

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

ESCUELA DE ZOOTECNIA

Evaluación de tres fórmulas de nitrógeno a dos altitudes, en el impacto de las características agronómicas del forraje ryegrass anual (*Lolium multiflorum*) cv. Jumbo.

Luis Antonio Navarro Zamora

Tesis presentada para optar por el título en el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2019

Esta tesis fue aceptada por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia



Ing. Luis Villalobos Villalobos, Ph.D

Director de tesis



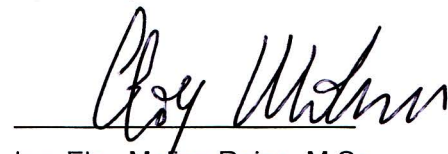
Ing. Jorge Alberto Eitzondo Salazar, Ph. D.

Miembro del tribunal



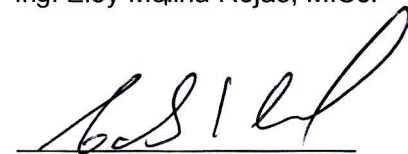
Ing. Fabian Vargas Rodriguez, Ph. D.

Miembro del tribunal



Ing. Eloy Molina Rojas, M.Sc.

Miembro del tribunal



Ing. Carlos Arroyo Oquendo, M.Sc.

Director de Escuela



Luis Antonio Navarro Zamora

Sustentante

DEDICATORIA

A mi familia, sin ellos no hubiese podido convertirme en la persona que soy actualmente. Siempre estuvieron apoyándome para completar mis estudios universitarios y tener un buen futuro. Además, influyeron en mí para tomar buenas decisiones en la vida, sin su apoyo no podría haber llegado tan lejos.

AGRADECIMIENTO

Al primero que deseo agradecer es a Dios por permitirme estudiar a lo largo de mi vida y brindarme las fortalezas necesarias para perseverar sin importar los obstáculos. A su vez, deseo agradecer a mis padres por inculcarme la búsqueda de Dios desde mi niñez. Sin su apoyo y constante motivación con el ejemplo que me dan no hubiera podido lograrlo. También deseo agradecer a mis hermanos, su hermandad y luchas que libran día a día para ser mejores son los mejores ejemplos más cercanos que me motivaron a seguir adelante a pesar de las circunstancias. Asimismo, deseo agradecer a Rebeca por siempre haber estado a mi lado a lo largo de estos años y haber superado diferentes pruebas juntos. Gracias por ser mi principal apoyo.

Por otra parte, deseo agradecer profundamente a mi tutor de tesis, Luis Villalobos y a mi tutora adoptiva de tesis, Jennifer Stynoski. Sin su ayuda y constante apoyo con recomendaciones, consejos y ánimos para que realizara un mejor trabajo en mi tesis definitivamente no hubiese completado este requisito de graduación. Mi más sincero y profundo agradecimiento a ambos.

Por último pero no menos importante, deseo agradecer a profesores, funcionarios administrativos, compañeros y compañeras que aportaron lecciones dentro y fuera de las aulas durante mis estudios en la Universidad de Costa Rica. También deseo agradecer específicamente a Águeda Serrano y María Fernanda Solano, por siempre encontrarse dispuestas a ayudarme y brindarme guía a través de los tediosos procesos dentro de la universidad. Por supuesto sus palabras de motivación también fueron de gran ayuda.

ÍNDICE

Contenido	Página
Portada	i
Hoja de aprobación	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE	v
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	xii
INTRODUCCIÓN	13
REVISIÓN DE LITERATURA	16
1. Nutrición en plantas	16
1.1 Mecanismos de absorción	20
1.2 Importancia del nitrógeno en plantas	23
1.3 Metabolismo vegetal del nitrógeno.....	25
1.4 Nitrógeno en el ambiente	26
2. Fertilizantes nitrogenados	29
2.1 Nitrógeno en sistemas pecuarios	30
2.2 Fertilizantes nitrogenados de lenta liberación	31
3. Factores ambientales sobre la productividad forrajera	35
3.1 Temperatura	35
3.2 Precipitación	36
3.3 Radiación.....	37
4. Sistemas de corte y acarreo en lecherías	37
OBJETIVOS	40
General	40
Específicos.....	40
MATERIALES Y MÉTODOS	41
Zona de estudio	41

Especie de estudio.....	41
Toma de datos	42
Variables evaluadas.....	46
Análisis estadístico.....	46
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
Morfología y crecimiento del pasto ryegrass anual cv. Jumbo.....	49
Composición nutricional y mineral del pasto ryegrass anual cv. Jumbo.....	63
CONCLUSIONES	74
RECOMENDACIONES	75
LITERATURA CITADA	76
ANEXOS	94

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Funciones, formas de absorción y síntomas en deficiencia de distintos nutrientes en la planta.....	18
2	Composición e índice de acidez de los fertilizantes nitrogenados utilizados en Costa Rica.....	24
3	Fechas de labores ejecutadas en el estudio en cada finca.....	43
4	Análisis de suelo de la finca A.....	44
5	Análisis de suelo de la finca B.....	45
6	Rebrotos por metro cuadrado a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	49
7	Producción de raíz (ton MS.ha ⁻¹) a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	53
8	Relación porcentual entre los componentes hoja:tallo:material senescente del pasto ryegrass cv. Jumbo en la finca A.....	55
9	Relación porcentual entre los componentes hoja:tallo:material senescente del pasto ryegrass cv. Jumbo en la finca B.....	55
10	Niveles de significancia de los componentes estructurales hoja, tallo y material senescente.....	56
11	Cantidad de hojas verdes a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	60
12	Producción de biomasa del pasto ryegrass cv. Jumbo (kg MS.ha ⁻¹ .corte ⁻¹) a dos altitudes.....	61
13	Niveles de significancia de los componentes nutricionales.....	65
14	Niveles de significancia de la producción de gas total y gas.....	66
15	Estimaciones de las emisiones de GEI.....	69
16	Plan de fertilización de acuerdo a la fuente nitrogenada y la época del año para el pasto ryegrass, cv Jumbo a dos altitudes.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Principales síntomas visibles de deficiencia o toxicidad de distintos nutrientes en plantas.....	20
2	Asimilación del nitrógeno en plantas superiores con sus enzimas involucradas.....	26
3	Diagrama del ciclo del nitrógeno en el suelo.....	27
4	Distribución de las parcelas experimentales en la finca A y B respectivamente.....	42
5	Precipitación mensual promedio de San Juan de Chicué, Cartago, Costa Rica.....	50
6	Composición nutricional del pasto ryegrass, cv Jumbo a dos altitudes.....	64
7	Producción <i>in vitro</i> de gas total y metano del pasto ryegrass, cv. Jumbo a dos altitudes.....	66
8	Macrominerales del pasto ryegrass, cv Jumbo a dos altitudes.....	71
9	Microminerales del pasto ryegrass, cv Jumbo a dos altitudes.....	72

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Título	Página
1	Análisis de varianza del número de rebrotes por metro cuadrado a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	94
2	Tukey del número de rebrotes por metro cuadrado por muestreo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	94
3	Tukey del número de rebrotes por metro cuadrado por tratamiento y muestreo, a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	95
4	Análisis de varianza de la producción de raíz (ton MS/ha) a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	97
5	Tukey de la producción de raíz (ton MS/ha) por tratamiento a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	97
6	Modelo lineal generalizado de la relación porcentual del componente hoja a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	98
7	Modelo lineal generalizado de la relación porcentual del componente tallo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	99
8	Métodos de mínimos cuadrados de la relación porcentual del componente tallo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	101
9	Modelo lineal generalizado de la relación porcentual del componente senescente a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	102
10	Modelo lineal generalizado de las hojas verdes a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	104
11	Métodos de mínimos cuadrados de las hojas verdes a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	106
12	Análisis de varianza de las raíces cuadradas de la biomasa a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	106
13	Tukey para las raíces cuadradas de la biomasa por tratamiento a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	107
14	Tukey para las raíces cuadradas de la biomasa por muestreo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	107
15	Tukey para las raíces cuadradas de la biomasa por finca y muestreo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	107

16	Modelo lineal generalizado de las materia seca a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	109
17	Modelo lineal generalizado de la proteína cruda a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	111
18	Modelo lineal generalizado de la fibra detergente neutro a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	113
19	Modelo lineal generalizado de la digestibilidad in vitro de la materia seca a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	115
20	Modelo lineal generalizado de la digestibilidad in vitro de la fibra detergente neutro a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	117
21	Análisis de varianza de la producción de gas in vitro a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	118
22	Tukey de la producción de gas in vitro por finca y muestreo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	119
23	Modelo lineal generalizado de los niveles de nitrógeno foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	120
24	Modelo lineal generalizado de los niveles de calcio foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	120
25	Modelo lineal generalizado de los niveles de magnesio foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	121
26	Modelo lineal generalizado de los niveles de potasio foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	121
27	Análisis de varianza de los niveles de hierro foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	122
28	Análisis de varianza de los niveles de cobre foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	122
29	Análisis de varianza de los niveles de zinc foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	122
30	Análisis de varianza de los niveles de manganeso foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	123
31	Modelo lineal generalizado de los niveles de fósforo foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	123
32	Modelo lineal generalizado de los niveles de azufre foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.....	124

33	Estructura de costos de la fertilización nitrogenada con nitrato de amonio, urea o urea protegida.....	125
34	Composición nutricional del pasto ryegrass cv. Jumbo a dos altitudes.....	126

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la respuesta del pasto ryegrass anual (*L. multiflorum*) cv. Jumbo a tres fórmulas de nitrógeno (urea, nitrato de amonio y urea protegida) aplicado a dos altitudes (2.000 y 2.800 m.s.n.m.) en condiciones del trópico de Costa Rica. La unidad experimental fueron cada una de las parcelas (área = 6 m²) que se ubicaron a una altitud específica (2.000 ó 2.800 m.s.n.m.) que recibieron una dosis de 200 kg N.ha⁻¹.año⁻¹ y 13,49 kg S.ha⁻¹.año⁻¹ proveniente de alguna de las tres fuentes evaluadas (urea, nitrato de amonio o urea protegida). La urea protegida contiene una cobertura de azufre junto con un inhibidor de la actividad ureásica, N-(n-butil) triamida tiosfórica. Las parcelas con los tratamientos de nitrato de amonio y urea recibieron una dosis equivalente de 13,49 kg S.ha⁻¹.año⁻¹ utilizando sulfato de amonio para compensar el azufre aportado por la urea protegida. Las parcelas fueron dispuestas en un diseño de bloques completos al azar con tres réplicas por tratamiento. Se evaluaron características agronómicas de morfología y crecimiento del pasto por medio de: la producción de biomasa (kg MS.ha⁻¹), la relación hoja:tallo:material senescente (%), la edad fenológica (número de hojas verdes.rebrote⁻¹), la capacidad de rebrote (número de rebrotes.m⁻²) y la producción de raíz (kg MS.m⁻³). Además se evaluó, la composición nutricional de la biomasa aérea por medio de: materia seca (MS), proteína cruda (PC), fibra detergente neutro (FDN), digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y digestibilidad de la fibra (DIVFDN), producción de gas *in vitro* total y producción de gas metano *in vitro*. Asimismo, se evaluó el contenido macro y micromineral del forraje por medio de: nitrógeno, fósforo, calcio, magnesio, potasio, azufre, hierro, cobre, zinc, manganeso y boro. La cantidad de rebrotes fue mayor en el mes de agosto (1.160 rebrotes.m⁻², p<0,05) y no se encontraron diferencias entre fincas (p>0,05). Aunque la producción de raíz fue mayor en la finca de menor altitud (5,78 ton MS.ha⁻¹, p<0,05), este hallazgo no es concluyente ya que se muestreó al final del período experimental, por lo no refleja la dinámica de la tasa de recambio de las raíces a lo largo del año. La proporción de hoja y material senescente fueron mayores en la finca de menor altitud (67 y 12 % respectivamente, p<0,05) mientras que la proporción de tallo fue mayor en la finca de mayor altitud (39%, p<0,05). La edad fenológica fue mayor en el mes de agosto (2,65 hojas verdes.rebrote⁻¹, p<0,05) mas no se encontraron diferencias entre fincas (p>0,05). La biomasa producida fue mayor en la finca de mayor altitud (3.011 kg MS.ha⁻¹.corte⁻¹, p<0,05), asimismo fue superior en el mes de agosto (3.756 kg MS.ha⁻¹.corte⁻¹, p<0,05). Las diferencias en biomasa a lo largo del estudio se atribuyen a la época del año y la ubicación de cada finca. Los niveles de PC fueron superiores en la finca de menor altitud (18%,

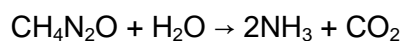
$p < 0,05$). No se encontraron diferencias entre fincas para los niveles de MS, FDN, DIVMS o DIVFDN ($p > 0,05$), pero sí hubo diferencias entre muestreos ($p < 0,05$). La producción de gas total fue superior en la finca de mayor altitud ($113,25 \text{ mL.g}^{-1}.\text{MS}^{-1}$, $p < 0,05$), sin embargo no se hallaron diferencias entre muestreos ($p > 0,05$). No se encontró ningún efecto en los niveles de metano *in vitro* ($p > 0,05$). Los minerales foliares N, Ca, Mg, Fe, Cu y Mn fueron superiores en la finca de menor altitud ($p < 0,05$), mientras que el K y Zn fueron superiores en la finca de mayor altitud ($p < 0,05$). No se encontraron diferencias por tratamiento para dichos minerales ($p > 0,05$).

INTRODUCCIÓN

En la ganadería, sin importar la especie (bovina, caprina, ovina, etc.), la necesidad continua de una fuente forrajera es fundamental para el correcto desarrollo de la actividad. Los forrajes requieren de un aporte continuo de nutrientes y en cantidades suficientes acorde a sus niveles productivos. El nitrógeno es uno de los principales nutrientes que impactan tanto la productividad del forraje, como en su valor nutricional, al ser esencial para los diferentes procesos metabólicos de la planta (Pérez 2009; Kraiser *et al.* 2011).

El nitrógeno del suelo es absorbido por las plantas en forma de iones de nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+), una vez dentro del organismo este sólo se puede usar en forma de ion amonio, la planta se encarga de reducir el nitrato a amonio (Pérez 2009). El amonio es de las principales fuentes más no la única, para la formación de aminoácidos en la planta a través de procesos metabólicos que ocurren en la fase oscura de la fotosíntesis, aumentando su valor nutricional para el animal que la consuma (Pérez 2009).

El suelo es un ambiente que posee gran actividad microbiana, la cual es la encargada de los procesos de mineralización de la materia orgánica (MO) y transformación de sustancias químicas, a través del metabolismo de los microbios que la componen, con el uso de enzimas extracelulares e intracelulares (Henríquez *et al.* 2014). La ureasa es la enzima encargada de transformar la urea en nitrógeno amoniacal (Reacción 1). Una vez liberado, se incorpora en el material coloidal del suelo para después ser aprovechado por la planta o sufrir el proceso de nitrificación. (Borie y Fuentealba 1982).



Reacción 1 (Borie y Fuentealba 1982).

Toda enzima se ve afectada por factores internos (del microorganismo al que pertenece) y/o externos tales como la temperatura o el pH ambiental. La ureasa es afectada, en gran parte, por factores externos debido a que es un componente intracelular. Los factores internos del microorganismo no le afectan, ya que se encuentra adaptada a estas condiciones (Henríquez *et al.* 2014, Núñez *et al.* 2012). Según Núñez *et al.* (2012), la actividad ureásica tiene una relación directa con la temperatura y la materia orgánica. Borie y Fuentealba

(1982) indican además que el efecto del pH sobre la actividad ureásica no es claro. La ureasa es la principal enzima que participa en la degradación del nitrógeno sintético proveniente de los fertilizantes (Witte 2011). Es por ello que se han diseñado distintas tecnologías con el fin de extender la durabilidad de la fertilización nitrogenada en el suelo para que así el nitrógeno esté disponible por más tiempo para ser absorbido por las plantas.

Existen distintos tipos de protección para los fertilizantes, entre ellos se encuentran el uso de matrices que funcionan como diluyentes, donde el fertilizante se libera a través de las aperturas que ofrece la matriz hacia el suelo. Un segundo tipo son aquellos de liberación química controlada como urea-formaldehído y un tercer tipo son aquellas protecciones que ofrecen un recubrimiento con materiales orgánicos como polímeros de dicitlopentadieno, polietileno, resinas ureicas, que a su vez incluye materiales naturales como el caucho, la cera y resinas. También se utilizan materiales inorgánicos, como azufre, fosfatos y silicatos (Liang y Liu 2006).

Liang y Liu (2006) estudiaron los efectos de la temperatura, humedad y pH sobre la liberación de la urea protegida de dos capas, una capa interna de poliestireno y otra externa de poli (ácido acrílico) (PAAU, por sus siglas en inglés "Poly Acrylic Acid Urea") que contiene urea. Se encontró que el pH no tuvo influencia en la liberación del nitrógeno pero los demás factores antes mencionados, sí influenciaron su liberación. La temperatura afectó el proceso de liberación de la urea, porque a mayor temperatura facilita la difusión del agua a través de la capa PAAU, mejora el intercambio de agua entre la capa PAAU y el suelo, aumenta la concentración de urea del núcleo, favoreciendo la diferencia entre gradientes, movilizand una mayor cantidad de urea hacia la capa PAAU y el suelo. La capa PAAU es superabsorbente, a mayor humedad, incrementa la absorción de agua, creando canales de paso para la urea del núcleo hacia la capa PAAU, para finalmente liberarse en la solución del suelo. Es de vital importancia evaluar tecnologías que mitiguen la contaminación ambiental y estudiar los factores que afecten su eficiencia de uso. Estos factores tales como la temperatura, precipitación, entre otros, varían de acuerdo a la altitud, es por ello que realizar evaluaciones según la zona es la manera más apta para evaluar las nuevas tecnologías. Debido a los efectos del cambio climático, el sector agropecuario ha sido cuestionado por el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados que pueden contaminar el ambiente y por esta razón es indispensable evaluar estas nuevas tecnologías.

Los fertilizantes nitrogenados son la principal fuente de emisión de óxido nitroso en el sector pecuario (CEDECO 2005) el gas con mayor efecto invernadero (296 eq CO₂) y potencial de calentamiento (Chinchay 2015). Sin embargo, debido a la importancia que tienen en la producción de forrajes y las cantidades requeridas del mismo, es que se deben utilizar para satisfacer la alta demanda de dicho nutriente. También pueden sufrir procesos de lixiviación y contaminar las aguas subterráneas al filtrarse al sub-suelo formando nitratos, que a su vez generan la eutrofización de las aguas, afectando la vida acuática (Nelson *et al.* 2009). El uso apropiado y concientizado de los fertilizantes nitrogenados, debe permitir que toda actividad agropecuaria sea sostenible en el tiempo, considerando el cuidado del ambiente por medio de la captura de dióxido de carbono. Costa Rica se comprometió a ser carbono neutral para el año 2021, por lo que el uso de prácticas de manejo amigables con el ambiente son determinantes para alcanzar dicha meta.

En el presente estudio, se desea comprender cómo el efecto de la altitud puede influir sobre la respuesta del nitrógeno, su degradación a nivel de suelo y evaluar una de las tecnologías disponibles para retardar su liberación. Esto con el fin de no comprometer su aprovechamiento por parte de la planta, afectando las características agronómicas del forraje y el medio ambiente. El estudio se realizó a dos altitudes (2.000 y 2.800 m.s.n.m.) y se evaluó la respuesta agronómica del forraje ryegrass anual (*Lolium multiflorum*) cv. Jumbo, el cual se utiliza ampliamente en lecherías especializadas en zonas altas de Costa Rica bajo sistemas de corte-acarreo.

REVISIÓN DE LITERATURA

1. Nutrición en plantas

Las plantas requieren diferentes elementos esenciales para desarrollarse y vivir, también conocidos como nutrientes esenciales. Estos se dividen en macro y micro-elementos. Los macro-elementos son: nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S). Por otra parte, los micro-elementos son: boro (B), cloro (Cl), cobre (Cu), hierro (Fe), manganeso (Mn), molibdeno (Mo) y zinc (Zn) (Bryla *et al.* 2012, Jones 2012). Esta clasificación persiste a lo largo de los años, no obstante, los nutrientes esenciales varían de una especie a otra.

Por lo tanto, según Jones (2012) y Kirkby (2012) se utiliza el criterio establecido por Arnon y Stout en 1939, dos fisiólogos en plantas de la Universidad de California, el cual aún se encuentra vigente. Las normas a seguir para considerar un nutriente como esencial son las siguientes:

1. La omisión del elemento resulta en un crecimiento anormal, impide el término del ciclo de vida o provoca la muerte prematura de la planta.
2. El elemento debe ser específico e irremplazable por otro elemento.
3. El elemento debe afectar directamente en el crecimiento o el metabolismo de la planta y no algún efecto indirecto, como antagonizar otro elemento presente a un nivel tóxico.

Por otra parte, los elementos esenciales que requiere toda planta en mayor proporción siempre serán el carbono, hidrógeno y oxígeno derivados del agua y la atmósfera (Uchida 2000).

- Nitrógeno

El nitrógeno se encuentra en formas orgánicas e inorgánicas en el suelo (Richardson *et al.* 2009). Las formas orgánicas provienen principalmente de material vegetal en descomposición y microorganismos donde ambos forman en conjunto los detritos (Haynes 2012). A su vez, las plantas tienen la capacidad de utilizar una gran variedad de compuestos

nitrogenados, desde los compuestos inorgánicos sintéticos hasta complejos polímeros proteicos como aminoácidos, ADN, entre otros (Näsholm *et al.* 2009; Paungfoo-Lonhienne *et al.* 2012). Transportadores han sido encontrados en micorrizas y raíces de plantas tales como la *Arabidopsis thaliana* que indican la absorción de aminoácidos (Näsholm *et al.* 2009).

Algunas de las formas inorgánicas son los nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-) y el amonio (NH_4^+) (Hood-Nowotny *et al.* 2010). El proceso de mineralización del nitrógeno orgánico a amonio y posteriormente su nitrificación a nitratos es mediado por microorganismos (Di *et al.* 2009, Gubry-Rangin *et al.* 2010). Tanto el amonio como el nitrato, son absorbidos por las raíces de las plantas a través de una combinación del flujo de masas y difusión (Richardson *et al.* 2009).

El nitrógeno desempeña diferentes papeles dentro del metabolismo vegetal. Barrera *et al.* (2010) mencionan sus funciones además de sus síntomas en caso de deficiencia. Dentro de las funciones se encuentran:

- Constituyente de aminoácidos, la clorofila y ácidos nucleicos.
- Estimula crecimiento de hojas y tallos.
- Estimula producción de proteínas en frutos y granos.
- Fomenta el uso de nutrientes como el fósforo y potasio.

Los síntomas de deficiencia de nitrógeno en plantas pueden variar de una especie a otra, no obstante mantienen un patrón. Por lo general se presentan inicialmente en hojas maduras debido a su gran movilidad siendo los principales:

- Las hojas se tornan verde claro al inicio seguida de una clorosis general.
- Falta de turgencia.
- Pobre desarrollo radical.
- Acumulación de compuesto fenólicos como flavonoides, antocianinas y cumarinas.

Barrera *et al.* (2010) además, realizan una mención de las principales funciones que cumplen los siguientes elementos esenciales en las plantas, también de sus principales fórmulas químicas absorbidas por las plantas y síntomas en caso de su deficiencia (Cuadro 1). Los síntomas generales causados por deficiencia o toxicidad de nutrientes se muestran en la Figura 1.

Cuadro 1. Funciones, formas de absorción y síntomas en deficiencia de distintos nutrientes en la planta.

Elemento	Funciones	Forma de absorción	Síntomas en deficiencia
Fósforo	Constituyente de coenzimas, ácidos nucleicos y sustratos metabólicos. Desarrollo de raíces. Mayor resistencia a enfermedades.	Dihidrógeno e hidrógeno fosfato (H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} respectivamente).	Las hojas, tallos o peciolo cambian a un color verde oscuro, azulado o morado. Enrollamiento de hojas. Sistema radical poco desarrollado. Lento desarrollo con floración postergada. Susceptibilidad a infecciones.
Potasio	Fotosíntesis, translocación de carbohidratos y síntesis de proteínas. Catalizador de enzimas, contribuye a la osmorregulación y mantiene el potencial de membrana. Turgor de las células guarda.	Ión (K^+).	Clorosis en los bordes de la hoja e intervenal. Enrollamiento de las hojas y hojas arrugadas con brotes muy cortos. Poco desarrollo radical. Baja resistencia a enfermedades. Reducción en las tasas de transpiración e intercambio gaseoso.
Calcio	Constituyente de las paredes celulares (estructura y permeabilidad de las membranas). Activador de enzimas amilasa y ATPasa.	Ión (Ca^{2+}).	Meristemos apicales aformes con poco desarrollo o nulo. Yemas en forma de gancho. Brotes débiles que se caen fácilmente. Clorosis en los bordes de las hojas maduras y pérdida de turgencia.
Magnesio	Componente fundamental de la clorofila. Combinado con ATP o ADP funciona como activador de enzimas.	Ión (Mg^{2+}).	Cambio de color en las hojas con su consiguiente clorosis intervenal y finalmente necrosis. Hojas quebradizas y enrolladas.
Azufre	Formación de aminoácidos azufrados (cisteína y metionina).	Sulfatos (SO_4^{2-}).	Reducción en la síntesis proteica. Clorosis en hojas jóvenes. Raíces y tallos con diámetros menores a los usuales pero con mayor longitud. Sistema radical débil pero invasivo. Tallos rígidos y quebradizos.
Boro	Translocación de azúcares y carbohidratos. Se relaciona con el desarrollo de la pared celular, frutas y semillas.	Ácido trioxobórico y borato diácido (H_3BO_3 y H_2BO_3^- respectivamente).	Tallos y peciolo anormales, quebradizos blanquecinos. Hojas jóvenes delgadas y curvadas. La reproducción inhibida o retrasada. Los frutos se pudren fácilmente.

Cuadro 1. (Cont.) Funciones, formas de absorción y síntomas en deficiencia de distintos nutrientes en la planta.

Elemento	Funciones	Forma de absorción	Síntomas en deficiencia
Cobre	Síntesis de la clorofila, ADN y ARN. Constituyente de la plastocianina que participa en la transferencia de electrones y de proteínas con actividad oxidasa.	Ión (Cu^{2+}).	Acortamiento de entrenudos. Hojas nuevas atrofiadas o retorcidas y de color verde oscuro. Pueden presentar puntos necróticos. Raíces atrofiadas. Floración y fructificación reducidas.
Hierro	Catalizador en la activación de enzimas las cuales participan en reacción redox (óxido-reducción). Transportador del oxígeno, cofactor en la síntesis de la clorofila y funcionamiento adecuado de enzimas como la catalasa, peroxidasa, ferredoxina y citocromos.	Iones (Fe^{2+} y Fe^{3+}).	Los síntomas en su ausencia se pueden presentar en una sola rama o en la planta general. Clorosis intervenal. En hojas jóvenes se tornan amarillas o blanquecinas. Con deficiencia severa se observan manchas cafés angulares intervenales incluyendo bordes de la hoja color café oscuro.
Manganeso	Activación de enzimas catalizadoras de la reducción de carbohidratos, formación de clorofilas y ADN o ARN. Interviene directamente en la producción de oxígeno durante la fotosíntesis.	Ión (Mn^{2+}).	Clorosis intervenal que se puede confundir por deficiencia de hierro, magnesio o zinc. En casos severos se dan puntos necróticos y caída de hojas. Formación de flores reducida o detenida.
Molibdeno	Interviene en la fijación del nitrógeno, en la reducción del nitrato de amonio y en el metabolismo de los carbohidratos.	Molibdato (MoO_4^{2-}).	Clorosis intervenal que puede confundirse por bajos niveles de nitrógeno. Enrollamiento en los bordes de las hojas. Manchas en las hojas.
Zinc	Activador de enzimas que participan en la regulación de distintos procesos metabólicos como la síntesis del material genético (ADN, ARN), proteínas y hormonas.	Ión (Zn^{2+}).	Crecimiento atrofiado. Entrenudos más cortos. Hojas amarillas o cafés con reducido tamaño. Raíces y tallos anormales. Altos niveles de P, N, Cu o Fe.
Cloro	Mantiene la turgencia de los tejidos y participa en el crecimiento de las células cuando existe estrés hídrico.	Ión (Cl^-).	Hojas maduras cloróticas y necróticas con reducido tamaño. Marchitamiento y atrofiamiento de la planta. Reducción en la tasa de transpiración.

