



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL COMO BIOFERTILIZANTE DE
Azotobacter vinelandii Y *Methylobacterium symbioticum* APLICADAS
EN PASTOS DE LA PARROQUIA SAN ANDRÉS DEL CANTÓN
GUANO**

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto Técnico

Presentado para obtener el grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORAS: JHOSELIN VIVIANA LÓPEZ PACA

DANIELA ESTEFANIA VELASCO ROJANO

DIRECTORA: Ing. CRISTINA GABRIELA CALDERÓN TAPIA MSc.

Riobamba – Ecuador

2023

©2023, Jhoselin Viviana López Paca & Daniela Estefania Velasco Rojano

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Nosotras, Jhoselin Viviana López Paca y Daniela Estefania Velasco Rojano, declaramos que el presente Trabajo de Titulación es de nuestra autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autoras asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 19 de junio de 2023




Jhoselin Viviana López Paca
060536423-1



Daniela Estefania Velasco Rojano
180547552-0

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; tipo: Proyecto Técnico, **EVALUACIÓN DEL POTENCIAL COMO BIOFERTILIZANTE DE *Azotobacter vinelandii* Y *Methylobacterium symbioticum* APLICADAS EN PASTOS DE LA PARROQUIA SAN ANDRÉS DEL CANTÓN GUANO**, realizado por las señoritas: **JHOSELIN VIVIANA LÓPEZ PACA** y **DANIELA ESTEFANIA VELASCO ROJANO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Johanna Elizabeth Ayala Izurieta, MSc PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2023-06-19
Ing. Cristina Gabriela Calderón Tapia, MSc. DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN		2023-06-19
Ing. Norma Soledad Erazo Sandoval, PhD. ASESORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN		2023-06-19

DEDICATORIA

Dedico mi trabajo de titulación a Dios quién me ha dado la sabiduría y amor para continuar en cada etapa de mi vida y así cumplir mis sueños. Por ser quién ha estado conmigo cuidándome, guiándome, enseñándome para ser una buena persona. A mis padres Arsenio López y Nancy Paca quienes con su ejemplo y apoyo me enseñaron a luchar por lo que se quiere y nunca desistir, por siempre haber confiado en mí. En especial a mi ángel en el cielo mi padre que estuvo a lo largo de mi carrera guiándome y apoyándome esto va por ti papá. También a mis hermanos Pamela, Cristian y Lucely porque me han brindado su apoyo incondicional y por compartir conmigo buenos y malos momento.

Jhoselin

El presente trabajo de titulación se lo dedico al forjador de mi camino, el que me acompaña y siempre me levanta de mis continuos tropiezos, Dios mi padre celestial. A mis padres Wilson Velasco y María Rojano quienes con su constante apoyo y amor me forjaron como la persona que soy en la actualidad; muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. A mis hermanos Jéssica y Henry por sus consejos sinceros y apoyo incondicional en cada decisión que he tomado, y en especial a mi angelito en el cielo mi abuelito Juan Rojano quien fue como un padre para mí y supo estar siempre en los momentos importantes de mi vida, por ser el ejemplo de superación y demostrarme su corazón bondadoso. Finalmente, y no menos importante a mi amada hija Romina, por ser mi motivo de superación a diario, por enseñarme que jamás estaré sola y ser la mejor bendición que pudo darme la vida y a todos mis amigos por sus ánimos y consejos en cualquier etapa difícil que he tenido que atravesar. Gracias infinitas por confiar en mí y darme la oportunidad de culminar esta etapa de mi vida.

Daniela

AGRADECIMIENTO

Un sincero y cordial agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y a la Facultad de Ciencias, quienes nos brindaron la oportunidad de formarnos profesionalmente y de esta manera poder contribuir con la sociedad. A la Ingeniera Cristina Calderón tutora de nuestro trabajo de titulación, por su paciencia, confianza, asesoramiento y apoyo a lo largo de la realización del proyecto. Al Ingeniero Nelson Guamán gerente de la Asociación de Producción Industrial Lican, por el apoyo técnico brindado facilitándonos el uso de las instalaciones del laboratorio ASOPROIL para llevar a cabo la parte experimental de nuestra investigación y por motivarnos día a día a la realización de la misma.

Jhoselin & Daniela

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	X
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	XI
ÍNDICE DE ANEXOS	XII
RESUMEN.....	XIII
ABSTRACT	XIV
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA.....	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Planteamiento del problema.....	5
1.3. Justificación	6
1.4. Objetivos	6
1.4.1. <i>Objetivo general</i>	6
1.4.2. <i>Objetivos específicos</i>	6

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO	8
2.1. Antecedentes de la investigación.....	8
2.2. Referencias teóricas	8
2.2.1. <i>Biofertilizantes</i>	8
2.2.1.1. <i>Microorganismos fijadores de nitrógeno atmosférico</i>	9
2.2.2. <i>Género azotobacter</i>	9
2.2.2.1. <i>Azotobacter vinelandii</i>	10
2.2.3. <i>Género methylobacterium</i>	10
2.2.3.1. <i>Methylobacterium symbioticum</i> ,	10
2.2.4. <i>Producción de biofertilizantes bacterianos</i>	11
2.2.4.1. <i>Aislamiento y caracterización</i>	11
2.2.4.2. <i>Medición de poblaciones bacterianas</i>	11
2.2.4.3. <i>Tinción gram</i>	12
2.2.4.4. <i>Medios de cultivo</i>	13
2.2.4.5. <i>Producción de concentrados bacterianos en la agricultura</i>	13

2.2.4.6.	<i>Estabilización</i>	13
2.2.4.7.	<i>Sustratos para inocular bacterias</i>	14
2.2.4.8.	<i>Activación</i>	14
2.2.5.	<i>Pasticultura</i>	15
2.2.5.1.	<i>Producción de pastos</i>	15
2.2.5.2.	<i>Importancia económica</i>	15
2.2.5.3.	<i>Clasificación de pastos</i>	16
2.2.5.4.	<i>Variedades de pastos establecidos en el Ecuador</i>	17
2.2.5.5.	<i>Distribución de pastizales en la parroquia San Andrés</i>	18
2.2.5.6.	<i>Propiedades de los suelos de los pastizales</i>	19
2.2.5.7.	<i>Fertilización</i>	22
2.2.6.	<i>Variables morfológicas de los pastos</i>	23
2.2.6.1.	<i>Pasto azul (Dactylis glomerata)</i>	23
2.2.6.2.	<i>Raygrass</i>	24
2.2.7.	<i>Evaluación del potencial biofertilizante</i>	26
2.3.	Bases legales	26
2.3.1.	<i>Constitución de la República del Ecuador</i>	26
2.3.1.1.	<i>Ley orgánica del régimen de la soberanía alimentaria</i>	27

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	29
3.1.	Delimitación del área de estudio	29
3.1.1.	<i>Población de estudio</i>	29
3.2.	Diseño de la investigación	30
3.2.1.	<i>Elaboración de las parcelas experimentales</i>	30
3.2.2.	<i>Elaboración del biofertilizante</i>	31
3.2.2.1.	<i>Aislamiento de microorganismos</i>	31
3.2.2.2.	<i>Siembra por agotamiento en medios selectivos</i>	33
3.2.2.3.	<i>Identificación de microorganismos</i>	33
3.2.2.4.	<i>Reproducción de microorganismos</i>	34
3.2.2.5.	<i>Activación de microorganismos</i>	34
3.2.2.6.	<i>Elaboración del té de banano</i>	35
3.2.2.7.	<i>Preparación de biofertilizantes</i>	35
3.2.2.8.	<i>Aplicación de los biofertilizantes</i>	36
3.2.3.	<i>Medición de variables morfológicas</i>	36
3.2.4.	<i>Determinación de los parámetros fisicoquímicos del suelo</i>	37

3.2.4.1.	<i>Evaluación del potencial de los biofertilizantes</i>	39
3.2.5.	<i>Análisis estadístico</i>	40
3.2.6.	<i>Ingeniería del proyecto</i>	40

CAPÍTULO IV

4.1.	Área de estudio	41
4.2.	Elaboración de las parcelas experimentales	42
4.3.	Elaboración del biofertilizante	42
4.3.1.	<i>Aislamiento e inoculación de microorganismos</i>	42
4.3.2.	<i>Identificación de microorganismos</i>	44
4.3.3.	<i>Reproducción de microorganismos</i>	45
4.3.4.	<i>Activación de microorganismos</i>	46
4.3.5.	<i>Té de banano</i>	46
4.3.6.	<i>Preparación de biofertilizantes</i>	46
4.3.7.	<i>Aplicación de los biofertilizantes</i>	47
4.4.	Variables morfológicas	48
4.4.1.	<i>Datos iniciales</i>	48
4.4.2.	<i>Primera toma de datos</i>	54
4.4.3.	<i>Segunda toma de datos</i>	60
4.5.	Tipo de pastizal	66
4.5.1.	<i>Pasto azul</i>	66
4.5.2.	<i>Raygrass perenne</i>	68
4.5.3.	<i>Raygrass nacional</i>	70
4.6.	Parámetros fisicoquímicos del suelo	72
4.7.	Evaluación del potencial del biofertilizante	73

CAPÍTULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
5.1.	Conclusiones	76
5.2.	Recomendaciones	76

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Clasificación de pasturas	17
Tabla 2-2: Parámetros del suelo	19
Tabla 2-3: Criterios de calidad del suelo.....	21
Tabla 2-4: Requerimientos edafoclimáticos del pasto azul (<i>Dactylis glomerata</i>).....	23
Tabla 2-5: Requerimientos edafoclimáticos del raygrass (<i>Lolium perenne</i>).....	24
Tabla 2-6: Requerimientos edafoclimáticos del raygrass (<i>Lolium multiflorum</i>).....	25
Tabla 3-1: Parámetros del suelo (M1) analizados por el Laboratorio de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario (AGROCALIDAD)	38
Tabla 3-2: Parámetros del suelo (M2) analizados por el Laboratorio de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario (AGROCALIDAD)	39
Tabla 4-1: Datos iniciales de la Parcela de control.	49
Tabla 4-2: Datos iniciales de la <i>Azotobacter vinelandii</i> M ₁ (10 ⁸)	50
Tabla 4-3: Datos iniciales de la <i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₁ (10 ⁸).....	51
Tabla 4-4: Datos iniciales de la <i>Azotobacter vinelandii</i> A ₂ (10 ⁹).....	52
Tabla 4-5: Datos iniciales de la <i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₂ (10 ⁹).	53
Tabla 4-6: Primera toma de datos de la Parcela de control.	55
Tabla 4-7: Primera toma de datos del <i>Azotobacter vinelandii</i> A ₁ (10 ⁸).	56
Tabla 4-8: Primera toma de datos del <i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₁ (10 ⁸).....	57
Tabla 4-9: Primera toma de datos del <i>Azotobacter vinelandii</i> A ₂ (10 ⁹).	58
Tabla 4-10: Primera toma de datos del <i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₂ (10 ⁹).....	59
Tabla 4-11: Segunda toma de datos de la Parcela de control.	61
Tabla 4-12: Segunda toma de datos del <i>Azotobacter vinelandii</i> A ₁ (10 ⁸)	62
Tabla 4-13: Segunda toma de datos del <i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₁ (10 ⁸)	63
Tabla 4-14: Segunda toma de datos del <i>Azotobacter vinelandii</i> A ₂ (10 ⁹)	64
Tabla 4-15: Segunda toma de datos del <i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₂ (10 ⁹)	65
Tabla 4-16: Longitudes promedio del Pasto azul en las distintas parcelas.	66
Tabla 4-17: Anchos promedio del Pasto azul en las distintas parcelas.	67
Tabla 4-18: Longitudes promedio del Raygrass Perenne en las distintas parcelas.	68
Tabla 4-19: Anchos promedio del Raygrass Perenne en las distintas parcelas.	69
Tabla 4-20: Longitudes promedio del Raygrass Nacional en las distintas parcelas.....	70
Tabla 4-21: Anchos promedio del Raygrass Nacional en las distintas parcelas.	71
Tabla 4-22: Parámetros fisicoquímicos del suelo.....	72

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 2-1: Microorganismos utilizados en los biofertilizantes	9
Ilustración 2-2: Microorganismos que intervienen en la fijación biológica de nitrógeno atmosférico (FBNA).....	9
Ilustración 2-3: Dilución seriada y recuento en placas.....	11
Ilustración 2-4: (a) Procedimiento Tinción Gram, (b) Microbiología de bacterias teñidas con Gram. Los bacilos y los cocos (de color violeta) son grampositivos y los vibriones (de color rosado) son gram negativos.	12
Ilustración 2-5: Características morfológicas del Pasto azul (<i>Dactylis glomerata</i>)	23
Ilustración 2-6: Características morfológicas raygrass (<i>Lolium perenne</i>).....	24
Ilustración 2-7: Características Raygrass (<i>Lolium multiflorum</i>).....	25
Ilustración 3-1: Mapa de localización del proyecto	29
Ilustración 3-2: Diagrama del procedimiento del proyecto	40
Ilustración 4-1: Área de estudio – Comunidad Llío	41
Ilustración 4-2: Preparación de las parcelas experimentales	42
Ilustración 4-3: Aislamiento e inoculación de microorganismos	44
Ilustración 4-4: Identificación de microorganismos por el método de tinción gram.....	45
Ilustración 4-5: Inoculación de microorganismos en el sustrato (leche en polvo)	45
Ilustración 4-6: Activación del sustrato inoculado con melaza.....	46
Ilustración 4-7: Elaboración de té de banano	46
Ilustración 4-8: Preparación de biofertilizantes.....	47
Ilustración 4-9: Primera aplicación de los biofertilizantes en cada parcela.....	47
Ilustración 4-10: Segunda aplicación de los biofertilizantes en cada parcela.	48
Ilustración 4-11: Toma de medidas iniciales de los pastos	48
Ilustración 4-12: Toma de datos de las variables morfológicas de los pastos transcurridos 15 primeros días	54
Ilustración 4-13: Toma de datos de las variables morfológicas de los pastos transcurridos 20 días después de la segunda aplicación.	60
Ilustración 4-14: Longitudes promedio del Pasto azul en las distintas parcelas	67
Ilustración 4-15: Anchos promedio del Pasto azul en las distintas parcelas	68
Ilustración 4-16: Longitudes promedio del Raygrass Perenne en las distintas parcelas	69
Ilustración 4-17: Anchos promedio del Raygrass Perenne en las distintas parcelas	70
Ilustración 4-18: Longitudes promedio del Raygrass Nacional en las distintas parcelas.....	71
Ilustración 4-19: Anchos promedio del Raygrass Nacional en las distintas parcelas.....	72

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** ÁREA DE ESTUDIO, TERRENO UBICADO EN LA COMUNIDAD DE LLÍO
- ANEXO B:** ANÁLISIS DEL BIOFERTILIZANTE EN LABORATORIO
- ANEXO C:** APLICACIÓN DE LOS BIOFERTILIZANTES EN LAS PARCELAS
- ANEXO D:** MUESTRA DE SUELO ENVIADA AL LABORATORIO
- ANEXO E:** RESULTADOS DEL POTENCIAL DE LOS BIOFERTILIZANTES APLICADOS EN LOS PASTOS
- ANEXO F:** RESULTADOS INICIALES DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DEL SUELO POR UN LABORATORIO CERTIFICADO
- ANEXO G:** RESULTADOS FINALES DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DEL SUELO POR UN LABORATORIO CERTIFICADO

RESUMEN

En la actualidad, se pretende ver alternativas que disminuyan la cantidad de contaminantes que generan los fertilizantes químicos en la agricultura. Por lo que, el objetivo del presente proyecto fue evaluar el potencial como biofertilizante de *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum* aplicadas en pastos de la parroquia San Andrés del cantón Guano. Para ello, se elaboró cuatro tipos de biofertilizante: *Azotobacter vinelandii* A₁ (10⁸), *Methylobacterium symbioticum* M₁ (10⁸), *Azotobacter vinelandii* A₂ (10⁹) y *Methylobacterium symbioticum* M₂ (10⁹) y se aplicó en parcelas ubicadas en un terreno de la comunidad de Llfo. Para la toma de datos de variables morfológicas se realizó: al inicio de la investigación, a los 15 días de la primera aplicación y a los 20 días de la segunda aplicación del biofertilizante. Además, se tomaron muestras de suelo al inicio y final del estudio para analizar en un laboratorio certificado. A partir del análisis de resultados, mediante las variables morfológicas se encontró que el biofertilizante a base *Methylobacterium symbioticum* M₂ (10⁹) tiene mejores resultados de longitud y ancho de las tres variables de pastos (Pasto azul, Raygras perenne y Raygras nacional), sin desmerecer al resto de biofertilizantes que comparados con la Parcela de control obtuvieron valores superiores. Por otra parte, los resultados de los parámetros de suelo corroboran la acción benéfica que tuvo los biofertilizantes en la calidad del suelo ya que, sus macro y micronutrientes favorecieron al desarrollo del crecimiento de los pastos. En este contexto, se puede decir que los biofertilizantes al ser una nueva alternativa para comunidades donde se cultivan este tipo de pastos son eficientes, pero se recomienda que en futuras investigaciones se realice una valoración económica comparada con fertilizantes químicos utilizados comúnmente.

