y 100 kg P₂O₅ y K₂O ha⁻¹ año⁻¹. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio.

Anexo 8. Efecto de la fertilización fosfórica en el comportamiento de las variables fúngicas de *B. decumbens* y *B. híbrido* cv.

Mulato, cultivados en el suelo Vertisol Pélico (tratamientos seleccionados).

P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Colonización (%)							
		<i>B. decumbens</i>				<i>B. híbrido</i>			
		Primer año		Segundo año		Primer año		Segundo año	
		Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso
0	NI	41.1	18.0	48.7	15.7	37.5	20.3	38.7	21.7
30	NI	38.9	16.8	51.5	16.6	41.3	19.0	40.3	20.9
60	NI	42.6	17.1	49.3	15.1	38.1	19.5	38.2	22.0
90	NI	39.2	16.5	50.8	17.3	40.5	20.5	41.1	19.6
	ES	1.5	0.8	1.4	0.7	1.7	0.8	1.5	0.7
		Densidad visual (%)							
0	NI	3.11	0.93	3.88	0.97	2.79	1.15	3.75	1.85
30	NI	2.92	0.88	3.95	1.19	3.25	1.27	4.12	2.13
60	NI	3.07	0.97	4.22	1.23	3.18	1.04	3.88	2.10
90	NI	3.21	0.83	4.19	1.02	2.83	0.98	3.97	1.93
	ES	0.23	0.12	0.21	0.10	0.21	0.10	0.18	0.09
		Esporas 50 g ⁻¹							
0	NI	431	127	379	192	478	223	517	333
30	NI	357	144	413	225	526	194	476	276
60	NI	404	138	382	201	463	215	485	285
90	NI	379	153	433	187	535	182	522	351
	ES	41	17	38	16	61	29	60	24

Inoc: inoculación, NI: no inoculado. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹ año⁻¹. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio.

Anexo 9. Efecto de la fertilización potásica en el comportamiento de las variables fúngicas de *B. decumbens* y *B. híbrido* cv.

Mulato, cultivados en el suelo Vertisol Pélico (tratamientos seleccionados).

K ₂ O (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Colonización (%)							
		<i>B. decumbens</i>				<i>B. híbrido</i>			
		Primer año		Segundo año		Primer año		Segundo año	
		Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso	Período lluvioso	Período poco lluvioso
0	NI	41.1	18.0	48.7	15.7	38.7	15.9	39.1	17.2
50	NI	38.9	16.8	51.5	16.6	42.3	17.3	41.3	15.9
100	NI	42.6	17.1	49.3	15.1	40.8	16.7	38.8	16.7
150	NI	39.2	16.5	50.8	17.3	39.5	17.1	39.7	17.2
	ES	1.5	0.8	1.4	0.7	1.6	0.9	1.5	0.7
		Densidad visual (%)							
0	NI	3.23	0.95	4.19	1.03	3.73	1.18	4.11	1.12
50	NI	3.11	1.12	3.87	0.87	4.15	0.99	3.93	1.31
100	NI	2.96	0.89	3.93	0.95	4.01	1.17	3.88	1.17
150	NI	2.89	1.03	4.14	1.14	3.81	0.95	4.23	1.10
	ES	0.17	0.09	0.14	0.08	0.18	0.10	0.16	0.08
		Esporas 50 g ⁻¹							
0	NI	395	95	421	221	493	282	479	293
50	NI	439	110	377	189	529	320	523	279
100	NI	411	107	413	211	482	334	491	307
150	NI	388	92	401	179	503	217	531	311
	ES	48	22	46	20	43	22	41	20

Inoc: inoculación, NI: no inoculado. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹ año⁻¹. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio.

Anexo 10. Extracciones de N, P₂O₅ y K₂O en la biomasa de la parte aérea de *B. decumbens* en el transcurso de seis años (tratamientos seleccionados de los experimentos de fertilización nitrogenada, fosfórica y potásica, en presencia o no de la inoculación anual de *G. cubense*).

Experimento de N						
N (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Primer	Tercer	Cuarto	Quinto	Sexto
		año	año	año	año	año
(kg N ha ⁻¹)						
0	NI	126.0 c	91.9 c	80.4 c	78.3 c	67.4 c
300	NI	395.6 a	330.6 a	319.7 a	301.5 a	302.6 a
0	I	196.3 b	159.5 b	146.3 b	141.9 b	128.1 b
200	I	396.5 a	329.8 a	313.3 a	307.7 a	298.0 a
	ES	7.7**	7.2**	8.3**	8.0**	7.9**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense* al momento de la siembra y a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ año⁻¹ a partir del tercer año. Fertilización de fondo: 50 y 100 kg P₂O₅ y K₂O ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P< 0.05, según dócima de Duncan.

Experimento de P						
P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Primer	Tercer	Cuarto	Quinto	Sexto
		año	año	año	año	año
(kg N ha ⁻¹)						
0	NI	81.07 b	73.74 b	69.16 b	65.27 b	59.54 b
30	NI	97.78 a	88.85 a	82.90 a	77.86 a	73.51 a
0	I	98.01 a	84.73 a	80.15 a	75.34 a	70.07 a
	ES	3.4**	3.2**	3.2**	3.0**	2.8**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense* al momento de la siembra y a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ año⁻¹ a partir del tercer año. Fertilización de fondo: 200 y 100 kg N y K₂O ha⁻¹ año⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P< 0.05, según dócima de Duncan.

