

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE AGROPECUARIA

Tema: "Evaluación de dosis de biol elaborado a base de lactosuero y enriquecido con bacterias fijadoras de nitrógeno en el crecimiento y calidad de raigrás (*Lolium perenne* L.) en el Centro Experimental San Francisco, cantón Huaca"

Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del
título de Ingeniero en Agropecuaria

AUTOR: Pérez Muñoz Favio Adrián

TUTOR: Ing. Ramos Romero Steven Stalin, MSc.

Tulcán, 2026.

CERTIFICADO DEL TUTOR

Certifico que el estudiante Pérez Muñoz Favio Adrián con el número de cédula 0402006274 ha desarrollado el Trabajo de Integración Curricular: "Evaluación de dosis de biol elaborado a base de lactosuero y enriquecido con bacterias fijadoras de nitrógeno en el crecimiento y calidad de raigrás (*Lolium perenne* L.) en el Centro Experimental San Francisco, cantón Huaca"

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en el Reglamento de la Unidad de Integración Curricular, Titulación e Incorporación de la UPEC, por lo tanto, autorizo la presentación de la sustentación para la calificación respectiva

Ing. Ramos Romero Steven Stalin, MSc.

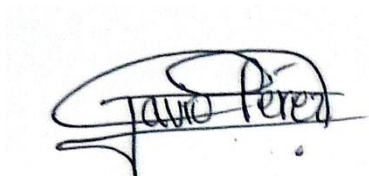
TUTOR

Tulcán, septiembre de 2026

AUTORÍA DE TRABAJO

El presente Trabajo de Integración Curricular constituye un requisito previo para la obtención del título de Ingeniero en la Carrera de agropecuaria de la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales

Yo, Pérez Muñoz Favio Adrián con cédula de identidad número 0402006274 declaro que la investigación es absolutamente original, auténtica, personal y los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Favio Pérez', is written over a light blue grid background. The signature is stylized with a large, sweeping initial 'F'.

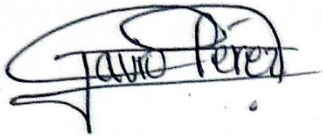
Pérez Muñoz Favio Adrián

AUTOR

Tulcán, septiembre de 2026

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo Pérez Muñoz Favio Adrián declaro ser autor de los criterios emitidos en el Trabajo de Integración Curricular: "Evaluación de dosis de biol elaborado a base de lactosuero y enriquecido con bacterias fijadoras de nitrógeno en el crecimiento y calidad de raigrás (*Lolium perenne* L.) en el Centro Experimental San Francisco, cantón Huaca" y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes de posibles reclamos o acciones legales.



Pérez Muñoz Favio Adrián

AUTOR

Tulcán, septiembre de 2026

AGRADECIMIENTO

Agradecer a Dios, a la virgen de la purificación "La Purita" por guiarme a largo de esta etapa, por ser refugio en momentos de angustia y por brindarme la fuerza y fortaleza que me permitió culminar satisfactoriamente mi carrera universitaria.

A mis padres Patricio Pérez y Eugenia Muñoz gracias a su apoyo y amor incondicional, por ser el pilar fundamental en mi vida, sus consejos y valores que sembraron en mí, que me dieron el ánimo para seguir adelante, este logro es para ustedes también.

A mis hermanas Patricia y Dayra, a mis abuelitos y toda mi familia en general, que me brindaron su apoyo, cariño y su motivación en momentos de dificultad, su afecto me recuerda siempre la importancia de la familia

A mi tutor de tesis, MSc. Steven Ramos expreso mi agradecimiento quien estuvo siempre puesto con su ayuda y dedicación en el desarrollo de este trabajo. De igual forma a todos los docentes que he tenido el gusto de conocer durante mi formación académica, los mismos que compartieron su conocimiento para mi desarrollo profesional.

A mis amigos/as, en especial a Magaly, por estar ahí en cada momento bueno y malo, por sus consejos, amor y amistad que prevalecieron durante todo este tiempo.

A la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, a la carrera de Ingeniería Agropecuaria por haber sido el espacio de formación académica y personal.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado con profunda gratitud y alegría a mis padres, Patricio Pérez y Eugenia Muñoz, mis hermanas y mi familia, pilares indispensables en cada escalón de mi vida. Gracias por estar en cada momento de dificultad, donde con su paciencia, amor, y trabajo me han impulsado a salir adelante, luchar por mis sueños. Su ejemplo de perseverancia y sacrificio han sido inspiración para mí. Este triunfo también es parte de ustedes, porque sin su guía, sus consejos no hubiesen sido posible esto, les agradezco desde lo más profundo de mi corazón por ser el motor principal para alcanzar esta meta.

ÍNDICE

RESUMEN	12
ABSTRACT	13
INTRODUCCIÓN	14
I. EL PROBLEMA	16
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	17
1.3. JUSTIFICACIÓN	18
1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	19
1.4.1. Objetivo General	19
1.4.2. Objetivos Específicos	20
1.4.3. Preguntas de Investigación	20
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	21
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	21
2.2. MARCO TEÓRICO	24
2.2.1. El raigrás perenne (<i>Lolium perenne</i> L.)	24
2.2.2. El lactosuero como recurso agroindustrial	32
2.2.3. Biofertilizantes y microorganismos promotores del crecimiento vegetal	
36	
III. METODOLOGÍA	45
3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO	45
3.1.1. Enfoque	45
3.1.2. Tipo de Investigación	45
3.2. HIPÓTESIS	45
3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	46
3.3.1. Definición de las variables	46

3.3.2. Operacionalización de las variables	47
3.4. MÉTODOS UTILIZADOS	48
3.4.1. Área de estudio	48
3.4.2. Tratamientos del diseño experimental	48
3.4.3. Características del diseño experimental.....	49
3.4.4. Distribución y características del experimento	49
3.4.5. Población y muestra de la investigación	50
3.4.6. Procedimientos.....	51
3.4.7. Variables evaluadas.....	53
3.4.7.1. Altura de planta.....	53
3.4.7.2. Número de hojas	54
3.4.7.3. Rendimiento de materia verde	54
3.4.7.4. Porcentaje de materia seca	54
3.4.7.5. Rendimiento total	54
3.4.7.6. Composición bromatológica.....	55
3.4.7.7. Análisis económico.....	55
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	55
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
4.1. RESULTADOS.....	56
4.1.1. Altura de planta.....	56
4.1.2. Número de hojas.....	59
4.1.3. Rendimiento de materia verde	61
4.1.4. Porcentaje de materia seca	63
4.1.5. Rendimiento total	64
4.1.6. Composición bromatológica.....	67
4.1.7. Análisis económico.....	70
4.2. DISCUSIÓN	73
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	76

5.1. CONCLUSIONES.....	76
5.2. RECOMENDACIONES.....	77
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
VII. ANEXOS.....	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Lolium perenne</i> L.....	25
Tabla 2. Composición química promedio del lactosuero dulce	34
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>Methylobacterium symbioticum</i>	38
Tabla 4. Clasificación taxonómica de <i>Azospirillum brasilense</i>	41
Tabla 5. Operacionalización de variables	47
Tabla 6. Tratamientos del experimento	48
Tabla 7. Características del experimento.....	49
Tabla 8. Análisis de varianza para la variable Altura de planta Corte 1 y Corte 2.....	57
Tabla 9. Comparación de medias según la prueba de Tukey para la variable Altura de planta Corte 1 y Corte 2	57
Tabla 10. Análisis de varianza para la variable Número de hojas Corte 1 y Corte 2.....	59
Tabla 11. Comparación de promedios para la variable Número de hojas Corte 1 y Corte 2	60
Tabla 12. Análisis de varianza para la variable Rendimiento de materia verde Corte 1 y Corte 2	62
Tabla 13. Comparación de medias según la prueba de Tukey para la variable Rendimiento de materia verde Corte 1 y Corte 2.....	62
Tabla 14. Análisis de varianza para la variable Porcentaje de materia seca Corte 1 y Corte 2	63
Tabla 15. Comparación de promedios para la Porcentaje de materia seca Corte 1 y Corte 2	64
Tabla 16. Análisis de varianza para la variable Rendimiento total de materia verde y materia seca	65
Tabla 17. Comparación de medias según la prueba de Tukey para la variable Rendimiento total de materia verde y materia seca	65
Tabla 18. Composición bromatológica del raigrás a los 88 dds según tratamiento	67
Tabla 19. Análisis económico por hectárea para la producción de raigrás según tratamiento	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Caracterización funcional y morfológica del Raigrás (<i>Lolium perenne</i> L.).....	28
Figura 2. Ubicación del experimento.....	48
Figura 3. Distribución del ensayo	50
Figura 4. Parcela neta	51
Figura 5. Curva de crecimiento de la altura de planta de raigrás durante el Corte 1 y Corte 2.	58

Figura 6. Evolución del número de hojas de raigrás durante el Corte 1 y Corte 2.....	61
Figura 7. Análisis de correlación y regresión lineal entre el rendimiento de materia verde y materia seca.....	67
Figura 8. Análisis descriptivo de Proteína y Fibra (%).	68
Figura 9. Análisis descriptivo de Extracto Etéreo y Cenizas (%).	69
Figura 10. Análisis descriptivo de Humedad y ELN (%).	69
Figura 11. Elaboración de biol.....	86
Figura 12. Preparación del terreno.	86
Figura 13. División de parcelas.	86
Figura 14. Siembra de raigras.	86
Figura 15. Bacteria <i>azospirillum brasilense</i>	86
Figura 16. Germinación del raigras.	86
Figura 18. Bacteria <i>methylobacterium symbioticum</i>	87
Figura 17. Fertilizante Crecimax-700.....	87
Figura 19. Materia verde.	87
Figura 20. Medida de altura.	87
Figura 21. Materia Seca.	87
Figura 22. Muestras enviadas a laboratorio	87

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Certificado del abstract por parte de idiomas.....	84
Anexo 2. Procedimiento experimental	86
Anexo 3. Analisis de biol.....	88
Anexo 4. Analisis bromatológico.	89
Anexo 5. Script para realizar el análisis estadístico en R Studio.....	91

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes dosis de biol elaborado a base de lactosuero y enriquecido con bacterias fijadoras de nitrógeno sobre el crecimiento, rendimiento de biomasa y calidad bromatológica del raigrás perenne (*Lolium perenne* L.) en el Centro Experimental San Francisco, cantón Huaca. Metodológicamente, se aplicó un enfoque cuantitativo de tipo experimental, bajo un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con arreglo factorial $3 \times 3 + 1$, conformado por diez tratamientos y cuatro repeticiones. Se evaluaron dosis de biol al 0%, 50% y 100%, combinadas con las cepas *Methylobacterium symbioticum* y *Azospirillum brasilense*, contrastándolas con un testigo químico. Los análisis estadísticos demostraron que el Tratamiento 3 (100% Biol + *Methylobacterium*) igualó la productividad del paquete químico convencional, alcanzando un rendimiento de materia verde de 15.647,82 kg/ha y liderando la producción de materia seca con 3.834,56 kg/ha. En el ámbito bromatológico, la inoculación bacteriana potenció sustancialmente la calidad del forraje; los tratamientos con *Azospirillum* (T6) y *Methylobacterium* (T3) registraron niveles de proteína cruda de 19,38% y 19,20% respectivamente, superando el 18,82% del testigo químico y garantizando una excelente digestibilidad. El análisis financiero ratificó que la biofertilización integral optimiza los costos operativos, donde las alternativas orgánicas T9 y T3 generaron las mayores relaciones Beneficio/Costo (3,08 y 2,80 USD respectivamente), muy superiores a los 2,08 USD del manejo sintético. Se concluye que la sinergia biotecnológica de lactosuero al 100% y *Methylobacterium symbioticum* representa una estrategia agronómica sustentable, altamente rentable y eficiente para maximizar la base forrajera en los ecosistemas altoandinos.

Palabras Claves: *Lolium perenne* L., biol de lactosuero, *Methylobacterium symbioticum*, *Azospirillum brasilense*, composición bromatológica, rentabilidad

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the effect of different doses of organic fertilizer (biol) made from whey and enriched with nitrogen-fixing bacteria on the growth, biomass yield, and bromatological quality of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) at the San Francisco Experimental Center, Huaca canton. Methodologically, a quantitative experimental approach was applied using a Randomized Complete Block Design (RCBD) with a 3 x 3 + 1 factorial arrangement, comprising ten treatments and four replications. Biol doses of 0%, 50%, and 100% were evaluated in combination with *Methylobacterium symbioticum* and *Azospirillum brasilense* strains, and compared against a chemical control. Statistical analyses demonstrated that Treatment 3 (100% Biol + *Methylobacterium*) equaled the productivity of the conventional chemical package, reaching a green matter yield of 15,647.82 kg/ha and leading dry matter production with 3,834.56 kg/ha. In terms of bromatological quality, bacterial inoculation substantially enhanced forage quality; treatments with *Azospirillum* (T6) and *Methylobacterium* (T3) recorded crude protein levels of 19.38% and 19.20%, respectively, outperforming the chemical control (18.82%) and ensuring excellent digestibility. Financial analysis confirmed that comprehensive biofertilization optimizes operational costs, with organic alternatives T9 and T3 generating the highest Benefit/Cost ratios (3.08 and 2.80 USD, respectively), significantly higher than the synthetic management ratio of 2.08 USD. It is concluded that the biotechnological synergy of 100% whey biol and *Methylobacterium symbioticum* represents a sustainable, highly profitable, and efficient agronomic strategy to maximize the forage base in High Andean ecosystems.

Keywords: *Lolium perenne* L., whey biol, *Methylobacterium symbioticum*, *Azospirillum brasilense*, bromatological composition, profitability.

INTRODUCCIÓN

En el contexto de la agricultura sostenible, la valorización de subproductos agroindustriales y el empleo de microorganismos promotores del crecimiento vegetal constituyen estrategias prioritarias para reducir la dependencia de fertilizantes sintéticos y favorecer sistemas de producción más eficientes desde el punto de vista ambiental y económico. En este marco, el lactosuero, principal subproducto de la industria quesera, representa un recurso con elevado potencial para la elaboración de biofertilizantes debido a su contenido de compuestos orgánicos y nutrientes; sin embargo, cuando es dispuesto inadecuadamente, genera importantes impactos ambientales asociados a su elevada carga orgánica.

En el Ecuador, particularmente en la región norte andina, la producción lechera constituye una de las principales actividades agropecuarias y genera cantidades considerables de lactosuero cuya reutilización continúa siendo limitada. Paralelamente, la producción de pasturas destinadas a la alimentación bovina enfrenta restricciones relacionadas con la disminución de la fertilidad del suelo, la variabilidad climática y el incremento del costo de los fertilizantes minerales. Estas condiciones han motivado la búsqueda de alternativas biológicas que permitan mejorar la productividad forrajera y, simultáneamente, favorecer el aprovechamiento de residuos agroindustriales bajo los principios de la economía circular.

Entre las especies forrajeras de mayor importancia para los sistemas lecheros altoandinos se encuentra el raigrás perenne (*Lolium perenne* L.), ampliamente utilizado por su elevada producción de biomasa y calidad nutricional. Diversas investigaciones han demostrado que los biofertilizantes elaborados a partir de lactosuero pueden favorecer el crecimiento vegetal, mientras que bacterias promotoras del crecimiento, como *Methylobacterium symbioticum* y *Azospirillum brasilense*, contribuyen a mejorar la disponibilidad de nutrientes, estimular el desarrollo vegetal y favorecer la fijación biológica de nitrógeno. No obstante, la evidencia científica acerca del efecto combinado de un biol elaborado con lactosuero y enriquecido con ambas bacterias sobre el crecimiento, rendimiento y calidad

bromatológica del raigrás bajo las condiciones agroecológicas de los Andes ecuatorianos continúa siendo limitada.

En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes dosis de biol elaborado a partir de lactosuero y enriquecido con *Methylobacterium symbioticum* y *Azospirillum brasilense* sobre el crecimiento, el rendimiento de biomasa y la calidad bromatológica del raigrás (*Lolium perenne* L.) en el Centro Experimental San Francisco, cantón Huaca. Los resultados obtenidos aportan evidencia científica sobre el potencial de esta estrategia biotecnológica como alternativa para el manejo sostenible de pasturas y el aprovechamiento de subproductos de la industria láctea, contribuyendo al desarrollo de sistemas ganaderos más eficientes y ambientalmente responsables.

I. EL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel global y regional, la industria quesera representa un sector agroeconómico de vital importancia, pero a la vez genera un enorme desafío ambiental. En Sudamérica, la producción promedio de queso fue de 1,14 millones de toneladas por año en el período 2011–2021. En este contexto, Ecuador se posicionó en 2021 como el cuarto mayor productor de la región, registrando 94.422 toneladas (FAOSTAT, 2026). Sin embargo, el principal subproducto generado durante este proceso es el lactosuero, con una relación alarmante de aproximadamente 9 litros por cada kilogramo de queso producido (Mazorra y Moreno, 2019). De manera paralela, la producción ganadera mundial enfrenta el reto de mantener pasturas de alta calidad para la alimentación animal, dependiendo históricamente del uso intensivo de fertilizantes sintéticos, una práctica que incrementa los costos operativos y degrada los ecosistemas a largo plazo (Gómez y Pérez, 2022).

En el ámbito nacional y provincial, la producción ecuatoriana de lactosuero alcanzó cerca de 850.000 metros cúbicos en el año 2021. Particularmente, en las provincias de Imbabura y Carchi se generan alrededor de 122 metros cúbicos diarios de este subproducto, lo que evidencia la magnitud de la problemática en la zona norte (Pais Chanfrau et al., 2021). A pesar de este volumen, apenas el 1,5% se reincorpora a la cadena de valor del sector lácteo (Estudio de Mercado Sector Lácteo, 2019). Esta baja tasa de recuperación obedece a que la industria quesera ecuatoriana está conformada mayoritariamente por pequeñas empresas familiares que carecen del capital para invertir en tecnologías de transformación (Acosta et al., 2022; Pires et al., 2021). En consecuencia, la mayor parte del lactosuero es vertido directamente en efluentes hídricos o en el suelo (Poveda et al., 2013). Estas prácticas desencadenan severos impactos ambientales, como la reducción del oxígeno disuelto que afecta la

vida acuática, la eutrofización de cuerpos de agua (Prazeres et al., 2012), y procesos de acidificación, salinización y alteración de la estructura física de los suelos agrícolas (Caballero et al., 2020).

A nivel local, el Centro Experimental San Francisco de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi (UPEC), ubicado en el cantón Huaca, sustenta su actividad en la ganadería de leche y carne. Una de las principales limitantes productivas en esta zona es la baja calidad nutricional y la escasa producción de biomasa del pasto raigrás (*Lolium perenne* L.) durante las épocas secas. Esta deficiencia forrajera obliga a los productores a depender de la aplicación excesiva de fertilizantes nitrogenados y fosforados de síntesis química (urea, nitrato de amonio, fosfato diamónico). El uso indiscriminado de estos agrotóxicos no solo encarece los costos de producción frente a la constante inflación del mercado, sino que provoca daños colaterales como la acumulación de nitratos y metales pesados en el suelo, y la emisión de gases de efecto invernadero (Savci, 2012).

Frente a esta doble problemática socioproductiva y ambiental, el aprovechamiento biotecnológico del lactosuero mediante su fermentación para la obtención de biol, enriquecido con bacterias fijadoras de nitrógeno, surge como una alternativa agroecológica altamente viable debido a su efectividad y bajo costo (Ayilara et al., 2020). Sin embargo, bajo las condiciones agroecológicas específicas del Centro Experimental San Francisco y del cantón Huaca (altitud de 2.923 m s. n. m. y temperatura media de 12 a 18 grados centígrados), aún no se ha evaluado esta alternativa. Al desconocerse cuál es la dosis óptima de biol para mejorar el crecimiento y la calidad del raigrás, resulta imperativo investigar esta interacción biotecnológica, generando evidencia técnica que permita reducir el impacto ambiental del lactosuero y mejorar la sostenibilidad de la ganadería local.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿De qué manera incide la aplicación de diferentes dosis de biol elaborado a base de lactosuero y enriquecido con bacterias fijadoras de nitrógeno (*Methylobacterium symbioticum* y *Azospirillum brasilense*) sobre el crecimiento, el rendimiento de biomasa y la calidad bromatológica del raigrás perenne (*Lolium perenne* L.) bajo las condiciones edafoclimáticas del Centro Experimental San Francisco, cantón Huaca?

1.3. JUSTIFICACIÓN

En el contexto de la agricultura sostenible, la investigación orientada a fortalecer las interacciones planta-microorganismo y a valorizar subproductos agroindustriales ha cobrado creciente importancia como estrategia para reducir la dependencia de insumos sintéticos y promover sistemas de producción más eficientes y ambientalmente responsables (Puglia et al., 2021). En este sentido, el lactosuero constituye un subproducto de la industria láctea con alto potencial agronómico debido a su contenido de ácido láctico, aminoácidos, carbohidratos, minerales y otros compuestos bioactivos. No obstante, cuando es eliminado sin tratamiento adecuado representa una fuente importante de contaminación ambiental por su elevada demanda biológica de oxígeno, afectando la calidad de los suelos y de los cuerpos de agua (Caballero et al., 2021). Por ello, su aprovechamiento mediante procesos de biofermentación constituye una alternativa alineada con los principios de la economía circular y la bioeconomía.

Desde la perspectiva social y productiva, la presente investigación adquiere relevancia porque propone una alternativa biotecnológica para el aprovechamiento del lactosuero en los sistemas ganaderos del cantón Huaca, provincia del Carchi. La transformación de este subproducto en un biol enriquecido con microorganismos benéficos puede contribuir a disminuir la contaminación derivada de su disposición inadecuada y, simultáneamente, ofrecer a los productores una opción de fertilización biológica que reduzca la dependencia de fertilizantes minerales, cuyos costos han experimentado incrementos importantes durante los últimos años. En consecuencia, esta propuesta favorece la sostenibilidad ambiental, económica y productiva de las explotaciones ganaderas de la zona.

Asimismo, el estudio responde a una necesidad científica relacionada con la producción sostenible de forrajes de alta calidad nutricional. El raigrás (*Lolium perenne* L.) constituye una de las especies forrajeras más utilizadas en los sistemas lecheros de la región andina ecuatoriana; sin embargo, su productividad y calidad nutricional pueden verse limitadas por la baja disponibilidad de nutrientes y por las condiciones edafoclimáticas propias de los ecosistemas altoandinos. En este contexto, la utilización de biofertilizantes enriquecidos con microorganismos promotores del crecimiento vegetal representa una estrategia promisoriosa para mejorar la eficiencia en el uso de nutrientes y aumentar la productividad de las pasturas.

Desde el punto de vista científico, aunque diversos estudios han demostrado los efectos positivos del biol elaborado a partir de lactosuero sobre el crecimiento y rendimiento de diferentes cultivos (Buchelli, 2014; Gutiérrez Arce et al., 2020), y otras investigaciones han documentado los beneficios fisiológicos de bacterias fijadoras de nitrógeno como *Methylobacterium symbioticum* y *Azospirillum brasilense* cuando son aplicadas de manera independiente (W. O. Ehinmitan et al., 2024; Rodríguez y Silva, 2021), continúa siendo limitada la evidencia científica acerca del efecto de un biol de lactosuero enriquecido simultáneamente con ambas bacterias sobre el crecimiento, rendimiento y calidad nutricional del raigrás (*Lolium perenne* L.) bajo las condiciones agroecológicas de los Andes ecuatorianos. En consecuencia, esta investigación contribuirá a generar conocimiento sobre la interacción entre un biofertilizante fermentado y un consorcio de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, ampliando la comprensión de los mecanismos relacionados con la fijación biológica de nitrógeno, la absorción de nutrientes y el desarrollo fisiológico de gramíneas forrajeras.

Finalmente, la investigación posee una importante utilidad metodológica, ya que permitirá validar experimentalmente un paquete tecnológico basado en el uso de biol de lactosuero enriquecido con microorganismos benéficos para la producción de pasturas. La determinación de la dosis más eficiente y de la combinación microbiana con mayor respuesta agronómica proporcionará información técnica que podrá ser utilizada por productores, instituciones de investigación y organismos de extensión agrícola para promover prácticas de fertilización biológica adaptadas a los sistemas ganaderos del norte del Ecuador. De este modo, los resultados constituirán una base científica para futuras investigaciones sobre biofertilizantes, manejo sostenible de pasturas y aprovechamiento de subproductos agroindustriales dentro de esquemas de economía circular y agricultura regenerativa.