Palabras clave: <BIOFERTILIZANTE>, <*Azotobacter vinelandii*>, <*Methylobacterium symbioticum*>, <CALIDAD DES SUELO>, <PASTO AZUL>, <RAYGRASS PERENNE>, <RAYGRASS NACIONAL>.

1250-DBRA-UPT-2023



ABSTRACT

At present, it is intended to see alternatives that reduce the amount of pollutants generated by chemical fertilizers in agriculture. Therefore, this project aimed to evaluate the potential as a biofertilizer of *Azotobacter vinelandii* and *Methylobacterium symbioticum* applied in pastures of the San Andrés parish of Guano canton. For this, four types of biofertilizer were elaborated: *Azotobacter vinelandii* A1 (10^8), *Methylobacterium symbioticum* M1 (10^8), *Azotobacter vinelandii* A2 (10^9) and *Methylobacterium symbioticum* M2 (10^9) and it was applied in plots located in a plot of the community of mess. The data collection of morphological variables was carried out at the beginning of the investigation, 15 days after the first application and 20 days after the second application of the biofertilizer. In addition, soil samples were taken at the beginning and end of the study to be analyzed in a certified laboratory. From the analysis of results, through the morphological variables, it was found that the biofertilizer based on *Methylobacterium symbioticum* M2 (10^9) has better results in length and width of the three pasture variables (Bluegrass, perennial Raygras and national Raygras), without detracting from to the rest of the biofertilizers that compared to the control plot obtained higher values. On the other hand, the results of the soil parameters corroborate the beneficial action that biofertilizers had on soil quality since their macro and micronutrients favoured the development of pasture growth. In this context, it can be said that biofertilizers are a new alternative for communities where these types of pastures are cultivated. They are efficient. However, it is recommended that an economic valuation be carried out in future research compared with commonly used chemical fertilizers.

Keywords: <BIOFERTILIZER>, <*Azotobacter vinelandii*>, <*Methylobacterium symbioticum*>, <SOIL QUALITY>, <BLUEGRASS>, <PERENNIAL RAYGRASS>, <NATIONAL RAYGRASS>.



Ing. Paul Obregón. Mgs

0601927122

INTRODUCCIÓN

El uso de fertilizantes químicos agrícolas en los últimos años ha provocado ciertos impactos negativos al ambiente, ocasionando la variación del pH, el deterioro de la estructura y la microfauna a nivel del suelo y de forma indirecta contaminando a los recursos de aire y agua (González, 2019, p. 1).

La superficie de uso agropecuario en el Ecuador es de 5.2 millones de hectáreas, de las cuales el 39.7% se destinan al cultivo de pastos siendo el 16.6% para pastos cultivados y el 11.6% de cultivos permanentes (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2021, p. 5-7).

Con el desarrollo de la tecnología a través de la aplicación de la Biotecnología Verde se implementa una alternativa agroecológica por medio de la aplicación de biofertilizantes que son producidos a partir de bacterias promotoras del crecimiento vegetal y fijadoras de nitrógeno como *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum* ya que, tienen la capacidad de disolver fosfatos y la síntesis de sustancias estimuladoras y fungistáticas (Departamento Agronomía Infoagro, 2022, p. 3). El uso de fertilizantes orgánicos brinda beneficios como menor consumo de energía, no contaminación del ambiente, incrementación de la fertilidad del suelo mediante procesos efectivos y protección ante microorganismos fitopatógenos (Alcarraz et al., 2020, p. 241).

Según Vivanco et al. (2021 p. 2156), en su investigación denominada “Efecto de la aplicación de *Azospirillum sp.* y *Azotobacter sp.* sobre el crecimiento y productividad de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*)” que fue desarrollada en la ciudad de Loja, Ecuador, estudiaron el efecto de BPCV de los géneros *Azospirillum sp.* y *Azotobacter sp.* en el cultivo de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) aplicados periódicamente en las raíces, largo máximo de las hojas, biomasa fresca y proteína total cada 15 días hasta 45 días. Determinando un incremento significativo de la planta sobre los parámetros de longitud y largo de la raíz y un incremento en la producción de biomasa fresca, proteína total y largo de raíz. Por otra parte, la investigación de Aparecida (2022, p. 6), denominada “Efecto de los microorganismos fijadores de nitrógeno que habitan la filósfera en la nutrición de la lechuga” que fue desarrollada en Braganza, Portugal en la que, se desarrolló aplicando un bioestimulante comercial con microorganismos que colonizan la filósfera en lechuga (*Lactuca sativa L.*), la capacidad fijadora de nitrógeno del microorganismo y su aporte al cultivo. Para realizar el experimento se utilizó un diseño factorial con dos factores: fertilización nitrogenada, con cuatro niveles de factores (D1, D2, D3 y D4, que corresponden a 0, 0,33, 0,66 y 1,32 g N vaso-1); y un producto comercial con *Methylobacterium symbioticum*, con dos niveles de factor (Con y Sin). Como resultados se obtuvo que en plantas con microorganismo mantuvieron una tendencia favorable en comparación con el tratamiento sin microorganismos.

No obstante, se recomendó realizar nuevos estudios para evaluar la eficacia del producto comercial a base de *Methylobacterium* simbiótico para esta y otras especies.

Por lo mencionado el empleo de dichos microorganismos benéficos podría ser de gran utilidad en la agricultura para la producción de pastos, además de ser una alternativa para reducir el empleo de productos químicos, contribuyendo a un mejoramiento en el manejo de cultivos y al cuidado del ambiente. Por todos estos antecedentes de la situación abordada se pretende realizar la producción de biofertilizantes a partir de microorganismos como *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum* para la aplicación en pastos de tal modo que constituyan una alternativa natural para el suelo del sector agrícola obteniendo beneficios como productividad de cultivos al mismo tiempo mejoran la calidad del suelo con un entorno microbiológico óptimo.

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

1.1. Antecedentes

La producción de pastos es una de las prácticas más antiguas de agricultura, esta práctica se remontaría al tiempo de la domesticación de animales herbívoros, que más tarde se convertiría en el sustento de la industria ganadera. Los pastos están conformados por una gran variedad de especies herbáceas y forrajeras, las mismas que se establecen en suelos cuyas características de fertilidad, humedad y pH son deficientes para el cultivo de otros productos alimenticios. Para FAO en el 2018, aproximadamente el 70% del suelo agrícola se encuentra ocupado por praderas abundantes en pastizales, que han servido de hábitat para especies endémicas animales y vegetales, así como también, de alimento para el ganado; además, brindan servicios ecosistémicos de protección al suelo, captura de carbono, regulación hídrica, y provisión de recursos genéticos (León et al., 2018, p. 39).

La producción agrícola de Latinoamérica representa desde mediados del siglo XX, al menos un tercio de la superficie mundial dedicada a cultivos y pastizales; superficie que ha sufrido un cambio de uso de suelo, con una elevada deforestación para la implementación de sistemas de agricultura intensiva. La superficie de pastos es mayor en relación con las tierras de cultivo en toda la región, sin embargo, estos sistemas no se encuentran exentos a la degradación, se conoce que cerca del 70 % de estas áreas, se encuentran atravesando procesos de degradación (Ramírez et al., 2017, p. 4-5).

El 57,53 % de la superficie agrícola del Ecuador está ocupada por pastos, de la cual, el 73 % corresponde a pastos cultivados, y el otro 27 % a pastos de naturales; la región Costa concentra la mayor superficie con pastos en un 56,64 %, la región Sierra un 28,43 % y la Región Amazónica 14,94 % (León et al., 2018, p. 40).

Para Noda (2009, pp. 1–10), en su investigación titulada: “Las Micorrizas: Una alternativa de fertilización ecológica en los pastos” sostiene que, la fertilización química promueve el deterioro ambiental de los suelos agrícolas, en consecuencia, desde hace algunos años se ha propuesto alternativas de fertilización agroecológica, como es el caso de las micorrizas. Los beneficios de las micorrizas han sido ampliamente difundidos, no obstante, su aplicación en pastizales ha tomado importancia recientemente. En este estudio en particular realizado en Cuba, la aplicación de micorrizas en suelos ricos en fosfatos permitió incrementar el rendimiento en un 15 a 50 %,

produciendo pastos con mayor longitud, vigor y área foliar, disminuyendo en aproximadamente un 50 %, el consumo de fertilizantes químicos fosfatados, además, presentaron un efecto protector contra hongos fitopatógenos. Por otra parte Echeverri et al. (2010, pp. 94–100), en su investigación denominada “Evaluación comparativa de los parámetros productivos y agronómicos del pasto kikuyo *Pennisetum clandestinum* bajo dos metodologías de fertilización” que fue desarrollada en el departamento de Antioquia, Colombia, estudiaron el efecto de la sustitución parcial de los fertilizantes sintéticos por fertilizantes orgánicos, en la producción de forraje verde (relación hoja tallo), usando un diseño experimental en bloques completamente al azar, con 3 tratamientos que consistieron en: 1) 50 kg de fertilizantes nitrogenados por hectárea, 2) una combinación de 25 kg de fertilizante nitrogenado por hectárea con 200 kg de fertilizante orgánico, 3) una combinación de 25 kg de fertilizante nitrogenado por hectárea con 300 kg de fertilizante orgánico; aplicados a un total de 17 parcelas. Determinando que no había diferencia significativa en el rendimiento del forraje, ni en la relación tallo hoja, es decir, que se puede reemplazar el 50 % de fertilizantes químicos por enmiendas orgánicas, sin comprometer el rendimiento de los pastizales.

Los numerosos estudios sobre la microbiología ambiental y agrícola han permitido entender las relaciones que mantienen los microorganismos del suelo con otros organismos superiores. Una gran variedad de especies bacterianas prolifera en la rizosfera de las plantas, estimulando su desarrollo, mediante varios mecanismos, como: fijación de nitrógeno, mineralización de sustratos, aumento de biodisponibilidad de microelementos, etc., promoviendo un mayor desarrollo radicular. Una de principales bacterias benéficas del suelo son las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR), que en los últimos años han sido foco de estudio para el desarrollo de biofertilizantes biológicos (Vessey, 2003, p. 571-586). Para Sánchez et al. (2018, pp. 35–43), en su investigación “Evaluación de *Azotobacter vinelandii* y *Pseudomonas denitrificans* en *Dioscorea rotundata* en condiciones de campo” llevada a cabo en Colombia, señala que las rizobacterias indígenas promueven el crecimiento vegetal, la fijación de nitrógeno y la síntesis de fitohormonas; por lo cual, fue oportuno evaluar el efecto de estas dos bacterias, en combinación con fertilizantes nitrogenados al 50 y 75 %, sobre el rendimiento y contenido nutricional de tubérculos de la especie *Dioscorea rotundata*, siguiendo un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial aumentado ($3 \times 2 + 2$), con 3 repeticiones. Los resultados indicaron que la aplicación de *P. denitrificans* DVS10 redujo el uso de fertilizantes nitrogenados en un 25%, además, encontraron un incremento significativo en el contenido de proteína y fibra cruda del tubérculo. En la investigación de Equiza (2021, pp. 25–44) de “Optimización de nutrición nitrogenada en hortalizas de hoja crecidas en sistema de hidroponía pura NGS®: Uso de inoculantes microbianos” sobre la posibilidad de sustitución parcial del nitrógeno mineral, por biofertilizantes que suministren concentrados bioestimulantes a base *Methylobacterium symbioticum*, bacteria fijadora de nitrógeno, que es actúa como principio activo del producto

BlueN®. Cultivaron plantas de borraja y acelga en seis lotes, a tres se les aplicó en biofertilizantes, y los tres restantes fueron el grupo control, por otro lado, dos lotes fueron administrados con una solución nitrogenada concentrada (12,5 mM) y las otras cuatro, con solución diluida (1,8 mM), dos de estas recibieron un tratamiento foliar con β -alanina, a fin de verificar si favorecían la colonización de *M. symbioticum*. Los resultados indican que ni el tratamiento biológico, ni el biológico foliar tuvieron un efecto significativo respecto al grupo control.

En base a lo establecido es relevante desarrollar el tema de investigación “Evaluación del potencial como biofertilizante de *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum* aplicadas en pastos de la parroquia San Andrés del cantón Guano”.

1.2. Planteamiento del problema

La parroquia San Andrés es considerada como una zona altamente agropecuaria y ganadera, gran parte de sus habitantes se dedica al cultivo de productos agrícolas como los pastos, empleados para la alimentación del ganado. Según el PDYOT de San Andrés (2019, p. 194), se establece que la baja tecnología; es decir, la falta de apoyo técnico es una limitante que conlleva a elevados costos de producción empleando agroquímicos y alcanzando baja productividad, con ello causan impactos negativos al ambiente, provocando la infertilidad del suelo, la contaminación de agua subterráneas e incluso afecta de manera directa la salud del ser humano. El estudio de la biotecnología permite aumentar la eficiencia y productividad de los procesos aplicando microorganismos como *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum* que son bacterias fijadoras de nitrógeno. En estudios realizados, según Zavala et al., (2020, pp. 45–50) establece que *Azotobacter vinelandii* juega un rol muy importante en producción vegetal, las cuales tienen una capacidad sobresaliente de fijación de nitrógeno y son denominados biofertilizantes porque pueden ayudar a mitigar los efectos de la falta de nitrógeno, mejorando así la calidad de las cosechas, regenerando de manera gradual la disponibilidad de nitrógeno orgánico en los suelos y según Baptiste et al. (2022, p. 15) en base a los estudios experimentales se han demostrado las funciones importantes de *Methylobacterium* en la fisiología de las plantas, incluyendo la estimulación del crecimiento a través de la secreción de hormonas, retención de metales pesados, secreción de compuestos anti fitopatógenos y fijación de nitrógeno en nódulos vegetales, despertando un creciente interés en el uso de este microorganismo en aplicaciones de biotecnología vegetal. Por todos estos antecedentes de la situación abordada se pretende realizar la producción de biofertilizantes a partir de microorganismos como *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum* para aplicación en pastos de tal modo que, constituyan una alternativa natural para el suelo del sector agrícola obteniendo beneficios como productividad de cultivos al mismo tiempo mejoran la calidad del suelo con un entorno microbiológico óptimo.

