



Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas



Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización para la rehabilitación de un pastizal de guinea (*Panicum maximum* cv. Likoni.)

*Tesis presentada en opción al título académico de Maestro en Ciencias en
Nutrición de las Plantas y Biofertilizantes*

Autor: Ing. Pedro Rafael Rosales Jenqui
Tutor: Dr. C. Pedro José González Cañizares
Cotutora: Dra. C. Gloria Martín Alonso

San José de las Lajas, Mayabeque
2014

Dedicatoria

En primer lugar a mi padre, que en cualquier lugar que este se sienta orgulloso de verme cumplir una nueva etapa de superación profesional.

A mi madre, por estar siempre a mi lado y ayudarme a crecer como un hombre de bien.

A mi hija, y decirle que este éxito alcanzado es el resultado de mucho esfuerzo y sacrificio y pedirle que no se rinda ante los fracasos, que son solo una de las maneras para probar nuestra voluntad de seguir adelante y prosperar en la vida.

Agradecimientos

- ❖ A la Revolución Cubana, por posibilitar mis estudios y mi formación profesional.
- ❖ A mis tutores, Dr. C. Pedro José González Cañizares y la Dra. C. Gloria Martín Alonso, por su incondicional apoyo y la paciencia de guiarme durante el desarrollo de este trabajo y dedicarme parte de su tiempo para terminar exitosamente este proyecto.
- ❖ A mi familia, Wendy mi querida hija, mi hermana Doremis, mis sobrinos Brenda y Doriel, mi cuñado Tellito, mi yerno Yassiel, mis primos Maité, Kevin, Mariam, Maricé, Yamina, Dayamí, mis tías Idalvis, Rafaela y Haydé, mis primas Idania y Esperanza que aunque estén lejos siempre están presente.
- ❖ A la profesora y amiga Juanela, que ya no está junto a nosotros por su apoyo
- ❖ Agradecer a mis vecinos y amigos, Alianna, Henry, Bertalina Anabel, Himara, mi ahijada Haila, Martha Aguiar, Maira, por su preocupación.
- ❖ A los miembros de la Comisión Científica del departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas por sus consejos y sugerencias, especialmente a mi oponente Dr. C. Rodolfo Plana Llerena, por su excelente revisión del documento, así como también a los doctores, José Herrera, Adriano Cabrera, Blanca de la Noval, Yakelin Rodríguez y los M. Sc. Yonaisy Mujica, Aracelys Mena, Laura Medina, Maida Calderón y Jorge Corbera.
- ❖ A los profesores y compañeros de la maestría.
- ❖ Al Dr. C. Adriano Cabrera por sus oportunos y acertados consejos
- ❖ Al Dr. C. Michel Martínez Cruz, más que amigo, Hermano, por su apoyo y disposición de ayudarme y soportarme en todo momento, así como a su esposa Dania.
- ❖ A mis compañeros del departamento de fisiología por su cooperación y preocupación, sobre todo a mi grupo de trabajo y en especial a pedrito jefe de departamento por sus consejos y motivaciones para que siga adelante.
- ❖ A los investigadores y técnicos de la EPG Niña Bonita, por su apoyo y permitir desarrollar mi trabajo en su área experimental.
- ❖ Al grupo de micorrizas, por seguir acogiéndome como uno más de su equipo, Aida, Kalyanne, Balmatie, Yanela, Yordanka y Gustavo.
- ❖ A la Dr. C. Maria Esther González por su apoyo, motivación en mi superación y sabios consejos.
- ❖ A la Dr. C. Sandra Miranda, además a Edulia, Tamara e Hilda, por su preocupación.
- ❖ A mi amigo Samuel y su esposa Idania, que siempre me apoyaron en la decisión de cumplir mi meta.
- ❖ Un agradecimiento especial, que no por ser la última sea menos importante para alguien que estuvo conmigo desde el inicio, que sin su apoyo incondicional y motivación para seguir adelante no hubiera sido posible llegar hasta aquí. Para mi esposa muchas gracias.

A todos, mi sincero agradecimiento.

Listado de siglas y abreviaturas

Abreviatura	Significado
AOAC	Official Methods And Analysis
CCB	Capacidad de intercambio de bases
cmol	Centimol
CUP	Peso cubano
cv.	Cultivar
DMO	Digestibilidad de la materia orgánica
DV	Densidad visual
EPG	Empresa Pecuaria Genética
ES	Error estándar
FND	Fibra neutro detergente
HMA	Hongos micorrizicos arbusculares
IE	Índice de eficiencia
INCA	Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. (República de Cuba)
INSMET	Instituto de Meteorología (Academia de Ciencias de Cuba)
mg	Milígramo
Mg ha ⁻¹	Megagramo por hectárea
MINAG	Ministerio de la Agricultura (República de Cuba)
MINCEX	Ministerio del comercio exterior. (República de Cuba)
MO	Materia orgánica
MS	Masa seca
MV	Masa verde
PB	Proteína bruta
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
UGM	Unidad de Ganado Mayor

Resumen

Se realizaron dos experimentos con el objetivo de seleccionar la cepa de hongo micorrízico arbuscular (HMA) más eficiente para mejorar el rendimiento del pasto guinea (*Panicum maximum* cv. Likoni), y evaluar el efecto de su inclusión en la rehabilitación de un pastizal con un alto grado de degradación, cultivado con esta especie. En el primero, en un diseño cuadrado latino, se evaluaron las cepas de HMA *Glomus cubense*, *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices* más un testigo sin inocular; en el segundo, en un diseño completamente aleatorizado, se incluyeron seis tratamientos conformados por un testigo sin rehabilitar, la inoculación de la cepa de HMA eficiente, según los resultados del experimento anterior, y la rehabilitación mecánica con arado y grada, sola y combinada con las aplicaciones de 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno y 100 kg ha⁻¹ de N; con la inoculación micorrízica más la aplicación del 50 y el 70% de las dosis de estiércol vacuno y N, respectivamente, y con la inoculación micorrízica más el 100% de las dosis de ambos fertilizantes. Se evaluaron la altura de las plantas, el área cubierta por el pasto y el rendimiento de masa seca, así como la colonización micorrízica, la densidad visual y el número de esporas de HMA en la rizosfera, y las concentraciones de N, P y K en la biomasa aérea del pasto. *G. cubense* resultó cepa más eficiente para mejorar el rendimiento y el estado nutricional del pasto. Su inoculación se integró satisfactoriamente en las labores de rehabilitación, aunque los mayores beneficios se obtuvieron cuando se combinó con el 50 y el 70% de la dosis del estiércol vacuno y fertilizante nitrogenado que, en ese orden, produjeron los mayores efectos en la recuperación del pasto no inoculado. El efecto de de *G. cubense* se mantuvo al menos hasta los 270 días después de su aplicación.

ÍNDICE

1. Introducción	1
2. Revisión bibliográfica	4
2.1. Breve descripción de pasto guinea (<i>Panicum maximum</i> cv. <i>Likoni</i>).....	4
2.2. Degradación de pastizales. Principales causas y efectos.....	4
2.2.1. Recuperación de pastizales degradados	6
2.3. La fertilización como parte de las labores para la rehabilitación de pastizales degradados	8
2.3.1. Fertilización mineral	9
2.3.2. Fertilización orgánica.....	14
2.4. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Importancia para la nutrición de las plantas.	18
2.4.1. Funciones de los HMA en los agroecosistemas de pastizales.....	20
3. Materiales y métodos	30
3.1. Localización de los experimentos, suelo y comportamiento de las variables meteorológicas	30
3.2. Descripción de los experimentos.....	31
3.2.1. Experimento. 1 Selección de cepas de HMA eficientes para el pasto guinea (<i>Panicum maximum</i> , cv. <i>Likoni</i>).....	31
3.3. Experimento 2. Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización para la rehabilitación del pasto guinea <i>Likoni</i>	32
3.4. Procedimiento general para los muestreos y mediciones.....	34
3.4.1. Rendimiento de masa seca (MS), concentraciones de macronutrientes en la biomasa de la parte aérea y valor nutritivo del pasto	34
3.4.2. Muestreo de raíces y determinaciones de las variables fúngicas	35
3.4.3. Muestreos y análisis de suelo y del abono orgánico	36
3.4.4. Procesamiento estadístico	37
3.4.5. Valoración económica.....	37
4. Resultados y discusión	39
4.1. Experimento 1. Selección de cepas de HMA eficientes para el pasto guinea (<i>Panicum maximum</i> , cv. <i>Likoni</i>).....	39
4.2. Experimento 2. Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización para la rehabilitación del pasto guinea <i>Likoni</i>	44
4.3. Consideraciones económicas sobre la inclusión de la inoculación micorrízica arbuscular en las labores para la rehabilitación del pasto.....	54
4.4. Consideraciones generales sobre la inclusión de HMA en las labores para la rehabilitación de pastizales	55
5. Conclusiones	58
6. Recomendaciones.....	59
7. Referencias bibliográficas	60

1. Introducción

La degradación de un pastizal se define como el proceso de pérdida del vigor vegetativo, la productividad por área y por animal y la capacidad de recuperación natural de los pastos, lo que trae por consecuencia su reemplazo por especies de escaso rendimiento y valor nutritivo, así como la aparición de áreas despobladas de vegetación (Días-Filho, 2006; Padilla *et al.*, 2009; Sardiñas, 2010).

Muchos factores influyen en la degradación de los pastizales; sin embargo, entre los más frecuentes se cita al manejo inadecuado del sistema suelo - pasto - animal, cuyos efectos negativos no solo repercuten en la producción de alimento para el ganado, sino también en el deterioro de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Volpe *et al.*, 2008); Senra, 2009).

La degradación de los pastizales es un fenómeno relativamente frecuente en muchas regiones tropicales de América Latina (Padilla *et al.*, 2009). En el caso específico de Cuba, a la ganadería se dedica una superficie de alrededor de 2.2 millones de hectáreas, de las cuales solo entre el 15 y el 18% se encuentran ocupadas por pastos mejorados de mayor productividad que las especies nativas. Estos pastos se encuentran afectados en mayor o menor medida por procesos de degradación (MINAG, 2005). Tal situación, unido al hecho de que los pastos y forrajes representan más del 95% de la dieta que consumen los animales (MINAG, 2008), explica el creciente interés de investigadores y productores por encontrar soluciones científico - tecnológicas para resolver esta problemática.

La rehabilitación es una de las vías para devolver a los pastos degradados su capacidad productiva. Esta no implica la sustitución de la especie forrajera cultivada, sino más bien su restitución, mediante labores encaminadas a fortalecer y mejorar su presencia, vigor y productividad (Macedo, 2004).

La rehabilitación puede lograrse mediante labores mecánicas conjuntamente con la aplicación de fertilizantes minerales u orgánicos, cuyos efectos benéficos en la mejora de las condiciones del suelo, así como en la nutrición del cultivo, promueven el crecimiento de las raíces y la capacidad de rebrote, contribuyen a incrementar la disponibilidad de biomasa y

consecuentemente, a recuperar su capacidad productiva (Ydoyaga *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2010; Padilla *et al.*, 2012).

Por otra parte, los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) son componentes esenciales de la rizosfera de los pastizales, cuyas plantas permanecen asociadas mediante una red de hifas interconectadas que incrementan el volumen de suelo que exploran las raíces y facilitan la absorción de los nutrientes y el agua, entre otras funciones (Johnson *et al.*, 2008; Bingham y Biondini, 2009).

Se conoce que las condiciones edáficas y el propio manejo de los agroecosistemas influyen en las comunidades de HMA (Oehl *et al.*, 2010). De hecho, la pérdida de la productividad de los pastos asociada a los procesos de degradación tiene un impacto negativo en la abundancia y diversidad de los HMA residentes, llegando a prevalecer en muchos casos solo aquellos que mejor se adaptan a las nuevas condiciones, pero no necesariamente los más efectivos (Hawkes *et al.*, 2006; Göransson *et al.*, 2008).

También, se ha demostrado que la inoculación de cepas eficientes de HMA puede ser una opción de manejo deseable e incluso necesaria para mejorar la nutrición y la productividad de los pastos, 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 (de Miranda *et al.*, 2008; Carneiro *et al.*, 2010).

A partir de las funciones de los HMA en los agroecosistemas de pastizales, el impacto negativo que los procesos de degradación pueden tener en las comunidades de estos microorganismos, y de las posibilidades de lograr su manejo efectivo mediante la inoculación de cepas eficientes, su inclusión en los programas de recuperación podría ser una opción económica y ecológicamente viable para mejorar la productividad de los pastos y a la vez, reducir los volúmenes de fertilizantes que se utilizan en esta labor.

Basado en estas premisas se planteó el siguiente problema científico:

¿Cómo contribuir a incrementar la productividad y el valor nutritivo de los pastos degradados, reduciendo las dosis de fertilizantes que se recomiendan para su rehabilitación?

Tal problema condujo a la siguiente hipótesis:

La inoculación de HMA como parte de las labores para la rehabilitación de los pastos degradados mejora su productividad y valor nutritivo y reduce sus necesidades de fertilizantes.

La investigación se trazó como objetivo general:

- Evaluar la contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la rehabilitación de un pastizal degradado de guinea (*Panicum maximum* cv. Likoni).

Y como objetivos específicos:

- Seleccionar cepas de HMA eficientes para mejorar el estado nutricional y el rendimiento del pasto guinea Likoni.
- Evaluar el efecto de las labores mecánicas, la fertilización y la inoculación de cepas de HMA eficientes, en la rehabilitación de un pastizal cultivado con esta especie.
- Determinar la contribución de la inoculación de cepas de HMA a la reducción de las dosis de fertilizantes que se aplican al pasto degradado como parte de las labores de rehabilitación.

Novedad científica:

El trabajo propone un modelo de rehabilitación para el pasto guinea Likoni, en el que se integran las labores mecánicas, la inoculación micorrízica arbuscular y la aplicación de dosis de fertilizantes menores que las que requiere el pasto degradado para recuperar su capacidad productiva.

2. Revisión bibliográfica

2.1. Breve descripción de pasto guinea (*Panicum maximum* cv. *Likoni*)

El pasto conocido comúnmente como guinea Likoni, pertenece a la especie *Panicum maximum* Jacq. En el año 2003, el nombre subgenérico *Megathyrsus* se elevó a rango genérico y la especie fue renombrada como *Megathyrsus maximum* (Jacq.) B. K. Simon & S.W. L. Jacobs (Simon y Jacobs 2003). Es originario de Kenia, África, y fue introducido en Cuba en 1967 por la estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”, procedente de Guadalupe. Actualmente se encuentra muy generalizado por su buen comportamiento.

Es de porte mediano, de un mayor ahijamiento y con hojas más largas y anchas que el tipo común naturalizado y muy extendido en Cuba. La raíz es corta, sus rizomas son rastreros; las hojas son de glabras a pubescentes y alcanzan hasta 35 mm de ancho. La inflorescencia es una panícula, de 15 a 50 cm de largo, con espiguillas de color verde a morado, 3 a 4 mm de largo (Ecoport, 2009).

Es una hierba adecuada para pastos, corte, ensilaje y heno, y se destaca por su buena palatabilidad y valor nutritivo. El ensilado de guinea tiene buena textura y es posible mezclar la hierba de diferentes edades, sin efecto sobre su calidad (Babayemi *et al.*, 2009).

2.2. Degradación de pastizales. Principales causas y efectos

La degradación de un pastizal se define como el proceso de pérdida del vigor vegetativo, la productividad por unidad de área y por animal y la capacidad de recuperación natural de los pastos, trayendo como consecuencia su reemplazo por especies de de escaso rendimiento y valor nutritivo, así como la aparición de áreas despobladas de vegetación (Días-Filho, 2006; Padilla *et al.*, 2009, Sardiñas, 2010).

La degradación puede ocurrir dentro de un universo relativamente amplio de condiciones situadas entre dos extremos. En uno, puede estar inicialmente asociada al cambio de la composición botánica del pastizal en función del aumento porcentual de arvenses y la disminución de la especie forrajera, pero sin perder el suelo su capacidad para acumular biomasa vegetal. En el otro, puede estar ligada a una disminución de la biomasa, a causa de la pérdida de la capacidad del suelo para sustentar una producción vegetal adecuada. En esa

situación más drástica de degradación, las plantas forrajeras serían gradualmente sustituidas por áreas de suelo descubierto (Senra, 2009).

Las causas de la degradación de los pastos son diversas y se encuentran estrechamente relacionadas. Sin embargo, muchos autores coinciden al señalar entre las principales al manejo inadecuado del pastoreo, lo cual propicia la erosión y compactación del suelo, la disminución de su fertilidad, y consecuentemente, la pérdida de la productividad y el valor nutritivo del pastizal (Padilla *et al.*, 2009).

También el exceso de humedad durante la época lluviosa puede favorecer la proliferación de plagas y enfermedades. Además, en áreas donde la cobertura vegetal es escasa, las fuertes lluvias pueden contribuir a la pérdida de la fertilidad del suelo por erosión y lixiviación. Por otra parte, las altas precipitaciones que se producen en el trópico durante períodos cortos pueden influir en la compactación de los suelos (Vargas, 2008; Febles y Ruiz, 2009).

De igual modo, las sequías prolongadas pueden reducir el vigor y la capacidad de competencia del pasto, dejando espacios abiertos para el establecimiento de plantas invasoras. El período seco puede ser decisivo también al desencadenar el proceso de ocupación de áreas por plantas invasoras en pastos previamente empobrecidos por la quema u otros factores de estrés (Andrade *et al.*, 2006).

De modo general, la degradación de un pastizal está asociada a factores ligados al establecimiento de la especie forrajera y su respectivo manejo. En relación con lo primero, la siembra de especies poco adaptadas a las condiciones edafoclimáticas del potrero, la preparación deficiente del suelo, la aplicación incorrecta o no aplicación de fertilizantes y enmiendas, así como la aparición de plagas y enfermedades, contribuyen al deterioro de los pastos en un tiempo relativamente breve. También, cuestiones de manejo relacionadas con la ausencia o la aplicación incorrecta de la fertilización de mantenimiento, la no atención a los períodos de ocupación y descanso, el uso de sistemas inadecuados de pastoreo y el empleo del fuego como rutina, tienen una incidencia negativa en la vida útil de pastizal (Andrade *et al.*, 2006; Pezo y Pinero, 2007).

Según Tate *et al.* (2004) y Echavarría *et al.* (2007), el pastoreo modifica las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo y afecta los procesos hidrológicos, el ciclo de

nutrientes y la producción vegetal del pastizal. Se conoce que un ciclo de pastoreo irracional compromete la recuperación de la cobertura vegetal posterior a un período de corte o pastoreo y aumenta la compactación del suelo, reduciendo la vida útil del potrero.

Los estadios de la degradación de los pastos pueden ser fácilmente identificados por el disturbio fisiológico de la especie dominante y los cambios en la composición botánica del pastizal, así como por la invasión de nuevas especies. Estos estadios son marcados por la reducción de la cantidad y calidad del forraje (dos Santos, 2005). Por su parte, Esqueda *et al.* (2005) y Varela *et al.* (2005), plantean que aunque la degradación de los pastizales se manifiesta de diferentes maneras, los siguientes parámetros constituyen indicadores palpables de que este proceso está ocurriendo:

- Disminución de la producción de masa seca por área y del valor nutritivo de la biomasa.
- Aparición de especies indeseables o de áreas sin cubierta vegetal.
- Compactación y pérdida de la fertilidad del suelo.