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General

Evaluar diferentes dosis de biol elaborado a base de lactosuero y enriquecido con bacterias fijadoras de nitrógeno sobre el crecimiento y la calidad de raigrás (*Lolium perenne*) en el Centro Experimental San Francisco, cantón Huaca

1.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar la respuesta fenológica y el rendimiento de biomasa (materia verde y seca) del raigrás a la aplicación fraccionada de biol de lactosuero y consorcios bacterianos.
- Analizar la composición bromatológica del forraje cosechado para establecer el nivel de calidad nutricional alcanzado por cada tratamiento biofertilizado.
- Calcular la rentabilidad financiera de los tratamientos evaluados mediante un análisis de beneficio/costo para identificar la alternativa agroeconómica más eficiente.

1.4.3. Preguntas de Investigación

- ¿Cuál es el efecto de la aplicación fraccionada de biol de lactosuero (0%, 50% y 100%) y la inoculación con bacterias diazotróficas (*Methylobacterium symbioticum* y *Azospirillum brasilense*) sobre la respuesta fenológica (altura y número de hojas) y la productividad volumétrica de biomasa (materia verde y materia seca) del raigrás perenne (*Lolium perenne* L.)?
- ¿De qué manera la interacción entre el biofertilizante líquido y los consorcios microbianos modifica la composición bromatológica (proteína cruda, fibra, extracto etéreo, cenizas y elementos libres de nitrógeno) del forraje cosechado?
- ¿Cuál de los tratamientos orgánicos evaluados representa la alternativa agroeconómica más eficiente, considerando la relación beneficio/costo, frente al manejo químico convencional del cultivo?

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Pla y Rendón (2021) desarrollaron una investigación empírica con el objetivo primordial de evaluar el efecto bioestimulante del biol elaborado a base de lactosuero en el rendimiento forrajero y la calidad de gramíneas de clima frío. Para ello, implementaron un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con tratamientos al 25%, 50% y 100% de concentración frente a un testigo comercial. Los investigadores monitorearon rigurosamente variables biométricas y de rendimiento, incluyendo la altura de la planta, número de hojas, materia verde y materia seca. Sus resultados fueron estadísticamente Altamente Significativos ($p < 0,001$) en las variables de campo: el tratamiento con biol de lactosuero al 100% indujo una altura de planta de 45,30 cm y un promedio de 6,80 hojas por macollo, logrando una producción de materia verde de 18.200 kg/ha y 3.850 kg/ha de materia seca, superando de forma contundente al testigo absoluto que apenas registró 32,15 cm de altura y 1.950 kg/ha de materia seca. En su conclusión, los autores sostienen que el lactosuero aporta un alto contenido de péptidos y carbohidratos solubles que aceleran la tasa de crecimiento diario y maximizan la acumulación de biomasa de forma ecológica.

WingChing-Jones et al. (2020) ejecutaron un estudio de vanguardia con el propósito de evaluar la eficacia de la inoculación foliar y edáfica de la bacteria fijadora de nitrógeno *Azospirillum brasilense* sobre la calidad bromatológica y el rendimiento del raigrás perenne (*Lolium perenne*). Mediante un diseño experimental aleatorizado, contrastaron dosis de inoculación microbiana frente a fertilización nitrogenada sintética (urea). Las variables de estudio incluyeron el rendimiento total y la composición bromatológica (proteína, fibra y cenizas). El análisis de varianza determinó un efecto Muy Significativo ($p < 0,01$) a favor del tratamiento biofertilizado, el cual alcanzó un 19,25% de proteína cruda, un nivel de fibra del 24,10% y un 12,80% de cenizas, acoplado a un rendimiento de 3.900 kg/ha de materia seca. Estos valores

igualaron y, en el caso de la proteína, superaron ligeramente al tratamiento químico (18,90% de proteína). En su conclusión, afirman que esta rizobacteria establece una interacción simbiótica altamente eficiente que asegura la provisión constante de amonio, mejorando el valor nutricional del pasto y reduciendo la dependencia de agrotóxicos.

Collahuazo y Maldonado (2022) desarrollaron un ensayo experimental para determinar el impacto de las aplicaciones foliares de *Methylobacterium symbioticum* en el desarrollo fenológico, asimilación de nitrógeno y rentabilidad en cultivos forrajeros de altura. Implementaron un diseño de bloques al azar combinando la bacteria con dosis de abonos líquidos orgánicos. Monitorearon la altura de planta, porcentaje de materia seca y realizaron un análisis económico mediante el indicador Beneficio/Costo (B/C). Sus hallazgos resultaron estadísticamente Significativos ($p < 0,05$): la simbiosis foliar de *Methylobacterium* incrementó la captación de nitrógeno directamente por los estomas, impulsando plantas con 48,15 cm de altura y un porcentaje de materia seca del 18,50%. En el análisis económico, este tratamiento generó una rentabilidad de 2,15 USD por cada dólar invertido, frente a los 1,30 USD del control químico. Los autores concluyen que esta bacteria endófito es el complemento perfecto para bioles orgánicos, ya que potencia el metabolismo primario de las hojas y asegura la viabilidad financiera del productor ganadero.

Irigoyen Olaza (2020) llevó a cabo una investigación con el objetivo de cuantificar la respuesta productiva del raigrás (*Lolium perenne*) ante la fertilización exclusiva con bioles enriquecidos en distintas etapas de corte. Implementó un DBCA con cuatro tratamientos volumétricos y evaluó el número de hojas, rendimiento de materia verde, materia seca y extracto etéreo. Sus resultados arrojaron un comportamiento estadísticamente Altamente Significativo ($p < 0,001$) a favor de la dosis al 100% de biol, la cual estimuló un promedio de 7,10 hojas por macollo y una biomasa fresca de 21.500 kg/ha. En el laboratorio, el extracto etéreo se situó en un óptimo 4,85%. En su conclusión, el autor asevera que la carga de fitohormonas naturales (auxinas y giberelinas) presentes en el biol actúa como un potente bioestimulante que induce una rápida recuperación del área foliar del pasto tras el corte.

Villalobos y Sánchez (2010) desarrollaron un estudio clásico para establecer los parámetros óptimos de calidad bromatológica y digestibilidad del pasto raigrás perenne tetraploide (*Lolium perenne* L.) bajo un manejo nutricional intensivo. Utilizaron un diseño de bloques evaluando frecuencias de corte y niveles de

fertilización. Monitorearon exhaustivamente la composición bromatológica: Humedad, Proteína Cruda (PC), Fibra, Extracto Etéreo y Elementos Libres de Nitrógeno (ELN). Las pruebas de Tukey revelaron diferencias Significativas ($p < 0,05$): el forraje cortado en su etapa óptima presentó una humedad del 84,50%, garantizando succulencia, un 21,50% de proteína cruda, un nivel de fibra efectiva del 23,80%, extracto etéreo de 3,90% y ELN del 41,20%. En su conclusión, determinan que el raigrás posee un techo genético excepcional para la producción bovina, pero exige una nutrición edáfica impecable para mantener la sincronía entre la energía (ELN) y la proteína degradable en el rumen.

Hott Díaz (2023) ejecutó una investigación orientada a evaluar el efecto de un consorcio de bacterias fijadoras de nitrógeno sobre la producción neta y parámetros de crecimiento de una pradera de *Lolium perenne* L. Implementó un diseño experimental factorial contrastando la inoculación bacteriana combinada con diferentes fracciones de fertilizantes sintéticos. Las variables críticas incluyeron la altura de la planta, producción de materia verde y porcentaje de materia seca. Sus resultados evidenciaron un efecto Muy Significativo ($p < 0,01$): la interacción de las bacterias con dosis medias de fertilizante elevó la altura del pasto a 46,20 cm y el rendimiento a 19.800 kg/ha de materia verde, con un 19,20% de materia seca consolidada. En su conclusión, el autor sostiene que la biofertilización diazotrófica promueve una arquitectura foliar más densa y vigorosa, siendo la herramienta clave para mantener altos volúmenes de forraje frente a la variabilidad climática.

Gómez y Pérez (2022) analizaron las variaciones en la composición bromatológica y el rendimiento económico de gramíneas de altura tras la aplicación periódica de efluentes orgánicos fermentados y microorganismos promotores del crecimiento. Utilizaron un diseño completamente aleatorizado para evaluar elementos libres de nitrógeno (ELN), cenizas y la utilidad neta por hectárea. Sus hallazgos resultaron ser estadísticamente Significativos ($p < 0,05$): los tratamientos orgánicos elevaron los ELN a un 43,15% y las cenizas a un 11,90%, demostrando una absorción superior de minerales del suelo. En el aspecto financiero, la utilidad neta superó los 1.250 USD/ha, reduciendo los costos operativos en un 40% frente al manejo sintético. En su conclusión, aseveran que la sinergia entre microorganismos y materia orgánica líquida no solo mejora el contenido energético del forraje, sino que democratiza el acceso a insumos de bajo costo para el productor local.

Castillo y Silva (2021) desarrollaron un ensayo agroeconómico con el objetivo primordial de calcular el análisis costo/beneficio de la sustitución de paquetes tecnológicos químicos por bioles orgánicos en la producción forrajera intensiva de raigrás. Implementaron un diseño en bloques registrando minuciosamente los costos de instalación, insumos y mano de obra, frente al ingreso bruto por venta de materia seca. Sus resultados financieros determinaron una diferencia estadísticamente Altamente Significativa ($p < 0,001$): mientras el testigo comercial alcanzó una rentabilidad precaria de 1,15 debido al elevado precio de los fertilizantes sintéticos, los tratamientos basados en bioles generaron un Beneficio/Costo (B/C) de 2,65, generando ingresos de venta superiores a los 2.100 USD/ha. En su conclusión, afirman que la elaboración *in situ* de bioles y la multiplicación de bacterias nativas representa la única vía para garantizar la autonomía técnica, la viabilidad financiera y la sostenibilidad del ecosistema agropecuario a largo plazo.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. El raigrás perenne (*Lolium perenne* L.)

2.2.1.1. Origen y taxonomía

El raigrás perenne (*Lolium perenne* L.) es una gramínea forrajera perteneciente a la familia Poaceae, ampliamente reconocida por su elevado valor nutritivo, alta productividad y sobresaliente capacidad de rebrote después del pastoreo o del corte. El género *Lolium* comprende diversas especies anuales y perennes originarias de Europa, Asia templada y el norte de África, desde donde fueron introducidas hacia América, Oceanía y otras regiones templadas debido a su importancia para la producción pecuaria, el establecimiento de praderas permanentes y la conservación de suelos (Matzrafi et al., 2021). Asimismo, la amplia dispersión geográfica del género ha sido favorecida por el comercio internacional de semillas, los programas de mejoramiento genético y la adaptación de sus especies a distintos sistemas de producción agropecuaria.

Actualmente, *Lolium perenne* constituye una de las especies forrajeras de mayor importancia económica en los sistemas ganaderos especializados de producción de leche de Europa, Nueva Zelanda, Australia y diversos países de América del Sur, debido a su elevada digestibilidad, alto contenido de proteína, excelente palatabilidad y rápida recuperación después del pastoreo o del corte. Estas características han consolidado su utilización como especie predominante en

praderas permanentes y en programas modernos de mejoramiento orientados a incrementar la persistencia, la producción de biomasa y la tolerancia a estreses bióticos y abióticos (Jayasinghe et al., 2021; Wang et al., 2022).

Desde el punto de vista taxonómico, el género *Lolium* pertenece a la tribu Poeae, dentro de la familia Poaceae, una de las familias botánicas de mayor importancia económica a nivel mundial por incluir especies destinadas tanto a la alimentación humana como animal. Estudios filogenéticos recientes indican que *Lolium* mantiene una estrecha relación evolutiva con el género *Festuca*, compartiendo numerosos caracteres morfológicos y genéticos que han permitido el desarrollo de híbridos utilizados ampliamente en programas de mejoramiento de gramíneas forrajeras (Matzrafi et al., 2021).

Por otra parte, *Lolium perenne* presenta una elevada plasticidad fenotípica, característica que le permite responder favorablemente a diferentes condiciones ambientales, intensidades de pastoreo y sistemas de manejo. Esta capacidad adaptativa, asociada a su naturaleza alógama, elevada diversidad genética y compatibilidad interespecífica, ha facilitado el desarrollo de nuevos cultivares con mayor persistencia, eficiencia en el uso de nutrientes, tolerancia al estrés y productividad, aspectos considerados prioritarios para enfrentar los desafíos de la agricultura sostenible y del cambio climático (Matzrafi et al., 2021; Wang et al., 2022).

La clasificación taxonómica de *Lolium perenne* L. se presenta en la Tabla 1, de acuerdo con el sistema Angiosperm Phylogeny Group IV (APG IV), actualmente aceptado para la clasificación filogenética de las plantas con flores (APG IV, 2016).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Lolium perenne* L.

Categoría	Nombre
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Liliopsida</i>
Orden	<i>Poales</i>
Familia	<i>Poaceae</i>
Género	<i>Lolium</i>
Especie	<i>Lolium perenne</i> L.

Fuente: APG IV (2016).

2.2.1.2. Características botánicas y morfológicas

La morfología de *Lolium perenne* L. constituye uno de los principales factores que determinan su capacidad de adaptación, productividad y persistencia en los

sistemas ganaderos de clima templado. Su arquitectura vegetal favorece un rápido rebrote después del pastoreo, una eficiente captura de radiación fotosintéticamente activa y una elevada capacidad para absorber agua y nutrientes, características que explican su amplia utilización como especie base en praderas permanentes destinadas a la producción de leche y carne (Jayasinghe et al., 2021; Wang et al., 2022).

Sistema radical

Lolium perenne desarrolla un sistema radical fasciculado constituido por numerosas raíces adventicias originadas en los nudos basales de cada macollo. El crecimiento del sistema radical ocurre de forma secuencial a nivel de cada fitómero, permitiendo la formación continua de raíces primarias, secundarias y terciarias durante el desarrollo vegetativo. La mayor parte de la biomasa radical se concentra en los primeros centímetros del perfil del suelo, donde ocurre la mayor absorción de agua y nutrientes; sin embargo, bajo condiciones favorables las raíces pueden explorar horizontes más profundos, contribuyendo a la tolerancia frente al estrés hídrico y a una mayor eficiencia en el uso de nutrientes (Robin et al., 2021).

Además, la rizósfera constituye el principal sitio de interacción entre la planta y los microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPR). En este microambiente se establecen asociaciones con bacterias como *Azospirillum brasilense*, capaces de estimular el desarrollo radical mediante la síntesis de fitohormonas, incrementar la superficie absorbente de las raíces y mejorar la eficiencia en la adquisición de nitrógeno y otros nutrientes esenciales, contribuyendo al crecimiento y productividad del cultivo (Bashan y de-Bashan, 2010; O. Ehinmitan et al., 2024).

Tallo y macollamiento

El crecimiento vegetativo del raigrás se basa en la emisión continua de macollos, estructuras que representan la unidad funcional de producción dentro de la pradera. Cada macollo posee meristemas propios capaces de originar nuevas hojas, raíces e inflorescencias, razón por la cual la densidad de macollos constituye uno de los principales determinantes de la persistencia y del rendimiento de biomasa. La dinámica poblacional de los macollos depende de la interacción entre el genotipo, el ambiente y las prácticas de manejo, especialmente la fertilización nitrogenada, la frecuencia de defoliación y la disponibilidad de radiación solar (Jayasinghe et al., 2021).

Asimismo, el macollamiento representa un mecanismo adaptativo que permite mantener la productividad de la pradera después del pastoreo o corte. Una adecuada disponibilidad de nitrógeno favorece la aparición de nuevos macollos, incrementa su supervivencia y prolonga la persistencia del cultivo, mientras que el déficit nutricional reduce la renovación de tejidos y limita la acumulación de biomasa (Wang et al., 2022).

Aparato foliar

Las hojas de *Lolium perenne* son lineares, glabras y presentan un limbo estrecho con elevada relación superficie volumen, característica que optimiza la interceptación de radiación fotosintéticamente activa y favorece una elevada eficiencia fotosintética. El crecimiento foliar ocurre de manera continua mediante la producción secuencial de nuevas hojas en cada macollo, lo que garantiza una rápida recuperación del dosel después de la defoliación y una elevada producción de fotoasimilados destinados al crecimiento vegetativo (Robin et al., 2021; Wang et al., 2022).

Desde el punto de vista fisiológico, el nitrógeno constituye el nutriente que mayor influencia ejerce sobre el desarrollo foliar, debido a su participación en la síntesis de clorofila, proteínas estructurales y enzimas fotosintéticas como la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO). En consecuencia, una adecuada disponibilidad de este elemento incrementa el índice de área foliar, la tasa fotosintética y la acumulación de biomasa, aspectos fundamentales para maximizar la productividad de las pasturas (Marschner, 2012; Hirel et al., 2011).

Estructuras reproductivas

La inflorescencia de *Lolium perenne* corresponde a una espiga simple en la que las espiguillas se insertan alternadamente sobre el raquis principal. Aunque la reproducción sexual mediante semillas resulta esencial para el mejoramiento genético y la conservación de la variabilidad genética de la especie, en los sistemas de producción forrajera el mayor interés agronómico se concentra en la fase vegetativa, debido a que el inicio de la reproducción modifica la distribución de fotoasimilados hacia las estructuras reproductivas e incrementa la acumulación de tejidos estructurales, reduciendo la digestibilidad y el valor nutritivo del forraje (Herridge et al., 2021; Wang et al., 2022).

Por esta razón, el manejo de las praderas busca mantener el cultivo en estados vegetativos mediante una adecuada programación del pastoreo o del corte, favoreciendo la producción continua de hojas jóvenes, con mayor contenido de proteína, menor concentración de fibra estructural y mayor digestibilidad para los rumiantes.

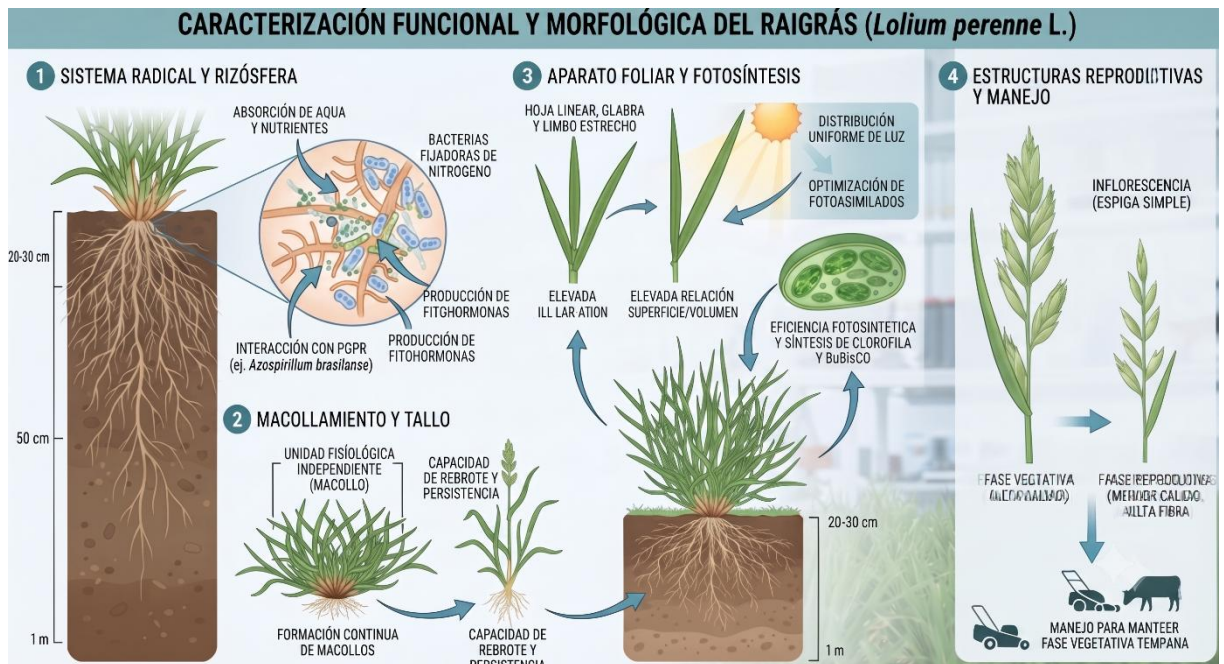


Figura 1. Caracterización funcional y morfológica del Raigrás (*Lolium perenne* L.)

Fuente: (Wang et al., 2022)

2.2.1.3. Requerimientos edafoclimáticos y limitantes en la zona altoandina

El comportamiento agronómico de *Lolium perenne* L. depende de la interacción entre el potencial genético del cultivar, las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, las condiciones climáticas y las prácticas de manejo agronómico. En los sistemas ganaderos altoandinos, estos factores condicionan la persistencia de la pradera, la velocidad de rebrote, la producción de biomasa y la calidad nutricional del forraje. Asimismo, el cambio climático ha incrementado la variabilidad de las condiciones ambientales, haciendo necesario el desarrollo de estrategias de manejo que mejoren la eficiencia en el uso del agua y de los nutrientes (Wang et al., 2022; Lee et al., 2024).

Factores edáficos

Textura y estructura del suelo

Lolium perenne presenta un mejor desarrollo en suelos profundos, bien drenados y con textura franca a franco-arcillosa, los cuales favorecen la aireación del sistema radical, la infiltración del agua y la exploración de nutrientes. En contraste, la compactación del suelo reduce la macroporosidad, limita el crecimiento de las raíces y disminuye la absorción de agua y nutrientes, afectando negativamente la persistencia y productividad de la pradera (Robin et al., 2021; Gregory et al., 2022).

pH del suelo

El rango óptimo de pH para *Lolium perenne* se sitúa entre 5,5 y 7,0. En los Andisoles característicos de la provincia del Carchi predominan condiciones ligeramente ácidas, asociadas con una elevada capacidad de retención de fósforo y una mayor presencia de aluminio intercambiable. Cuando el pH desciende por debajo de 5,5 disminuye la disponibilidad de fósforo, calcio y magnesio, mientras aumenta la toxicidad por aluminio, restringiendo el crecimiento radical y la absorción de nutrientes (FAO, 2022b; Marschner, 2012).

Materia orgánica y fertilidad

Los Andisoles presentan elevados contenidos de materia orgánica, alta capacidad de intercambio catiónico y excelente retención de agua, características que favorecen la productividad de las pasturas. Sin embargo, las bajas temperaturas propias de los ecosistemas altoandinos reducen la actividad microbiana y la velocidad de mineralización del nitrógeno, limitando la disponibilidad de este nutriente durante determinadas épocas del año. Por ello, el nitrógeno continúa siendo el principal factor limitante para la producción de biomasa en sistemas pastoriles de montaña (FAO, 2022b; Hirel et al., 2021).

Factores climáticos

Temperatura

Lolium perenne presenta un crecimiento óptimo entre 15 y 25 °C, aunque mantiene actividad fisiológica bajo temperaturas relativamente bajas, característica que explica su amplia adaptación a los ecosistemas altoandinos. No obstante, temperaturas inferiores a 10 °C disminuyen la expansión foliar, reducen la actividad fotosintética y retrasan el crecimiento, mientras que temperaturas elevadas

incrementan la respiración, aceleran la senescencia foliar y reducen la persistencia de la pradera (Wang et al., 2022; Lee et al., 2024).

Precipitación y disponibilidad hídrica

La disponibilidad de agua constituye uno de los factores que mayor influencia ejerce sobre el crecimiento y la persistencia de *Lolium perenne*. Para expresar su máximo potencial productivo, la especie requiere una precipitación anual bien distribuida entre 800 y 1.200 mm, aunque bajo sistemas intensivos de producción puede alcanzar altos rendimientos con disponibilidades hídricas superiores a 1.500 mm año⁻¹ o mediante riego suplementario. Aunque los Andisoles presentan elevada capacidad de retención de agua, los periodos prolongados de déficit hídrico reducen la expansión foliar, disminuyen la conductancia estomática y la tasa fotosintética, limitan la emisión de nuevos macollos y afectan la acumulación de biomasa y la calidad nutricional del forraje. Por el contrario, el exceso de humedad y el drenaje deficiente favorecen condiciones de hipoxia radicular que restringen la absorción de nutrientes y disminuyen la persistencia de la pradera (Lee et al., 2024; Wang et al., 2022; Yu et al., 2023).