1.3. Justificación

La producción ganadera ecuatoriana ha provocado la degradación de los suelos agrícolas. En efecto, como una alternativa sostenible para el ambiente, se desarrollan avances biotecnológicos mediante la producción de biofertilizantes empleando microorganismos fijadores de nitrógeno de vida libre *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum* sobre pastos en los sistemas productores como sustituyentes a los fertilizantes químicos. Dichos microorganismos tienen la capacidad de disolver fosfatos ya que excretan ácidos orgánicos, así como también sintetizan sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal y sustancias fungistáticas que inhiben el crecimiento de hongos patógenos como *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium* y *Rhizoctonia*. Según Camelo (2010, p. 47), el empleo de dicho fertilizante orgánico muestra efectividad incrementando el nivel de producción de cultivos, llegando a obtener el 50% en condiciones de invernadero y el 33% en parcelas experimentales. Por tal motivo, la utilización de los biofertilizantes resulta económicamente provechoso para ganaderos y agricultores de la zona, llegando a reducir así un 50% la aplicación de fertilizantes nitrogenados químicos. Gracias a esta investigación los beneficiarios directos son los habitantes tanto agricultores y ganaderos de la zona, quienes van a ver una mejoría en la producción de pastos, disminuyendo costos y tiempos de producción. Así como también el ambiente dado que se reemplaza el uso de agroquímicos para mejorar la productividad del suelo. Se pretende por medio de esta investigación innovar o mejorar la calidad de vida de los habitantes de la parroquia San Andrés, ofreciendo oportunidades a los agricultores y residentes rurales de tal modo que, sean capaces de cuidar los terrenos destinados a la agricultura y pastizales.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

- ✓ Evaluar el potencial como biofertilizante de *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum* aplicados en pastos de la parroquia San Andrés del cantón Guano.

1.4.2. Objetivos específicos

- ✓ Producir biofertilizantes bacterianos a partir de *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum*.
- ✓ Determinar la eficiencia de los biofertilizantes *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum* en la producción de pastos a través de la medición de variables morfológicas.

- ✓ Estimar el efecto de la biofertilización sobre la calidad del suelo, a través del análisis de los parámetros fisicoquímicos.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

El Ecuador es considerado como un país altamente productivo, es por ello que para la obtención de sus productos aplican fertilizantes químicos durante el ciclo de vida de los mismos. Dichos fertilizantes afectan de manera directa al ambiente, por ejemplo, producen el efecto invernadero por la emisión de los gases, deterioro de la estructura del suelo, es decir, produce la erosión y elimina la microfauna que existe en el entorno; dando paso a uno de los mayores inconvenientes por su uso indiscriminado y sin control de estos compuestos (García y Rodríguez, 2012, pp. 1-2).

La parroquia San Andrés es conocida como una zona altamente agropecuaria y ganadera, gran parte de sus habitantes se dedica al cultivo de productos agrícolas como los pastos, empleados para la alimentación del ganado. Actualmente, esta actividad genera contaminantes que afectan el suelo y agua, debido a que la mayoría de los habitantes utiliza químicos que se vierten sin ningún control (Cardona, 2007; citado en: PDOT, 2019, p. 49). Es por ello, que mediante los avances tecnológicos que nos permiten desarrollar nuevas técnicas para mitigar dichos impactos, se evaluará el potencial de biofertilizantes a partir de microorganismos (*Azotobacter vinelandii* Y *Methylobacterium symbioticum*) aplicadas en 3 especies de pastos: pasto azul (*Dactylis glomerata*), raygrass perenne y raygrass con el fin de apoyar con esta técnica que conlleve a disminuir el uso de agroquímicos.

2.2. Referencias teóricas

2.2.1. Biofertilizantes

Según Armenta et al. (2010, p. 51), “los biofertilizantes son preparados de microorganismos aplicados al suelo y/o planta con el fin de sustituir parcial o totalmente la fertilización sintética, así como disminuir la contaminación generada por los agroquímicos”. Los microorganismos utilizados en los biofertilizantes son clasificados dentro de dos grupos, como se observa en la Ilustración 2-1:

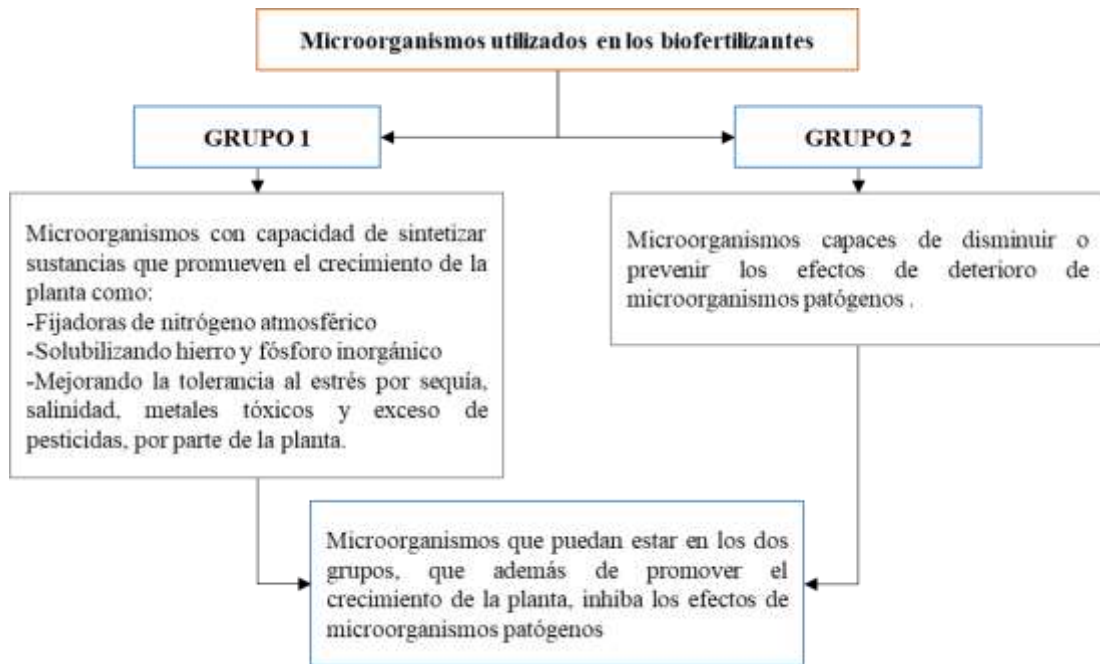


Ilustración 2-1: Microorganismos utilizados en los biofertilizantes

Fuente: Kloepper et al., 1980, p. 1080

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

2.2.1.1. Microorganismos fijadores de nitrógeno atmosférico

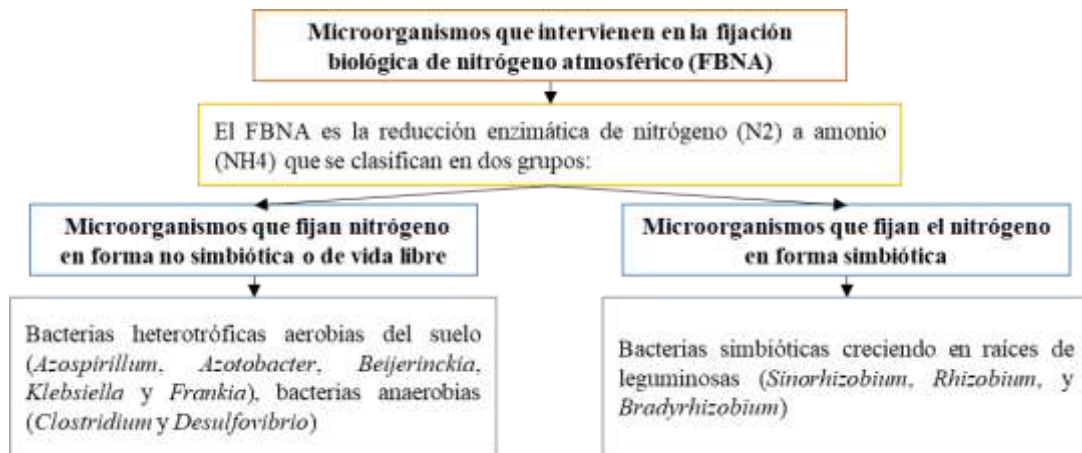


Ilustración 2-2: Microorganismos que intervienen en la fijación biológica de nitrógeno atmosférico (FBNA)

Fuente: Richards, 1987; Döbereiner et al., 1995; citados en Armenta et al., 2010, pp. 51-52

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

2.2.2. Género azotobacter

Son bacterias de vida libre que se encuentran en suelos aeróbicos y fijan nitrógeno para su propio beneficio por lo general, el nitrógeno fijado por estos organismos solo llega a ser disponible para

el ecosistema circundante cuando la bacteria muere (Camelo, 2010). La especie bacteriana de vida libre más ampliamente estudiada es la *Azotobacter vinelandii*.

2.2.2.1. *Azotobacter vinelandii*

Es un organismo unicelular Gram-negativo, vive en suelos y en agua en forma de bacilo con un tamaño de 1,5 a 2 µm de diámetro, su movilidad se da gracias a que posee flagelos periticos y son aerobio obligados, pero pueden crecer en condiciones bajas de oxígeno que contengan formas sencillas de nitrógeno combinado como el amoniaco, urea y nitrato; además, su metabolismo es estrictamente oxidativo y raramente se producen ácidos u otros productos de fermentación (Departamento Agronomía Infoagro, 2022, p. 5).

2.2.3. **Género *methylobacterium***

Es un género bacteriano perteneciente a la clase *Alphaproteobacteria*, orden *Rhizobiales* y familia *Methylobacteriaceae* que actualmente consta de 52 especies, compuestas por bacterias Gramnegativas, estrictamente aerobias, con forma de bastón; que están ampliamente distribuidas en la naturaleza y son abundantes en la filósfera de las plantas; además, crecen en compuestos de un solo carbono como formiato, formaldehído o metanol (Salas, 2020, p. 14; Gallego et al., 2013, p. 285). Según Baptiste et al. (2022, p. 15), una de las funciones importantes del género *Methylobacterium* ocurre en la fisiología de las plantas ya que, estimula el crecimiento a través de la secreción de hormonas, retiene metales pesados, secreta compuestos anti fitopatógenos y fija el nitrógeno en nódulos vegetales. Es debido a esto que, una de las especies más utilizadas en la biotecnología vegetal es la bacteria *Methylobacterium symbioticum* que en los últimos años se ha convertido en uno de los microorganismos más empleados en la agricultura orgánica.

2.2.3.1. *Methylobacterium symbioticum*,

La bacteria *Methylobacterium symbioticum* tiene la función de fijar el nitrógeno del aire y suministrar naturalmente a la planta; esto ocurre debido a que el microorganismo ingresa a la planta a través de las hojas en sus primeras etapas de desarrollo y rápidamente coloniza la filósfera del cultivo, convirtiendo el nitrógeno del aire en amonio, metabolizándolo directa y constantemente en aminoácidos durante la temporada de crecimiento (AGROPAGES, 2021, p. 6).

2.2.4. Producción de biofertilizantes bacterianos

2.2.4.1. Aislamiento y caracterización

El aislamiento y caracterización es una técnica que se utiliza para la identificación y localización de cepas microbianas (Tandapilco, 2020, p. 13). El aislamiento es un método de separación de microorganismos, para ello se utiliza siembras en medios de cultivo, dicho medio posee características nutritivas. Mientras que la caracterización de microorganismos es la identificación aproximada de las colonias bacterianas mediante una técnica de coloración ya sea para bacterias grampositivas o gramnegativas y según su morfología microscópica (Etchelet, 2019, p. 27).

2.2.4.2. Medición de poblaciones bacterianas

El método más utilizado es el recuento en placa ya que permite medir el número de colonias visibles que se forman en 24 horas o más, debido a que la bacteria crece y se divide; además, los recuentos en placa suelen conocerse como unidades formadoras de colonias (UFC). “La convención de la Food and Drug Administration de los Estados Unidos, recomienda que se cuenten sólo las placas con 25 a 250 colonias”, para ello uno de los métodos es la dilución seriada, en la que el inóculo original se diluye en una serie de tubos. Por ejemplo, como se observa en la Ilustración 2-3 cada tubo de dilución tendrá solo la décima parte del número de células microbianas del tubo que lo precedió, luego se utiliza estos tubos de dilución para inocular placas Petri, en las que crecerán las colonias y podrán ser contadas (Tortora et al., 2007, p. 178).

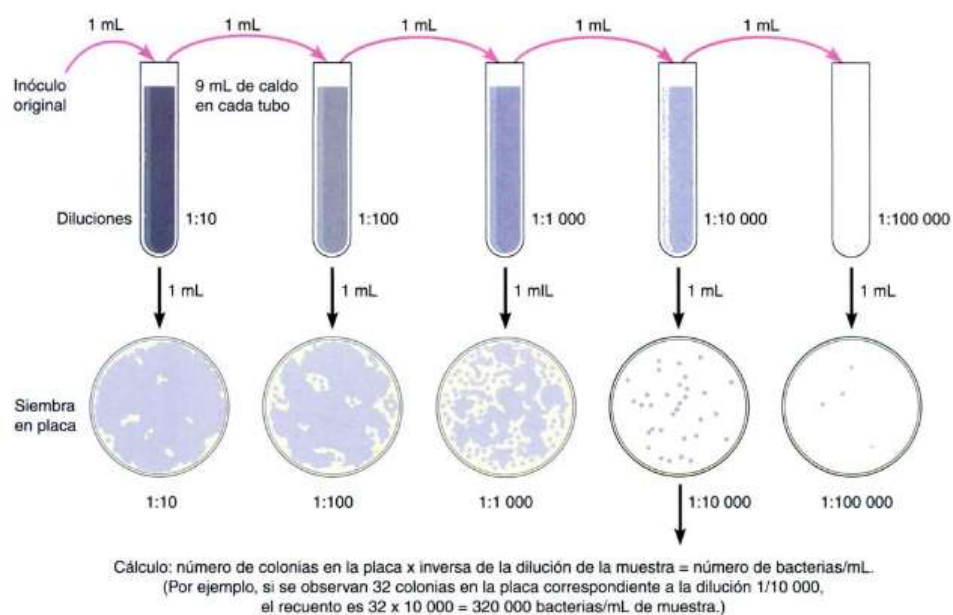


Ilustración 2-3: Dilución seriada y recuento en placas

Fuente: Tortora et al., 2007, p. 179

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

2.2.4.3. Tinción gram

La tinción permite una reacción con distintas clases de bacterias ya que, las bacterias no teñidas resultan difíciles de detectar con la luz del microscopio (Tortora et al., 2007, p. 69). La tinción más común y útil es la Gram debido a que separa las bacterias en dos grupos según la composición de sus paredes celulares. Si una muestra en un portaobjetos se trata con una disolución de cristal violeta y posteriormente con yodo, su pared bacteriana se tiñe de color púrpura. Si a continuación, las células teñidas se tratan con un disolvente, como el alcohol o la acetona, los organismos grampositivos retienen el colorante, mientras que las especies gramnegativas lo pierden y se decoloran. La adición del colorante de contraste safranina tiñe las bacterias gramnegativas claras de color rosa o rojo (Champe et al., 2008, p. 21).