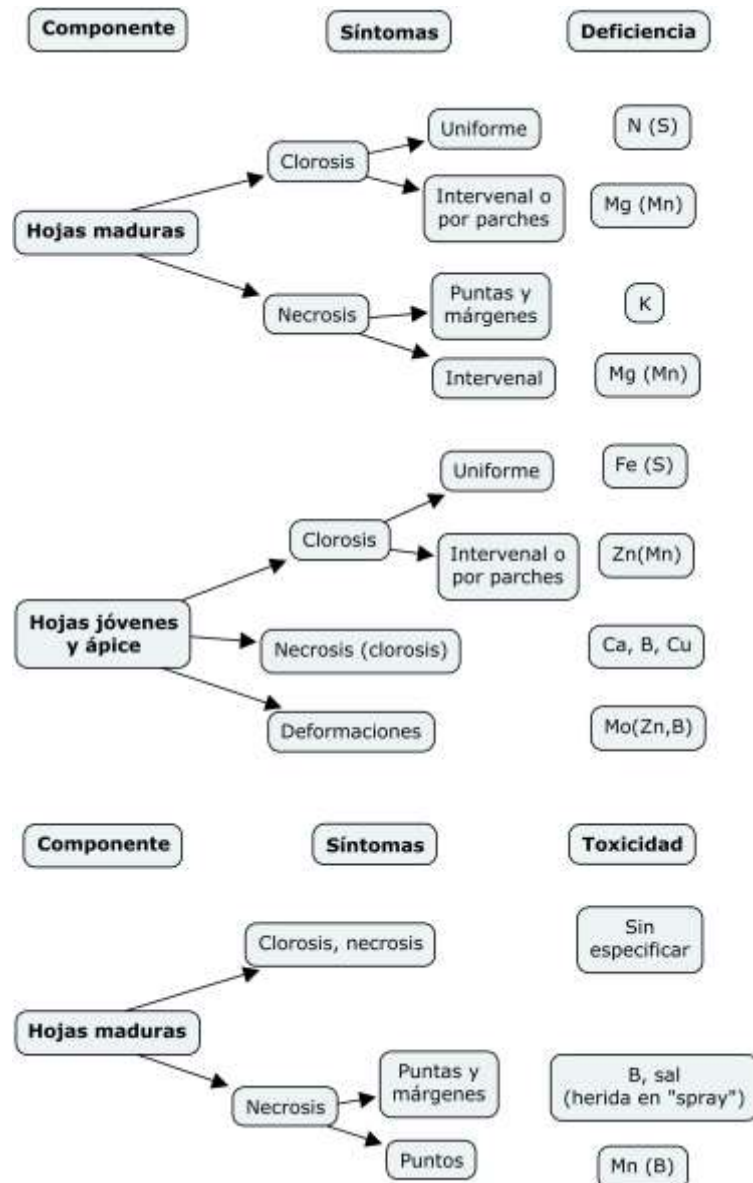


Figura 1. Principales síntomas visibles de deficiencia o toxicidad de distintos nutrientes en plantas. Adaptado de Marschner y Rengel (2012).

1.1 Mecanismos de absorción

Solamente una fracción de los nutrientes que se encuentran en el suelo se encuentran disponibles para ser absorbidos por la planta (Marschner y Rengel 2012). Factores como la materia orgánica presente, el potencial óxido-reducción (redox), el pH, el contenido de agua y la actividad microbiana pueden influir en la disponibilidad de los nutrientes en el suelo para las plantas (Giehl y von Wirén 2014).

Giehl y von Wirén (2014) encontraron que las plantas alteran su arquitectura en el sistema radicular cuando presentan deficiencias para nutrientes específicos. Los autores explican que la masa radicular se moviliza y crece hacia las zonas donde se encuentran niveles superiores de los nutrientes que poseen carencia, con el fin de ubicarlos dentro de la rizósfera para absorberlos. Esto lo comentan Gojon *et al.* (2009) en estudios realizados con *Arabidopsis sp.* donde se evidencia el crecimiento de raíces laterales en dirección a zonas del suelo ricas en fuentes nitrogenadas en forma de NO_3^- . También, los mismos autores, han encontrado que puede haber inhibición del crecimiento lateral de raíces por el ión NO_3^- , sin embargo esta vía se sugiere que es regulada por fuentes nitrogenadas orgánicas. Por otra parte, componentes como el glutamato inhiben el crecimiento primario de la raíz pero tal efecto se ve antagonizado con el suministro del el ión NO_3^- (Gojon *et al.* 2009).

Existen diferentes mecanismos por los cuales las plantas absorben nutrientes, entre ellos se encuentran la difusión simple, el flujo de masas y el contacto directo (Marschner y Rengel 2012). Estos a su vez se pueden clasificar en transporte activo o transporte pasivo, acorde a si usan o no energía para efectuarlo (Robertson 1951, Duncan 2012) La difusión simple sucede cuando el nutriente se encuentra en la disolución del suelo y no requiere de energía o transportadores para ser absorbido por la planta, además, siempre se moviliza desde el gradiente de mayor concentración al de menor concentración (Marschner y Rengel 2012). En contraparte, el transporte activo se produce cuando hay transportadores involucrados y requiere de energía para llevarse a cabo (Stein 2012). Por otro lado, el transporte pasivo puede requerir o no la presencia de transportadores que ingresen el nutriente a la planta, asimismo, no realizan el uso de energía para dicho proceso (Sugano *et al.* 2010).

Finalmente, el flujo de masas se presenta cuando el agua funciona como vehículo para transportar los nutrientes disueltos hacia las raíces de la planta y estos puedan ser absorbidos por transporte activo o pasivo (Marschner y Rengel 2012). El flujo de masas depende de la concentración del nutriente en la solución del suelo y la tasa de respiración de la planta (Giehl y von Wirén 2014). Igualmente las raíces pueden entrar en contacto directo con los elementos que se encuentran adsorbidos sobre la superficie de una arcilla por ejemplo, y ser absorbidos ya sea por transporte activo o pasivo (Marschner y Rengel 2012).

Cada nutriente posee diferentes mecanismos de absorción los cuales son preferidos por las plantas que ocurren de forma simultánea o alterna, dependiendo de las circunstancias en las

que se encuentre el nutriente y la planta (Duncan 2012; Haynes 2012; Britto y Kronzucker 2013). Asimismo, Duncan (2012) concluyó que los sistemas de enzimas o proteínas inducibles proveen a las plantas la capacidad de adaptarse a las diferentes concentraciones y fluctuaciones de los iones presentes en el suelo. Esta adaptación se realiza a través de mecanismos de absorción de nutrientes desde su ingreso en las raíces hasta el ingreso a la membrana citoplasmática de las células, incluyendo el transporte a través del xilema.

El nitrógeno es absorbido por las plantas en forma orgánica como aminoácidos e inorgánica como iones de amonio y nitrato (Gioseffi *et al.* 2012). Las plantas poseen transportadores con gran y baja afinidad para ambos iones antes mencionados (Gojon *et al.* 2009; Näsholm *et al.* 2009; Xu *et al.* 2012). El orden de absorción del nitrógeno en cuanto a su rapidez es: amonio, aminoácidos y por último el nitrato, aunque en algunos casos se ha encontrado que la absorción de aminoácidos ha sido mayor que la de ambos iones (Näsholm *et al.* 2009). Esto último se puede deber a la especie de planta y el tipo de los aminoácidos presentes en el suelo. En otros estudios se ha encontrado que de acuerdo a la concentración de las fuentes nitrogenadas en el suelo o bien la especie de planta regula la preferencia por la fuente nitrogenada (Warren 2009).

La tasa de absorción del amonio es regulada a nivel transcripcional y pos-transcripcional (Lanquar *et al.* 2009; Rogato *et al.* 2010). A su vez Lanquar *et al.* (2009) sugieren que el transportador del ion amonio u otros componentes extracelulares, son utilizados por las plantas para detectar la concentración de dicho ión en la rizósfera. La absorción del nitrato se ha visto regulada por el ácido gamma aminobutírico (GABA) en *Arabidopsis sp.* de acuerdo a la concentración del ión en el medio de cultivo (Barbosa *et al.* 2010). A su vez, el mismo nitrato funciona como señal para brindar una retroalimentación positiva o negativa a la planta (Gojon *et al.* 2009).

Las plantas también poseen afinidad en la absorción del nitrógeno. El ryegrass perenne (*Lolium perenne*) no presenta preferencia en la absorción de la fuente de nitrógeno cuando se fertiliza con cantidades molares iguales de amonio y nitrato. Cuando se fertiliza con cantidades desiguales, la planta absorbe ambos a la misma velocidad, hasta que uno se acaba. Sin embargo, cuando las raíces forman una asociación con las micorrizas se determina la preferencia de absorción por nitrógeno NH_4^+ (Bailey 1998).

Los forrajes adicionalmente, poseen la capacidad de absorber nitrógeno vía foliar. Stiegler *et al.* (2011) encontraron que al aplicar 0,5-1,25 g.m⁻² urea disuelta en agua, tanto el bentgrass (*Agrostis stolonifera*) como el pasto bermuda híbrido (*Cynodon dactylon* x *C. transvaalensis*) absorbieron en las primeras cuatro horas post-aplicación el 83 y 94% del nitrógeno aplicado respectivamente, con una absorción final de 36-69% y 38-62% respectivamente. La aplicación foliar de nitrógeno es una alternativa para disminuir las pérdidas de la urea por su descomposición en el suelo.

1.2 Importancia del nitrógeno en plantas

Los forrajes son la principal fuente de alimentación de los rumiantes, en las lecherías especializadas el uso y aprovechamiento del recurso forrajero es fundamental para mantener alta productividad en el hato lechero. Algunas de las principales prácticas de manejo de pasturas son el pastoreo rotacional, uso de fertilizantes químicos, orgánicos y foliares, herbicidas, plaguicidas y enmiendas al suelo, entre otras (Villalobos *et al.* 2013).

La aplicación de nitrógeno en pasturas tiene el objetivo de aumentar la producción de biomasa del forraje ya que contribuye al desarrollo vegetativo de la planta y es componente esencial de las enzimas (Bäzinger *et al.* 2012). Para la producción de materia seca no sólo el nitrógeno es limitante, también otros factores pueden influir como el fósforo, que interviene en la extracción de nitratos y en su translocación para formar aminoácidos en las raíces de la planta (Villalobos y Sánchez 2010). Según la fuente de nitrógeno y el tipo de suelo, varía su comportamiento junto con el aprovechamiento por parte de la planta. La composición e índice de acidez de fertilizantes nitrogenados en Costa Rica se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Composición e índice de acidez de los fertilizantes nitrogenados utilizados en Costa Rica.

Nombre	Fórmula	% Nitrógeno	Índice de acidez*
Sulfato de amonio	(NH ₄) ₂ SO ₄	21	-112
Urea	CO(NH ₂) ₂	46	-84
Fosfato diamónico	(NH ₄) ₂ HPO ₄	18	-74
Fosfato monoamónico	NH ₄ H ₂ PO ₄	12	-65
Nitrato de amonio	NH ₄ NO ₃	33,5	-63

* Índice de acidez fisiológica = (-) kg CaCO₃ / 100 kg fertilizante.

Fuente: Tisdale *et al.* (1993).

Todo fertilizante que posea amonio genera acidez en el suelo. Por el proceso de nitrificación se oxida a nitrito (Reacción 2) hasta nitrato (Reacción 3), la forma más absorbible no tóxica por la planta, con ayuda de bacterias nitrificantes como *Nitrosomonas sp* y *Nitrobacter sp*. La urea también produce acidez, debido que la ureasa la descompone hasta producir amoníaco (Reacción 1), en presencia de agua se convierte a amonio y sufre la nitrificación, acidificando el suelo. El sulfato de amonio es el más acidificante por el contenido de amonio, la urea es menos acidificante porque en su descomposición se produce carbamato de amonio, alcalinizando el material atenuando su efecto en el pH del suelo (Espinoza y Molina 1999).



Por otra parte, Andrews *et al.* (2013) encontraron que la fórmula química del nitrógeno disponible en el suelo interviene en el tiempo y tasa de germinación, expansión de las hojas y funcionalidad, distribución de la materia seca entre los rebrotes y las raíces, por último pero no menos importante la arquitectura del sistema radical. No obstante, menciona que la magnitud en la que se afectan estos factores depende de agentes externos a la fuente nitrogenada.

1.3 Metabolismo vegetal del nitrógeno

El nitrógeno en el organismo vegetal posee una alta movilidad porque participa en varios procesos metabólicos (Giehl y von Wirén, 2014). Como comenta Gojon *et al.* (2009) se han identificado dos señalizaciones a nivel fisiológico que gobiernan la regulación de los transportadores de nitrógeno: (i) represión de la retroalimentación por una reducción en los metabolitos de nitrógeno y (ii) regulación (inducción o represión) por el ión NO_3^- como mensajero. En ambas señalizaciones antes mencionadas, se ven afectadas por la presencia de fuentes de nitrógeno. Esto porque se altera la expresión de ciertos genes que a su vez regulan los transportadores de nitrógeno y el ciclo circadiano endógeno de la planta (Gojon *et al.* 2009).

El amonio puede ser transportado a través del xilema desde las raíces hasta los nuevos brotes, cuando se encuentra en concentraciones elevadas (Schjoerring *et al.* 2002). El nitrato es absorbido por las raíces donde puede ser almacenado y asimilado ahí mismo, o bien ser transportado a través del xilema hacia los rebrotes y ser almacenado o asimilado en ese lugar (Andrews *et al.* 2013). Wang *et al.* (2012) encontraron que el nitrato también puede ser transportado a través del floema pero en menor cantidad en comparación con su transporte en el xilema.

El nitrato es reducido a amonio y este es incorporado como glutamina o glutamato al ciclo de Calvin-Benson para la formación de aminoácidos y proteínas (Figura 2). Los aminoácidos y proteínas absorbidos por las plantas son degradados a amonio para posteriormente ser incorporados como glutamina y glutamato al ciclo de Calvin-Benson para formar nuevos aminoácidos utilizados por la planta (Heidari *et al.* 2011). A su vez, la vacuola es la principal organela donde se almacenan los nitratos dentro de la planta tanto en raíces como en los rebrotes. De igual manera la urea es almacenada en la vacuola, sin embargo esta última no se encuentra disponible para su hidrólisis y asimilación (Witte 2011; White 2012).

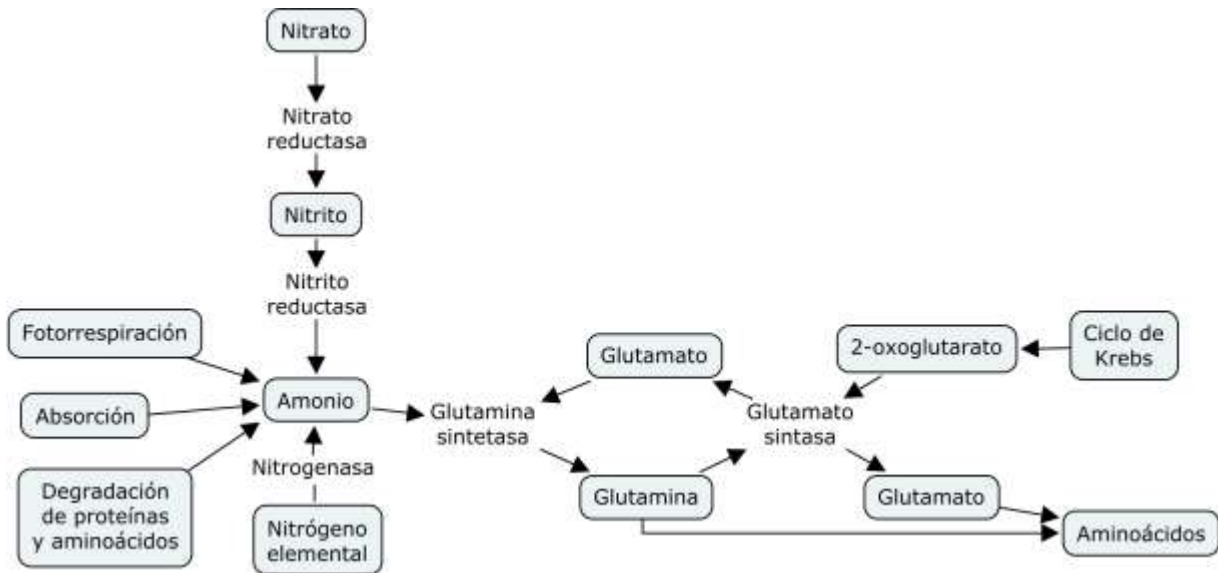


Figura 2. Asimilación del nitrógeno en plantas superiores con sus enzimas involucradas. Adaptado de Andrews (2013).

La urea puede ser absorbida a través de las raíces o bien ser un producto de la catabolización de la arginina a través de la arginasa. Existen transportadores activos de alta afinidad (DUR3) y también pasivos, conocidos como acuaporinas que son proteínas intrínsecas mayores (MIPs por sus siglas en inglés “Major Intrinsic Proteins”). Una vez dentro de la planta, es hidrolizada por la ureasa produciendo amoníaco y dióxido de carbono (Witte 2011).

1.4 Nitrógeno en el ambiente

Ciclo del nitrógeno

El nitrógeno es el más abundante de los gases atmosféricos (Canfield *et al.* 2010). Al ser el que se encuentra de mayor proporción, es habitual que posea distintas rutas para incorporarse al suelo, cuerpos de agua dulce u océanos (Fowler *et al.* 2013). Para efectos de este trabajo se enfatizará en el ciclo del nitrógeno ambiental con respecto al suelo (Figura 3).

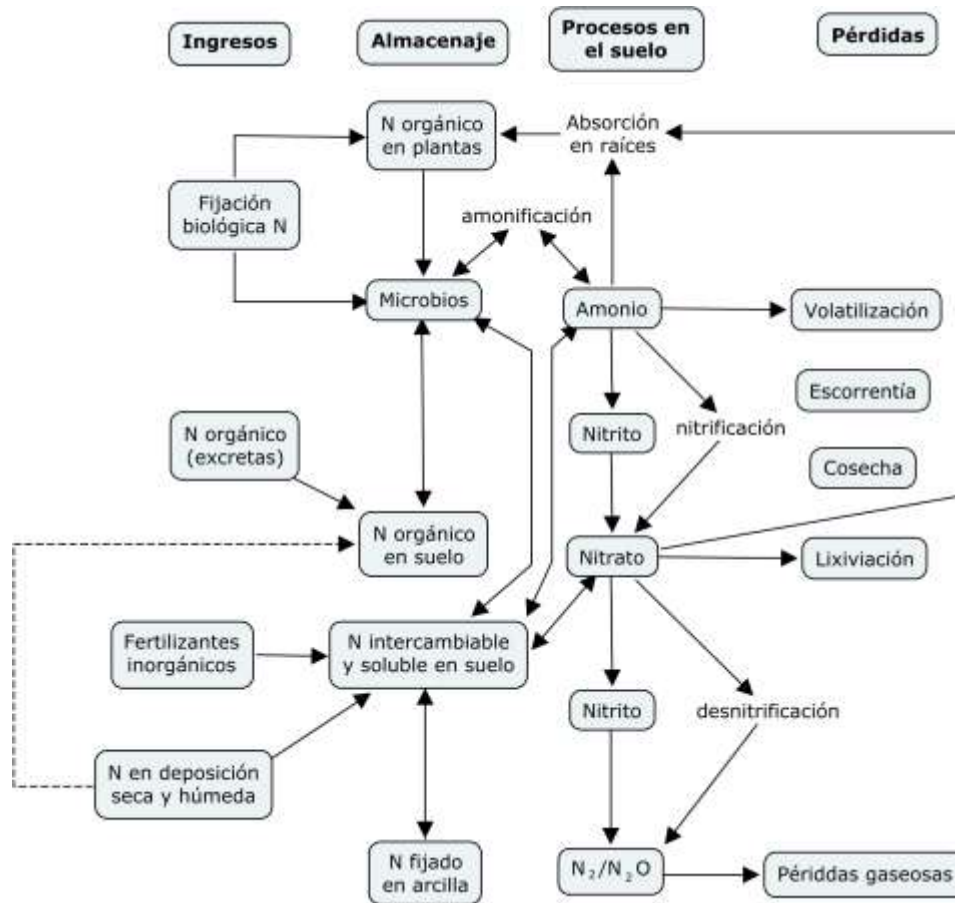


Figura 3. Diagrama del ciclo del nitrógeno en el suelo. Adaptado de Rosswall (1976).

Haynes (2012) menciona que la descomposición de la materia orgánica se puede abordar a través de tres pasos: lixiviación, catabolismo y disminución del tamaño de partícula. Explica que la lixiviación es el proceso del arrastre de detritos de la materia orgánica por acción del agua hacia las distintas capas del suelo. Asimismo, encontró que el nitrógeno contenido en la hojarasca puede abandonar la misma por la lixiviación entre un 10-25% del nitrógeno total presente. Por otra parte, el catabolismo es la degradación de compuestos complejos a moléculas más simples, mediado por enzimas extracelulares de bacterias y hongos saprófitos, lombrices, artrópodos, nematodos y protozoos. Por último, explica que la disminución del tamaño de partícula se debe a procesos físicos de organismos descomponedores. La disminución del tamaño de partícula es muy importante porque como bien menciona el autor, incrementa el área superficial expuesta a los microorganismos para la degradación de la materia orgánica.

El nitrógeno orgánico se incorpora al suelo a través de la senescencia de los microorganismos y la hojarasca, como se mencionó anteriormente (Haynes 2012). Los árboles absorben agua y nutrientes de los perfiles más profundos del suelo. A su vez, enriquecen los perfiles superiores a través de la pérdida de sus órganos temporales (hojas, flores o frutos), liberación de exudados o bien, a través de la anidación de aves en sus ramas (Jacob *et al.* 2009; Young *et al.* 2010; David *et al.* 2013; Yin *et al.* 2014). Asimismo, plantas con raíces más superficiales tales como las praderas naturales de gramíneas, al sufrir la pérdida de sus hojas de igual manera pueden aportar nutrientes al suelo. No obstante, cuando las plantas pierden material senescente, antes realizan una redistribución de nutrientes para perder la menor cantidad de los mismos (Maillard *et al.* 2015).

Por otra parte, factores ambientales pueden incentivar la pérdida de órganos temporales indirectamente, al detonar fisiológicamente procesos que conlleve a la senescencia o bien, directamente a través de factores como el viento o lluvia. Los desprendimientos por el viento o la lluvia generan un mayor aporte de nitrógeno al suelo, puesto que no hay senescencia y por tanto tampoco re-movilización de los nutrientes (Maillard *et al.* 2015).

Los animales herbívoros también realizan sus aportes de nitrógeno al suelo al reciclar nutrientes una vez que se alimentan del forraje y lo excretan (Knoll *et al.* 2009; Jouany *et al.* 2011). A pesar de tener sistemas digestivos especializados para aprovechar al máximo los nutrientes del material vegetal, su digestión y absorción nunca es del cien por ciento (Müller *et al.* 2013). Lo anterior permite un aporte considerable de nutrientes al suelo en forma de materia orgánica biodegradable (Labatut *et al.* 2011; Li *et al.* 2013).

Por otra parte, Fowler *et al.* (2009) encontraron que el suelo emite gases de efecto invernadero (GEI) tales como el óxido de nitrógeno (NO) gracias a la descomposición de la materia orgánica debido tanto a procesos bióticos y abióticos. Estos últimos mencionan que se presentan cuando se oxida el ácido nitroso (HNO_2) producido por la protonación del nitrito formado biológicamente. A su vez, explican que la producción y consumo del NO en el suelo se da mayoritariamente por los procesos biológicos de nitrificación y desnitrificación de compuestos nitrogenados. En estos procesos de óxido-reducción (redox) involucran pero no se limitan a compuestos como: el amonio, nitritos, nitratos, óxido de nitrógeno, óxido nitroso y nitrógeno gaseoso elemental.

De igual manera factores que influyen en los procesos antes mencionados pueden afectar en la producción de NO (Fowler *et al.* 2009). Por otro lado, las hojas de las plantas pueden emitir GEI al sufrir el proceso de fotólisis del ácido nítrico (HNO₃) y por el proceso natural de la respiración que libera CO₂ (Fowler *et al.* 2009; Gioseffi *et al.* 2012). Bloom *et al.* (2002; 2010; 2012) encontraron que con altos niveles atmosféricos de CO₂ se disminuye la asimilación del nitrato en los rebrotes. Lo anterior se puede explicar por diversas razones, una de ellas es porque hay una menor disponibilidad de NADH para reducir el nitrato a amonio.

2. Fertilizantes nitrogenados

Los fertilizantes nitrogenados son la principal fuente de emisión de óxido nitroso en el sector pecuario (CEDECO 2005), por lo tanto, si se aumenta la eficiencia en su uso a través de inhibidores de la nitrificación, inhibidores de la ureasa o fertilizantes nitrogenados protegidos, se podrá disminuir su impacto ambiental. Delgado y Mosier (1995) encontraron una reducción cercana al 16% en las emisiones del gas óxido nitroso y un aumento en la recuperación del nitrógeno en el sistema planta-suelo, del 98% en la cebada (*Hordeum vulgare*) con urea protegida por poliolefina.

Para la mitigación de los gases de efecto invernadero (GEI), se realizan buenas prácticas de manejo en el sector pecuario, incluyendo el apropiado uso de los fertilizantes nitrogenados con el objetivo de disminuir las dosis aplicadas a los cultivos, las pérdidas por lixiviación, escorrentía o volatilización y el impacto ambiental sobre el recurso hídrico y atmosférico. La fuente de nitrógeno utilizada, el uso de inhibidores de la ureasa y nitrificación, la época de aplicación, la frecuencia y dosis, afectan el porcentaje de eficiencia de uso por parte de la planta influyendo en la degradación de fertilizantes y en la cantidad de nitrógeno transformado en óxido nitroso respectivamente. La calibración del equipo utilizado para aplicar los fertilizantes nitrogenados junto con la planificación para el momento óptimo de aplicación afecta la efectividad que la planta posee para hacer uso del fertilizante. Incluso el manejo de un sistema intensivo de producción permite producir menos GEI por unidad de producto generado (Synder *et al.* 2007).

El potencial de calentamiento global (PCG) es una medida para estimar el impacto ambiental con respecto al calentamiento global de los GEI. El Panel Intergubernamental del Cambio

Climático (IPCC por sus siglas en inglés “Intergovernmental Panel on Climate Change”) estableció el PCG como una medida asociada a la contribución futura del gas sobre el efecto en el calentamiento global en un tiempo determinado dividido por su equivalencia en dióxido de carbono. Al tomar el valor de emisiones de un gas específico y multiplicarlo por su valor de PCG arrojaría como resultado la cantidad de dióxido de carbono equivalente que provocaría cierto grado de calentamiento global en el periodo de tiempo previamente establecido. El dióxido de carbono es el GEI de referencia por ser el más influyente en el cambio climático (Hauschild y Wenzel 1998).

El óxido nitroso es el gas con mayor PCG en la atmósfera con un valor de 275 a 20 años, seguido por el metano con un PCG de 62 a 20 años. Este último es originado por la fermentación entérica en animales rumiantes que lo producen como un subproducto en el rumen (CEDECO 2005). En un período de 100 años, los PCG del óxido nitroso y el metano son de 296 y 25 respectivamente (Boucher *et al.* 2009, Zou *et al.* 2005, Dalal *et al.* 2003). Los valores de PCG para los GEI varían acorde a la literatura y al tiempo proyectado que tendrá su impacto en el medio ambiente, esto porque es muy difícil determinar el verdadero impacto que tendrán sobre nuestra atmósfera. Sin embargo, siempre existe una tendencia de mayor PCG a lo largo del tiempo, del óxido nitroso en comparación con el metano.

2.1 Nitrógeno en sistemas pecuarios

En fincas lecheras de Costa Rica se han encontrado dosis entre 276 y 851 kg N.ha⁻¹.año⁻¹ en pastos ryegrass (menor dosis), Kikuyo y Estrella Africana (Villalobos *et al.* 2013). Villalobos y Sánchez (2010) encontraron dosis de fertilización nitrogenada entre 200 y 250 kg N.ha⁻¹.año⁻¹ en fincas ubicadas en San Juan de Chicué de Oreamuno, Cartago; con el pasto ryegrass establecido. Con dichas dosis de fertilización tan elevadas, se pueden encontrar pérdidas significativas como la lixiviación o emisiones de GEI.

Dosis adecuadas de fertilizantes evitan impactos ambientales negativos innecesarios como emisiones de GEI o lixiviación de nitratos a cuerpos de agua. Asimismo, es indispensable el uso apropiado de los fertilizantes inorgánicos para lograr la seguridad alimentaria al aumentar la productividad, hacer uso eficiente del dinero y cuidar el medio ambiente (Römheld 2012). Los fertilizantes nitrogenados sufren pérdidas por lixiviación en suelos arenosos y por volatilización en suelos ricos en materia orgánica con mayor capacidad de

campo, principalmente las pérdidas se dan por la formación de nitratos y óxido nitroso o amoníaco, respectivamente (Guertal 2009).

El uso inapropiado de los fertilizantes inorgánicos provoca distintos problemas ambientales tales como la eutrofización de las aguas subterráneas, ríos, estuarios y zonas costeras; disminución en la biodiversidad de la zona adyacente donde son aplicados y emisiones de GEI (Andrews *et al.* 2010; Butler *et al.* 2012). Una aplicación excesiva de fertilizantes nitrogenados puede provocar toxicidad por amonio, presente en altas cantidades en las raíces con bajos niveles de potasio, la cual puede aliviar sus síntomas aplicando potasio al suelo (Hoopen *et al.* 2010). Por otra parte, la toxicidad de amonio puede disminuirse al aplicar nitrato al suelo (Hachiya *et al.* 2012). Algunos síntomas de la toxicidad son disminución en el crecimiento lateral de las raíces, clorosis y menor biomasa de rebrotes (Li *et al.* 2012). De igual manera el amonio disminuye la absorción de potasio previniendo su acumulación y redistribución dentro de la planta (Balkos *et al.* 2010).

La toxicidad por un exceso de nitrato en la planta disminuye la absorción de hierro al cambiar el pH de la rizósfera lo cual provoca una disminución en la solubilidad del hierro, transformándolo en oxalatos de hierro y provoca síntomas visibles de su toxicidad como la clorosis intervenal (Zuo y Zhang 2011).

2.2 Fertilizantes nitrogenados de lenta liberación

El nitrógeno aplicado como fertilizante inorgánico sufre muchas pérdidas, entre estas se encuentran principalmente emisiones de GEI y lixiviados en forma de nitrato (Cameron *et al.* 2013) Los fertilizantes de lenta liberación han presentado una mayor eficiencia a largo plazo en comparación con los fertilizantes tradicionales (Kong *et al.* 2019).