Altitud y radiación solar

El Centro Experimental San Francisco se localiza aproximadamente a 2.900 m s. n. m., donde predominan condiciones de elevada radiación solar, temperaturas moderadas durante el día y bajas temperaturas nocturnas. Estas condiciones favorecen la captación de radiación fotosintéticamente activa; sin embargo, la amplitud térmica característica de los ecosistemas altoandinos reduce la actividad microbiana del suelo y ralentiza los procesos de mineralización del nitrógeno. En este contexto, la incorporación de biofertilizantes enriquecidos con bacterias promotoras del crecimiento vegetal representa una alternativa para incrementar la eficiencia en el uso de nutrientes y mejorar la productividad de las praderas bajo condiciones de altura (W. O. Ehinmitan et al., 2024; Wang et al., 2022).

2.2.1.4. Nutrición mineral y función del nitrógeno

Entre todos los nutrientes esenciales requeridos por *Lolium perenne* L., el nitrógeno constituye el elemento mineral que ejerce la mayor influencia sobre el crecimiento vegetativo, la producción de biomasa y la calidad nutricional del forraje. Este macronutriente forma parte de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, clorofila, ATP y numerosas enzimas involucradas en la fotosíntesis, la respiración y el

metabolismo del carbono, razón por la cual su disponibilidad determina directamente la productividad de las pasturas (Marschner, 2012; Hirel et al., 2021).

Asimismo, una adecuada nutrición nitrogenada incrementa la emisión y supervivencia de macollos, favorece la expansión del área foliar, prolonga la actividad fotosintética y estimula la síntesis de proteínas, traduciéndose en una mayor acumulación de materia seca y en un incremento del contenido de proteína cruda del forraje. En contraste, la deficiencia de nitrógeno provoca clorosis, reducción del crecimiento vegetativo, disminución de la actividad fotosintética y pérdidas significativas en el rendimiento y calidad nutricional de las praderas (Wang et al., 2022; Hirel et al., 2021).

En los sistemas ganaderos intensivos estas limitaciones suelen compensarse mediante aplicaciones frecuentes de fertilizantes nitrogenados sintéticos. Sin embargo, la eficiencia de recuperación del nitrógeno aplicado rara vez supera el 50 %, debido a pérdidas ocasionadas por lixiviación de nitratos, volatilización de amoníaco y procesos de desnitrificación. Además de incrementar los costos de producción, estas pérdidas contribuyen a la contaminación de aguas superficiales y subterráneas, la eutrofización y la emisión de óxido nitroso (N_2O), uno de los principales gases de efecto invernadero asociados a la agricultura (Lassaletta et al., 2022; FAO, 2022b).

En este contexto, los biofertilizantes enriquecidos con bacterias promotoras del crecimiento vegetal representan una alternativa biotecnológica para incrementar la eficiencia del uso del nitrógeno. Microorganismos como *Azospirillum brasilense* y *Methylobacterium symbioticum* favorecen la fijación biológica de nitrógeno, estimulan el desarrollo del sistema radical mediante la producción de fitohormonas y mejoran la absorción de nutrientes, contribuyendo a disminuir la dependencia de fertilizantes minerales y promoviendo sistemas agrícolas más sostenibles (Ehinmitan et al., 2024; Bashan y de-Bashan, 2010).

2.2.1.5. Crecimiento, producción de biomasa y calidad bromatológica

El crecimiento de *Lolium perenne* L. resulta de la interacción entre el potencial genético del cultivar, las condiciones edafoclimáticas, la disponibilidad de nutrientes y las prácticas de manejo agronómico. Entre los principales indicadores utilizados para evaluar el comportamiento productivo de esta especie destacan la altura de planta, el número de macollos, la velocidad de rebrote, la persistencia de la pradera

y la producción de biomasa fresca y seca, variables estrechamente relacionadas con la eficiencia fotosintética y el aprovechamiento de los recursos del suelo (Jayasinghe et al., 2021; Wang et al., 2022).

La producción de biomasa constituye el principal indicador del rendimiento de las pasturas destinadas a la alimentación animal. Su acumulación depende de la interacción entre la radiación fotosintéticamente activa, la temperatura, la disponibilidad hídrica, la fertilidad del suelo y, especialmente, del suministro de nitrógeno. Una adecuada nutrición nitrogenada incrementa el macollamiento, favorece la expansión del área foliar, prolonga la actividad fotosintética y mejora la eficiencia en el uso de la radiación, promoviendo una mayor acumulación de materia seca y una recuperación más rápida después del corte o pastoreo (Hirel et al., 2021; Wang et al., 2022).

Por otra parte, la calidad bromatológica constituye un criterio fundamental para evaluar el valor nutritivo del forraje destinado a la alimentación de rumiantes. Entre los parámetros más utilizados se encuentran el contenido de materia seca, proteína cruda, fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), cenizas, digestibilidad de la materia seca y energía metabolizable, variables que determinan el consumo voluntario, la digestibilidad y el aporte nutricional del forraje para la producción de leche y carne (Van Soest, 1994; Wilkins & Humphreys, 2022).

Diversas investigaciones han demostrado que una adecuada disponibilidad de nitrógeno y la utilización de microorganismos promotores del crecimiento vegetal favorecen la síntesis de proteínas, incrementan la actividad fotosintética y mejoran la absorción de nutrientes, lo que se traduce en aumentos significativos tanto en el rendimiento de biomasa como en la calidad nutricional del forraje. En consecuencia, la evaluación conjunta del crecimiento, la producción de biomasa y la calidad bromatológica constituye un criterio integral para determinar la eficiencia agronómica de nuevas estrategias de fertilización biológica, como el empleo de bioles enriquecidos con bacterias fijadoras de nitrógeno (Ehinmitan et al., 2024; Wang et al., 2022).

2.2.2. El lactosuero como recurso agroindustrial

2.2.2.1. Origen y características del lactosuero

El lactosuero constituye el principal subproducto generado durante la elaboración de queso y caseína. Se obtiene tras la coagulación de la leche y la separación de la

cuajada, representando aproximadamente entre el 85 y el 90 % del volumen inicial de leche procesada y reteniendo cerca del 50–55 % de sus nutrientes originales, entre ellos lactosa, proteínas solubles, vitaminas hidrosolubles y minerales (Ryan & Walsh, 2016; Smithers, 2015).

Desde el punto de vista tecnológico, el lactosuero se clasifica en lactosuero dulce y lactosuero ácido, dependiendo del mecanismo de coagulación empleado durante la fabricación del queso. El lactosuero dulce, obtenido mediante coagulación enzimática con quimosina, presenta valores de pH comprendidos entre 6,0 y 6,6 y constituye la materia prima de mayor interés para procesos biotecnológicos debido a su elevado contenido de lactosa y proteínas séricas. Por su parte, el lactosuero ácido se genera mediante coagulación por acidificación, posee un pH inferior a 5,0 y contiene mayores concentraciones de calcio y fósforo solubilizados (Prazeres et al., 2012; Ryan & Walsh, 2016).

Actualmente, la industria láctea genera millones de toneladas de lactosuero cada año como consecuencia del incremento sostenido en la producción mundial de queso. Aunque parte de este subproducto es destinado a la obtención de concentrados proteicos, bebidas funcionales y alimentos para animales, una proporción importante continúa siendo descartada sin tratamiento previo, especialmente en pequeñas y medianas industrias lácteas de países en desarrollo, donde las limitaciones tecnológicas dificultan su aprovechamiento integral (Palmieri et al., 2017; FAO, 2023a).

2.2.2.2. Composición química y valor nutricional

El elevado potencial biotecnológico del lactosuero está determinado por su composición química. Aproximadamente el 93–94 % corresponde a agua, mientras que el restante 6–7 % está constituido por sólidos totales, principalmente lactosa, proteínas séricas, lípidos, minerales y vitaminas hidrosolubles (Ryan & Walsh, 2016).

La lactosa representa el principal componente sólido del lactosuero y constituye la principal fuente de carbono para numerosos microorganismos utilizados en procesos fermentativos. Asimismo, las proteínas del lactosuero, entre las que destacan la β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, albúmina sérica e inmunoglobulinas, poseen elevado valor biológico debido a su contenido de aminoácidos esenciales y péptidos

bioactivos con propiedades antioxidantes, antimicrobianas e inmunomoduladoras (Smithers, 2015; H. Aslam et al., 2024).

Además de su aporte energético y proteico, el lactosuero contiene cantidades importantes de calcio, fósforo, potasio, magnesio y vitaminas del complejo B, elementos que favorecen el metabolismo microbiano durante los procesos de fermentación y aumentan su potencial como materia prima para la elaboración de biofertilizantes líquidos (Carvalho et al., 2023).

Tabla 2. Composición química promedio del lactosuero dulce

Componente	Contenido aproximado (%)
Agua	93,0–94,0
Lactosa	4,5–5,0
Proteínas	0,6–0,9
Lípidos	0,2–0,5
Cenizas (minerales)	0,5–0,7
Ácido láctico	0,05–0,20
pH	6,0–6,6

Fuente: Carvalho et al. (2023a).

2.2.2.3. Producción de biol a partir de lactosuero

El biol es un biofertilizante líquido obtenido mediante procesos controlados de fermentación biológica de materiales orgánicos de origen vegetal o animal, en presencia de comunidades microbianas capaces de transformar compuestos complejos en metabolitos fácilmente asimilables por las plantas (FAO, 2022a). Durante este proceso se producen modificaciones bioquímicas que incrementan la disponibilidad de nutrientes minerales, aminoácidos, vitaminas, ácidos orgánicos y sustancias bioactivas con efecto bioestimulante sobre los cultivos (R. Kumar et al., 2022).

Cuando el lactosuero se emplea como materia prima para la elaboración de biol, aporta una fuente abundante de lactosa, proteínas séricas, minerales y compuestos nitrogenados que favorecen el desarrollo de microorganismos fermentativos. La lactosa constituye el principal sustrato energético para bacterias ácido-lácticas y otros microorganismos beneficiosos, permitiendo la producción de ácidos orgánicos que estabilizan microbiológicamente el producto y disminuyen el riesgo de proliferación de microorganismos patógenos (Ryan & Walsh, 2016; Carvalho et al., 2023a).

Durante la fermentación se desarrollan múltiples transformaciones bioquímicas. Las proteínas son hidrolizadas parcialmente hasta generar péptidos y aminoácidos libres; los carbohidratos son metabolizados para producir ácidos orgánicos; y diversos microorganismos sintetizan vitaminas, enzimas, compuestos fenólicos y metabolitos secundarios que incrementan el valor agronómico del biofertilizante. Como resultado, el biol presenta una elevada actividad biológica y una mayor disponibilidad de nutrientes respecto al material original (Kumar et al., 2022; M. Aslam et al., 2024).

La calidad del biol depende de diversos factores, entre ellos la composición inicial del sustrato, la relación carbono:nitrógeno, el tiempo de fermentación, la temperatura, el pH y la composición microbiológica del sistema. Bajo condiciones controladas, estos factores permiten obtener un biofertilizante estable, con elevada carga microbiana benéfica y características fisicoquímicas adecuadas para aplicaciones foliares o al suelo (FAO, 2022a; Carvalho et al., 2023b).

En los últimos años, la producción de bioles elaborados a partir de residuos agroindustriales ha cobrado creciente importancia debido a su contribución a la economía circular. La transformación del lactosuero en un biofertilizante reduce la contaminación ambiental, disminuye los costos de manejo de residuos y genera un insumo agrícola de alto valor agregado para sistemas de producción sostenibles (M. Aslam et al., 2024).

2.2.2.4. Propiedades agronómicas del biol

El biol constituye un bioinsumo que combina propiedades fertilizantes y bioestimulantes. A diferencia de los fertilizantes minerales convencionales, su acción no se limita al aporte de nutrientes, sino que incorpora metabolitos microbianos, ácidos orgánicos, aminoácidos, vitaminas, enzimas y compuestos bioactivos que favorecen múltiples procesos fisiológicos de las plantas (R. Kumar et al., 2022).

Desde el punto de vista nutricional, el biol aporta nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y micronutrientes en concentraciones moderadas, complementados por compuestos orgánicos que mejoran la eficiencia de absorción y utilización de estos elementos por parte de la planta. Además, los ácidos orgánicos producidos durante la fermentación favorecen la solubilización de nutrientes presentes en el suelo y estimulan la actividad microbiológica de la rizósfera (Carvalho et al., 2023b).

Diversas investigaciones han demostrado que la aplicación de bioles incrementa el crecimiento radical, favorece el desarrollo foliar, mejora la acumulación de biomasa y aumenta el contenido de clorofila en diferentes especies agrícolas. Estos efectos están asociados tanto al suministro de nutrientes como a la presencia de metabolitos con actividad similar a fitohormonas, capaces de estimular la división y elongación celular (Kumar et al., 2022; Aslam et al., 2024).

En pasturas destinadas a la alimentación animal, la utilización de biofertilizantes líquidos ha mostrado efectos positivos sobre la producción de materia seca, el contenido de proteína cruda, la eficiencia en el uso del nitrógeno y la persistencia de las praderas. Estos beneficios adquieren especial importancia en sistemas ganaderos altoandinos, donde las bajas temperaturas limitan la mineralización natural del nitrógeno del suelo y reducen la disponibilidad de nutrientes para las gramíneas forrajeras (FAO, 2022a; A. Singh et al., 2024).

Por otra parte, el uso continuo de bioles contribuye al mejoramiento de la calidad biológica del suelo al incrementar la diversidad microbiana, estimular los procesos de reciclaje de nutrientes y favorecer la formación de agregados estables, aspectos fundamentales para mantener la productividad de los sistemas agrícolas bajo un enfoque de agricultura regenerativa (Backer et al., 2018; Kumar et al., 2022).

2.2.3. Biofertilizantes y microorganismos promotores del crecimiento vegetal

2.2.3.1. Conceptos y clasificación de los biofertilizantes

Los biofertilizantes constituyen formulaciones elaboradas a partir de microorganismos vivos o de sus metabolitos que, al ser aplicados al suelo, a las semillas o directamente sobre las plantas, incrementan la disponibilidad y la eficiencia de utilización de nutrientes, estimulan el crecimiento vegetal y mejoran la productividad de los cultivos sin generar los impactos ambientales asociados al uso intensivo de fertilizantes sintéticos (Schütz et al., 2018; Kumar et al., 2022).

A diferencia de los fertilizantes minerales, cuyo efecto consiste en aportar nutrientes de manera directa, los biofertilizantes actúan principalmente mediante procesos biológicos que favorecen la nutrición vegetal y el equilibrio microbiológico del suelo. Entre estos procesos destacan la fijación biológica de nitrógeno, la solubilización de fósforo y potasio, la producción de fitohormonas, la síntesis de sideróforos, la inducción de resistencia sistémica y el mejoramiento de la estructura física y biológica de la rizósfera (Backer et al., 2018; Kumar et al., 2022).

Desde el punto de vista funcional, los biofertilizantes pueden clasificarse en microorganismos fijadores de nitrógeno, microorganismos solubilizadores de fósforo, microorganismos movilizadores de potasio, hongos micorrízicos arbusculares, bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*) y consorcios microbianos multifuncionales. En los últimos años, estos últimos han despertado especial interés debido a que la interacción entre diferentes especies microbianas permite potenciar múltiples mecanismos fisiológicos de manera simultánea, incrementando la eficiencia de la fertilización biológica (Olanrewaju et al., 2017; A. Singh et al., 2024).

En el contexto de la agricultura sostenible, los biofertilizantes representan una herramienta estratégica para reducir la dependencia de fertilizantes nitrogenados sintéticos, mejorar la eficiencia en el uso de nutrientes y disminuir las emisiones de gases de efecto invernadero derivadas de la producción y aplicación de fertilizantes químicos (FAO, 2022; Singh et al., 2024).

2.2.3.2. Mecanismos de acción de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal

Los microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPR) comprenden un grupo diverso de bacterias capaces de establecer asociaciones benéficas con las plantas mediante mecanismos directos e indirectos que incrementan el crecimiento, el rendimiento y la tolerancia frente a condiciones de estrés biótico y abiótico (Backer et al., 2018).

Los mecanismos directos incluyen principalmente la fijación biológica del nitrógeno atmosférico, mediante la cual las bacterias convierten el nitrógeno molecular (N_2) en formas asimilables para las plantas; la solubilización de fosfatos minerales insolubles; la movilización de potasio; la producción de sideróforos que incrementan la disponibilidad de hierro; y la síntesis de fitohormonas como ácido indolacético (AIA), giberelinas y citoquininas, responsables de estimular el desarrollo radicular y el crecimiento de la biomasa aérea (Olanrewaju et al., 2017; A. Kumar et al., 2022).

Por otra parte, los mecanismos indirectos comprenden la producción de antibióticos, enzimas hidrolíticas y metabolitos secundarios que limitan el desarrollo de microorganismos fitopatógenos. Asimismo, muchas PGPR inducen resistencia

sistémica en las plantas, fortaleciendo sus mecanismos fisiológicos de defensa frente a enfermedades y estrés ambiental (Backer et al., 2018; B. K. Singh et al., 2024).

Como consecuencia de estos procesos, las plantas incrementan la eficiencia en el uso del agua y de los nutrientes, mejoran la actividad fotosintética y presentan mayor capacidad de recuperación después de condiciones adversas, favoreciendo incrementos sostenidos en la productividad agrícola.

2.2.3.3. *Methylobacterium symbioticum*

Taxonomía y características microbiológicas

Methylobacterium symbioticum es una bacteria endófito perteneciente al dominio Bacteria, filo *Pseudomonadota* (antes *Proteobacteria*), clase *Alphaproteobacteria*, orden *Hyphomicrobiales*, familia *Methylobacteriaceae* y género *Methylobacterium*. Este género comprende bacterias ampliamente distribuidas en ecosistemas terrestres que establecen relaciones mutualistas con numerosas especies vegetales, favoreciendo procesos relacionados con la nutrición, el crecimiento y la adaptación al estrés ambiental (Knief, 2015; Grossi et al., 2024).

Los análisis filogenómicos más recientes evidencian que *M. symbioticum* forma parte del grupo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB, *Plant Growth-Promoting Bacteria*), caracterizadas por colonizar eficientemente tejidos internos de las plantas sin inducir síntomas de patogenicidad (Guha & Mandal Biswas, 2024).

Tabla 3. Clasificación taxonómica de *Methylobacterium symbioticum*

Categoría	Nombre
Dominio	Bacteria
Filo	<i>Pseudomonadota</i> (<i>Proteobacteria</i>)
Clase	<i>Alphaproteobacteria</i>
Orden	<i>Hyphomicrobiales</i>
Familia	<i>Methylobacteriaceae</i>
Género	<i>Methylobacterium</i>
Especie	<i>Methylobacterium symbioticum</i>

Fuente: Grossi et al. (2024).

Desde el punto de vista microbiológico, *M. symbioticum* es una bacteria Gram negativa, aerobia estricta, no esporulada y con morfología bacilar. Forma colonias de color rosado debido a la presencia de carotenoides, pigmentos que protegen a la célula frente a la radiación ultravioleta y al estrés oxidativo (Knief, 2015). Asimismo, presenta crecimiento relativamente lento en medios de cultivo y posee una elevada capacidad para colonizar hojas, tallos y otros órganos vegetales, estableciendo

asociaciones endófitas estables que benefician el desarrollo fisiológico de la planta (Grossi et al., 2024).

Metabolismo metilotrófico y colonización vegetal

Una de las principales características fisiológicas de *Methylobacterium symbioticum* es su metabolismo metilotrófico facultativo, que le permite utilizar compuestos de un solo carbono, principalmente metanol, como fuente de energía y carbono (Knief, 2015). Este alcohol es liberado naturalmente por las plantas durante la desmetilación de las pectinas que ocurre en los procesos de expansión celular, generando un microambiente favorable para el establecimiento de bacterias metilotróficas sobre la superficie foliar (Guha & Mandal Biswas, 2024).

Inicialmente, la bacteria coloniza la filósfera, adhiriéndose a la cutícula y a las regiones cercanas a los estomas. Posteriormente, puede ingresar a los tejidos internos mediante aberturas naturales o pequeñas heridas, estableciéndose como un microorganismo endófito sin ocasionar daños al hospedero (Grossi et al., 2024). Esta interacción facilita un intercambio permanente de metabolitos entre la planta y la bacteria, favoreciendo relaciones mutualistas que incrementan la eficiencia fisiológica del cultivo.

Diversos estudios han demostrado que especies del género *Methylobacterium* pueden colonizar hojas, tallos, flores, semillas e incluso raíces, lo que evidencia una elevada plasticidad ecológica y explica su creciente utilización como componente de biofertilizantes comerciales destinados a mejorar el crecimiento y la productividad agrícola (Abou Jaoudé et al., 2024).

Mecanismos promotores del crecimiento vegetal

El efecto bioestimulante de *Methylobacterium symbioticum* se debe a diversos mecanismos fisiológicos que actúan simultáneamente sobre el metabolismo vegetal. Uno de los más importantes corresponde a su participación en la fijación biológica del nitrógeno, proceso mediante el cual una fracción del nitrógeno atmosférico es transformada en formas asimilables por las plantas, contribuyendo a mejorar la eficiencia en el uso de este nutriente y reduciendo parcialmente la dependencia de fertilizantes nitrogenados minerales (Li et al., 2024).

Asimismo, *M. symbioticum* sintetiza fitohormonas, principalmente ácido indolacético (AIA), las cuales estimulan la división y elongación celular, favorecen la formación de raíces laterales y aumentan la superficie de absorción de agua y nutrientes. Investigaciones recientes también reportan la producción de citoquininas y otros compuestos reguladores del crecimiento que mejoran el desarrollo vegetativo y la actividad fotosintética de las plantas (Grossi et al., 2024).

De igual manera, esta bacteria produce vitaminas del complejo B, aminoácidos y diversos metabolitos secundarios que favorecen el metabolismo vegetal. Paralelamente, incrementa la actividad de enzimas antioxidantes como catalasa, peroxidasa y superóxido dismutasa, reduciendo la acumulación de especies reactivas de oxígeno y mejorando la tolerancia de las plantas frente a condiciones de estrés abiótico, como déficit hídrico, altas temperaturas y salinidad (Fanai et al., 2024).

Como resultado de estos mecanismos fisiológicos, numerosas investigaciones han documentado incrementos significativos en el contenido de clorofila, mayor eficiencia fotosintética, incremento del crecimiento vegetativo y una mayor producción de biomasa, especialmente cuando la bacteria se incorpora como biofertilizante en cultivos agrícolas de interés económico (Grossi et al., 2024; Li et al., 2024).

Aplicaciones agrícolas

Durante la última década, *Methylobacterium symbioticum* ha adquirido creciente importancia dentro de la agricultura sostenible debido a su utilización como biofertilizante para mejorar la eficiencia del uso del nitrógeno y reducir parcialmente la aplicación de fertilizantes minerales. Diversas formulaciones comerciales basadas en esta bacteria han demostrado efectos positivos sobre el crecimiento vegetal, el desarrollo radicular y el rendimiento de diferentes cultivos bajo condiciones de campo (Li et al., 2024).

Las aplicaciones más documentadas corresponden a cereales, leguminosas, hortalizas y cultivos industriales; sin embargo, investigaciones recientes también evidencian resultados promisorios en gramíneas forrajeras, donde la inoculación favorece el incremento de la biomasa, mejora la actividad fotosintética y aumenta la eficiencia fisiológica del cultivo (Grossi et al., 2024).

Aunque la información específica sobre *Lolium perenne* aún es limitada, las características fisiológicas de *M. symbioticum* permiten considerar a esta bacteria como un microorganismo con alto potencial para sistemas ganaderos sostenibles. En este contexto, su incorporación al biol elaborado a partir de lactosuero constituye una estrategia biotecnológica prometedora para incrementar el crecimiento y la calidad nutricional del raigrás, reduciendo simultáneamente la dependencia de fertilizantes nitrogenados sintéticos y contribuyendo al desarrollo de sistemas de producción más sostenibles (Guha & Mandal Biswas, 2024; Li et al., 2024).

2.2.3.4. *Azospirillum brasilense*

Taxonomía y características microbiológicas

Azospirillum brasilense es una bacteria promotora del crecimiento vegetal ampliamente estudiada por su capacidad para establecer asociaciones benéficas con gramíneas y otros cultivos de importancia agrícola. Taxonómicamente pertenece al dominio Bacteria, filo *Pseudomonadota* (Proteobacteria), clase *Alphaproteobacteria*, orden *Hyphomicrobiales*, familia *Azospirillaceae*, género *Azospirillum* y especie *Azospirillum brasilense*. Diversos estudios filogenéticos han demostrado que esta especie constituye uno de los microorganismos más utilizados como biofertilizante en cereales, pasturas y otros cultivos debido a su elevada capacidad para promover el crecimiento vegetal mediante múltiples mecanismos fisiológicos.