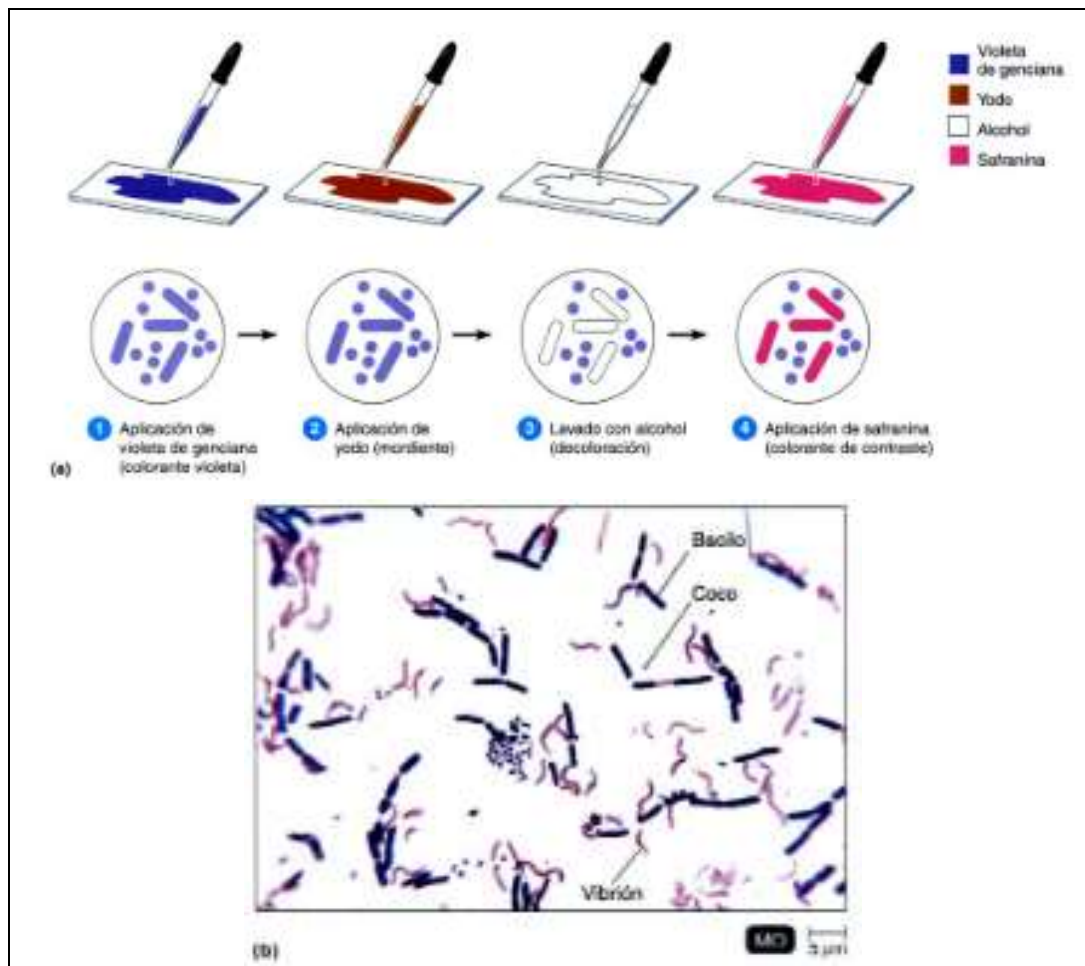


Ilustración 2-4: (a) Procedimiento Tinción Gram, (b) Microbiología de bacterias teñidas con Gram. Los bacilos y los cocos (de color violeta) son grampositivos y los vibriones (de color rosado) son gram negativos.

Fuente: Tortora et al., 2007, p. 70

2.2.4.4. *Medios de cultivo*

Es un material nutritivo que permite el crecimiento de microorganismos y se denomina medio de cultivo, el medio puede estar en forma líquida (caldo nutritivo) o si se agrega agar (agar nutritivo) (Tortora et al., 2007, pp. 168 y 170). Dentro de estos medios están:

- ✓ Agar Nutritivo es usado para multiplicar gérmenes poco exigentes, comúnmente se utiliza en cultivo y conservación de cepas, ya que contiene: 8 g de caldo nutritivo que se disuelve en 1 L de agua destilada y se agrega 15 g de agar-agar para uso bacteriológico, calentando el caldo nutritivo suavemente a la llama del mechero por unos minutos hasta fundir el agar controlando el pH del caldo con un papel indicador de pH, el pH final debe ser de 6.8 a 7.0, si tiene pH muy ácido se debe agregar unas gotas de NAOH al 0.1M (Sagardoy y Mandolesi, 2004, pp. 39 y 70).

- ✓ Agar Trypticase o conocido como hidrolizado de caseína, contiene peptonas derivadas a partir de la digestión enzimática de la caseína y soya, las cuales proveen aminoácidos, vitaminas y otros compuestos nitrogenados necesarios para el crecimiento de los microorganismos como fuente de carbono y nitrógeno, además no contiene lípidos (Koneman y Allen, 2006, pp. 210 y 750; Santamaría et al., 2014, p. 15)

2.2.4.5. *Producción de concentrados bacterianos en la agricultura*

Un concentrado bacteriano es un producto elaborado a base de microorganismos que vienen en presentación líquido o sólido que contiene una concentración total de bacterias u hongos que tienen ciertas características benéficas para la vegetación. Su uso en la agricultura fue desarrollada en los años 80 por el japonés Dr. Teruo Higa con una técnica fácil de emplear y de bajo costo, que consiste en reproducir los microorganismos en un estado sólido con humedad adecuada, alimento (sacos de tierra, sacos de semolina de arroz o haba, alimento animal, maleza, agua) y usarlos en estado líquido con una regadera o bomba de espalda, a razón de 1L de microorganismos líquido por bomba de 18 L; además, el tiempo de empleo puede ser diario o una vez a la semana dependiendo del tipo de cultivo (Tencio, 2015, p. 2-5).

2.2.4.6. *Estabilización*

Los biofertilizantes, además de estar compuestos por microorganismos presentan sustancias portadoras cuya función es estabilizar a los microorganismos e incrementar la funcionalidad en las plantas. Existe varias sustancias que se pueden emplear para la producción de estos productos,

el portador ideal debe ser resistente a condiciones ambientales como la temperatura y la humedad, de tal forma que los microorganismos tengan estabilidad en el formulado y proporcionen su supervivencia dentro del suelo. Por otro lado, la estabilización se puede realizar en fase sólida y líquida. En el caso de la fase sólida se emplea la liofilización que se basa en el secado de cultivos microbianos a fin de que formen esporas reduciendo la humedad logran activarse hasta llegar a una fase de latencia. Para la fase líquida se emplean medios acuosos u oleosos aplicando aditivos como protectores celulares como sacarosa, maltosa, trehalosa y glicerol (Stamenković et al., 2018, pp. 8-9).

2.2.4.7. *Sustratos para inocular bacterias*

Las bacterias necesitan una dieta rica en sustrato que generen un ambiente propicio para que se adhieran y colonicen el cultivo (Neme y Monserrat, 2020, p. 1). En el caso de las bacterias, el crecimiento de *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum* se lleva a cabo, en los cultivos utilizando diferentes fuentes de carbono en medio Burk modificado como: fructuosa, galactosa, glucosa, lactosa y sacarosa (leche en polvo y jugo de caña) según la investigación de Cuesta et al. ([sin fecha], p. 2-3), de “Estrategias de cultivo en la producción de alginatos por *Azotobacter vinelandii*”, mediante diferentes fuentes de carbono se realizaron pruebas de crecimiento a 131 horas por triplicado y para los cultivos crecidos con fuentes de nitrógeno diferentes al extracto de levadura, las células fueron lavadas antes de ser inoculadas en los matraces; y los pre-inóculos se obtuvieron con el procedimiento anteriormente descrito y en los cultivos con resiembras y recambio de inóculo se sacrificaron matraces cada 12 horas para posteriores.

2.2.4.8. *Activación*

La activación de los microorganismos en los biofertilizantes se lleva a cabo en la mezcla de: dosis de microorganismos sólidos, dosis de melaza y la adición de nutrientes inorgánicos solubles potasio (K) e insolubles fósforo (P) en una fermentación anaeróbica regulada por el tiempo de activación, ya que debe contener los minerales que posteriormente serán aplicados en los cultivos a nivel foliar y radicular, es decir, a nivel de las hojas de la planta y en el suelo directamente, de tal modo que puedan incorporar nutrientes a las plantas (FAO, 2020; Castro y González, 2021, p. 2).

2.2.5. Pasticultura

2.2.5.1. Producción de pastos

Los pastos y forrajes son los insumos que facultan la subsistencia de la industria ganadera, se dice que “al menos un 90% de los nutrientes requeridos por los animales son derivados de las pasturas” (Palacios, 2014). Esta práctica agrícola es menos laboriosa en cuanto a cuidados y preparación del terreno, incluso una gran proporción de las zonas de pastizales corresponde a pastos originados naturalmente. Las pasturas en el Ecuador se dividen en cultivadas y naturales con un 72 y 27 %, respectivamente, mientras que su distribución regional se subdivide entre las regiones: de la Costa, Sierra y Oriente con 57, 28 y 15 %, respectivamente (León et al., 2018, p. 40). Al igual que otros sistemas agrícolas, los pastizales están sufriendo el impacto del cambio climático; de manera que el incremento de temperatura, la frecuencia variable de precipitaciones, la salinización de suelos y aguas, harán cada vez más difícil el manejo de estos cultivos, y aunque el incremento de temperatura media podría incrementar el rendimiento de pasturas en algunos lugares, existe el riesgo de superar la temperatura opima deseada en el cultivo de pastos (Ramírez et al., 2017, p. 4).

2.2.5.2. Importancia económica

Los cultivos de pastos juegan un papel fundamental en la economía del sector agropecuario, de acuerdo con Palacios (2014), las condiciones climáticas de la zona proveen de pasturas para el ganado mestizo en el Alto Mayo, manteniendo un sistema silvopastoril equilibrado, y proveyendo beneficios, como: mayor productividad vegetal y animal; disminuir el uso intensivo del suelo; diversificación de los productos cultivados; producción de leña y madera; y reducción de la erosión del suelo por disminución de la escorrentía asociada a las precipitaciones.

La producción de pastos y forrajes es compatible con prácticas agroecológicas que generan ingresos económicos, por fuera de la producción ganadera, además son significativamente más baratos que balanceados y dietas dependientes de forraje comercial. La inversión en la producción de pastos está en función de los costos de la implementación-cosecha y los costos ocultos, debidos a la pérdida, calidad y el grado de utilidad del alimento, y aunque estos últimos son difíciles de estimar, sí que representan una buena parte del costo final, determinando la productividad de los pastos. La producción de pastos por si sola, difícilmente puede retribuir buenas ganancias al agricultor, pero, debemos recordar que son empleados en la alimentación animal, incluso, en muchas ocasiones, es la única fuente de alimento animal. De manera que, interviene en el desarrollo y el aumento en masa del ganado, brindando mejores rendimientos y mejor calidad a los productos cárnicos y lácteos (Rosso, 2003, p. 1).

La ganadería tradicional ha presentado baja rentabilidad a cambio de un coste ambiental, el cambio de uso de suelo de suelos boscosos, a suelos de pasturas, o la introducción de especies ganaderas, y la sobre fertilización química son de los problemas más recurrentes en los sistemas ganaderos. Por otro lado, las practicas silvopastoriles, proveen mayor diversidad de pastos y forrajes, además proveen servicios ecosistémicos de conservación de la biodiversidad, fijación de carbono, reciclaje de nutrientes al suelo y protección de las fuentes de agua, esta interacción tiene un efecto positivo en el incremento de los indicadores de desarrollo económico (Ochoa y Valarezo, 2014, p. 77). Aunque en menor medida, los pastos son usados, o en su defecto tienen un uso potencial como: césped ornamental y deportivo, biomasa para obtención de biocombustible, barreras vivas para proteger fuentes y canales de agua, e incluso como parte de la dieta de abejas y del ser humano, como es el caso de la alfalfa.

2.2.5.3. Clasificación de pastos

De acuerdo con su origen se clasifican en pastos: naturales (pastizales) y sembrados (pasturas), las pasturas se subclasifican por su permanencia en el suelo y por su tipo de cultivo, como se observa en la Tabla 2-1:

Tabla 2-1: Clasificación de pasturas

Clasificación de pasturas	
Por permanencia en el suelo	Anuales: se trata de cultivos forrajeros que se siembran y cosechan cada año, para compensar la deficiencia de los pastos permanentes, usualmente se trata de cereales (avena) y hortalizas (coles).
	Rotativas: consisten es pastos establecidos en suelos de productos cultivados en sistemas de rotación, que se renuevan por lo general a los tres años.
	Permanentes: se trata de variedades de pastos perennes que pueden autocultivarse eficientemente, por aproximadamente un periodo de cinco años.
	Suplementarias: consiste en rebrotes que crecen en rastrojos, o en las praderas anuales, al poco tiempo del pastoreo. De acuerdo con la tipología de flora, los pastos se subdividen en tres grupos: gramíneas, leguminosas y adventicias.
Por tipo de cultivo	Gramíneas: es una familia de plantas integrado por aproximadamente 700 géneros de herbáceas, al que pertenecen los cereales, estas son aprovechadas tanto para la alimentación humana como para la animal, su cultivo demanda un alto requerimiento de nitrógeno; las especies que destacan para pastura se distribuyen en las cinco subfamilias de: <i>Pooideae</i> , <i>Panicoideae</i> , <i>Chloridoideae</i> , <i>Ehrhartoideae</i> y <i>Arundainoideae</i> , que alcanzan longitudes bajas, medias y altas, que van de: 10 a 48; 60 a 120 y 120 a 150 o más centímetros.
	Leguminosas: es una familia integrada por aproximadamente 730 géneros de especies fijadoras de nitrógeno que poseen un alto contenido proteico, son usadas frecuentemente para suplir la demanda proteica y mineral en dietas humanas y animales, entre sus representantes más comunes, encontramos al trébol, alfalfa y el frejol. Las especies de pastura se distribuyen en las tres subfamilias de: <i>Papilionodeae</i> , <i>Mimosoideae</i> y <i>Caesalpinioideae</i> , sus especies se caracterizan por presentar un gran crecimiento radicular con nodulaciones, donde albergan bacterias fijadoras de nitrógeno.
	Adventicias: son todas las especies de plantas que emergen de forma espontánea en las pasturas, y pueden ser catalogadas como malezas, cuando son tóxicas para el ganado o si su presencia es invasiva (helechos o lengua de vaca); o pueden tratarse de arvenses benéficos, cuando contribuyen a la dieta alimenticia de los rumiantes (llantén natural o taraxaco).

Fuente: León et al., 2018, p. 47-56

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

2.2.5.4. Variedades de pastos establecidos en el Ecuador

Un estudio que fue realizado en Ecuador por Ramírez et al. (2017, p. 6), identificó que los cultivos de pastos más difundidos en dos provincias fueron: *Cenchrus purpureus* y *Maralfalfa* en Pastaza

y en Tungurahua. Aunque a nivel nacional las pasturas más frecuentes son: saboya, pasto miel, gramalote, brachiaria, raigrás, entre otros (León et al., 2018, p. 40).

En el caso de Región Interandina o Sierra para León et al. (2018, p. 142), describe que “el principal pasto de la sierra ecuatoriana por cobertura, según el último censo es el kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) 101920 ha; los principales pastos mejorados son los raigrases (*Lolium sp.*) 21937 ha, el pasto azul (*Dactylis glomerata*) 16493 ha, los tréboles (*Trifolium sp.*) y la alfalfa (*Medicago sativa*) 24863 ha”, mientras que, “las especies más cultivadas para corte son la alfalfa, la avena (*Avena sativa*) y la vicia (*Vicia sp.*)”.