La degradación de la urea es realizada por microorganismos presentes en el suelo como hongos y bacterias, principalmente por dos enzimas, la ureasa o la urea amidoliasa. Esta última posee actividad urea carboxilasa y alofanato hidrolasa. Primero se da la carboxilación de la urea con uso de ATP para formar alofanato, posteriormente se hidroliza a amonio y dióxido de carbono (Kanamori *et al.* 2005). Asimismo, la profundidad y la materia orgánica del suelo influyen directamente en la cantidad de microorganismos. En suelos arcillosos, a profundidades de 0-30 cm (superficial), 1,0-1,3 m (media) y 2,7-3,0 m (profunda) el conteo

bacteriano y materia orgánica es 2740, 163, 45 $\times 10^7 \cdot g^{-1}$ suelo y 2,8; 0,43; 0,17 % m/m respectivamente. En suelos arenosos, a profundidades de 0-30 cm, 1,0-1,3 m y 3,9-4,2 m el conteo bacteriano y materia orgánica es 1170, 50, 56 $\times 10^7 \cdot g^{-1}$ y 0,83; 0,10; 0,10 % m/m respectivamente. En ambos casos en la mayor profundidad no se evidenció la presencia de hongos (Taylor *et al.* 2002).

Cartes *et al.* (2009) reportan una estrecha relación entre la materia orgánica, la temperatura y nitrógeno suplementado con la actividad ureásica. En un suelo andisol con pH 5,43 y 220 g MO kg^{-1} suelo, la ureasa al pasar de 5 a 21°C con 24 y 48 h de incubación aumentó la eficiencia catalítica en 56,1 y 29,4% respectivamente. Adicionalmente, a mayor temperatura (21°C) se acelera la oxidación del amonio y a mayor cantidad de nitrógeno suplementado (200 kg N ha^{-1}) se acelera la hidrólisis de la urea, retardando la nitrificación. En ambos casos la generación de amonio o nitratos representan una posible fuente de pérdida por volatilización y lixiviación respectivamente (Zaman *et al.* 2008).

Se han desarrollado fórmulas de fertilizantes con tecnologías que permiten disminuir las pérdidas en el suelo haciendo más eficiente el uso del nitrógeno. Dentro de estas, la urea de lenta liberación es una de las más populares. Dicha tecnología tiene por objetivo modificar la utilización del nitrógeno por parte de la planta a través de mecanismos de protección que limitan la actividad de la ureasa. Los fertilizantes nitrogenados de lenta liberación se clasifican en protegidos y no protegidos. Aquellos que son protegidos son mezclas heterogéneas que poseen un núcleo de nitrógeno rápidamente soluble (urea principalmente) y una capa externa que dificulta la solubilidad y paso del núcleo al medio circundante. Los no protegidos son mezclas homogéneas de urea con un compuesto que disminuye su solubilidad como formaldehído, metileno, isobutilidieno, entre otros. (Guertal 2009, Azeem *et al.* 2014).

Sartain (2002) menciona que los urea formaldehídos (UF) tienen al menos 35% N del cual 60% es insoluble en agua fría (CWIN, por sus siglas en inglés "Cold Water Insoluble Nitrogen") y menos de 15% N soluble. Las metileno diureas (MDU) poseen 39-40% N, 25-60% CWIN y 15-30% N soluble. Para su degradación se requiere una disolución, posteriormente una degradación microbial (principal mecanismo) o hidrólisis. Factores ambientales como temperatura, pH, humedad y oxígeno, intervienen en la actividad microbial y por ende en la liberación de la urea. También el largo de la cadena afecta la liberación del

nitrógeno, cuanto más largo es, mayor es el tiempo de degradación. El isobutilidiendiurea (IBDU) contiene mínimo 30% N, 90% insoluble en agua. Su mecanismo de degradación es la hidrólisis en medio acuoso, se acelera a menor pH, menor tamaño de partícula y mayor temperatura. Su descomposición no depende de la actividad microbiana del suelo.

En contraste, los fertilizantes nitrogenados protegidos poseen una capa protectora que disminuye su solubilidad y una capa interna o núcleo con el nitrógeno soluble. La urea con azufre (SCU por sus siglas en inglés "Sulfur Coated Urea") posee 30-40% N, esta variación se debe a que puede ser protegida con azufre solamente o con una capa adicional con algún polímero o resina. La degradación de la SCU depende de la actividad microbiana, humedad, temperatura y grosor de la capa, en dado caso que posea una segunda capa de polímeros, o exclusivamente de la humedad del suelo si es sólo azufre y nitrógeno. La SCU libera nitrógeno por 6-16 semanas o por 6 meses si posee doble capa (Sartain 2002). Existen además, las ureas con resina (RCU por sus siglas en inglés "Resin Coated Urea") protegidas por poliolefina u otro polímero. Dentro de este grupo, está el recubrimiento de capa reactiva (RLC por sus siglas en inglés "Reactive Layer Coating") donde reaccionan el diisocianato y poliol con la urea, para liberar nitrógeno hasta por 70-270 días (Guertal 2009).

La eficiencia de aprovechamiento en fertilizantes nitrogenados en pasturas tiene valores entre 30 y 50% (Stewart 2007), debido a las pérdidas por lixiviación, volatilización y desnitrificación (Barbieri *et al.* 2010, Arias *et al.* 2009). Barbieri *et al.* (2010) evaluaron las pérdidas de N en el cultivo de maíz utilizando urea con el copolímero maleico-itacónico (NSN) o triamida N-(n-butil) tiosfórica (nBTPT) y urea convencional. Asimismo, evaluaron el rendimiento en grano. No encontraron diferencias significativas en la eficiencia del uso del nitrógeno, debido a que las pérdidas por volatilización no fueron mayores al 4% con la urea sin tratamiento, mientras que la urea tratada de lenta liberación no superó las pérdidas de un 2%. El rendimiento en grano no fue afectado por los productos evaluados.

La urea protegida tiene el objetivo de aumentar la eficiencia en el uso del nitrógeno (cantidad de nitrógeno presente en la planta con respecto al aplicado en el suelo). Asimismo, la urea protegida puede contribuir con la estabilidad en la producción de forraje en las cosechas posteriores a la aplicación (Chalk *et al.* 2015). Esto se logra gracias a la lenta liberación del nitrógeno por parte de la urea protegida, es estable y continuo el ofrecimiento del nitrógeno a

lo largo del tiempo permitiendo al forraje hacer un uso óptimo del fertilizante y generar una producción más estable con mejor distribución a lo largo del año.

Los efectos sobre la productividad de un forraje o un cultivo determinado con el uso de fertilizantes nitrogenados de lenta liberación o protegidos suelen variar acorde a las circunstancias en las que son probados. Los resultados en laboratorio difieren de aquellos que se realizan a nivel de campo pues existen un sinnúmero de variables que no pueden ser controladas por el investigador. El tipo de protección que se le aplica a la fuente de nitrógeno afecta los resultados finales en la productividad de la planta. El clima y tipo de suelo en el que se realizan las pruebas entre fertilizantes nitrogenados protegidos y no protegidos, influyen en gran medida en los resultados finales (Synder *et al.* 2007). Sin embargo, en un panorama general, los fertilizantes nitrogenados con algún tipo de protección suelen mejorar la productividad y eficiencia en el uso del nitrógeno por parte de las plantas en comparación con las fuentes de nitrógeno sin protección alguna.

De acuerdo al tipo de suelo en el que se encuentre el cultivo, será más o menos provechoso el uso de tecnologías como la urea protegida. Zvomuya *et al.* (2003) evaluaron urea protegida con poliolefina y urea convencional en un suelo arenoso de textura gruesa e irrigación estándar y encontraron pérdidas de nitrógeno por lixiviación de hasta un 49% menos con la primera. Además, encontraron una mayor eficiencia de recuperación del nitrógeno por parte de los tubérculos del estudio con el uso de la urea protegida en comparación con la urea convencional. Shaviv (1996) usó urea protegida en ryegrass (*L. perenne*) obteniendo una absorción del 70-80% con pérdidas del 1-15% por lixiviación, cuando se atempó la velocidad de liberación de la urea acorde a los requerimientos del forraje en crecimiento.

La altitud es otro factor que puede influir en el aprovechamiento del nitrógeno por efecto de la actividad de la ureasa. A mayor altitud, se encuentra una menor temperatura y mayor cantidad de carbono orgánico en el suelo, asimismo la relación carbono:nitrógeno (C:N) es mayor (Coûteaux *et al.* 2002). A mayor capacidad de intercambio catiónico (CIC) del suelo, mayor será la disponibilidad y retención del nitrógeno en forma de amonio. Al aumentar la altitud, el contenido de materia orgánica cambia y, a su vez, la CIC del suelo, la temperatura y la actividad microbiana, lo cual afecta la degradación de la fuente de nitrógeno por la actividad microbiana del suelo (Almeida 2004).

3. Factores ambientales sobre la productividad forrajera

En algunos estudios se ha podido explicar la producción de biomasa en praderas alpinas (4.000 m.s.n.m. en promedio) en un 54,2% por factores ambientales tales como: la precipitación, el tipo de suelo y la temperatura (Yang *et al.* 2009). Los andisoles son suelos volcánicos con características distintivas con respecto a otros suelos. En propiedades físicas, es oscuro, rico en humus, suave, mullido, liviano y fácil de arar. Estas características permiten un mejor drenaje del agua y la posibilidad de cultivar en zonas altas sin el problema del terreno anegado. Las características químicas se deben al contenido de aluminio, la naturaleza reactiva de su fase coloidal y su área superficial. Entre ellas se encuentran el contenido de humus de 200 g.kg^{-1} que se acompleja con el aluminio para ser más estable, el aluminosilicato alofana, la imogolita y ferrihidrita, que poseen afinidad por la fijación de fósforo. Además, la alofana e imogolita tienen afinidad con cationes multivalentes como calcio y magnesio (Nanzyo 2002).

3.1 Temperatura

Se ha encontrado una preferencia por absorber más amonio que nitrato según la temperatura a la que se encuentran las raíces en *L. perenne* y *L. multiflorum*. Esto sucede cuando la temperatura se encuentra entre 5 a 20°C con bajas dosis de amonio (9 g.m^{-3}) y nitrato (31 g.m^{-3}) (Andrews *et al.* 2013). Yang *et al.* (2009) encontraron que existe una correlación negativa entre la temperatura y la producción de biomasa en praderas alpinas en época seca (<200 mm de precipitación) debido a la alta tasa de evaporación.

Ma *et al.* (2010) encontraron que las bajas temperaturas pueden ser un factor limitante en la productividad del forraje en la región norte de China. A su vez, mencionan que acorde a la época las altas temperaturas pueden elevar la productividad del forraje de forma directa al promover el metabolismo de la planta o indirectamente al incentivar la absorción de agua y nutrientes. Esto concuerda con lo encontrado por Wu *et al.* (2011) donde explican que las temperaturas más calientes incentivan la producción primaria neta.

Fan *et al.* (2009) encontraron que la temperatura fue un factor determinante en la producción de biomasa en praderas de Mongolia donde al incrementarse la temperatura, se disminuye la producción de biomasa. Por otra parte, encontraron que la precipitación anual no fue tan

influyente como lo fue la temperatura en la zona de estudio. Sin embargo, por la diversidad de zonas climáticas alrededor del mundo, en conjunto con sus distintas estaciones y la variabilidad misma de las especies; es atrevido concluir sobre el efecto ambiental sobre una determinada especie en un determinado lugar, solamente se pueden evidenciar tendencias mas no conclusiones concretas.

3.2 Precipitación

Yang *et al.* (2009) encontraron que existe una correlación positiva entre la precipitación y la producción de biomasa en praderas alpinas. Otro estudio reportó que la precipitación explicó un 59,6% de la variabilidad en la producción de biomasa mientras que la temperatura solamente explicó un 9,7% (Ma *et al.* 2010). Este último concuerda con lo reportado por Wu *et al.* (2011) donde evidenciaron un mayor efecto en la productividad primaria al incrementar la precipitación que al disminuirla.

Un estudio en Alberta, Canadá realizado por Flanagan *et al.* (2013), no encontraron resultados concluyentes sobre los efectos de la precipitación y temperatura (individuales o combinados) sobre la productividad en las praderas naturales. La única diferencia que encontraron fue una mayor productividad de raíces en las parcelas con temperaturas más cálidas que las de control. Lo anterior concuerda con lo reportado por Xu *et al.* (2013), donde hallaron un mayor crecimiento de raíces en temperaturas cálidas (+3°C) con respecto al control. No obstante, mencionan que es difícil concluir sobre los efectos ambientales sobre la productividad forrajera debido a que siempre existe una relación temperatura-precipitación que afectan en demasía la producción primaria (Flanagan *et al.* 2013).

Jones (2013) menciona que el estrés hídrico en las plantas se puede presentar cuando existen bajos contenidos de agua disponible en el suelo o la tasa de transpiración es muy alta. Asimismo, puede detonar la senescencia en las hojas más viejas, la cual se puede ver influenciada por la nutrición nitrogenada y el estadio en el que se encuentre la planta. Igualmente, menciona que el agua se puede hallar libremente en el suelo y el aire permanecer húmedo, sin embargo, la planta puede sufrir estrés hídrico en caso que en alguna parte del proceso de obtención de agua se vea afectado. Passioura (1983) menciona que la zona donde existe mayor resistencia para la absorción de agua en las plantas es en la rizósfera, esto porque el contacto entre las raíces y las partículas del agua en el suelo no

siempre es el mejor. Por otra parte, Xu *et al.* (2013) reportan una mayor eficiencia en el uso del agua en la planta en general, cuando ésta es la mitad con respecto a la del grupo control.

3.3 Radiación

Paciullo *et al.* (2010) reportan en sistemas silvopastoriles un menor crecimiento del pasto en las zonas bajo la sombra del dosel de los árboles, lo anterior lo atribuyen a la disminución en la radiación que recibe el forraje. Un estudio en las sabanas de Australia reportan que el crecimiento de la vegetación bajo el dosel de los árboles se ve limitado principalmente por la cantidad de luz que reciben y no por la cantidad de lluvia recibida (Whitley *et al.* 2011).

A pesar que la radiación solar afecta la productividad de las plantas, aquellas que son más productivas no necesariamente son las más eficientes con el uso de dicha radiación. Esto fue encontrado por Kiniry *et al.* (2012) donde realizaron la comparativa entre el pasto *Panicum virgatum* y el pasto *Miscanthus giganteus*. Sus hallazgos indican que la productividad de biomasa y por tanto en la eficiencia en el uso de la radiación solar, fueron acorde a la zona donde se ubican los pastos (Missouri o Texas) y la disponibilidad de agua o nutrientes. Dicha eficiencia la estiman con la producción de materia seca de la planta y los mega Julios interceptados de la radiación fotosintéticamente activa. Lo anterior es apoyado por Garbulsky *et al.* (2010) donde mencionan que con sus hallazgos, la eficiencia en el uso de la radiación solar se incrementa con la precipitación más que con la temperatura o el tipo de vegetación evaluada.

4. Sistemas de corte y acarreo en lecherías

Dentro de la gran variedad de forrajes utilizados en las lecherías especializadas de Costa Rica, aquellas lecherías de altura cuentan principalmente con el uso de forrajes como kikuyo (*Kikuyuocloa clandestina*) y ryegrass anual (*L. multiflorum*) o perenne (*L. perenne*). Dentro de los ryegrass existen variedades diploides y tetraploides que difieren en la cantidad de cromosomas que poseen, 2n y 4n respectivamente (Balocchi y López 2009, Prine *et al.* 2002). Para mayor sostenibilidad y productividad, una alternativa utilizada es el sistema de corte-acarreo. Los pastos de corte, por lo general son forrajes de alta productividad de materia seca con rápido crecimiento (por ejemplo *Pennisetum purpureum*) además, con un uso adecuado permite el aumento de la carga animal en potrero al suplementar a los

animales en canoa bajo un sistema semi-estabulado (Hinojosa *et al.* 2014). Dickson y Muñoz (2005) hacen mención a una carga animal de 21 caprinos.ha⁻¹.año⁻¹ en pastoreo o bien entre 56 a 84 caprinos.ha⁻¹.año⁻¹ ó 40 a 60 ovinos.ha⁻¹.año⁻¹ con pasto de corte elefante (*P. purpureum*).

El ryegrass anual (*L. multiflorum*) cv. Jumbo es un cultivar tetraploide (4n) que ha tenido un auge de uso en las lecherías de altura de Costa Rica. Su variedad perenne tiene producción entre 9-11 ton MS.ha⁻¹.año⁻¹ (Barrientos 2014), mientras que la anual entre 6,8-9,9 ton MS.ha⁻¹.año⁻¹ (Glass y Van Santen 2010). El ryegrass cv. Jumbo posee resistencia a la roya coronada y la mancha gris de la hoja, causadas por *Puccinia coronata* y *Pyricularia grisea*, respectivamente, con una resistencia de 1,55 (criterio de clasificación 1-3 altamente resistente, 3-5 resistente, 5-7 susceptible y 7-10 muy susceptible). También se encontró una mayor resistencia contra la roya de tallo cuando se destina a producción de semilla y una resistencia moderada contra la mancha de la hoja producida por el hongo *Dreschelra sp.* Asimismo, el ryegrass cv. Jumbo presenta poco daño por el congelamiento durante el invierno en zonas templadas. Posee tallos, hojas y semillas más grandes que el cv. Surrey (2n) del cual deriva. Su contenido proteico y digestibilidad se compara favorablemente contra otros tipos de ryegrass (Prine *et al.* 2002).

La utilización eficiente de las pasturas se da cuando se usan adecuadas cargas animales logrando una correcta intensidad de pastoreo que permita aprovechar la mayor cantidad de la biomasa ofrecida al ganado. Existen diferentes estrategias para determinar el momento óptimo para pastorear el forraje, entre ellas están el uso de días de descanso fijos acorde a la cantidad de potreros que posee la finca, índice de área foliar que es difícil de medir y relacionar con la tasa de crecimiento del forraje, altura de la pastura y la edad fenológica. Ésta última es la más apropiada debido a que tiene una alta relación con el estado vegetativo del forraje por lo que se aprovecharía evitando que se genere material senescente (Villalobos y Sánchez 2010).

Villalobos y Sánchez (2010) recomiendan en el ryegrass una edad fenológica mayor a 2 y menor a 3 hojas, debido a que cuando aparece la cuarta hoja la primera muere, generando material senescente de muy bajo aprovechamiento para el animal. En el pasto alpiste (*Phalaris arundinacea*) utilizado bajo el sistema de corte y acarreo, se recomienda cosechar cuando posea 5-6 hojas verdes rebrote⁻¹ (Villalobos 2012). La edad fenológica no se ve

afectada por la cantidad de nutrientes presentes en el suelo, por lo que es un excelente indicador propio de cada especie para determinar el momento óptimo de pastoreo, ya que los carbohidratos no fibrosos (CNF) son los que determinan la aparición de hojas en la planta y estos están directamente relacionados con su contenido en las raíces que se movilizan para formar nuevas hojas de rebrote. De agotarse los CNF, al largo plazo se perdería la pastura de forma prematura.

El consumo de una planta en estado vegetativo con un contenido adecuado de CNF y una producción de biomasa alta, es el principal objetivo de todo animal en pastoreo. Por ello, usar la edad fenológica como indicador de pastoreo o cosecha, permite realizar un apropiado manejo con respecto a la cosecha de las pasturas, sin comprometer el establecimiento a largo plazo del forraje. Además, se puede utilizar con diferentes manejos en la aplicación de fertilizantes que no se verá afectada, ya que es propio de la madurez fenológica y el contenido de CNF que posea la planta.

En contraparte, Villalobos y Arce (2016) mencionan que pastos como la estrella africana, el ryegrass y el alpiste forrajero se utilizan en sistemas de corte y acarreo en lecherías de zona alta en Cartago, Costa Rica. Por lo general, el uso de los sistemas de corte y acarreo se utilizan en las fincas que se busca hacer un uso intensivo del área cultivada, permitiendo así mantener una mayor carga animal en sistemas semi-estabulados y estabulados o bien, para alimentar en épocas críticas con escasez de alimento (Arango *et al.* 2016; Martínez y Blandon 2018).

OBJETIVOS

General

Evaluar tres fórmulas de nitrógeno (urea, nitrato de amonio y urea protegida) sobre las características agronómicas del forraje ryegrass anual (*L. multiflorum*) cv. Jumbo, establecido a dos altitudes (2.000 y 2.800 m.s.n.m.).

Específicos

1. Evaluar la productividad y valor nutricional del pasto ryegrass anual cv. Jumbo con tres fórmulas de nitrógeno a dos altitudes.
2. Evaluar la composición estructural del pasto ryegrass anual cv. Jumbo con tres fórmulas de nitrógeno a dos altitudes.
3. Estimar la edad fenológica del pasto ryegrass anual cv. Jumbo con tres fórmulas de nitrógeno a dos altitudes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de estudio

El estudio se realizó entre el periodo de 15 de junio del 2017 y el 15 de febrero del 2018 en dos zonas de la provincia de Cartago en el cantón de Oreamuno. Una de ellas fue en el distrito de Potrero Cerrado, el poblado San Juan de Chicué a 2.800 m.s.n.m., 09°57.442' N, 083°49.951' O, finca A. La otra zona se encuentra en el distrito de Santa Rosa a 2.000 m.s.n.m., 09°54.839' N, 083°50.058' O, finca B. Ambas localidades poseen un clima tropical húmedo con las zonas de vida que comprenden: bosque húmedo, bosque muy húmedo y bosque pluvial, con una precipitación de 1.400-2.000 mm y una temperatura promedio de 19,2°C (Inder 2016). Ambos suelos son catalogados como suelos volcánicos andisoles (Villalobos 2012; Villalobos y Sánchez 2010).

Especie de estudio

El forraje evaluado fue el ryegrass anual, *L.multiflorum* Lam. (Poaceae) cv. Jumbo. La unidad experimental fue cada una de las parcelas (área = 6 m²) que se ubicaron a una altitud específica (2.000 ó 2.800 m.s.n.m.) y recibieron una dosis de 100 kg N.ha⁻¹ durante el período experimental, siendo cada aplicación al momento de la cosecha de 33,33 kg N.ha⁻¹.año⁻¹. La dosis anual totalizada fue de 200 kg N.ha⁻¹ y 13,49 kg S.ha⁻¹, esto considerando una edad de cosecha de 60 días. equivalente a Se utilizó tres fuentes nitrogenadas (urea, nitrato de amonio o urea protegida) y sulfato de amonio para los tratamientos de la urea y nitrato de amonio para corregir el aporte de dicha fuente incorporado en la urea protegida. La urea protegida contiene una cobertura de azufre junto con un inhibidor de la actividad ureásica, N-(n-butil) triamida tiofosfórica (Agrotain®) (Dawar *et al.* 2012). La distribución de las parcelas se muestra en la figura 4 para un total de nueve parcelas por finca, tres parcelas por tratamiento. El tamaño de las parcelas se escogió en base a la disponibilidad de área dentro de las fincas y la facilidad en el manejo del material al momento de la cosecha para ser pesado. El forraje fue cosechado con una edad comprendida entre los 50 y 66 días. Se utilizaron estas edades porque permiten emular las edades que ambas fincas utilizan para sus áreas de corte. Las parcelas fueron fertilizadas al voleo el mismo día de la cosecha de la biomasa. Con el fin de controlar el efecto del borde entre tratamientos, se dejó una franja de 20 cm sin cosechar entre las parcelas de distintos bloques. No obstante, debido a la

topografía de ambas fincas (áreas llanas) no se considera un efecto de escorrentía o lixiviación cruzada entre parcelas de forma considerable. Después de la cosecha de la biomasa, se cosecharon los bordes con el fin de uniformizar el crecimiento de la pastura para la siguiente cosecha, sin embargo, el material cosechado de los bordes no formó parte de las muestras experimentales. Las parcelas fueron dispuestas en un diseño de bloques completos al azar con tres réplicas.

Finca A			Finca B		
Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3
US	N	US	US	US	US
U	US	N	U	N	U
N	U	U	N	U	N

Figura 4. Distribución de las parcelas experimentales en la finca A y B respectivamente.

Dónde: US = urea protegida, U = urea, N = nitrato de amonio.

Toma de datos

El establecimiento de las parcelas experimentales consistió en realizar el encuadre de las mismas con el fin de obtener áreas de cosecha uniformes. Las fechas cuando se hizo la siembra, el encuadre y muestreos se encuentran en el Cuadro 3. Previa a la cosecha de la biomasa, se tomó una muestra a 5 cm del suelo para el conteo de rebrotes en el centro de la parcela con un marco de hierro de 30 x 30 cm (0,09 m²), esto con el fin de añadir su peso al peso de la biomasa cosechada y no incluir el material de los bordes para evitar el efecto del borde. Dicha muestra se pesó con una romana marca Brecknell® modelo electrosamson y dicho peso fue sumado al peso de la biomasa total. Cuando el peso de la muestra para el conteo de rebrotes era menor de 200 g en materia fresca (MF) se colectaba una muestra extra de la biomasa total posterior a su pesaje, para la separación de los componentes estructurales de la planta (hoja:tallo:material senescente).

Cuadro 3. Fechas de labores ejecutadas en el estudio en cada finca.

Evento	Finca A	Finca B
Siembra	02/04/2017	09/04/2017
Corte de uniformización	08/06/2017	08/07/2017
Establecimiento de las parcelas experimentales	15/06/2017	12/07/2017
Primer muestreo	12/08/2017	31/08/2017
Segundo muestreo	07/10/2017	19/10/2017
Tercer muestreo	02/12/2017	13/12/2017
Cuarto muestreo	05/02/2018	09/02/2018

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m.

Después de su recolección se ingresó a una bolsa plástica con el fin de conservar la humedad original de la muestra. La misma muestra se utilizaba para estimar la edad fenológica del forraje al contar las hojas verdes completamente desarrolladas en diez rebrotes escogidos al azar. Las hojas que no se encontraban completamente emergidas se omitieron en el conteo de hojas verdes para la estimación de la edad fenológica porque no se encontraban fotosintéticamente activas. Las hojas que tenían indicios de clorosis o senescencia en el ápice no se catalogaron como hojas verdes porque la estimación de la edad fenológica tiene como principio que una nueva hoja nace cuando la más antigua inicia el proceso de senescencia (Fulkerson y Donaghy 2001).

Las hojas, tallos y material senescente fueron separados manualmente para después colocarlos en bolsas de papel e ingresarlos a un horno de ventilación forzada a 60°C por 48 horas. La relación hoja:tallo se obtuvo por la relación entre el peso seco de las hojas y de los tallos (tallo verdadero, pseudotallo e inflorescencias en caso de estar presentes) respectivamente. La proporción de hoja:tallo:material senescente fue obtenida mediante los pesos secos de las hojas, tallos y material senescente respectivamente.

El área cosechada en las parcelas ubicadas en Potrero Cerrado fue de 2,56 m de largo y 1,50 m de ancho, para un área total de 3,84 m². Por otro lado el área cosechada en las parcelas ubicadas en Santa Rosa, fue de 3,00 m de largo y 1,50 m de ancho para un área total de 4,50 m². El material fue cosechado a una altura de 10 cm sobre el suelo y se colocó sobre una manta de lona de dos metros de ancho, por dos metros de largo. Cada esquina

tenía ojetes metálicos con una argolla. Posteriormente se pesaron las mantas con la biomasa cosechada en una romana con gancho marca T-Scale modelo DR-150 ubicada en un trípode construido con tubos de hierro de dos pulgadas de diámetro y dos metros de largo. La romana se colocó en el centro superior del trípode, el cual contaba con una platina circular que unía los tubos y una cadena de 30 cm colgante. La romana era tarada una sola vez con una de las mantas con argollas antes de pesar las muestras.

Se tomaron dos sub-muestras para los análisis nutricionales (MS, PC, cenizas, FDN, DIVMS, DIVFDN, producción de gas total *in vitro*, producción de gas metano *in vitro*) y los análisis foliares (N, P, Ca, Mg, K, S, Fe, Cu, Zn, Mn y B). En este momento se tomaba la muestra extra en caso necesario para la separación de los componentes de la planta, ésta última se utilizaba a su vez para el conteo de las hojas verdes como se mencionó anteriormente. Estas sub-muestras se extraían de la biomasa cosechada posterior a la homogenización de la cosecha sobre la manta. Para homogenizar la cosecha se volteaba el pasto sobre la manta hasta conseguir una distribución uniforme con respecto a la cantidad y estadio de la planta (vivo o senescente). Posteriormente se recolectaba puñados del forraje de forma aleatoria en el montón y se ingresaban en bolsas plásticas las cuales eran pesadas con la romana marca Brecknell® para lograr tener al menos un kilogramo de forraje fresco para su posterior análisis en el Centro de Investigación en Nutrición Animal de la Universidad de Costa Rica.

Antes de iniciar el experimento se tomaron muestras de cada uno de los suelos de cada una de las fincas (Cuadros 4 y 5). Finalizado el experimento también se realizó el muestreo de suelos respectivo en cada una de las fincas. Los muestreos se realizaron en todo el terreno que comprendía las parcelas experimentales, siendo una muestra compuesta por todos los tratamientos en cada finca.

Cuadro 4. Análisis de suelo de la finca A.

Fecha	pH		Cmol(+)/L				%			mg/L			
	H ₂ O	Acidez	Ca	Mg	K	CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn	
17/02/2017	6,0	0,28	3,18	0,91	0,19	4,56	6	42	31,8	17	348	5	
28/02/2018	5,9	0,29	4,36	0,75	0,13	5,53	5	66	33,2	15	225	10	

Cuadro 5. Análisis de suelo de la finca B.