Tabla 4. Clasificación taxonómica de *Azospirillum brasilense*

Categoría	Nombre
Dominio	Bacteria
Filo	<i>Pseudomonadota</i> (Proteobacteria)
Clase	<i>Alphaproteobacteria</i>
Orden	<i>Hyphomicrobiales</i>
Familia	<i>Azospirillaceae</i>
Género	<i>Azospirillum</i>
Especie	<i>Azospirillum brasilense</i>

Fuente: Martínez et al. (2023).

Desde el punto de vista microbiológico, *A. brasilense* es una bacteria Gram negativa, con forma de bacilo ligeramente curvo, móvil gracias a la presencia de flagelos polares y laterales, no esporulada y de metabolismo quimioorganotrófico. Presenta crecimiento óptimo en ambientes con disponibilidad moderada de oxígeno, condición que favorece la actividad de la enzima nitrogenasa responsable de la

fijación biológica del nitrógeno. Además, posee una elevada capacidad para sintetizar sustancias extracelulares que facilitan su adhesión a la superficie radical y la formación de biopelículas estables.

Su importancia agrícola radica en la facilidad para colonizar la rizósfera de gramíneas y establecer asociaciones no simbióticas altamente eficientes, sin inducir estructuras especializadas como los nódulos presentes en las leguminosas. Esta característica permite su utilización en una amplia diversidad de especies agrícolas, especialmente maíz, trigo, arroz, cebada, caña de azúcar y pasturas.

Colonización de la rizósfera

El establecimiento de *Azospirillum brasilense* sobre las raíces constituye uno de los procesos más importantes para ejercer sus efectos promotores del crecimiento vegetal. La colonización inicia mediante procesos de quimiotaxis, donde la bacteria responde a los compuestos orgánicos liberados por los exudados radicales, particularmente aminoácidos, azúcares y ácidos orgánicos, que actúan como señales químicas para su atracción hacia la superficie de la raíz.

Posteriormente, la bacteria se adhiere a la epidermis radical mediante la producción de exopolisacáridos y otras moléculas de adhesión que favorecen la formación de biopelículas (biofilms). Estas estructuras incrementan la estabilidad de la población bacteriana, mejoran la comunicación celular y favorecen el intercambio de metabolitos entre la bacteria y la planta, permitiendo una colonización persistente durante gran parte del ciclo del cultivo.

Aunque *A. brasilense* se considera principalmente una bacteria rizosférica, diferentes investigaciones han demostrado que determinadas cepas pueden colonizar parcialmente los tejidos internos de las raíces y de la base del tallo, estableciendo asociaciones endofíticas de baja intensidad. Esta estrecha interacción mejora la absorción de agua y nutrientes, favorece el desarrollo del sistema radical y aumenta la capacidad de exploración del suelo, particularmente en gramíneas utilizadas para producción de forraje.

Mecanismos promotores del crecimiento vegetal

El principal mecanismo asociado a *Azospirillum brasilense* corresponde a la fijación biológica del nitrógeno atmosférico. Mediante la acción del complejo enzimático nitrogenasa, la bacteria transforma parte del nitrógeno molecular (N_2) en formas

aprovechables para la planta, incrementando la disponibilidad de este nutriente y mejorando la eficiencia del uso del nitrógeno, especialmente cuando se combina con dosis moderadas de fertilización mineral.

Además de la fijación biológica del nitrógeno, *A. brasilense* sintetiza fitohormonas como ácido indolacético (AIA), giberelinas y citoquininas, las cuales estimulan la división y elongación celular, incrementan la formación de raíces laterales y pelos absorbentes y favorecen una mayor exploración del volumen del suelo. Como consecuencia, las plantas presentan mayor capacidad para absorber agua y nutrientes minerales, reflejándose en incrementos del crecimiento vegetativo y de la producción de biomasa.

Otro mecanismo relevante consiste en la producción de sideróforos, moléculas capaces de quelar hierro presente en el suelo y facilitar su disponibilidad para la planta. Paralelamente, muchas cepas producen la enzima ACC desaminasa, que reduce la concentración de etileno inducido por estrés, favoreciendo el crecimiento radical bajo condiciones de sequía, salinidad o deficiencia nutricional. Estos mecanismos incrementan la tolerancia fisiológica de los cultivos frente a diferentes factores de estrés abiótico.

Diversas investigaciones realizadas en cereales, tubérculos y gramíneas forrajeras han demostrado que la inoculación con *A. brasilense* incrementa la biomasa aérea y radical, mejora la absorción de nitrógeno, fósforo y potasio, aumenta la eficiencia fotosintética y favorece mayores rendimientos cuando se integra dentro de programas de manejo nutricional sostenible.

Aplicaciones agrícolas

Actualmente, *Azospirillum brasilense* constituye uno de los microorganismos más utilizados en la industria mundial de los biofertilizantes. Diversas formulaciones comerciales elaboradas con las cepas Ab-V5 y Ab-V6 han sido ampliamente adoptadas en sistemas agrícolas de Brasil y otros países, donde han demostrado incrementos consistentes en el desarrollo radical, la absorción de nutrientes, la productividad y la eficiencia del uso del nitrógeno en cultivos de maíz, trigo, arroz, cebada y pasturas.

En investigaciones recientes también se han documentado efectos positivos en papa, yuca, hortalizas y sistemas hidropónicos, observándose incrementos en la

acumulación de biomasa, el contenido de nitrógeno foliar y el rendimiento, particularmente cuando la inoculación se complementa con programas racionales de fertilización nitrogenada.

En especies forrajeras, *A. brasilense* representa una alternativa promisorio para incrementar la productividad de las praderas y reducir parcialmente la dependencia de fertilizantes nitrogenados sintéticos. En consecuencia, su incorporación como microorganismo enriquecedor del biol elaborado a partir de lactosuero constituye una estrategia biotecnológica con alto potencial para mejorar el crecimiento, la producción de biomasa y la calidad nutricional del raigrás (*Lolium perenne* L.) bajo las condiciones agroecológicas del norte del Ecuador.

III. METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

3.1.1. Enfoque

La presente investigación adoptó un enfoque de carácter cuantitativo, debido a que se fundamentó en la recolección de datos numéricos y su posterior análisis estadístico para caracterizar el desarrollo del raigrás perenne (*Lolium perenne* L.). Se evaluaron de forma objetiva variables morfológicas (altura de planta y número de hojas) y de rendimiento de biomasa (materia verde y materia seca) en dos cortes sucesivos, además de un análisis de composición bromatológica final. Adicionalmente, se incorporó un análisis financiero de beneficio-costos para determinar la rentabilidad económica de cada dosis evaluada en función de su eficiencia productiva.

3.1.2. Tipo de Investigación

El estudio corresponde a una investigación de tipo experimental, porque busca resolver un problema agronómico local mediante el uso de biol enriquecido con la manipulación de forma intencional de las variables independientes (dosis de biol y tipos de bacterias fijadoras de nitrógeno) para medir su efecto sobre el rendimiento del forraje.

3.2. HIPÓTESIS

Hipótesis Alternativa (H_a)

La aplicación de diferentes dosis de biol elaborado a base de lactosuero y enriquecido con bacterias fijadoras de nitrógeno influye significativamente en el crecimiento y en la calidad nutricional del raigrás perenne (*Lolium perenne* L.).

Hipótesis Nula (H₀)

La aplicación de diferentes dosis de biol elaborado a base de lactosuero y enriquecido con bacterias fijadoras de nitrógeno no influye significativamente en el crecimiento ni en la calidad nutricional del raigrás perenne (*Lolium perenne* L.).

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

3.3.1. Definición de las variables

Variable independiente: Dosis de biol elaborado a base de lactosuero (0%, 50% y 100%) y dos tipos de bacterias fijadoras de nitrógeno (*Methylobacterium symbioticum* y *Azospirillum brasilense*).

Variable dependiente: Crecimiento vegetativo (altura de planta y número de hojas), producción de biomasa (materia verde y materia seca) en dos cortes, calidad nutricional bromatológica (humedad, cenizas, extracto etéreo, proteína cruda, fibra y elementos libres de nitrógeno) y rentabilidad económica (relación costo-beneficio) del raigrás perenne (*Lolium perenne* L.).

3.3.2. Operacionalización de las variables

Tabla 5. Operacionalización de variables

Variable	Dimensiones	Indicadores	Técnicas	Instrumentos
Independiente	Biol a base de lactosuero	Niveles de biol: 0%, 50% y 100% de la dosis de campo	Aplicación foliar dirigida al follaje y aplicación en drench dirigida a la rizósfera. Aplicada los días 30, 45, 60 y 75.	Bomba de mochila, probetas graduadas, cuaderno de campo y esfero.
	Bacterias fijadoras de nitrógeno	1 g/L <i>Methylobacterium symbioticum</i> 7.5 ml/L <i>Azospirillum brasilense</i>		
	Altura de planta	En centímetros (cm) se midió cada 7 días desde el día 17 hasta el día 88	Medición física de la hoja más larga desde la base	Flexómetro (metro), cuaderno de campo y esfero.
	Número de hojas	En Unidades medidos cada 7 días desde el día 17 hasta el día 88	Conteo directo en las plantas de la parcela neta.	Cuaderno de campo y esfero.
Dependiente	Materia verde	En gramos por metro cuadrado (g/m2) obtenidos en el Corte 1 y Corte 2 a los 60 y 88 días después de la siembra.	Método del cuadrante para el corte de forraje y pesaje de la biomasa total.	Cuadrante metálico de 1 m2, balanza digital
	Materia seca	En gramos por metro cuadrado (g/m2) obtenidos en el Corte 1 y Corte 2	Deshidratación de la materia verde por calor.	Horno de secado, balanza digital
	Rendimiento	En Kg/ha sumado la materia verde de los 2 cortes.	Sumar los valores de materia verde de las dos cosechas.	Computadora portátil
	Composición bromatológica	Porcentaje (%) de humedad, cenizas, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno (ELN).	Análisis bromatológico a partir de una muestra compuesta de 1000 g de materia verde enviada tras el segundo corte.	Balanza digital
	Análisis económico	Valor expresado en dólares americanos (USD) al finalizar la investigación.	Análisis económico mediante el cociente matemático entre el beneficio neto y el costo de inversión por tratamiento.	Computadora portátil

3.4. MÉTODOS UTILIZADOS

3.4.1. Área de estudio

La investigación de campo se llevó a cabo en el Centro Experimental "San Francisco" de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi (UPEC), situado en el cantón Huaca, provincia del Carchi, Ecuador. El sitio de ensayo se ubica bajo las coordenadas geográficas de 0°36'55" de Latitud Norte y 77°45'07" de Longitud Oeste.

El lote experimental se encuentra a una altitud de 2.890 m s. n. m., caracterizándose por una precipitación anual media de 950 mm, una temperatura promedio de 11,5 °C y una humedad relativa promedio del 78%. De acuerdo con la clasificación de Peña (2012), la zona corresponde a una estepa espinosa Montano Bajo (ee-MB). Debido a las características agronómicas de adaptación del raigrás perenne (*Lolium perenne* L.) a este clima templado-frío, el estudio se desarrolló a campo abierto para evaluar los tratamientos bajo las condiciones naturales de la región.

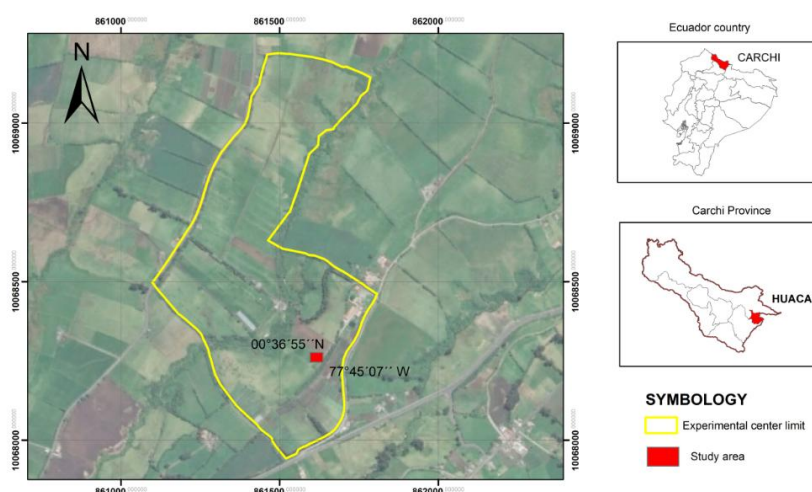


Figura 2. Ubicación del experimento

3.4.2. Tratamientos del diseño experimental

La investigación se constituyó de 10 tratamientos que se describen a continuación:

Tabla 6. Tratamientos del experimento

Tratamientos	Factor A	Factor B
	Dosis de biol	Tipo de bacteria
T1	0 %	<i>Methylobacterium symbioticum</i>
T2	50 %	<i>Methylobacterium symbioticum</i>
T3	100 %	<i>Methylobacterium symbioticum</i>
T4	0 %	<i>Azospirillum brasilense</i>
T5	50 %	<i>Azospirillum brasilense</i>
T6	100 %	<i>Azospirillum brasilense</i>

T7	0 %	Sin bacteria
T8	50 %	Sin bacteria
T9	100 %	Sin bacteria
T10	Testigo químico (CRECIMAX-700 / 1 gr/L)	

Nota. La dosis de biol del 100% corresponde a 500 mL de biol en 1500 mL de agua; la del 50% a 250 mL de biol en 1750 mL de agua. En los tratamientos con inoculantes bacterianos, se aplicó una dosis de 1 g/L para *Methylobacterium symbioticum* y 7,5 mL/L para *Azospirillum brasilense*.

3.4.3. Características del diseño experimental

La investigación de campo se ejecutó utilizando un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con un arreglo factorial de 3x3+1, estructurando un total de 10 tratamientos y 4 repeticiones, lo que dio como resultado un total de 40 unidades experimentales. Cada unidad experimental contó con una dimensión de 3 m x 3 m, abarcando un área individual de 9 m². El área total destinada para la implantación del ensayo fue de 756 m², superficie que incluyó pasillos de separación de 1 m entre parcelas y de 2 m entre bloques, garantizando el aislamiento necesario para mitigar el efecto de borde y evitar la contaminación cruzada entre los tratamientos.

Tabla 7. Características del experimento

DBCA con arreglo factorial 3 x 3 + 1	Dimensiones
Tratamientos	10
Repeticiones	4
Unidades experimentales	40
Área de unidad experimental	(3 m x 3 m) = 9 m ²
Área total del experimento	756 m ²
Cantidad de semilla por unidad experimental	50 g
Distancia entre parcelas	1 m
Distancia entre bloques	2 m
Parcela neta (plantas)	5

3.4.4. Distribución y características del experimento

Para la distribución física del experimento en campo, se implementó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con un arreglo factorial 3x3+1. El ensayo se conformó por un total de 40 unidades experimentales, resultado de la interacción entre los 10 tratamientos evaluados y las 4 repeticiones establecidas. Esta disposición permitió controlar la variabilidad del terreno y garantizar la validez estadística de los resultados.

Cada unidad experimental contó con una superficie individual de 9 m² (3 m x 3 m). Para la correcta ejecución de las labores culturales y evitar la interferencia entre

tratamientos, se definieron distancias de seguridad consistentes en 1 m entre parcelas y 2 m entre bloques, lo que permitió un área total de estudio de 756 m². La siembra se realizó utilizando una cantidad de 50 g de semilla por unidad experimental. Para la toma de datos biométricos y de rendimiento, se estableció una parcela neta conformada por 5 plantas centrales en cada unidad experimental, descartando los bordes perimetrales para asegurar la representatividad de la muestra y minimizar el efecto de borde en el cultivo de cebada.

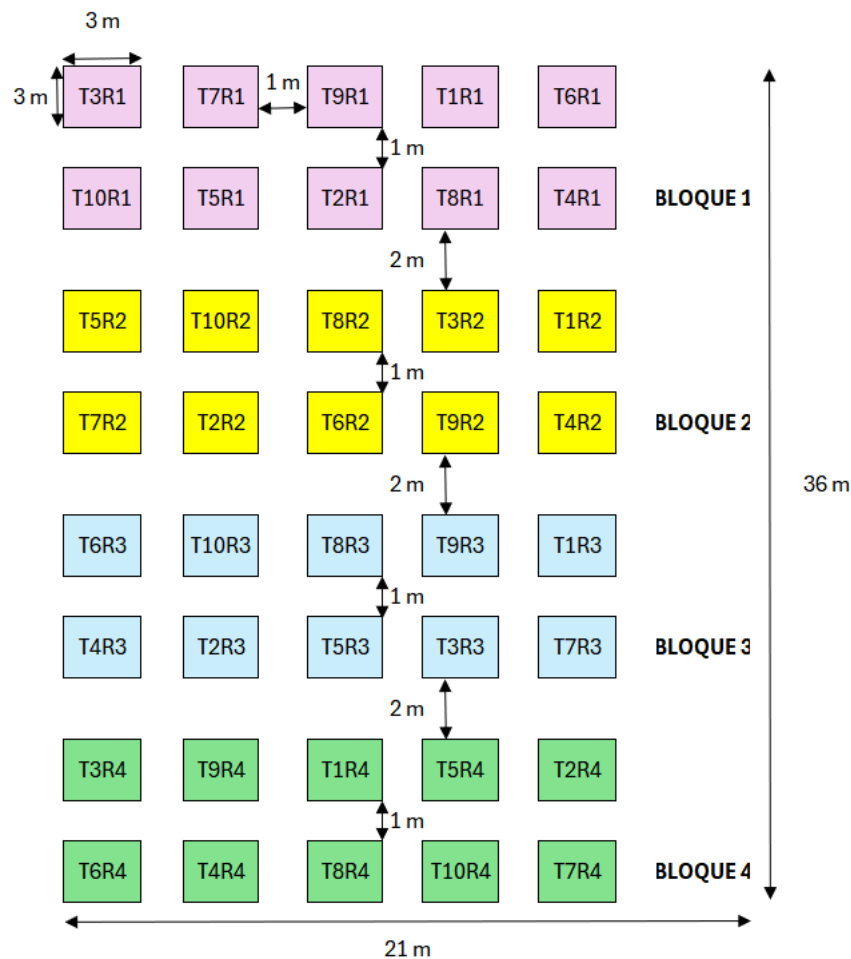


Figura 3. Distribución del ensayo

3.4.5. Población y muestra de la investigación

La población de la presente investigación estuvo conformada por la totalidad de plantas de raigrás (*Lolium perenne* L.) establecidas en el área experimental (756 m²), las cuales fueron distribuidas en las 40 unidades experimentales que integraron el diseño de bloques completamente al azar.

Para la muestra y la evaluación de las variables de crecimiento, rendimiento y calidad nutricional, se aplicó un muestreo sistemático dentro de cada unidad experimental.

Se seleccionó una parcela neta, constituida por 5 plantas centrales por cada unidad, descartando las plantas perimetrales para eliminar el efecto de borde y minimizar variaciones ambientales no controladas en los extremos de las parcelas.

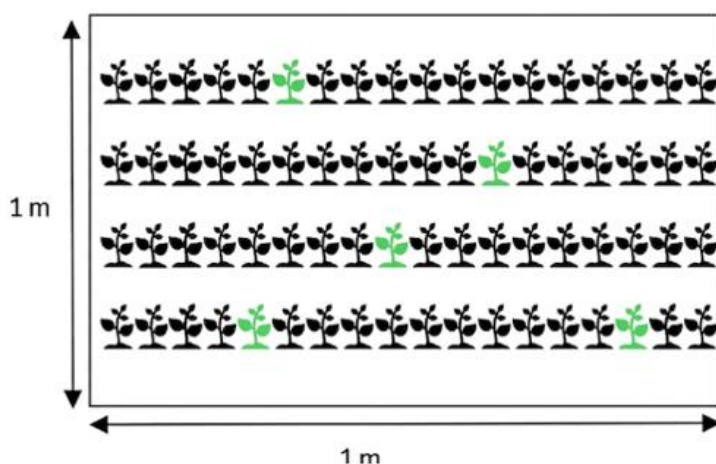


Figura 4. Parcela neta

3.4.6. Procedimientos

1. Elaboración del biol

Antes de iniciar la fase experimental de campo, se procedió a elaborar el biol siguiendo las directrices técnicas del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA, 2008). El proceso de fermentación se llevó a cabo en un tanque biodigestor de 160 litros de capacidad. Para la preparación se utilizaron 38 kg de estiércol de porcino (fuente de microorganismos y materia orgánica), 8 L de lactosuero (fuente de lactosa como energía bacteriana), 4 kg de hojas picadas de leguminosas (aporte de nitrógeno y estructura), 2 kg de ceniza (aporte de minerales como potasio y calcio), 4 L de melaza (fuente de azúcares para activar la fermentación), 30 g de levadura (para acelerar el proceso) y 90 L de agua como medio líquido.

Una vez homogeneizada la mezcla, el biodigestor se selló herméticamente. En la tapa superior se instaló una válvula de escape de gases (trampa de agua), consistente en una manguera plástica sellada al tanque cuyo extremo opuesto se sumergió en una botella con agua, garantizando así un ambiente estrictamente anaeróbico. El biol se dejó fermentar durante 70 días en un espacio protegido de la incidencia solar y las precipitaciones. Finalizado el periodo, el líquido fue filtrado y almacenado. Una muestra representativa del producto final fue enviada al laboratorio LABONORT de la

ciudad de Ibarra para su respectivo análisis químico (pH, conductividad eléctrica y macronutrientes).

2. Análisis de suelo

Previo a la instalación del experimento en el Centro Experimental San Francisco, se tomó una muestra representativa del suelo en el área de campo abierto destinada para el ensayo. La muestra fue sometida a un análisis físico-químico para determinar las condiciones iniciales de fertilidad, pH y disponibilidad de macronutrientes. Estos datos sirvieron como línea base para conocer el estado nutricional del terreno y asegurar que las condiciones de partida fueran homogéneas para todos los tratamientos a evaluar.

3. Preparación del área experimental

El ensayo se desarrolló bajo condiciones de campo abierto. El área fue acondicionada aproximadamente 15 días antes de la siembra mediante labores mecanizadas. Se utilizó un arado de discos para remover el suelo a una profundidad de 25 a 30 cm, rompiendo las capas compactadas. Posteriormente, se pasó una rastra para desmenuzar los terrones, nivelar la superficie y eliminar malezas emergentes, garantizando una cama de siembra con textura suelta y humedad óptima.

4. Trazado y delimitación

Se implementó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con arreglo factorial $3 \times 3 + 1$. Se delimitaron físicamente las 40 unidades experimentales (de 9 m² cada una) utilizando estacas, cordeles y rótulos de identificación. Para evitar la deriva o "contaminación cruzada" de los bioles durante las aplicaciones, se establecieron pasillos de separación de 1 metro entre parcelas y de 2 metros entre bloques.

5. Siembra

Se utilizó semilla certificada de raigrás perenne (*Lolium perenne* L.). La siembra se realizó manualmente utilizando el método al voleo, aplicando una densidad de 50 gramos de semilla por cada unidad experimental (2 kg en total para el ensayo). Para asegurar la uniformidad, la semilla se esparció en dos direcciones cruzadas y posteriormente se realizó un ligero rastrillado manual para cubrirla con una capa delgada de suelo (1 cm).

6. Elaboración y aplicación de los tratamientos

Previo al ensayo, el biol de lactosuero se fermentó anaeróbicamente durante 70 días. Para las aplicaciones en campo, se prepararon soluciones con un volumen constante de 2 litros por parcela (con dosis de biol al 0%, 50% y 100%). A estas soluciones se les adicionaron las bacterias fijadoras (*Methylobacterium symbioticum* a 1 g/L y *Azospirillum brasilense* a 7,5 mL/L). Las aplicaciones se realizaron mediante bomba de mochila a los 30 y 45 días después de la siembra, y posteriormente a los 60 y 75 días, mientras que el testigo químico recibió el producto CRECIMAX-700.