2.2.5.5. Distribución de pastizales en la parroquia San Andrés

El uso actual del suelo en la parroquia San Andrés corresponde a la producción agrícola bajo riego con 4295.63 ha seguido de 2653.61 ha destinados a pastos. Es trascendental indicar que gran parte del suelo de la parroquia está destinado a la producción pecuaria, con un 89.83% del territorio, áreas de producción de pastos 25.80%, áreas de producción agrícola bajo riego y secano 41.76% y áreas de producción agrícola de secano 22.27%. Dentro de las áreas de producción de pastos se encuentran variedades como raygrass, pasto azul, kikuyo, trébol y alfalfa (PDOT, 2019, p. 194). En la comunidad de Llío de la parroquia San Andrés básicamente se encuentra constituido por pasto natural con un 90%, apenas el 10% dispone de pastos mejorados o establecidos. Dentro de los pastos mejorados las especies representativas son pasto azul (*Dactylis glomerata*) y dos variedades de raygrass (*Lolium perenne* y *Lolium multiflorum*), debido a que se utilizan en pastoreo con animales diversos, por su adaptación al clima y facilidad para crecer en diferentes tipos de suelos (Hernández et al. 2015, Maldonado et al.; citados en: Mendoza et al., 2019, p. 57; PDOT, 2019, p. 194).

Pero para tener alto rendimiento y calidad de estas especies, se puede determinar por peso y tallo que es lo que le favorece a estos pastos, en la investigación de Mendoza et al. (2019, p. 62), “Ahijamiento de *Lolium perenne* L. asociado con *Dactylis glomerata* L. y *Trifolium repens* L.”, mediante la siguiente metodología de cosechar al ras de suelo 10 tallos con sus respectivas hojas de rygrass y pasto azul, los tallos se secaron en una estufa de aire forzado hasta peso constante, y posteriormente se registró el peso seco en una balanza de precisión, el peso por tallo se obtuvo pesando los diez tallos y dividiendo entre el total (Mendoza et al., 2019, p. 59). Determinando que para el raygrass el mayor peso por tallo es cuando el cultivo crece a una temperatura no mayor a 18 °C y que si sube más esto cesaría el crecimiento, para el caso del pasto azul es lo contrario a más temperatura como la de 21°C tendrá mayor peso por tallo y en ambos casos lo que fue indispensable para la permanencia del cultivo es el aporte de fertilizante nitrogenados.

2.2.5.6. Propiedades de los suelos de los pastizales

El suelo es un recurso natural que se encuentra dispuesto en la superficie terrestre, a manera de una fina capa, de una matriz compuesta por 50% de sólidos (minerales y materia orgánica), un 15% de líquidos (agua), y un 35% de gases (aire); donde, la proporción adecuada de estos componentes determinará la capacidad de hacer crecer la vegetación, así como la cantidad de nutrientes que estarían disponibles para el desarrollo de esta (León et al., 2018, p. 78). El suelo funciona como un soporte físico para el anclaje de las plantas, sobre esta superficie también se desempeñan los demás organismos vivos; entre sus funciones, tenemos la de provisión de agua y nutrientes a las comunidades de plantas, y a las bacterias que se encuentran libres o asociadas a estas. De manera que, sus propiedades fisicoquímicas, determinan en gran medida, el buen o mal desarrollo y funcionamiento que presentan los ecosistemas, y a su vez, los ecosistemas intervienen en las propiedades estructurales y fisicoquímicas del suelo (Chapin et al., 2012, p. 63). Los suelos son el medio, donde ocurren muchas de las reacciones que posibilitan los ciclos biogeoquímicos del carbono, nitrógeno y azufre (Chapin et al., 2012, p. 63). Por lo que, conocer sus parámetros permite evaluar la calidad del suelo.

Tabla 2-2: Parámetros del suelo

Parámetro	Definición
Conductividad eléctrica	La tierra conduce electricidad gracias a la conductividad eléctrica del agua. En suelos secos es baja la conductividad eléctrica.
pH	Se trata de la medición del potencial (concentración) de hidrógenos, es decir de la acidez o la alcalinidad y se expresa en términos logarítmicos. La acumulación de iones H^+ se da tanto por adición de dichos iones o por pérdida de bases en la solución del suelo. La significación práctica de esta relación logarítmica es que cada unidad de cambio en el pH del suelo significa un aumento de diez veces en la cantidad de acidez o basicidad
Materia orgánica	Los suelos con alto contenido de materia orgánica tienen elevada fertilidad y una alta capacidad de retención de agua. A mayor contenido de materia orgánica, el suelo será más poroso y menos denso.
MACROELEMENTOS	
Nitrógeno	Nitrógeno (N) contenido en el suelo es <30 ppm bajo, entre 30 y 60 ppm medio y > 60 ppm alto. El rol del nitrógeno es que la planta lo absorbe del suelo en forma de NO_3^- y NH_4^+ y se transforma en las hojas en NH_3 , luego en aminoácidos y por último en proteínas.
Fósforo	En el suelo se encuentra contenido < 10 ppm bajo, 10 – 20 ppm y > 21 ppm alto. El P es la fuente principal de energía como parte de la molécula de ADP, ATP. Se encuentra en el suelo en forma inorgánica en solución y, en la materia orgánica. La planta absorbe el fósforo, principalmente bajo la forma H_2PO_4

	y HPO_4 según el pH del suelo, el primero en medio ácido y el segundo en medio alcalino.
Potasio	En el suelo los niveles son: < 0,2 meq/100 ml bajo, 0,20-0,38 meq/100 medio y > 0,4 meq/100ml alto. La planta toma el potasio en forma de ión K^+ , del K aplicado al suelo algo se pierde por lixiviación; la mayor parte es inmovilizado directamente por el suelo, aunque luego es liberado y lentamente disponible por la planta; y otra parte está presente en la solución del suelo y en la fracción intercambiable y es fácilmente disponible para la planta.
Calcio	En suelos de la sierra, se considera < 1 meq/100ml, es bajo; de 1-3 meq/100 ml medio y >3 meq/100 ml/100 ml alto. El calcio es considerado como un corrector de la acidez y por lo tanto de la estructura del suelo.
Magnesio	En el suelo los niveles son: bajo < 0,33 meq/100 ml, medio 0,33-medio 0,66 meq/100 ml y alto > 0,66 meq/100 ml. Actúa como transportador de fósforo. Este elemento cumple también la función de integrante de las enzimas. Es un elemento esencial para los animales y el forraje es la mejor fuente de suministro.
Azufre	En el suelo los niveles son < 12 ppm bajo, 12-24 ppm medio y > 24 ppm alto. Las plantas que tienen mayor contenido de N necesitan más azufre para la formación de proteína. Existe una relación directa con el K , ya que las plantas que tienen S presentan mayor contenido de K en el tejido. El S es inmóvil dentro de la planta y absorbido del suelo como anión sulfato (SO_4^{2-}).
MICROELEMENTOS	
Cobre	Aunque la función del Cu en el metabolismo de la planta no es muy conocida, parece jugar un papel muy importante en la formación de clorofila y en la producción de enzimas oxidantes. Este elemento es inmóvil dentro de la planta, y es absorbido del suelo como ion Cu_2^+ .
Hierro	En los suelos del Ecuador, en zonas húmedas generalmente se encuentra en niveles tóxicos. Puede haber deficiencia en suelos con pH alto, o cuando se aplica dosis alta de cal, y con altos niveles de bicarbonato.
Manganeso	El Mn acelera la germinación y maduración de las plantas, incrementa la disponibilidad de P y Ca ; además de participar en la constitución de enzimas y en la asimilación de carbono y en la síntesis de clorofila. Su ausencia afecta al metabolismo del N y de los carbohidratos.
Zinc	En la planta es esencial para promover ciertas reacciones metabólicas, participa en la formación de la clorofila y carbohidratos, de las hormonas (auxinas), ácidos nucleicos y aminoácidos (triptófano). Los suelos de textura fina contienen más Zn que los arenosos. Los suelos con altos contenidos de calcio y grandes cantidades de fósforo se ha encontrado que a medida que aumenta el pH del suelo, frecuentemente son deficientes en zinc. El zinc es inmóvil dentro de la planta y se absorbe como Zn^{2+} .

Fuente: INPOFOS, 2003; citado en: León et al., 2018, p. 79-81; 302-328; 604

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 2-3: Criterios de calidad del suelo

Parámetro	Unidades (Concentración en peso seco de suelo)	Valor
Parámetros Generales		
Conductividad	uS/m	200
pH		6 a 8
Relación de absorción de Sodio (Índice SAR)		4*
Parámetros inorgánicos		
Arsénico (inorgánico)	mg/kg	12
Azufre (elemental)	mg/kg	250
Bario	mg/kg	200
Boro (soluble en agua caliente)	mg/kg	1
Cadmio	mg/kg	0.5
Cobalto	mg/kg	10
Cobre	mg/kg	25
Cromo Total	mg/kg	54
Cromo VI	mg/kg	0.4
Cianuro (libre)	mg/kg	0.9
Estaño	mg/kg	5
Flúor (total)	mg/kg	200
Mercurio	mg/kg	0.1
Molibdeno	mg/kg	5
Níquel	mg/kg	19
Plomo	mg/kg	19
Selenio	mg/kg	1
Vanadio	mg/kg	76
Zinc	mg/kg	60
Parámetros orgánicos		
Benceno	mg/kg	0.03
Clorobenceno	mg/kg	0.1
Etilbenceno	mg/kg	0.1
Estireno	mg/kg	0.1
Tolueno	mg/kg	0.1
Xileno	mg/kg	0.1
PCBs	mg/kg	0.1
Clorinados Alifáticos (cada tipo)	mg/kg	0.1
Clorobencenos	mg/kg	0.05
Hexaclorobenceno	mg/kg	0.05
Hexaclorociclohexano	mg/kg	0.01
Fenólicos no clorinados (cada tipo)	mg/kg	0.1
Clorofenoles (cada tipo)	mg/kg	0.05
Hidrocarburos totales (TPH)	mg/kg	<150
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) cada tipo	mg/kg	0.1

Fuente: ACUERDO MINISTERIAL N° 28, 2015, pp. 118-119

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

2.2.5.7. Fertilización

La fertilización consiste en ayudar a cubrir los nutrientes requeridos por los cultivos y los nutrientes disponibles en el suelo, que debe contener elementos químicos esenciales como: carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O) y, los elementos fertilizantes que son macroelementos primarios como: nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) y macroelementos secundarios como: el azufre (S), calcio (Ca) y magnesio (Mg); y microelementos como: hierro (Fe), boro (B), zinc (Zn), cobre (Cu), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), cloro (Cl). Actualmente, se conoce que además el níquel (Ni), sodio (Na), selenio (Se), cobalto (Co) y silicio (Si), son esenciales para algunos grupos de plantas (León et al., 2018, p. 269).

✓ Hormonas de crecimiento vegetal

Muchas de las hormonas de crecimiento vegetal son sintetizadas por las propias plantas, como, por ejemplo: auxinas, giberelinas, citoquininas y otras sustancias naturales; en el caso de la auxina ocurre por consecuencia del incremento de la plasticidad de las paredes celulares ya que el tejido donde la auxina se encuentra en concentración suficientemente alta se convierte en punto de atracción de nutrimentos y de otras sustancias hormonales como las giberelinas (Ayala et al., 2020, p. 258-261).

✓ Fuentes naturales de potasio

La mayoría de los suelos contienen entre 1 y 5 kg/ha de potasio en solución, sin embargo, considerando que una buena cosecha de alfalfa extrae del suelo 150 kg de potasio por ha cada año (Thompson y Troeh, 2021, p. 363-369). Por lo que, reponer este mineral implica la utilización de fertilizantes que pueden ser químicos o caseros; caseros que cualquier persona tiene acceso y puede contribuir a reducir la emisión de gases de invernadero a la atmósfera y propiciar un desarrollo sustentable de su cultivo, uno de ellos y más utilizado es el té de banano que sirve para aportar el potasio que necesitan las plantas, es muy común también en la época de floración aplicar este té, que es precisamente cuando más potasio precisa la planta para florecer (Giraud y Lascano, 2020, p. 12-13)

2.2.6. Variables morfológicas de los pastos

2.2.6.1. Pasto azul (*Dactylis glomerata*)

Pertenece a la familia Poacea, con tallos de 60-120 cm de longitud, de color verde azulado, las hojas son plegadas, anchas, largas y puntiagudas y las semillas presentan una quilla acentuada que termina en una arista fuerte y curva (Villalobos, 2010; citado en: Caiza, 2020, p. 15).

Tabla 2-4: Requerimientos edafoclimáticos del pasto azul (*Dactylis glomerata*)

Índices	Características
Ciclo vegetativo	Perenne (4-5 años)
Suelo	Franco, profundo, resistente a la sequía
Clima	Templado y frío, húmedo bastante brumoso
Altitud	2.500 – 3.600 m.s.n.m
Temperatura	10 – 17 °C
Precipitación	800 – 1600 mm, resistente a sequías
pH	Resiste la acidez, no se adapta a suelos alcalinos
Productividad	7t/ha/corte

Fuente: Mármol, 2006; citado en: Caiza, 2020, p. 15

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023



Ilustración 2-5: Características morfológicas del Pasto azul (*Dactylis glomerata*)

Fuente: Sánchez, 2015, p. 28

2.2.6.2. Raygrass

✓ *Lolium perenne*

Pertenece a la familia Poacea que alcanza longitudes de 30-70 cm, sus hojas son verdes, cortas y rígidas, con una longitud de 3 a 20 cm y de 2 a 6 mm de ancho, son lisas o ligeramente rugosas en el haz y lisas y brillantes por el envés. Espigas delgadas y relativamente rígidas miden de 4 a 30 cm de largo, con una coloración verde o purpúrea con un eje liso, el cual comúnmente contiene entre cuatro a 14 racimos florales. Las raíces presentan rizomas largos, superficiales, que dan origen a nuevas plantas (Caiza, 2020, p. 14; Gualavisí, 2014, p. 21).

Tabla 2-5: Requerimientos edafoclimáticos del raygrass (*Lolium perenne*)

Índices	Características
Ciclo vegetativo	Perenne (4-5 años)
Suelo	Ricos en nitrógeno, franco o arcilloso con adecuada humedad y fertilidad
Clima	Templado húmedo, no soporta sequías
Altitud	1800 – 3.600 m.s.n.m arriba de los 3000 m.s.n.m su crecimiento se reduce
Temperatura	Optima 20 a 25 °C
Precipitación	76.09 mm
pH	Ligeramente ácido, >5.5
Productividad	10-12 t/ha/corte

Fuente: Mármol, 2006; citado en: Caiza, 2020, p. 14

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023



Ilustración 2-6: Características morfológicas raygrass (*Lolium perenne*)

Fuente: León, 2003; citado en: Quilligana, 2016, p. 8

✓ *Lolium multiflorum*

El Raygrass crece en forma de matas espesas, el *Lolium multiflorum* posee tallos lisos de hasta 1 a 1,3 m de alto, sus hojas rígidas con láminas plegadas de 0,8 a 2 cm de ancho por 22 cm de longitud aproximadamente, además, posee más de 2 hojas con inflorescencias. En cuanto a la de Semilla de Raygrass tenemos que: 1000 semillas pesan aproximadamente de 1,8 a 2,2 gramos y tienen una longitud de más o menos 4 mm (Vibrans, 2009; citado en: Cobos y Narváez, 2018, p. 32-34).