Fecha	pH		Cmol(+)/L			%			mg/L			
	H ₂ O	Acidez	Ca	Mg	K	CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn
17/02/2017	6,0	0,34	2,90	0,92	0,13	4,29	8	20	15,0	12	340	7
28/02/2018	5,5	0,51	2,95	1,28	0,16	4,90	10	17	14,7	12	333	13

Finalizado el experimento el 15/02/2018, se tomaron tres muestras de suelo por tratamiento en ambas fincas, utilizando una pala para recolectar un volumen de 0,0045 m³ (15 x 15 x 20 cm, siendo el largo x ancho x alto respectivamente). Una vez tomadas las muestras se ingresaron a bolsas plásticas para conservar la humedad de las raíces. A estas muestras se les realizó la separación del material aéreo de las raíces. Para separar el suelo de las raíces se utilizó una zaranda con una apertura de 3,5 a 4,0 mm donde la muestra era zarandeada en seco. Todo aquello que atravesaba la apertura de la zaranda fue descartado. Posteriormente se colocó la muestra en un balde plástico donde se procedió a lavar con agua y agitar la misma para que las raíces se encontraran en suspensión. Una vez en suspensión se utilizaron 4 tamices de 5600, 2000, 1500 y 595 µm respectivamente, con el fin de separar las raíces de la contaminación del suelo. Se realizaron los lavados necesarios en los tamices para dejar la muestra de la raíz lo más limpia posible. Luego, se secaron y colocaron las muestras sobre papel toalla donde reposaron mínimo 20 minutos para que escurriera el restante del agua de lavado. Una vez pasados los 20 minutos se pesaron las muestras y se ingresaron al horno a 60°C por 48 horas. Una vez secas se tomó su peso seco. Se tomó la decisión de realizar la separación de las raíces de esta forma siguiendo la recomendación de González (2018¹).

Se realizó la estimación de los GEI con la fórmula del IPCC (2006) en conjunto con los factores de emisión recomendados por Albanito *et al.* (2017) según la fuente nitrogenada utilizada. Además, la estimación de los costos de aplicación del fertilizante se realizó con datos de salarios del Ministerio de Trabajo y Seguridad Social de Costa Rica (2019). Sumado a ello se hicieron cotizaciones en el 2019 sobre el alquiler de la maquinaria agrícola con la empresa Agromec y cada uno de los fertilizantes evaluados de las empresas MundiVet y Abopac.

¹González, M. 2018. Comunicación personal. Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica (CIA, UCR). Costa Rica.

Variables evaluadas

Se evaluaron características agronómicas de morfología y crecimiento del pasto por medio de: la producción de biomasa ($\text{kg MS}\cdot\text{ha}^{-1}$), la relación hoja:tallo:material senescente (%), la edad fenológica (número de hojas verdes.rebrote⁻¹), la capacidad de rebrote (número de rebrotes. m^{-2}) y la producción de raíz ($\text{kg MS}\cdot\text{m}^{-3}$). Además se evaluó, la composición nutricional de la biomasa aérea por medio de: materia seca, proteína cruda (AOAC 1990), fibra detergente neutro (Van-Soest *et al.* 1991), digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y digestibilidad de la fibra (DIVFDN, Van-Soest *et al.* 1985), producción de gas *in vitro* total y producción de gas metano *in vitro* (ANKOM 2012). Asimismo, se evaluó el contenido macro y micromineral del forraje por medio de: nitrógeno, fósforo, calcio, magnesio, potasio, azufre, hierro, cobre, zinc, manganeso y boro.

Análisis estadístico

Todos los resultados se analizaron con el programa estadístico RStudio v. 1.2.1335. Inicialmente se utilizó el modelo lineal generalizado para analizar la variable biomasa, sin embargo, no se encontró convergencia entre el promedio y la variabilidad de los datos. Esto sucede debido a que la cantidad de réplicas del experimento no fueron suficientes para que el modelo se ajustara y explicara la variabilidad de los datos. Por consiguiente, se realizó la transformación de los datos con el fin de obtener la normalidad de los mismos. Posteriormente se aplicó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) para determinar diferencias entre las medias. En caso que existieran, se realizó la separación de las medias con la prueba de Tukey. Asimismo, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis previo a la transformación de los datos.

Igualmente, se utilizó un ANOVA para determinar diferencias entre las medias y la prueba Tukey para su separación, de las variables: número de rebrotes, producción de raíces, producción de gas total *in vitro*, producción de gas metano *in vitro* y microminerales. Se incluyó un efecto aleatorio en el análisis de las muestras de contenido macro y micromineral. Se utilizó un modelo lineal generalizado para las variables: relación hoja:tallo:material senescente, edad fenológica, materia seca, fibra detergente neutro, digestibilidad de la materia seca, digestibilidad de la fibra detergente neutro, proteína cruda y macrominerales. Para realizar la separación de medias se utilizó el método de mínimos cuadrados.

Los datos se muestran utilizando el modelo lineal generalizado porque el supuesto de la normalidad no se puede cumplir en datos con valores que se encuentran entre 0 y 1, por tanto los resultados del ANOVA no serían confiables. Para todas las variables, excepto los minerales foliares y producción de raíz, se analizaron con el modelo 1.

Modelo 1

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + T_j + AT_{ij} + B_k + M_l + AM_{il} + TM_{jl} + ATM_{ijl} + E_{ijk} \quad (1).$$

Las variables minerales foliares y producción de raíz se analizaron con el modelo 2 debido a la poca cantidad de muestras recolectadas.

Modelo 2

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + T_j + AT_{ij} + B_k + E_{ijk} \quad (2).$$

Dónde:

Y_{ijk} = Observación que corresponde a la i-ésima altura. j-ésimo tratamiento de fertilización. la k-ésima parcela y el l-ésimo muestreo.

μ = Media general.

A_i = Efecto de la i-ésima altura (2.800 y 2.000 m.s.n.m.).

T_j = Efecto del j-ésimo tratamiento de fertilización (urea, nitrato de amonio y urea protegida).

AT_{ij} = Efecto de la interacción de la i-ésima altura con el j-ésimo tratamiento.

M_l = Efecto del l-ésimo muestreo (agosto, octubre, diciembre y febrero).

AM_{il} = Efecto de la interacción de la i-ésima altura con el l-ésimo muestreo.

TM_{jl} = Efecto de la interacción del j-ésimo tratamiento con el l-ésimo muestreo.

ATM_{ijl} = Efecto de la interacción de la i-ésima altura con el j-ésimo tratamiento y el l-ésimo muestreo.

B_k = Efecto de la k-ésima parcela o bloque.

E_{ijk} = error estándar.

En todas las pruebas de análisis estadístico se utilizó un valor $p < 0,05$ para considerar la diferencia entre medias como significativa al igual que $p < 0,01$, el valor de $p < 0,001$ se consideró altamente significativo y el de $p > 0,05$ no se considerará como diferencia

significativa. Los niveles de B foliares al ser menores de 4 mg.kg^{-1} en la mayoría de los casos, por limitaciones en la metodología de laboratorio utilizada para su detección, su análisis estadístico fue limitado. Esto porque no posee un valor exacto para ser analizado, por tanto se excluyeron sus resultados estadísticos. Los resultados de los análisis estadísticos se encuentran como anexos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfología y crecimiento del pasto ryegrass anual cv. Jumbo

La cantidad de rebrotes (Cuadro 6) mostró una distribución normal según la prueba de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$). La misma fue diferente a lo largo de los muestreos ($p < 0,001$) de ago-dic (1.889-2.318 rebrotes.m⁻² respectivamente; $p < 0,05$), ago-feb, dic-feb, y oct-feb (1.370-2.318, 1.370-1.889 y 2.030-1.370 rebrotes.m⁻² respectivamente; $p < 0,01$). Asimismo, hubo una interacción importante entre el tratamiento con el muestreo ($p < 0,01$).

Cuadro 6. Rebotes por metro cuadrado a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Tratamiento	Finca A				Finca B			
	Ago	Oct	Dic	Feb	Ago	Oct	Dic	Feb
Urea	1.256	1.052	1.007	659	1.444	919	744	781
Nitrato de amonio	1.059	941	774	722	1.152	974	752	741
Urea protegida	963	1.159	1.089	741	1.081	1.044	1.300	467
Promedio	1.093± 237	1.051± 230	957± 213	707± 113	1.226± 253	979± 186	932± 308	663± 271
Tratamiento	n.s.							
Finca	n.s.							
Muestreo	***							
TxF	n.s.							
TxM	**							
FxM	n.s.							
TxFxM	n.s.							

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m. Niveles de significancia: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; n.s. = $p > 0,05$.

La fuente de nitrógeno absorbida por las plantas afectará de diversas formas su metabolismo como se mencionó anteriormente, el nitrógeno participa en distintas funciones metabólicas. Con esto presente, la cantidad de rebrotes producida por el ryegrass fue afectada por los muestreos realizados, con una tendencia a disminuir conforme avanzaron los muestreos. Lo

anterior se explica debido al aprovechamiento de absorción y asimilación del nitrógeno proveniente del fertilizante que es afectado por la precipitación la cual cambia a lo largo del año (Figura 5), esto explica la interacción entre el tratamiento y la fecha del muestreo.

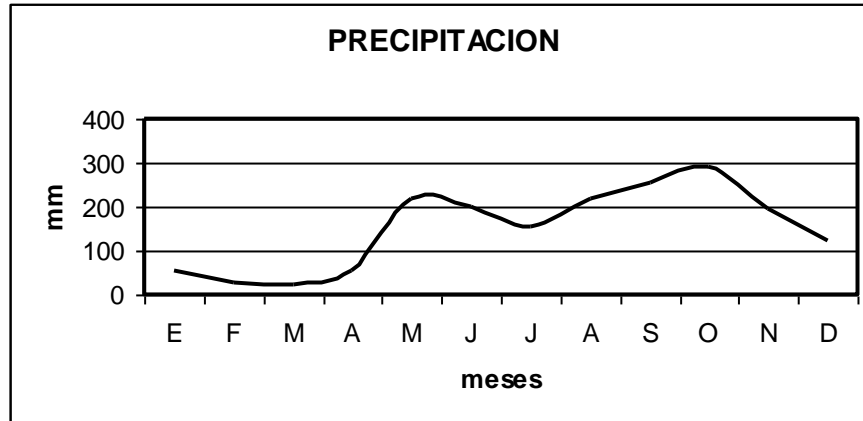


Figura 5. Precipitación mensual promedio de San Juan de Chicué, Cartago, Costa Rica.

Fuente: Retana (2006).

En el caso del nitrato de amonio, es muy propenso a sufrir pérdidas a través de la volatilización como amoníaco debido a procesos de nitrificación y desnitrificación (del amonio y el nitrato respectivamente). Además, pérdidas por lixiviación por su molécula de nitrato (Good *et al.* 2011, Sika y Hardie 2014), las cuales son más propensas a ocurrir durante la época lluviosa (Sebilo *et al.* 2013). No obstante, la lluvia es fuente de agua para el pasto la cual beneficia su crecimiento al proveer adecuados niveles de humedad al suelo (Turner *et al.* 2012). De igual forma, puede hacer un mejor uso de los nutrientes presentes al incorporarlos a la disolución del suelo la cual es la forma más accesible para las plantas para su absorción (Jämtgård *et al.* 2010). Esto explica porqué la densidad de rebrotes fue mayor en la época lluviosa o de transición (Figura 5) en comparación con la época seca.

Las pérdidas de la urea se incrementan conforme sube la temperatura, por tanto en la finca B al encontrarse a menor altitud, se esperaba que tuviese una mayor temperatura y existieran más pérdidas por efecto de la hidrólisis y volatilización de la urea en comparación con la finca A (Jones *et al.* 2013). No obstante, estas posibles pérdidas no afectaron en la densidad de rebrotes entre las fincas. Por otra parte, el clima fue el principal influyente en dicha variable, por tanto se atribuye que las pérdidas sufridas por la urea tampoco fueron diferentes a las sufridas por las otras fuentes nitrogenadas. Suter *et al.* (2013) mencionan que las pérdidas por amoníaco se ven afectadas por la velocidad del viento, la precipitación y

temperatura. Donde la alta humedad fomenta la hidrólisis de la urea y posteriormente las altas temperaturas (22°C) incrementan la volatilización del amoníaco. En contraparte, las bajas temperaturas (4°C) disminuyen las pérdidas por volatilización de la urea. En caso de hacer uso de fertilizantes convencionales como la urea es recomendable incorporarlos al suelo. Pan *et al.* (2016) encontraron que al incorporar la urea a más de 7,5 cm de profundidad las pérdidas por volatilización como amoníaco eran despreciables. En los sistemas lecheros de altura no se utiliza sistemas de incorporación de abonos en el suelo, por lo que los productores deben buscar el momento adecuado de aplicar la urea para disminuir las pérdidas por factores ambientales.

La urea recubierta con azufre al poseer el inhibidor de la ureasa (Agrotain®) se espera que tenga una menor cantidad de pérdidas por volatilización. Sin embargo, no se evidenciaron diferencias importantes en la densidad de rebrotes según el tratamiento. Mas sin embargo, se encontró una mayor densidad de rebrotes para el tratamiento de urea protegida con respecto al nitrato de amonio en el mes de diciembre ($p < 0,05$). Se encontraron diferencias para el mes de diciembre con respecto al mes de febrero, independientemente del tratamiento ($p < 0,01$). Asimismo las diferencias entre los muestreos se presentan entre cualquier mes muestreado con respecto a febrero, esto porque el mes de febrero fue el de menor cantidad de precipitación ya entrada la época seca (Figura 5). Mencionaron Gherardi y Sala (2015) que el estrés hídrico afecta el desarrollo del forraje de forma negativa, mientras que Cosentino *et al.* (2014) encontraron una disminución notoria del número de rebrotes (16,4 a 13,9 tallos.m⁻²) al disminuir la irrigación en el cultivo *Arundo donax*. Por tanto se atribuye dichas diferencias en la densidad de rebrotes a la falta de agua y la edad del pasto. Esto último porque conforme envejece, posee menor capacidad de almacenar CNF y por tanto una menor capacidad de rebrote (Lee *et al.* 2009).

Cabe recalcar que existió una diferencia entre el mes de diciembre con respecto al de agosto en el número de rebrotes ($p < 0,05$), esto porque en diciembre se encuentra la transición hacia la época seca, la cual influye el crecimiento y desarrollo del pasto. Lo anterior se puede deber a que conforme avanzan los muestreos, la pastura pierde la capacidad de rebrote por sufrir una continua disminución de CNF (Lee *et al.* 2009) y por tratarse de un cultivar anual.

Las diferencias en el número de rebrotes entre los tratamientos de nitrato de amonio y urea protegida para el mes de diciembre mostraron que, la urea protegida es mejor aprovechada

cuando se presentan las condiciones más propicias de radiación y precipitación para la planta en comparación con el nitrato de amonio. En diciembre no se encontraron diferencias entre la urea protegida con respecto a la urea convencional, lo cual puede atribuirse a que normalmente sufren pérdidas por volatilización y para dicho mes estas pérdidas al parecer no fueron considerables en ninguno de los dos tratamientos. En contraste, el nitrato de amonio es más propenso a sufrir pérdidas por lixiviación (Sika y Hardie 2014) por lo tanto estas pudieron ser más significativas que las pérdidas de la urea protegida por la diferencia antes mostrada.

A pesar de haberse encontrado diferencias entre los tratamientos de nitrato de amonio con la urea protegida para el mes de diciembre en la densidad de rebrotes (763 y 1.194,5 rebrotes.m⁻² respectivamente), no existen diferencias evidentes para el tratamiento de la urea (875,5 rebrotes.m⁻², $p > 0,05$) con respecto al nitrato de amonio en dicho mes. Watson *et al.* (2015) encontraron que las gramíneas cuando poseen un estado nutricional adecuado, direccionan el uso de nutrientes a la reproducción vegetativa, a través del incremento en la densidad de rebrotes. Dependiendo de las condiciones ambientales, las diferentes fórmulas nitrogenadas mostraron un estado nutricional favorable para que la planta pudiese generar mayor cantidad de rebrotes.

Dawar *et al.* (2010) encontraron una mayor biodisponibilidad de la urea aplicada con agrotain en comparación con la urea convencional, mejorando la productividad del ryegrass (*L. perenne*). Este estudio utilizó niveles de 25 y 50 kg N.ha⁻¹. Sin embargo, la mayor eficiencia en la absorción del N se halló en los niveles de aplicación de 25 kg N.ha⁻¹. Esto se puede deber a que cuando se realizan aplicaciones masivas de N al suelo, se inhibe la actividad ureásica (Ajwa *et al.* 1999, Shen *et al.* 2010). Por tanto, cuando se utiliza el inhibidor con altos niveles de aplicación de N como en el presente estudio (200 kg N.ha⁻¹.año⁻¹), puede que su efecto de inhibición no sea diferente a la inhibición natural que sufre la ureasa ante altos niveles de N en suelo.

El rebrote del forraje se ve influenciado en parte por las reservas de los CNF presentes en el rastrojo. Lee *et al.* (2009) hallaron en ryegrass perenne una menor productividad del forraje (2.007 vs 2.279 kg MS.ha⁻¹) cuando éste contenía bajos niveles de CNF (con una edad fenológica de 1 hoja en comparación con 3 hojas). Por otra parte, en el mismo estudio cuando la cosecha del pasto se hizo a una altura de 20 ó 40 mm con respecto al suelo

(2.266, 2.249 kg MS.ha⁻¹), tuvo un mejor rebrote en comparación con la altura de cosecha a 60 mm (1.914 kg MS.ha⁻¹ respectivamente) al permitir que el forraje llegara a tener 3 hojas para su cosecha. Se observó una disminución en el número de rebrotes por metro cuadrado encontrados en el estudio de Lee *et al.* (2009) conforme se disminuía a la altura de corte del forraje a 20, 40 y 60 mm con respecto al suelo (4.086, 3.717 y 3.732 rebrotes.m⁻² respectivamente, p>0,05).

La producción de raíces (Cuadro 7) tuvo una distribución normal con la prueba de Shapiro–Wilk (p>0,05). Hubo diferencias entre el tratamiento y la finca, siendo mayor las parcelas fertilizadas con urea (5,84 ton MS.ha⁻¹; p<0,05), y las parcelas que se encontraban en la finca B (5,78 ton MS.ha⁻¹; p<0,01). Para obtener una biomasa de raíces producida sin subestimarla, es necesario realizar mediciones más frecuentes a través del año (>8). Esto porque la tasa de reposición:degradación de las raíces en las pasturas varía considerablemente (14 a 131 días en clima templado) de acuerdo a las condiciones climáticas, disponibilidad de nutrientes, intensidad y frecuencia de pastoreo o cosecha (Reid *et al.* 2015). La clara limitante de este estudio en estimar la biomasa radicular radica en la cantidad de muestreos y el hecho que no se realizó la separación entre raíces vivas o muertas, al contabilizar raíces muertas se estaría sobreestimando la biomasa radicular. Gibbs (1986) demostró que las raíces muertas les tomaba 254 días para que la mitad de ellas desaparecieran en el suelo en la zona de Canterbury, Inglaterra.

Cuadro 7. Producción de raíz (ton MS.ha⁻¹) a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Tratamiento	Finca A	Finca B
Urea	4,86	15,93
Nitrato de amonio	4,33	7,73
Urea protegida	4,87	7,14
Promedio	4,69±1,81	10,27±5,43
Tratamiento	*	
Finca	**	
TxF	n.s.	

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m. Niveles de significancia: * = p<0,05; ** = p<0,01; n.s. = p>0,05.

Los resultados de la biomasa radicular solamente brindan información para el momento determinado en que fueron tomadas las muestras y por consiguiente no pueden ser utilizados para tomar conclusiones certeras. Por otra parte, diferencias en el sistema radicular puede originar diferencias en la absorción de nutrientes y por tanto en la biomasa producida. De igual manera, cuando la biomasa es cosechada, el rebrote utiliza una mayor cantidad de fotosintato para el crecimiento. Por consiguiente, su disponibilidad es menor para transportarlo a la raíz, esto provoca que la relación rebrote:raíz aumente (Andrews *et al.* 2013). Giehl y von Wirén (2014) encontraron que a mayor cantidad raíces corona en la base de la gramínea, mayor el volumen de absorción de nutrientes en la rizósfera. Sin embargo, un cambio en la estructura radicular puede deberse a una baja disponibilidad de nutrientes en el suelo y una deficiencia de los mismos en la planta.

Kraiser *et al* (2011) han encontrado que el desarrollo radicular se puede ver afectado por bacterias simbióticas benéficas para las plantas, las cuales a través de liberación de sustancias como auxinas, influyen en el sistema radicular y su morfología. La determinación del sistema radicular de una pastura y su posible influencia en las características agronómicas del forraje, brindaría información valiosa para los sistemas productivos que basan su alimentación en pasturas tales como las lecherías.

Los componentes estructurales de la planta (hoja, tallo y material senescente) no tuvieron una distribución normal según la prueba de Shapiro–Wilk ($p < 0,05$) sino quasi-binomial (Cuadros 8 y 9). La proporción de hoja fue distinta entre fincas ($p < 0,01$) y para los muestreos de ago-dic y ago-feb ($p < 0,05$, Cuadro 10), lo cual sugiere una tendencia a aumentar la proporción de hoja conforme avanzó el período experimental.

Cuadro 8. Relación porcentual (%) entre los componentes hoja:tallo:material senescente del pasto ryegrass cv. Jumbo en la finca A.

Muestreo	Componente	Urea	Nitrato de amonio	Urea protegida	Promedio
Agosto	Hoja	44	40	42	42 ±4,3
	Tallo	53	52	52	52 ±4,2
	Senescente	3	8	6	6 ±4,1
Octubre	Hoja	44	45	47	45 ±8,6
	Tallo	50	46	47	48 ±8,6
	Senescente	6	9	6	7 ±2,7
Diciembre	Hoja	64	62	68	65 ±3,4
	Tallo	34	36	31	34 ±3,4
	Senescente	1	2	1	1 ±0,7
Febrero	Hoja	81	73	73	76 ±6,2
	Tallo	16	25	25	22 ±6,3
	Senescente	3	3	2	3 ±0,8

Cuadro 9. Relación porcentual (%) entre los componentes hoja:tallo:material senescente del pasto ryegrass cv. Jumbo en la finca B.

Muestreo	Componente	Urea	Nitrato de amonio	Urea protegida	Promedio
Agosto	Hoja	65	53	56	58 ±6,8
	Tallo	23	25	26	25 ±6,8
	Senescente	11	22	18	17 ±7,1
Octubre	Hoja	65	61	74	67 ±5,7
	Tallo	24	28	41	31 ±21,3
	Senescente	10	11	9	10 ±2,9
Diciembre	Hoja	70	69	68	69 ±4,8
	Tallo	17	21	19	19 ±4,1
	Senescente	13	10	13	12 ±2,8
Febrero	Hoja	70	72	76	73 ±4,2
	Tallo	22	22	10	18 ±8,6
	Senescente	8	7	14	10 ±5,0

Cuadro 10. Niveles de significancia de los componentes estructurales hoja, tallo y material senescente.

Componente	Tratamiento	Muestreo	Finca	TxM	TxF	FxM	TxFxM
Hoja	n.s.	***	**	n.s.	n.s.	*	*
Tallo	n.s.	**	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Senescente	*	*	***	n.s.	n.s.	*	n.s.

Niveles de significancia: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; n.s. = $p > 0,05$.

La proporción de hoja en la finca B fue mayor que en la finca A (66,50 y 56,75% respectivamente). Se sugiere que su diferencia radica en una mejor absorción y aprovechamiento del fertilizante, el cual permitió a la pastura un mayor direccionamiento de nutrientes a la generación de hojas posterior a la cosecha (Lee *et al.* 2010). Esto porque la finca B poseía una mayor cantidad de raíces, las cuales proveen de CNF (Liu y Jiang 2015), los cuales son limitantes para la síntesis proteica cuando se posee cantidades suficientes de N (Bryant *et al.* 2012, Roche *et al.* 2016). Por tanto, al ser ambas fincas fertilizadas con la misma dosis de N, los CNF se vuelven los limitantes para el rebrote de la pastura, porque limitan la síntesis proteica para la reposición de los tejidos cosechados. A su vez, este aprovechamiento se puede deber a la mejor aireación del suelo el cual permite una respiración de las raíces más eficiente. Hansen (1980), encontró que en los momentos de mayor respiración de las raíces se da la mayor absorción de nitrógeno en la planta. Esto le confiere una ventaja para un mayor desarrollo del sistema radicular. Porque la mayor parte de la energía obtenida por la respiración de las raíces, se utiliza para su crecimiento (Veen 1981). De igual manera, al poseer una mayor cantidad de raíces estas absorben mejor el fertilizante aplicado (Smit *et al.* 2013). Esto explicaría la mayor proporción de hoja, asimismo, los mayores niveles de PC en la finca B.

La proporción de hoja en ambas fincas tendió a aumentar conforme se avanzaron en los muestreos. En la finca A la proporción de hojas aumentó a casi el doble en febrero con respecto a agosto y octubre, lo cual se vio influenciado por una disminución en la proporción de tallo en los meses de diciembre a febrero. Esto se presenta porque conforme se establece la pastura, hay un incremento en el sistema radicular y un aumento en la altura del rebrote, por tanto en la proporción de tallo (Khan *et al.* 2012). Tiene el fin de obtener la mayor cantidad de nutrientes y radiación posible, debido a la competitividad en la pastura (Craine *et al.* 2013). No obstante, conforme se realizan las primeras cosechas el rebrote

dirige su energía a restablecer hojas más que sus tallos por tanto se observa este comportamiento conforme avanzaron los muestreos (Morvan-Bertrand *et al.* 1999). Glienke *et al.* (2010a) encontraron resultados similares al de este estudio con valores pre-pastoreo que comprenden entre 57,9 a 85,0% en la proporción de hoja en el ryegrass (*L. multiflorum*) dependiendo de la intensidad del pastoreo (baja densidad a muy alta densidad animal).

La relación hoja:tallo para la finca A varió entre 0,81 a 3,45 mientras que la finca B varió entre 2,16 a 4,06. En algunos estudios como el de Confortin *et al.* (2010) encontraron un comportamiento opuesto al del presente estudio donde la relación hoja:tallo del ryegrass (*L. multiflorum*) disminuyó de 13,9-21,0 a 0,8-1,6 respectivamente. En dicha investigación hallaron esta disminución conforme avanzaron las cosechas de acuerdo a la intensidad de pastoreo. Esto se pudo deber a que el periodo de descanso de la pastura fue solamente un mes mientras que en el presente estudio fue superior. Esto le otorga más tiempo a la pastura para su recuperación y redireccionamiento de nutrientes hacia un estado vegetativo, por ende una mayor proporción de hojas (Beecher *et al.* 2015, Neto *et al.* 2014). Además, en los sistemas de pastoreo existe un mayor remanente foliar que activará más rápidamente la recuperación de la pastura, pero posteriormente se convertirá en material senescente (Villalobos y Arce 2013).

Amaral *et al.* (2013) encontraron valores pre-pastoreo de la relación hoja:tallo entre 0,85 a 1,24 en el ryegrass anual. Sus valores pueden diferir con respecto a los encontrados en este estudio porque ellos aplicaron sus tratamientos con una altura de la pastura entre 15 y 25 cm, mientras que en el presente estudio se realizó la cosecha de la pastura con alturas superiores a estas. La mayor proporción de tallos y pseudotallos se encuentran en la base de la pastura más que en la zona apical distal. En otra investigación, Glienke *et al.* (2010b) encontraron relaciones hoja:tallo con valores entre 0,6 a 1,7. Las diferencias en los valores se deben a que en dicha investigación conforme avanzaron los periodos de evaluación (mayo a octubre, iniciando la primavera), el pasto ryegrass cambió su estado fisiológico hasta llegar a la floración. Por tanto, cuando se presenta la floración se presenta una mayor proporción de tallo presente. En el presente estudio la pastura nunca llegó a presentar la floración como un estadio predominante, sólo en escasos rebrotes eventualmente. Neto *et al.* (2014) indican que en condiciones templadas o subtropicales, las pasturas reciben estímulos por el aumento en horas luz desde inicio de la primavera, por lo que la planta pasa de un estado fenológico vegetativo al estado reproductivo.

La proporción de tallo fue distinta entre fincas ($p < 0,01$) siendo mayor en la finca A y en los muestreos de ago-feb, oct-feb, y oct-dic ($p < 0,05$). Asimismo, la proporción de tallo sigue el comportamiento opuesto al de la proporción de hoja. Esto porque como se mencionó anteriormente, conforme se avanza en los muestreos la proporción de hoja aumenta y la de tallo disminuye para el establecimiento de una pastura en estado vegetativo, no reproductivo, condicionado por el clima (Wims *et al.* 2013). Glienke *et al.* (2010a) encontraron valores en la proporción de tallo pre-pastoreo que comprenden entre 8-12,8% en el ryegrass anual dependiendo de la intensidad del pastoreo (baja densidad a muy alta densidad animal). La diferencia en sus resultados con respecto al presente estudio puede ser porque evaluaron el ryegrass bajo condiciones de pastoreo. Al utilizar el ryegrass bajo el sistema de pastoreo se espera que al obtener mayor altura posea mayor proporción de tallo. Por el contrario, al realizar el corte y acarreo del mismo, con la remoción equitativa de los componentes estructurales (hoja, tallo y material senescente) se espera que la pastura establezca sus proporciones hacia un estado vegetativo y no reproductivo.

Es difícil explicar el motivo por el cual la proporción de tallo fue mayor en la finca A en comparación con la finca B (39 y 23,25% respectivamente). Una de las razones por las cuales se presenta mayor proporción de tallo en la finca de mayor altitud puede ser la competitividad por la radiación solar. Yadav y Chandel (2014) encontraron que la altitud es uno de los factores cruciales para determinar la radiación solar de una zona específica. Debido a que a mayor altitud existe menor cantidad de radiación por efecto de la nubosidad (Hayes 2010). Mildemberger *et al.* (2009) hallaron una reducción del 64% en la radiación solar durante condiciones de neblina. Por lo tanto, al existir una necesidad de obtener la mayor radiación posible, existe un alargamiento de los entrenudos, generando una mayor cantidad de tallo en la planta (Kebrom *et al.* 2013).