En Cuba, la superficie agrícola dedicada a la ganadería cuenta con algo más de 2 millones de hectáreas, de las cuales, 480 000 ha corresponden a pastos y áreas forrajeras cultivadas, los cuales presentan en mayor o menor medida síntomas de degradación (MINAG, 2005). Esta situación resulta preocupante, pues aunque el desarrollo de la producción ganadera está estrechamente relacionado con el crecimiento progresivo de los pastos y las especies forrajeras mejoradas, no se debe obviar que la mayoría de estos cultivos se encuentran en suelos cada vez más deteriorados, debido a la pérdida de fertilidad, a la poca reposición de los nutrientes por falta de fertilización química u orgánica, y sobre todo, por el incremento de la presión de pastoreo debido a la infestación de arvenses. De aquí la importancia de atender los procesos de degradación (Sardiñas *et al.*, 2011).

2.2.1. Recuperación de pastizales degradados

La recuperación de los pastos degradados consiste en la restitución de su capacidad productiva por unidad de área y por animal, hasta alcanzar niveles ecológicos y económicos adecuados.

Este proceso se puede alcanzar mediante la renovación o la rehabilitación (Padilla *et al.*, 2000).

De acuerdo con el criterio anterior, se pudiera considerar que la renovación consiste en sustituir un pastizal de baja productividad, por gramíneas o leguminosas más productivas. Estas pueden ser de la misma especie o diferentes a las establecidas, y se efectúa mediante la siembra o plantación total del área, posterior a las labores de preparación de suelo.

El término rehabilitación se atribuye a la presencia de una o más especies forrajeras deseables que son susceptibles a ser conservadas, estimuladas o complementadas para su recuperación (Spain y Gualdron 1991). O sea, la rehabilitación se fundamenta en fortalecer y mejorar la presencia, el vigor y productividad del pasto base en un agroecosistema degradado (Padilla *et al.*, 2009).

Macedo (2004), señala dos métodos fundamentales para la recuperación de los pastos:

- La recuperación o rehabilitación directa, la cual no implica la sustitución de la especie forrajera, sino su restitución, la cual se logra a través de labores mecánicas como la subsolación, la aradura, el pase de grada y la aplicación de enmiendas químicas u orgánicas.
- La renovación directa, donde se aplica el mismo procedimiento, solo que en este caso la especie forrajera es sustituida por otra de mayor rendimiento y valor nutritivo.

No obstante, se han identificado diversas razones que justifican la preferencia por el uso de técnicas de recuperación y rejuvenecimiento de pastizales degradados en sustitución de las siembras nuevas. En el caso específico de Cuba, del total de áreas de pastos sembradas durante el quinquenio 1998 - 2003, se degradó aproximadamente el 27%, para un total de 70 000 ha, produciendo pérdidas económicas de 25 700 pesos en ese período (MINAG, 2004).

Entre las ventajas de la rehabilitación con respecto a la siembra nueva de pastos degradados se pueden encontrar las siguientes (Padilla *et al.*, 2009):

- No se necesita de semillas y puede representar un ahorro de hasta 43% de los costos de plantación cuando se utiliza semilla vegetativa para la siembra.

- Se reduce el tiempo de recuperación del pasto y se logra un mejor uso de la tierra.
- Se obtienen producciones de biomasa similares entre siembra y rehabilitación, por lo que se reducen los costos/t de MS producida cuando se rehabilitan los pastos.
- Se evitan los efectos dañinos de la erosión eólica.

El conocimiento de la proporción de especies mejoradas y el porcentaje de arvenses en la composición botánica del pastizal, es uno de los elementos imprescindibles para seleccionar el modo de recuperación más eficiente (Sardiñas *et al.*, 2011). En este sentido, trabajos realizados en Cuba por Padilla *et al.* (2000), indicaron niveles de recuperación adecuados en especies como *Cynodon nlemfuensis* y *Panicum maximum*, cuando la presencia del pasto mejorado en la composición botánica del pastizal fue menor de 50 - 60% en el primer caso, y hasta del 30% en el segundo.

En relación con el empleo de las labores mecánicas en la rehabilitación de pastizales, Crespo y Fraga (2005), encontraron que la aradura más grada propició el aumento del área cubierta por *C. nlemfuensis* de 42 a 89%. Además, favoreció el incremento del rendimiento de masa seca (MS) del pasto mejorado de 0.9 a 4.1 t ha⁻¹, a los 70 días de aplicación de las labores y con ello la recuperación del pasto.

Padilla *et al.* (2003) observaron que el empleo de la grada posterior a la aradura al inicio de la época de lluvias y un año después de haberse dejado desgranar las semillas en el área, propició una excelente rehabilitación del pasto guinea (*Panicum maximum* cv. Likoni). Igualmente Dorado y López-Fando (2006) encontraron efecto positivo de la aplicación de la labor de aradura y tiller en la recuperación de pastizales mejorados en estado de degradación.

2.3. La fertilización como parte de las labores para la rehabilitación de pastizales degradados

La disminución y pérdida de los nutrientes en el sistema suelo - planta son de los factores más importantes en el proceso de empobrecimiento del suelo y consecuentemente, en la degradación de los pastos, en razón de su agotamiento paulatino, ya sea mediante su exportación a través de la leche y con su incorporación al tejido de los animales, o mediante la pérdida con los procesos de erosión, lavado, volatilización o fijación en las arcillas. La

sumatoria de esas pérdidas puede llegar a más del 40% del total de nutrientes absorbidos por el pasto en un año de crecimiento (Echavarría *et al.*, 2006).

El éxito del manejo sostenible de los pastos cultivados radica en encontrar la mejor combinación del crecimiento de la planta y el desempeño animal, para alcanzar la máxima eficiencia en el reciclaje de los nutrientes, contribuir a reducir sus pérdidas y prolongar su vida útil (Costa *et al.*, 2010).

2.3.1. Fertilización mineral

La deficiencia de N es el primer factor que afecta la persistencia y provoca el inicio de la degradación de los pastos mejorados. Una vez que ocurre la deficiencia de este nutriente, la calidad y el vigor de las plantas comienzan a declinar como consecuencia de la reducción de la actividad biológica y la deficiencia de otros nutrientes, como fósforo y potasio (Magalhães *et al.*, 2007).

De todos los nutrientes minerales, el N es cuantitativamente el más importante para las gramíneas forrajeras (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 (Monteiro, 1995).

Werner (1986) enfatizó en la importancia del N sobre el incremento de la producción de biomasa de los pastos, dada su influencia en el crecimiento de las hojas y en la estimulación y crecimiento de rebrotes. Según este autor, el N incide directamente en el mantenimiento de la productividad de los pastos a lo largo del tiempo, pues es un constituyente esencial de las proteínas y participa directamente en el proceso fotosintético, por medio de su composición en la molécula de clorofila. Por eso, cuando hay baja disponibilidad de N en el suelo las plantas crecen muy poco, se reduce la producción de forraje y los tenores de proteína se tornan insuficientes para satisfacer las exigencias de los animales, iniciándose así el proceso de degradación del pastizal.

Se conoce que el N del suelo, procedente de la mineralización de la materia orgánica, no es suficiente para satisfacer los requerimientos de las gramíneas pratenses y forrajeras de alto potencial de producción. Por eso la aplicación de fertilizantes nitrogenados se hace necesaria,

sobre todo cuando se pretende aumentar la productividad y la calidad de estas especies (Fagundes *et al.*, 2005).

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 ha⁻¹ año⁻¹ de N. Estos autores plantearon 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 y 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 de N ha⁻¹ (Fagundes *et al.*, 2006; Cecato *et al.*, 2007; Galzerano y Morgado, 2007; 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 de 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 morfogenéticas 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.*, 2002; 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. Resultados similares fueron encontrados por Costa *et al.* (2009) y Heinrichs *et al.*, (2010) al evaluar dosis de N 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 por los pastos. Es bien conocida la influencia de las variaciones estacionales del clima en el crecimiento de estos cultivos, los cuales presentan su mayor producción de biomasa durante la época donde concurren los mayores niveles de precipitaciones, temperatura y luminosidad. Fagundes *et al.* (2005), al evaluar el crecimiento de 25 especies o variedades de gramíneas forrajeras, entre ellas algunas del género *Brachiaria*, constataron una acentuada estacionalidad en la producción de biomasa, con una distribución media del 87% durante el verano (período lluvioso) y 13% en el invierno (período seco).

La fertilización nitrogenada también 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, los contenidos de proteína bruta de la biomasa aérea (Juárez-Hernández *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2009; 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 por la acumulación de esos carbohidratos. 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 altos 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 (Boval *et al.*, 2002).

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 como consecuencia de 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).

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, lo que concuerda con lo planteado por Crespo *et al.* (1986).

En los sistemas intensivos de producción de pastos basados en el empleo de altas dosis de fertilizantes nitrogenados, dos razones justifican la necesidad de adoptar prácticas de 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 N - urea, la cual fluctúa de 65 a 79.5 MJ kg⁻¹ N (Wells, 2001), ni el potencial de emisión equivalente de C de este proceso, cuyos valores se sitúan en el orden de 0.9 a 1.8 kg por kg de N (Lal, 2004).

El P desempeña un papel importante en el crecimiento del sistema radical y en el crecimiento y ahijamiento de las gramíneas forrajeras, de modo que este elemento resulta fundamental para mejorar la productividad y persistencia de los pastizales (Hoffmann *et al.*, 1995; Mesquita *et al.*, 2004).

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 (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). De este modo, la baja eficiencia del aprovechamiento del P por muchas especies de gramíneas pratenses y forrajeras está indisolublemente ligada a la compleja dinámica de este elemento en los suelos tropicales (Costa *et al.*, 2008).

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).

Así, el conocimiento de los niveles críticos de P en el suelo se torna de alta relevancia, por permitir la recomendación de la dosis adecuada del nutriente para el crecimiento, mantenimiento y prolongación de la vida útil del pasto, de acuerdo con sus requerimientos. En razón de la continua absorción de P por las plantas conjuntamente con la complejidad de ese nutriente en el suelo, se cuestiona por cuánto tiempo la concentración adecuada para garantizar el crecimiento será suficiente para mantener determinada productividad de los pastos (Moreira *et al.*, 2006).

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 (de Souza *et al.*, 2007).

Sin embargo, 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, las cuales 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, dada la velocidad con que transcurre la mineralización de los residuos orgánicos en las condiciones del trópico. En este sentido, Schunke (2001) verificó que, para cultivares de *Panicum maximum*, el 98.5% del K fue liberado 28 días después de la deposición de los residuos en el suelo.

No obstante, 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 (Gama-Rodrigues *et al.*, 2002, Deminicis *et al.*, 2010).

2.3.2. Fertilización orgánica

Las actuales tendencias de la agricultura consideran entre sus tecnologías más avanzadas, a aquellas que garantizan un máximo aprovechamiento del recurso suelo sin afectar su equilibrio biológico; por eso, los sistemas de manejo integrado de la fertilidad del suelo le confieren a la fertilización orgánica mucha importancia (Hasegawa *et al.*, 2005; Vanlauwe *et al.*, 2005; Álvarez *et al.*, 2010, Silveira *et al.*, 2014).

La adición de materia orgánica al suelo aumenta la capacidad de retención de agua, promueve la reducción de la densidad aparente y el aumento de la porosidad y contribuye a la formación de agregados estables, lo que hace al suelo menos vulnerable a los procesos erosivos. De igual modo, aumenta la capacidad de intercambio catiónico y como resultado del proceso de mineralización, se incrementan los tenores de nutrientes del suelo. También reduce la fijación de P por los óxidos de Fe y Al, al bloquear con los radicales orgánicos los sitios de fijación de este elemento (Primavesi, 1990; Helton, 2008; Butler y Muir, 2006).

Sin embargo, no menos importante resulta su efecto en el incremento de la actividad y diversidad de los macro y microorganismos, los cuales están íntimamente involucrados en los procesos bioquímicos que intervienen en el sistema suelo - planta. Así, en los ciclos del N, S, P y otros elementos intervienen directamente diferentes comunidades de macro y microorganismos del suelo (Crespo y Rodríguez, 2005; Alley y Vanlauwe, 2009).

El estiércol vacuno, sin dudas el desecho sólido más abundante en los predios ganaderos, ha sido una fuente de abono orgánico ampliamente utilizada para el mejoramiento de los suelos y el aumento de la productividad de los pastizales (Helton *et al.*, 2008; Crespo *et al.*, 2010).

Crespo y Arteaga (1984) y Crespo *et al.* (2010), en sendos trabajos relacionados con el uso del estiércol vacuno como fuente de abono orgánico para los pastos, señalaron su influencia

beneficiosa en el establecimiento, producción de biomasa y composición química de estos cultivos, así como su efecto favorable en la persistencia del pastizal y sus bondades para mejorar el estatus nutritivo del suelo.

Estos autores plantearon que la aplicación de estiércol elimina los efectos negativos en el suelo de las aplicaciones continuadas de altas dosis de fertilizantes químicos y, más aun, mejora considerablemente la eficiencia de utilización de los mismos, lo cual es de mucho interés para la producción ganadera. Obour *et al.* (2009) también demostraron que la aplicación de estiércol combinado con la fertilización mineral nitrogenada, incrementa el rendimiento y el valor nutritivo del forraje y reduce el riesgo de acumulación de P en el suelo, en comparación con la aplicación del estiércol solo.

El estiércol generalmente actúa como una fuente de nutrientes de liberación lenta, que permite un mejor aprovechamiento de estos por las plantas y a la vez, mejora las propiedades físicas y químicas del suelo con el propio aumento de su contenido de materia orgánica (Helton *et al.*, 2008). Sin embargo, se ha demostrado que su aplicación sistemática, sobre todo en cantidades que exceden los requerimientos de los suelos y los cultivos, puede provocar la acumulación de algunos nutrientes que con el tiempo se convierten en sustancias contaminantes para el propio suelo y los cuerpos de agua cercanos a los predios agrícolas (Dayton *et al.*, 2003; Butler y Muir, 2006; Vadas *et al.*, 2007).

En relación con la influencia de las aplicaciones de estiércol vacuno en los pastos, estudios posteriores confirmaron los resultados que obtuvieron Crespo y Arteaga (1984). Por ejemplo, Jiménez *et al.* (2004) observaron que la biomasa aérea y radical del pasto fueron significativamente mayores cuando el pasto se fertilizó con estiércol vacuno a razón de 60 y 120 t ha⁻¹. Este efecto estuvo relacionado con la influencia de la enmienda orgánica en la mejora de la estructura, el aumento del pH y el contenido de carbono orgánico y la disminución de la saturación con Al del suelo.

Lima *et al.* (2007) observaron un aumento lineal de la producción de masa seca del pasto en función de las dosis de estiércol aplicadas. Los mayores rendimientos se obtuvieron con la aplicación de la dosis más alta de estiércol (20 t ha⁻¹), los cuales incluso superaron

significativamente al obtenido con la fertilización química. El abono orgánico aumentó el pH y los tenores de K, P y C del suelo.

De Souza *et al.* (2010) observaron que las producciones totales de materia seca y la acumulación de P en la parte aérea también fueron positivamente influenciadas por la fertilización orgánica. El estiércol también influyó positivamente en el efecto residual de la fertilización fosfatada, la nutrición con este elemento y el rendimiento del pasto.

El estiércol aporta cantidades importantes de bases, principalmente Ca, las cuales contribuyen a disminuir la acidez, al desplazar parte de los iones de H y Al adsorbidos en la superficie de las arcillas. Pero además de las sustancias orgánicas y la diversidad de microorganismos que se incorporan al suelo con el estiércol, la corrección de la acidez crea condiciones favorables para el incremento de la actividad de la biota edáfica, de modo que por esta vía, muchos elementos pasan a formas asimilables para las plantas (Van Kessel y Reeves, 2002; Naramabuye y Haynes, 2006; de Lima *et al.*, 2007; Helton *et al.*, 2008).

También de Souza *et al.* (2010), en un experimento realizado para evaluar la influencia del encalado y la aplicación de estiércol bovino sobre el efecto residual de la fertilización fosfatada en *B. brizantha*, observaron que la producción de biomasa y la acumulación de P en la parte aérea del pasto fueron significativamente mayores en los tratamientos donde se aplicó estiércol vacuno. De igual modo, el estiércol contribuyó a prolongar el efecto del fertilizante en la nutrición fosforada del cultivo.

La acción del estiércol, en relación con el aumento de la disponibilidad de nutrientes en el suelo, ocurre en función de su interacción con las arcillas, con las cuales forma el complejo argilo - húmico, responsable de la mejora de la capacidad de intercambio de bases, y especialmente del aumento de la disponibilidad de P (Eghball *et al.*, 2004; Makoi y Ndakidemi, 2008).

En relación con este elemento, Ourives *et al.* (2010) observaron que el uso del estiércol vacuno como fuente de fósforo para *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, pudo suplir al suelo y a la planta con niveles adecuados de este nutriente y sustituir totalmente a la fertilización fosfórica convencional, manteniendo la producción de masa seca del pasto.

Según Andrade (2003), David *et al.* (2008) y Matos (2008), las arcillas pueden adsorber ácidos orgánicos con gran energía, compitiendo con los sitios de adsorción de P y aumentando la disponibilidad de este nutriente para las plantas. También la MO puede originar ligandos orgánicos liberados durante el proceso de mineralización, que pueden formar complejos solubles con el P de la solución del suelo, evitando que sea adsorbido.

En este sentido, Nair y Graetz (2002) observaron que la materia orgánica influyó en la magnitud y velocidad de intercambio del fósforo en el suelo y mejoró su capacidad para acumular formas asimilables para las plantas. Por otra parte, la actividad de los microorganismos propicia la transformación del fósforo orgánico contenido en el suelo y en el abono hacia formas más asimilables para los cultivos (Helton *et al.*, 2008).

El proceso asociado a la descomposición del estiércol desempeña un papel importante en la mejora del estado físico del suelo, lo cual se manifiesta en la mejora de la estabilidad estructural, la reducción de la compactación superficial y en el incremento de los macroporos del suelo. Así, Herrick y Lal (1995) observaron que el estiércol incrementó la porosidad total en un 67% y redujo en un 10% la densidad aparente, y obtuvieron los mayores efectos en los primeros 7 cm del perfil del suelo; en la época lluviosa, la capacidad de infiltración del agua aumentó hasta en un 240%. Angers (1998) también observó mejoras en la formación y dinámica de los agregados estables al agua en suelos de estructura pesada, con la aplicación de estiércol y otros materiales orgánicos.

En general, los estiércoles no poseen una relación C:N elevada y por eso resulta difícil acumular fracciones orgánicas estables en el suelo cuando se emplean como abonos. Sin embargo, su aplicación sistemática tiende a mantener niveles adecuados de materia orgánica en el suelo, mejora el estado físico y asegura un suministro constante de nutrientes para las plantas (Saha *et al.*, 2007; Ofosu y Leitch, 2009).

No hay dudas de que la fertilización con estiércol vacuno es efectiva para el mejoramiento de los suelos y la nutrición de los pastos, y su uso se inscribe dentro de las estrategias para conservar la materia orgánica del suelo y de hecho, garantizar un adecuado almacenamiento de C (Monteny *et al.*, 2006). A partir del aumento creciente de los precios de los fertilizantes

químicos y de las implicaciones ambientales de su uso inadecuado, el estiércol vacuno vuelve a constituir uno de los recursos más importantes de los agroecosistemas ganaderos.