Tabla 2-6: Requerimientos edafoclimáticos del raygrass (*Lolium multiflorum*)

Índices	Características
Ciclo vegetativo	Perenne (4-5 años)
Suelo	francos a franco arcillosos, con fertilidad media a alta, que posean drenajes apropiado
Clima	Templado húmedo, no soporta sequias
Altitud	2400 – 3200 m.s.n.m
Temperatura	12 a 18 °C
Precipitación	76.09 mm
pH	6.6 a 7,3
Productividad	10-12 t/ha/corte

Fuente: Cobos y Narváez, 2018, p. 31

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023



Ilustración 2-7: Características Raygrass (*Lolium multiflorum*)

Fuente: Cobos y Narváez, 2018, p. 141

2.2.7. Evaluación del potencial biofertilizante

Una nueva línea de investigación relacionada con el aislamiento, identificación y desarrollo de nuevos microorganismos con potencial como biofertilizantes, bacterias y hongos, a partir de la agroecología que viene consiguiendo mercado en los últimos años, con el fin de que su uso sea amigable con el agricultor y con el ambiente (Aguado, 2012, p. 152).

La aplicación de biofertilizantes con métodos adecuados como: inoculación en plántulas por inmersión, inoculación en semillas, aplicación al suelo y en el sistema de riego; que además debe contener una apropiada población viva de la cepa como ingrediente activo y estar estéril es decir libre de contaminantes; el cultivo de interés debe ser seleccionado en base a la cepa microbiana, las condiciones edafoclimáticas y las prácticas agrícolas utilizadas, también debe ser utilizado antes de la fecha de caducidad. Es importante también conocer los requerimientos nutricionales y ambientales de los microorganismos que contienen los biofertilizantes para su efectividad, así como también la adaptación al suelo, interacción con la microbiota nativa y la capacidad de colonización de la planta. La disponibilidad de los nutrientes, pH y salinidad son determinantes en la sobrevivencia de los microorganismos en el suelo de la misma manera que el exceso o déficit de algún compuesto químico que podría disminuir al instante la población microbiana inoculada (Chávez et al., 2020, p. 1430).

Es posible evaluar el potencial mediante un muestreo destructivo de plantas mediante la evaluación de variables como longitud y peso de raíces, tallo, hojas, biomasa fresca área (g/planta), composición bromatológica, composición microbiológica de la rizosfera (Pincay et al., 2020, p. 28).

2.3. Bases legales

2.3.1. Constitución de la República del Ecuador

- ✓ En el Título II de Derechos, Capítulo segundo de Derechos del Buen Vivir, en el Art. 13 establece: “Las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales. El Estado ecuatoriano promoverá la soberanía alimentaria” (CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR, Registro Oficial 449 de 20-oct.-2008, p. 13).

- ✓ En el capítulo tercero, soberanía alimentaria, en el Art. 281 establece que “La soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del Estado para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen la autosuficiencia de alimentos sanos y culturalmente apropiado de forma permanente”. En los numerales 6 “Promover la preservación y recuperación de la agrobiodiversidad y de los saberes ancestrales vinculados a ella; así como el uso, la conservación e intercambio libre de semillas” y 7 “Precautelar que los animales destinados a la alimentación humana estén sanos y sean criados en un entorno saludable” (CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR, Registro Oficial 449 de 20-oct.-2008, p. 136).

2.3.1.1. Ley orgánica del régimen de la soberanía alimentaria

En el Título II Acceso a los factores de producción alimentaria, Capítulo I, acceso al agua y la tierra en el Art. 6 establece que: “Acceso a la tierra. - El uso y acceso a la tierra deberá cumplir con la función social y ambiental. La función social de la tierra implica la generación de empleo, la redistribución equitativa de ingresos, la utilización productiva y sustentable de la tierra. La función ambiental de la tierra implica que ésta procure la conservación de la biodiversidad y el mantenimiento de las funciones ecológicas; que permita la conservación y manejo integral de cuencas hidrográficas, áreas forestales, bosques, ecosistemas frágiles como humedales, páramos y manglares, que respete los derechos de la naturaleza y del buen vivir; y que contribuya al mantenimiento del entorno y del paisaje. La ley que regule el régimen de propiedad de la tierra permitirá el acceso equitativo a ésta, privilegiando a los pequeños productores y a las mujeres productoras jefas de familia; constituirá el fondo nacional de tierras; definirá el latifundio, su extensión, el acaparamiento y concentración de tierras, establecerá los procedimientos para su eliminación y determinará los mecanismos para el cumplimiento de su función social y ambiental. Así mismo, establecerá los mecanismos para fomentar la asociatividad e integración de las pequeñas propiedades. Además, limitará la expansión de áreas urbanas en tierras de uso o vocación agropecuaria o forestal, así como el avance de la frontera agrícola en ecosistemas frágiles o en zonas de patrimonio natural, cultural y arqueológico, de conformidad con lo que establece el Art. 409 de la Constitución de la República” (LORSA, 2009).

Capítulo II Protección de la agrobiodiversidad, en el **Art. 7** establece que “Protección de la agrobiodiversidad. - El Estado, así como las personas y las colectividades protegerán, conservarán los ecosistemas y promoverán la recuperación, uso, conservación y desarrollo de la agrobiodiversidad y de los saberes ancestrales vinculados a ella. Las leyes que regulen el desarrollo agropecuario y la agrobiodiversidad crearán las medidas legales e institucionales necesarias para asegurar la agrobiodiversidad, mediante la asociatividad de cultivos, la

investigación y sostenimiento de especies, la creación de bancos de semillas y plantas y otras medidas similares, así como el apoyo mediante incentivos financieros a quienes promuevan y protejan la agrobiodiversidad” (LORSA, 2009)

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Delimitación del área de estudio

La parroquia San Andrés, se encuentra ubicada en el Cantón Guano, provincia de Chimborazo, a 10 km de la ciudad de Riobamba, limita al norte con la Provincia de Tungurahua, al Sur con las parroquias Calpi y San Juan del cantón Riobamba, al Este Guano y San Isidro, al Oeste con la parroquia San Juan. Con coordenadas Latitud: S 1° 40' / S 1°30' y Longitud: W 78° 45' / W 78° 30'; Coordenadas Planas UTM (aproximada): Norte: 9815630 / 9834040 y Este: 750330 / 778190.



Ilustración 3-1: Mapa de localización del proyecto

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

3.1.1. Población de estudio

En la presente investigación la población de estudio a partir de la cual se midió los datos del potencial biofertilizante son los pastos de las variedades de pasto azul (*Dactylis glomerata*) y raygrass (*Lolium perenne* y *Lolium multiflorum*) destinados para la alimentación de ganado.

Según Bautista et al. (2011, p. 648), si no hay forma de identificar la distribución de los cultivos se debe delimitar un área rectangular con una cinta métrica con las dimensiones que el estudio lo requiera. Por las características de la investigación se aplicó un muestreo de tipo no probabilístico dirigido, mediante el cual se eligió cinco parcelas representativas; una de control y cuatro experimentales respectivamente, a cada una de las parcelas se le aplicó una dosis de biofertilizante diferente, en escalas de tiempo durante el desarrollo de los pastos, cuyas medidas fueron de 2 x 2 metros con un camino de 1 metro.

3.2. Diseño de la investigación

En la presente investigación se utilizó técnicas de recolección de datos como:

- ✓ Muestreo de tipo no probabilístico dirigido, mediante parcelas representativas; una de control y cuatro experimentales respectivamente.
- ✓ La observación como método de recolección de datos para establecer un registro sistemático válido y confiable.
- ✓ Análisis de parámetros fisicoquímicos en laboratorios certificados y un análisis estadístico descriptivo.
- ✓ Análisis de contenido cuantitativo con el objetivo de cuantificar el potencial del biofertilizante a través de análisis estadístico.

A continuación, se detalla las técnicas que se implementó:

3.2.1. *Elaboración de las parcelas experimentales*

La unidad experimental estuvo constituida por parcelas (cultivos con pequeñas distancias de siembra); al tratarse de un experimento con plantas, las parcelas necesariamente tuvieron las mismas dimensiones, y como el uso de las parcelas era para aplicar dosis de biofertilizantes las cuales podían difundirse a las parcelas adyacentes mediante la aplicación del riego, se hizo necesario considerar separar las parcelas mediante espacios vacíos (calles sin sembrar) o sembrar hileras adicionales que no fueron evaluadas (Gavilánez, 2021, p. 7 y 202). Dicha metodología fue aplicada con el siguiente procedimiento:

Materiales:

- ✓ Estacas de madera
- ✓ Píolas
- ✓ Rotuladores
- ✓ Tijeras
- ✓ Combo

Equipos:

- ✓ Flexómetro

Procedimientos:

1. Se elaboró 5 parcelas utilizando un flexómetro, se colocó las estacas a una distancia de 2 metros de ancho por 2 metros de largo con una separación de cada parcela de 1 metro.
2. Se delimitó las parcelas con las píolas.
3. Se rotuló correctamente las parcelas.

3.2.2. *Elaboración del biofertilizante*

La preparación de biofertilizantes consiste en el aislamiento y selección de los microorganismos activos, la siembra en el material portador de los microorganismos de interés (matriz o cajas Petri), la identificación de los microorganismos mediante el método de Tinción Gram, la selección del método de propagación del organismo de interés, las pruebas de evaluación de su eficacia y limitaciones en pequeña escala y las pruebas de evaluación a gran escala (Rojas, 2020). A continuación, se detalla el procedimiento que se empleó:

3.2.2.1. *Aislamiento de microorganismos*

Se inició con una purificación de cepas madre facilitadas por el laboratorio ASOPROIL a través del método de dilución seriada, se realizó el aislamiento de los microorganismos *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum*. A continuación, se detalla el proceso de dilución seriada aplicado en la investigación:

Materiales:

- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Gradilla
- ✓ Jeringas
- ✓ Vaso de precipitación
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Espátula
- ✓ Puntas de micropipeta
- ✓ Masking
- ✓ Rotuladores

Equipos:

- ✓ Autoclave
- ✓ Mechero
- ✓ Cámara de flujo
- ✓ Incubadora
- ✓ Micropipeta
- ✓ Balanza
- ✓ Asa de siembra

Reactivos:

- ✓ Cloruro de sodio
- ✓ Agar Tripticasa de soya
- ✓ Agar Nutritivo ISO
- ✓ Alcohol
- ✓ Agua destilada

Procedimientos:

1. En un vaso de precipitación se colocó 200 ml de agua estéril y se diluyó 1,6 gramos de NaCl (0,8%).
2. Con ayuda de una jeringa se colocó 18 ml de la solución SSI estéril en cada tubo.
3. Se diluyó la caja Petri madre con 5 ml de agua estéril y se agitó con cuidado.
4. Se tomó 2 ml de la muestra madre y se incorporó al tubo de ensayo 1 y finalmente se agitó.

5. Luego del tubo 1 se tomó 2 ml de la solución y se colocó en el tubo dos, posteriormente se homogenizó la mezcla y así consecutivamente hasta llegar a la disolución final 10.
6. Se etiquetó los tubos respectivamente.

3.2.2.2. *Siembra por agotamiento en medios selectivos*

Procedimientos:

1. Se preparó 5 cajas Petri con el medio de cultivo Agar Nutritivo ISO y 5 placas con agar tripticasa de soya.
2. A partir de la dilución 10^{-6} hasta 10^{-10} se tomó 0,3 ml c/u con una micropipeta y se colocó en las cajas Petri respectivamente.
3. Se sembró el inóculo empleando la técnica del estriado.
4. Se etiquetó y selló las cajas Petri.
5. Se incubaron las cajas Petri a una temperatura de 30°C durante 6 días.
6. Se realizó 7 ensayos de purificación y se obtuvo un cultivo de microorganismos puro.

3.2.2.3. *Identificación de microorganismos*

A través del método de tinción Gram se identificó morfológicamente a los microorganismos.

Materiales:

- ✓ Asa de siembra
- ✓ Porta objetos
- ✓ Agua
- ✓ Microscopio
- ✓ Jeringas
- ✓ Recipiente o varillas de tinción
- ✓ Mechero

Reactivos:

- ✓ Cristal violeta
- ✓ Safranina
- ✓ Alcohol cetona
- ✓ Yodo

Procedimientos:

1. Se tomó una colonia de microorganismos y se extendió en un portaobjetos utilizando un asa de siembra, con el fin de preparar un frotis bacteriano
2. Se aplicó cristal violeta durante 1 minuto.
3. Se retiró el exceso de colorante con agua.
4. Se añadió yodo, durante 1 minuto y se lavó el portaobjetos con agua.
5. Se decoloró con alcohol cetona durante 20 segundos y se lavó con agua.
6. Se añadió el colorante de contraste, safranina, esperar 1 minuto y se lavó con agua.
7. Se secó los portaobjetos a temperatura ambiente.
8. Se observó al microscopio con los lentes (10X, 40X, 100X).

*3.2.2.4. Reproducción de microorganismos***Procedimientos:**

1. Se identificó que existe mayor pureza de microorganismos en las diluciones con concentración 10^8 y 10^9 UFC respectivamente. Una vez identificado los microorganismos se procedió a inocular en el sustrato de leche en polvo.
2. Se pesó 100 gramos del sustrato, se colocó en fundas ziploc y se esterilizó.
3. Se diluyó las cajas Petri de cultivos puros con 5 ml de agua esterilizada.
4. Se incorporó 5 ml del cultivo diluido al sustrato esterilizado y se homogenizó.
5. Se dejó reposar a temperatura ambiente por 5 días.
6. Para comprobar la presencia de los microorganismos se realizó la técnica de tinción Gram.

*3.2.2.5. Activación de microorganismos***Procedimientos:**

1. En un recipiente estéril se diluyó los 100 gramos de sustrato inoculado con 20 litros de agua.
2. Se añadió 1 litro de melaza y se mezcló.
3. Se dejó reposar durante 72 horas.

3.2.2.6. *Elaboración del té de banano*

Procedimientos:

1. Se colocó 25 litros de agua en un recipiente y se añadió cáscaras de banano en trozos y se hirvió por 15 minutos (por cada litro de agua se agregó 4 cáscaras de banana).
2. Se dejó enfriar y se colocó en envases plásticos con 30 litros de agua.
3. Se dejó reposar por 3 días y se agitó diariamente.
4. Transcurrido los 3 días se tamizó el resultado.

3.2.2.7. *Preparación de biofertilizantes*

Biofertilizante *Azotobacter vinelandii* A₁ (10⁸)

Procedimientos:

1. Se añadió en un recipiente grande 15 litros de té de banano como fuente de potasio.
2. Posteriormente, se colocó 10 litros del sustrato activado.
3. Se incorporaron hormonas de crecimiento vegetal: 25 gramos de Auxinas y 5 ml de Giberelinas.
4. Se homogenizó toda la solución.

Biofertilizante *Methylobacterium symbioticum* M₁ (10⁸)

Procedimientos:

1. Se añadió en un recipiente grande 15 litros de té de banano como fuente de potasio.
2. Posteriormente, se colocó 10 litros del sustrato activado.
3. Se incorporaron hormonas de crecimiento vegetal: 25 gramos de Auxinas y 5 ml de Giberelinas.
4. Se homogenizó toda la solución.

Biofertilizante *Azotobacter vinelandii* A₂ (10⁹)

Procedimientos:

1. Se añadió en un recipiente grande 10 litros de té de banano como fuente de potasio.
2. Posteriormente, se colocó 15 litros del sustrato activado.
3. Se incorporaron hormonas de crecimiento vegetal: 30 gramos de Auxinas y 10 ml de Giberelinas.
4. Se homogenizó toda la solución.