Experimento de K						
K ₂ O (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Primer	Tercer	Cuarto	Quinto	Sexto
		año	año	año	año	año
(kg N ha ⁻¹)						
0	NI	281.1 b	211.2 b	178.6 b	174.9 c	131.7 c
100	NI	361.9 a	327.8 a	295.2 a	258.8 b	210.7 b
150	NI	362.8 a	326.3 a	304.9 a	305.3 a	251.5 a
50	I	368.3 a	326.9 a	292.9 a	267.1 b	216.6 b
100	I	376.1 a	329.2 a	297.2a	302.9 a	246.5 a
	ES	8.3**	8.0**	7.5**	7.3**	6.8**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense* al momento de la siembra y a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ año⁻¹ a partir del tercer año. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a P< 0.05, según dócima de Duncan.

Anexo 11. Variación del contenido de K intercambiable (cmol kg⁻¹) del suelo bajo el cultivo de *B. decumbens*, en el transcurso de seis años.

Profundidad	K inicial	K final	Diferencia	Movilización de K intercambiable (Kg K ₂ O ha ⁻¹)
	(cmol kg ⁻¹)			
Tratamiento: K0 NI				
0-20	0.40	0.19	0.21	197.1
20-40	0.21	0.06	0.15	140.8
40-60	0.16	0.14	0,02	18.8
60-80	0.08	0.09	0,01	9.4
80-100	0.06	0.06	0	0
Tratamiento: K100 NI				
0-20	0.38	0.17	0.21	197.1
20-40	0.24	0.10	0.14	131.4
40-60	0.17	0.16	0.01	9.4
60-80	0.09	0.09	0	0
80-100	0.08	0.07	0.01	9.4
Tratamiento: K150 NI				
0-20	0.37	0.17	0.20	187.7
20-40	0.25	0.09	0.16	150.1
40-60	0.13	0.11	0.02	18.8
60-80	0.05	0.05	0	0
80-100	0.06	0.06	0	0
Tratamiento: K50 I				
0-20	0.41	0.20	0.21	197.1
20-40	0.24	0.10	0.14	131.4
40-60	0.13	0.13	0.02	18.8
60-80	0.09	0.08	0.01	9.4
80-100	0.07	0.06	0.01	9.4
Tratamiento: K100 I				
0-20	0.43	0.21	0.22	206.4
20-40	0.26	0.11	0.15	140.8
40-60	0.15	0.12	0.03	28.2
60-80	0.09	0.09	0	0
80-100	0.08	0.07	0.01	9.4

NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio.

Movilización de K intercambiable (kg K₂O ha⁻¹) = contenido de K inicial (cmol kg⁻¹) - contenido de K final (cmol kg⁻¹) x f

Donde f: factor para convertir cmol kg K a kg ha⁻¹ K₂O = 938.4, según Paneque y Calaña, (2001).

Anexo 12. Variación del contenido de K difícilmente intercambiable (cmol kg^{-1}) del suelo bajo el cultivo de *B. decumbens*, en el transcurso de seis años.

Profundidad	K inicial	K final	Diferencia	Movilización de K difícilmente intercambiable ($\text{Kg K}_2\text{O ha}^{-1}$)
	(cmol kg^{-1})			
Tratamiento: K0 NI				
0-20	0.93	0.53	0.40	375.4
20-40	0.75	0.54	0.21	197.1
40-60	0.59	0.57	0.02	18.8
60-80	0.30	0.29	0.01	9.4
80-100	0.28	0.30	0	0
Tratamiento: K100 NI				
0-20	0.91	0.35	0.56	525.5
20-40	0.78	0.52	0.26	244.0
40-60	0.63	0.59	0.04	37.5
60-80	0.33	0.33	0	0
80-100	0.31	0.31	0	0
Tratamiento: K150 NI				
0-20	0.95	0.48	0.47	441.0
20-40	0.79	0.55	0.24	225.2
40-60	0.55	0.51	0.04	37.5
60-80	0.36	0.36	0	0
80-100	0.29	0.30	-0.01	0
Tratamiento: K50 I				
0-20	0.91	0.23	0.68	638.1
20-40	0.80	0.53	0.27	253.4
40-60	0.63	0.58	0.05	46.9
60-80	0.34	0.33	0.01	9.4
80-100	0.26	0.26	0	0
Tratamiento: K100 I				
0-20	0.90	0.33	0.57	534.9
20-40	0.73	0.47	0.26	244.0
40-60	0.51	0.45	0.06	56.3
60-80	0.33	0.33	0	0
80-100	0.27	0.31	-0.02	0

NI: no inoculado, I: inoculado con *G. cubense*. Fertilización de fondo: 200 y 50 kg N y $\text{P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$, respectivamente. Portadores: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio.

Movilización de K difícilmente intercambiable ($\text{kg K}_2\text{O ha}^{-1}$) = contenido de K inicial (cmol kg^{-1}) - contenido de K final (cmol kg^{-1}) x f

Donde f: factor para convertir cmol kg K a $\text{kg ha}^{-1} \text{K}_2\text{O}$ = 938.4, según Paneque y Calaña, (2001).