2.4. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Importancia para la nutrición de las plantas

Los HMA probablemente sean los hongos del suelo más abundantes en los sistemas agrícolas, donde pueden representar más del 30% de la masa microbiana del suelo (Olsson, 1999). Debido a esa ubicuidad, la simbiosis micorrízica ha sido considerada la más importante de todas las que involucran a las plantas. Esta asociación es simbiótica por el hecho de que los organismos coexisten en un mismo ambiente físico: raíz y suelo; mutualista porque en general ambos simbiontes se benefician de la asociación, ya que la planta supe al hongo con energía para su crecimiento y manutención vía productos fotosintéticos (Smith *et al.*, 2004; Cruz *et al.*, 2007), en tanto que el hongo provee a la planta de nutrientes y agua (Berbara *et al.*, 2006; Siddiqui *et al.*, 2008).

El papel de las micorrizas 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 el establecimiento de la simbiosis en el estado nutricional de la planta está íntimamente relacionada con el aumento del volumen de suelo que exploran las raíces (de hecho las hifas actúan como un sistema radical complementario altamente efectivo), con una mayor especificidad de los transportadores del hongo respecto a los de la planta y con la posibilidad de absorber nutrientes de fuentes minerales y orgánicas no disponibles para la propia planta (Clark y Zeto, 2000; 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 95 y 99% de las cantidades de este elemento presentes en el suelo se encuentran de formas no disponibles para las plantas (Smith *et al.*, 2004). El P es un macronutriente presente en el suelo en bajas concentraciones (principalmente en los suelos 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, 2009).

Las hifas de los HMA también 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). También se ha comprobado 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); no obstante, hasta hace poco se creía que las micorrizas arbusculares no eran una ruta importante para la absorción de N por las plantas debido a las pequeñas cantidades de este elemento que se pensaba recibían las plantas por esta vía (Reynolds *et al.*, 2005). Sin embargo, estudios recientes realizados por Leigh *et al.*, 2009, encontraron que los HMA capturaron grandes cantidades de N (hasta un tercio del N absorbido) procedente de fuentes orgánicas y lo transfirieron a la planta. Este hallazgo indicó que algunos HMA pueden adquirir N por esta vía.

Si bien el papel de los HMA en la mineralización de la materia orgánica aun no está muy documentado, estos microorganismos han sido encontrados formando arbusculos y vesículas dentro de la propia materia orgánica y absorbiendo el N mineral y aminoácidos procedentes de su descomposición (Aristizábal *et al.*, 2004; Hamel, 2004; Govindarajulu *et al.*, 2005). Por su parte, Hodge (2003) encontró que los HMA contribuyeron a la mineralización de la materia orgánica e incrementaron la absorción de N por las plantas. Otros estudios revelaron 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.

Teniendo en cuenta la necesidad de aumentar la eficiencia del uso de los fertilizantes debido al aumento sostenido de sus precios y al impacto ambiental negativo que producen cuando se aplican en cantidades que exceden los requerimientos de las plantas, el manejo de los hongos micorrízicos arbusculares se presenta como una opción válida e incluso necesaria, para mejorar la nutrición de los pastos y cultivos forrajeros (Covacevich *et al.*, 2007; Siddiqui *et al.*, 2008).

2.4.1. Funciones de los HMA 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. Son componentes integrales de la rizosfera, donde las plantas permanecen estrechamente asociadas mediante una red de hifas interconectadas que incrementan el volumen de suelo que exploran las raíces y de hecho garantizan un aprovechamiento más eficiente de los nutrientes y el agua, solubilizan los nutrientes que se encuentran en formas menos disponibles para las plantas, disminuyen el estrés que provocan las condiciones abióticas adversas como la acidez, la salinidad, la sequía, entre otros y protegen a las plantas contra los patógenos presentes en el suelo (Johnson *et al.*, 2003; Tanaka y Yano, 2005).

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 están directamente relacionadas con el suministro de nutrientes y agua a la planta hospedera. Según Miller *et al.* (1995), en los suelos cubiertos de pastizales las hifas extrarradicales forman una extensa red micelial 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 presentes en el

pastizal. 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 producción y estabilidad de la comunidad de plantas.
- 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.

Desde el inicio de el punto de vista de la nutrición, una abundante red de hifas interconectadas en el pastizal puede proveer de recursos adicionales y conducir al incremento de la producción y la estabilidad de la comunidad de plantas a partir del incremento de la superficie de absorción de nutrientes (Hartnett y Wilson 2002; Reynolds *et al.*, 2003). Adicionalmente, con el incremento de la superficie de absorción de las raíces, las plantas almacenan cantidades adicionales de nutrientes para su utilización posterior (Koide 1991), y así incrementar la estabilidad de la biomasa.

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 o cultivares de una misma especie así como su manejo, influyen decisivamente en estas variables (Leake *et al.*, 2004; Kanno *et al.*, 2006; Santos-González, 2007, Yang *et al.*, 2010).

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 de la humedad del suelo. Según estos autores, el crecimiento acelerado de las plantas durante ese período demanda una mayor cantidad de nutrientes y agua y por lo tanto, mayores cantidades de estructuras micorrízicas para acceder a tales recursos. Además, como el costo 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.

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 (van Aarle *et al.*, 2002; Johnson *et al.*, 2005; Mechri *et al.*, 2008; Gryndler *et al.*, 2009; Guo *et al.*, 2012). Por ejemplo, Peña-Venegas *et al.* (2007) encontraron que el pH y los contenidos de fosfatos minerales presentes en el suelo influyeron en la

diversidad y abundancia de esporas de HMA. 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 de la intensidad del uso de la tierra.

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, en particular, con la disponibilidad de P (Uhlmann *et al.*, 2004; Landis *et al.*, 2004; Kanno *et al.*, 2006; Bashan *et al.*, 2007; Lekberg *et al.*, 2007); de este modo, las condiciones del suelo 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). Los estudios se realizaron fundamentalmente con posturas de café y cultivos de raíces, tubérculos y hortalizas en los principales tipos de suelos del país.

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 su fertilidad asociada. Si bien en cierta medida se manifestó la especificidad cepa - cultivo, esta tuvo una menor importancia que la primera y 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. Las cepas *Glomus fasciculatum-like* y *G. etunicatum-like* tuvieron una alta

eficiencia en suelos relativamente ricos en nutrientes y materia orgánica; *Paraglomus occultum* y *G. mosseae-like* se comportaron mejor en suelos relativamente pobres en nutrientes y *G. mosseae* y *G. manihotis*, en suelos de mediana fertilidad.

El impacto del manejo de los pastizales en las perturbaciones de los 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 régimen de disturbio 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, la disponibilidad de recursos podría controlar las estructuras intra y extrarradicales porque la simbiosis micorrízica se encuentra integrada al sistema radical de los pastos y en última instancia está controlada por el suministro de carbono del hospedero. Entonces, la distribución de arbusculos e hifas extrarradicales podría ser reducida cuando los suelos han sido suficientemente fertilizados, ya que la entrega de los recursos del suelo a la planta hospedera a través de los HMA perdería importancia y en consecuencia, la planta distribuiría menos fotosintatos hacia las raíces para garantizar la simbiosis (Johnson *et al.*, 2003; Gustafson y Casper, 2004).

Si esta hipótesis es correcta, se puede predecir que la aplicación de N a los pastizales reduce las estructuras micorrízicas de los pastos si el P no constituye un nutriente limitante, pero las incrementa en aquellos pastizales deficientes en este elemento (Johnson *et al.*, 2003; Egerton-Warburton *et al.*, 2007).

Se ha demostrado que en suelos abastecidos de P, la fertilización nitrogenada 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 producir cambios en las poblaciones y comunidades de HMA (Bradley *et al.*, 2006).

Sin embargo, en suelos deficientes en P, la fertilización nitrogenada incrementa la demanda de este elemento y por consiguiente, el valor de las micorrizas para su absorción (Johnson *et al.*, 2003; Egerton-Warburton *et al.*, 2007, Delbem *et al.*, 2010). En este sentido, 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.

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. Los fertilizantes que aportan P soluble incrementan la concentración en la solución del suelo y en el tejido de las plantas y a la vez, decrecen las estructuras micorrízicas de las plantas como consecuencia de la disminución del papel de las micorrizas 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).

En este sentido, Covacevich *et al.* (2006) observaron que la fertilización con superfosfato triple o roca fosfórica incrementaron de forma similar el contenido de P disponible del suelo. La colonización y los propágulos micorrízicos decrecieron después de la fertilización con superfosfato triple pero no con la aplicación de roca fosfórica, de modo que esta fuente de P contribuyó a elevar los rendimientos del pasto y el trigo y a elevar el potencial micorrízico del suelo, maximizando el efecto del fertilizante.

Los fertilizantes orgánicos generalmente potencian la formación de propágulos de HMA (Muthukumar y Udaiyan, 2002; Ike-Izundu, 2007; da Silva *et al.*, 2008). La estimulación de los HMA por los abonos orgánicos puede atribuirse a la liberación de nutrientes asimilables como consecuencia de la propia mineralización de la materia orgánica, o a la presencia de ciertos compuestos orgánicos que estimulan a los HMA (Gryndler *et al.*, 2009). Joner (2000) en experimentos de larga duración informó que la formación de micorrizas fue mayor en suelos que no habían sido fertilizados con P durante 70 años, seguidos de aquellos que habían recibido 30 ó 60 Mg ha⁻¹ de abono orgánico. La menor actividad micorrízica se observó en los suelos que recibieron 25 o 44 kg de P ha⁻¹. Este autor también 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 del P de la fuente orgánica, más acorde con la demanda de las plantas.

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 (Celik *et al.*, 2004). Oehl *et al.* (2004) y Gosling *et al.* (2006), observaron un incremento de las poblaciones de HMA en suelos fertilizados frecuentemente con materiales orgánicos. Alguacil *et al.* (2009) observaron que la aplicación sistemática de residuos orgánicos a un suelo degradado, mejoró su actividad microbiana y en consecuencia, incrementó la diversidad de HMA. No obstante, el efecto del uso de fertilizantes orgánicos, solos o acompañados con fertilizantes químicos, 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).

A pesar del efecto positivo de la colonización micorrízica sobre el crecimiento de las plantas, es importante conocer cómo la aplicación de fertilizantes puede ser manejada usando las dosis y fuentes adecuadas para alcanzar un óptimo funcionamiento micorrízico. Se asume que los HMA juegan un papel importante en el crecimiento y la nutrición de las plantas en los pastos manejados convencionalmente, sin embargo, necesita conocerse cómo la fertilización afecta a los HMA en condiciones de campo (Johnson *et al.*, 2005; Covacevich *et al.*, 2006).

No hay dudas 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).

Se plantea que en los suelos pobres en P se desarrolla el micelio extrarradical mucho más que en los suelos abastecidos de este elemento y ello contribuye a estabilizar el sistema, pues las plantas hospederas quedan interconectadas, contribuyendo a reducir el estrés causado por el corte o el pastoreo. Además, el aumento de las estructuras micorrízicas 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).

Aunque el efecto del corte o el pastoreo en las estructuras micorrízicas suele depender de la planta hospedera (Lugo *et al.*, 2003; Grigera y Oesterheld, 2004), una alta frecuencia de defoliación puede contribuir a la disminución de la producción de biomasa y consecuentemente, 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. Si bien la micotrofia de los pastos suele ser influida por la de las plantas o cultivos precedentes, estos podrán ser más o menos intensamente colonizados en dependencia del grado de compatibilidad que se establezca entre las poblaciones de HMA y la especie de pasto sembrada (Belnap *et al.*, 2005).

La reducción de la diversidad de especies vegetales que ocurre cuando se establece una especie de pasto en monocultivo, puede reducir significativamente la diversidad de especies de HMA, llegando a prevalecer aquellas que mejor se adaptan al pasto pero no necesariamente las más eficientes para producir un funcionamiento micorrízico adecuado en el pastizal (Burrows y Pflieger; 2002; Egerton-Warburton., *et al.* 2007; Lingfei., *et al.* 2007).

Bingham y Biondini (2009) demostraron que la pérdida de la riqueza de especies de plantas influyó más sobre la reducción de la riqueza de especies de HMA, que otros factores

relacionados con las propias características de las plantas y los cambios producidos en el suelo por su cultivo. No obstante, a través del tiempo se siguen produciendo cambios en las comunidades de HMA debido a los cambios que impone el manejo de los pastos en las propiedades de los suelos y en las propias comunidades de plantas que lo conforman (Wilberforce *et al.*, 2003; Hawkes *et al.*, 2006).

2.4.2. Perspectivas del uso de los HMA en la recuperación de pastizales degradados

Según Van der Heijden (2010), las micorrizas contribuyen decisivamente a la reducción de la pérdida de los nutrientes en los pastizales. Este autor observó en tres pastizales micorrizados, formados cada uno por una especie de pasto, que las pérdidas de P y N se redujeron, en comparación con los pastizales formados por esas mismas especies de pastos pero en ausencia de inoculación. 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.

Los HMA son el componente principal de la microbiota del suelo en la mayoría de los agroecosistemas de pastizales (Johnson *et al.*, 2003; Johnson *et al.*, 2008), y dada las posibilidades de las micorrizas para absorber eficientemente los nutrientes, su manejo efectivo puede contribuir a reducir las elevadas dosis de fertilizantes que requieren los pastos (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 las cepas nativas que permanecen en el suelo no sean lo suficientemente efectivas para producir una respuesta agronómica importante en los cultivos. Esta puede considerarse agronómicamente exitosa si se logra establecer una población suficientemente alta para competir con los HMA residentes y obtener los beneficios deseados (Caravaca *et al.*, 2003; de Miranda *et al.*, 2008; Carneiro *et al.*, 2010).

Según Barbara *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.

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 y enmiendas 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 masa seca (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. También Fassio *et al.* (2008), observaron que la fertilización mineral combinada con la inoculación con HMA incrementó la producción de biomasa aérea de *Brachiaria brizantha* cv Marandú y contribuyó a la recuperación del pasto.

Si bien a partir de estos estudios se infiere que el manejo de la simbiosis micorrízica puede ser una estrategia promisoriosa para la mejora del estado nutricional y la productividad de los pastos con un gasto mínimo de insumos, algunos autores reconocen la necesidad de realizar investigaciones que conduzcan a la adopción de tecnologías dirigidas a maximizar el potencial de los HMA y su inclusión en los programas de establecimiento y recuperación de pastizales, sobre todo en áreas de baja productividad (Díaz y Garza, 2006; Delben *et al.*, 2010; Carneiro *et al.*, 2010).

3. Materiales y métodos

3.1. Localización de los experimentos, suelo y comportamiento de las variables meteorológicas

Para alcanzar los objetivos propuestos se realizaron dos experimentos de campo, el experimento 1 en la Microestación de Pastos y Forrajes, y el experimento 2 en la Vaquería 1, ambos situados en la Empresa Pecuaria Genética Niña Bonita, ubicada en el municipio de Bauta, provincia de Artemisa, sobre suelos del tipo Ferralítico Rojo Lixiviado (MINAG, 1999). Sus principales características químicas se presentan en la Tabla 1.

Tabla1. Características químicas de los suelos (profundidad: 0 - 20 cm)

Localidad	pH H ₂ O	MO (%)	P ₂ O ₅ (mg 100 g ⁻¹)	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	CCB
				(cmol _c kg ⁻¹)				
Microestación	6.4	3.34	2.0	8.9	2.1	0.19	0.35	11.54
± IC	0.2	0.33	0.6	0.8	0.3	0.02	0.03	0.76
Vaquería 1	6.2	3.27	2.3	9.9	2.0	0.15	0.32	12.37
± IC	0.4	0.37	0.8	0.9	0.4	0.03	0.06	0.81

MO: materia orgánica, CCB: capacidad de cambio de base, IC: intervalo de confianza ($\alpha = 0.05$).

Ambos suelos poseen características similares, con un pH ácido, contenido medio de materia orgánica y potasio intercambiable (K), contenidos muy bajos de calcio (Ca²⁺) y sodio (Na⁺) intercambiables, así como bajos contenidos de magnesio intercambiable (Mg²⁺) y una baja capacidad de intercambio de bases (CCB), según Paneque y Calaña, (2001). El fósforo asimilable (P₂O₅) presentó contenidos medios (MINAG, 1995).

El comportamiento de las variables meteorológicas durante el período en que se condujeron los experimentos se presenta en la figura 1.

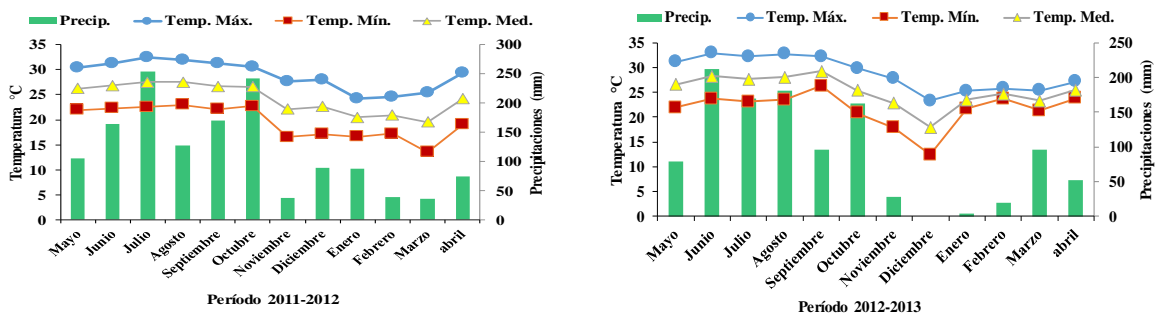


Figura 1. Comportamiento de las precipitaciones y las temperatura durante la etapa experimental.

Durante ambos años se observaron dos épocas bien definidas, una lluviosa (mayo - octubre), donde se acumuló como promedio, el 76.86% de las precipitaciones anuales y otra poco lluviosa (noviembre - abril), representando el 23.14 %. El promedio de precipitaciones anuales fue de 1207.85 mm. Entre mayo y octubre de cada año se registraron los mayores valores de las temperaturas máxima (32.4 - 32.9 °C), media (27.5 - 27.7 °C) y mínima (20.8 - 23.7 °C) (INSMET, 2012).

3.2. Descripción de los experimentos

3.2.1. Experimento. 1 Selección de cepas de HMA eficientes para el pasto guinea (*Panicum maximum*, cv. Likoni)

El trabajo se realizó desde junio de 2011 hasta febrero de 2012, en condiciones de secano, en un área de pastoreo con una superficie de 1 ha sembrada de guinea Likoni durante los últimos cinco años. En ese período, el área fue manejada con pastoreo rotacional, con tiempos de ocupación variables, en dependencia de la disponibilidad del pasto. El tiempo de reposo promedio fue de 28 días en la época de lluvia y 37 días en el período poco lluvioso y la carga global promedio fue de 1.5 Unidad de Ganado Mayor (UGM ha⁻¹). Este manejo garantizó un buen estado de conservación de la guinea, la cual ocupaba más del 95% de la composición botánica del pastizal al momento de la ejecución del experimento.

En el área se delimitaron 16 parcelas de 21 m² cada una, las cuales constituyeron la unidad experimental. En estas se distribuyeron los tratamientos que se muestran en la Tabla 2 utilizando un diseño cuadrado latino. Las cepas de HMA procedían de la colección del INCA.

Tabla 2. Descripción de los tratamientos del experimento 1.

No.	Cepa de HMA	Descriptor
1	Control	-
2	INCAM-4: <i>Glomus cubense</i>	(Y. Rodr. & Dalpé) (Rodríguez <i>et al.</i> , 2011)
3	INCAM -2: <i>Funneliformis mosseae</i>	Nicol. & Gerd.) Walker & Schüßler (Schüßler y Walker, 2010)
4	INCAM-11: <i>Rhizophagus intraradices</i>	(Schenck & Smith) Walker & Schüßler (Schüßler y Walker, 2010)

Para la inoculación de las cepas de HMA se utilizó el inoculante micorrízico EcoMic[®] producido en el INCA, con una concentración mínima de 20 esporas de la cepa a evaluar por

gramo de inoculante. Este se aplicó a razón de 20 kg ha⁻¹. Para ello se preparó una suspensión de inoculante micorrízico sólido y agua en una relación 1:10, la cual se distribuyó sobre el pasto al comienzo del experimento después de efectuarse un pastoreo profundo y la descompactación de la superficie del suelo con un tridente, para garantizar el descenso de las esporas que contenía el inoculante y su mayor contacto con el sistema radical de las plantas. La suspensión se aplicó con una mochila manual. No se aplicaron fertilizantes.