7. Manejo agronómico y Cortes

Durante el ciclo del cultivo, se ejecutó un monitoreo constante y control manual de malezas. A los 60 días después de la siembra (dds), se realizó el primer corte (corte de igualación) empleando una motoguadaña. Se dejó un residuo de 5 cm de altura desde el nivel del suelo para estimular un rebrote uniforme. A los 88 dds se realizó el segundo corte de evaluación bajo los mismos parámetros técnicos.

8. Recolección de datos y Cosecha de biomasa

La toma de datos morfológicos (altura y número de hojas) se realizó en el Corte 1 y Corte 2 a los 60 y 88 días después de la siembra midiendo directamente la parcela neta (10 plantas centrales). La evaluación del rendimiento de materia verde se ejecutó pesando la biomasa total cosechada por parcela, y la materia seca se calculó deshidratando submuestras de 100 g. Finalmente, en el segundo corte se enviaron muestras al laboratorio del INIAP para el análisis bromatológico, y se procedió al cálculo de rentabilidad mediante la relación Beneficio/Costo por tratamiento.

3.4.7. Variables evaluadas

3.4.7.1. Altura de planta

Se midió en centímetros (cm) utilizando un flexómetro. La medición física se realizó tomando como referencia desde la base del tallo a nivel del suelo hasta el ápice de la hoja más larga. Esta variable morfológica se registró a los 60 y 88 días después de la siembra (dds), tomando como unidad de observación las plantas centrales que conformaron la parcela neta para evitar el efecto borde.

3.4.7.2. Número de hojas

Consistió en el conteo visual y directo del número de hojas emitidas por las plantas dentro de la parcela neta. Este registro se ejecutó a los 60 y 88 días después de la siembra, permitiendo cuantificar la tasa de desarrollo foliar estimulada por la aplicación del biol a base de lactosuero y los consorcios bacterianos (*Methylobacterium symbioticum* y *Azospirillum brasilense*).

3.4.7.3. Rendimiento de materia verde

Se determinó al momento de realizar las cosechas correspondientes al Corte 1 (a los 60 dds) y al Corte 2 (a los 88 dds). Para la toma de esta variable, se empleó el método del cuadrante metálico de 1 m² lanzado al azar dentro de cada parcela. La biomasa total fresca cortada dentro del área del cuadrante se pesó inmediatamente en campo utilizando una balanza digital, registrando el valor en gramos por metro cuadrado (g/m²).

3.4.7.4. Porcentaje de materia seca

Para determinar el contenido de materia seca, se extrajo una muestra representativa 100 g a partir de la materia verde obtenida en cada unidad experimental, tanto en el primer como en el segundo corte. Las muestras fueron sometidas a un proceso de deshidratación por calor utilizando un horno de secado hasta alcanzar un peso constante. Mediante diferencia de peso en la balanza digital, se calculó la biomasa seca, expresando el resultado final en gramos por metro cuadrado (g/m²).

3.4.7.5. Rendimiento total

Se determinó sumando los valores obtenidos de materia verde de las dos cosechas (Corte 1 y Corte 2) realizadas a los 60 y 88 días después de la siembra. Los datos obtenidos en las unidades experimentales fueron extrapolados y normalizados mediante proyecciones matemáticas utilizando una computadora portátil, expresando el rendimiento productivo total en kilogramos por hectárea (Kg/ha).

3.4.7.6. Composición bromatológica

Esta evaluación nutricional se ejecutó a partir de una muestra compuesta de 1000 g de forraje (materia verde) recolectada tras el segundo corte (88 dds). La muestra fue empacada, etiquetada y remitida al laboratorio para su respectivo análisis. Se determinaron y cuantificaron, en términos de porcentaje (%), las fracciones de humedad, cenizas, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda y el extracto libre de nitrógeno (ELN).

3.4.7.7. Análisis económico

Se calculó la viabilidad económica de la investigación mediante el cociente matemático entre el beneficio neto y el costo de inversión total por tratamiento. Para ello, se consideraron los costos fijos y variables de producción frente a los ingresos proyectados por el rendimiento de biomasa, expresando el indicador final en dólares americanos (USD). Un resultado mayor a 1 determinó el nivel de rentabilidad de las alternativas de biofertilización evaluadas.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos experimentales, obtenidos a partir de un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con un arreglo factorial de $3 \times 3 + 1$ (correspondiente a 40 unidades experimentales), fueron procesados mediante el entorno estadístico R Studio. Inicialmente, se procedió a la verificación de los supuestos teóricos requeridos empleando la prueba de Shapiro-Wilk para comprobar la normalidad de los datos, y la prueba de Bartlett para confirmar la homogeneidad de varianzas. Una vez validados estos supuestos, se ejecutó el Análisis de Varianza (ANOVA) para determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas respecto a los efectos principales de los niveles de biol a base de lactosuero (Factor A), las cepas de bacterias fijadoras de nitrógeno (Factor B), el efecto de la interacción entre ambos factores (A x B), y la comparación ortogonal frente al tratamiento testigo absoluto (sin aplicación). Finalmente, para establecer la jerarquía estadística y realizar la separación de medias de los siete tratamientos evaluados en las variables agronómicas y de rendimiento, se aplicó la prueba de rangos múltiples de Tukey con un nivel de significancia del 5% ($p < 0.05$).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

4.1.1. Altura de planta

En la Tabla 8 se presenta el Análisis de Varianza (ANOVA) para la variable altura de planta, evaluada en los dos momentos de cosecha del raigrás: Corte 1 (60 días después de la siembra - dds) y Corte 2 (88 dds).

Durante el primer corte (60 dds), el modelo estadístico detectó que el factor Bloques presentó un efecto Muy Significativo ($p < 0.01$), lo que indica la existencia de un gradiente de variabilidad en las condiciones del terreno experimental. Al evaluar los tratamientos de forma global, se observó un efecto Significativo ($p < 0.05$). Sin embargo, al desglosar el arreglo factorial puro, ni la dosis de biol, ni el tipo de bacteria, ni su interacción presentaron diferencias estadísticas, reportando un comportamiento No Significativo ($p > 0.05$). El contraste ortogonal determinó un efecto Significativo ($p < 0.05$) entre el comportamiento del Testigo Químico frente al grupo general de los tratamientos orgánicos biofertilizados.

Para el segundo corte (88 dds), la influencia del gradiente del terreno se acentuó, mostrando el factor Bloques un efecto Altamente Significativo ($p < 0.001$). El comportamiento global de los tratamientos mantuvo un efecto Significativo ($p < 0.05$), mientras que los factores individuales (dosis de biol y tipo de bacteria) y su interacción continuaron siendo No Significativos ($p > 0.05$). El contraste ortogonal ratificó un efecto Significativo ($p < 0.05$) al comparar la eficacia del uso del paquete químico convencional versus las alternativas orgánicas. Los coeficientes de variación obtenidos oscilaron entre 11.38% y 12.10%. Estos valores, al situarse por debajo del 15%, evidencian una adecuada precisión experimental en la recolección de los datos, lo que otorga fiabilidad a los análisis estadísticos realizados.

Tabla 8. Análisis de varianza para la variable Altura de planta Corte 1 y Corte 2

F.v	GL	Corte 1 (60 dds)	Corte 2 (88 dds)
		p valor	
Bloques	3	0.00372 **	0.000661 ***
Dosis biol	2	0.41267	0.1951
Tipo bacteria	2	0.06798	0.6818
Dosis biol x Tipo bacteria	4	0.39571	0.2640
Tratamientos	9	0.04504 *	0.01533 *
Testigo vs Factorial	1	0.01629 *	0.010939 *
Error	27		
Total	39		
Media (cm)		19.37	29.52
CV (%)		11.38	12.10

Nota. Significado de los códigos: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.

En la Tabla 9, los resultados de la Prueba de Tukey al 5% para la altura de planta en el Corte 1 indicaron que el tratamiento más exitoso fue el T10 (Testigo Químico), con una media de 22.05 cm. Además, dentro del factor de microorganismos y bioles, el tratamiento T5 (50% Biol + *Azospirillum*) alcanzó una media de 20.85 cm. Esto sugiere que el uso del paquete químico convencional (identificado como T10) fue el más favorable para esta variable en la primera etapa, aunque compartió rango de significancia con varias combinaciones orgánicas. Por otro lado, se muestra la Prueba de Tukey al 5% para el Corte 2, donde se identifica que el tratamiento T10 (Testigo Químico) continuó siendo el más exitoso con una media de 34.15 cm. Sin embargo, el tratamiento T9 (100% Biol + Sin bacteria) destacó como la mejor alternativa orgánica con una media de 31.40 cm, tomando en cuenta que se ubicó en el mismo grupo de eficiencia. El tratamiento con los resultados más bajos en ambas evaluaciones fue el T7 (0% Biol + Sin bacteria).

Tabla 9. Comparación de medias según la prueba de Tukey para la variable Altura de planta Corte 1 y Corte 2

Tratamiento	Descripción	Corte 1 (60 dds)		Corte 1 (88 dds)	
		Media (cm)	Grupo	Media (cm)	Grupo
T10	Testigo Químico (CRECIMAX-700)	22.05	a	34.15	A
T9	100% Biol + Sin bacteria	19.35	ab	31.40	Ab
T1	0% Biol + <i>Methylobacterium</i>	18.95	ab	29.90	Ab
T3	100% Biol + <i>Methylobacterium</i>	19.10	ab	29.90	Ab
T8	50% Biol + Sin bacteri	18.30	ab	29.45	Ab
T5	50% Biol + <i>Azospirillum</i>	20.85	ab	29.45	Ab
T2	50% Biol + <i>Methylobacterium</i>	19.55	ab	29.20	Ab
T6	100% Biol + <i>Azospirillum</i>	19.15	ab	28.90	Ab
T4	0% Biol + <i>Azospirillum</i>	20.10	ab	28.25	Ab
T7	0% Biol + Sin bacteria	16.30	b	24.60	B

Nota. Medias con la misma letra no presentan diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

La Figura 5 ilustra el comportamiento dinámico de la altura del raigrás a través del tiempo, evaluado desde los 25 hasta los 88 días después de la siembra (dds). La curva evidencia una tendencia ascendente constante en todos los tratamientos durante las dos fases del cultivo, lo que demuestra un crecimiento vegetativo sostenido.

El corte realizado a los 60 dds generó una caída abrupta en los valores de altura promedio en todos los tratamientos, lo cual representa el efecto fisiológico del manejo del cultivo al finalizar el primer ciclo productivo. A pesar de este evento, se observa una capacidad de rebrote inmediata al inicio del Corte 2 (67 dds), recuperando la verticalidad y continuando con la tendencia de crecimiento hasta los 88 dds.

Al analizar la dispersión de las líneas, se identifica claramente que el tratamiento T10 (Testigo Químico) mantuvo un comportamiento superior durante todo el proceso, mostrando una tasa de crecimiento más acelerada que el resto de los tratamientos, coincidiendo con los resultados estadísticos obtenidos en la prueba de Tukey. En el extremo opuesto, se distingue la línea correspondiente al tratamiento T7 (0% Biol + Sin bacteria), el cual presentó el menor vigor y altura promedio en todas las mediciones realizadas, confirmando que la ausencia de biofertilización limita significativamente el desarrollo vertical del raigrás. El resto de las combinaciones orgánicas mostraron un comportamiento intermedio y homogéneo entre sí, evidenciando una tendencia de crecimiento similar, pero sin lograr superar la eficiencia del paquete químico.

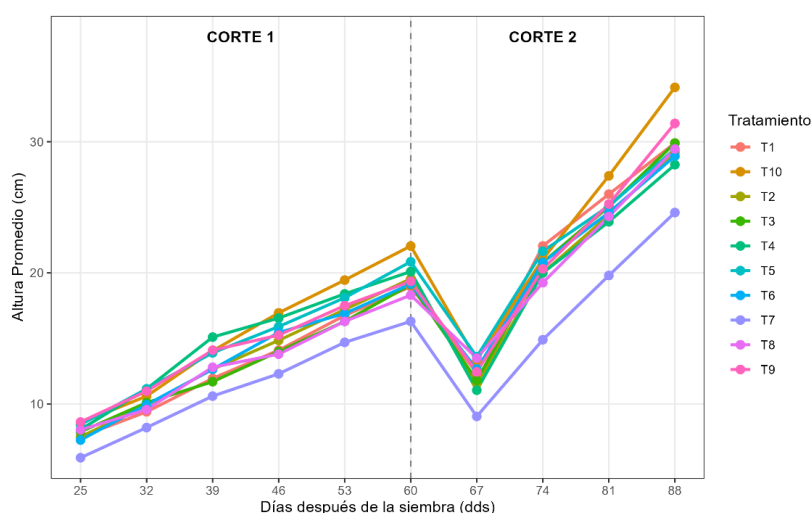


Figura 5. Curva de crecimiento de la altura de planta de raigrás durante el Corte 1 y Corte 2.

4.1.2. Número de hojas

En la Tabla 10 se presenta el Análisis de Varianza (ANOVA) para la variable número de hojas, evaluada en los dos momentos de corte (60 y 88 dds).

En el Corte 1 (60 dds), el análisis estadístico evidenció un efecto Altamente Significativo ($p < 0.001$) únicamente en el factor Bloques, lo que sugiere la presencia de una variabilidad en las condiciones experimentales del terreno que influyó en esta variable. Sin embargo, al evaluar el factor de estudio (Tratamientos), así como la Dosis de biol, el Tipo de bacteria y su interacción, se obtuvo un comportamiento No Significativo ($p > 0.05$). De igual manera, el contraste ortogonal entre el Testigo Químico y el grupo de los tratamientos orgánicos fue No Significativo ($p > 0.05$), indicando que no hubo una ventaja comparativa en el número de hojas mediante el uso de estos insumos.

Para el segundo corte (88 dds), no se registraron diferencias estadísticas en ninguno de los factores evaluados, reportando todos un comportamiento No Significativo ($p > 0.05$). El coeficiente de variación fue de 6.89% en el Corte 1 y de 3.58% en el Corte 2, lo que ratifica la alta precisión y confiabilidad en la toma de datos experimentales.

Tabla 10. Análisis de varianza para la variable Número de hojas Corte 1 y Corte 2

F.v	GL	Corte 1 (60 dds)	Corte 2 (88 dds)
		p valor	
Bloques	3	0.000172 ***	0.230
Dosis biol	2	0.5473	0.410
Tipo bacteria	2	0.1570	0.590
Dosis biol x Tipo bacteria	4	0.1575	0.555
Tratamientos	9	0.2332	0.526
Testigo vs Factorial	1	0.3148	0.213
Error	27		
Total	39		
Media (#)		2.61	2.76
CV (%)		6.89	3.58

Nota. Significado de los códigos: 0 '***' 0.001 '***' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.

En la Tabla 11 se observa los promedios del número de hojas por planta. Los resultados confirman que no existen diferencias estadísticas entre los tratamientos, tanto en el Corte 1 como en el Corte 2. Esto demuestra que la aplicación de los bioles y las bacterias evaluadas no alteró el número de hojas producidas por el raigrás en comparación con el testigo químico.

Tabla 11. Comparación de promedios para la variable Número de hojas Corte 1 y Corte 2

Tratamiento	Descripción	Corte 1 (60 dds)	Corte 1 (88 dds)
		Media (#)	Media (#)
T1	0% Biol + <i>Methylobacterium</i>	2.80	2.77
T3	100% Biol + <i>Methylobacterium</i>	2.75	2.75
T10	Testigo Químico (CRECIMAX-700)	2.70	2.82
T5	50% Biol + <i>Azospirillum</i>	2.65	2.80
T6	100% Biol + <i>Azospirillum</i>	2.57	2.77
T9	100% Biol + Sin bacteria	2.57	2.80
T7	0% Biol + Sin bacteria	2.55	2.65
T8	50% Biol + Sin bacteria	2.52	2.75
T2	50% Biol + <i>Methylobacterium</i>	2.50	2.77
T4	0% Biol + <i>Azospirillum</i>	2.50	2.75
T1	50% Biol + <i>Azospirillum</i>	2.80	2.77

La Figura 6 ilustra el comportamiento dinámico del número de hojas de raigrás a través del tiempo, evaluado desde los 25 hasta los 88 días después de la siembra (dds). La curva evidencia una tendencia ascendente constante en todos los tratamientos durante las dos fases del cultivo, lo que demuestra una emisión foliar y un crecimiento vegetativo sostenido.

El corte realizado a los 60 dds generó una caída abrupta en los valores promedios del número de hojas en todos los tratamientos, lo cual representa el efecto fisiológico lógico del manejo del cultivo al finalizar el primer ciclo productivo (cosecha). A pesar de este evento, se observa una capacidad de rebrote inmediata al inicio del Corte 2 (67 dds), recuperando el vigor y continuando con la tendencia de formación de nuevas hojas hasta los 88 dds.

Al analizar la dispersión de las líneas, se identifica claramente un comportamiento aglomerado y homogéneo entre todos los tratamientos a lo largo de las evaluaciones. A diferencia de lo observado en la altura de la planta, ninguna línea muestra una superioridad o inferioridad marcada, coincidiendo de forma exacta con los resultados estadísticos obtenidos en el ANOVA, donde no se reportaron diferencias significativas. Esto confirma que tanto el uso del paquete químico convencional (T10) como las diversas combinaciones orgánicas con biofertilizantes y bacterias, promovieron una tasa de desarrollo foliar similar, indicando que el número de hojas es una característica morfológica que se mantuvo estable y no fue alterada significativamente por los insumos aplicados.

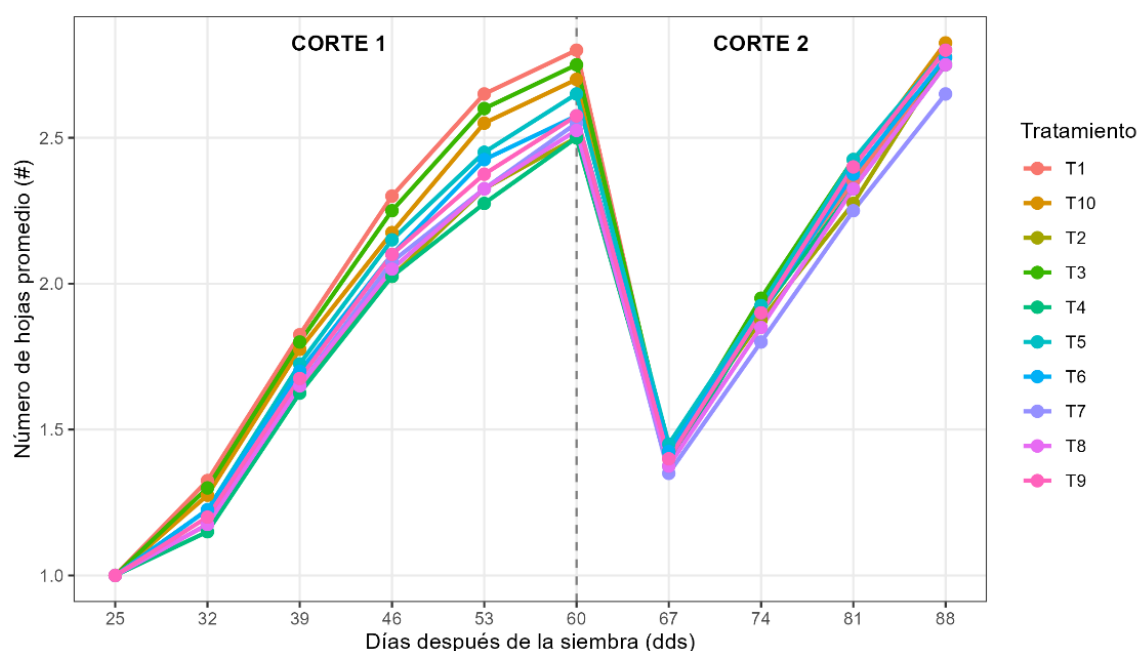


Figura 6. Evolución del número de hojas de raigrás durante el Corte 1 y Corte 2.

4.1.3. Rendimiento de materia verde

En la Tabla 12 se presenta el Análisis de Varianza (ANOVA) para la variable rendimiento de materia verde, evaluada en los dos momentos de cosecha: Corte 1 (60 dds) y Corte 2 (88 dds).

El modelo estadístico determinó que, para ambos cortes, el factor Bloques presentó un comportamiento No Significativo ($p > 0,05$). Al evaluar los tratamientos de forma global, se evidenció un efecto Altamente Significativo ($p < 0,001$) tanto en el primer como en el segundo corte, demostrando que las diferentes alternativas nutricionales generaron rendimientos productivos claramente diferenciados.

Al analizar los factores individuales, la Dosis de biol tuvo un efecto Altamente Significativo ($p < 0,001$) y el Tipo de bacteria un efecto Significativo ($p < 0,05$) en las dos evaluaciones; sin embargo, la interacción de ambos insumos (Dosis x Bacteria) fue No Significativa ($p > 0,05$). El contraste ortogonal ratificó un efecto Altamente Significativo ($p < 0,001$) al comparar el Testigo Químico frente al grupo de los tratamientos orgánicos biofertilizados. Los coeficientes de variación fueron de 13,39% y 13,16% respectivamente, evidenciando una excelente precisión experimental en la toma de datos de campo.

Tabla 12. Análisis de varianza para la variable Rendimiento de materia verde Corte 1 y Corte 2

F.v	GL	Corte 1 (60 dds)	Corte 2 (88 dds)
		p valor	
Bloques	3	0.5237	0.721542
Dosis biol	2	5.34e-07 ***	3.6e-07 ***
Tipo bacteria	2	0.0261 *	0.0147 *
Dosis biol x Tipo bacteria	4	0.6028	0.5362
Tratamientos	9	3.51e-06 ***	2.51e-06 ***
Testigo vs Factorial	1	0.000542 ***	0.000381 ***
Error	27		
Total	39		
Media (g/m ²)		669.7	624.9
CV (%)		13.39	13.16

Nota. Significado de los códigos: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.

En la Tabla 13 se detallan los resultados de la prueba de comparación múltiple Tukey al 5%. Para el Corte 1, los mayores rendimientos se obtuvieron con los tratamientos T10 (Testigo Químico) y T3 (100% Biol + *Methylobacterium*), alcanzando medias de 836,55 g/m² y 807,35 g/m² respectivamente, ubicándose ambos en el grupo de mayor eficiencia (grupo a).

Esta tendencia favorable se consolidó en el Corte 2, donde el T3 (757,43 g/m²) y el T10 (753,16 g/m²) compartieron nuevamente el rango de mayor significancia estadística (grupo a), uniéndose a ellos el tratamiento T6 (100% Biol + *Azospirillum*) con 733,39 g/m². En ambos cortes, el tratamiento con menor rendimiento de biomasa verde fue el T7 (0% Biol + Sin bacteria), ubicándose en el último rango de significancia. Estos resultados evidencian de manera contundente que la aplicación de dosis altas de biol combinadas con microorganismos específicos logra igualar la productividad de biomasa fresca del paquete químico convencional.

Tabla 13. Comparación de medias según la prueba de Tukey para la variable Rendimiento de materia verde Corte 1 y Corte 2

Tratamiento	Descripción	Corte 1 (60 dds)		Corte 1 (88 dds)	
		Media (g/m ²)	Grupo	Media (g/m ²)	Grupo
T10	Testigo Químico	836,55	a	753,16	A
T3	100% Biol + <i>Methylobacterium</i>	807,35	a	757,43	A
T6	100% Biol + <i>Azospirillum</i>	763,68	ab	733,39	A
T9	100% Biol + Sin bacteria	759,45	abc	716,05	Ab
T2	50% Biol + <i>Methylobacterium</i>	721,13	abcd	677,76	Abc
T5	50% Biol + <i>Azospirillum</i>	718,3	abcd	661	Abc
T8	50% Biol + Sin bacteria	571,2	bcde	531,76	Bcd
T1	0% Biol + <i>Methylobacterium</i>	543,48	cde	509,11	Cd
T4	0% Biol + <i>Azospirillum</i>	534,35	de	513,51	Cd
T7	0% Biol + Sin bacteria	441,65	e	395,45	D

Nota. Medias con la misma letra no presentan diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

4.1.4. Porcentaje de materia seca

En la Tabla 14 se presenta el Análisis de Varianza (ANOVA) para la variable porcentaje de materia seca, evaluada en los dos momentos de cosecha del raigrás: Corte 1 (60 dds) y Corte 2 (88 dds).