El material senescente fue diferente entre fincas, siendo mayor la finca B con respecto a la A (12 y 4 % respectivamente, $p < 0,05$) y entre los tratamientos de nitrato de amonio y urea (9 y 7% respectivamente, $p < 0,05$). Además, hay diferencias entre los meses de ago-dic y ago-feb ($p < 0,05$). Glienke *et al.* (2010a) encontraron resultados relativamente constantes con valores pre-pastoreo que comprenden entre 2,8 a 6,8% en la proporción de material senescente en el ryegrass anual dependiendo de la intensidad del pastoreo (baja densidad a muy alta densidad animal). Se esperó que al aumentar la proporción de hoja, aumentara la proporción de material senescente por efecto de la sombra, sin embargo esto no ocurrió, por el contrario

tendió a disminuir. Lo mismo fue encontrado por Ehret *et al.* (2015) donde no observaron cambios importantes en la proporción de material senescente en la pastura de ryegrass perenne por efecto de la sombra. Lo anterior se puede explicar porque la senescencia de las hojas depende más del estado fisiológico de la planta que de cambios en la radiación recibida (Noodén 2012).

La edad fenológica del pasto ryegrass cv. Jumbo (Cuadro 11) no tuvo una distribución normal según la prueba de Shapiro–Wilk ($p < 0,05$), sino que se utilizó una distribución quasi-poisson. La misma fue distinta en todos los muestreos excepto entre ago-oct ($p < 0,05$). A su vez, fue diferente entre el tratamiento de la urea y urea protegida (1,9 y 2,1 hojas verdes respectivamente, $p < 0,05$). Lee *et al.* (2009) mencionan que se disminuye la edad fenológica del pasto conforme se aumenta la cosecha del mismo por una disminución en las reservas de CNF. Esto concuerda con lo encontrado en el presente estudio, donde la edad fenológica en ambas fincas disminuyó cuando se compararon los meses de agosto y febrero ($p < 0,01$). Cabe destacar que de igual manera en la que disminuyeron los rebrotes en febrero con respecto a agosto, así también lo hizo la edad fenológica y esto puede estar relacionado con las reservas de CNF del pasto. Griffiths *et al.* (2017) cataloga al ryegrass perenne como una pastura con una edad fenológica de 3 hojas, sin embargo, bajo un manejo de corte-acarreo con un cultivar anual, dicho criterio puede diferir.

Cuadro 11. Cantidad de hojas verdes por rebrote a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Tratamiento	Finca A				Finca B			
	Ago	Oct	Dic	Feb	Ago	Oct	Dic	Feb
Urea	2,6	1,9	1,8	1,5	2,5	1,9	1,5	1,6
Nitrato de amonio	2,6	2,4	2,1	1,3	2,7	2,3	1,7	1,6
Urea protegida	2,7	2,5	1,9	1,4	2,6	2,0	1,6	2,2
Promedio	2,6± 0,92	2,3± 0,70	1,9± 0,61	1,4± 0,51	2,6± 0,70	2,1± 0,76	1,6± 0,63	1,8± 0,77
Tratamiento	n.s.							
Finca	n.s.							
Muestreo	**							
TxF	n.s.							
TxM	n.s.							
FxM	n.s.							
TxFxM	n.s.							

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m. Niveles de significancia: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; n.s. = $p > 0,05$.

La producción de biomasa (Cuadro 12) no tuvo una distribución normal según la prueba de Shapiro–Wilk ($p < 0,05$). Se realizó la transformación de los datos al obtener su raíz cuadrada con el fin de conseguir una distribución normal ($p > 0,05$). Una vez transformados los datos, se sugieren diferencias entre la finca A y B (2.906 y 2.425 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{corte}^{-1}$ respectivamente; $p < 0,001$) y los muestreos de ago-dic, ago-feb y ago-oct (2.377-3.585, 2.339-3.585 y 2.399-3.585 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{corte}^{-1}$ respectivamente, $p < 0,001$). Además, hubo una interacción importante entre la finca y el muestreo ($p < 0,001$).

Cuadro 12. Producción de biomasa del pasto ryegrass cv. Jumbo (kg MS.ha⁻¹.corte⁻¹) a dos altitudes.

Tratamiento	Finca A					Finca B				
	Ago	Oct	Dic	Feb	Total	Ago	Oct	Dic	Feb	Total
Urea	3.915	2.315	2.959	1.929	11.118	2.747	1.931	1.720	2.618	9.016
Nitrato de amonio	4.580	2.670	3.107	1.894	12.251	3.225	2.092	1.740	2.804	9.861
Urea protegida	4.108	3.243	2.692	1.865	11.908	3.109	2.141	2.047	2.928	10.225
Promedio	4.201± 456	2.743± 782	2.919± 298	1.896± 359	11.759	3.027± 276	2.055± 334	1.836± 243	2.783± 161	9.701
Tratamiento	n.s.									
Finca	***									
Muestreo	***									
TxF	n.s.									
TxM	n.s.									
FxM	***									
TxFxM	n.s.									

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m. Niveles de significancia: * = p<0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001; n.s. = p>0,05.

Como bien se evidencia, existen diferencias en la producción de biomasa entre los muestreos de los demás meses con respecto a agosto. Esto porque el mes de agosto fue el primer muestreo, el cual contaba con la mayor cantidad de rebrotes. Conforme avanzaron los muestreos, disminuyeron los rebrotes y la biomasa producida. Sin embargo, en el último muestreo de la finca B hubo un incremento de la biomasa, quizá por la presencia de lluvias en la zona.

En el mes de diciembre, considerado el mes de transición entre la época lluvia y seca, se encontraron diferencias en los niveles de biomasa para las fincas A y B con respecto a febrero. Además, se hallaron diferencias entre el mes de diciembre en la finca A con el mes de octubre de la finca B y el mes de octubre de la finca A con el mes de diciembre de la finca B (Anexo 15). Estas diferencias durante la época de transición son muy variables y específicas de acuerdo cada finca, por tanto no se observa un comportamiento explícito en la cantidad de biomasa producida durante la época de transición.

En la finca A no se hallaron diferencias en la producción de biomasa para el mes de febrero. Esto coincide con lo encontrado por Simić *et al.* (2012) donde no encontraron diferencias en el crecimiento de la pastura de ryegrass anual cuando se presentaron condiciones secas en la zona evaluada, al aplicar fertilizante nitrogenado (50, 100 y 150 kg.ha⁻¹.año⁻¹). Por otra parte, Holub *et al.* (2012) encontraron una mayor biomasa producida al tener una mayor densidad de rebrotes en los pastos *Calamagrostis epigejos*, *Bromus inermis* y *Brachypodium pinnatum*. En el presente estudio, la biomasa mayor para el mes de agosto en comparación con el mes de febrero, se debió a una mayor cantidad de rebrotes por metro cuadrado en las parcelas. Asimismo, Gutiérrez *et al.* (2017) encontraron que el nitrógeno es el principal elemento que altera la biomasa producida y composición bromatológica del pasto ryegrass, mientras que otros nutrientes como el P, K o Mg solamente afectaron la biomasa producida.

A pesar que ambas fincas poseen un suelo volcánico típico Andisol, los procesos de labranza pudieron provocar cambios estructurales en los pedones del suelo de la finca B, disminuyendo la capacidad de retener agua (Mallory *et al.* 2011). Al perder su estructura le confiere una característica opuesta al suelo arcilloso, la cual es un aumento en su drenaje (Al-kaisi *et al.* 2014). En general, cuando se posee una estructura firme con los pedones del suelo conformados junto con una capacidad de campo adecuada, se espera mayor productividad del forraje. No obstante, en época con exceso de lluvia, suelos bien drenados son los que proveen las mejores condiciones para el desarrollo de la pastura (Batey 2009). Esto explica el aumento en la productividad del ryegrass en el muestreo de febrero de la finca B. A su vez, en esta finca la época lluviosa tiende a extenderse más tiempo en comparación con la finca A por tanto posee un microclima distinto al resto de la zona (Comunicación personal²).

² Coto, A. 2018. Comunicación personal. Cámara Nacional de Productores de Leche (Proleche). Costa Rica.

Composición nutricional y mineral del pasto ryegrass anual cv. Jumbo.

La fertilización nitrogenada en pastos incrementa los niveles de nitrógeno total, proteína, biomasa, digestibilidad total y digestibilidad de la fibra en forrajes como el bermuda (*C. dactylon*), estrella (*C. nlemfuensis*) y ryegrass (*L. multiflorum*) (Johnson *et al.* 2001, Peyraud *et al.* 1997). Las variables nutricionales (Figura 6 y Anexo 34) presentaron diferencias principalmente entre muestreos y presentaron interacciones entre la finca y el muestreo (Cuadro 13) e interacciones entre el tratamiento y el muestreo para los contenidos de FDN y la DIVMS. Dichas diferencias se atribuyen principalmente a diferencias en las condiciones climatológicas entre los meses muestreados (agosto y febrero), teniendo variaciones considerables en términos de la precipitación. En diciembre se presentaron valores superiores en la proporción de hoja y en la cantidad de rebrotes. Dichas variables pudieron influir sobre la composición nutricional del forraje (PC, DIVMS y DIVFDN).

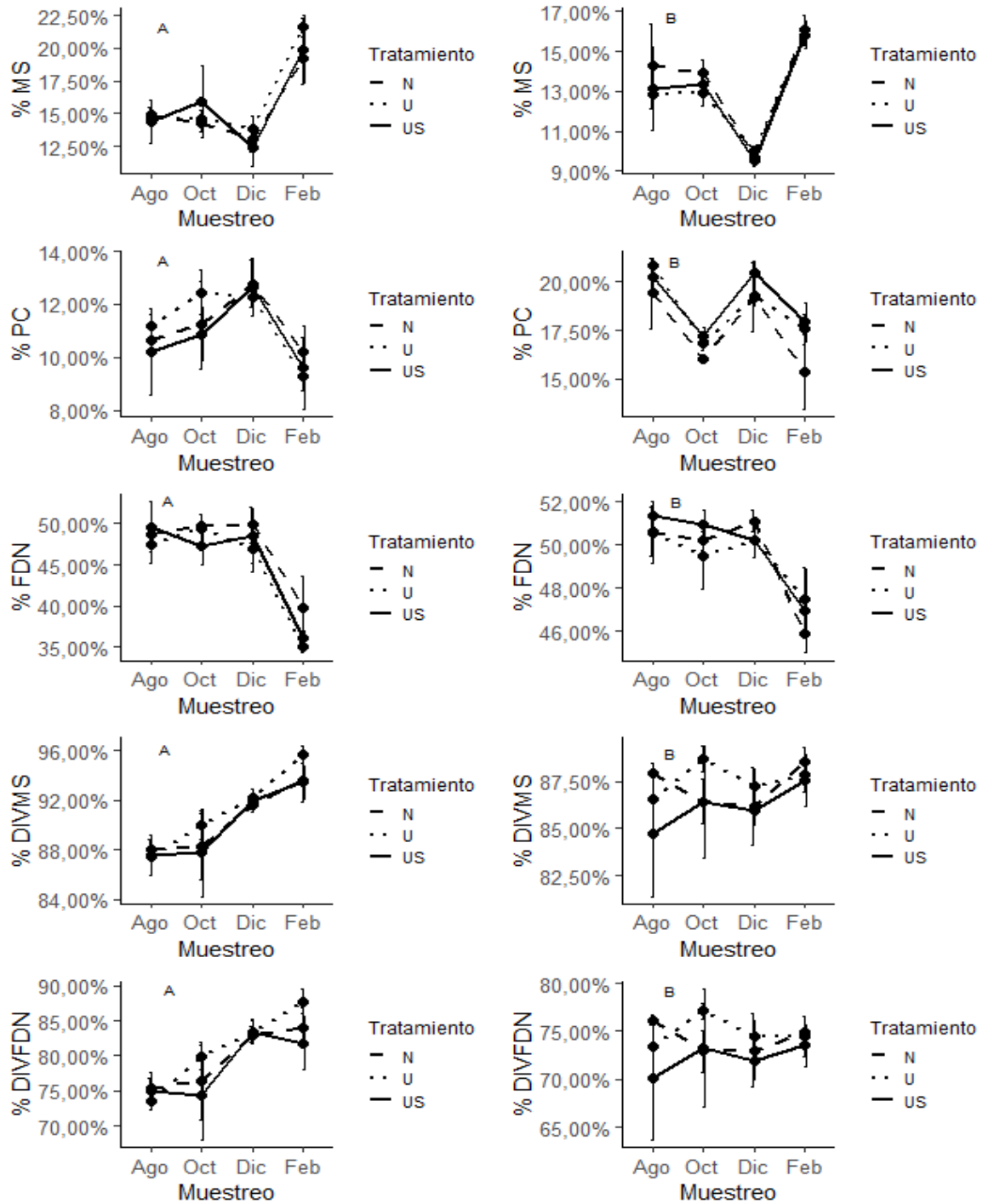


Figura 6. Composición nutricional del pasto ryegrass, cv Jumbo a dos altitudes. MS = materia seca, PC = proteína cruda, FDN = fibra detergente neutro, DIVMS = digestibilidad *in vitro* de la materia seca, DIVFDN = digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutro, N = nitrato de amonio, U = urea, US = urea protegida, A = Finca A, B = Finca B.

Cuadro 13. Niveles de significancia de los componentes nutricionales.

Componente	Tratamiento	Muestreo	Finca	TxM	TxF	FxM	TxFxM
MS	n.s.	***	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.
PC	n.s.	*	***	n.s.	n.s.	*	n.s.
FDN	n.s.	***	n.s.	*	n.s.	*	n.s.
DIVMS	n.s.	**	n.s.	*	n.s.	**	n.s.
DIVFDN	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.

MS = materia seca, PC = proteína cruda, FDN = fibra detergente neutro, DIVMS = digestibilidad *in vitro* de la materia seca, DIVFDN = digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutro. Niveles de significancia: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; n.s. = $p > 0,05$.

Las diferencias halladas entre fincas según el muestreo es un efecto propio de cada zona, las fincas hacen que la absorción y asimilación del nitrógeno sean diferentes entre sí a lo largo del año. La producción de gas total *in vitro* (Figura 7) fue diferente de acuerdo a la finca y mostró una interacción entre la finca y el muestreo (Cuadro 14). Esto coincide con las variables nutricionales antes mencionadas que fueron diferentes de acuerdo a las fincas y el muestreo realizado. La producción de gas se vio afectada como resultado de los cambios en las variables nutricionales al estar relacionada con la digestibilidad del forraje (Muetzel *et al.* 2014).

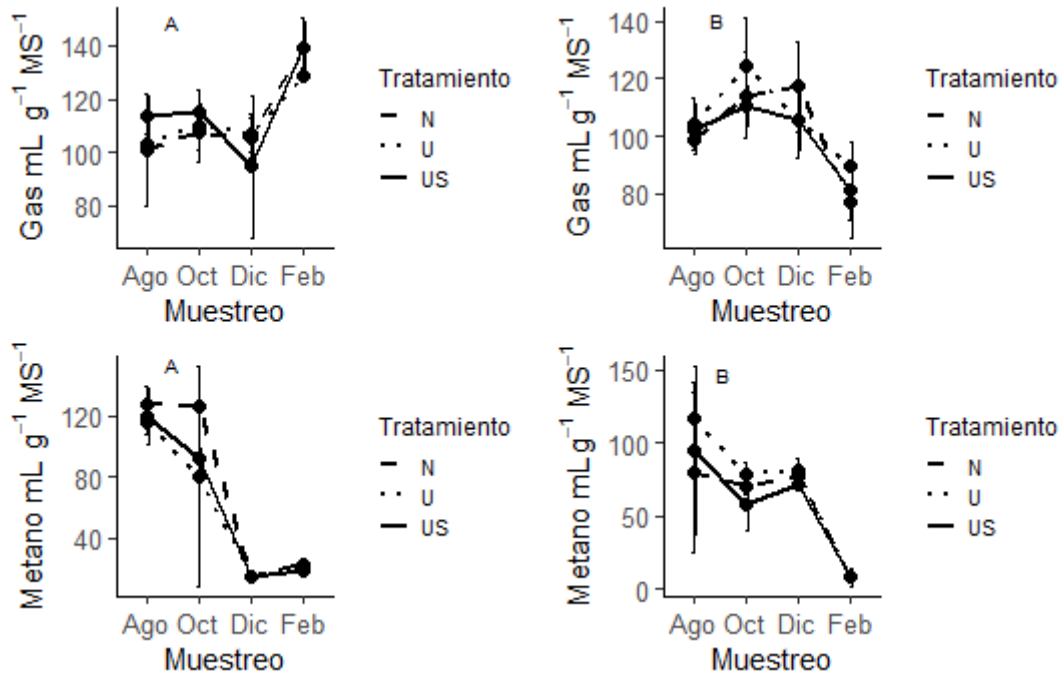


Figura 7. Producción *in vitro* de gas total y metano del pasto ryegrass, cv. Jumbo a dos altitudes. N = nitrato de amonio, U = urea, US = urea protegida, A = Finca A, B= Finca B.

Cuadro 14. Niveles de significancia de la producción de gas total y gas metano *in vitro*.

Componente	Tratamiento	Muestreo	Finca	TxM	TxF	FxM	TxFxM
Gas total	n.s.	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.
Gas metano	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

Niveles de significancia: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; n.s. = $p > 0,05$; n.a. = no aplica.

La materia seca fue distinta en los muestreos de ago-feb ($p < 0,05$), además mostró una interacción entre la finca A y B con respecto a los muestreos de agosto y diciembre respectivamente ($p < 0,05$). Los niveles de proteína cruda fueron distintos entre fincas ($p < 0,05$), entre los muestreos de ago-dic ($p < 0,05$), y presentó interacciones entre finca y muestreo ($p < 0,05$). La materia seca se ve afectada por los niveles de brillo solar y la temperatura ambiental, debido a que estos factores intervienen en los niveles de humedad del suelo. Esto lo encontraron Jiang *et al.* (2009) en su estudio con el ryegrass perenne bajo condiciones deficientes de agua en el cultivo, con una aplicación de N anual de $146,4 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ en tres aplicaciones de $48,8 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ (mayo, setiembre y noviembre). La materia seca fue

mayor en febrero en comparación con agosto (18 y 14% respectivamente) porque en agosto se tuvo una mayor cantidad de precipitación, por tanto una mayor cantidad de biomasa, diluyendo el contenido de materia seca del forraje.

La proteína cruda del forraje fue distinta entre la finca A y B (11 y 18% respectivamente, $p < 0,001$). Esta aumenta conforme la planta aprovecha la fertilización nitrogenada (Loaiza *et al.* 2017). Ren *et al.* (2009) encontraron niveles superiores de PC en las hojas y vainas del ryegrass anual con valores de 25 y 15% respectivamente, al aplicar altas dosis de nitrógeno. Cuando aplicaron bajas dosis de nitrógeno obtuvieron valores de 20 y 10% respectivamente. En este estudio el forraje pudo absorber la totalidad del nitrógeno aplicado porque se utilizaron cilindros con suelo de un diámetro de 25 cm y una profundidad de 60 cm. A estos se les aplicó 1 L de disolución con altas o bajas dosis de nitrógeno (73 y 11 mg N respectivamente) una vez por semana por 133 días. Por tanto, cuando aplicaron dosis mayores de nitrógeno se evidenció un mayor porcentaje de PC en los componentes de la planta. Estos valores son similares a los encontrados por el presente estudio en la finca B (17 a 20% PC). En la finca A el ryegrass presentó valores menores de PC para ser una pastura fertilizada (10 a 13% PC).

Los bajos niveles de proteína en la finca A pueden deberse a que la pastura no asimilaba el N aplicado a pesar de la fertilización. Andrews *et al.* (2013) encontraron que no todo el nitrato absorbido es asimilado por las plantas cuando estas se encuentran bajo condiciones de baja luminosidad o con altas dosificaciones de nitrato. En las condiciones antes mencionadas se encontró que el nitrato puede sustituir moléculas orgánicas y funcionar como osmorregulador donde las plantas adquieren un ahorro energético (Andrews *et al.* 2013). Dawar *et al.* (2012) encontraron que la urea con Agrotain® mejoró la eficiencia del uso del nitrógeno en un 31 a 96% con respecto a la aplicación de urea en finas partículas, o urea granular respectivamente. Sin embargo, en el presente estudio la eficiencia en el uso del nitrógeno no se vio reflejada en los niveles proteicos del forraje, porque no se encontraron diferencias por tratamiento.

Los niveles de fibra detergente neutro fueron diferentes en los muestreos de ago-feb (50 y 42% respectivamente, $p < 0,05$). Además presentó interacciones entre el tratamiento y el muestreo y entre la finca y el muestreo ($p < 0,05$). Esto se pudo deber a que en agosto los niveles de biomasa fueron mayores, por tanto se requiere una mayor proporción de tallo para

soportar la biomasa producida. Al poseer una mayor proporción de tallo es de esperar que se incrementen los niveles de FDN. Esto porque de la planta entera, el tallo es el que contiene la mayor cantidad de FDN (Liu *et al.* 2009).

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca fue distinta en los muestreos de ago-dic y ago-feb ($p < 0,05$). Igualmente mostró interacciones entre el tratamiento y el muestreo y entre la finca y el muestreo ($p < 0,05$). La digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutro fue diferente en los muestreos de ago-dic y ago-feb ($p < 0,05$). Asimismo mostró interacciones entre la finca y el muestreo ($p < 0,05$). Con respecto a la DIVMS y DIVFDN, presentaron el mismo comportamiento. Al igual que la FDN, no se hallaron diferencias por los tratamientos evaluados, más sí por los muestreos y las fincas. La DIVMS y DIVFDN fueron mayores en la finca A en comparación con la finca B (91-80% y 87-74%, respectivamente). Esto porque al poseer una menor cantidad de FDN la finca A, le confiere un mayor contenido de CNF mejorando así la digestibilidad del forraje al ser el componente más digestible del mismo (Rêgo *et al.* 2010). Por otra parte, la proporción de hoja aumentó conforme aumentaron los muestreos por consiguiente, se mejoran los niveles de DIVMS y DIVFDN porque las hojas de la pastura son el componente estructural más digestible (Bryant *et al.* 2012). Por tanto cuando se unen factores específicos de la finca en conjunto con la variabilidad de la proporción de hoja en la pastura conforme avanzan los muestreos, se presenta la interacción entre la finca y el muestreo para las variables de DIVMS y DIVFDN.

Wims *et al.* (2013), menciona que un cambio en 5,5% en la proporción de hoja en la pastura representa un cambio en un 1% en la digestibilidad de la materia seca. Conforme la planta madura su degradabilidad disminuye (Kaur *et al.* 2011), por tanto en agosto se obtuvieron los menores valores de proporción de hoja y digestibilidad, esta última aumentó cuando la proporción de hoja fue mayor. Esto porque la composición estructural de la pastura tiene una mayor participación en la digestibilidad del forraje, donde las hojas son más digestibles que los demás componentes (Humphreys *et al.* 2010).

La producción de gas total *in vitro* fue diferente entre fincas ($p < 0,05$). Por otra parte mostró una interacción entre la finca y el muestreo ($p < 0,05$). La producción de gas metano *in vitro* no se ajustó a una distribución normal según la prueba de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$). A su vez, no mostró ninguna diferencia según la prueba de Kruskal-Wallis ($p = 0,714$), sin embargo, este resultado no es concluyente. A causa que algunas muestras de gas metano tuvieron que

descartarse porque presentaron valores superiores a la producción de gas total *in vitro*, o bien valores menores a 0,67 mmol CH₄ (<15 mL CH₄ g⁻¹.MS⁻¹). Debido a la metodología utilizada en el laboratorio para estimar la cantidad de metano producido *in vitro* se encontraron estas limitantes, las cuales generaron una menor cantidad de muestras para el análisis estadístico. Esto provocó que los datos no tuviesen una distribución normal.

Se sugiere que la producción de gas va de la mano con la digestibilidad del forraje (Meale *et al.* 2012; Njidda y Nasiru 2010). Gemeda y Hassen (2014) sugieren una correlación positiva entre la producción de metano y los componentes fibrosos del forraje (FDN, FDA, hemicelulosa y celulosa). En este estudio la producción de gas total y de metano fue mayor en la finca A, a pesar que la finca B poseía valores superiores de FDN. Esto sugiere que la digestibilidad de los componentes juega un papel importante en la producción de GEI de la pastura al ser consumida por el animal. Por otra parte, se realizó la estimación de las emisiones de GEI según IPCC (2006) con el fin de evaluar el posible impacto ambiental de cada una de las fuentes nitrogenadas utilizadas. Como se muestra en el cuadro 15, debido a la cobertura de azufre que posee la urea protegida esta posee un menor factor de emisión según Albanito *et al.* (2017) y por tanto menores emisiones de GEI.

Cuadro 15. Estimaciones de las emisiones de GEI.

Fuente nitrogenada	Dosis de fertilizante (kg)	Kg N/ha/año	Factor de emisión (%)	kg N ₂ O/año	kg CO ₂ e/año
N	561,78	200,00	2,1	6,6	1.113
U	409,13	200,00	1,1	3,5	583
US	465,12	200,00	0,7	2,2	371

Dónde: N = nitrato de amonio, U = urea, US = urea protegida.

Los análisis de los minerales foliares (Figuras 8 y 9) fueron diferentes a nivel de finca para N, Ca, Mg, K, Fe, Cu, Zn y Mn ($p < 0,05$). Para el P y el S no hubo diferencia alguna en los tratamientos o fincas ($p > 0,05$). Los niveles de N, Ca, Mg, Fe, Cu y Mn fueron superiores en la finca B, mientras que los niveles de K y Zn fueron superiores en la finca A ($p < 0,05$). Los niveles de boro fueron superiores en la finca B, aunque no se pudieron analizar estadísticamente. Los macro y microminerales foliares fueron en su mayoría superiores en la finca B. Porque en dicha finca la biomasa total fue menor, por tanto se concentran los minerales foliares (Crush *et al.* 2018a, Crush *et al.* 2018b). Solamente para el K y Zn sus niveles fueron superiores en la finca A. El ryegrass posee una alta eficiencia al movilizar el K

y Zn del suelo (Zalewska 2012, Zörb *et al.* 2014). Además, la finca A posee niveles de K en el suelo menores a la finca B una vez finalizado el experimento (Cuadros 4 y 5), ello explicaría que el ryegrass tuvo mayor movilización y concentración a nivel foliar. Por otra parte, la finca A posee más del doble de niveles de Zn en el suelo, por consiguiente es de esperar que el ryegrass tuviese valores foliares superiores.

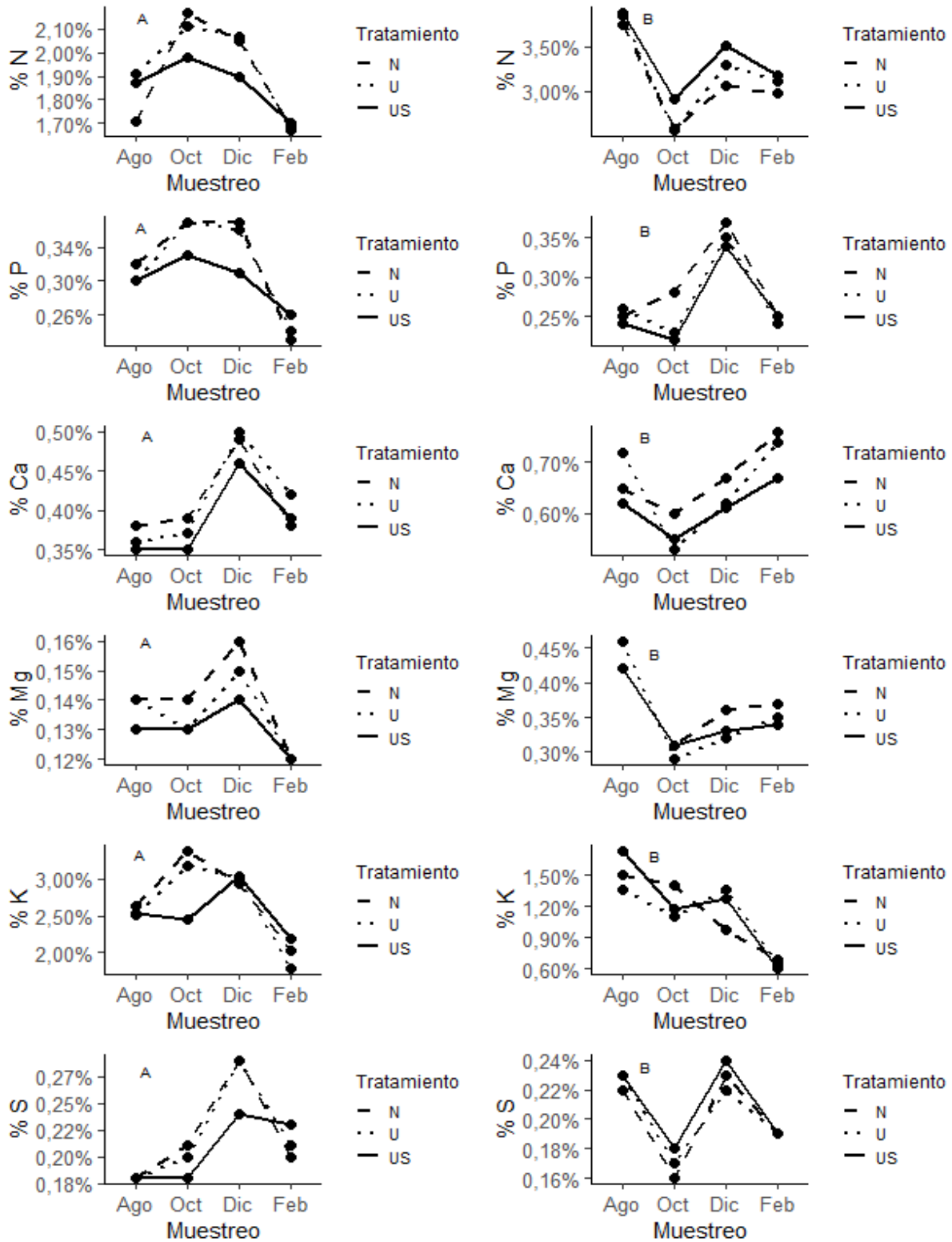


Figura 8. Macrominerales del pasto ryegrass, cv Jumbo a dos altitudes. N = nitrato de amonio, U = urea, US = urea protegida, A = Finca A, B = Finca B.