Posterior a la aplicación de los tratamientos, el pasto se mantuvo bajo un manejo similar al realizado antes de iniciarse el experimento. Las variables evaluadas fueron el porcentaje de colonización micorrízica, la densidad visual y el número de esporas en la rizosfera, así como la altura de las plantas, las concentraciones de macronutrientes (NPK) en la biomasa y el rendimiento de masa seca (MS). También se calculó el índice de eficiencia de las cepas de HMA y su participación en el incremento de las concentraciones de N, P y K de la biomasa aérea, cuyas variables fueron expresadas en porcentaje.

3.3. Experimento 2. Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización para la rehabilitación del pasto guinea Likoni

Este experimento se ejecutó desde junio de 2012 a febrero de 2013, en condiciones de secano, en un pastizal deteriorado de la Vaquería 1 de la EPG Niña Bonita con más de 20 años de explotación, pues la guinea Likoni representaba el 40% de su composición botánica y el resto lo ocupaban especies de bajo valor nutritivo para los animales. Se tomaron 6 cuarterones de 1 ha cada uno utilizando un diseño completamente aleatorizado con 10 repeticiones, se evaluaron los siguientes tratamientos (Tabla 3):

Tabla 3. Descripción de los tratamientos del experimento 2.

No.	Descripción
1	Testigo absoluto
2	Rehabilitación mecánica
3	Rehabilitación mecánica + 25 t ha ⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha ⁻¹ año ⁻¹ de N.
4	Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10 ⁵ esporas ha ⁻¹
5	Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10 ⁵ esporas ha ⁻¹ + 12.5 t ha ⁻¹ de estiércol vacuno + 70 kg ha ⁻¹ año ⁻¹ de N.
6	Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10 ⁵ esporas ha ⁻¹ + 25 t ha ⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha ⁻¹ año ⁻¹ de N.

Antes de aplicar los tratamientos, en cada cuartón se distribuyeron al azar 10 marcos de 1 m² cada uno, para evaluar la variabilidad del área experimental. En cada marco se determinó el rendimiento de MS del pasto y del número de macollas por m². El análisis de varianza indicó que no existieron diferencias significativas entre cuartones para ninguna de las variables evaluadas (Tabla 4), lo que demostró la homogeneidad en los cuartones seleccionados.

Tabla 4. Rendimiento del pasto y número de macollas m⁻² antes de aplicar los tratamientos.

Cuartón	MS (t ha ⁻¹)	No. macollas m ⁻²
1	1.76	3.4
2	1.82	3.2
3	1.77	3.5
4	1.81	3.3
5	1.78	3.1
6	1.80	3.0
ES	0.03	0.17

La rehabilitación mecánica se realizó mediante una labor de aradura a una profundidad de 20 cm, para lo cual se utilizó un arado ADI - 3 de tres discos, seguida del pase de una grada de 3500 kg (Crespo *et al.*, 2006; Sardiñas, 2010). En los tratamientos con el 100% de la fertilización orgánica y nitrogenada, se aplicó estiércol vacuno y urea, a razón de 25 t ha⁻¹ y 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, respectivamente. El N se distribuyó en dosis fraccionadas en un 50%, al inicio del experimento (junio de 2012) y al final del período lluvioso (octubre de 2012). Las características químicas del estiércol se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5. Características químicas del estiércol vacuno (%MS).

MO	N	Relación C:N	P	K	Ca	Mg	Na	pH	Humedad (%)
78.3	2.25	20.1	0.86	1.83	4.72	0.54	0.12	7.1	59.6

El estiércol procedía de la propia vaquería donde se realizó el experimento y tenía tiempo de deposición en el estercolero de cuatro meses. Este, conjuntamente con la primera fracción de la dosis de N, se aplicó sobre la superficie del pasto después de la labor de aradura; mediante una esparcidora mecánica de materia orgánica y de forma manual, respectivamente, y se incorporaron al suelo con el pase de grada. La segunda fracción de la dosis de N se aplicó también de forma manual y a voleo, después de un pastoreo.

Para la aplicación del inoculante micorrízico se utilizó la cepa de HMA más eficiente para el pasto, según los resultados del experimento anterior. Para ello se empleó el mismo procedimiento, pero en este caso el inoculante se adicionó después de la labor de aradura, junto con el estiércol y el fertilizante nitrogenado, de modo que también quedó incorporado al suelo con la grada. Después de las labores de rehabilitación, el primer pastoreo se realizó a los 70 días y posteriormente el pasto se manejó de igual modo que en el experimento anterior. Se evaluaron los porcentajes de colonización micorrízica, la densidad visual y el número de esporas 50 g^{-1} , el porcentaje del área del pastizal cubierta por la guinea, las concentraciones de macronutrientes (NPK) en la biomasa y el valor nutritivo del pasto, así como el rendimiento de masa seca (MS). También se evaluó el efecto de los tratamientos en las características químicas del suelo, a través del pH y los contenidos de MO, fósforo asimilable y cationes intercambiables del suelo.

3.4. Procedimiento general para los muestreos y mediciones

3.4.1. Rendimiento de masa seca (MS), concentraciones de macronutrientes en la biomasa de la parte aérea y valor nutritivo del pasto

En los dos experimentos, el rendimiento de masa seca se evaluó a los 70 y 270 días después de aplicados los tratamientos, coincidiendo con el período lluvioso y poco lluvioso, respectivamente, y previo a la entrada de los animales al pastoreo. En el experimento 1 se cosechó la masa verde (MV) de la parte aérea de todas las plantas que ocupaban las parcelas. En el experimento 2, en el área ocupada por cada tratamiento se distribuyeron al azar 10 marcos de 1 m^2 cada uno, los cuales constituyeron la unidad experimental y cuya MV también fue cosechada. En ambos casos se pesó la MV y se tomó una muestra de 200 g, la cual se llevó a una estufa de circulación de aire a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta alcanzar una masa constante, para determinar el porcentaje de masa seca (MS), de acuerdo con la fórmula siguiente:

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

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

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

Donde: f = factor para convertir el rendimiento de MS de kg parcela^{-1} a t ha^{-1} (0.48 para las parcelas de 21 m^2 del experimento 1; 10 para el marco de 1 m^2 utilizado en el experimento 2).

A las muestras secas en la estufa se le determinaron las concentraciones de N, P y K de la biomasa en ambos experimentos, y el contenido de proteína bruta (PB), la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) y el contenido de fibra neutra detergente (FND) en el experimento 2. Las concentraciones de N P K se determinaron como porcentaje de la masa seca, según los siguientes métodos analíticos (Paneque *et al.*, 2010):

La DMO se determinó según Kesting (1977), la FND, de acuerdo con Van Soest *et al.*, (1991) y la $\text{PB} = \text{N} \times 6.25$, según AOAC (1995).

En el segundo experimento se determinó el porcentaje del área del pastizal cubierta por la guinea a los 70 y 270 días después de aplicado los tratamientos según el método de t Mannetje y Haydock (1963).

3.4.2. Muestreo de raíces y determinaciones de las variables fúngicas

Al momento de la cosecha de la masa verde, de cada unidad experimental se tomaron 5 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, 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, de las cuales se extrajo 1 g de raicillas que después de lavadas, se secaron en estufa a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 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), según la metodología descrita por Trouvelot (1986). 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 $40 \text{ }\mu\text{m}$ de apertura, se separaron por centrifugación con sacarosa y Tween 80, se contaron con ayuda de una placa de conteo de nematodos y se observaron posteriormente en un estereomicroscopio óptico (40 - 50x).

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

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

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

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

3.4.3. Muestras y análisis de suelo y del abono orgánico

Se tomaron muestras de suelos al inicio de ambos experimentos y posteriormente a los 130 días en el experimento 2. En cada parcela del experimento 1 se tomaron 5 submuestras de suelo a una profundidad de 0 - 20 cm, para formar una muestra compuesta. En el experimento 2 se tomó una muestra de cada marco.

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 y determinación por espectrómetro UV - visible (NC 52, 1999).
- Capacidad de intercambio de bases (CCB): suma de las bases intercambiables, (Paneque y Calaña, 2001).

Para la caracterización química del estiércol vacuno se tomaron 5 muestras aleatorias al momento de su aplicación al pasto, a las que se les determinó el pH, y los contenidos totales de MO, N, relación C:N, P, K, Ca y Mg (Paneque *et al.*, 2010).

3.4.4. Procesamiento estadístico

El procesamiento estadístico de los datos se hizo mediante el análisis de varianza, de acuerdo con el diseño utilizado en cada experimento, y cuando se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, las medias se compararon según la d^ocima de Duncan (1955). En algunas variables, cuyos resultados se muestran en gráficos, se utilizó el intervalo de confianza de las medias ($\alpha = 0.05$) como criterio estadístico para su comparación (Payton *et al.*, 2000).

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). Se utilizó el programa estadístico SPSS 11.5 para Windows (SPSS, 2002).

3.4.5. Valoración económica

Para la valoración económica se compararon los costos de la fertilización del tratamiento donde se aplicó el 100% de las dosis de estiércol vacuno y fertilizante nitrogenado (variante que se utiliza en la EPG Niña Bonita para la rehabilitación de los pastos), con aquellos donde se combinó el inoculante micorrízico con las dosis de ambos abonos evaluadas en el experimento 2. Para ello se utilizaron los siguientes indicadores:

- Costos de la fertilización (CUP ha⁻¹): sumatoria de los gastos incurridos por la aplicación del abono orgánico, el fertilizante nitrogenado 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.
- Ahorro (CUP ha⁻¹): diferencia entre los costos de la fertilización de ambos tratamientos.

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.

Indicador	Unidad	Valor	Referencia
Costo de recolección, almacenaje y aplicación del estiércol vacuno	CUP t ⁻¹	8.50	Dirección de Economía EPG Niña Bonita (2012)
Precio de la urea	CUP t ⁻¹	297.88	MINCEX (2014)
Precio del inoculante micorrízico EcoMic [®]	CUP kg ⁻¹	2.50	Ficha de Costo EcoMic [®] INCA (2005)
Costo de las labores para la fertilización (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. Experimento 1. Selección de cepas de HMA eficientes para el pasto guinea (*Panicum maximum*, cv. Likoni)

La Tabla 7 muestra la influencia de la inoculación de las cepas de HMA sobre la altura y el rendimiento de la biomasa ($t\ MS\ ha^{-1}$), así como el índice de eficiencia de las cepas, el cual expresa, en términos porcentuales, su efecto en el incremento de la productividad del pasto con respecto al tratamiento sin inocular (testigo). A los 70 días después de aplicados los tratamientos, fecha que se enmarcó dentro del período lluvioso, todas las cepas de HMA aumentaron la altura y el rendimiento de la biomasa en relación con el testigo que no fue inoculado; sin embargo, el mayor efecto se obtuvo con *G. cubense*, el cual difirió significativamente del resto de los tratamientos. Esta cepa también mostró el mayor índice de eficiencia.

Tabla 7. Efecto de los tratamientos en la altura y el rendimiento de la biomasa del pasto e índices de eficiencia de las cepas de HMA.

Tratamientos	70 días			270 días		
	Altura (cm)	MS ($t\ ha^{-1}$)	IE (%)	Altura (cm)	MS ($t\ ha^{-1}$)	IE (%)
Testigo	71.3 c	2.53 c	-	34.5 b	1.75 b	-
<i>G. cubense</i>	112.5 a	3.95 a	56.1	53.9 a	2.51 a	43.4
<i>F. mosseae</i>	89.7 b	3.19 b	26.1	35.1 b	1.79 b	2.3
<i>R. intraradices</i>	91.2 b	3.13 b	23.7	34.7 b	1.82 b	4.0
ES	3.5**	0.43**	-	2.3**	0.28**	-

Cepas de HMA: *Glomus cubense*, *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices*. 70 días: época lluviosa, 270 días: época poco lluviosa. Índice de eficiencia (IE), masa seca (MS). **Medias con letras distintas en la misma columna difieren entre sí, según prueba de Duncan ($p < 0.05$).

A los 270 días, o sea, en el período poco lluvioso, no se encontró efecto de *F. mosseae* y *R. intraradices* en el crecimiento ni en la productividad del pasto, pues la altura y el rendimiento de la biomasa que se obtuvieron con la inoculación de ambas cepas fueron similares a las observadas en el testigo sin inocular, y ello también se reflejó en los bajos índices de eficiencia que alcanzaron ambas cepas. En esta fecha, solo *G. cubense* fue capaz de incrementar nuevamente ambas variables y exhibir el índice de eficiencia más alto, demostrando no solo su mayor efectividad, sino también una mayor permanencia en el pasto.

En todos los tratamientos, los valores absolutos de las variables medidas fueron mayores a los 70 días, con respecto al muestreo posterior.

El efecto de los tratamientos en las estructuras micorrízicas se evaluó a través de los indicadores colonización y densidad visual, los cuales reflejan el nivel de ocupación de la raíz de la planta hospedera por el hongo micorrízico y la intensidad de la colonización, respectivamente, así como por el número de esporas en 50 g de suelo. Como puede apreciarse en la Figura 2, las variables micorrízicas tuvieron un comportamiento similar al que se observó al evaluar la altura y el rendimiento de la biomasa. Es decir, si bien a los 70 días de aplicados los tratamientos todas las cepas de HMA incrementaron los niveles de colonización, densidad visual y el número de esporas en la rizosfera, los mayores valores de estas variables se alcanzaron con *G. cubense*, los cuales difirieron significativamente del resto.

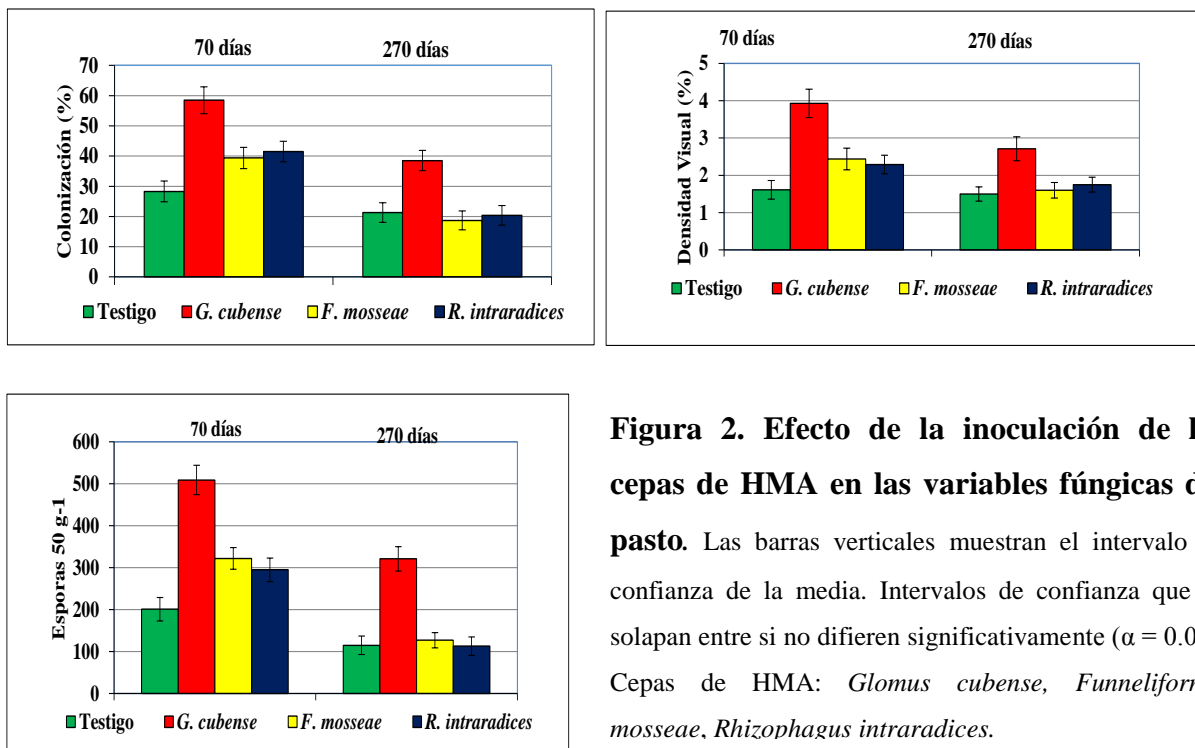


Figura 2. Efecto de la inoculación de las cepas de HMA en las variables fúngicas del pasto. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza de la media. Intervalos de confianza que se solapan entre si no difieren significativamente ($\alpha = 0.05$). Cepas de HMA: *Glomus cubense*, *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices*.

Ya a los 270 días, tanto *F. mosseae* como *R. intraradices* exhibieron porcentajes de colonización, densidad visual y número de esporas similares a los observados en el tratamiento testigo, el cual reflejó el nivel de ocupación radical de los HMA residentes, y ello indicó la desaparición del efecto de la inoculación de ambas cepas en las estructuras micorrízicas del

pasto. No obstante, la influencia de *G. cubense* permaneció hasta esta fecha, y aunque los valores de dichas variables fueron significativamente menores que los alcanzados a los 70 días, continuaron siendo más altos que en el resto de los tratamientos.

El efecto las cepas de HMA en las concentraciones de los macronutrientes primarios en la biomasa aérea del pasto se presentan en la Tabla 8. A los 70 días posteriores a la inoculación se observó que todas las cepas incrementaron las concentraciones de N P K, sin embargo, los mayores valores de ambos nutrientes se alcanzaron con *G. cubense*.

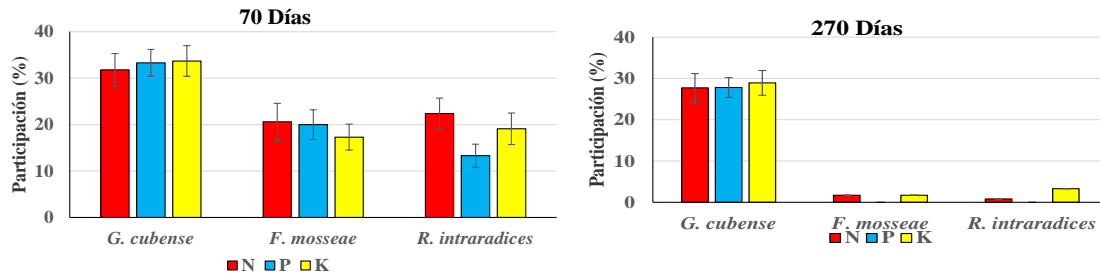
Las cepas de HMA también tuvieron un comportamiento diferenciado en el tiempo, pues al igual que el rendimiento de la biomasa y en las variables micorrízicas, a los 270 días después de aplicados los tratamientos, sólo con la inoculación de *G. cubense* se logró un incremento significativo de las concentraciones de estos nutrientes en la biomasa.

Tabla 8. Efecto de la inoculación de las cepas de HMA en las concentraciones (%) de macronutrientes primarios en la biomasa aérea del pasto.