El modelo estadístico determinó que, para el primer corte (60 dds), todos los factores de estudio, incluyendo el factor Bloques, la Dosis de biol, el Tipo de bacteria, la interacción entre ambos insumos y los Tratamientos de forma global, presentaron un comportamiento No Significativo ($p > 0,05$). El contraste ortogonal entre el Testigo Químico y las alternativas orgánicas también resultó No Significativo ($p > 0,05$). Esto evidencia que las diferentes aplicaciones no alteraron de forma diferenciada la concentración de materia seca en esta etapa, manteniendo una media general del 19,95%, valor que se encuentra dentro de los rangos óptimos de succulencia para el consumo animal.

Esta tendencia de homogeneidad estadística se mantuvo de forma idéntica durante el segundo corte (88 dds), donde nuevamente todos los factores y el contraste ortogonal reportaron un efecto No Significativo ($p > 0,05$), alcanzando una media general de 22,64%. Los coeficientes de variación obtenidos fueron de 13,48% para el Corte 1 y 13,69% para el Corte 2, demostrando una alta precisión experimental y confiabilidad en el proceso de secado y pesaje de las muestras en el laboratorio.

Tabla 14. Análisis de varianza para la variable Porcentaje de materia seca Corte 1 y Corte 2

F.v	GL	Corte 1 (60 dds)	Corte 2 (88 dds)
		p valor	
Bloques	3	0.559	0.446
Dosis biol	2	0.138	0.244
Tipo bacteria	2	0.653	0.157
Dosis biol x Tipo bacteria	4	0.690	0.476
Tratamientos	9	0.704	0.384
Testigo vs Factorial	1	0.237	0.696
Error	27		
Total	39		
Media (%)		19.95	22.64
CV (%)		13.48	13.69

Nota. Significado de los códigos: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.

En la Tabla 15 se presenta los promedios del porcentaje de materia seca. Los resultados muestran que en el Corte 1, los valores oscilaron entre 13,41% (T7) y 23,89% (T6). Para el Corte 2, los valores se mantuvieron estables, fluctuando entre 14,23% (T7)

y 29,09% (T9). Estos resultados son agronómicamente favorables, ya que demuestran que la combinación de biofertilizantes orgánicos evaluados (biol y bacterias) no incide negativamente en la calidad estructural ni provoca una lignificación prematura del forraje al compararse con el manejo químico convencional (T10), garantizando un pasto altamente digestible.

Tabla 15. Comparación de promedios para la Porcentaje de materia seca Corte 1 y Corte 2

Tratamiento	Descripción	Corte 1 (60 dds)	Corte 1 (88 dds)
		Media (%)	Media (%)
T6	100% Biol + <i>Azospirillum</i>	23,89	24,11
T3	100% Biol + <i>Methylobacterium</i>	22,85	26,52
T9	100% Biol + Sin bacteria	22,12	29,09
T5	50% Biol + <i>Azospirillum</i>	21,49	22,23
T1	0% Biol + <i>Methylobacterium</i>	21,13	20,64
T8	50% Biol + Sin bacteria	20,34	22,54
T2	50% Biol + <i>Methylobacterium</i>	18,57	19,49
T4	0% Biol + <i>Azospirillum</i>	17,16	23,46
T10	Testigo Químico	16,01	24,07
T7	0% Biol + Sin bacteria	13,41	14,23

4.1.5. Rendimiento total

En la Tabla 16 se presenta el Análisis de Varianza (ANOVA) para las variables de rendimiento forrajero, expresadas en kilogramos por hectárea (Kg/ha), evaluando tanto la Materia Verde (MV) como la Materia Seca (MS).

Para la Materia Verde, el modelo estadístico determinó que el factor Bloques presentó un comportamiento No Significativo ($p > 0,05$). Al analizar los factores de estudio, se observó un efecto Altamente Significativo ($p < 0,001$) en los Tratamientos globales y en la Dosis de biol de manera individual. El Tipo de bacteria mostró un efecto Significativo ($p < 0,05$), mientras que la interacción directa entre los insumos (Dosis x Bacteria) fue No Significativa ($p > 0,05$). El contraste ortogonal determinó un efecto Muy Significativo ($p < 0,01$) al comparar la eficiencia del Testigo Químico frente al grupo factorial.

En cuanto a la Materia Seca, el factor Tratamientos evidenció un efecto Muy Significativo ($p < 0,01$) y la Dosis de biol un efecto Altamente Significativo ($p < 0,001$). El resto de las fuentes de variación, incluyendo el Tipo de bacteria, la interacción y el contraste ortogonal, resultaron No Significativos ($p > 0,05$). Los coeficientes de variación obtenidos fueron de 13,07% para MV y 19,50% para MS, valores que se enmarcan en los límites aceptables para ensayos agronómicos de campo, garantizando la confiabilidad de los datos.

Tabla 16. Análisis de varianza para la variable Rendimiento total de materia verde y materia seca

F.v	GL	Materia verde	Materia seca
		p valor	
Bloques	3	0.48822	0.19832
Dosis biol	2	3.42e-07 ***	8.55e-06 ***
Tipo bacteria	2	0.018 *	0.214
Dosis biol x Tipo bacteria	4	0.618	0.496
Tratamientos	9	2.17e-06 ***	0.00119 **
Testigo vs Factorial	1	0.00103 **	0.31357
Error	27		
Total	39		
Media (Kg/ha)		12.946,00	2.778,00
CV (%)		13.07	19.5

Nota. Significado de los códigos: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.

En la Tabla 17 se detallan los resultados de la comparación múltiple mediante la prueba de Tukey al 5%. Los datos demuestran la superioridad de los tratamientos T10 (Testigo Químico) y T3 (100% Biol + *Methylobacterium*). En la evaluación de Materia Verde, ambos tratamientos encabezaron la producción con 15.897,05 Kg/ha y 15.647,82 Kg/ha respectivamente, compartiendo el rango de mayor eficiencia (grupo a).

Esta tendencia altamente favorable para la propuesta ecológica se consolidó en la evaluación de la Materia Seca, donde el T3 superó numéricamente al resto con 3.834,56 Kg/ha, compartiendo el rango de mayor significancia estadística (grupo a) con los tratamientos T9, T6 y el Testigo Químico (T10). En contraparte, el tratamiento T7 (0% Biol + Sin bacteria) se ubicó consistentemente en el último nivel de significancia para ambas variables, presentando los rendimientos más bajos del ensayo. Estos hallazgos confirman de manera contundente que la biofertilización integral (T3) posee la capacidad agronómica de igualar e incluso potenciar el rendimiento forrajero del raigrás en comparación con el manejo químico convencional.

Tabla 17. Comparación de medias según la prueba de Tukey para la variable Rendimiento total de materia verde y materia seca

Tratamiento	Descripción	Materia verde		Materia seca	
		Media (Kg/ha)	Grupo	Media (Kg/ha)	Grupo
T10	Testigo Químico	15.897,05	a	3.177,16	a
T3	100% Biol + <i>Methylobacterium</i>	15.647,82	a	3.834,56	a
T6	100% Biol + <i>Azospirillum</i>	14.970,62	ab	3.568,08	a
T9	100% Biol + Sin bacteria	14.755,00	ab	3.803,91	a
T2	50% Biol + <i>Methylobacterium</i>	13.988,80	abc	2.670,83	ab
T5	50% Biol + <i>Azospirillum</i>	13.793,00	abc	3.021,34	ab
T8	50% Biol + Sin bacteria	11.029,60	bcd	2.274,93	ab
T1	0% Biol + <i>Methylobacterium</i>	10.525,80	cd	2.141,41	ab

T4	0% Biol + <i>Azospirillum</i>	10.478,55	cd	2.129,86	ab
T7	0% Biol + Sin bacteria	8.371,02	d	1.157,60	b

Nota. Medias con la misma letra no presentan diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Para determinar la relación y dependencia entre la producción de biomasa fresca y la biomasa seca del raigrás, se procedió a realizar un análisis de correlación de Pearson y un modelo de regresión lineal simple utilizando los 40 datos experimentales obtenidos en campo.

El análisis de correlación de Pearson determinó un coeficiente (r) de 0,73. Este valor indica una correlación positiva fuerte entre ambas variables, demostrando que a medida que aumenta el rendimiento de la materia verde, el rendimiento de la materia seca se incrementa de forma directamente proporcional. La prueba estadística determinó que esta asociación es Altamente Significativa ($p < 0,001$).

Posteriormente, se generó el modelo de regresión lineal simple, el cual arrojó un coeficiente de determinación (R cuadrado) de 0,526. Esto explica que el 52,6% de la variabilidad en la producción de materia seca está directamente explicada por el rendimiento de la materia verde obtenida en el cultivo, mientras que el porcentaje restante responde a otros factores ecofisiológicos y ambientales.

La ecuación predictiva resultante del modelo fue: $MS = -811,91 + 0,28 * MV$.

Desde el punto de vista agronómico, esta ecuación matemática constituye una herramienta de alto valor predictivo. Al introducir el dato de Materia Verde (MV) cosechada en campo dentro de la fórmula, se puede calcular con un alto nivel de confianza estadístico la cantidad de Materia Seca (MS) que estará disponible para la nutrición animal, optimizando así la toma de decisiones en el manejo forrajero y la capacidad de carga animal.

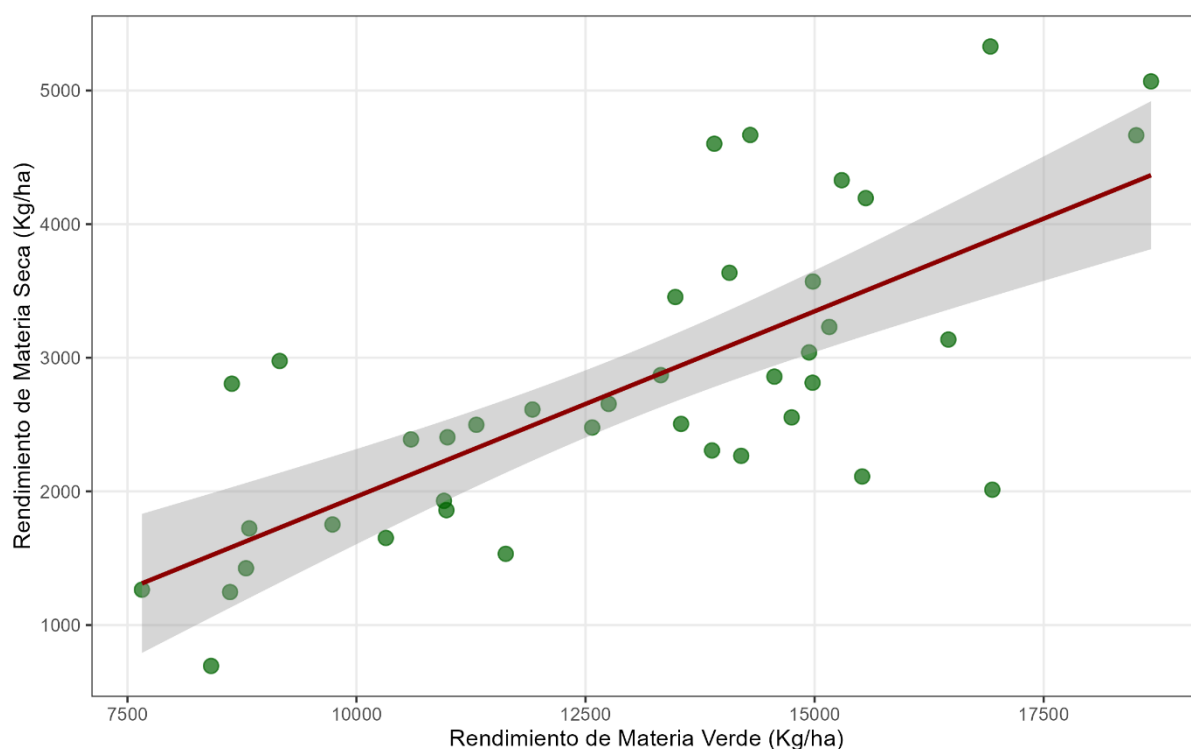


Figura 7. Análisis de correlación y regresión lineal entre el rendimiento de materia verde y materia seca.

4.1.6. Composición bromatológica

Debido a que el análisis bromatológico se realizó a partir de una muestra compuesta representativa del bloque I a los 88 días después de la siembra (dds), los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva, evaluando la calidad nutricional del forraje frente a los requerimientos teóricos óptimos para el raigrás (*Lolium perenne*). En la Tabla 18 se detallan los porcentajes de Humedad, y los componentes expresados en base a materia seca (Cenizas, Extracto Etéreo, Proteína, Fibra y Elementos Libres de Nitrógeno) obtenidos para cada uno de los tratamientos de estudio.

Tabla 18. Composición bromatológica del raigrás a los 88 dds según tratamiento

Trat	Descripción	Humedad (%)	Cenizas (%)	Extracto Etéreo (%)	Proteína (%)	Fibra (%)	ELN (%)
T1	0% Biol + <i>Methylobacterium</i>	86,04	11,8	4,32	18,58	21,58	44,63
T2	50% Biol + <i>Methylobacterium</i>	86,49	11,65	5,14	17,88	23,72	42,44
T3	100% Biol + <i>Methylobacterium</i>	85,7	12,43	6,47	19,2	22,82	42,91
T4	0% Biol + <i>Azospirillum</i>	87,47	11,39	5,35	16,4	23,51	37,33

T5	50% Biol + <i>Azospirillum</i>	87,14	11,67	5,49	16,7	23,88	40,07
T6	100% Biol + <i>Azospirillum</i>	86,89	12,07	4,4	19,38	24,62	43,18
T7	0% Biol + Sin bacteria	87,39	11,81	3,41	16,15	24,93	39,96
T8	50% Biol + Sin bacteria	86,84	11,74	4,39	18,17	24,5	41,19
T9	100% Biol + Sin bacteria	87,03	10,89	4,38	18,88	22,96	45,63
T10	Testigo Químico	86,94	12,01	4,87	18,82	23,76	40,54

El análisis descriptivo para los indicadores más críticos de calidad forrajera se ilustra en la Figura 8. El contenido de Proteína osciló entre un valor mínimo de 16,15% (T7) y un máximo de 19,38% (T6), seguido estrechamente por el T3 (19,20%), manteniendo una media general de 18,02%. Esto demuestra que los tratamientos biofertilizados (T6 y T3), lograron sintetizar una cantidad de proteína que supera ligeramente al paquete químico convencional (18,82%). Por su parte, el contenido de Fibra se mantuvo en un rango de 21,58% a 24,93%, con una media de 23,63%, valores ideales que proporcionan "fibra efectiva" sin provocar lignificación.

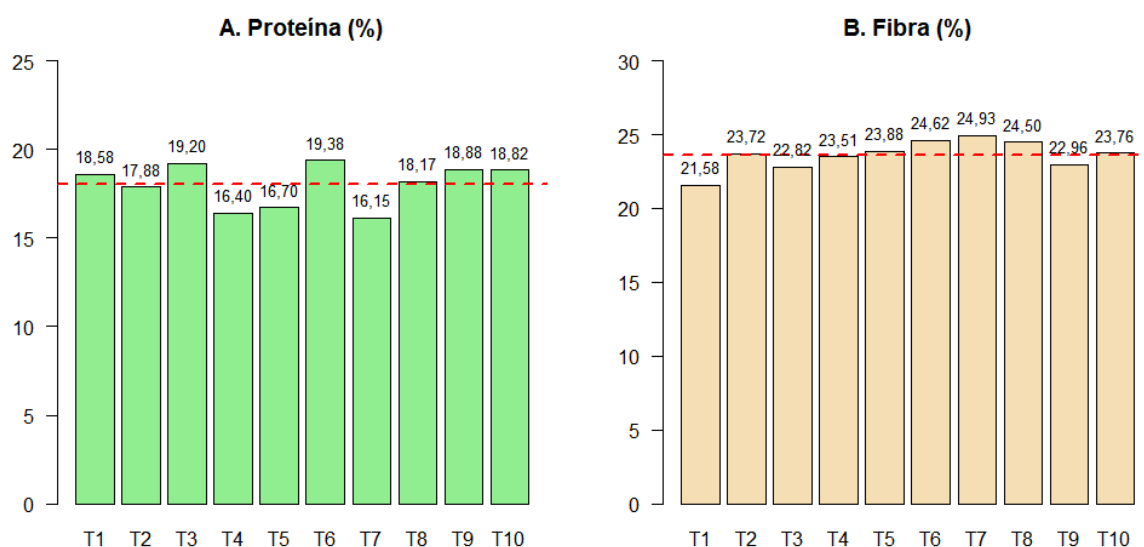


Figura 8. Análisis descriptivo de Proteína y Fibra (%).

En la Figura 9 se analizan los componentes de aporte energético y mineral. El Extracto Etéreo (grasa) se ubicó entre 3,41% y 6,47%, destacando el T3 con el mayor nivel de asimilación de lípidos vegetales. Las Cenizas promediaron un 11,75%, valores que corroboran que la absorción radicular de macro y micronutrientes del suelo fue excelente y constante en todos los bloques.

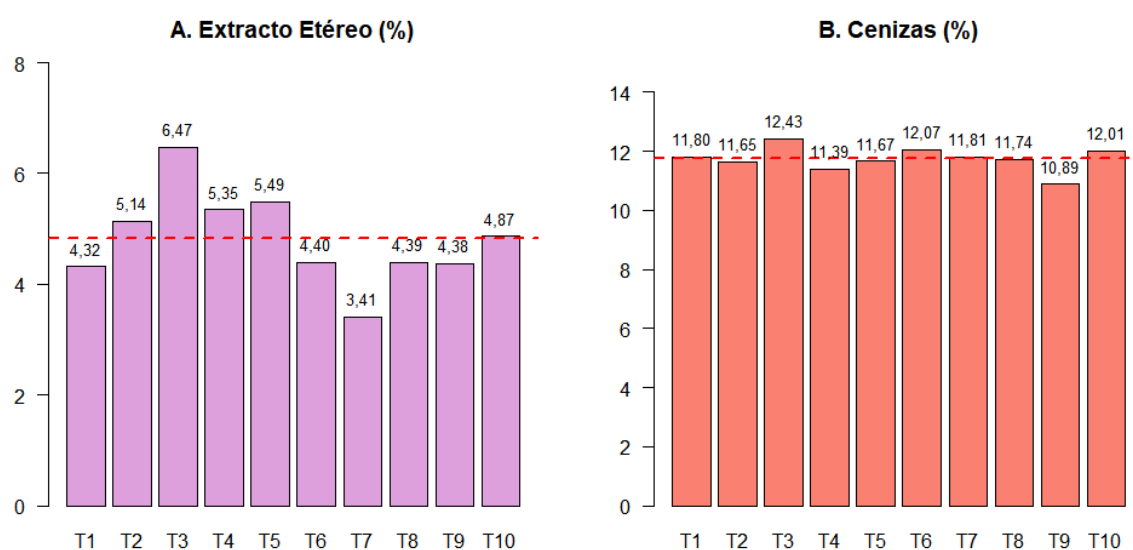


Figura 9. Análisis descriptivo de Extracto Etéreo y Cenizas (%).

Finalmente, la Figura 10 consolida los valores de Humedad y Elementos Libres de Nitrógeno (ELN). La humedad fluctuó entre 85,70% y 87,47%, evidenciando un óptimo estado de succulencia al momento de la cosecha. Los ELN promediaron un 41,79%, asegurando que todos los tratamientos mantuvieron una adecuada reserva de carbohidratos solubles disponibles para la fermentación ruminal.

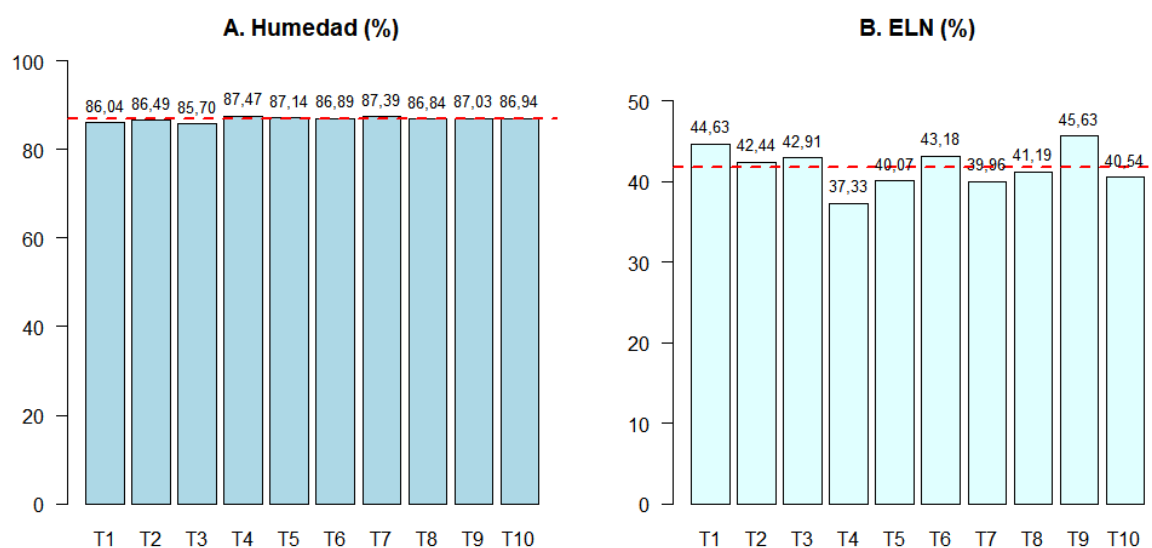


Figura 10. Análisis descriptivo de Humedad y ELN (%).

4.1.7. Análisis económico

Para determinar la viabilidad financiera de las alternativas de biofertilización ensayadas en el cultivo de raigrás, se realizó un análisis de rentabilidad tomando como base los rendimientos de materia seca (MS) extrapolados a kilogramos por hectárea (Kg/ha) Tabla 19. Para la construcción de este modelo económico, se consideró el precio referencial de venta de forraje en la zona norte del país, estableciéndose un valor de 0,58 USD por kilogramo de Materia Seca. Los costos por tratamiento incluyen la sumatoria de los gastos fijos base y los costos variables específicos sumados por cada paquete nutricional aplicado.

Al analizar los indicadores de rentabilidad Tabla 16, los resultados demuestran de forma contundente la viabilidad financiera de las alternativas orgánicas. El tratamiento T9 (100% Biol + Sin bacteria) presentó la relación de rentabilidad más alta del ensayo con un índice de 3,08 y la mayor utilidad neta con 1.665,61 USD. Esto significa que, por cada dólar invertido en este tratamiento, el productor obtiene 3,08 USD de ganancia líquida. Este pico de eficiencia económica obedece a que el biol es un insumo de muy bajo costo de producción que, aplicado al 100%, logró potenciar el rendimiento casi al nivel máximo del ensayo minimizando los costos operativos.

En segundo lugar, destaca el tratamiento T3 (100% Biol + *Methylobacterium*), el cual generó el mayor Ingreso de Venta bruto absoluto (2.224,04 USD) gracias a su excepcional rendimiento en campo (3.834,56 kg/ha MS). A pesar de requerir una inversión ligeramente mayor por la inclusión de la cepa bacteriana (585,90 USD), alcanzó una excelente utilidad de 1.638,14 USD y una rentabilidad sobresaliente de 2,80.

Tanto el tratamiento T9 como el T3 y T6, superan significativamente la rentabilidad obtenida por el paquete de manejo convencional o Testigo Químico (T10), el cual vio mermada su rentabilidad (2,08) debido al alto costo comercial de los fertilizantes sintéticos (598,84 USD).

Finalmente, el Testigo Absoluto (T7) demostró que la nula fertilización del pasto representa un riesgo financiero para el ganadero, arrojando la rentabilidad más precaria (0,39) y una utilidad mínima (189,86 USD). En conclusión, el análisis económico ratifica que la transición hacia una biofertilización integral con bioles y

consorcios microbianos en el cultivo de raigrás no solo es un acierto ecológico y agronómico, sino también una decisión altamente rentable para el productor.