Biofertilizante *Methylobacterium symbioticum* M₂ (10⁹)

Procedimientos:

1. Se añadió en un recipiente grande 10 litros de té de banano como fuente de potasio.
2. Posteriormente, se colocó 15 litros del sustrato activado.
3. Se incorporaron hormonas de crecimiento vegetal: 30 gramos de Auxinas y 10 ml de Giberelinas.
4. Se homogenizó toda la solución.

3.2.2.8. Aplicación de los biofertilizantes

Procedimientos:

1. Las dosis de biofertilizantes tuvieron dos aplicaciones de 5 litros cada 15 días.
2. Para el *Azotobacter vinelandii* se utilizó una bomba de fumigar y se aplicó biofertilización edáfica.
3. Para el *Methylobacterium symbioticum* se utilizó una bomba de fumigar y se aplicó biofertilización foliar.
4. El riego se realizó antes de colocar el biofertilizante para humedecer el suelo.

3.2.3. Medición de variables morfológicas

Se realizó la toma de medidas de largo y ancho de las hojas de los pastos, a partir del estado inicial después del corte del forraje, sin aplicar aún el biofertilizante. Transcurrido 15 días de haber aplicado el biofertilizante, se tomaron los segundos datos, después de tomar esos datos se hizo la segunda aplicación y después de otros 20 días se tomaron los datos finales.

Materiales:

- ✓ Regla
- ✓ Esferos
- ✓ Libreta
- ✓ Excel
- ✓ Computadora

Procedimientos:

1. Con ayuda de una regla se midió el ancho y largo de la hoja de los diferentes pastos como son raygrass nacional, pasto azul y raygrass perenne.
2. Se tomó los datos de 50 plantas por cada parcela.
3. Para la interpretación de resultados se aplicó un análisis estadístico descriptivo.

3.2.4. *Determinación de los parámetros fisicoquímicos del suelo*

Para mejorar las condiciones del pasto y cumplir con los objetivos planteados en esta investigación, se tomó muestras de suelo, seleccionando un área en la cual se realizó la limpieza de la parte vegetal y residuos de materia orgánica, luego se procedió a tomar las muestras mediante el método de cuarteo a la profundidad de 15 a 25 cm, para el cual se utilizó una excavadora manual, y se tomó varias submuestras que se depositaron en un balde plástico. Las submuestras se mezclaron homogéneamente y en forma manual en el balde y se tomó una porción de 700 g para su envío al laboratorio (Bonilla, 2013, p. 32). Este proceso se realizó antes de colocar el biofertilizante (M1) y después de las dos aplicaciones (M2).

Con el resultado del laboratorio de los técnicos especialistas de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario (AGROCALIDAD), se presentó los resultados de los parámetros analizados en las siguientes tablas:

Tabla 3-1: Parámetros del suelo (M1) analizados por el Laboratorio de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (AGROCALIDAD)

Código de muestra laboratorio	Identificación de campo de la muestra	Parámetro analizado	Método	Unidad
SFA-22-1454	M1	pH a 25 °C	Electrométrico PEE/SFA/06 EPA 9045D	7,23
		Materia Orgánica*	Volumétrico PEE/SFA/09	2,78 %
		Nitrógeno	Volumétrico PEE/SFA/09	0,14 %
		Fósforo*	Calorimétrico PEE/SFA/11	51,9 mg/kg
		Potasio*	Absorción Atómica PEE/SFA/12	0,98 cmol/kg
		Calcio*	Absorción Atómica PEE/SFA/12	11,36 cmol/kg
		Magnesio*	Absorción Atómica PEE/SFA/12	4,19 cmol/kg
		Hierro*	Absorción Atómica PEE/SFA/13	199,5 mg/kg
		Manganeso*	Absorción Atómica PEE/SFA/13	11,27 mg/kg
		Cobre*	Absorción Atómica PEE/SFA/13	10,66 mg/kg
		Zinc	Absorción Atómica PEE/SFA/13	6,67 mg/kg
		Conductividad Eléctrica*	Conductímetro PEE/SFA/08	0,213 dS/m
		Azufre	Turbidímetro PEE/SFA/16	26,51 mg/kg

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 3-2: Parámetros del suelo (M2) analizados por el Laboratorio de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario (AGROCALIDAD)

Código de muestra laboratorio	Identificación de campo de la muestra	Parámetro analizado	Método	Unidad
SFA-22-1454	M2	pH a 25 °C	Electrométrico PEE/SFA/06 EPA 9045D	7,62
		Materia Orgánica*	Volumétrico PEE/SFA/09	7,18 %
		Nitrógeno	Volumétrico PEE/SFA/09	0,36 %
		Fósforo*	Calorimétrico PEE/SFA/11	228,6 mg/kg
		Potasio*	Absorción Atómica PEE/SFA/12	0,58 cmol/kg
		Calcio*	Absorción Atómica PEE/SFA/12	13,87 cmol/kg
		Magnesio*	Absorción Atómica PEE/SFA/12	3,36 cmol/kg
		Hierro*	Absorción Atómica PEE/SFA/13	159,7 mg/kg
		Manganeso*	Absorción Atómica PEE/SFA/13	11,46 mg/kg
		Cobre*	Absorción Atómica PEE/SFA/13	4,36 mg/kg
		Zinc	Absorción Atómica PEE/SFA/13	10,78 mg/kg
		Conductividad Eléctrica*	Conductímetro PEE/SFA/08	0,314 dS/m
		Azufre	Turbidímetro PEE/SFA/16	16,34 mg/kg

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

3.2.4.1. Evaluación del potencial de los biofertilizantes

El objetivo planteado de la investigación tiene un enfoque cuantitativo ya que, se evaluó el potencial como biofertilizante que tienen los microorganismos aplicados en pastos de las variedades pasto azul (*Dactylis glomerata*) y raygrass (*Lolium perenne* y *Lolium multiflorum*). Dicha investigación es de carácter experimental debido a la interpretación de los efectos causales de las variables independientes sobre las variables dependientes. Se centró en el diseño cuasiexperimental, mediante este método se pudo designar las unidades experimentales a criterio personal, en primera instancia se desarrolló de manera explicativa al exponer como actúan los biofertilizantes en el desarrollo de los pastos y en qué condiciones se manifiestan o por qué se relacionan dos o más variables; es decir los microorganismos respecto a la evaluación del potencial como biofertilizante.

3.2.5. Análisis estadístico

Para la presentación de los datos se utilizó una estadística descriptiva, a partir de medidas de tendencia central, y se ocupó los promedios para la representación en las gráficas.

3.2.6. Ingeniería del proyecto

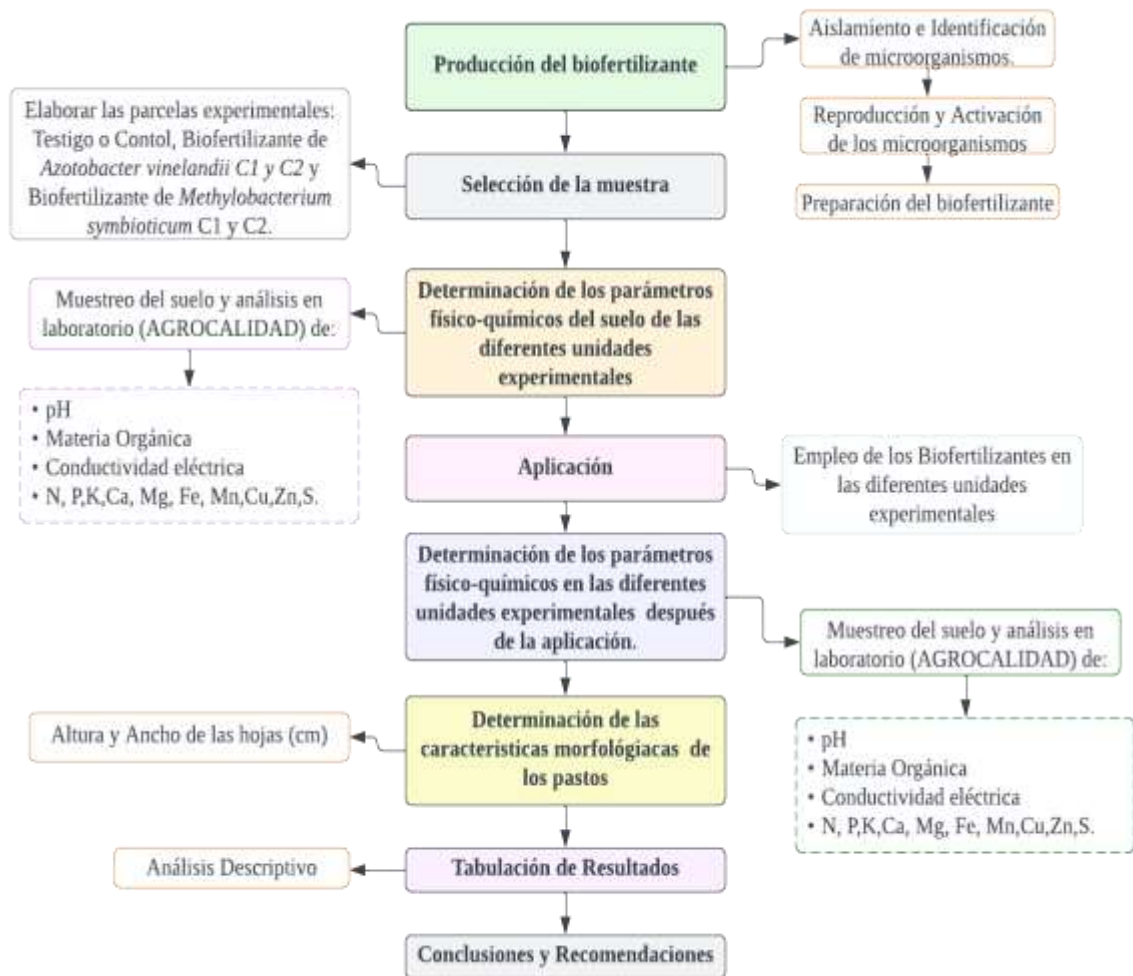


Ilustración 3-2: Diagrama del procedimiento del proyecto

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

CAPÍTULO IV

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Área de estudio



Ilustración 4-1: Área de estudio – Comunidad Llío

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Un terreno de la comunidad Llío perteneciente a la parroquia San Andrés fue el área de estudio para este proyecto, debido a que en toda la extensión de esta comunidad se realizan actividades de agricultura de todo tipo de cultivos, esto es debido al enriquecimiento de su suelo que son de tipo: arcillo arenosos y franco arenosos: franco arenoso grueso y franco arenoso fino, estos suelos son aptos para actividades agropecuarias ya que tienen mayor capacidad de retención de nutrimentos y humedad (PDOT, 2019, p. 25-28). Una de sus principales actividades económicas, es la producción de leche por lo que los pastos son los cultivos más empleados en la zona.

El área de estudio se encuentra a Coordenadas Planas UTM: Norte: 9828417,90 y Este: 754238,50 a 3178 m.s.n.m, tiene sembrado pasto azul (*Dactylis glomerata*) y dos variedades de raygrass (*Lolium perenne* y *Lolium multiflorum*).

4.2. Elaboración de las parcelas experimentales

El trabajo en campo inició definiendo el área de la parcela y delimitando cada área con estacas, como se observa en la Ilustración 4-2. Se preparó 5 parcelas de 2 m² con una separación de 1 m. Finalmente, se rotuló cada parcela con los nombres de: Parcela de control, *Azotobacter vinelandii* A₁ (10⁸), *Methylobacterium symbioticum* M₁ (10⁸), *Azotobacter vinelandii* A₂ (10⁹) y *Methylobacterium symbioticum* M₂ (10⁹).



Ilustración 4-2: Preparación de las parcelas experimentales

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023




4.3. Elaboración del biofertilizante

4.3.1. Aislamiento e inoculación de microorganismos

Se realizó 7 repeticiones de dilución seriada inicialmente, partiendo de dos placas madre de las bacterias respectivamente, para cada dilución se realizó una siembra en 5 placas con Agar Nutritivo ISO para *Methylobacterium symbioticum* y 5 placas con agar tripticasa de soya para *Azotobacter vinelandii* desde las diluciones 10⁻⁶ hasta 10⁻¹⁰ UFC, posteriormente se incubó dichas placas sólo por 5 días a una temperatura de 30°C a diferencia de lo expuesto en el procedimiento 3.2.2.1 ya que se observó un crecimiento óptimo. Obteniendo mayor concentración de cepas puras en las placas de las diluciones 10⁸ y 10⁹ UFC, mismas que fueron replicadas en 5 placas Petri respectivamente, proporcionando por cada microorganismo 10 placas puras para ser inoculadas en el sustrato correspondiente.

Para el control y purificación del crecimiento de los microorganismos fue mediante la esterilización de los materiales y los medios de cultivo utilizando un autoclave, también se seleccionó medios de cultivo específico para cada microorganismo como son: Agar Nutritivo ISO y con agar tripticasa de soya mismos que promueven su crecimiento óptimo respectivamente. El control de temperatura en la etapa de crecimiento fue un factor fundamental y se monitoreó con un termómetro dentro de la incubadora.

A continuación, se puede observar una recopilación fotográfica de todo el procedimiento realizado:

 <p>1. Se obtuvo las muestras de microorganismos del laboratorio ASOPROIL</p>	 <p>2. Se purificó los microorganismos por la técnica de dilución seriada</p>
 <p>3. Se seleccionó y preparó los medios de cultivo</p>	 <p>4. Se esterilizó los materiales y medios de cultivo</p>
 <p>5. Se realizó el plaqueado de los medios de cultivo</p>	 <p>6. Se realizó la siembra de los microorganismos</p>



7. Se incubó los microorganismos durante 5 días.



8. Resultados de la incubación

Ilustración 4-3: Aislamiento e inoculación de microorganismos

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.3.2. Identificación de microorganismos

A través del método de tinción Gram se identificó morfológicamente a los microorganismos. Se observó en el microscopio con los lentes (10X, 40X, 100X), teniendo mejor visualización con el lente 100X. Permitiendo identificar que el Frotis de *Azotobacter vinelandii* y el Frotis de *Methylobacterium symbioticum* son organismos unicelulares Gram-negativos.