Tratamientos	70 días			270 días		
	N	P	K	N	P	K
Testigo	1.07 c	0.16 c	1.10 c	1.19 b	0.18 b	1.21 b
<i>G. cubense</i>	1.41 a	0.22 a	1.47 a	1.52 a	0.23 a	1.56 a
<i>F. mosseae</i>	1.29 b	0.19 b	1.29 b	1.21 b	0.17 b	1.23 b
<i>R. intraradices</i>	1.31 b	0.19 b	1.31 b	1.20 b	0.18 b	1.25 b
ES	0.04**	0.01**	0.03**	0.03**	0.01**	0.02**

Cepas de HMA: *Glomus cubense*, *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices*. **Medias con letras distintas en la misma columna difieren entre sí, según prueba de Duncan ($p < 0.05$).

De igual modo, *G. cubense* tuvo una mayor participación en la nutrición nitrogenada, fosfórica y potásica del pasto (Figura 3). O sea, tanto a los 70 como a los 270 días, esta cepa produjo los mayores incrementos en las concentraciones de esos nutrientes en la biomasa en relación con el testigo sin inocular, los cuales oscilaron entre 27 y 33%. *F. mosseae* y *R. intraradices* sólo lograron aumentar los tenores de N, P y K entre 17 y 21% a los 70 días y ya a los 270 días, prácticamente no participaron en la nutrición del pasto.



Las barras verticales muestran el intervalo de confianza de la media. Intervalos de confianza que se solapan entre sí no difieren significativamente ($\alpha = 0.05$). Cepas de HMA: *Glomus cubense*, *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices*.

Figura 3. Participación de las cepas de HMA en el incremento de las concentraciones de N, P y K en la biomasa área del pasto.

Al analizar de forma integral los resultados obtenidos en este experimento, se observó que la respuesta del pasto a la inoculación de HMA dependió de la efectividad de la cepa, hecho que concuerda con lo observado por otros investigadores al evaluar el efecto de la introducción de especies de HMA en gramíneas forrajeras (Carneiro *et al.*, 2007; de Miranda *et al.*, 2008; González *et al.*, 2010) y que parece estar asociado a la existencia de diferentes grados de compatibilidad funcional entre la planta hospedera y el hongo.

En este sentido, Cornejo (2006) argumenta que aunque no existe evidencia de una especificidad estricta hongo - planta, no todas las especies de HMA colonizan con la misma intensidad y eficiencia las distintas especies vegetales, quedando demostrada 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.

Tampoco puede descartarse la influencia del suelo en la efectividad de la cepa introducida, pues los estudios de inoculación de HMA realizados en Cuba en diferentes cultivos y condiciones edáficas, han demostrado la existencia de una alta compatibilidad cepa eficiente de HMA - tipo de suelo, así como una baja especificidad cepa de HMA eficiente - planta hospedera, en la respuesta de los cultivos a la inoculación micorrízica arbuscular (Rivera *et al.*, 2007).

Por otra parte, González (2014) al evaluar la influencia de la inoculación de cepas de HMA en pastos del género *Brachiaria* cultivados en un suelo Ferralítico Rojo Lixiviado obtuvo

resultados similares a los alcanzados en este experimento, pues encontró que *G. cubense* fue la cepa más eficiente para mejorar el rendimiento y el estado nutricional de los pastos, corroborando además, la existencia de la alta compatibilidad cepa eficiente - tipo de suelo señalada anteriormente.

El efecto de *G. cubense* en el incremento del rendimiento de la biomasa del pasto estuvo relacionado con la mejora de su estado nutricional. Ello se hizo evidente tanto por las mayores concentraciones de N, P y K en la biomasa aérea que se alcanzaron como resultado de su inoculación, así como por su mayor participación en el incremento de las concentraciones de estos elementos, en relación con el resto de las cepas evaluadas.

En relación con la participación de las cepas de HMA en la nutrición del pasto, se observó que tanto a los 70 como a los 270 días después de la inoculación, *G. cubense* contribuyó de manera muy similar, en términos cuantitativos, al incremento de las concentraciones de N, P y K en la biomasa de la parte aérea del pasto. Tal comportamiento parece estar estrechamente relacionado con el efecto de la cepa seleccionada en el aumento del aprovechamiento de los nutrientes del suelo, así como con las propias necesidades del pasto, pues este se cultivó en un suelo con bajos tenores de P asimilable y K intercambiable, así como con tenores de N que, a juzgar por su contenido de MO, resultan insuficientes para las gramíneas forrajeras (Santos *et al.*, 2009; Costa *et al.*, 2009; Heinrichs *et al.*, 2010).

En este sentido, 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).

Estos resultados también refuerzan lo planteado por de Miranda *et al.* (2008) y Carneiro *et al.* (2010), quienes argumentaron que la introducción de cepas de HMA eficientes 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 pastos.

De acuerdo con los resultados de este experimento, *G. cubense* resultó la cepa de HMA más eficiente para incrementar la productividad y las concentraciones de nutrientes en la biomasa de la parte aérea del pasto, y el efecto de su inoculación se mantuvo al menos hasta los 270 días después de su inoculación.

4.2. Experimento 2. Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización para la rehabilitación del pasto guinea Likoni

Para una mayor comprensión del efecto de la inclusión de la cepa de HMA seleccionada en las labores de rehabilitación del pasto resulta conveniente evaluar, en primer término, las modificaciones que produjeron los tratamientos en las características químicas del suelo, por su posible influencia en el comportamiento del resto de los indicadores evaluados.

Como puede observarse en la Tabla 9, el estiércol vacuno incrementó significativamente el pH, así como los contenidos de materia orgánica (MO), P₂O₅ asimilable, y Ca, Mg y K intercambiables, observándose los mayores efectos con la dosis más alta (25 t ha⁻¹). No obstante, con la aplicación 12.5 t ha⁻¹, aunque no se observaron cambios en el pH ni en los contenidos de Ca y Mg intercambiables, se obtuvieron valores de MO, P₂O₅ asimilable y K intercambiable significativamente mayores que en los tratamientos donde no se aplicó el estiércol. El resto de los tratamientos no tuvo efectos en las características químicas del suelo.

Tabla 9. Efecto de la fertilización orgánica sobre las características químicas del suelo.

Tratamientos	pH	MO (%)	P ₂ O ₅ (mg 100g ⁻¹)	Ca	Mg	K
	H ₂ O			(cmolc kg ⁻¹)	(cmolc kg ⁻¹)	
1	6.4 b	3.25 c	2.1 c	9.3 b	2.0 b	0.32 c
2	6.3 b	3.19 c	2.2 c	9.1 b	1.9 b	0.33 c
3	6.9 a	3.82 a	3.4 a	10.5 a	2.9 a	0.55 a
4	6.3 b	3.21 c	2.0 c	9.4 b	2.1 b	0.35 c
5	6.7 ab	3.59 b	2.6 b	10.0 ab	2.5 ab	0.41 b
6	6.9 a	3.85 a	3.5 a	10.8 a	3.0 a	0.57 a
ES	0.1**	0.12**	0.2**	0.2**	0.1**	0.03**

Tratamientos: 1-Testigo absoluto, 2- Rehabilitación mecánica, 3- Rehabilitación mecánica + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, 4- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹, 5- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 12.5 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 70 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, 6- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N. **Medias con letras distintas en la misma columna difieren significativamente entre sí, según prueba de Duncan (p<0.05).

El efecto del estiércol vacuno en las características químicas del suelo se correspondió con su aporte de MO y nutrientes. De acuerdo con su composición química (Tabla 5), se puede inferir que este incorporó cantidades importantes de MO, P, Ca, Mg y K, que sin dudas contribuyeron a incrementar los contenidos de estos elementos en el suelo, sobre todo con la aplicación de la dosis más alta. En este sentido, Ourives *et al.* (2010); de Souza *et al.* (2010) y Sotomayor-Ramírez *et al.* (2010), plantearon que las buenas cualidades del estiércol vacuno como mejorador de las características químicas del suelo, radican fundamentalmente en que está constituido por sustancias orgánicas cuya rápida descomposición a través de los microorganismos, conjuntamente con su propio aporte de elementos minerales, pone a disposición de las plantas cantidades considerables de macro y micronutrientes, prácticamente desde el momento de su incorporación.

Crespo y Arteaga (1986) encontraron entre un 10 y un 85% de los contenidos totales de los macronutrientes primarios del estiércol vacuno, constituyeron fracciones asimilables para las plantas.

Según Butler y Muir (2006) y Helton *et al.* (2008), la contribución de los fertilizantes orgánicos al incremento de la disponibilidad de nutrientes en el suelo debe enfocarse básicamente desde dos puntos de vista; el primero y más evidente es que este constituye una fuente directa de macro y micro nutrientes a través de la mineralización; y el segundo, se refiere a la participación de las propias sustancias orgánicas en los procesos que mejoran la disponibilidad de los nutrientes del suelo.

Estos resultados coinciden con los encontrados por Obour *et al.* (2009) y de Souza *et al.* (2010), quienes al utilizar estiércol vacuno como fuente de abono orgánico para los pastos, observaron incrementos de los contenidos de materia orgánica, así como del nitrógeno, el fósforo y el potasio asimilables y los cationes intercambiables del suelo, al menos a los 90 días después de su aplicación.

En relación con el efecto de los tratamientos en la rehabilitación del pasto, se observó que las labores culturales favorecieron, tanto el porcentaje del área cubierta por la guinea como la altura de las plantas y el rendimiento de biomasa de la parte aérea (Tabla 10). El uso del arado y la grada solamente (tratamiento 2), incrementó significativamente estos tres indicadores en

relación con el testigo que no fue rehabilitado (tratamiento 1), lo cual coincidió con lo encontrado por Crespo *et al.* (2006) y Sardiñas *et al.* (2011) al emplear ambas labores mecánicas para la rehabilitación de pastizales de guinea Likoni e indicó, al decir de estos propios autores, su contribución a la recuperación de pastizales degradados.

Tabla 10. Efecto de los tratamientos en las variables agronómicas del pasto.

Tratamientos	70 días			270 días		
	Área cubierta (%)	Altura (cm)	Rendimiento (t MS ha ⁻¹)	Área cubierta (%)	Altura (cm)	Rendimiento (t MS ha ⁻¹)
1	42.7 d	61.7 d	1.81 d	36.7 d	29.7 d	0.97 d
2	62.7 c	73.2 c	3.02 c	58.3 c	37.9 c	1.93 c
3	79.3 a	103.1 a	6.13 a	78.2 a	51.4 a	4.51 a
4	71.7 b	88.5 b	4.20 b	67.9 b	45.3 b	2.83 b
5	81.5 a	101.9 a	5.91 a	79.7 a	52.7 a	4.82 a
6	78.7 a	100.6 a	6.22 a	78.3 a	51.1 a	4.75 a
ES	1.57**	2.72**	0.38**	1.48**	1.58**	0.29**

Tratamientos: 1-Testigo absoluto, 2- Rehabilitación mecánica, 3- Rehabilitación mecánica + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, 4- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹, 5- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 12.5 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 70 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, 6- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N. **Medias con letras distintas en la misma columna difieren significativamente entre sí, según prueba de Duncan (p<0.05).

El efecto beneficioso del arado y la grada en la rehabilitación del pasto puede atribuirse a la mejora de las propiedades físicas del suelo, las cuales, debido al manejo inadecuado del pastoreo y a la no aplicación de labores culturales de mantenimiento durante todo su ciclo de vida, pudieron deteriorarse en el transcurso del tiempo, conduciendo a la compactación por el pisoteo excesivo de los animales, y consecuentemente, la disminución del rendimiento y de la vida útil del pastizal (Ydoyaga *et al.*, 2006; Betancourt *et al.*, 2007).

Crespo *et al.* (2006) encontraron que el uso de las labores de aradura más grada para la rehabilitación de un pastizal de guinea Likoni, mejoró las propiedades físicas del suelo y consecuentemente, la composición botánica y el rendimiento de la biomasa de la especie mejorada. En este sentido, Lok (2005) señala que las propiedades físicas del suelo determinan, en mayor medida, la estabilidad y productividad de los pastizales.

Tampoco puede descartarse que la mejora del área cubierta por la guinea y el incremento del rendimiento del pasto haya sido también el resultado del efecto indirecto de las labores

mecánicas sobre el aumento de la población de esta especie, ya que al removerse la capa superficial del suelo se crean las condiciones necesarias para la emergencia de las semillas de esta especie, que con el tiempo se van depositando e incorporando al suelo con el propio pisoteo de los animales (Crespo *et al.* 2006).

Pero las propias labores mecánicas pudieron haber contribuido a reducir la infestación de arvenses y de hecho, a aumentar la presencia de la guinea en el pastizal, tanto por la remoción física de las plantas invasoras como por la eliminación de sus propágulos o semillas (Sardiñas *et al.*, 2011).

Otro aspecto importante que contribuye a la rehabilitación lo constituye el efecto de las labores mecánicas sobre la poda del sistema radical en la fisiología y multiplicación agámica de la guinea likoni.

Según Giacomini *et al.* (2005), las labores de arado y grada contribuyen a seccionar las macollas de la guinea y esto hace que los puntos de crecimiento, tanto de las raíces como de los tallos se multipliquen, contribuyendo de manera significativa a la repoblación del pastizal con la especie mejorada. Esto es muy importante ya que después del pastoreo o del corte, al eliminarse gran parte de la biomasa aérea, el pasto debe emitir nuevas raíces en función de acceder a los nutrientes del suelo para recuperar nuevamente su biomasa aérea y con ella su actividad fotosintética. Entonces, cualquier labor como el arado y la grada que contribuya a aumentar los puntos de crecimiento del sistema radical pueden aumentar la superficie de contacto de las raíces con el suelo, favorecer la absorción de los nutrientes y el agua y consecuentemente, estimular el crecimiento de la biomasa aérea (Volpe *et al.*, 2008).

Las labores mecánicas acompañadas de las aplicaciones de 25 t de estiércol ha⁻¹ y de 100 kg N ha⁻¹ incrementaron significativamente el porcentaje de la guinea en la composición botánica del pastizal, así como la altura de las plantas y el rendimiento de la biomasa en relación con las labores mecánicas solamente (tratamiento 3), lo que ratificó el efecto beneficioso del estiércol en las características del suelo, observado en la tabla anterior, y evidenció la necesidad de un suministro adecuado de nutrientes para la recuperación de los pastos degradados, señalados por Padilla *et al.* (2008) y Costa *et al.* (2009). O sea, la rehabilitación fue más efectiva cuando a los beneficios ya señalados de la remoción de la capa superficial del

suelo mediante las labores mecánicas, se sumó el efecto de la adición de nutrientes, cuya influencia en el crecimiento de la guinea sin dudas contribuyó a su rápida recuperación.

El empleo del estiércol vacuno y de fertilizantes minerales solos o combinados, como parte de las labores culturales para la rehabilitación de pastizales ha sido estudiado por numerosos autores, y todos reconocen sus beneficios en la mejora del estado nutricional de las plantas y consecuentemente, en la mejora de la composición botánica y de la productividad del pasto mejorado (Crespo y Fraga, 2005; Sardiñas *et al.*, 2005; Padilla *et al.*, 2008).

La inclusión del inoculante micorrízico formulado con una cepa eficiente de HMA en las labores para la rehabilitación del pasto, mejoró los indicadores evaluados (tratamiento 4), cuyos valores fueron significativamente mayores que los que se alcanzaron con las labores mecánicas solamente (tratamiento 2); sin embargo, los mayores efectos se obtuvieron cuando se combinó con la adición del 50 y el 70% de las dosis de estiércol vacuno y fertilizante nitrogenado, respectivamente (tratamiento 5), los cuales no difirieron de los alcanzados con la aplicación del 100% de ambos fertilizantes (tratamiento 3).

Con el inoculante micorrízico combinado con la adición del 100% de las dosis de estiércol vacuno y el fertilizante nitrogenado (tratamiento 6), la altura del pasto mejorado, así como su porcentaje dentro de la composición botánica del pastizal y su rendimiento de biomasa, tampoco difirieron de los que se obtuvieron con el tratamiento 3.

El efecto beneficioso de la inoculación micorrízica en el incremento de la altura de las plantas y en la mejora del porcentaje del área cubierta por el pasto mejorado, así como en el aumento del rendimiento de la biomasa, a juzgar por los resultados del experimento anterior, pudo estar relacionado con la influencia de la cepa introducida en la mejora del estado nutricional de las plantas. La adición de cepas eficientes de HMA puede incrementar la efectividad de la absorción de los nutrientes del suelo y de los fertilizantes, y ello se traduce en un incremento de la producción de biomasa del pasto (Fassio *et al.*, 2008; González, 2014).

Tales beneficios también pudieran explicar el hecho de que con la inoculación micorrízica, conjuntamente con la adición de cantidades menores de fertilizantes minerales y orgánicos, se puedan obtener resultados similares a los alcanzados con la aplicación de dosis mayores de ambos abonos en ausencia de inoculación, resultados que concuerdan con los encontrados por

González *et al.* (2011) y Ramírez *et al.* (2012) al incluir la aplicación de inoculantes micorrízicos y fertilizantes minerales u orgánicos en las labores para el establecimiento y la rehabilitación de pastizales, respectivamente.

El efecto de las labores de rehabilitación en la altura de las plantas, el porcentaje del área cubierta por lagúnea y el rendimiento del pasto se observó tanto a los 70 como a los 270 días después de la aplicación de los tratamientos, y ello indicó no solo que los métodos culturales empleados para la recuperación del pastizal fueron efectivos en el tiempo, sino también que el manejo al que se sometió el pasto una vez recuperado (tiempos de reposo de 28 y 37 días en el período lluvioso y poco lluvioso, respectivamente, y carga global de 1.5 UGM ha⁻¹) fue adecuado para mantener su productividad, al menos durante el tiempo evaluado.

Los menores valores absolutos que alcanzaron la altura de las plantas, el porcentaje de la guinea dentro del pastizal y el rendimiento de la biomasa a los 270 días después de la rehabilitación, en relación con el primer muestreo (a los 70 días), pueden atribuirse a las diferentes condiciones meteorológicas que existieron en una y otra épocas (ver Figura 1), pues el primero se realizó el período lluvioso y el segundo, en el poco lluvioso.

Se conoce que la producción de biomasa de la mayoría de las gramíneas forrajeras tropicales, entre las que se incluye la guinea, tiene un carácter estacional, ya que los mayores índices de crecimiento lo alcanzan durante la época donde concurren los mayores niveles de precipitaciones, temperaturas y luminosidad (Benítez *et al.*, 2007; Costa *et al.*, 2008).

En relación con el comportamiento de las variables fúngicas (Figura 4), se observó que la aplicación del inoculante micorrízico incrementó los porcentajes de colonización, densidad visual y el número de esporas en la rizosfera con respecto a los tratamientos que no fueron inoculados; sin embargo, estas variables alcanzaron los mayores valores con la aplicación conjunta del inoculante micorrízico más 12.5 t ha⁻¹ de estiércol vacuno y 70 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N. Cuando se inoculó la cepa de HMA y se adicionó el 100% de las dosis de ambos fertilizantes, tales indicadores disminuyeron hasta alcanzar valores similares a los observados en los tratamientos no inoculados, lo que evidenció el efecto depresivo de las dosis más altas de ambos abonos en las variables micorrízicas.

Los porcentajes de colonización, densidad visual y el No. de esporas fueron significativamente mayores a los 70 días después de aplicados los tratamientos que a los 270 días.