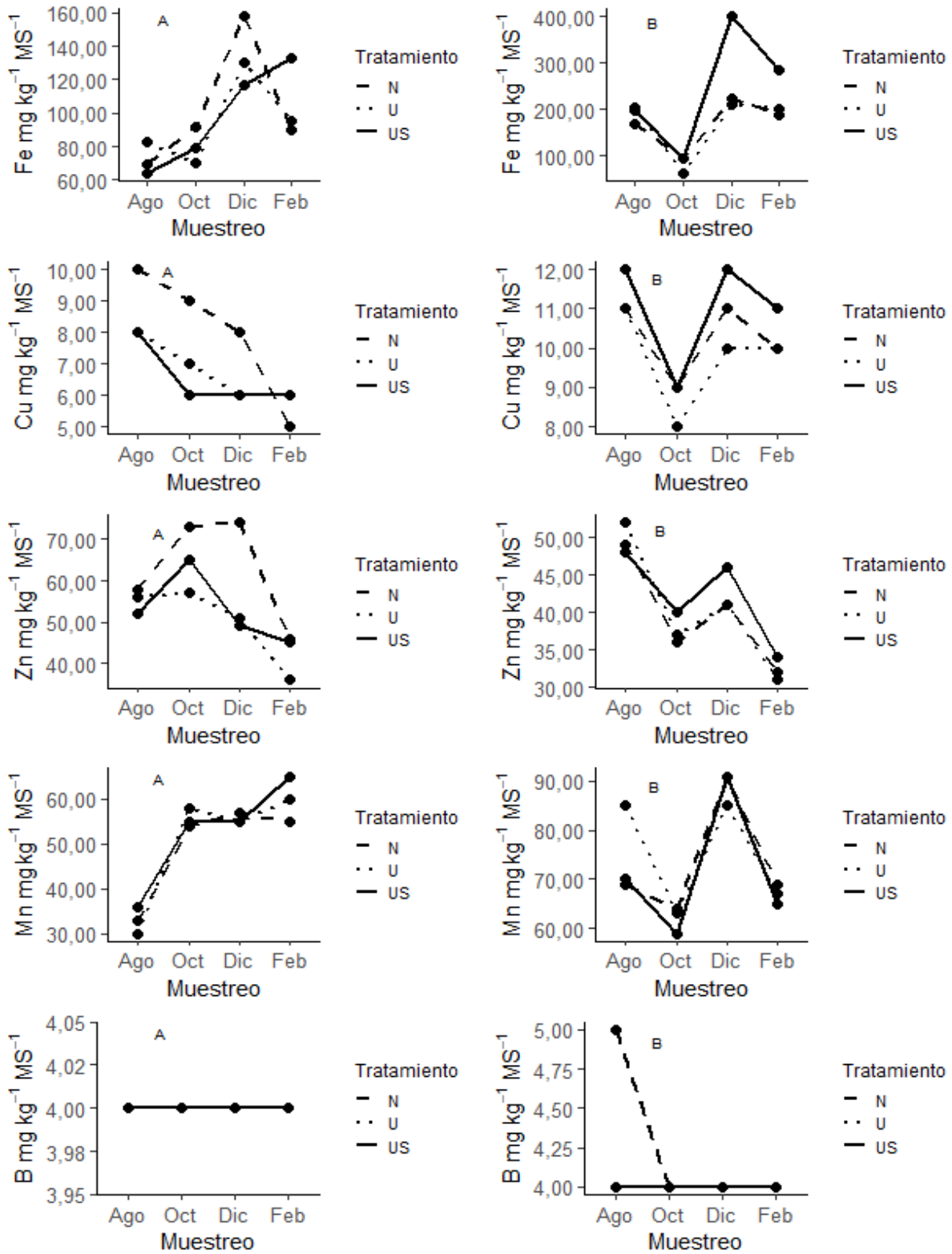


Figura 9. Microminerales del pasto ryegrass, cv Jumbo a dos altitudes. N = nitrato de amonio, U = urea, US = urea protegida, A = Finca A, B = Finca B.

Según Weigel y Manderscheid (2012) en el futuro se esperan valores de CO₂, cerca de 550 ppm para el 2050 y entre 750-1.000 ppm para el 2100. Los investigadores hallaron que diferentes cultivos, entre ellos incluido el ryegrass (*L. perenne*) disminuyen el contenido de nitrógeno en sus tejidos cuando se encuentran expuestos a niveles elevados de CO₂ (550 ppm). Por tanto, es indispensable buscar estrategias para mejorar el uso de fertilizantes nitrogenados con el fin de combatir los retos inevitables del cambio climático. Sebilo *et al.* (2013) encontraron que entre un 8 a 12% del nitrógeno aplicado como fertilizante sintético se encontró en los cuerpos de agua adyacentes a la zona fertilizada en un periodo de 30 años de evaluación, contaminándolos y generando eutrofización. Por tanto, es recomendable considerar las aplicaciones de fertilizantes que se realizan y sus posibles repercusiones ambientales para las generaciones futuras.

Debido a la importancia del uso responsable de los fertilizantes nitrogenados en la producción primaria para el cuidado del medio ambiente, en el cuadro 16 se propone un plan de fertilización específico de cada zona (Finca A y B). Más importante aún, el plan de fertilización es específico según la época del año para hacer uso eficiente de los fertilizantes según la respuesta de la pastura en términos de biomasa producida y valor nutricional.

Cuadro 16. Plan de fertilización de acuerdo a la fuente nitrogenada y la época del año para el pasto ryegrass, cv Jumbo a dos altitudes.

Finca	Mes											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	US	US	US	U/US	U/US	U/US	U/US	N/US	N/US	N/US	US	US
B	N	N	N	U/US	U/US	U/US	U/US	N/US	N/US	US	US	N

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

CONCLUSIONES

La cantidad de rebrotes producida por el ryegrass disminuye conforme incrementan las cosechas del mismo, perdiendo así su capacidad de rebrote en el tiempo.

Los resultados de la biomasa radicular solamente brindan información para el momento determinado en que fueron tomadas las muestras y por consiguiente no pueden ser utilizados para tomar conclusiones certeras.

La proporción de hoja aumentó mientras que la de tallo disminuyó conforme avanzó el período experimental. La proporción de material senescente permaneció relativamente constante a lo largo de los muestreos. La fórmula de nitrógeno utilizada no afectó la composición estructural de la pastura.

La edad fenológica del pasto disminuyó conforme avanzó el período experimental.

La producción de biomasa mostró diferencias entre fincas y se observó una tendencia a disminuir conforme avanzaron los muestreos, como resultado de la capacidad de rebrote menor conforme avanzó el período experimental.

La proteína cruda del forraje fue distinta entre fincas y no fue afectada por la fuente nitrogenada utilizada. La digestibilidad de los componentes juega un papel importante en la producción de GEI de la pastura. Los minerales foliares fueron menores en la finca A debido a un efecto de dilución por la biomasa producida.

Las características agronómicas del forraje variaron considerablemente a lo largo del año, por tanto se recomienda el uso específico de fuentes nitrogenadas de acuerdo a la época (Cuadro 16) para hacer mejor uso de los recursos económicos (Anexo 33). A su vez, se disminuye el impacto directo del medio ambiente al reducir las posibles emisiones de GEI (Cuadro 15).

RECOMENDACIONES

Para obtener una biomasa de raíces producida sin subestimarla, es necesario realizar más mediciones a través del año (>8). Esto porque la tasa de reposición:degradación de las raíces en las pasturas varía considerablemente.

En caso de repetir el experimento, se recomienda utilizar al menos 4 muestras por muestreo por finca, con el fin de tener datos más robustos así como. incluir una mayor cantidad de fincas.

Monitorear las condiciones climáticas tales como la precipitación, radiación solar y temperatura en cada una de las fincas involucradas, con el fin de poder conocer la causa de las diferencias encontradas entre ellas.

Como manejo nutricional en la finca al usarse esta pastura para corte y acarreo, se recomienda realizar un "somagado" (premarchitado) de al menos 4-6 horas, con el fin de aumentar el contenido de materia seca que consumirán los animales.

LITERATURA CITADA

- Ajwa, H; Dell, C; Rice, C. 1999. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization. *Soil Biology and Biochemistry* 31(5):769-777.
- Albanito, F; Lebender, U; Cornulier, T; Sapkota, T; Brentrup, F; Stirling, C; Hillier, J. 2017. Direct nitrous oxide emissions from tropical and sub-tropical agricultural systems-a review and modelling of emission factors. *Scientific Reports* 7:1-12.
- Al-Kaisi, M; Douelle, A; Kwaw-Mensah, D. 2014. Soil microaggregate and macroaggregate decay over time and soil carbon change as influenced by different tillage systems. *Journal of Soil and Water Conservation* 69(6):574-580.
- Almeida J. 2004. Efecto de la fertilización ecológica y química en el rendimiento de la nueva variedad de soya Iniap 307. Tesis de grado para optar por el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria del Ecuador. Milagro, Ecuador. 88 p.
- Amaral, M; Mezzalira, J; Bremm, C; Da Trindade, J; Gibb, M; Suñe, R; de F. Carvalho, P. 2013. Sward structure management for a maximum short-term intake rate in annual ryegrass. *Grass and Forage Science* 68(2):271-277.
- Andrews, M; Hodge, S; Raven, J. A. 2010. Positive plant microbial interactions. *Annals of Applied Biology* 157(3):317-320.
- Andrews, M; Raven, J. A; Lea, P. J. 2013. Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants. *Annals of Applied Biology* 163(2):174-199.
- ANKOM. 2012. Gas Production System Operator's Manual. ANKOM, Macedon, NY, USA.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official methods of analysis. 15th ed. AOAC Int., Arlington, VA, USA.
- Arango, J; Gutierrez, J; Mazabel, J; Pardo, P; Enciso, K; Burkart, S; Sotelo, M; Hincapié, B; Molina, I; Herrera, Y; Serrano, G. 2016. Estrategias tecnológicas para mejorar la productividad y competitividad de la actividad ganadera: herramientas para enfrentar el cambio climático. Cali, Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 58 p.
- Arias, E; Sadeghian, S; Mejía, B; Morales, C. 2009. Lixiviación del nitrógeno en algunos suelos de la zona cafetalera y su relación con la textura. *Cenicafé* 60(3):239-252.
- Azeem, B; KuShaari, K; Man, Z; Basit, A; Thanh, T. 2014. Review on materials & methods to produce controlled release coated urea fertilizer. *Journal of Controlled Release* 181:11-21.

- Bailey, J. 1998. Varying the ratio of ^{15}N -labelled ammonium and nitrate-N supplied to perennial ryegrass: effects on nitrogen absorption and assimilation, and plant growth. *The New Phytologist* 140(3):505-518.
- Balkos, K; Britto, D; Kronzucker, H. 2010. Optimization of ammonium acquisition and metabolism by potassium in rice (*Oryza sativa* L. cv. IR-72). *Plant, Cell & Environment* 33(1):23-34.
- Balocchi, O; López, I. 2009. Herbage production nutritive value and grazing preference of diploid and tetraploid perennial ryegrass cultivars (*Lolium perenne* L.). *Chilean Journal of Agricultural Research* 69(3):331-339.
- Barbieri, P; Echeverría, H; Saínez, H; Maringolo, M. 2010. Fertilización de maíz con urea de liberación lenta: pérdida por volatilización y eficiencia de uso de nitrógeno. *Ciencia del Suelo* 28(1):57-66.
- Barbosa, J; Singh, N; Cherry, J; Locy, R. 2010. Nitrate uptake and utilization is modulated by exogenous γ -aminobutyric acid in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 48(6):443-450.
- Barrera, J; Cruz, M; Melgarejo, L. M. 2010. Nutrición mineral. *Experimentos en fisiología y bioquímica vegetal*. 80-106 p.
- Barrientos, P. 2014. Evaluación de cultivares de gramíneas forrajeras perennes en el llano central de la X Región. Tesis para optar por el título de Bachillerato. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. 57 p.
- Batey, T. 2009. Soil compaction and soil management—a review. *Soil Use and Management* 25(4):335-345.
- Bázquez, M; Edmeades, G; Beck, D; Bellon, M. 2012. Mejoramiento para aumentar la tolerancia a sequía y a deficiencia de nitrógeno en el maíz: De la teoría a la práctica. Editorial CIMMYT. México D.F., México. 61 p.
- Beecher, M; Hennessy, D; Boland, T; McEvoy, M; O'Donovan, M; Lewis, E. 2015. The variation in morphology of perennial ryegrass cultivars throughout the grazing season and effects on organic matter digestibility. *Grass and Forage Science* 70(1):19-29.
- Bloom, A. J; Asensio, J. S. R; Randall, L; Rachmilevitch, S; Cousins, A. B; Carlisle, E. A. 2012. CO_2 enrichment inhibits shoot nitrate assimilation in C3 but not C4 plants and slows growth under nitrate in C3 plants. *Ecology* 93(2):355-367.
- Bloom, A. J; Burger, M; Asensio, J. S. R; Cousins, A. B. 2010. Carbon dioxide enrichment inhibits nitrate assimilation in wheat and *Arabidopsis*. *Science* 328(5980):899-903.

- Bloom, A. J; Smart, D. R; Nguyen, D. T; Searles, P. S. 2002. Nitrogen assimilation and growth of wheat under elevated carbon dioxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99(3):1730-1735.
- Borie, F; Fuentealba, R. 1982. Bioquímica de suelos derivados de cenizas volcánicas. II. Actividad ureásica. *Agricultura Técnica (Chile)*:135-142.
- Boucher, O; Friedlingstein, P; Collins, B; Shine, K. 2009. The indirect global warming potential and global temperature change potential due to methane oxidation. *Environmental Research Letters* 4(4):1-5.
- Britto, D; Kronzucker, H. 2013. Ecological significance and complexity of N-source preference in plants. *Annals of Botany* 112(6):957-963.
- Bryant, R; Gregorini, P; Edwards, G. 2012. Effects of N fertilisation, leaf appearance and time of day on N fractionation and chemical composition of *Lolium perenne* cultivars in spring. *Animal Feed Science and Technology* 173(3-4):210-219.
- Bryla, D; Strik, B; Banados, M; Righetti, T. 2012. Response of highbush blueberry to nitrogen fertilizer during field establishment—II. plant nutrient requirements in relation to nitrogen fertilizer supply. *HortScience* 47(7):917-926.
- Butler, J; Garratt, M. P. D; Leather, S. R. 2012. Fertilisers and insect herbivores: a meta-analysis. *Annals of Applied Biology* 161(3):223-233.
- Caldwell, B. 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiología* 49:637-644.
- Cameron, K; Di, H; Moir, J. 2013. Nitrogen losses from the soil/plant system: a review. *Annals of Applied Biology* 162(2):145-173.
- Canfield, D; Glazer, A; Falkowski, P. 2010. The evolution and future of Earth's nitrogen cycle. *Science* 330(6001):192-196.
- Cartes, P; Jara, A; Demanet, R; M, M. 2009. Efecto de la temperatura y dosis de fertilización con urea sobre la actividad ureasa y cinética de mineralización de nitrógeno en Andisoles del Sur de Chile. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal* 9(1):69-82.
- CEDECO (Corporación Educativa para el Desarrollo Costarricense, Costa Rica). 2005. Agricultura orgánica y gases con efecto invernadero. Editorial CEDECO SC. San José, Costa Rica. 27 p.
- Chalk, P; Craswell, E; Polidoro, J; Chen, D. 2015. Fate and efficiency of ¹⁵N-labelled slow- and controlled-release fertilizers. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 102(2):167-178.

- Chinchay, L. 2015. Buenas prácticas agrícolas: uso de los fertilizantes nitrogenados en la minimización de la emisión de gases de efecto. *Revista Científica Ingetcno* 4(1):52-66.
- Confortin, A; Rocha, M; Quadros, F; Glienke, C; Rossi, G; Moraes, A. 2010. Structural and morphogenical characteristics of black oats and Italian ryegrass on pasture submitted to two grazing intensities. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39(11):2357-2365.
- Cosentino, S; Scordia, D; Sanzone, E; Testa, G; Copani, V. 2014. Response of giant reed (*Arundo donax* L.) to nitrogen fertilization and soil water availability in semi-arid Mediterranean environment. *European Journal of Agronomy* 60:22-32.
- Coto, A. 2018. Comunicación personal. Cámara Nacional de Productores de Leche (Proleche). Costa Rica.
- Coûteaux, M; Sarmiento, L; Bottner, P; Acevedo, D; Thiéry, J. 2002. Decomposition of standard plant material along an altitudinal transect (65–3968 m) in the tropical Andes. *Soil Biology and Biochemistry* 34(1):69-78.
- Craine, J; Dybzinski, R. 2013. Mechanisms of plant competition for nutrients, water and light. *Functional Ecology* 27(4):833-840.
- Crush, J; Lee, J; Cosgrove, G; Rossi, L; Chapman, D; Stevens, D. 2018a. Foliar macronutrient concentrations of eight perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars grown in four regions in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 61(2):285-300.
- Crush, J; Lee, J; Cosgrove, G; Rossi, L; Chapman, D; Stevens, D. 2018b. Foliar micronutrient concentrations of eight perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars grown in four regions in New Zealand. *New Zealand journal of agricultural research* 61(2):301-311.
- Dalal, R; Wang, W; Robertson, G; Parton, W. 2003. Nitrous oxide emission from Australian agricultural lands and mitigation options: a review. *Soil Research* 41(2):165-195.
- David, T. S; Pinto, C. A; Nadezhdina, N; Kurz-Besson, C; Henriques, M. O; Quilhó, T; Cermak, J; Chaves, M. M; Pereira, J. S; David, J. S. 2013. Root functioning, tree water use and hydraulic redistribution in *Quercus suber* trees: A modeling approach based on root sap flow. *Forest Ecology and Management* 307:136-146.
- Dawar, K; Zaman, M; Rowarth, J; Blennerhassett, J; Turnbull, M. 2010. The impact of urease inhibitor on the bioavailability of nitrogen in urea and in comparison with other nitrogen sources in ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Crop and Pasture Science* 61(3):214-221.

- Dawar, K; Zaman, M; Rowarth, J; Turnbull, M. 2012. Applying urea with urease inhibitor (N-(n-butyl) thiophosphoric triamide) in fine particle application improves nitrogen uptake in ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Soil Science and Plant Nutrition* 58(3):309-318.
- Delgado, J; Mosier, A. 1995. Mitigation alternatives to decrease nitrous oxides emissions and urea-nitrogen loss and their effect on methane flux. *Journal of Environmental Quality* 25(5):1105-1111.
- Di, H; Cameron, K; Shen, J; Winefield, C; O'callaghan, M; Bowatte, S; He, J. 2009. Nitrification driven by bacteria and not archaea in nitrogen-rich grassland soils. *Nature Geoscience* 2(9):621-624.
- Dickson, L; Muñoz, G. 2005. Manual de producción de caprinos y ovinos. INIA. Barquisimeto, Venezuela. 310 p.
- Duncan, R. 2012. Crops as enhancers of nutrient use. Florida, Estados Unidos, Academic Press. 588 p.
- Ehret, M; Graß, R; Wachendorf, M. 2015. The effect of shade and shade material on white clover/perennial ryegrass mixtures for temperate agroforestry systems. *Agroforestry Systems* 89(3):557-570.
- Espinoza, J; Molina, E. 1999. Acidez y encalado de los suelos. Primera edición. Editorial International Plant Nutrition Institute. San José, Costa Rica. 42 p.
- Fan, J; Wang, K; Harris, W; Zhong, H; Hu, Z; Han, B; Zhang, W; Wang, J. 2009. Allocation of vegetation biomass across a climate-related gradient in the grasslands of Inner Mongolia. *Journal of Arid Environments* 73(4-5):521-528.
- Flanagan, L; Sharp, E; Letts, M. 2013. Response of plant biomass and soil respiration to experimental warming and precipitation manipulation in a Northern Great Plains grassland. *Agricultural and Forest Meteorology* 173:40-52.
- Foito, A; Byrne, S; Hackett, C; Hancock, R; Stewart, D; Barth, S. 2013. Short-term response in leaf metabolism of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) to alterations in nitrogen supply. *Metabolomics* 9(1):145-156.
- Fowler, D; Coyle, M; Skiba, U; Sutton, M. A; Cape, J. N; Reis, S; Sheppard, L. J; Jenkins, A; Grizzetti, B; Galloway, J. N; Vitousek, P; Leach, A; Bouwman, A. F; Butter-Bahl, K; Dentener, F; Stevenson, D; Amann, M; Voss, M. 2013. The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 368(1621):1-13.
- Fowler, D; Pilegaard, K; Sutton, M. A; Ambus, P; Raivonen, M; Duyzer, J; Simpson, D; Fagerli, H; Fuzzi, S; Schjoerring, J.K; Granier, C; Neftel, A; Isaksen, I.S.A; Laj, P;

- Maione, M; Monks, P.S; Burkhardt, J; Daemmgen, U; Neiryneck, J; Personne, E; Wichink-Kruit, R; Butterbatch-Bahl, K; Flechard, C; Tuovinen, J.P; Coyle, M; Gerosa, G; Loubet, B; Altimir, N; Gruenhage, L; Ammann, C; Cieslik, S; Paoletti, E; Mikkelsen, T.N; Ro-Poulsen, H; Cellier, P; Cape, J.N; Horváth, L; Loreto, F; Niinemets, Ü; Palmer, P.I; Rinne, J; Misztal, P; Nemitz, E; Nilsson, D; Pryor, S; Gallagher, M.W; Vesala, T; Skiba, U; Brüggemann, N; Zechmeister-Boltenstern, S; Williams, J; O'Dowd, C; Facchini, M.C; de Leeuw, G; Flossman, A; Chaumerliac, N; Erisman, J.W. 2009. Atmospheric composition change: ecosystems–atmosphere interactions. *Atmospheric Environment* 43(33):5193-5267.
- Fulkerson, W., Donaghy, D. 2001. Plant-soluble carbohydrate reserves and senescence-key criteria for developing an effective grazing management system for ryegrass-based pastures: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 41(2):261-275.
- Gan, S; Lau, E; Ng, H. 2009. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Journal of Hazardous Materials* 172(2-3):532-549.
- Garbulsky, M; Peñuelas, J; Papale, D; Ardö, J; Goulden, M; Kiely, G; Richardson, A; Rotenberg, E; Veenendaal, E; Filella, I. 2010. Patterns and controls of the variability of radiation use efficiency and primary productivity across terrestrial ecosystems. *Global Ecology and Biogeography* 19(2):253-267.
- Gemeda, B; Hassen, A. 2014. In vitro fermentation, digestibility and methane production of tropical perennial grass species. *Crop and Pasture Science* 65(5):479-488.
- Gherardi, L; Sala, O. 2015. Enhanced precipitation variability decreases grass-and increases shrub-productivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112(41):12735-12740.
- Gibbs, R. 1986. Changes in soil structure under different cropping systems. Tesis de doctorado para optar por el título de doctor en filosofía. Universidad de Canterbury. Christchurch, Nueva Zelanda. 267 p.
- Giehl, R; von Wirén, N. 2014. Root nutrient foraging. *Plant Physiology* 166(2):509-517.
- Gioseffi, E; Neergaard, A; Schjørring, J. 2012. Interactions between uptake of amino acids and inorganic nitrogen in wheat plants. *Biogeosciences* 9(4):1509-1518.
- Glass, K; Van Santen, E. 2010. Performance of ryegrass varieties in Alabama 2009-2010. Auburn Alabama, Estados Unidos. Auburn University. 16 p. Serie 308.
- Glienke, C; Rocha, M; Camargo, D; Pötter, L; Confortin, A; Costa, V. 2010a. Grazing ecology of female lambs on Italian ryegrass plus red clover pasture under different defoliation intensities. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39(1):51-60.

- Glienke, C; Rocha, M; Roso, D; Pötter, L; Costa, V; Machado, J. 2010b. Ingestive behavior and displacement patterns of beef heifers on Italian ryegrass pasture. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39(2):247-254.
- Gojon, A; Nacry, P; Davidian, J. C. 2009. Root uptake regulation: a central process for NPS homeostasis in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 12(3):328–338.
- González, M. 2018. Comunicación personal. Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica (CIA, UCR). Costa Rica.
- Good, A; Beatty, P. 2011. Fertilizing nature: a tragedy of excess in the commons. *PLoS Biology* 9(8):1-10.
- Griffiths, W; Matthew, C; Lee, J; Chapman, D. 2017. Is there a tiller morphology ideotype for yield differences in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.)?. *Grass and Forage Science* 72(4):700-713.
- Gubry-Rangin, C; Nicol, G. W; Prosser, J. I. 2010. Archaea rather than bacteria control nitrification in two agricultural acidic soils. *FEMS microbiology ecology* 74(3):566-574.
- Guertal, E. 2009. Slow-release nitrogen fertilizers in vegetable production: a review. *HortTechnology* 19(1):16-19.
- Gutiérrez, F; Alcoser, R; Macías, G; Portilla, A; Espinosa, J. 2017. Omisión de nutrientes y dosis de nitrógeno en la acumulación de biomasa, composición bromatológica y eficiencia de uso de nitrógeno de raigrás diploide perenne (*Lolium perenne*). *Siembra* 4(1):81-92.
- Hachiya, T; Watanabe, C. K; Fujimoto, M; Ishikawa, T; Takahara, K; Kawai-Yamada, M; Uchimiya, H; Uesono, Y; Terashima, I; Noguchi, K. 2012. Nitrate addition alleviates ammonium toxicity without lessening ammonium accumulation, organic acid depletion and inorganic cation depletion in *Arabidopsis thaliana* shoots. *Plant and Cell Physiology* 53(3):577-591.
- Hansen, G. 1980. Diurnal variation of root respiration rates and nitrate uptake as influenced by nitrogen supply. *Physiologia Plantarum* 48(3):421-427.
- Hauschild, M; Wenzel, H. 1998. Environmental assessment of products volume 2: scientific background. Editorial Chapman & Hall. London, Gran Bretaña. 575 p.
- Hayes, D. 2010. Cancer protection related to solar ultraviolet radiation, altitude and vitamin D. *Medical hypotheses* 75(4):378-382.
- Haynes, R. 2012. Mineral nitrogen in the plant-soil system. Florida, Estados Unidos, Academic Press. 495 p.

- Heidari, B; Matre, P; Nemie-Feyissa, D; Meyer, C; Rognli, O. A; Møller, S. G; Lillo, C. 2011. Protein phosphatase 2A B55 and A regulatory subunits interact with nitrate reductase and are essential for nitrate reductase activation. *Plant Physiology* 156(1):165-172.
- Henríquez, C; Uribe, L; Valenciano, A; Nogales, R. 2014. Actividad enzimática del suelo-deshidrogenasa, β .glucosidasa, fosfatasa y ureasa-bajo diferentes cultivos. *Agronomía Costarricense* 38(1):43-54.
- Hinojosa, Y; Yépez, N; Rodal, C; Ríos, O. 2014. Producción y características agronómicas de cuatro variedades de pasto de corte del género *Pennisetum*, en Trinidad, Bolivia. *Revista Científica Agrociencias Amazonía*. (3):28-35.
- Holub, P; Tůma, I; Fiala, K. 2012. The effect of nitrogen addition on biomass production and competition in three expansive tall grasses. *Environmental Pollution* 170:211-216.
- Hood-Nowotny, R; Umana, N. H. N; Inselbacher, E; Oswald-Lachouani, P; Wanek, W. 2010. Alternative methods for measuring inorganic, organic, and total dissolved nitrogen in soil. *Soil Science Society of America Journal* 74(3):1018-1027.
- Hoopen, F; Cuin, T; Pedas, P; Hegelund, J; Shabala, S; Schjoerring, J; Jahn, T. 2010. Competition between uptake of ammonium and potassium in barley and *Arabidopsis* roots: molecular mechanisms and physiological consequences. *Journal of Experimental Botany* 61(9):2303-2315.
- Howsam, M; Jones, K. 1998. Sources of PAHs in the environment. In *PAHs and related compounds*. Berlin, Alemania. Springer. 388 p.
- Humphreys, M; Feuerstein, U; Vandewalle, M; Baert, J. 2010. Ryegrasses. In *Fodder crops and amenity grasses*. Nueva York, Estados Unidos, Springer. 524 p.
- INDER (Instituto de Desarrollo Rural, Costa Rica). 2016. Región Central Caracterización del territorio Cartago-Oreamuno-El Guarco-La Unión. San José, Costa Rica. 38 p.
- IPCC (Panel Intergubernamental sobre el Cambio Climático por sus siglas en inglés "Intergovernmental Panel on Climate Change"). 2006. Inventarios Nacionales de Gases de Efecto Invernadero, Volumen 4, Agricultura, Silvicultura y otros usos del suelo.
- Jacob, M; Weland, N; Platner, C; Schaefer, M; Leuschner, C; Thomas, F. M. 2009. Nutrient release from decomposing leaf litter of temperate deciduous forest trees along a gradient of increasing tree species diversity. *Soil Biology and Biochemistry* 41(10):2122-2130.
- Jämtgård, S; Näsholm, T; Huss-Danell, K. 2010. Nitrogen compounds in soil solutions of agricultural land. *Soil Biology and Biochemistry* 42(12):2325-2330.