Tabla 19. Análisis económico por hectárea para la producción de raigrás según tratamiento

Tratamientos	Descripción	Rendimiento por kg/ha MS	Venta de producción USD/kg MS	Ingreso de Venta (USD)	Costo por Tratamiento (USD)	Utilidad (USD)	Rentabilidad (Utilidad/Costo)
T1	0% Biol + <i>Methylobacterium</i>	2.141,41	0,58	1.242,02	524,88	717,14	1,37
T2	50% Biol + <i>Methylobacterium</i>	2.670,83	0,58	1.549,08	555,34	993,74	1,79
T3	100% Biol + <i>Methylobacterium</i>	3.834,56	0,58	2.224,04	585,90	1.638,14	2,80
T4	0% Biol + <i>Azospirillum</i>	2.129,86	0,58	1.235,32	515,32	720,00	1,40
T5	50% Biol + <i>Azospirillum</i>	3.021,34	0,58	1.752,38	545,60	1.206,78	2,21
T6	100% Biol + <i>Azospirillum</i>	3.568,08	0,58	2.069,49	575,84	1.493,65	2,59
T7	0% Biol + Sin bacteria	1.157,60	0,58	671,41	481,55	189,86	0,39
T8	50% Biol + Sin bacteria	2.274,93	0,58	1.319,46	509,76	809,70	1,59
T9	100% Biol + Sin bacteria	3.803,91	0,58	2.206,27	540,66	1.665,61	3,08
T10	Testigo Químico	3.177,16	0,58	1.842,75	598,84	1.243,91	2,08

4.2. DISCUSIÓN

La presente investigación evaluó el efecto interactivo de distintas dosis de biol a base de lactosuero bovino y la inoculación con bacterias diazotróficas (*Methylobacterium symbioticum* y *Azospirillum brasilense*) sobre la dinámica productiva y nutricional del raigrás perenne (*Lolium perenne* L.).

Dinámica Fenológica y Morfogénesis (Altura y Número de Hojas)

El análisis del crecimiento vertical evidenció que el factor tratamientos determinó un efecto Significativo ($p < 0,05$) en ambos cortes de evaluación. El Testigo Químico (T10, CRECIMAX-700) lideró el crecimiento vertical, alcanzando 22,05 cm en el primer corte y 34,15 cm a los 88 días. Sin embargo, compartió el mismo grupo de eficiencia estadística con las alternativas orgánicas, destacando el T9 (100% Biol sin bacteria) con 31,40 cm en el segundo corte. Fisiológicamente, la ligera superioridad inicial del manejo químico responde a la alta solubilidad y disponibilidad inmediata de los macronutrientes sintéticos, los cuales generan un pico rápido de auxinas. No obstante, el comportamiento de las dosis altas de biol corrobora los hallazgos de Pla y Rendón (2021), quienes demostraron que el lactosuero aporta péptidos de cadena corta y carbohidratos que, una vez mineralizados, sostienen el crecimiento vertical de forma constante. Aunque los autores citados reportaron alturas de hasta 45,30 cm, la menor elongación en la presente investigación responde a la interacción genotipo-ambiente específica de la variedad Viscount bajo las condiciones termoplumiométricas del cantón Huaca.

Por otro lado, la tasa de emisión foliar presentó un comportamiento estadísticamente No Significativo ($p > 0,05$) a lo largo del ensayo, estabilizándose en una media de 2,76 hojas por macollo. Este fenómeno contrasta marcadamente con Irigoyen Olaza (2020), quien reportó que el biol puro estimula la producción de hasta 7,10 hojas. La aglomeración y homogeneidad de las curvas de crecimiento en el presente estudio demuestran que, en el raigrás tetraploide evaluado, el macollamiento y la aparición de primordios foliares exhiben un fuerte determinismo genético y están regulados intrínsecamente por la densidad de siembra, evidenciando que la arquitectura foliar básica es una variable estructural poco susceptible a la manipulación nutricional a corto plazo.

Rendimiento de Biomasa: La Sinergia Metilotrófica y Rizosférica

El verdadero impacto de la innovación biotecnológica se expresó en la productividad volumétrica. El análisis de varianza para la Materia Verde (MV) arrojó un efecto Altamente Significativo ($p < 0,001$). En el primer y segundo corte, el tratamiento T3 (100% Biol + *Methylobacterium*) igualó la productividad del paquete químico, alcanzando un total acumulado de 15.647,82 kg/ha. Esta eficiencia se consolidó de manera irrefutable en la Materia Seca (MS), donde se registró un efecto Muy Significativo ($p < 0,01$), posicionando al T3 como el tratamiento líder absoluto con 3.834,56 kg/ha.

Este comportamiento agronómico excepcional valida los postulados de Collahuazo y Maldonado (2022) y Hott Díaz (2023). Bioquímicamente, el éxito del T3 se explica por la colonización de la filósfera: *Methylobacterium symbioticum* es una bacteria metilotrófica que consume el metanol emitido como desecho por los estomas de la hoja durante el crecimiento celular y, en simbiosis, fija nitrógeno atmosférico entregándolo directamente al tejido vegetal en forma de amonio. Al combinar esta fijación foliar con el 100% de biol de lactosuero que actúa como un "caldo" energético rico en lactosa y bacterias ácido-lácticas se optimiza la partición de asimilados, logrando igualar y superar el techo productivo del CRECIMAX-700 sin inducir desecación prematura, manteniendo un porcentaje de materia seca estable y No Significativo ($p > 0,05$) con una media del 22,64%. La robustez de este hallazgo se respalda por una correlación positiva fuerte entre MV y MS ($r = 0,73$; Altamente Significativa $p < 0,001$).

Calidad Bromatológica

Desde el enfoque de la nutrición de rumiantes, la investigación comprobó que la inoculación con bacterias endófitas enriquece el valor biológico del forraje. Los tratamientos inoculados T6 (100% Biol + *Azospirillum*) y T3 superaron el 18,82% de proteína cruda del testigo químico, alcanzando 19,38% y 19,20% respectivamente. Este comportamiento se alinea con WingChing-Jones et al. (2020), quienes explican que *Azospirillum brasilense* (aplicado en el T6) excreta reguladores de crecimiento como el ácido indolacético (AIA) directamente en la rizosfera, multiplicando la densidad de los pelos absorbentes. Esta hipertrofia radicular, sumada a la fijación biológica, incrementó la captura de los minerales disueltos, traducándose en una mayor síntesis de aminoácidos foliares.

Asimismo, los datos bromatológicos se ajustan a los exigentes parámetros de Villalobos y Sánchez (2010), confirmando que el raigrás cosechado (especialmente el T6 y T3) alcanzó la categoría de forraje élite. Se mantuvo una fibra efectiva idónea (24,62% en el T6) y se elevaron los Elementos Libres de Nitrógeno (ELN) al 42,91% en el T3, junto con un excepcional 6,47% de extracto etéreo. Estos valores reafirman la posición de Gómez y Pérez (2022), demostrando que la interacción del lactosuero con la carga microbiana solubiliza y facilita la absorción de minerales (12,43% de cenizas en el T3), generando un pasto denso en energía metabólica que garantiza la sincronía requerida para una óptima degradabilidad en el rumen.

Análisis económico

El impacto de la presente investigación culmina con el análisis de rentabilidad financiera. La investigación demostró una diferencia contundente: el T9 (100% Biol sin bacteria) y el T3 (100% Biol + *Methylobacterium*) se posicionaron como los modelos económicamente más viables, con índices de Beneficio/Costo de 3,08 y 2,80 USD respectivamente. Por el contrario, el paquete químico (T10), a pesar de su alto rendimiento biológico, castigó críticamente la utilidad del productor reduciendo su índice a 2,08 debido al costo de adquisición del fertilizante comercial.

Esta supremacía financiera aprueba las tesis de Castillo y Silva (2021) y de Collahuazo y Maldonado (2022), demostrando que la economía circular es la vía más segura para la soberanía del productor. La elaboración in situ de bioles, aprovechando el lactosuero de la industria local (que de otro modo sería un contaminante), fusionada con la aplicación de biotecnología microbiana de bajo costo, reduce los gastos operativos y protege al ganadero de la volatilidad del mercado de agroquímicos. En síntesis, el modelo evaluado (100% Biol + *Methylobacterium*) constituye una innovación técnica y científica que no solo iguala la competitividad biológica del manejo intensivo, sino que maximiza la rentabilidad, la calidad nutricional y la sostenibilidad de los sistemas agropecuarios.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- El tratamiento T3 (100% Biol + *Methylobacterium symbioticum*) demostró ser la alternativa biológica más eficiente, logrando igualar la productividad del paquete químico con 15.647,82 kg/ha de Materia Verde y liderando el ensayo con 3.834,56 kg/ha de Materia Seca. Fenológicamente, la altura de la planta fue liderada por el tratamiento químico (34,15 cm) seguido del T9 orgánico (31,40 cm), mientras que la tasa de emisión foliar (2,76 hojas/macollo) no presentó alteraciones significativas por la fertilización.
- El tratamiento T6 (100% Biol + *Azospirillum brasilense*) y el T3 (100% Biol + *Methylobacterium symbioticum*) alcanzaron la categoría de forraje de élite, registrando niveles de proteína cruda del 19,38% y 19,20% respectivamente, superando al testigo químico (18,82%). Además, el T3 garantizó un excelente aporte energético al elevar los Elementos Libres de Nitrógeno (ELN) al 42,91% y el extracto etéreo al 6,47%, manteniendo una fibra efectiva óptima para la degradación ruminal.
- Los tratamientos T9 (100% Biol sin bacteria) y T3 (100% Biol + *Methylobacterium symbioticum*) se consolidaron como los modelos más eficientes del ensayo, generando índices de Beneficio/Costo de 3,08 y 2,80 USD respectivamente por cada dólar invertido. En contraste, el alto costo de los insumos sintéticos redujo drásticamente el índice de rentabilidad del testigo químico a 2,08 USD.
- La investigación demostró que la interacción biotecnológica del tratamiento T3 (100% de biol de lactosuero + *Methylobacterium symbioticum*) no solo equipara el rendimiento físico del manejo agronómico convencional, sino que maximiza la asimilación de proteína, mejora el metabolismo energético de la planta y garantiza una rentabilidad financiera superior, consolidándose como una estrategia innovadora, viable y ecológica para la producción de raigrás perenne en la zona norte del país.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda adoptar el Tratamiento 3 (Biol de lactosuero al 100% inoculado con *Methylobacterium symbioticum*) como estrategia principal de fertilización en praderas de raigrás perenne. Esta práctica garantiza una alta producción de biomasa (3.834,56 kg/ha de MS) y un forraje con niveles proteicos de élite (19,20%), permitiendo sustituir los fertilizantes sintéticos comerciales e incrementando directamente la rentabilidad económica del predio.
- Se sugiere estructurar programas de transferencia de tecnología y economía circular que capaciten a los productores en la elaboración de bioles *in situ*. El aprovechamiento del lactosuero, un subproducto abundante, reduce drásticamente los costos operativos de la ganadería local y mitiga su impacto como residuo contaminante.
- Considerando la estabilidad fenológica observada en la presente investigación, se recomienda desarrollar futuras investigaciones que combinen este paquete biofertilizante con diferentes densidades de siembra y frecuencias de pastoreo. Además, es pertinente ejecutar estudios longitudinales que evalúen el efecto residual de estas bacterias diazotróficas sobre las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo tras múltiples ciclos productivos.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abou Jaoudé, R., Luziatelli, F., Ficca, A. G., y Ruzzi, M. (2024). A plant's perception of growth-promoting bacteria and their metabolites. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1332864. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1332864>
- Acosta, J., López, M., y Fernández, R. (2022). Desafíos tecnológicos en la industria quesera artesanal de América Latina. *Revista de Ingeniería Agroindustrial*, 14(2), 45-58.
- Angiosperm Phylogeny Group [APG IV]. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1–20. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Aslam, H., et al. (2024). Valorization of cheese whey into value-added products: Recent advances and future perspectives. *Journal of Cleaner Production*.
- Aslam, M., Saeed, M., Nadeem, M., et al. (2024). Valorization of cheese whey into sustainable biofertilizers and bio-based products: A review. *Journal of Environmental Management*, 354, 120330. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120330>
- Ayilara, M. S., Olanrewaju, O. S., Babalola, O. O., y Odeyemi, O. (2020). Waste management through composting: Challenges and potentials. *Sustainability*, 12(11), 4456.
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., y Smith, D. L. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: Context, mechanisms of action, and road map to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1473. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
- Bashan, Y., y de-Bashan, L. E. (2010). How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—A critical assessment. *Advances in Agronomy*, 108, 77–136. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)08002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)08002-8)
- Buchelli Gómez, L. (2014). *Producción de biofertilizantes a partir de bagazo de cebada, excretas bovinas y suero de quesería* [Tesis de grado, Universidad Técnica del Norte].
- Caballero, A., Orts Gómez, J. M., López Rodríguez, J., Martín Presas, L., y Parrado, J. (2021). Economía circular del suero de leche: bioproceso para su conversión en bioestimulantes agronómicos. *Revista Centroamericana de Biotecnología*, 4(2), 54-68.

- Caballero, L., Gómez, A., y Ramírez, E. (2020). Impacto de los efluentes lácteos en las propiedades fisicoquímicas de los andisoles. *Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, 22(3), 112-125.
- Carvalho, F., Prazeres, A. R., y Rivas, J. (2023a). Cheese whey management: Current advances and future perspectives. *Journal of Cleaner Production*, 434, 139823. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.139823>
- Carvalho, F., Prazeres, A. R., y Rivas, J. (2023b). Cheese whey wastewater: Characterization and opportunities for agricultural and biotechnological reuse. *Environmental Technology Reviews*.
- Castillo, R., y Silva, M. (2021). Viabilidad financiera y agroeconómica del uso de bioles en sistemas silvopastoriles de altura. *Revista de Economía Agrícola y Sostenibilidad*, 12(3), 45-59.
- Collahuazo Reinoso, Y. M., y Maldonado, M. C. (2022). Impacto fisiológico de las aplicaciones foliares de *Methylobacterium symbioticum* en gramíneas forrajeras. *Libro de resúmenes del I Simposio de Biotecnología Agrícola*, Universidad Nacional de Loja.
- Ehinmitan, O., Babalola, O. O., y Odeyemi, O. (2024). *Methylobacterium* as a key symbiont in plant-microbe interactions: Its ecological and agricultural significance. *Microbial Ecology*, 15(3), 45-59.
- Ehinmitan, W. O., Dong, Y., Zhang, L., et al. (2024). *Methylobacterium* spp. as plant growth-promoting bacteria: Ecological roles and agricultural applications. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1377424. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1377424>
- Estudio de Mercado Sector Lácteo. (2019). *Análisis de la cadena de valor de los derivados lácteos en el Ecuador*. Ministerio de Agricultura y Ganadería.
- Fanai, A., Bohia, B., Lalremruati, F., Singh, A., Singh, Y. D., Singh, N. B., y Upadhyay, S. K. (2024). Plant growth-promoting bacteria-induced plant adaptations to stresses: An updated review. *PeerJ*, 12, e17882. <https://doi.org/10.7717/peerj.17882>
- FAOSTAT. (2026). *Datos de producción pecuaria mundial y subproductos*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2022a). *Biofertilizers and biostimulants for sustainable agriculture*.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2022b). *The status of the world's land and water resources for food and agriculture – Systems at breaking point (SOLAW 2021)*. <https://doi.org/10.4060/cb7654en>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2023a). *Dairy Market Review 2023*. <https://www.fao.org>

- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2023b). *The state of food and agriculture 2023*. <https://www.fao.org>
- Gómez, L., y Pérez, A. (2022). Efecto de consorcios microbianos en la calidad bromatológica de gramíneas forrajeras de altura. *Revista de Nutrición Animal y Forrajes*, 14(2), 45-58.
- Gregory, A. S., Ritz, K., McGrath, S. P., Young, I. M., et al. (2022). Soil management and soil physical quality: Current challenges and opportunities. *Soil Use and Management*. <https://doi.org/10.1111/sum.12809>
- Grossi, C. E. M., Tani, A., Mori, I. C., Matsuura, T., y Ulloa, R. M. (2024). Plant growth-promoting abilities of *Methylobacterium* sp. 2A involve auxin-mediated regulation of root architecture and enhancement of plant performance. *Plant, Cell & Environment*, 47(12), 5343–5357. <https://doi.org/10.1111/pce.15116>
- Guha, T., y Mandal Biswas, S. (2024). Recent progress in the role of seed endophytic bacteria as plant growth-promoting microorganisms and biocontrol agents. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 40, 218. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-04031-w>
- Gutierrez Arce, et al. (2020). Efecto del biol de lactosuero en la producción de alfalfa. *Revista Científica Agropecuaria*, 7(1), 15-22.
- Herridge, R., Samarth, B., Brownfield, L., y Macknight, R. (2021). Identification and Characterization of Perennial Ryegrass (*Lolium perenne*) Vernalization Genes. *Frontiers in Plant Science*, 12, 640324. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.640324>
- Hirel, B., Dubois, F., y Tétu, T. (2021). Nitrogen use efficiency in crops: Physiology, genetics and sustainable agriculture. *Journal of Experimental Botany*, 72(17), 5945–5958. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab251>
- Hirel, B., Tétu, T., Lea, P. J., y Dubois, F. (2011). Improving nitrogen use efficiency in crops for sustainable agriculture. *Sustainability*, 3(9), 1452–1485.
- Hott Díaz, W. (2023). *Efecto de un consorcio de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre en la producción de una pradera de Lolium perenne L.* [Tesis de posgrado, Universidad Austral de Chile]. Repositorio Institucional UACH.
- Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria [INIA]. (2008). *Producción y uso del biol* [Folleto]. http://ong-adg.be/bibliadg/bibliotheque/opac_css/doc_num/fiches_techniques/biol.pdf
- Irigoyen Olaza, J. D. (2020). *Rendimiento de ray gras (Lolium perenne) con niveles de abono foliar biol en el distrito de Independencia* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo]. Repositorio Institucional UNASAM.

- Jayasinghe, C., Badenhorst, P., Jacobs, J., Spangenberg, G., y Smith, K. (2021). Image-based high-throughput phenotyping for the estimation of persistence of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): A review. *Grass and Forage Science*, 76(2), 321–339. <https://doi.org/10.1111/gfs.12520>
- Knief, C. (2015). Diversity and habitat preferences of cultivated and uncultivated aerobic methylotrophic bacteria evaluated based on pmoA as molecular marker. *Frontiers in Microbiology*, 6, 134. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00134>
- Kumar, A., Singh, S., Gaurav, A. K., Srivastava, S., y Verma, J. P. (2022). Plant growth-promoting bacteria: Biological tools for the mitigation of biotic and abiotic stresses in crops. *Microbiological Research*, 255, 126968. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126968>
- Kumar, R., Sharma, S., y Verma, P. (2022). Biofertilizers: An ecofriendly technology for nutrient recycling and sustainable agriculture. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 987102. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.987102>
- Lassaletta, L., Billen, G., Grizzetti, B., Anglade, J., y Garnier, J. (2022). Nitrogen use in global food systems and environmental impacts: Current status and future perspectives. *Annual Review of Environment and Resources*, 47, 1–30.
- Lee, J. M., Matthew, C., Thom, E. R., y Chapman, D. F. (2024). Climate change adaptation of perennial ryegrass-based pasture systems: A review. *Grass and Forage Science*. <https://doi.org/10.1111/gfs.12690>
- Li, Y., Zhang, H., Wang, Z., Liu, X., y Chen, J. (2024). Research progress on the growth-promoting effects of plant biostimulants on crops. *Phyton*, 93(4), 661–679. <https://doi.org/10.32604/phyton.2024.049733>
- Marschner, P. (Ed.). (2012). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants* (3ra ed.). Academic Press.
- Martínez, M. A., Soto, L., Aguilar, Y., Ramírez, M., y Martínez, L. (2023). Polyhydroxybutyrate metabolism in *Azospirillum brasilense* and its applications: A review. *Polymers*, 15(14), 3027. <https://doi.org/10.3390/polym15143027>
- Matzrafi, M., Preston, C., y Brunharo, C. A. (2021). Review: Evolutionary drivers of agricultural adaptation in *Lolium* spp. *Pest Management Science*, 77(5), 2209–2218. <https://doi.org/10.1002/ps.6219>
- Mazorra-Manzano, M. A., y Moreno-Hernández, J. M. (2019). Propiedades y opciones de valorización del lactosuero en la industria alimentaria y agrícola. *Nova Scientia*, 11(23), 220-233.
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., y Babalola, O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33, 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>

- Pais-Chanfrau, J. M., Asas, C., Llanos, C., Matavaca, J., y Verdezoto, D. (2021). Valorización del suero de leche: Una visión desde la biotecnología aplicada en la región norte del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Biotecnología*, 8(1), 34-49.
- Palmieri, N., Forleo, M. B., y Salimei, E. (2017). Environmental impacts of dairy processing and opportunities for by-product valorisation. *Resources*, 6(4), 58. <https://doi.org/10.3390/resources6040058>
- Peña, J. (2012). *Zonificación de la hacienda San Francisco y el aprendizaje de los estudiantes de la escuela de desarrollo integral agropecuario* [Tesis de posgrado, Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/5475/3/Mg.DCEv.Ed.1705.pdf>
- Pires, A., Silva, M., y Costa, R. (2021). Environmental hazards of cheese production and whey disposal. *Journal of Dairy Research and Environment*, 45(4), 567-580.
- Pla, F., y Rendón, J. (2021). Digestión anaerobia y potencial del biol de lactosuero como biofertilizante en cultivos andinos. *Ecological Indicators and Agricultural Sciences*, 28, 166-179.
- Poveda, E., Ruiz, C., y Sánchez, T. (2013). Consecuencias de la descarga de lactosuero crudo en afluentes hídricos altoandinos. *Revista de Ciencias Ambientales*, 19(2), 88-102.
- Prazeres, A. R., Carvalho, F., y Rivas, J. (2012). Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental Management*, 110(1), 48-68. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.05.018>
- Puglia, et al. (2021). Lactosuero como fuente de biofertilizante. *Journal of Agricultural Sustainability*, 34(4), 112-128.
- Robin, A. H. K., Irving, L. J., Crush, J. R., Schnyder, H., Lattanzi, F. A., y Matthew, C. (2021). Time Course of Root Axis Elongation and Lateral Root Formation in Perennial Ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Plants*, 10(8), 1677. <https://doi.org/10.3390/plants10081677>
- Rodríguez, M., y Silva, R. (2021). Potential of *Azospirillum* consortium to promote growth of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Journal of Experimental Botany*, 72(4), 1120-1135.
- Ryan, M. P., y Walsh, G. (2016). The biotechnological potential of whey. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15(3), 479-498. <https://doi.org/10.1007/s11157-016-9402-1>
- Savci, S. (2012). An agricultural pollutant: Chemical fertilizer. *International Journal of Environmental Science and Development*, 3(1), 73-80.