De acuerdo con el comportamiento de las variables fúngicas, la influencia de la inoculación micorrízica en la reducción de las dosis de fertilizantes necesarias para obtener los mayores efectos en la rehabilitación del pasto, confirma el efecto de la cepa de HMA introducida en la mejora del aprovechamiento de los nutrientes, en virtud del mayor volumen de suelo que pudieron explorar las raíces. Esto se infiere a partir de la influencia del inoculante micorrízico en el incremento de tales variables, sobre todo en el tratamiento donde se aplicó el 50 y el 70 % de la fertilización orgánica y nitrogenada, respectivamente, y con el cual la guinea alcanzó la mayor altura y presencia entre las especies vegetales que poblaron el pastizal, así como el mayor rendimiento de la biomasa aérea.

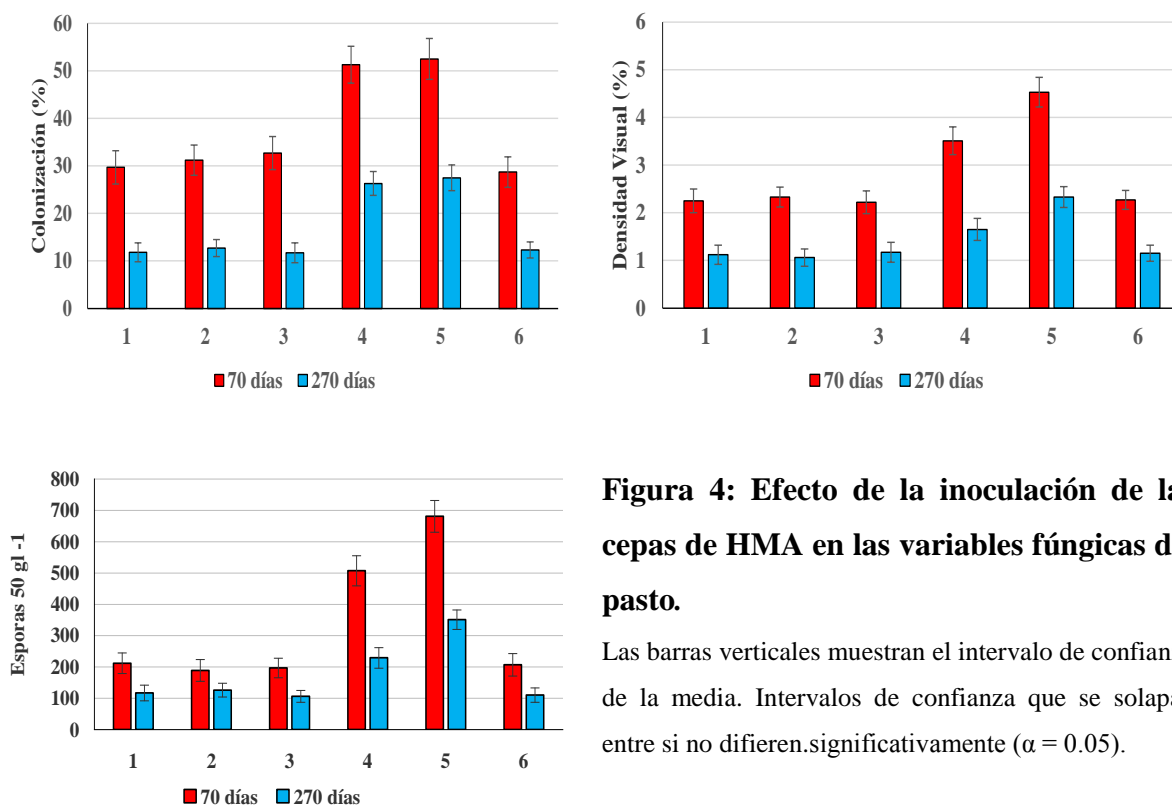


Figura 4: Efecto de la inoculación de las cepas de HMA en las variables fúngicas del pasto.

Las barras verticales muestran el intervalo de confianza de la media. Intervalos de confianza que se solapan entre sí no difieren significativamente ($\alpha = 0.05$).

Tratamientos: 1-Testigo absoluto, 2- Rehabilitación mecánica, 3- Rehabilitación mecánica + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, 4- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹, 5- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 12.5 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 70 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, 6- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N.

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 (Covacevich *et al.*, 2006), e incluso a aquellos que se encuentran formando parte de los compuestos orgánicos del estiércol (da Silva *et al.*, 2008; Gryndler *et al.*, 2009), también pudieran explicar la influencia de la cepa introducida en la reducción de las dosis de fertilizantes a aplicar a los pastos.

De igual modo, los porcentajes más bajos de colonización y densidad visual, y el menor número de esporas que se observaron en el tratamiento donde se aplicó el inoculante, conjuntamente con las mayores dosis de ambos fertilizantes, puede ser consecuencia de la disminución del papel de las micorrizas en la absorción de nutrientes ante una cantidad elevada de fertilizantes, tal como lo observaron Lima *et al.* (2007) y Carneiro *et al.* (2010).

Las variables micorrízicas presentaron variaciones estacionales al igual que el rendimiento del pasto, y ello, según Mandyam y Jumpponen, (2008) y Yang *et al.* (2010), puede explicarse por el hecho que durante la época de lluvias ocurre un rápido crecimiento del pasto, por las razones ya expuestas, lo que implica 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 de las plantas a tales recursos.

Las labores culturales influyeron significativamente en el estado nutricional del pasto (Tabla 11). La rehabilitación mediante el arado y la grada solamente, incrementó las concentraciones de N, P y K en la biomasa de la parte aérea debido, probablemente, al incremento de la guinea dentro del área cubierta por el pastizal, en detrimento de otras especies de escaso valor nutritivo, y también al aumento de la disponibilidad de nutrientes, que aunque no se detectó en el análisis del suelo, pudo haber sido inducido por las propias labores al acelerar la descomposición de la hojarasca y otros residuos presentes en el pastizal.

Sin embargo, las mayores concentraciones de nutrientes en la biomasa se alcanzaron cuando las labores mecánicas se acompañaron de la aplicación de 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno y 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, o de la inoculación de la cepa de HMA eficiente más la aplicación, en ese orden, del 50 y 70% de las dosis de ambos abonos.

Tabla 11. Efecto de los tratamientos en las concentraciones (%) de N, P y K en la biomasa de la parte aérea del Pasto.

Tratamientos	70 días			270 días		
	N	P	K	N	P	K
1	1.01 d	0.11 c	1.05 d	1.13 d	0.13 c	1.11 d
2	1.15 c	0.16 b	1.19 c	1.27 c	0.19 b	1.30 c
3	1.51 a	0.20 a	1.52 a	1.63 a	0.23 a	1.67 a
4	1.29 b	0.19 a	1.31 b	1.41 b	0.24 a	1.42 b
5	1.49 a	0.21 a	1.47 a	1.61 a	0.22 a	1.69 a
6	1.50 a	0.20 a	1.50 a	1.57 a	0.23 a	1.61 a
ES	0.03**	0.01**	0.02**	0.04**	0.01**	0.03**

Tratamientos: 1-Testigo absoluto, 2- Rehabilitación mecánica, 3- Rehabilitación mecánica + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, 4- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹, 5- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 12.5 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 70 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, 6- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N. **Medias con letras distintas en la misma columna difieren significativamente entre sí, según prueba de Duncan (p<0,05).

El efecto de los tratamientos en las concentraciones de macronutrientes en la biomasa de la parte aérea del pasto también se observó tanto a los 70 como a los 270 días después de su aplicación.

En cuanto al valor nutritivo del pasto (Figura 5), aunque no existieron diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento donde se aplicaron las labores mecánicas para los indicadores fibra neutra detergente (FND) y digestibilidad de la materia orgánica (DMO), se constató un efecto beneficioso de estas labores en el contenido de proteína bruta (PB), en correspondencia con el aumento de las concentraciones de N en la biomasa de la parte aérea que se observó en este tratamiento.

No obstante, los mejores resultados se obtuvieron cuando las labores mecánicas se combinaron con la aplicación de las mayores dosis de estiércol y fertilizante nitrogenado, con la adición del inoculante micorrízico más la aplicación del 50 y el 70% de la dosis de estiércol vacuno y fertilizante nitrogenado, respectivamente, o con la adición del 100% de ambos fertilizantes, ya que con estos tratamientos el pasto alcanzó los mayores tenores de PB y de DMO, así como los menores contenidos de FND, El efecto de los tratamientos en el valor nutritivo del pasto se observó en los dos momentos de muestreo.

La mejora del valor nutritivo del pasto, también estuvo en correspondencia con la mejora que en su estado nutricional provocaron las adiciones de las dosis más altas de estiércol y fertilizante nitrogenado, o del inoculante micorrízico con dosis menores de ambos abonos, La fertilización, fundamentalmente la nitrogenada, ya sea procedente de fuentes minerales u orgánicas, 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; Moreira *et al.*, 2009).

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).

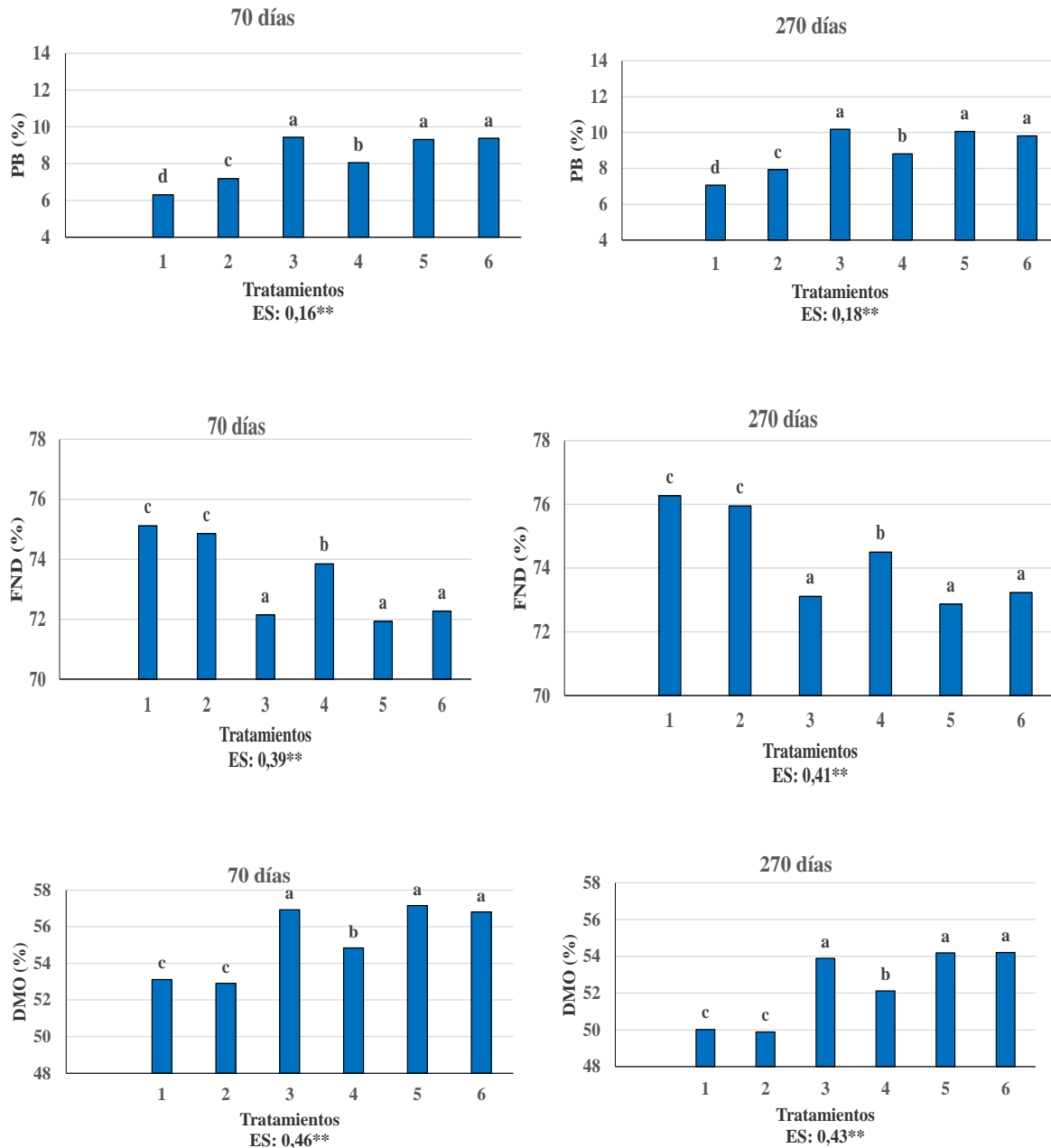


Figura 5: Efecto de los tratamientos en el valor nutritivo del pasto, PB (proteína bruta), FND (fibra neutro detergente), DMO (digestibilidad de la materia orgánica).

Tratamientos: **1-**Testigo absoluto, **2-** Rehabilitación mecánica, **3-** Rehabilitación mecánica + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, **4-** Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹, **5-** Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 12.5 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 70 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, **6-** Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N. Medias con letras distintas difieren significativamente entre sí, según prueba de Duncan (p<0,05).

Sin embargo, lo más interesante fue que con la adición del inoculante micorrízico más la adición de dosis más bajas del fertilizante mineral y abono orgánicos, los indicadores evaluados alcanzaron valores similares a los que se obtuvieron con las adiciones de dosis más altas de ambos abonos en ausencia de inoculación, de modo que la disminución de la fertilización que se obtuvo con el empleo del inoculante no implicó una reducción del valor nutritivo de la biomasa del pasto.

4.3. Consideraciones económicas sobre la inclusión de la inoculación micorrízica arbuscular en las labores para la rehabilitación del pasto

En la tabla 12 se observan los costos de la fertilización de los tratamientos donde se aplicaron el abono orgánico y el fertilizante nitrogenado, solos y combinados con la inoculación del micorrízica. La aplicación de 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno y de 100 kg ha⁻¹ N, implicó un costo de 212.50 y 83.29 CUP ha⁻¹, respectivamente, y un costo global de 295.79 CUP ha⁻¹. Sin embargo, con la inoculación de *G. cubense* más la adición de 12.5 t ha⁻¹ de estiércol y de 70 kg N ha⁻¹, los costos de la fertilización se redujeron, en ese orden, a 106.25 y 63.87 CUP ha⁻¹, y a pesar de que hubo que erogar 50 CUP ha⁻¹ para la adquisición del inoculante micorrízico, el costo total de esta variante de fertilización para la rehabilitación del pasto fue solo de 220.12 CUP ha⁻¹.

Tabla 12. Costos de la fertilización para la rehabilitación de la guinea

Tratamientos fertilizados	Rendimiento acumulado* (t MS ha ⁻¹)	Fertilización orgánica (CUP ha ⁻¹)	Fertilización nitrogenada (CUP ha ⁻¹)	EcoMic® (CUP ha ⁻¹)	Costo total (CUP ha ⁻¹)	Ahorro (CUP ha ⁻¹)
1	10.64	212.50	83.29	-	295.79	-
2	10.73	106.25	63.87	50.00	220.12	75.67
3	10.97	212.50	83.29	50.00	345.79	-
ES	0.23	-	-	-	-	-

Variantes de rehabilitación: 1- rehabilitación mecánica + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, 2- rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 12.5 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 70 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N, 3- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N.*Suma del rendimiento de los 70 y 270 días.

La adición del inoculante micorrízico combinado con la aplicación del 100% de las dosis de ambos abonos elevó el costo de la fertilización, en relación con los tratamientos ya mencionados, a pesar de que no se obtuvo un aumento del rendimiento, pues como se observó anteriormente, el efecto de la inoculación prácticamente desapareció con las dosis más altas de

estiércol y nitrógeno. Por lo tanto, desde el punto de vista económico esta variante de fertilización tampoco resultó viable.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Martín (2009) y González (2014), quienes obtuvieron reducciones significativas de los costos de la fertilización mediante la inclusión de inoculantes micorrízicos en los esquemas de suministro de nutrientes de los cultivos, e importantes beneficios económicos por este concepto.

Tales resultados, como se explicó anteriormente, se sustentan en la capacidad de la cepa de HMA introducida para establecer un funcionamiento micorrízico efectivo, que se manifiesta en un aumento del aprovechamiento de los nutrientes del suelo y de la fertilización y consecuentemente, en una reducción de las dosis de fertilizantes que se requieren para alcanzar los mayores rendimientos en los cultivos inoculados.

Los beneficios económicos aquí observados pueden ser mayores, si se tiene en cuenta que al reducirse de las dosis de estiércol vacuno a aplicar al pasto por efecto de la inoculación micorrízica, se puede disponer de mayores volúmenes de este fertilizante orgánico para beneficiar a otras áreas de pastos y cultivos forrajeros y de hecho, extender sus probados beneficios en la mejora de los suelos dedicados a la ganadería.

Considerando que el estiércol vacuno constituye la mayor fuente contaminación ambiental en las unidades ganaderas y su entorno y a la vez, la mayor fuente de nutrientes para los cultivos que se dedican a la alimentación de los animales, y teniendo en cuenta que este recurso no alcanza para cubrir todas las necesidades de tales cultivos, cualquier tecnología que contribuya a su uso racional adquiere un interés estratégico, por sus implicaciones económicas y ambientales.

4.4. Consideraciones generales sobre la inclusión de HMA en las labores para la rehabilitación de pastizales

Los resultados expuestos integran aspectos interesantes sobre el manejo de simbiosis micorrízica arbuscular, vía inoculación de cepas eficientes de HMA, para la rehabilitación de pastizales degradados, un tema que a pesar de concedérsele gran importancia debido al deterioro que acusan los pastizales en muchas regiones del trópico, así como a las

potencialidades de estos microorganismos edáficos para mejorar la nutrición y la productividad de los pastos, de acuerdo con la literatura revisada, ha sido poco abordado.

En la investigación se demostró, primero, la importancia de una correcta selección de la cepa de HMA a inocular, como requisito indispensable para lograr una simbiosis micorrízica efectiva, cuyos beneficios en el estado nutricional y en la producción de biomasa del pasto se puedan conjugar con los beneficios de las labores para la rehabilitación del pastizal, en función de recuperar su capacidad productiva.

Los resultados de este trabajo corroboraron que la remoción del suelo mediante labores mecánicas, en pastizales que durante años no recibieron ninguna labor cultural, sobre todo en aquellos cultivados con una especie de rápido crecimiento y una producción abundante de semillas como es el caso de la guinea Likoni, constituye un método acertado para la rehabilitación de pastizales, tanto por su efecto directo en el incremento del rendimiento de biomasa, como por su contribución a la mejora de su composición botánica, lo cual se pudo inferir a partir del aumento del área cubierta por la guinea en el pastizal.

Si a esto se suma el efecto de la fertilización química y orgánica, cuyos efectos en la mejora de las características químicas del suelo y estado nutricional del pasto, tal como se demostró en los experimentos, sin dudas contribuyeron de manera decisiva a su recuperación, se comprende mejor la necesidad de integrar tales labores en función de lograr una rehabilitación efectiva.

Por otra parte, la inoculación de una cepa de HMA eficiente, conjuntamente con las labores mecánicas y la adición de dosis menores de fertilizantes orgánico y nitrogenado, fue algo novedoso, pues aunque este no constituye el primer reporte sobre esta temática, de acuerdo con la literatura revisada, no abundan los trabajos en los que se recomienda la inclusión de cepas de HMA previamente seleccionadas como parte de las tecnologías para la rehabilitación de pastizales, no solo con el propósito de contribuir a su recuperación, sino también con el fin de reducir los elevados volúmenes de fertilizantes que se aplican con estas labores.

La inoculación de la cepa de HMA, conjuntamente con la adición de dosis menores de abono orgánico y fertilizante nitrogenado, garantizó el incremento del área cubierta por la guinea, así como la mejora del estado nutricional y el rendimiento del pasto, obteniéndose resultados

similares a los que se alcanzaron con las labores mecánicas y la aplicación de las dosis mayores de ambos abonos en ausencia de inoculación micorrízica.