- Jiang, Y; Liu, H; Cline, V. 2009. Correlations of leaf relative water content, canopy temperature, and spectral reflectance in perennial ryegrass under water deficit conditions. *HortScience* 44(2):459-462.
- Johnson, C; Reiling, B; Mislevy, P; Hall, M. 2001. Effects of nitrogen fertilization and harvest date on yield, digestibility, fiber, and protein fractions of tropical grasses. *Journal of Animal Science* 79(9):2439-2448.
- Jones J. 2012. *Plant nutrition and soil fertility manual*. Florida, Estados Unidos, CRC Press. 304 p.
- Jones, C; Brown, B; Engel, R; Horneck, D; Olson-Rutz, K. 2013. Nitrogen fertilizer volatilization. *Boletín Montana State University Extension EBO208*:1-5.
- Jones, M. 2013. *The grass crop: the physiological basis of production*. Nueva York, Estados Unidos, Springer Science & Business Media. 388 p.
- Jouany, C; Cruz, P; Daufresne, T; Duru, M. 2011. Biological phosphorus cycling in grasslands: interactions with nitrogen. *In Phosphorus in Action*. Berlin, Alemania, Springer. 275-294 p.
- Kanamori, T; Kanou, N; Kusakabe, S; Atomi, H; Imanaka, T. 2005. Allophanate hydrolase of *Oleomonas sagaranensis* involved in an ATP-dependent degradation pathway specific to urea. *FEMS Microbiology Letters* 245(1):61-65.
- Kaur, R; García, S; Fulkerson, W; Barchia, I. 2011. Degradation kinetics of leaves, petioles and stems of forage rape (*Brassica napus*) as affected by maturity. *Animal Feed Science and Technology* 168(3-4):165-178.
- Kebrom, T; Spielmeier, W; Finnegan, E. 2013. Grasses provide new insights into regulation of shoot branching. *Trends in Plant Science* 18(1):41-48.
- Khan, Z; Guelich, G; Phan, H; Redman, R; Doty, S. 2012. Bacterial and yeast endophytes from poplar and willow promote growth in crop plants and grasses. *ISRN Agronomy* 2012:1-11.
- Kiniry, J; Johnson, M; Bruckerhoff, S; Kaiser, J; Cordsiemon, R; Harmel, R. 2012. Clash of the titans: comparing productivity via radiation use efficiency for two grass giants of the biofuel field. *BioEnergy Research* 5(1):41-48.
- Kirkby, E. 2012. Introduction, definition and classification of nutrients. *In Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Adelaide, Australia, Academic Press. 3-5 p.
- Knoll, L; McIntyre, P; Vanni, M; Flecker, A. 2009. Feedbacks of consumer nutrient recycling on producer biomass and stoichiometry: separating direct and indirect effects. *Oikos* 118(11):1732-1742.

- Kong, W; Li, Q; Li, X; Su, Y; Yue, Q; Gao, B. 2019. A biodegradable biomass-based polymeric composite for slow release and water retention. *Journal of Environmental Management* 230:190-198.
- Kraiser, T; Gras, D. E; Gutiérrez, A. G; González, B; Gutiérrez, R. A. 2011. A holistic view of nitrogen acquisition in plants. *Journal of experimental botany* 62(4):1455-1466.
- Labatut, R; Angenent, L; Scott, N. 2011. Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. *Bioresource Technology* 102(3):2255-2264.
- Lanquar, V; Loqué, D; Hörmann, F; Yuan, L; Böhner, A; Engelsberger, W. R; Lalonde, S; Schulze, W.X; von Wirén, N; Frommer, W. B. 2009. Feedback inhibition of ammonium uptake by a phospho-dependent allosteric mechanism in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 21(11):3610-3622.
- Lee, J; Donaghy, D; Sathish, P; Roche, J. 2009. Interaction between water-soluble carbohydrate reserves and defoliation severity on the regrowth of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.)-dominant swards. *Grass and Forage Science* 64(3):266-275.
- Lee, J; Donaghy, D; Sathish, P; Roche, J. 2010. Perennial ryegrass regrowth after defoliation-physiological and molecular changes. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 72:127-134.
- Li, G; Dong, G; Li, B; Li, Q; Kronzucker, H. J; Shi, W. 2012. Isolation and characterization of a novel ammonium overly sensitive mutant, *amos2*, in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 235(2):239-252.
- Li, J; Yu, X; Wu, S; Wang, X; Wang, S; Tam, N; Wong, M 2011. Responses of bioaugmented ryegrass to PAH soil contamination. *International Journal of Phytoremediation* 13(5):441-455.
- Li, Y; Zhang, R; Liu, G; Chen, C; He, Y; Liu, X. 2013. Comparison of methane production potential, biodegradability, and kinetics of different organic substrates. *Bioresource Technology* 149:565-569.
- Liang, R; Liu, M. 2006. Preparation and properties of a double coated slow release and water retention urea fertilizer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:1392-1398.
- Liu, L; Yang, Z; Yang, W; Jiang, S; Zhang, G; Yao, B. 2009. Correlations among shearing force, morphological characteristics, chemical compositions, and in situ degradability of alfalfa stem and rye grass stem. *Scientia Agricultura Sinica* 42(9):3374-3380.
- Liu, M; Jiang, Y. 2015. Genotypic variation in growth and metabolic responses of perennial ryegrass exposed to short-term waterlogging and submergence stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 95:57-64.

- Loaiza, P; Balocchi, O; Bertrand, A. 2017. Carbohydrate and crude protein fractions in perennial ryegrass as affected by defoliation frequency and nitrogen application rate. *Grass and Forage Science* 72(3):556-567.
- Ma, W; Liu, Z; Wang, Z; Wang, W; Liang, C; Tang, Y; He, J; Fang, J. 2010. Climate change alters interannual variation of grassland aboveground productivity: evidence from a 22-year measurement series in the Inner Mongolian grassland. *Journal of Plant Research* 123(4):509-517.
- Ma, X; Zhang, J; Huang, B. 2016. Cytokinin-mitigation of salt-induced leaf senescence in perennial ryegrass involving the activation of antioxidant systems and ionic balance. *Environmental and Experimental Botany* 125:1-11.
- Maillard, A; Diquélou, S; Billard, V; Laîné, P; Garnica, M; Prudent, M; García-Mina, J. M; Yvin, J. C; Ourry, A. 2015. Leaf mineral nutrient remobilization during leaf senescence and modulation by nutrient deficiency. *Frontiers in Plant Science* 6:1-15.
- Mallory, J; Mohtar, R; Heathman, G; Schulze, D; Braudeau, E. 2011. Evaluating the effect of tillage on soil structural properties using the pedostructure concept. *Geoderma* 163(3-4):141-149.
- Manevski, K; Lærke, P; Jiao, X; Santhome, S; Jørgensen, U. 2017. Biomass productivity and radiation utilisation of innovative cropping systems for biorefinery. *Agricultural and Forest Meteorology* 233:250-264.
- Marschner, P; Rengel, Z. 2012. Nutrient availability in soils. *In* Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. Adelaide, Australia, Academic Press. 315-330 p.
- Martínez, D; Blandon, O. 2018. Pasto de corte king grass morado (*Pennisetum Purpureum* x *Pennisetum Typhoides*), una esperanza forrajera en la colonia agrícola de Acacias. *Documentos de Trabajo ECAPMA* 2(1):1-10.
- Meale, S; Chaves, A; Baah, J; McAllister, T. 2012. Methane production of different forages in in vitro ruminal fermentation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 25(1):86-91.
- Mildenberger, K; Beiderwieden, E; Hsia, Y; Klemm, O. 2009. CO₂ and water vapor fluxes above a subtropical mountain cloud forest—The effect of light conditions and fog. *Agricultural and Forest Meteorology* 149(10):1730-1736.
- Mitchell, K. 1953. Influence of light and temperature on the growth of ryegrass (*Lolium* spp.) I. Pattern of vegetative development. *Physiologia Plantarum* 6(1):21-46.
- Morison, J; Lawlor, D. 1999. Interactions between increasing CO₂ concentration and temperature on plant growth. *Plant, Cell & Environment* 22(6):659-682.

- Morvan-Bertrand, A; Pavis, N; Boucaud, J; Prud'Homme, M. 1999. Partitioning of reserve and newly assimilated carbon in roots and leaf tissues of *Lolium perenne* during regrowth after defoliation: assessment by ¹³C steady-state labelling and carbohydrate analysis. *Plant, Cell & Environment* 22(9):1097-1108.
- MTSS (Ministerio de Trabajo y Seguridad Social de Costa Rica). Departamento de Salarios. Lista de ocupaciones clasificada por el personal técnico del Departamento. Salarios Mínimos sector privado. 2 p.
- Muetzel, S; Hunt, C; Tavendale, M. 2014. A fully automated incubation system for the measurement of gas production and gas composition. *Animal Feed Science and Technology* 196:1-11.
- Müller, D. W; Codron, D; Meloro, C; Munn, A; Schwarm, A; Hummel, J; Clauss, M. 2013. Assessing the Jarman–Bell principle: scaling of intake, digestibility, retention time and gut fill with body mass in mammalian herbivores. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 164(1):129-140.
- Nanzyo, M. 2002. Unique properties of volcanic ash soils. *Global Environmental Research-English Edition* 6(2):99-112.
- Näsholm, T; Kielland, K; Ganeteg, U. 2009. Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytologist* 182(1):31-48.
- Nelson, K; Paniagua, S; Motavalli, P. 2009. Effect of polymer coated urea, Irrigation, and drainage on nitrogen utilization and yield of corn in a claypan soil. *Agronomy Journal* 101(3):681-687.
- Neto, A; Savian, J; Schons, R; Bonnet, O; do Canto, M; de Moraes, A; Lemaire, G; de Faccio Carvalho, P. 2014. Italian ryegrass establishment by self-seeding in integrated crop–livestock systems: Effects of grazing management and crop rotation strategies. *European Journal of Agronomy* 57:77-83.
- Njidda, A; Nasiru, A. 2010. In vitro gas production and dry matter digestibility of tannin-containing forages of semi-arid region of north-eastern Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition* 9(1):60-66.
- Noodén, L. 2012. Senescence and aging in plants. California, Estados Unidos, Academic Press. 564 p.
- Núñez, P; Jara, A; Sandoval, Y; Demanet, R; Mora, M. 2012. Biomasa microbiana y actividad ureasa del suelo en una pradera permanente pastoreada de Chile. *Ciencia del suelo* 30(2):187-199.

- Paciullo, D; Castro, C; Gomide, C; Fernandes, P; Rocha, W; Müller, M; Rossiello, R. 2010. Soil bulk density and biomass partitioning of *Brachiaria decumbens* in a silvopastoral system. *Scientia Agricola* 67(5):598-603.
- Pan, B; Lam, S; Mosier, A; Luo, Y; Chen, D. 2016. Ammonia volatilization from synthetic fertilizers and its mitigation strategies: a global synthesis. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 232:283-289.
- Passioura, J. 1983. Roots and drought resistance. *Agricultural Water Management* 7:265-280.
- Paungfoo-Lonhienne, C; Visser, J; Lonhienne, T. G; Schmidt, S. 2012. Past, present and future of organic nutrients. *Plant and Soil* 359(1-2):1-18.
- Pérez, E. 2009. Fotosíntesis: Aspectos básicos. *Reduca (Biología) Serie Fisiología Vegetal* 2(3):1-47.
- Peyraud, J; Astigarraga, L; Favardin, P. 1997. Digestion of fresh perennial ryegrass fertilized at two levels of nitrogen by lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 64(2-4):155-171.
- Prine, G; Blount, A; Dunavin, L; Mislevy, P; Stanley, R. 2002. Registration of Jumbo annual ryegrass. *Crop Science* 42(5):1749-1750.
- Qados, A. 2011. Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 10(1):7-15.
- Rêgo, M; Neiva, J; Rêgo, A; Cândido, M; Alves, A; Lôbo, R. 2010. Intake, nutrients digestibility and nitrogen balance of elephant grass silages with mango by-product addition. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39(1):74-80.
- Reid, J; Gray, R; Springett, J; Crush, J. 2015. Root turnover in pasture species: chicory, lucerne, perennial ryegrass and white clover. *Annals of Applied Biology* 167(3):327-342.
- Ren, A; Gao, Y; Wang, W; Wang, J; Zhao, N. 2009. Influence of nitrogen fertilizer and endophyte infection on ecophysiological parameters and mineral element content of perennial ryegrass. *Journal of Integrative Plant Biology* 51(1):75-83.
- Retana, J. 2006. Climatología de la región del distrito de San Juan de Chicua y el Volcán Irazú. Informe anual del Instituto Meteorológico Nacional. 3 p.
- Richardson, A; Barea, J; McNeill, A; Prigent-Combaret, C. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil* 321(1-2):305-339.

- Robertson, R. 1951. Mechanism of absorption and transport of inorganic nutrients in plants. *Annual Review of Plant Physiology* 2(1):1-24.
- Roche, J; Love, J; Guo, Q; Song, J; Cao, M; Fraser, K; Huege, J; Jones, C; Novák, O; Turnbull, M; Jameson, P. 2016. Metabolic changes and associated cytokinin signals in response to nitrate assimilation in roots and shoots of *Lolium perenne*. *Physiologia Plantarum* 156(4):497-511.
- Rogato, A; D'Apuzzo, E; Chiurazzi, M. 2010. The multiple plant response to high ammonium conditions: the *Lotus japonicus* AMT1; 3 protein acts as a putative transceptor. *Plant Signaling & Behavior* 5(12):1594-1596.
- Römheld, V. 2012. Diagnosis of deficiency and toxicity of nutrients. *In* Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. Adelaide, Australia, Academic Press. 299-312 p.
- Rosswall, T. 1976. The internal nitrogen cycle between microorganisms, vegetation and soil. Nitrogen, phosphorus, and sulfur: global cycles. SCOPE Report 7. *Ecological Bulletins* 22:157-167.
- Sartain, J. 2002. Food for turf: Slow-release nitrogen. *Grounds Maintenance* 37(4): 14-20.
- Schjoerring, J. K; Husted, S; Mäck, G; Mattsson, M. 2002. The regulation of ammonium translocation in plants. *Journal of Experimental Botany* 53(370):883-890.
- Sebilo, M; Mayer, B; Nicolardot, B; Pinay, G; Mariotti, A. 2013. Long-term fate of nitrate fertilizer in agricultural soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110(45):18185-18189.
- Shaviv, A. 1996. Plant response and environmental aspects as affected by rate and pattern of nitrogen release from controlled release N fertilizers. Octava edición. Editorial Springer. Netherlands. 285-291 p.
- Shen, W; Lin, X; Shi, W; Min, J; Gao, N; Zhang, H; Yin, R; He, X. 2010. Higher rates of nitrogen fertilization decrease soil enzyme activities, microbial functional diversity and nitrification capacity in a Chinese polytunnel greenhouse vegetable land. *Plant and Soil* 337(1-2):137-150.
- Sika, M; Hardie, A. 2014. Effect of pine wood biochar on ammonium nitrate leaching and availability in a South African sandy soil. *European Journal of Soil Science* 65(1):113-119.
- Simić, A; Vučković, S; Sokolović, D; Stanisavljević, R; Mandić, V; Duronić, G. 2012. Response of Italian ryegrass seed crop to spring nitrogen application in the first harvest year. *African Journal of Biotechnology* 11(26):6826-6831.

- Smit, A; Bengough, A; Engels, C; van Noordwijk, M; Pellerin, S; van de Geijn, S. 2013. Root methods: a handbook. Berlín, Alemania, Springer Science & Business Media. 594 p.
- Stein, W. 2012. Transport and diffusion across cell membranes. 1^{era} ed. Florida, Estados Unidos, Academic Press. 673 p.
- Stewart, W. 2007. Consideraciones en el uso eficiente de nutrientes. *Informaciones Agronómicas* (67):1-6.
- Stiegler, C; Richardson, M; Karcher, D. 2011. Foliar nitrogen uptake following urea application to putting green turfgrass species. *Crop Science* 51:1253-1260.
- Sugano, K; Kansy, M; Artursson, P; Avdeef, A; Bendels, S; Di, L; Ecker, G; Faller, B; Fischer, H; Gerebtzoff, G; Lennernaes, H; Senner, F. 2010. Coexistence of passive and carrier-mediated processes in drug transport. *Nature Reviews Drug Discovery* 9(8):597-614.
- Suter, H; Sultana, H; Turner, D; Davies, R; Walker, C; Chen, D. 2013. Influence of urea fertiliser formulation, urease inhibitor and season on ammonia loss from ryegrass. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 95(2):175-185.
- Synder, C; Bruulsema, T; Jensen, T. 2007. Mejores prácticas de manejo para minimizar emisiones de gases de efecto invernadero asociadas al uso de fertilizantes. *Better Crops with Plant Food* 91(4):16-18.
- Taylor, J; Wilson, B; Mills, M; Burns, R. 2002. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. *Soil Biology and Biochemistry* 34:387-401.
- Tisdale, S; Werner, N; Beaton, J; Havlin, J. 1993. Soil fertility and fertilizers. 5^{ta} Edición. Editorial Macmillan. Ohio, Estados Unidos de América. 648 p.
- Turner, L; Holloway-Phillips, M; Rawnsley, R; Donaghy, D; Pembleton, K. 2012. The morphological and physiological responses of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) and tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.; syn. *Schedonorus phoenix* Scop.) to variable water availability. *Grass and Forage Science* 67(4):507-518.
- Uchida, R. 2000. Essential nutrients for plant growth: nutrient functions and deficiency symptoms. *In* Plant nutrient management in Hawaii's soils. Hawaii, Estados Unidos, College of Tropical Agriculture & Human Resources. 31-55 p.
- Van-Soest, P; Robertson, J. 1985. Analysis of forages and fibrous foods: a laboratory manual for animal science. Cornell University, Ithaca, NY, USA.

- Van-Soest, P; Robertson, J; Lewis, B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.
- Veen, B. 1981. Relation between root respiration and root activity. *Structure and Function of Plant Roots* 63(1):73-76.
- Villalobos, L. 2012. Fenología, producción y valor nutritivo del pasto alpiste (*Phalaris arundinacea*) en la zona alta lechera de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 36(1):25-37.
- Villalobos, L; Arce, J. 2013. Evaluación agronómica y nutricional del pasto estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*) en la zona de Monteverde, Puntarenas, Costa Rica. I. Disponibilidad de biomasa y fenología. *Agronomía Costarricense* 37(1):91-101.
- Villalobos, L; Arce, J. 2016. Efecto del picado sobre las características nutricionales y fermentativas de ensilajes de pastos Kikuyo, Ryegrass perenne y Alpiste forrajero. *Agronomía Costarricense* 40(1):65-74.
- Villalobos, L; Arce, J; WingChing, R. 2013. Producción de biomasa y costos de producción de pastos Estrella Africana (*Cynodon nlemfuensis*), kikuyo (*Kikuyuocloa clandestina*) y Ryegrass Perenne (*Lolium perenne*) en lecherías de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 37(2):91-103.
- Villalobos, L; Sánchez, J. 2010. Evaluación agronómica y nutricional del pasto Ryegrass Perenne Tetraploide (*Lolium perenne*) producido en lecherías de las zonas altas de Costa Rica. I. Producción de biomasa y fenología. *Agronomía Costarricense* 34(1):43-52.
- Wang, Y; Hsu, P; Tsay, Y. 2012. Uptake, allocation and signaling of nitrate. *Trends in Plant Science* 17(8):458-467.
- Warren, C. 2009. Does nitrogen concentration affect relative uptake rates of nitrate, ammonium, and glycine?. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 172(2):224-229.
- Watson, E; Andrews, H; Fischer, A; Cencer, M; Coiro, L; Kelley, S; Wigand, C. 2015. Growth and photosynthesis responses of two co-occurring marsh grasses to inundation and varied nutrients. *Botany* 93(10):671-683.
- Weigel, H; Manderscheid, R. 2012. Crop growth responses to free air CO₂ enrichment and nitrogen fertilization: Rotating barley, ryegrass, sugar beet and wheat. *European Journal of Agronomy* 43:97-107.
- White, P. 2012. Long-distance transport in the xylem and phloem. *In* Marschner's mineral nutrition of higher plants. Adelaide, Australia, Academic Press. 49–70 p.

- Whitley, R; Macinnis-NG, C; Hutley, L; Beringer, J; Zeppel, M; Williams, M; Taylor, D; Eamus, D. 2011. Is productivity of mesic savannas light limited or water limited? Results of a simulation study. *Global Change Biology* 17(10):3130-3149.
- Wims, C; Mcevoy, M; Delaby, L; Boland, T; O'Donovan, M. 2013. Effect of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars on the milk yield of grazing dairy cows. *Animal* 7(3):410-421.
- Witte, C. 2011. Urea metabolism in plants. *Plant Science* 180(3):431-438.
- Wu, Z; Dijkstra, P; Koch, G; Peñuelas, J; Hungate, B. 2011. Responses of terrestrial ecosystems to temperature and precipitation change: a meta-analysis of experimental manipulation. *Global Change Biology* 17(2):927-942.
- Xu, G; Fan, X; Miller, A. J. 2012. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual Review of Plant Biology* 63:153-182.
- Xu, G; Li, Y. 2009. Rooting depth and leaf hydraulic conductance in the xeric tree *Haloxylon ammodendron* growing at sites of contrasting soil texture. *Functional Plant Biology* 35(12):1234-1242.
- Xu, X; Sherry, R; Niu, S; Li, D; Luo, Y. 2013. Net primary productivity and rain-use efficiency as affected by warming, altered precipitation, and clipping in a mixed-grass prairie. *Global Change Biology* 19(9):2753-2764.
- Xu, Y; Tian, J; Gianfagna, T; Huang, B. 2009. Effects of SAG12-ipt expression on cytokinin production, growth and senescence of creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera* L.) under heat stress. *Plant Growth Regulation* 57(3):281-291.
- Yadav, A; Chandel, S. 2014. Solar radiation prediction using Artificial Neural Network techniques: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 33:772-781.
- Yang, Y; Fang, J; Pan, Y; Ji, C. 2009. Aboveground biomass in Tibetan grasslands. *Journal of Arid Environments* 73(1):91-95.
- Yin, H; Wheeler, E; Phillips, R. P. 2014. Root-induced changes in nutrient cycling in forests depend on exudation rates. *Soil Biology and Biochemistry* 78:213-221.
- Young, H; McCauley, D; Dunbar, R.; Dirzo, R. 2010. Plants cause ecosystem nutrient depletion via the interruption of bird-derived spatial subsidies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(5):2072-2077.
- Zalewska, M. 2012. Response of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) to soil contamination with zinc. *Journal of Elementology* 17(2):329-343.

- Zaman, M; Nguyen, M; Blennerhassett, J. 2008. Reducing NH_3 , N_2O and NO_3^- -N losses from a pasture soil with urease or nitrification inhibitors and elemental S-amended nitrogenous fertilizers. *Biol Fertil Soils* 44:693-705.
- Zettl, J; Lee Barbour, S; Huang, M; Si, B; Leskiw, L. A. 2011. Influence of textural layering on field capacity of coarse soils. *Canadian Journal of Soil Science* 91(2):133-147.
- Zhang, J; Shi, Y; Zhang, X; Du, H; Xu, B; Huang, B. 2017. Melatonin suppression of heat-induced leaf senescence involves changes in abscisic acid and cytokinin biosynthesis and signaling pathways in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Environmental and Experimental Botany* 138:36-45.
- Zörb, C; Senbayram, M; Peiter, E. 2014. Potassium in agriculture—status and perspectives. *Journal of Plant Physiology* 171(9):656-669.
- Zou, J; Huang, Y; Jiang, J; Zheng, X; Sass, R. 2005. A 3 year field measurement of methane and nitrous oxide emissions from rice paddies in China: Effects of water regime, crop residue, and fertilizer application. *Global Biogeochemical Cycles* 19(2):1-9.
- Zuo, Y; Zhang, F. 2011. Soil and crop management strategies to prevent iron deficiency in crops. *Plant and Soil* 339(1-2):83-95.
- Zvomuya, F; Rosen, C; Russelle, M; Gupta, S. 2003. Nitrate leaching and nitrogen recovery following application of polyolefin-coated urea to potato. *Journal of Environmental Quality* 32(2):480-489.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza del número de rebrotes por metro cuadrado a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	gl	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Pr(>F)
Tratamiento	2	136.553	68.277	1,587	0,21507
Finca	1	62	62	0,001	0,96994
Muestreo	3	2.126.605	708.868	16,477	1,7 ⁻⁰⁷
Tratamiento:Finca	2	9.578	4.789	0,111	0,89488
Tratamiento:Muestreo	6	943.117	157.186	3,654	0,00456
Finca:Muestreo	3	114.643	38.214	0,888	0,45397
Tratamiento:Finca:Muestreo	6	318.186	53.031	1,233	0,30647
Residuales	48	2.065.021	43.021		

gl = grados de libertad.

Anexo 2. Tukey del número de rebrotes por metro cuadrado por muestreo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Muestreo	p ajustado
diciembre-agosto	0,0161961
febrero-agosto	0,0000001
octubre-agosto	0,1712427
febrero-diciembre	0,0026003
octubre-diciembre	0,7398739
octubre-febrero	0,0001018

Anexo 3. Tukey del número de rebrotes por metro cuadrado por tratamiento y muestreo, a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Tratamiento y muestreo	p ajustado
U:agosto-N:agosto	0,6641931
US:agosto-N:agosto	0,9998966
N:diciembre-N:agosto	0,1881625
U:diciembre-N:agosto	0,7427339
US:diciembre-N:agosto	0,9998063
N:febrero-N:agosto	0,1063115
U:febrero-N:agosto	0,0855540
US:febrero-N:agosto	0,0059705
N:octubre-N:agosto	0,9828832
U:octubre-N:agosto	0,9968597
US:octubre-N:agosto	1,0000000
US:agosto-U:agosto	0,2400975
N:diciembre-U:agosto	0,0006315
U:diciembre-U:agosto	0,0118639
US:diciembre-U:agosto	0,9753225
N:febrero-U:agosto	0,0002645
U:febrero-U:agosto	0,0001938
US:febrero-U:agosto	0,0000068
N:octubre-U:agosto	0,0737098
U:octubre-U:agosto	0,1266408
US:octubre-U:agosto	0,6437256
N:diciembre-US:agosto	0,5813147
U:diciembre-US:agosto	0,9844579
US:diciembre-US:agosto	0,9494745
N:febrero-US:agosto	0,4081762
U:febrero-US:agosto	0,3524615
US:febrero-US:agosto	0,0426940
N:octubre-US:agosto	0,9999917
U:octubre-US:agosto	1,0000000
US:octubre-US:agosto	0,9999339
U:diciembre-N:diciembre	0,9982014

Anexo 3. (Cont.) Tukey del número de rebrotes por metro cuadrado por tratamiento y muestreo, a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Tratamiento y muestreo	p ajustado
US:diciembre-N:diciembre	0,0320663
N:febrero-N:diciembre	1,0000000
U:febrero-N:diciembre	0,9999999
US:febrero-N:diciembre	0,9707079
N:octubre-N:diciembre	0,8916150
U:octubre-N:diciembre	0,7791836
US:octubre-N:diciembre	0,2003002
US:diciembre-U:diciembre	0,2771579
N:febrero-U:diciembre	0,9859176
U:febrero-U:diciembre	0,9753225
US:febrero-U:diciembre	0,5083208
N:octubre-U:diciembre	0,9999171
U:octubre-U:diciembre	0,9986658
US:octubre-U:diciembre	0,7612399
N:febrero-US:diciembre	0,0154903
U:febrero-US:diciembre	0,0118639
US:febrero-US:diciembre	0,0005706
N:octubre-US:diciembre	0,7042508
U:octubre-US:diciembre	0,8368826
US:octubre-US:diciembre	0,9997134
U:febrero-N:febrero	1,0000000
US:febrero-N:febrero	0,9947772
N:octubre-N:febrero	0,7612399
U:octubre-N:febrero	0,6126509
US:octubre-N:febrero	0,1140961
US:febrero-U:febrero	0,9976081
N:octubre-U:febrero	0,7042508
U:octubre-U:febrero	0,5499227
US:octubre-U:febrero	0,0920573
N:octubre-US:febrero	0,1550432
U:octubre-US:febrero	0,0920573

Anexo 3. (Cont.) Tukey del número de rebrotes por metro cuadrado por tratamiento y muestreo, a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Tratamiento y muestreo	p ajustado
US:octubre-US:febrero	0,0065530
U:octubre-N:octubre	1,0000000
US:octubre-N:octubre	0,9859176
US:octubre-U:octubre	0,9976081

U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 4. Análisis de varianza de la producción de raíz (ton MS/ha) a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	gl	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Pr(>)
Tratamiento	2	968.603	484.301	3,926	0,04879
Finca	1	1.773.472	1.773.472	14,376	0,00257
Tratamiento:Finca	2	869.519	434.760	3,524	0,06250
Residuales	12	1.480.333	123.361		

gl = grados de libertad.