- Schütz, L., Gattinger, A., Meier, M., Müller, A., Boller, T., Mäder, P., y Mathimaran, N. (2018). Improving crop yield and nutrient use efficiency via biofertilization—A global meta-analysis. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2204. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02204>
- Singh, A., Kumar, V., Sharma, R., et al. (2024). Plant growth-promoting microorganisms for sustainable agriculture: Mechanisms and future prospects. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1364875. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1364875>
- Singh, B. K., Trivedi, P., Delgado-Baquerizo, M., y Bardgett, R. D. (2024). Soil microbiome and sustainable agriculture: Current advances and future opportunities. *Nature Reviews Microbiology*.
- Smithers, G. W. (2015). Whey-ing up the options—Yesterday, today and tomorrow. *International Dairy Journal*, 48, 2–14. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.01.011>
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant* (2da ed.). Cornell University Press.
- Villalobos, L., y Sánchez, J. (2010). Evaluación agronómica y nutricional del pasto ryegrass perenne tetraploide (*Lolium perenne*) producido en lecherías de las zonas altas de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 34(1), 31-42.
- Wang, K., Zhang, X., Liu, Y., et al. (2022). Insights into the response of perennial ryegrass to abiotic stress: Underlying survival strategies and adaptation mechanisms. *Life*, 12(6), 860. <https://doi.org/10.3390/life12060860>
- Wilkins, P. W., y Humphreys, M. O. (2022). Advances in perennial ryegrass breeding for sustainable grassland systems. *Grass and Forage Science*.
- WingChing-Jones, R., Villalobos, L., y Arce, J. (2020). Uso de *Azospirillum brasilense* como biofertilizante en la producción y calidad de pastos forrajeros. *Agronomía Costarricense*, 38(2), 91-103.
- Yu, X., Zhang, Y., Li, Z., et al. (2023). Physiological responses of perennial ryegrass to drought stress and recovery: A review. *Agronomy*, 13(5), 1284. <https://doi.org/10.3390/agronomy13051284>

VII. ANEXOS

Anexo 1. Certificado del abstract por parte de idiomas



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI FOREIGN AND
NATIVE LANGUAGES CENTER

ABSTRACT- EVALUATION SHEET

NAMES: Favio Adrián Pérez Muñoz

DATE: Monday, September 8th, 2026

Topic: *"Evaluación de dosis de biol elaborado a base de lactosuero y enriquecido con bacterias fijadoras de nitrógeno en el crecimiento y calidad de raigrás (Lolium perenne L.) en el Centro Experimental San Francisco, cantón Huaca"*

MARKS AWARDED

QUANTITATIVE AND QUALITATIVE

VOCABULARY AND WORD USE	Use new learnt vocabulary and precise words related to the topic	Use a little new vocabulary and some appropriate words related to the topic	Use basic vocabulary and simplistic words related to the topic	Limited vocabulary and inadequate words related to the topic
	EXCELLENT: 2 ☒	GOOD: 1,5 ☒	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
WRITING COHESION	Clear and logical progression of ideas and supporting paragraphs.	Adequate progression of ideas and supporting paragraphs.	Some progression of ideas and supporting paragraphs.	Inadequate ideas and supporting paragraphs.
De	EXCELLENT: 2 ☒	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
ARGUMENT	The message has been communicated very well and identify the type of text	The message has been communicated appropriately and identify the type of text	Some of the message has been communicated and the type of text is little confusing	The message hasn't been communicated and the type of text is inadequate
	EXCELLENT: 2 ☒	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
CREATIVITY	Outstanding flow of ideas and events	Good flow of ideas and events	Average flow of ideas and events	Poor flow of ideas and events
	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
SCIENTIFIC SUSTAINABILITY	Reasonable, specific and supportable opinion or thesis statement	Minor errors when supporting the thesis statement	Some errors when supporting the thesis statement	Lots of errors when supporting the thesis statement
	EXCELLENT: 2 ☒	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
TOTAL/AVERAGE		TOTAL 9		
9 - 10: EXCELLENT				
7 - 8,9: GOOD				
5 - 6,9: AVERAGE				
0 - 4,9: LIMITED				



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL
CARCHI- FOREIGN AND NATIVE LANGUAGES
CENTER**

**Informe sobre el Abstract de Artículo Científico
o Investigación.**

Autores: Favio Adrián Pérez Muñoz

Fecha de recepción del abstract: martes, 8 de agosto del 2026

Fecha de entrega del informe: miércoles, 9 de septiembre del 2026

El presente informe validará la traducción del idioma español al inglés si alcanza un porcentaje de: 9 – 10 Excelente.

Si la traducción no está dentro de los parámetros de 9 – 10, el autor deberá realizar las observaciones presentadas en el ABSTRACT, para su posterior presentación y aprobación.

Observaciones:

Tras evaluar el resumen presentado, se concluye que la traducción al inglés es adecuada y fiel al contenido. De acuerdo con la rúbrica aplicada para su valoración, se le asigna una calificación de 9, por lo que el trabajo queda aprobado.

Atentamente



MA. Martha Viveros

RESPONSABLE CIDEN

Anexo 2. Procedimiento experimental



Figura 11. Elaboración de biol.



Figura 12. Preparación del terreno.



Figura 13. División de parcelas.



Figura 14. Siembra de raigrás.



Figura 15. Germinación del raigrás.



Figura 16. Bacteria *Azospirillum brasilense*.



Figura 18. Fertilizante Crecimax-700.



Figura 17. Bacteria *Methylobacterium symbioticum*.



Figura 20. Materia verde.



Figura 19. Medida de altura.



Figura 21. Materia Seca.



Figura 22. Muestras enviadas a laboratorio

Anexo 3. Analisis de biol.



LABONORT

LABORATORIOS NORTE

Av. Cristobal de Troya 4-93 y Jaime Roldos Ibarra - Ecuador cel. 0999591050

REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

DATOS DE PROPIETARIO

Nombre: FAVIO ADRIÁN PÉREZ MUÑOZ
Ciudad: HUACA
Teléfono: 0960257961
Fax:

DATOS DE LA PROPIEDAD

Provincia: Carchi
Cantón: Huaca
Parroquia:
Sitio:

DATOS DEL LOTE

Sitio:
Superficie:
Número de Campo: BIOL (LACTOSUERO)
Cultivo Actual:
A Cultivar:

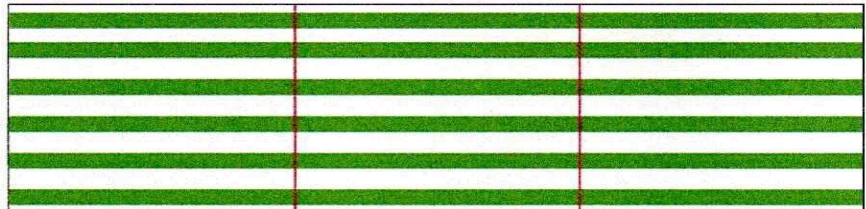
DATOS DE LABORATORIO

Nro Reporte.: 12564
Tipo de Análisis: Completo
Muestra: Orgánica (Biol Líqui
Fecha de Ingreso: 2026-02-20
Fecha de Reporte: 2026-02-25

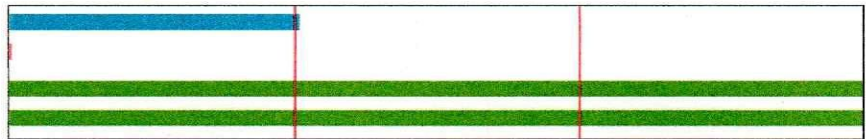
Nutriente Valor Unidad

N 3562.50 ppm
P 1251.6 ppm
S 1580.0 ppm
K 91.20 meq/100 ml
Ca 106.87 meq/100 ml
Mg 44.08 meq/100 ml

INTERPRETACION



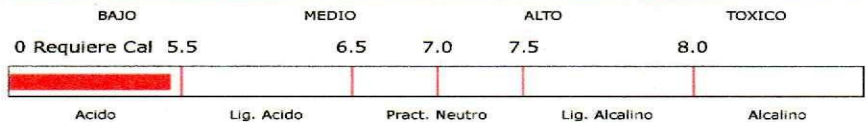
Zn 3.07 ppm
Cu <0.10 ppm
Fe 464.98 ppm
Mn 273.8 ppm



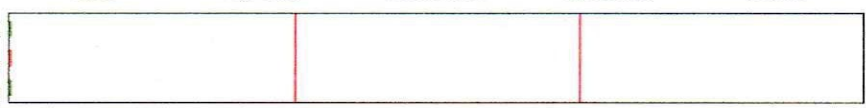
B 6.66 ppm



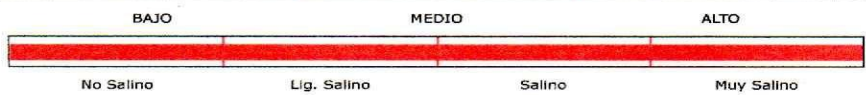
pH 5.19



Acidez Int. (Al+H) meq/100 ml
Al meq/100 ml
Na meq/100 ml



Ce 17.380 mS/cm



MO %



Ca	Mg	Ca+Mg	(meq/100ml)	%	ppm	(%)			Clase Textural
Mg	K	K	Sum Bases	NTot	Cl	Arena	Limo	Arcilla	
2.42	0.48	1.66	242.15						

Dr. Quim. Edison M. Miño M.
Responsable Laboratorio



Anexo 4. Analisis bromatológico.

	ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CALIDAD LABORATORIO DE SERVICIO DE ANÁLISIS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS Panamericana Sur Km. 1. Cutervo, Tarma. 2890881-3007134. Fax 3007134 Cajilla postal 17-01-340		MC-LSAIA-2201 Rev. 10
--	--	---	----------------------------------

INFORME DE ENSAYO N°:26-0059

**NOMBRE DEL PETICIONARIO:	Sr. FAVIO ADRIÁN PÉREZ MUÑOZ	**INSTITUCIÓN:	PARTICULAR
**DIRECCIÓN:	SAN PEDRO DE HUACA / CARCHI	**ATENCIÓN:	Sr. FAVIO ADRIÁN PÉREZ MUÑOZ
FECHA DE EMISIÓN:	2026-05-20	FECHA DE RECEPCIÓN:	2026-05-12
FECHA DE ANÁLISIS:	Del 12 al 20 de mayo del 2026	HORA DE RECEPCIÓN:	10:00
ANÁLISIS SOLICITADOS:	Proximal		

RESULTADO DE ANALISIS

ANÁLISIS	**TIPO DE MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	MÉTODO INTERNO	MÉTODO DE REFERENCIA	RESULTADO	UNIDAD
HUMEDAD	Pasto M1	26-0555	MO-LSAIA-01.01	U. FLORIDA 1970	86,04	%
CENIZAS ^o	Pasto M1	26-0555	MO-LSAIA-01.02	U. FLORIDA 1970	11,80	%
EXTRACTO ETereo (EE) ^o	Pasto M1	26-0555	MO-LSAIA-01.03	U. FLORIDA 1970	3,41	%
PROTEINA ^o	Pasto M1	26-0555	MO-LSAIA-01.04	U. FLORIDA 1970	18,58	%
FIBRA ^o	Pasto M1	26-0555	MO-LSAIA-01.05	U. FLORIDA 1970	21,58	%
ELEMENTOS LIBRES DE NITROGENO E.L.N.	Pasto M1	26-0555	MO-LSAIA-01.06	U. FLORIDA 1970	44,83	%
HUMEDAD	Pasto M2	26-0556	MO-LSAIA-01.01	U. FLORIDA 1970	86,49	%
CENIZAS ^o	Pasto M2	26-0556	MO-LSAIA-01.02	U. FLORIDA 1970	11,65	%
EXTRACTO ETereo (EE) ^o	Pasto M2	26-0556	MO-LSAIA-01.03	U. FLORIDA 1970	4,32	%
PROTEINA ^o	Pasto M2	26-0556	MO-LSAIA-01.04	U. FLORIDA 1970	17,88	%
FIBRA ^o	Pasto M2	26-0556	MO-LSAIA-01.05	U. FLORIDA 1970	23,72	%
ELEMENTOS LIBRES DE NITROGENO E.L.N.	Pasto M2	26-0556	MO-LSAIA-01.06	U. FLORIDA 1970	42,44	%
HUMEDAD	Pasto M3	26-0557	MO-LSAIA-01.01	U. FLORIDA 1970	85,70	%
CENIZAS ^o	Pasto M3	26-0557	MO-LSAIA-01.02	U. FLORIDA 1970	12,43	%

ANÁLISIS	**TIPO DE MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	MÉTODO INTERNO	MÉTODO DE REFERENCIA	RESULTADO	UNIDAD
EXTRACTO ETereo (EE) °	Pasto M3	26-0557	MO-LSAIA-01.03	U. FLORIDA 1970	5,14	%
PROTEINA °	Pasto M3	26-0557	MO-LSAIA-01.04	U. FLORIDA 1970	16,70	%
FIBRA °	Pasto M3	26-0557	MO-LSAIA-01.05	U. FLORIDA 1970	22,82	%
ELEMENTOS LIBRES DE NITROGENO E.L.N.	Pasto M3	26-0557	MO-LSAIA-01.06	U. FLORIDA 1970	42,91	%
HUMEDAD	Pasto M4	26-0558	MO-LSAIA-01.01	U. FLORIDA 1970	87,47	%
CENIZAS °	Pasto M4	26-0558	MO-LSAIA-01.02	U. FLORIDA 1970	12,07	%
EXTRACTO ETereo (EE) °	Pasto M4	26-0558	MO-LSAIA-01.03	U. FLORIDA 1970	6,47	%
PROTEINA °	Pasto M4	26-0558	MO-LSAIA-01.04	U. FLORIDA 1970	19,20	%
FIBRA °	Pasto M4	26-0558	MO-LSAIA-01.05	U. FLORIDA 1970	24,93	%
ELEMENTOS LIBRES DE NITROGENO E.L.N.	Pasto M4	26-0558	MO-LSAIA-01.06	U. FLORIDA 1970	37,33	%
HUMEDAD	Pasto M5	26-0559	MO-LSAIA-01.01	U. FLORIDA 1970	87,14	%
CENIZAS °	Pasto M5	26-0559	MO-LSAIA-01.02	U. FLORIDA 1970	11,67	%
EXTRACTO ETereo (EE) °	Pasto M5	26-0559	MO-LSAIA-01.03	U. FLORIDA 1970	5,49	%
PROTEINA °	Pasto M5	26-0559	MO-LSAIA-01.04	U. FLORIDA 1970	18,88	%
FIBRA °	Pasto M5	26-0559	MO-LSAIA-01.05	U. FLORIDA 1970	23,88	%
ELEMENTOS LIBRES DE NITROGENO E.L.N.	Pasto M5	26-0559	MO-LSAIA-01.06	U. FLORIDA 1970	40,07	%
HUMEDAD	Pasto M6	26-0560	MO-LSAIA-01.01	U. FLORIDA 1970	86,89	%
CENIZAS °	Pasto M6	26-0560	MO-LSAIA-01.02	U. FLORIDA 1970	11,39	%
EXTRACTO ETereo (EE) °	Pasto M6	26-0560	MO-LSAIA-01.03	U. FLORIDA 1970	4,40	%
PROTEINA °	Pasto M6	26-0560	MO-LSAIA-01.04	U. FLORIDA 1970	16,40	%
FIBRA °	Pasto M6	26-0560	MO-LSAIA-01.05	U. FLORIDA 1970	24,62	%
ELEMENTOS LIBRES DE NITROGENO E.L.N.	Pasto M6	26-0560	MO-LSAIA-01.06	U. FLORIDA 1970	43,18	%
ANÁLISIS	**TIPO DE MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	MÉTODO INTERNO	MÉTODO DE REFERENCIA	RESULTADO	UNIDAD
HUMEDAD	Pasto M7	26-0561	MO-LSAIA-01.01	U. FLORIDA 1970	86,84	%
CENIZAS °	Pasto M7	26-0561	MO-LSAIA-01.02	U. FLORIDA 1970	11,74	%
EXTRACTO ETereo (EE) °	Pasto M7	26-0561	MO-LSAIA-01.03	U. FLORIDA 1970	4,39	%
PROTEINA °	Pasto M7	26-0561	MO-LSAIA-01.04	U. FLORIDA 1970	18,17	%
FIBRA °	Pasto M7	26-0561	MO-LSAIA-01.05	U. FLORIDA 1970	24,50	%
ELEMENTOS LIBRES DE NITROGENO E.L.N.	Pasto M7	26-0561	MO-LSAIA-01.06	U. FLORIDA 1970	41,19	%
HUMEDAD	Pasto M8	26-0562	MO-LSAIA-01.01	U. FLORIDA 1970	87,03	%
CENIZAS °	Pasto M8	26-0562	MO-LSAIA-01.02	U. FLORIDA 1970	10,89	%
EXTRACTO ETereo (EE) °	Pasto M8	26-0562	MO-LSAIA-01.03	U. FLORIDA 1970	4,38	%
PROTEINA °	Pasto M8	26-0562	MO-LSAIA-01.04	U. FLORIDA 1970	16,15	%
FIBRA °	Pasto M8	26-0562	MO-LSAIA-01.05	U. FLORIDA 1970	22,96	%
ELEMENTOS LIBRES DE NITROGENO E.L.N.	Pasto M8	26-0562	MO-LSAIA-01.06	U. FLORIDA 1970	45,63	%
HUMEDAD	Pasto M9	26-0563	MO-LSAIA-01.01	U. FLORIDA 1970	86,94	%
CENIZAS °	Pasto M9	26-0563	MO-LSAIA-01.02	U. FLORIDA 1970	12,01	%
EXTRACTO ETereo (EE) °	Pasto M9	26-0563	MO-LSAIA-01.03	U. FLORIDA 1970	4,87	%
PROTEINA °	Pasto M9	26-0563	MO-LSAIA-01.04	U. FLORIDA 1970	18,82	%
FIBRA °	Pasto M9	26-0563	MO-LSAIA-01.05	U. FLORIDA 1970	23,76	%
ELEMENTOS LIBRES DE NITROGENO E.L.N.	Pasto M9	26-0563	MO-LSAIA-01.06	U. FLORIDA 1970	40,54	%
HUMEDAD	Pasto M10	26-0564	MO-LSAIA-01.01	U. FLORIDA 1970	87,39	%
CENIZAS °	Pasto M10	26-0564	MO-LSAIA-01.02	U. FLORIDA 1970	11,81	%
EXTRACTO ETereo (EE) °	Pasto M10	26-0564	MO-LSAIA-01.03	U. FLORIDA 1970	5,35	%
ANÁLISIS	**TIPO DE MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	MÉTODO INTERNO	MÉTODO DE REFERENCIA	RESULTADO	UNIDAD
PROTEINA °	Pasto M10	26-0564	MO-LSAIA-01.04	U. FLORIDA 1970	19,38	%
FIBRA °	Pasto M10	26-0564	MO-LSAIA-01.05	U. FLORIDA 1970	23,51	%
ELEMENTOS LIBRES DE NITROGENO E.L.N.	Pasto M10	26-0564	MO-LSAIA-01.06	U. FLORIDA 1970	39,96	%

OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente. La toma de muestra no es responsabilidad del laboratorio, le corresponde al cliente. Los ensayos marcados con (LE) se reportan en base seca. Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio. Los resultados arriba indicados solo están relacionados con la muestra sometida a ensayo que se detalla en [este](#) documento tal como se recibió. El laboratorio se responsabiliza de toda la información suministrada en el informe, excepto cuando la información la suministre el cliente. NOTA DE DESCARGO: Si el lector de este correo electrónico no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información. De igual manera, la información entregada por el cliente, generada durante las actividades del laboratorio e información contenida en [este](#) informe es de carácter confidencial, está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por éste. Los datos marcados con ** son suministrados por cliente, el laboratorio no se responsabiliza por esta información.

RESPONSABLES DEL INFORME	
Nombre	Dr. Iván Semanago, PhD.
Cargo	RESPONSABLE QNC
Firma	
Fecha	2025-05-20

Anexo 5. Script para realizar el análisis estadístico en R Studio.

```
# =====
# Análisis DBCA: Diseño factorial 3 x 3 + 1 testigo
# Factores:
# A = Dosis: 0%, 50%, 100%
# B = Bacteria: Methylobacterium, Azospirillum, Sin_bacteria
# Testigo adicional:
# T10 (Testigo Químico)
# Variable respuesta:
# Variable (ej. Altura, Rendimiento, etc.)
# =====

# Instalar paquetes solo la primera vez
# install.packages(c("tidyverse", "agricolae", "car"))

library(tidyverse)
library(agricolae)
library(car)

# -----
# 1. Importar datos desde Excel usando portapapeles
# -----
dbca <- read.delim(
  "clipboard",
  header = TRUE,
  dec = ",",
  stringsAsFactors = FALSE
)

# Revisar estructura inicial
str(dbca)
head(dbca)

# -----
# 2. Convertir variables a factores
# -----
dbca$Dosis <- factor(dbca$Dosis)
dbca$Bacteria <- factor(dbca$Bacteria)
dbca$Tratamiento <- factor(dbca$Tratamiento)
dbca$Bloque <- factor(dbca$Bloque)

# Asegurar que la variable respuesta sea numérica
dbca$Variable <- as.numeric(dbca$Variable)

# -----
# 3. Crear o asegurar variable de grupo: Factorial vs Testigo
# -----
dbca <- dbca %>%
  mutate(
```

```

    Grupo = ifelse(Tratamiento == "T10", "Testigo", "Factorial"),
    Grupo = factor(Grupo)
)

# Revisar datos
str(dbca)
summary(dbca)

# -----
# 4. ANOVA factorial con bloques, excluyendo el testigo
# (De aquí sacarás los valores de Dosis, Bacteria y DosisxBacteria)
# -----
datos_factorial <- dbca %>%
  filter(Grupo == "Factorial")

modelo_fact <- aov(Variable ~ Bloque + Dosis * Bacteria, data = datos_factorial)

cat("\n--- 4. ANOVA FACTORIAL (Efectos Internos) ---\n")
print(summary(modelo_fact))

# Coeficiente de variación del análisis factorial
CV_fact <- (sqrt(deviance(modelo_fact) / modelo_fact$df.residual) /
  mean(datos_factorial$Variable, na.rm = TRUE)) * 100

cat("CV Factorial:", round(CV_fact, 2), "%\n")

# -----
# 5. Verificación de supuestos del modelo factorial
# -----
cat("\n--- 5. SUPUESTOS DEL MODELO ---\n")
# Normalidad de residuos (Si p > 0.05, son normales)
print(shapiro.test(residuals(modelo_fact)))

# Homogeneidad de varianzas (Si p > 0.05, son homogéneas)
print(leveneTest(Variable ~ Dosis * Bacteria, data = datos_factorial))

# -----
# 6. Comparaciones múltiples dentro del factorial
# -----
cat("\n--- 6. TUKEY FACTORIAL AL 5% ---\n")
# Efecto principal de Dosis
HSD.test(modelo_fact, "Dosis", console = TRUE)

# Efecto principal de Bacteria
HSD.test(modelo_fact, "Bacteria", console = TRUE)

# Interacción Dosis x Bacteria
datos_factorial <- datos_factorial %>%
  mutate(Dosis_Bacteria = interaction(Dosis, Bacteria, sep = "_"))

```

```

modelo_interaccion <- aov(Variable ~ Bloque + Dosis_Bacteria, data =
datos_factorial)
tukey_interaccion <- HSD.test(modelo_interaccion, "Dosis_Bacteria", console = TRUE)

# -----
# 7. ANOVA global con los 10 tratamientos
# (De aquí sacarás los valores de Bloque, Tratamientos, Error y Total)
# -----
modelo_global <- aov(Variable ~ Bloque + Tratamiento, data = dbca)

cat("\n--- 7. ANOVA GLOBAL (10 Tratamientos) ---\n")
print(summary(modelo_global))

# Coeficiente de variación global
CV_global <- (sqrt(deviance(modelo_global) / modelo_global$df.residual) /
              mean(dbca$Variable, na.rm = TRUE)) * 100

cat("CV Global:", round(CV_global, 2), "%\n")

# -----
# 8. Comparación múltiple entre los 10 tratamientos
# -----
cat("\n--- 8. TUKEY GLOBAL AL 5% ---\n")
tukey_global <- HSD.test(modelo_global, "Tratamiento", console = TRUE)

# -----
# 9. Contraste ortogonal: Factorial vs Testigo
# (De aquí sacarás el valor de "Testigo vs Factorial")
# -----
# Asignamos -1 a los 9 orgánicos y +9 al Testigo Químico (T10)
contraste <- ifelse(levels(dbca$Tratamiento) == "T10", 9, -1)
names(contraste) <- levels(dbca$Tratamiento)

contrasts(dbca$Tratamiento) <- cbind(Factorial_vs_Testigo = contraste)
modelo_contraste <- aov(Variable ~ Bloque + Tratamiento, data = dbca)

cat("\n--- 9. CONTRASTE ORTOGONAL ---\n")
print(summary(modelo_contraste, split = list(Tratamiento = list("Testigo vs Factorial" =
1))))

# Eliminar contraste para evitar problemas posteriores
contrasts(dbca$Tratamiento) <- NULL

# -----
# 10. Tabla resumen por tratamiento
# -----
resumen_trat <- dbca %>%
  group_by(Tratamiento, Dosis, Bacteria) %>%
  summarise(
    media = mean(Variable, na.rm = TRUE),

```

```

    de = sd(Variable, na.rm = TRUE),
    ee = de / sqrt(n()),
    n = n(),
    .groups = "drop"
  ) %>%
  arrange(desc(media))

cat("\n--- 10. TABLA RESUMEN ---\n")
print(resumen_trat)

# -----
# 11. Añadir letras de Tukey al resumen global
# -----
letras_global <- data.frame(
  Tratamiento = rownames(tukey_global$groups),
  letra = tukey_global$groups$groups
)

resumen_final <- dbca %>%
  group_by(Tratamiento, Dosis, Bacteria) %>%
  summarise(
    media = mean(Variable, na.rm = TRUE),
    de = sd(Variable, na.rm = TRUE),
    .groups = "drop"
  ) %>%
  left_join(letras_global, by = "Tratamiento") %>%
  arrange(desc(media))

# Reordenar niveles del factor para que coincidan con la media descendente
resumen_final$Tratamiento <- factor(
  resumen_final$Tratamiento,
  levels = resumen_final$Tratamiento[order(-resumen_final$media)]
)

cat("\n--- 11. RESUMEN FINAL CON LETRAS DE TUKEY ---\n")
print(as.data.frame(resumen_final))

```