Las disminuciones de las dosis de abono orgánico y fertilizante nitrogenado fueron sustentadas por un funcionamiento micorrízico efectivo, que se manifestó no solo con el incremento de los indicadores mencionados, sino también con un aumento de las variables fúngicas, cuyos mayores valores también se alcanzaron en presencia de las dosis más bajas de ambos fertilizantes. Tales reducciones de los requerimientos de nutrientes en presencia de la inoculación de una cepa de HMA eficiente, se explica por el hecho de que las plantas pudieron hacer un mejor aprovechamiento de estos, ya sean procedentes del suelo o de los propios fertilizantes.

Los resultados experimentales también demostraron la factibilidad económica de la inclusión de la inoculación micorrízica arbuscular en las labores para la rehabilitación de los pastos, pues se lograron importantes ahorros de estiércol vacuno y fertilizante nitrogenado, sin disminuir el porcentaje de la guinea en el pastizal, el rendimiento ni el valor nutritivo de la biomasa.

Si se tiene en cuenta que en el Programa para la Reconstrucción de la Masa Ganadera que lidera el Ministerio de la Agricultura (MINAG. 2005) se plantea transformar y mejorar 417.8 miles de ha de pastos y forrajes en los próximos años, y que una parte considerable de esas áreas pudieran incorporarse a la producción de alimentos para el ganado mediante la rehabilitación de pastizales mejorados, se comprende las potencialidades del uso de inoculantes micorrízicos para la recuperación de dichas áreas, así como su contribución a la reducción de los costos de estas labores y al ahorro de fertilizantes.

Estos resultados también vislumbran la contribución a la reducción de importaciones que se obtendría mediante el escalado del uso de inoculantes micorrízicos en las labores para la recuperación de los pastos, por su efecto directo en la disminución de las dosis de fertilizante nitrogenado, cuyos precios han tenido una tendencia al alza en los últimos años.

5. Conclusiones

- El pasto guinea Likoni mejoró su crecimiento, rendimiento y el estado nutricional con la inoculación de HMA. Entre las cepas evaluadas, *Glomus cubense* resultó la más eficiente.
- Las labores de arado y grada, conjuntamente con la fertilización orgánica y nitrogenada, mejoró el porcentaje de área cubierta por el pasto mejorado, el valor nutritivo y el rendimiento de un pastizal degradado de guinea Likoni, contribuyendo a su recuperación.
- La inoculación de *G. cubense* se integró satisfactoriamente en las labores para la rehabilitación del pastizal y sus mayores beneficios se obtuvieron cuando se combinó con el 50 y el 30% de la dosis del abono orgánico y el fertilizante nitrogenado que, en ese orden, produjeron los mayores efectos en la recuperación del pasto no inoculado.
- El efecto positivo de las labores mecánicas, la fertilización y la inoculación de *G. cubense* en la rehabilitación del pastizal se mantuvo al menos hasta los 270 días después de su aplicación.
- Se demostró que la inoculación de HMA puede hacer una contribución importante a la reducción de las dosis de fertilizantes orgánico y nitrogenado que se aplican al pasto como parte de las labores para su rehabilitación.

6. Recomendaciones

- Incluir la inoculación de la cepa de HMA *G. cubense* en las labores para la rehabilitación de pastizales de guinea Likoni cultivados en condiciones similares a las que se utilizó en el presente trabajo.
- Reducir en un 50 y 30%. respectivamente. las dosis de estiércol vacuno y fertilizante nitrogenado que en las condiciones señaladas, se recomiendan para tales labores.
- Determinar la permanencia del efecto de las labores mecánicas, la fertilización orgánica y la inoculación de *G. cubense* en la recuperación del pasto.
- Estudiar el efecto de las aplicaciones sistemáticas de HMA como parte de las labores de rehabilitación del pastizal, en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.
- Evaluar el efecto de la inclusión de la inoculación de HMA en las labores para la rehabilitación de pastizales cultivados en otros tipos de suelos, seleccionando previamente las cepas más eficientes para cada condición edáfica y especie de pasto.
- Utilizar los resultados obtenidos en la docencia de pre y postgrado de las ciencias agrícolas.

7. Referencias bibliográficas

1. Alguacil, M. M.; Diaz-Pereira, E.; Caravaca, F.; Fernández, D. A. y 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. *Applied and Environ. Microb.*, 74 (13): 4254-4263.
2. Alley, M. M.; Vanlauwe, B. 2009. The role of fertilizers in integrated plant nutrient management. First edition, IFA, Paris, France, TSBF-CIAT, Nairobi, Kenya, July 2009 Copyright 2009. ISBN 978-2-9523139-4-0.
3. Álvarez Hernández U, Cruz Limonte A. 2010. Influencia del policultivo en soya (*Glycine max* (L.) Merrill) sobre la entomofauna. *Centro Agrícola*. 37 (1): 77-79.
4. AOAC. 1995. Official Methods and Analysis. 16th Ed. Washington, U.S.A. Ed. of. Agric. Chem. Sp
5. Andrade, A.C.; Fonseca, D.M.; Gomide, J.A.; Alvarez V., 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. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29 (6): 1589-1595.
6. Andrade, F. V. 2003. Adição de ácidos orgânicos e químicos em latossolos e adsorção de fosfato. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, Viçosa, 27(6): 1003-1011.
7. Andrade, M., Ferreira, M., Batista, J. C., Andrade, M. y Carneiro, A. 2006. Sistema de Produção de Forragens: Alternativas para a sustentabilidade da Pecuaria. *Anais de Simposios da 43 Reunião Anual de SBT-Joao Pessoa-PB. (CD-ROM)*.
8. Angers, D.A. 1998. Water-stable aggregation of Quebec silty clay soils: some factors controlling its dynamics. *Soil and Till. Res.* 47:91.
9. 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.
10. 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.
11. Babayemi, O. J.; Bamikole, M. A., 2009. Silage quality, dry matter intake and digestibility by West African dwarf sheep of Guinea grass (*Panicum maximum* cv Ntchisi) harvested at 4 and 12 week regrowths. *Afr. J. Biotech.*, 8 (16): 3983-3988

12. 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.
13. Batista, Karina. 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.
14. Batista, Karina; 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.
15. Belnap, J.; Phillips, S. L.; Sherrod, S.; Moldenke, A. 2005. Soil biota can change after exotic plant invasion: does this affect ecosystem processes? *Ecology* 86: 3007–3017.
16. 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.
17. Benitez, D.; Fernández, J. L.; Ray, J.; Ramírez, A.; Torres, V.; Tandrón, I.; Díaz, M.; Guerra, J. 2007. Factores determinantes en la producción de biomasa en tres especies de pastos en sistemas racionales de pastoreo en el Valle del Cauto, Cuba. *Rev. Cub. Cienc. Agr.*, 41 (3): 231-235.
18. 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, (Eds. Fernandes, M.S.). 432p.
19. Betancourt, H.; Pezo, D.A.; Cruz, J; Beer, J. 2007. Impacto bioeconómico de la degradación de pasturas en fincas de doble propósito en El Chal, Petén, Guatemala. *Pastos y Forrajes*, 30 (1): 169-177
20. Bingham, M. A. y 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.
21. Bonta, L. 2004. Reduction of Nitrate leaching with haying or grazing and omission of Nitrogen fertilizer. *Publisher in Journal of Environm. Quality*. 33: 1230-1237.

22. Boval, M.; Cruz, P.; Ledet, J.E.; Coppry, O.; Archimede, H 2002. Effect of nitrogen on intake and digestibility of a tropical grass grazed by Creole heifers. *Journal of Agricultural Science*, 138: 73-84,
23. 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 Biology & Biochemistry*, 38: 1583-1595.
24. Burrows, R. L.; Pflieger, F. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity. *Can. J. Bot.*, 80: 120-130.
25. Butler, T. J. y Muir, J. 2006. Dairy manure compost improves soil and increases tall wheatgrass yield. *Agronomy Journal*, 98: 1090-1096.
26. 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.
27. Carneiro, R. F. V., Martins, M. A., Freitas, Marta, S. M., Detmann E. y 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.
28. 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.
29. Cecato, P., K. Cressman, A. Giannini and S. Trzaska. 2007. The desert locust upsurge in West Africa (2003-2005): Information on the desert locust early warning system and the prospects for seasonal climate forecasting. *Int. J. of Pest Management*, 53(1): 7-13.
30. 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.
31. Cino, D. M.; Padilla, C.; Sardiñas, Y. 2007. Propuesta de fichas de costo de nuevos cultivos forrajeros. *Revista ACPA*, 26 (2): 48-49.
32. Clark, R. B.; Zeto, S. 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *J. of Plant Nutr.*, 23: 867-902.

33. 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.
34. 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. 266 p.
35. Costa, K.A.P.; Faquin, V.; Oliveira, I.P.2010. Doses e fontes de nitrogênio na recuperação de pastagens do capim-marandu. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*,62 (1): 192-199.
36. Costa, K. A. P; 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. *Ci. An. Bras.*, 9: 86-92.
37. 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.
38. Costa, S. E.; Neto, A. E.; de Resende, A. V.; da Silva, T. O.; da Silva, T. R. 2008. Crescimento e nutrição da braquiária em função de fontes de fósforo. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, 32(5): 1419-1427.
39. 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.
40. 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.
41. Crespo, G. y Arteaga, O. 1984. Utilización del estiércol vacuno para la producción de forraje. IDICT-ISCAH, La Habana, 35 p.
42. Crespo, G. Arteaga, O. 1986.Utilización del estiércol vacuno para la producción de forraje. Ed. EDICA. Instituto de Ciencia Animal, 35-40.

43. Crespo, G. y Fraga, S. 2005. Estudio preliminar del efecto de métodos de rehabilitación y de la aplicación de estiércol vacuno en el control de *Sporobolus indicus* (L.) R. Br. (espartillo) en un pastizal de guinea (*Panicum maximum* vc. Likoni). Rev. Cubana Ciencias. Agrícolas. 39(4): 629-634.
44. Crespo, G., Aspiolea, J. L.; López, M. 1986. Nutrición de pastos. En: Los pastos en Cuba. Tomo I. Segunda edición. Editorial ICA, MES.
45. Crespo, G., Padilla, C., Otero, L., Calero, B.; Morales, A. 2006. Efecto de labores mecánicas en la rehabilitación de un pastizal de guinea likoni (*P. maximum*) en las propiedades físicas y químicas del suelo. Rev. Cubana Cienc. Agric., 40(4): 485-494.
46. Crespo, G.; Arteaga, O., Valdés, G.; Vega, J. 2010. Utilización de residuales de las instalaciones pecuarias para la producción de pastos y forrajes tropicales. En VII Congreso de la Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo (julio 7- 9, Ciudad de La Habana). Memorias. CD – ROM. Instituto de Suelos.
47. 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.
48. 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.
49. David, M. A. 2008. Efeito de doses de superfosfato simples e de matéria orgânica sobre o crescimento de mudas de maracujazeiro amarelo. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 38 (3): 147-152.
50. Dayton, E. A., N. T. Basta, C. A. Jakober, and J. A. Hattey. 2003. Using treatment residuals to reduce phosphorus in agricultural runoff. *J. Am. Wat. Works Assoc.*, 95: 151-158.
51. 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.

52. 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.
53. Días-Filho, M.B. 2006. Sistemas silvipastoris na recuperação de pastagens tropicais degradadas. In: Gonzaga Neto, S.; Costa, R.G.; Pimenta Filho, E.C.; Castro, J.M. da C. (Eds.) Simpósios da reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 43. João Pessoa, Anais João Pessoa: SBZ: UFPB, 2006 (Suplemento Especial da Revista Brasileira de Zootecnia, 35: 535-553.
54. 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.
55. Dirección de Economía. Empresa Pecuaria Genética Niña Bonita. 2012. Ficha de costo de la fertilización con estiércol vacuno en áreas de producción de Forraje. Departamento de Economía de la EPG Niña Bonita. Documento interno, 8 p.
56. Dorado, J y López-Fando, C. 2006. The effect of tillage system and use of a plow on weed flora in semiarid soil form central Spain. Weed Research, 46: pp 424-431.
57. Duncan, D. B.1955. Multiple ranges and multiple F test. Biometrics, 11:1.
58. Echavarría C.F.G., R. Gutiérrez L., R.I. Ledesma R., R. Bañuelos V., J.I. Aguilera S., A. Serna P. 2006. Influencia del sistema de pastoreo con pequeños rumiantes en un pastizal del semiárido Zacatecano. I Vegetación nativa. Tec Pecu Méx ., 44 (2): 203-207.
59. Echavarría CF, P.A. Serna y V.R. Bañuelos. 2007. Influencia del sistema de pastoreo con pequeños rumiantes en un agostadero del semiárido Zacatecano: II Cambios en el suelo. Téc. Pecu. México, 45(2): 177-194.
60. Ecoport, 2009. Ecoport database. Ecoport
61. Egerton-Warburton, L. M.; Johnson, N. C. y Allen, E. B. 2007. Mycorrhizal community dynamics following nitrogenfertilization: a cross-site test in five grasslands. *Ecological Monographs*, 77(4): 527-544.
62. Eghball, B.; Ginting, D. y Gilley, J. E. 2004. Residual effects of manure and compost applications on corn production and soil properties. Agron. J., 96: 442-447.

63. Eom, A. H., Wilson, G. W. T. y Hartnett, D. C. 2001. Effect of ungulate grazers on arbuscular mycorrhizal symbiosis and fungal community structure in tallgrass. *Micología*, 93: 233-242.
64. Escudero. V.; Mendoza, R. 2005. Seasonal variation of arbuscular mycorrhizal fungi in temperate grasslands along a wide hydrologic gradient. *Mycorrhiza*, 15: 291-299.
65. Esqueda E., V.A., Montero L., M., Juárez L., F.I., Vibrans, H. 2005. Efecto del control químico y el chapeo de malezas en la productividad y calidad de pastos (segundo ciclo). *In: Memoria XXVI Congreso Nacional de la Ciencia de la Maleza*. Castro, N.S., Varela F., S.E., Buenabad D., A., Rosales R., E., Silva A., G.L., Castro M., B.I., Tafoya R., J.A. (eds.). Cd. Victoria, Tam., México, 16 a 18 de noviembre. pp. 58-63.
66. Fabricio, J.A. 2007. Produtividade e composição bromatológica do capim-Tobiatã em função da adubação NPK. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. 56 p.
67. Fagundes, J. L.; da Fonseca, D. M.; Gomide, J.A. 2005. Acúmulo de forragem em pastos de *Brachiaria decumbens* adubados com nitrogênio. *Pesquisa Agrop. Brás.*, 40 (4): 397-403.
68. 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.*,35(1) : 21-29.
69. Fassio, P. O.; Duarte, N. F.; de Melo, P. F.; Pinto, D. M. y Olivaira, 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.
70. Febles, G. y Ruiz, T. E. 2009. El cambio climático global y sus repercusiones en Cuba. *Acciones para el futuro. Rev. Cubana Cienc. Agric.* 43(4): 337- 344.
71. Galzerano, L.; Morgado, E. 2007. Respostas de plantas forrageiras a doses de nitrogênio. *REDVET. Revista electrónica de Veterinária*. VIII (8). ISSN 1695-7504: 801-812 Disponible em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080807.html>.

72. 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.
73. García, I. V. y 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 Microbiology Ecology*, 63: 359p.
74. 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.
75. Giacomini, A; de Matos, W; de Matos, H; Werner, J; da Cunha, E; Carvalho, D. 2005. Crescimento de raízes dos capins aruana e tanzania submetidos a duas doses de nitrogenio. *Revista Brasileira Zootecnia*, vol.34 No.4: 1109-112
76. Giovannetti, M.; Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol*, 84: 489-500.
77. 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 Biology & Biochemistry*, 40: 2260-2265.
78. González, P. J. 2014. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía inoculación y la fertilización mineral en pastos del género. *Brachiaria*. Tesis de grado. (Dr. En Ciencias agrícolas). Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas San José de las Lajas, Mayabeque. Cuba.
79. González, P. J.; Arzola, J.; Ramírez, J. F.; Rivera, R. y Morgan. O. Permanencia de la efectividad de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en agroecosistemas de pastizales. En Congreso Científico del INCA (17:2010, nov. 22-26, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. 2010.
80. González, P. J.; Arzola, J.; Morgan, O.; Rivera, R. y Ramírez J. F. 2011. Efecto de la inoculación de la cepa de hongo micorrízico arbuscular *Glomus hoi*-like en la respuesta de *Brachiaria* híbrido cv. Mulato II (CIAT 36087) a la fertilización orgánica y nitrogenada. *Cultivos Tropicales*, 32 (4): 5-12.
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. Grigera, G. y Oesterheld, M. 2004. Mycorrhizal colonization pattern under contrasting grazing and topographic condition in the flooding Pampa (Argentina). *J. of Range Management*, 57: 601-605.
84. Gryndler, M., Hršelová, 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.
85. Guo, Y. J. ; Ni, Y.; Raman, H.; Wilson, B. A. L.; Ash, G. J.; Wang, A. S.; Li ,G. D. 2012 Arbuscular mycorrhizal fungal diversity in perennial pastures; responses to long-term lime application. *Plant Soil*, 351: 389-403
86. 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.
87. Hamel, C. 2004. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on N and P cycling in the root zone. *Can. J. Soil Sci.*, 84: 383-395.
88. 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, pp: 1-36.
89. Hartnett, D. C.; Wilson, G. W. T. 2002. The role of mycorrhizas in plant community structure and dynamics: lessons from grasslands. *Ecology*, 80: 1187-1195.
90. Hasegawa, H.; Furukawa, Y.; Kimura, S. D. 2005. On-farm assessment of organic amendments effects on nutrient status and nutrient use efficiency of organic rice fields in Northeastern Japan. *Agriculture, Ecosystems, and Environment*, 108: 350-362.
91. 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 Soil*, 281: 369-380.

92. 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 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.
93. Helgason T, Fitter AH. 2009. Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (Phylum Glomeromycota). *Journal of Experimental Botany*, 60: 2465-2480.
94. Helton, T. H.; Butler, T. J.; Mc Farland, M. L.; Hons, F. M.; Mukhtar, S.; Muir, J. P. 2008. Effects of dairy manure compost and supplemental inorganic fertilizer on coastal bermudagrass. *Agronomy Journal*, 100 (4): 924-930.
95. 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.
96. Herrera, R. Hamel, C., Fernández, F., Ferrer, R. y Furrázola, E. 2010. Soil-strain compatibility: the key to effective use of arbuscular mycorrhizal inoculants? *Mycorrhiza*. DOI 10.1007/s00572-010-0322-6.
97. Herrick, J.E. and Lal, R. 1995. Soil physical properties changes during dung decomposition in a tropical pasture. *Soil Sci. Soc. of Am. J.* 59:908.
98. Hodge, A., 2003. Plant nitrogen capture from organic matter as affected by spatial dispersion, interspecific competition and mycorrhizal colonization. *New Phytol.*, 157: 303-314.
99. 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.