Anexo 5. Tukey de la producción de raíz (ton MS/ha) por tratamiento a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Tratamiento	p ajustado
U-N	0,0768620
US-N	0,9999162
US-U	0,0752522

U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 6. Modelo lineal generalizado de la relación porcentual del componente hoja a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	-0,42193	0,13026	-3,239	0,00223
Tratamiento N:U	0,16076	0,18298	0,879	0,38420
Tratamiento N:US	0,11021	0,18330	0,601	0,55062
Finca A:Finca B	0,53292	0,18235	2922,00	0,00537
Muestreo ago:dic	0,92185	0,18503	4982,00	9,34 ⁻⁰⁶
Muestreo ago:feb	1,39763	0,19334	7229,00	4,14 ⁻⁰⁹
Muestreo ago:oct	0,23317	0,18261	1277,00	0,20806
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	0,36631	0,26021	1408	0,16593
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	0,02305	0,25761	0,089	0,92908
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo dic	-0,06998	0,26162	-0,267	0,79028
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo dic	0,12566	0,26344	0,477	0,63563
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo feb	0,28736	0,28257	1017	0,31450
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo feb	-0,08820	0,27319	-0,323	0,74828
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo oct	-0,21810	0,25757	-0,847	0,40151
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo oct	-0,04181	0,27280	-0,153	0,87885
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo dic	-0,21608	0,26385	-0,819	0,41705
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo feb	-0,57015	0,27156	-2,100	0,04129
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo oct	0,09321	0,25818	0,361	0,71974

Anexo 6. (Cont.) Modelo lineal generalizado de la relación porcentual del componente hoja a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,41766	0,37572	-1,112	0,27207
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,31417	0,37412	-0,840	0,40539
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,91481	0,39167	-2,336	0,02392
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,15292	0,38671	0,395	0,69435
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,11335	0,36811	-0,308	0,75953
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo oct				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,50612	0,39456	1,283	0,20601
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo oct				

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 7. Modelo lineal generalizado de la relación porcentual del componente tallo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	0,081793	0,249201	0,328	0,74420
Tratamiento N:U	0,049476	0,352656	0,140	0,88903
Tratamiento N:US	-0,004243	0,352409	-0,012	0,99044
Finca A:Finca B	-1,192665	0,381150	-3,129	0,00301
Muestreo ago:dic	-0,651014	0,359525	-1,811	0,07657
Muestreo ago:feb	-1,206873	0,381938	-3,160	0,00276
Muestreo ago:oct	-0,260462	0,352980	-0,738	0,46425
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	-0,130228	0,542473	-0,240	0,81133

Anexo 7. (Cont.) Modelo lineal generalizado de la relación porcentual del componente tallo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	0,043261	0,537533	0,080	0,93620
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo dic	-0,133233	0,510262	-0,261	0,79515
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo dic	-0,228847	0,513683	-0,446	0,65800
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo feb	-0,556033	0,566930	-0,981	0,33172
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo feb	0,017019	0,539631	0,032	0,97497
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo oct	0,143330	0,498859	0,287	0,77513
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo oct	0,077223	0,529096	0,146	0,88458
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo dic	0,442011	0,552798	0,800	0,42797
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo feb	1,024,485	0,566385	1,809	0,07688
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo oct	0,419000	0,533778	0,785	0,43641
Tratamiento N Finca A Muestreo ago:Tratamiento U Finca B Muestreo dic	-0,057172	0,796035	-0,072	0,94305
Tratamiento N Finca A Muestreo ago:Tratamiento US Finca B Muestreo dic	0,070299	0,788559	0,089	0,92934
Tratamiento N Finca A Muestreo ago:Tratamiento U Finca B Muestreo feb	0,688866	0,819856	0,840	0,40503

Anexo 7. (Cont.) Modelo lineal generalizado de la relación porcentual del componente tallo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Tratamiento N Finca A Muestreo ago: Tratamiento US Finca B Muestreo feb	-0,961113	0,848565	-1,133	0,26311
Tratamiento N Finca A Muestreo ago: Tratamiento U Finca B Muestreo oct	-0,239836	0,761505	-0,315	0,75419
Tratamiento N Finca A Muestreo ago: Tratamiento US Finca B Muestreo oct	0,485681	0,765351	0,635	0,52878

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 8. Métodos de mínimos cuadrados de la relación porcentual del componente tallo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Contraste	Razón de probabilidades	Error estándar	gl	z	p
Tratamiento					
N	1,058	0,0870	Inf	0,690	0,8697
U	0,955	0,0801	Inf	-0,554	0,8697
US	0,990	0,0847	Inf	-0,120	0,9048
Finca					
A ^a	1,456	0,0864	Inf	6,334	<,0001
B ^b	0,687	0,0407	Inf	-6,334	<,0001
Muestreo					
Agosto ^{ab}	1421	0,1392	Inf	3584	0,0005
Diciembre ^{ac}	0,821	0,0846	Inf	-1914	0,0556
Febrero ^c	0,566	0,0629	Inf	-5123	<,0001
Octubre ^b	1514	0,1489	Inf	4218	<,0001

gl = grados de libertad, inf = infinito Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida. Diferencias en una misma columna dentro de una misma categoría son denotadas por letras.

Anexo 9. Modelo lineal generalizado de la relación porcentual del componente senescente a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	-2,39560	0,23138	-10,354	1,33 ⁻¹³
Tratamiento N:U	-1,00891	0,43034	-2,344	0,023428
Tratamiento N:US	-0,39328	0,35863	-1,097	0,278514
Finca A:Finca B	1,15639	0,27760	4,166	0,000135
Muestreo ago:dic	-1,71436	0,55813	-3,072	0,003569
Muestreo ago:feb	-1,12697	0,44792	-2,516	0,015423
Muestreo ago:oct	0,10135	0,32059	0,316	0,753329
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	0,18485	0,49969	0,370	0,713136
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	0,14427	0,42357	0,341	0,734950
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo dic	0,87555	0,85834	1020	0,313040
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo dic	0,03485	0,96694	0,036	0,971404
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo feb	1,07104	0,68632	1,561	0,125484
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo feb	0,11912	0,68305	0,174	0,862321
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo oct	0,50979	0,55661	0,916	0,364508
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo oct	-0,12870	0,54152	-0,238	0,813202
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo dic	0,70662	0,61840	1,143	0,259095
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo feb	-0,28512	0,53918	-0,529	0,599480
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo oct	-0,91311	0,40852	-2,235	0,030302

Anexo 9. (Cont.) Modelo lineal generalizado de la relación porcentual del componente senescente a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,28472	0,94081	0,303	0,763536
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,53048	1,03450	0,513	0,610556
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,06956	0,81195	-0,086	0,932098
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,99120	0,78570	1,262	0,213472
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,19658	0,67779	0,290	0,773095
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo oct				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,17234	0,65754	0,262	0,794413
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo oct				

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 10. Modelo lineal generalizado de las hojas verdes a dos altitudes del pasto ryegrass
cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	0,95551	0,05503	17,364	2,00 ⁻¹⁶
Tratamiento N:U	-0,01290	0,07807	-0,165	0,86878
Tratamiento N:US	0,03774	0,07710	0,490	0,62463
Finca A:Finca B	0,02532	0,07733	0,327	0,74348
Muestreo ago:dic	-0,22957	0,08269	-2,776	0,00565
Muestreo ago:feb	-0,71912	0,09614	-7,480	2,25 ⁻¹³
Muestreo ago:oct	-0,09403	0,07972	-1,180	0,23859
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	-0,06506	0,11063	-0,588	0,55669
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	-0,07596	0,10938	-0,694	0,48761
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo dic	-0,10690	0,11916	-0,897	0,36998
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo dic	-0,10443	0,11758	-0,888	0,37477
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo feb	0,18198	0,13251	1,373	0,17010
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo feb	0,06234	0,13335	0,468	0,64029
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo oct	-0,20673	0,11647	-1,775	0,07635
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo oct	0,03031	0,11126	0,272	0,78535
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo dic	-0,20121	0,11972	-1,681	0,09327
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo feb	0,18724	0,13123	1,427	0,15408
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo oct	-0,05389	0,11283	-0,478	0,63306

Anexo 10. (Cont.) Modelo lineal generalizado de las hojas verdes a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,06226	0,17326	0,359	0,71946
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,04156	0,17150	0,242	0,80861
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,10402	0,18372	-0,566	0,57146
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,33042	0,17987	1,837	0,06664
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,07593	0,16538	0,459	0,64628
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo oct				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,11532	0,16029	-0,719	0,47209
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo oct				

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 11. Métodos de mínimos cuadrados de las hojas verdes a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Contraste	Razón de probabilidades	Error estándar	gl	z	p
Tratamiento					
N ^{ab}	1,015	0,0187	Inf	0,819	0,4129
U ^a	0,943	0,0176	Inf	-3,160	0,0047
US ^b	1,045	0,0191	Inf	2,411	0,0239
Finca					
A	1,007	0,0131	Inf	0,553	0,5802
B	0,993	0,0129	Inf	-0,553	0,5802
Muestreo					
Agosto ^{ad}	1,309	0,0269	Inf	13,079	<,0001
Diciembre ^b	0,892	0,0208	Inf	-4,905	<,0001
Febrero ^c	0,789	0,0193	Inf	-9,723	<,0001
Octubre ^d	1,086	0,0237	Inf	3,786	0,0002

gl = grados de libertad, inf = infinito, Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida. Diferencias en una misma columna dentro de una misma categoría son denotadas por letras.

Anexo 12. Análisis de varianza de las raíces cuadradas de la biomasa a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	gl	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Pr(>F)
Tratamiento	2	68,1	34,1	2,216	0,120
Finca	1	326,3	326,3	21,228	3,13 ⁻⁰⁵
Muestreo	3	1700,4	566,8	36,873	2,10 ⁻¹²
Tratamiento:Finca	2	12,2	6,1	0,398	0,674
Tratamiento:Muestreo	6	81,9	13,6	0,888	0,512
Finca:Muestreo	3	1209,0	403,0	26,218	4,09 ⁻¹⁰
Tratamiento:Finca:Muestreo	6	84,1	14,0	0,911	0,495
Residuales	47	722,5	15,4		

gl = grados de libertad.

Anexo 13. Tukey para las raíces cuadradas de la biomasa por tratamiento a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Tratamiento	p
U-N	0,1343497
US-N	0,9537870
US-U	0,2380956

U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 14. Tukey para las raíces cuadradas de la biomasa por muestreo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Muestreo	p
diciembre-agosto	0,0000000
febrero-agosto	0,0000000
octubre-agosto	0,0000000
febrero-diciembre	0,9948895
octubre-diciembre	0,9990627
octubre-febrero	0,9810567

Anexo 15. Tukey para las raíces cuadradas de la biomasa por finca y muestreo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Finca:Muestreo	p
B:agosto-A:agosto	0,0001425
A:diciembre-A:agosto	0,0000220
B:diciembre-A:agosto	0,0000000
A:febrero-A:agosto	0,0000000
B:febrero-A:agosto	0,0000022
A:octubre-A:agosto	0,0000005
B:octubre-A:agosto	0,0000000
A:diciembre-B:agosto	0,9990826
B:diciembre-B:agosto	0,0000007
A:febrero-B:agosto	0,0000024
B:febrero-B:agosto	0,9076021

Anexo 15. (Cont.) Tukey para las raíces cuadradas de la biomasa por finca y muestreo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Finca:Muestreo	p
A:octubre-B:agosto	0,6925144
B:octubre-B:agosto	0,0000672
B:diciembre-A:diciembre	0,0000052
A:febrero-A:diciembre	0,0000174
B:febrero-A:diciembre	0,9967927
A:octubre-A:diciembre	0,9486981
B:octubre-A:diciembre	0,0004461
A:febrero-B:diciembre	0,9999643
B:febrero-B:diciembre	0,0000562
A:octubre-B:diciembre	0,0002358
B:octubre-B:diciembre	0,8882115
B:febrero-A:febrero	0,0001819
A:octubre-A:febrero	0,0007387
B:octubre-A:febrero	0,9770466
A:octubre-B:febrero	0,9998605
B:octubre-B:febrero	0,0039646
B:octubre-A:octubre	0,0138509

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m.

Anexo 16. Modelo lineal generalizado de la materia seca a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	-1,737,218	0,056477	-30,760	2,00 ⁻¹⁶
Tratamiento N:U	-0,021109	0,080168	-0,263	0,793438
Tratamiento N:US	-0,047946	0,080555	-0,595	0,554509
Finca A:Finca B	-0,056098	0,080675	-0,695	0,490182
Muestreo ago:dic	-0,161686	0,082300	-1,965	0,055265
Muestreo ago:feb	0,300151	0,076199	3,939	0,000264
Muestreo ago:oct	-0,056098	0,080675	-0,695	0,490182
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	-0,101351	0,115648	-0,876	0,385193
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	-0,047959	0,115612	-0,415	0,680117
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo dic	0,088519	0,115853	0,764	0,448568
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo dic	-0,005082	0,117478	-0,043	0,965676
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo feb	0,169045	0,106961	1,580	0,120574
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo feb	0,092457	0,107946	0,857	0,395974
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo oct	0,050771	0,113997	0,445	0,658051
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo oct	0,178065	0,113307	1,572	0,122630
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo dic	-0,275291	0,121342	-2,269	0,027820
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo feb	-0,160111	0,110160	-1,453	0,152608
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo oct	0,025793	0,114974	0,224	0,823444

Anexo 16. (Cont.) Modelo lineal generalizado de la materia seca a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,073366	0,171723	0,427	0,671118
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,081591	0,173247	0,471	0,639808
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,066494	0,156364	-0,425	0,672554
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,013957	0,156798	-0,089	0,929442
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,011557	0,164133	-0,070	0,944159
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo oct				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,130342	0,163157	-0,799	0,428299
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo oct				

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 17. Modelo lineal generalizado de la proteína cruda a dos altitudes del pasto ryegrass
cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	-212,735	0,05723	-37,174	2,00 ⁻¹⁶
Tratamiento N:U	0,05520	0,08007	0,689	0,49389
Tratamiento N:US	-0,04712	0,08170	-0,577	0,56681
Finca A:Finca B	0,70377	0,07257	9,697	6,86 ⁻¹³
Muestreo ago:dic	0,20620	0,07792	2,646	0,01097
Muestreo ago:feb	-0,04494	0,08166	-0,550	0,58467
Muestreo ago:oct	0,05855	0,08002	0,732	0,46790
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	0,03379	0,10145	0,333	0,74055
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	0,09996	0,10293	0,971	0,33635
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo dic	-0,10271	0,11003	-0,933	0,35524
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo dic	0,03600	0,11086	0,325	0,74678
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo feb	-0,16243	0,11621	-1,398	0,16861
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo feb	-0,02346	0,11687	-0,201	0,84177
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo oct	0,06280	0,11135	0,564	0,57539
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo oct	0,01355	0,11408	0,119	0,90598
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo dic	-0,22011	0,10036	-2,193	0,03317
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo feb	-0,23966	0,10516	-2,279	0,02716

Anexo 17. (Cont.) Modelo lineal generalizado de la proteína cruda a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo oct	-0,28849	0,10347	-2,788	0,00757
Tratamiento N Finca A Muestreo ago:Tratamiento U Finca B Muestreo dic	0,02165	0,14140	0,153	0,87895
Tratamiento N Finca A Muestreo ago:Tratamiento US Finca B Muestreo dic	-0,01037	0,14190	-0,073	0,94206
Tratamiento N Finca A Muestreo ago:Tratamiento U Finca B Muestreo feb	0,23495	0,14811	1,586	0,11924
Tratamiento N Finca A Muestreo ago:Tratamiento US Finca B Muestreo feb	0,15702	0,14865	1,056	0,29613
Tratamiento N Finca A Muestreo ago:Tratamiento U Finca B Muestreo oct	-0,09528	0,14427	-0,660	0,51216
Tratamiento N Finca A Muestreo ago:Tratamiento US Finca B Muestreo oct	0,01421	0,14641	0,097	0,92309

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 18. Modelo lineal generalizado de la fibra detergente neutro a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	-0,050678	0,041072	-1,234	0,2233
Tratamiento N:U	-0,052079	0,058114	-0,896	0,3746
Tratamiento N:US	0,034677	0,058076	0,597	0,5532
Finca A:Finca B	0,074679	0,058077	1,286	0,2047
Muestreo ago:dic	0,044011	0,058075	0,758	0,4523
Muestreo ago:feb	-0,363128	0,058702	-6,186	1,3 ⁻⁰⁷
Muestreo ago:oct	0,037344	0,058076	0,643	0,5233
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	0,050746	0,082154	0,618	0,5397
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	-0,005332	0,082134	-0,065	0,9485
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo dic	-0,068090	0,082193	-0,828	0,4115
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo dic	-0,088028	0,082134	-1,072	0,2892
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo feb	-0,147299	0,083579	-1,762	0,0844
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo feb	-0,193344	0,083424	-2,318	0,0248
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo oct	0,037411	0,082154	0,455	0,6509
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo oct	-0,129449	0,082155	-1,576	0,1217
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo dic	-0,024005	0,082131	-0,292	0,7713
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo feb	0,174758	0,082639	2,115	0,0397
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo oct	-0,053345	0,082126	-0,650	0,5191

Anexo 18. (Cont.) Modelo lineal generalizado de la fibra detergente neutro a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,033417	0,116191	0,288	0,7749
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,022677	0,116153	0,195	0,8460
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,212918	0,117239	1,816	0,0756
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,205547	0,117142	1,755	0,0857
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,065412	0,116160	-0,563	0,5760
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo oct				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,129442	0,116167	1,114	0,2707
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo oct				

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 19. Modelo lineal generalizado de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	1,989277	0,090519	21,976	2,00 ⁻¹⁶
Tratamiento N:U	-0,049449	0,126837	-0,390	0,69836
Tratamiento N:US	-0,037258	0,127122	-0,293	0,77072
Finca A:Finca B	-0,003145	0,127937	-0,025	0,98049
Muestreo ago:dic	0,395598	0,139375	2,838	0,00663
Muestreo ago:feb	0,687904	0,150341	4,576	3,36 ⁻⁰⁵
Muestreo ago:oct	0,028651	0,128718	0,223	0,82480
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	-0,076371	0,178058	-0,429	0,66991
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	-0,237611	0,176145	-1,349	0,18368
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo dic	0,134410	0,198443	0,677	0,50145
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo dic	0,090209	0,197817	0,456	0,65043
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo feb	0,474870	0,227097	2,091	0,04184
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo feb	0,015318	0,211436	0,072	0,94255
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo oct	0,232454	0,184737	1,258	0,21437
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo oct	-0,010153	0,180590	-0,056	0,95540
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo dic	-0,552528	0,186752	-2,959	0,00479
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo feb	-0,633381	0,198239	-3,195	0,00247
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo oct	-0,163026	0,179274	-0,909	0,36770

Anexo 19. (Cont.) Modelo lineal generalizado de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,086953	0,264724	0,328	0,74399
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,165221	0,261630	0,632	0,53070
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,409842	0,289565	-1,415	0,16342
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,167857	0,275758	0,609	0,54559
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,102066	0,256505	0,398	0,69246
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo oct				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,282183	0,249515	1,131	0,26371
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo oct				

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 20. Modelo lineal generalizado de la digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutro a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	111,826	0,10010	11,172	5,95 ⁻¹⁵
Tratamiento N:U	-0,09983	0,13986	-0,714	0,47881
Tratamiento N:US	-0,01965	0,14121	-0,139	0,88990
Finca A:Finca B	0,03624	0,14222	0,255	0,79994
Muestreo ago:dic	0,46736	0,15232	3,068	0,00353
Muestreo ago:feb	0,53996	0,15446	3,496	0,00103
Muestreo ago:oct	0,05462	0,14257	0,383	0,70331
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	-0,04137	0,19821	-0,209	0,83557
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	-0,27961	0,19757	-1,415	0,16345
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo dic	0,12365	0,21480	0,576	0,56755
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo dic	0,05068	0,21582	0,235	0,81535
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo feb	0,41212	0,22523	1,830	0,07349
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo feb	-0,13572	0,21511	-0,631	0,53109
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento U Muestreo oct	0,30079	0,20349	1,478	0,14590
Tratamiento N Muestreo ago:Tratamiento US Muestreo oct	-0,09336	0,19995	-0,467	0,64267
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo dic	-0,62894	0,20698	-3,039	0,00384
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo feb	-0,59941	0,20969	-2,859	0,00628
Finca A Muestreo ago:Finca B Muestreo oct	-0,21789	0,19989	-1,090	0,28114

Anexo 20. (Cont.) Modelo lineal generalizado de la digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutro a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,09149	0,29165	0,314	0,75512
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,19846	0,29039	0,683	0,49762
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo dic				
Tratamiento N Finca A Muestreo	-0,29737	0,30022	-0,991	0,32690
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,36006	0,29124	1,236	0,22236
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo feb				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,06314	0,28477	0,222	0,82547
ago:Tratamiento U Finca B Muestreo oct				
Tratamiento N Finca A Muestreo	0,40957	0,27927	1,467	0,14901
ago:Tratamiento US Finca B Muestreo oct				

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 21. Análisis de varianza de la producción de gas *in vitro* a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	gl	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Pr(>F)
Tratamiento	2	28	14	0,099	0,9057
Finca	1	2.253	2.253	16,221	0,0002
Muestreo	3	1.001	334	2,403	0,0791
Tratamiento:Finca	2	266	133	0,957	0,3913
Tratamiento:Muestreo	6	681	113	0,817	0,5623
Finca:Muestreo	3	10.974	3.658	26,332	3,24 ⁻¹⁰
Tratamiento:Finca:Muestreo	6	759	127	0,911	0,4950
Residuales	48	6.668	139		

gl = grados de libertad.

Anexo 22. Tukey de la producción de gas *in vitro* por finca y muestreo a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Finca y muestreo	p ajustado
B:agosto-A:agosto	0,9959667
A:diciembre-A:agosto	0,9986097
B:diciembre-A:agosto	0,9975666
A:febrero-A:agosto	0,0000486
B:febrero-A:agosto	0,0029523
A:octubre-A:agosto	0,9821780
B:octubre-A:agosto	0,5485984
A:diciembre-B:agosto	1,0000000
B:diciembre-B:agosto	0,8600391
A:febrero-B:agosto	0,0000040
B:febrero-B:agosto	0,0238907
A:octubre-B:agosto	0,7218191
B:octubre-B:agosto	0,1692783
B:diciembre-A:diciembre	0,9046734
A:febrero-A:diciembre	0,0000059
B:febrero-A:diciembre	0,0175817
A:octubre-A:diciembre	0,7865341
B:octubre-A:diciembre	0,2112652
A:febrero-B:diciembre	0,0004509
B:febrero-B:diciembre	0,0003535
A:octubre-B:diciembre	0,9999953
B:octubre-B:diciembre	0,9122564
B:febrero-A:febrero	0,0000000
A:octubre-A:febrero	0,0010471
B:octubre-A:febrero	0,0202913
A:octubre-B:febrero	0,0001488
B:octubre-B:febrero	0,0000050
B:octubre-A:octubre	0,9737505

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m.

Anexo 23. Modelo lineal generalizado de los niveles de nitrógeno foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	-394,279	0,07878	-50,050	2,00 ⁻¹⁶
Tratamiento N:U	0,01990	0,11088	0,179	0,860
Tratamiento N:US	-0,02166	0,11199	-0,193	0,849
Finca A:Finca B	0,49885	0,10034	4,972	9,87 ⁻⁰⁵
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U				
Finca B	0,01696	0,14102	0,120	0,906
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US				
Finca B	0,11039	0,14127	0,781	0,445

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 24. Modelo lineal generalizado de los niveles de calcio foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	-5,492,660	0,070848	-77,528	2,00 ⁻¹⁶
Tratamiento N:U	0,006104	0,100043	0,061	0,952
Tratamiento N:US	-0,056667	0,101632	-0,558	0,584
Finca A:Finca B	0,493735	0,089995	5,486	3,28 ⁻⁰⁵
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U				
Finca B	-0,032747	0,127475	-0,257	0,800
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US				
Finca B	-0,033640	0,129520	-0,260	0,798

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 25. Modelo lineal generalizado de los niveles de magnesio foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	-6,569882	0,096871	-67,821	2,00 ⁻¹⁶
Tratamiento N:U	-0,036418	0,138257	-0,263	0,795
Tratamiento N:US	-0,074208	0,139602	-0,532	0,602
Finca A:Finca B	0,960511	0,113980	8,427	1,16 ⁻⁰⁷
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	0,008538	0,162577	0,053	0,959
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	0,032093	0,163884	0,196	0,847

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 26. Modelo lineal generalizado de los niveles de potasio foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	-356,662	0,10767	-33,126	2,00 ⁻¹⁶
Tratamiento N:U	-0,04687	0,15398	-0,304	0,764328
Tratamiento N:US	-0,07462	0,15503	-0,481	0,636094
Finca A:Finca B	-0,89163	0,19738	-4,517	0,000267
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	0,02228	0,28126	0,079	0,937734
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	0,11998	0,27853	0,431	0,671758

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 27. Análisis de varianza de los niveles de hierro foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Numerador gl	Denominador gl	F	p
Intercepto	1	15	30,463972	0,0001
Tratamiento	2	15	1,680099	0,2196
Finca	1	15	23,807675	0,0002
Tratamiento:Finca	2	15	1,696140	0,2167

gl = grados de libertad.

Anexo 28. Análisis de varianza de los niveles de cobre foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Numerador gl	Denominador gl	F	p
Intercepto	1	15	338,6125	<,0001
Tratamiento	2	15	1,3504	0,2889
Finca	1	15	55,5109	<,0001
Tratamiento:Finca	2	15	2,2993	0,1346

gl = grados de libertad.

Anexo 29. Análisis de varianza de los niveles de zinc foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Numerador gl	Denominador gl	F	p
Intercepto	1	15	182,72678	<,0001
Tratamiento	2	15	1,68546	0,2186
Finca	1	15	29,26142	0,0001
Tratamiento:Finca	2	15	2,59507	0,1077

gl = grados de libertad.

Anexo 30. Análisis de varianza de los niveles de manganeso foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Numerador gl	Denominador gl	F	p
Intercepto	1	15	249,42006	<,0001
Tratamiento	2	15	0,03384	0,9668
Finca	1	15	25,55309	0,0001
Tratamiento:Finca	2	15	0,17066	0,8447

gl = grados de libertad.

Anexo 31. Modelo lineal generalizado de los niveles de fósforo foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	-573,359	0,08899	-64,433	2,00 ⁻¹⁶
Tratamiento N:U	-0,01568	0,12634	-0,124	0,903
Tratamiento N:US	-0,07255	0,12817	-0,566	0,578
Finca A:Finca B	-0,11523	0,12961	-0,889	0,386
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	-0,04730	0,18518	-0,255	0,801
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	-0,01868	0,18716	-0,100	0,922

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 32. Modelo lineal generalizado de los niveles de azufre foliar a dos altitudes del pasto ryegrass cv. Jumbo.

Predictores	Estimado	Error estándar	t	Pr(> t)
Intercepto	-6,117	8,616 ⁻²	-71,000	2,00 ⁻¹⁶
Tratamiento N:U	-3,035 ⁻¹⁵	1,218 ⁻¹	0,000	1,000
Tratamiento N:US	-5,862 ⁻²	1,237 ⁻¹	-0,474	0,641
Finca A:Finca B	-9,551 ⁻²	1,248 ⁻¹	-0,765	0,454
Tratamiento N Finca A: Tratamiento U Finca B	1,245 ⁻²	1,763 ⁻¹	0,071	0,944
Tratamiento N Finca A:Tratamiento US Finca B	1,075 ⁻¹	1,767 ⁻¹	0,608	0,551

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., U = urea, N = nitrato de amonio, US = urea protegida.

Anexo 33. Estructura de costos de la fertilización nitrogenada con nitrato de amonio, urea o urea protegida.

Rubro	Cantidad	Costo unitario (€)	Costo total (€)	€/ton MS	€/ton PC
Nitrato de amonio					
Hora laboral	4,00	1.294,82	5.179,28		
Hora tractor	2,00	7.556,25	15.112,50		
Nitrato de amonio (kg)	93,63	231,00	21.628,69		
Sulfato de amonio (kg)	9,37	168,78	1.580,93		
	Subtotal		43.501,39	15.738,56	110.446,07
Urea					
Hora laboral	4,00	1.294,82	5.179,28		
Hora tractor	2,00	7.556,25	15.112,50		
Urea (kg)	68,19	282,11	19.236,47		
Sulfato de amonio (kg)	9,37	168,78	1.580,93		
	Subtotal		41.109,17	16.334,23	109.809,95
Urea protegida					
Hora laboral	4,00	1.294,82	5.179,28		
Hora tractor	2,00	7.556,25	15.112,50		
Urea protegida (kg)	77,52	317,33	24.599,48		
	Subtotal		44.891,26	15.625,90	105.048,07

Anexo 34. Composición nutricional del pasto ryegrass cv. Jumbo a dos altitudes.

Variables	Finca A			Finca B		
	Urea	Nitrato de amonio	Urea protegida	Urea	Nitrato de amonio	Urea protegida
Muestreo agosto						
MS (%)	15	15	14	13	14	13
PC (%)	11	11	10	21	19	20
FDN (%)	47	49	50	51	51	51
DIVMS (%)	87	88	88	87	88	85
DIVFDN (%)	73	75	75	73	76	70
Gas <i>in vitro</i> (mL.g ⁻¹ MS ⁻¹)	102	100	113	104	98	102
Metano <i>in vitro</i> (mL.g ⁻¹ MS ⁻¹)	115	127	119	117	79	94
Muestreo octubre						
MS (%)	15	14	16	13	14	13
PC (%)	12	11	11	17	16	17
FDN (%)	49	50	47	49	50	51
DIVMS (%)	90	88	88	89	86	86
DIVFDN (%)	80	76	74	77	73	73
Gas <i>in vitro</i> (mL.g ⁻¹ MS ⁻¹)	110	107	115	124	114	110
Metano <i>in vitro</i> (mL.g ⁻¹ MS ⁻¹)	80	126	91	78	70	58

Anexo 34 (Cont.). Composición nutricional del pasto ryegrass cv. Jumbo a dos altitudes.

Variables	Finca A			Finca B		
	Urea	Nitrato de amonio	Urea protegida	Urea	Nitrato de amonio	Urea protegida
Muestreo diciembre						
MS (%)	14	13	12	10	10	10
PC (%)	12	13	13	19	19	20
FDN (%)	47	50	49	50	51	50
DIVMS (%)	92	92	92	87	86	86
DIVFDN (%)	83	83	83	74	73	72
Gas <i>in vitro</i> (mL.g ⁻¹ MS ⁻¹)	107	105	94	105	117	105
Metano <i>in vitro</i> (mL.g ⁻¹ MS ⁻¹)	14	14	14	80	77	71
Muestreo febrero						
MS (%)	22	19	20	16	16	16
PC (%)	9	10	10	18	15	18
FDN (%)	35	40	36	48	46	47
DIVMS (%)	96	94	93	88	89	88
DIVFDN (%)	88	84	82	74	75	74
Gas <i>in vitro</i> (mL.g ⁻¹ MS ⁻¹)	128	139	139	89	77	81
Metano <i>in vitro</i> (mL.g ⁻¹ MS ⁻¹)	21	22	19	9	8	8

Finca A = 2.800 m.s.n.m., Finca B = 2.000 m.s.n.m., MS = materia seca, PC = proteína cruda, FDN = fibra detergente neutro, DIVMS = digestibilidad *in vitro* de la materia seca, DIVFDN = digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutro, Gas *in vitro* = gas total producido *in vitro*, Metano *in vitro* = gas metano producido *in vitro*.