100. Hoffmann, C.R.; Faquin, V.; Guedes, G.A.A. et al. 1995. O nitrogênio e o fósforo no crescimento da braquiária e do colômbio em amostras de um Latossolo da região Noroeste do Paraná. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 19: 79-86.
101. 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. 2010. *Ciênc. Agrotec. Lavras*, 34(5): 1154-1160.
102. Ike-Izundu, N. E. 2007. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and soil Microbial populations in the rhizosphere. Tesis de Master en Microbiología, Facultad de Ciencia. Universidad de Rhodes.
103. INCA. 2005. Ficha de costo EcoMic®. Departamento de Economía. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas.
104. INSMET. 2012. Boletín Agrometeorológico Nacional. Instituto de Meteorología. CITMA, Cuba. ISSN 1029-2055.
105. Janos, D.P., 2007, Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. *Mycorrhiza*, 17: 75-91.
106. Jimenez, L.; Noguera, N.; Larreal, M. 2004. Productivity changes in a degraded Ultisol of the Machiques Colón, by the application of cattle dung. *Rev. Fac. Agron.*, 21 (3): 246-259.
107. 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.
108. 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.
109. Johnson, N. C.; Rowland, D. L.; Corkidi, L.; Egerton, L. M. y Allen, E.B. 2003. Nitrogen enrichment alters mycorrhizal allocation at five mesic to semi-arid grasslands. *Ecology*, 84 (7): 1895-1908.
110. Joner, E. J.; Aarle, I. M.; Vosatka, M. 2000, Phosphatase activity of extra-radical arbuscular mycorrhizal hyphae: a review. *Plant Soil*, 226: 199-210.

111. 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.
112. 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. Biology and Fertility of Soils, 41: 217-224.
113. 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.
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 p.
115. Klironomos, J. N. 2003, Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. Ecology, 84: 2292-2301.
116. Koide, R. T. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. New Phytol, 117: 365-386.
117. Lal, R. 2004. Carbon emission from farm operations. Environ. Intern., 30: 981-990.
118. 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.
119. 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. Canadian Journal of Botany, 82: pp.1016-1045.
120. Leigh, Joanne; Hodge, Angela y Fitter, A. H. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. New Phyt., 181: 199-207.

121. Lekberg, Y; Koide, RT; Rohr, JR; Aldrich-Wolfe, L; Morton, JB. 2007. Role of niche restrictions and dispersal in the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Journal of ecology*, 95(1): pp 95-105.
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 uInfluência 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, L.; 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. Lok, S. 2005. Estudio y selección de indicadores de la estabilidad en el sistema suelo-planta de pastizales en explotación. Tesis Dr. Cs. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Cuba. 100 p.
127. López-Pedrosa, A.; González-Guerrero, M.; Valderas, A.; Azcón-Aguilar, C.; Ferrol, N. 2006. *Gint*AMT1 encodes a functional high-affinity ammonium transporter that is expressed in the extraradical mycelium of *Glomus intraradices*. *Fungal Genet. Biol.*, 43: 102-110.
128. Lugo, M. A., González, M. E. y 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 p.
129. 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, pp 359-400.

130. 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. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36 (5): 1240-1246.
131. Makoi JH, Ndakidemi PA. 2008. Review selected soil enzymes: Examples of their potential roles in the ecosystem. *African J. Biotech.*, 7(3): 181-191.
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. t´ Mannetje, L. y Haydok, K.P. 1963. The dry weight rank method for the botanical analysis of pasture. *J. Brit. Grassld. Soc.*, 18: 268 p.
135. Maranhão, C. M. A. 2008. Características produtivas, morfogênicas e estruturais do capim-braquiária submetido a intervalos de cortes e adubação nitrogenada. Tese de Mestre em Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB / Campus de Itapetinga-BA, 61 p.
136. Martha Jr., G.B.; Vilela, L. 2008. Eficiência de uso de fertilizantes na integração lavoura-pecuária no Cerrado. *R. Política Agríc.*, 17: 92-93.
137. Martín, G M. 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). Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas San José de las Lajas, La Habana. Cuba. 105p
138. Mathimaran, N.; Ruh, R.; Vulllioud, P.; Frossard, E.; Jansa, J. 2005. *Glomus intraradices* dominates arbuscular mycorrhizal communities in a heavy textured agricultural soil. *Micorriza*, 16: 61-66.
139. Matos, F. V. 2008. Estabilidade de agregados e distribuição de carbono e nutrientes em argissolos sob adubação orgânica e mineral. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43 (9): 1221-1230.
140. 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

- wasterwater affects olive trees key physiological parameters and the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.*, 40: 152-161.
141. 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.
142. 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.
143. 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.
144. 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.
145. MINAG. 2004. Comisión Ministerial No.2. Por la recuperación de la ganadería. Informe MINAGRI. C. Habana, Cuba. 36 p.
146. MINAG. 2008. Informe de Agrotecnia y Alimentación del Ministerio de la Agricultura. MINAGRI. La Habana, Cuba. 8 p.
147. MINAG. 1995. Instituto de suelos. Dirección nacional de suelos y fertilizantes. Metodología para la cartografía detallada y evaluación integral de suelos. Ciudad de la Habana. 28 p
148. MINAG. 1999. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. La Habana. Agrinfor. 64 p.
149. 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.
150. MINCEX. 2014. (Ministerio de Comercio Exterior). Boletín de precios mensuales. Precios de fertilizantes. Dirección de precios y finanzas.

151. Miranda de, E. M.; Júnior, O. J. y da Silva, E. M. R. 2008. Seleçãode fungos micorrízicos arbusculares para o amendoimforrageiro consorciado com braquiária. *Pesq. Agropec.Bras.*, 43(9): 1185-1191.
152. Monteiro, F.A. 1995. Nutrição mineral e adubação. In: Simpósio sobre Manejo de Pastagem, 12. Piracicaba, Anais. Piracicaba: FEALQ, pp 219-244.
153. Monteny, G.-J.; Bannink, A.; Chadwick, D. 2006. Greenhouse gas abatement strategies for animal husbandry. *Ag0. Ecosyst. Environ.*, 112: 163-170.
154. 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.
155. Moreira, L. M.; Martuscello, Janaina A.; da Fonseca, D. M.; Mistura, C.; de Moraes, R. V.; Ribeiro Júnior, J. I. 2009. Perfilhamento, acúmulo de forragem e composição bromatológica do capim-braquiária adubado com nitrogênio. *R. Bras. Zootec.*, 38 (9): 1675-1684.
156. 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: pp 123-132.
157. Nair, V. D.; Graetz, D. A. 2002. Phosphorus saturation in spodosols impacted by manure. *J. Environ. Qual.*, 31: 1279-1285.
158. Naramabuye, F. X.; Haynes, R. J. 2006. Effect of organic amendments on soil pH and al solubility and use of laboratory indices to predict their liming effect. *Soil Sci.*, 171 (10): 754-763.
159. 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.
160. 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.

161. 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.
162. NC ISO 10390. 1999. Determinación de pH. Comité Técnico de Normalización. No. 3. Calidad del suelo. Análisis químico. La Habana: Oficina Nacional de Normalización.
163. 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.
164. Ngosong, C.; Jarosch, M.; Raupp, J.; Neumann, E.; Ruess, L. 2010. The impact of farming practice on soil microorganisms and arbuscular mycorrhizal fungi. Applied Soil Ecology, 46: 134-142.
165. Obour, A. K., Silveira, M. L., Adjei, M. B., Vendramini, J. M., Rechcigl, J. E. 2009. Cattle manure application strategies effects on bahiagrass yield, nutritive value and phosphorus recovery. Agr. J., 101(5): 1099-1107.
166. 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 Biology y Biochemistry, 42: 724-738.
167. 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.
168. Ofosu-Anim, J; Leitch, M. 2009. Relative efficacy of organic manures in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) production. Australian Journal of Crop Science, 3 (1): 13-19.
169. 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.
170. Oliveira, P. P. A., Trivelin, P. C. O. e Oliveira, W. S. 2003. Eficiência da fertilização nitrogenada com uréia (15N) em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu associada ao parcelamento de superfosfato simples e cloreto de potássio. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 27(4): 613-620.

171. Olsson, P. A. 1999. Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 29: 303-310.
172. Ourives, O. E. A.; Souza, G. M.; Tiritan, C. S.; Santos, D. H. 2010. Fertilizante orgânico como fonte de fósforo no cultivo inicial de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú. *Pesq. Agropec. Trop.*, 40 (2): 126-132.
173. Padilla, C y Sardiñas, Y. 2003. Degradación y recuperación de pastizales. Memorias del curso Estrategias de alimentación para ganado bovino en el trópico. En: Banco de México-FIRA. Subdirección del Sureste. Yucatán, México. 213 p.
174. Padilla, C., Cino, D. M., Curbelo. F. y Rodríguez. L. 2009. Aplicación de mínima labranza, chapea mecánica y herbicida en el establecimiento de *Panicum máximum* vc. Mombaza. *Rev. Cubana Cienc. Agric.*, 43(1): 85-90.
175. Padilla, C., Ruiz, T. E., Crespo, G. y Febles, G. 2000. Renovación y recuperación de pastizales tropicales degradados. En: ACPA. 20 p.
176. Padilla, C; Sardiñas, Y. 2005. Degradación y recuperación de los pastizales. *Rev. Cubana. Cienc. Agric.*, 39(Número especial): 515-521
177. Padilla, C., Sanchez, R., Cino, D. M., Curbelo. F. y Tuero, R. 2008. Aplicación de labores mecánicas al suelo combinadas con la utilización de fertilizante mineral y de abono orgánico en la recuperación de un pastizal de *Pennisetum purpureum* vc. Cuba CT-115. *Rev. Cubana Cienc. Agric.*, 42(2): 211-215
178. Padilla, C; Sardiñas, Y; Febles, G; Curbelo, F. 2012. Comportamiento del area forrajera de guinea (*Panicum maximum* Jacq vc. Lokoni) según la población de espartillo (*Sporobolus indicus* L.) *Rev. Cubana Cienc. Agric.*, 46(1): 91-95.
179. Paneque, V. M.; Calaña, J. M.; Calderón, M.; Borges, Y.; Hernández, T. C.; Caruncho, M. 2010. Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos. Ediciones INCA, ISBN: 978-959-7023-51-7, 160 p.
180. Paneque, V. M.; Calaña, J. M. 2001. La fertilización de los cultivos. Aspectos teórico-prácticos para su recomendación. Folleto impreso. INCA. 25 p.
181. Payton, M. E.; Miller, A. E.; Raun, W. R. 2000. Testing statistical hypotheses using standard error bars and confidence intervals. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 31: 547-551.

182. 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.
183. 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.
184. Pezo, D. A. y Piniero, M. 2007. Las escuelas de campo de ganaderos como estrategias para promover la rehabilitación y diversificación de fincas con pasturas degradadas: Algunas experiencias en América Latina. IV Foro Latinoamericano de Pastos y Forrajes: II Congreso de Producción Animal. La Habana, Cuba. 218 p
185. 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.
186. 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.
187. 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.
188. Primavesi, A. 1990. Manejo ecológico do solo: Agricultura em regiões tropicais. 9ª ed. São Paulo: Nobel, pp 142-154.
189. Ramírez, J.F; Salazar, X; González, P.J; Rivera, R. Validación del uso de hongos micorrízicos arbusculares en la rehabilitación de pastizales. En: Congreso Científico de INCA (18: 2012, nov 6-9, San José de las Lajas Mayabeque). Memorias CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 2012. ISBN 978-958-723-62-3.
190. Reynolds, H. L., Packer, A. P.; Bever, J. D.; Clay, K. 2003. Grassroots ecology: plant–microbe–soil interactions as drivers of plant community structure and dynamics. *Ecology*, 84: 2281-2291.
191. 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: pp 869-880.
192. 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.
193. 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.
194. 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: pp 337-347.
195. 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: pp 429-441.
196. Saha, S.; Appireddy, G. K.; Kundu, S.; Gupta, H. S. 2007. Comparative efficiency of three organic manures at varying rates of its application to baby corn. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 53 (5): 507-517.
197. Saito, K.; Sugawara, K. 2010. Seasonal variation of arbuscular mycorrhizal fungal colonization for coexisting plant species in *Miscanthus*-type semi-natural grassland. *JIFS*, 7: pp 29-35.
198. 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.
199. Santos dos, R. S. M. 2005. Acúmulo do carbono e nitrogênio em latossolo sob pastagem de *Brachiaria* spp. com diferentes idades. Tesis de Doctorado, Universidad Federal Rural de Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia. Br.

200. 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 pintoii* consorciados. Revista Brasileira de Zootecnia, 31 (2): 605-616.
201. 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.
202. 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.
203. Sardiñas .Y; Padilla. C; Curbelo. F. 2005. Nota preliminar sobre el control de *Sporobolus indicus* (L) R. Br. (espartillo) y la recuperación de un pastizal de guinea (*Panicum máximum* vc. Likoni) con la aplicación de labores mecánicas y fertilizantes. Rev. Cubana Cienc. Agrí., 39 (1): 81-84.
204. Sardiñas. Y.2010. Recuperación de pastizales de *Panicum maximum* Jacq vc. Likoni, invadidos de *Sporobolus indicus* (L.) R. Br. (espartillo) Tesis Dr. C. Instituto de Ciencia Animal La Habana. Cuba.
205. Sardiñas .Y, Varela. M, Padilla. C, Torres V, Noda A y Fraga N. 2011. Control del espartillo (*Sporobolus indicus*) mediante la renovación con siembra de variedades de *Panicum maximum*. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 45(1): 83-88.
206. Schunke, R.M. 2001. Interações entre a adubação de pastagens e a suplementação mineral de bovinos. Campo Grande: EMBRAPA Gado de Corte. (Documentos, 110).
207. Senra, A. 2009. Impact of pasture management on natural fertiliy soil sustainability. Revista de investigación y difusión científica agropecuária ISSN 0188789-0. 13(2): pp 3-15.
208. 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.
209. Siddiqui, Z. A.; Sayeed, M.; Futai, K. 2008. Mycorrhizae: sustainable agriculture and forestry. 2007. Springer Science + Business Media B. V.

210. 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.
211. 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.
212. Silveira, M. L.; Xu, S.; Adewopo, J.; Inglett, K. S. 2014. Effects of land use intensification on soil C dynamics in subtropical grazing land ecosystems. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 2: 142-144.
213. Siqueira, J. O.; Franco, A. A. 1988. Biotecnología do solo. Fundamento e perspectivas. Brasília: MEC-Ministerio de Educação, ABEAS; Lavras: ESAL, FAEPE. 236 p.
214. Smith, S. E.; Read, D. J. 2008. Mycorrhizal symbiosis. San Diego, CA, USA: Academic Press.
215. Smith, S.E., Smith, F.A. y Jakobsen, I. 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytologist*, 162: pp 511-524.
216. Simon, B. K. y S. W. L. Jacobs. 2003. *Megathyrsus*, a new generic name for *Panicum* subgenus *Megathyrsus*. *Austrobaileya*, 6(3): 571–574.
217. 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.
218. Souza de, M. R. F.; Pinto, J. C.; de Oliviera, 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.
219. Sotomayor-Ramírez, D.; Ardila-Sierra, G.; Martínez-Rodríguez, G Pérez-Alegría, L. 2010. Phosphorus persistence in runoff from an Ultisol amended with dairy manure

- sludge. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World 1-6 August 2010, Brisbane, Australia. Published on DVD: pp 105-108
220. Souza de, 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.
221. Spain, J. M. y Gualdrón, R. 1991. Degradación y rehabilitación de pasturas. Establecimiento y renovación de potreros. Conceptos, experiencias y enfoques de la investigación. Red internacional de evaluación de pastos tropicales. Sexta Reunión del Comité Asesor. CIAT, Cali, Colombia. (CD-ROM).
222. SPSS. 2002. Statistical software, version 11.5.1. SPSS Institute. Chicago, Illinois.
223. 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 ^{14}C . Science, 300: pp 1138-1140.
224. Tanaka Y, Yano K. 2005. Nitrogen delivery to maize via mycorrhizal hyphae depends on the form of N supplied. Plant, Cell Environ, 28: 1247-1254.
225. Tate, K.W., M. Das Gracias C. Pereira, and E.R. Atwill. 2004. Efficacy of Vegetated Buffer Strips for Retaining *Cryptosporidium parvum*. *J. Environmental Quality*, 33: pp 2243-2251.
226. 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. Environ. Microbiol., 63: pp 4408-4412.
227. 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. of Microbiology, 50: pp 251-260.
228. Trouvelot, A.; Kough, J.; Gianinazzi-Pearson, V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un systeme radicaire. Recherche de methodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Proc. 1st Eur. Symp. On Mycorrhizae: Physiological and genetical aspects of mycorrhizae, Dijón. INRA, Paris.

229. Uhlmann, E.; Gorke, C.; Petersen, A.; Oberwinkler, F. 2004. Arbuscular mycorrhizae from semiarid regions of Namibia. *Canadian Journal of Botany*, 82 (5): 645-653.
230. Vadas, P. A.; Harmel, R. D.; Kleinman, J. A. 2007. Transformations of soil and manure phosphorus after surface application of manure to field plots. *Nutr Cycl Agroecosyst.*, 77: pp 83-99.
231. Van Aarle, I. M.; Olsson, P.A., Söderström, B. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to the substrate pH of their extraradical mycelium by altered growth and root colonization. *New Phytologist*, 155: pp 173-182.
232. Van Der Heijden, M. G. A. 2010. Mycorrhizal fungi reduce nutrient loss from model grassland ecosystems. *Ecology*, 91(4): 1163-1171.
233. Van Kessel; J. S.; Reeves III, J. B. 2002. Nitrogen mineralization potential of dairy manures and its relationship to composition. *Biol Fertil Soils*, 36: 118-123.
234. Vanlauwe, B.; Gachengo, C.; Shepherd, K.; Barrios, E.; Cadisch, G.; Palm, C. A. 2005. Laboratory validation of a resource quality-based conceptual framework for organic matter management. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 69: 1135-1145.
235. 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
236. Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant: plant, animal and environment. 2 ed. New York: Cornell University, 476 p.
237. Varela, F.S. E., Silva A.G.L., Loaiza, H y Pérez N.L. 2005. Efecto de la mezcla (dicamba + 2, 4-d amina) + metsulfuron metil), sobremaleza en praderas de zacate guinea (*panicum maximum* Jacq) en Veracruz, México. XXVI. Congreso Nacional de la Ciencia de la maleza, pp 155 -160.
238. Vargas, S. 2008. Rediseño, manejo y evaluación de un agroecosistema de pastizal con enfoque integrado para la producción de leche bovina. Tesis de Dr. Universidad Central de Las Villas, Cuba. 110 pp.
239. 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.

240. Vierheilig, H. 2004. Regulatory mechanisms during the plant-arbuscular mycorrhizal fungus interaction. *Can. J. Bot.*, 82(1): 166-1176.
241. Volpe, E.; Marchetti, M. E.; Macedo, M. C. M.; Junior, E. J. R. 2008. Renovação de pastagem degradada com calagem, adubação e leguminosa consorciada em Neossolo Quartzarênico. *Acta Sci. Agron.*; 30 (1): 131-138.
242. Walling, S.; Zabinski, C. A. 2006. Defoliation effects on arbuscular mycorrhizae and plant growth of two native bunchgrasses and an invasive forb. *Applied Soil Ecology*, 32: 111-117.
243. Wells, C. 2001. Total energy indicators of agricultural sustainability: Dairy farming case study. Wellington, University of Otago. (Technical Paper 2001/3). 81p
244. Werner, J.C. 1986. Adubação de pastagens. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, (IZ, Boletim Técnico, 18). 49 p.
245. 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: pp 1143-1154.
246. 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: pp 724-733.
247. Ydoyaga, D. F.; Lira, M. de. A.; dos Santos, M. V. F.; Júnior, J. C. D. B.; Silva M. da. C.; dos Santos, V.; Fernandes, A. de P. M. 2006. Métodos de recuperação de pastagens de *Brachiaria decumbens* Stapf. No Agreste Pernambucano. *R. Bras. Zootec.*, 35 (3): 699-705
248. 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.