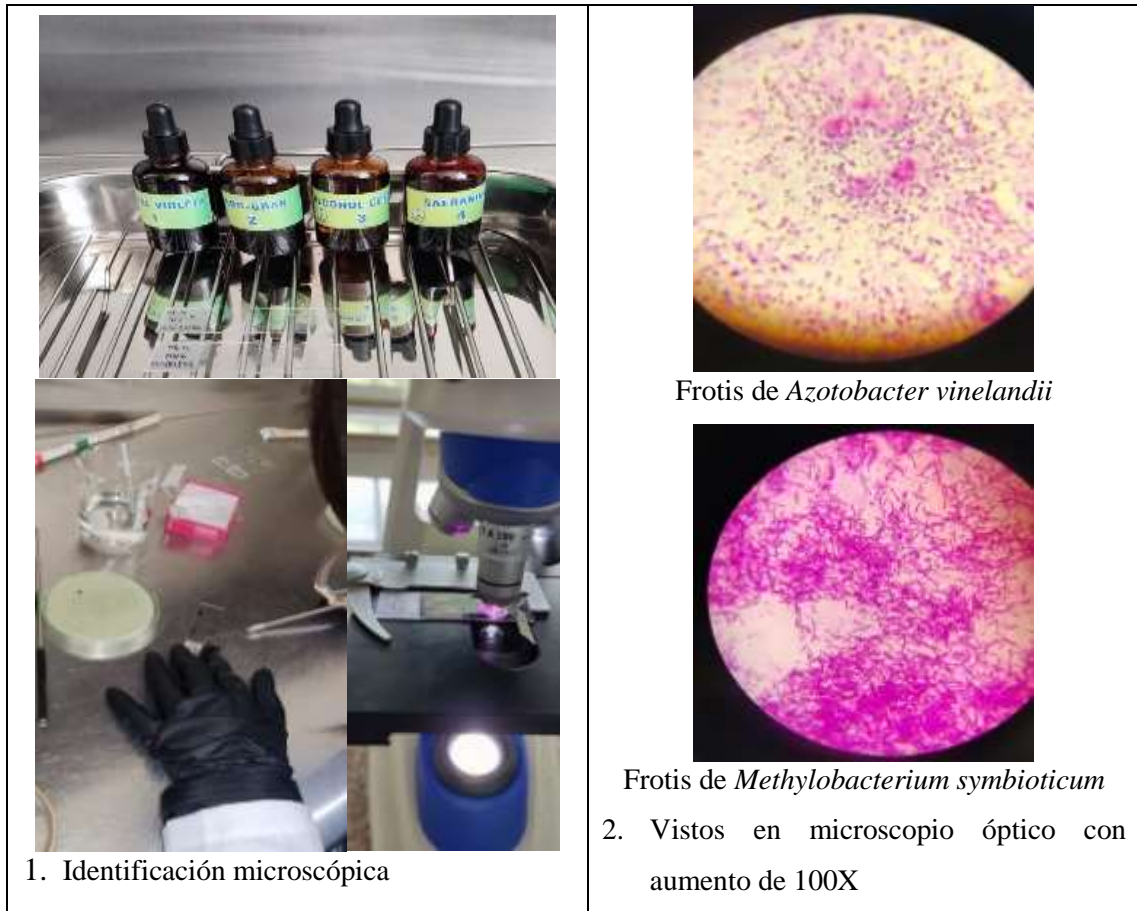


Ilustración 4-4: Identificación de microorganismos por el método de tinción gram

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.3.3. Reproducción de microorganismos

Una vez identificado los microorganismos se procedió a inocular en el sustrato de leche en polvo y se dejó reposar durante 5 días. Finalmente, para verificar la presencia de los microorganismos se realizó otra tinción Gram.



Ilustración 4-5: Inoculación de microorganismos en el sustrato (leche en polvo)

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.3.4. Activación de microorganismos

En una caneca estéril se colocó 100 g de sustrato inoculado con 20 litros de agua y se añadió 1 litro de melaza y se mezcló. Finalmente, se dejó reposar por 72 horas para activar a los microorganismos.



Ilustración 4-6: Activación del sustrato inoculado con melaza

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.3.5. Té de banano

Se elaboró con cáscaras de banano y agua hervida durante 15 minutos (por cada litro de agua se agregó 4 cáscaras de banano), se dejó enfriar y se colocó en envases plásticos de 6 litros cada uno. Se dejó reposar durante 3 días y se agitó diariamente, finalmente se tamizó.



Ilustración 4-7: Elaboración de té de banano

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.3.6. Preparación de biofertilizantes

En cada caneca se añadió 15 litros de té de banano como fuente de potasio con 10 litros de sustrato activo: *Azotobacter vinelandii* A₁ (10⁸), *Methylobacterium symbioticum* M₁ (10⁸), *Azotobacter*

vinelandii A₂ (10⁹) y *Methylobacterium symbioticum* M₂ (10⁹), respectivamente. También, se incorporaron hormonas de crecimiento vegetal 25 gramos de Auxinas y 5 ml de Giberelinas en cada caneca y finalmente se mezcló muy bien.



Ilustración 4-8: Preparación de biofertilizantes

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.3.7. Aplicación de los biofertilizantes

Se aplicó 5 litros de biofertilizante en cada parcela de estudio después humedecer el suelo con agua. En el caso de las soluciones con *Azotobacter vinelandii* se aplicó biofertilización edáfica y para las soluciones con *Methylobacterium symbioticum* se aplicó biofertilización foliar. Las dosis de biofertilizantes tuvieron dos aplicaciones una al iniciar el estudio y la otra a los 15 días.



Ilustración 4-9: Primera aplicación de los biofertilizantes en cada parcela

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023



Ilustración 4-10: Segunda aplicación de los biofertilizantes en cada parcela.

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.4. Variables morfológicas

4.4.1. Datos iniciales



Ilustración 4-11: Toma de medidas iniciales de los pastos

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Se realizó la toma de medidas de largo y ancho de las hojas de los pastos antes de colocar la primera aplicación del biofertilizante. En las siguientes tablas se observa los datos iniciales tomados el 11 de noviembre de 2022:

Tabla 4-1: Datos iniciales de la Parcela de control.

PARCELA DE CONTROL						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul (hojas)		Raygrass perenne (hojas)		Raygrass Nacional (tallo/hojas)	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud(cm)	Ancho (cm)	Longitud(cm)	Ancho (cm)
1	5	0,5	4	0,2	5	0,4
2	4	0,4	4	0,2	4	0,5
3	4	0,5	3	0,3	5	0,5
4	3	0,6	5	0,3	5	0,4
5	5,5	0,6	5	0,3	4	0,4
6	5	0,4	3	0,2	5	0,3
7	5	0,5	5	0,3	4	0,4
8	4	0,3	4	0,3	5,5	0,5
9	4,5	0,3	3	0,2	4	0,3
10	3	0,4	5	0,2	4	0,4
11	4	0,6	4	0,4	5	0,3
12	5	0,5	5	0,2	4	0,3
13	5	0,5	4	0,4	5	0,4
14	4	0,4	3	0,4	5	0,3
15	5	0,3	3	0,4	3	0,5
16	4	0,4	4	0,2	5	0,4
17	4	0,6	4	0,4	4	0,4
18	5	0,5	4	0,3	3	0,5
19	3	0,4	5	0,4	5	0,3
20	3	0,6	3	0,2	2	0,3
21	3	0,5	3	0,3	4	0,4
22	5	0,5	4	0,3	5	0,4
23	5	0,4	4	0,4	4	0,5
24	5	0,3	5	0,4	5	0,5
25	4	0,4	5	0,3	5	0,4
26	5	0,3	5	0,3	4,5	0,3
27	4	0,3	4	0,2	5	0,3
28	5	0,3	3	0,4	4	0,4
29	3	0,4	3	0,3	5	0,5
30	3	0,5	5	0,3	5	0,4
31	5	0,6	5	0,4	5	0,4
32	5	0,5	4	0,4	4	0,3
33	4	0,5	3	0,2	5	0,4
34	4	0,4	3	0,3	5	0,5
35	5	0,5	4	0,2	4	0,4
36	4	0,5	5	0,4	4,5	0,5
37	3	0,4	4	0,4	4	0,4
38	3	0,4	4	0,4	5	0,4
39	5	0,5	5	0,4	4	0,5
40	3	0,4	5	0,3	4	0,3
41	4	0,6	3	0,3	5	0,3
42	5	0,6	3	0,2	5	0,4
43	3	0,5	4	0,3	4	0,4
44	3	0,5	3	0,3	3	0,4
45	5,6	0,5	5	0,4	4,5	0,5
46	5	0,5	4	0,3	3,5	0,4
47	4	0,5	3	0,3	5	0,3
48	5	0,6	3	0,3	4	0,4
49	4	0,5	4	0,4	4,2	0,4
50	4	0,3	4	0,4	5	0,5
PROMEDIO	4,212	0,46	3,98	0,312	4,414	0,4
MODA	5,000	0,500	4,000	0,300	5,000	0,400
MEDIANA	4,000	0,500	4,000	0,300	4,500	0,400

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-2: Datos iniciales de la *Azotobacter vinelandii* M₁ (10⁸)

<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₁ (10 ⁸)						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul (hojas)		Raygrass perenne (hojas)		Raygrass Nacional (tallo/hojas)	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud(cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	3,5	0,3	4	0,2	5	0,3
2	5	0,3	4	0,2	6	0,5
3	5	0,3	5	0,3	6	0,4
4	4	0,4	3	0,3	4	0,4
5	3	0,5	3	0,3	6	0,5
6	5	0,6	4	0,2	5	0,3
7	4	0,5	4	0,3	6	0,3
8	5	0,5	5	0,3	4	0,4
9	4,6	0,4	5	0,2	5	0,4
10	3	0,7	5	0,2	4	0,5
11	3	0,5	4	0,4	5	0,5
12	5	0,4	3	0,2	5	0,4
13	4	0,7	3	0,4	6	0,3
14	5	0,5	5	0,4	6	0,3
15	3	0,7	5	0,4	4	0,4
16	4	0,6	4	0,2	5	0,5
17	5	0,6	3	0,4	5	0,4
18	4	0,7	3	0,3	5	0,4
19	3	0,7	4	0,4	4	0,3
20	3	0,5	5	0,2	5	0,4
21	3	0,5	4	0,3	5	0,5
22	5	0,7	4	0,3	6	0,4
23	5	0,6	4	0,4	6	0,5
24	4	0,7	5	0,4	4	0,4
25	4	0,3	5	0,3	5	0,4
26	5	0,5	3	0,4	4	0,5
27	4	0,4	3	0,3	4	0,3
28	4	0,5	4	0,3	5	0,3
29	5	0,6	3	0,4	5	0,4
30	3	0,6	5	0,4	4	0,4
31	5	0,4	4	0,2	6	0,4
32	4	0,5	3	0,3	4	0,5
33	3	0,3	3	0,2	6	0,4
34	4	0,3	4	0,4	5	0,3
35	5	0,4	4	0,4	4	0,4
36	3	0,6	4	0,4	4	0,4
37	5	0,5	4	0,4	5	0,5
38	3	0,5	3	0,3	6	0,4
39	4	0,4	5	0,3	6	0,5
40	5	0,3	5	0,2	5	0,5
41	4	0,4	3	0,3	5	0,4
42	5	0,6	5	0,3	4	0,4
43	3	0,5	4	0,4	5	0,3
44	4	0,4	3	0,3	4	0,4
45	5,6	0,6	5	0,3	5	0,5
46	3	0,5	4	0,2	4	0,3
47	5	0,5	5	0,4	4	0,4
48	4	0,4	4	0,3	5	0,3
49	4	0,3	3	0,3	4	0,3
50	5,6	0,4	3	0,4	5	0,4
PROMEDIO	4,146	0,492	3,98	0,312	4,9	0,4
MODA	5,00	0,50	4,00	0,30	5,00	0,40
MEDIANA	4,00	0,50	4,00	0,30	5,00	0,40

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-3: Datos iniciales de la *Methylobacterium symbioticum* M₁ (10⁸).

<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₁ (10 ⁸)						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul (hojas)		Raygrass perenne (hojas)		Raygrass Nacional (tallo/hojas)	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	5	0,5	5	0,3	4	0,4
2	4	0,3	4	0,3	5	0,5
3	4	0,3	3	0,2	4	0,3
4	3	0,4	5	0,2	4	0,4
5	4	0,6	4	0,4	5	0,3
6	5	0,5	5	0,2	4	0,3
7	5	0,5	4	0,4	5	0,4
8	4	0,4	3	0,4	5	0,3
9	5	0,3	3	0,4	6	0,5
10	4	0,4	4	0,2	6	0,4
11	4	0,6	4	0,4	4	0,4
12	5	0,5	4	0,3	6	0,5
13	3	0,4	5	0,4	5	0,3
14	3	0,6	3	0,2	6	0,3
15	3	0,4	3	0,3	5	0,5
16	3	0,5	5	0,3	5	0,4
17	5	0,6	5	0,4	5	0,4
18	5	0,5	4	0,4	4	0,3
19	4	0,5	3	0,2	5	0,4
20	4	0,4	3	0,3	5	0,5
21	5	0,7	4	0,2	6	0,4
22	4	0,5	5	0,4	6	0,5
23	3	0,4	4	0,4	4	0,4
24	3	0,7	4	0,4	5	0,4
25	5	0,5	5	0,4	4	0,5
26	3	0,7	5	0,3	4	0,3
27	4	0,6	3	0,3	5	0,3
28	5	0,6	3	0,2	5	0,4
29	3	0,7	4	0,3	4	0,4
30	3	0,7	3	0,3	6	0,4
31	4,5	0,5	5	0,4	4	0,5
32	5	0,5	4	0,3	6	0,4
33	4	0,7	3	0,3	5	0,3
34	5	0,6	3	0,3	4	0,4
35	4	0,7	4	0,4	4	0,4
36	4	0,3	4	0,4	5	0,5
37	4	0,5	3	0,2	5	0,5
38	3,5	0,6	5	0,3	5	0,4
39	5	0,6	5	0,3	4	0,4
40	5	0,4	3	0,2	5	0,3
41	5,6	0,5	5	0,3	4	0,4
42	4	0,3	4	0,2	5	0,5
43	4	0,3	3	0,2	4	0,3
44	3	0,4	5	0,2	4	0,4
45	4,1	0,6	4	0,3	5	0,3
46	4,3	0,5	5	0,2	4	0,3
47	5	0,5	4	0,3	5	0,4
48	4,3	0,4	3	0,4	5	0,3
49	5	0,3	3	0,4	6	0,5
50	4	0,4	4	0,2	6	0,4
PROMEDIO	4,146	0,498	3,96	0,304	4,84	0,394
MODA	4,00	0,50	4,00	0,30	5,00	0,40
MEDIANA	4,00	0,50	4,00	0,30	5,00	0,40

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-4: Datos iniciales de la *Azotobacter vinelandii* A₂ (10⁹).

<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₂ (10 ⁹)						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul (hojas)		Raygrass perenne (hojas)		Raygrass Nacional (tallo/hojas)	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	4	0,4	4,5	0,3	5	0,4
2	5	0,3	4,6	0,3	6	0,3
3	4	0,3	4,3	0,2	6	0,3
4	5	0,3	3,3	0,4	4	0,4
5	3	0,4	3	0,3	5	0,5
6	3	0,5	5	0,3	5	0,4
7	5	0,6	5	0,4	5	0,4
8	5	0,5	4	0,4	4	0,3
9	4	0,5	3	0,2	5	0,4
10	4	0,4	3	0,3	5	0,5
11	5	0,7	4	0,2	6	0,4
12	4	0,5	5	0,4	6	0,5
13	3	0,4	4	0,4	4	0,4
14	3	0,7	4	0,4	5	0,4
15	5	0,5	5	0,4	4	0,5
16	3	0,7	5	0,3	4	0,3
17	4	0,6	3	0,3	5	0,3
18	5	0,6	3	0,2	5	0,4
19	3	0,7	4	0,3	4	0,4
20	3	0,7	3	0,3	6	0,4
21	5	0,5	5	0,4	4	0,5
22	5	0,5	4	0,3	6	0,4
23	4	0,7	3	0,3	5	0,3
24	5	0,6	3	0,3	4	0,4
25	4	0,7	4	0,4	4	0,4
26	4	0,3	4	0,4	5	0,5
27	3	0,6	5	0,3	5	0,4
28	5	0,6	5	0,3	4	0,4
29	5	0,4	3	0,2	5	0,3
30	5	0,5	5	0,3	4	0,4
31	4	0,3	4	0,3	5	0,5
32	4	0,3	3	0,2	4	0,3
33	3	0,4	5	0,2	4	0,4
34	4	0,3	4	0,4	5	0,3
35	5	0,5	5	0,2	4	0,3
36	5	0,5	4	0,4	5	0,4
37	4	0,4	3	0,3	5	0,3
38	5	0,3	3	0,4	6	0,5
39	4,6	0,4	4	0,2	6	0,4
40	4	0,6	4,3	0,4	4	0,4
41	5	0,5	3	0,3	6	0,5
42	3,7	0,4	5	0,4	5	0,3
43	3,2	0,6	3	0,2	6	0,3
44	3,8	0,5	3	0,3	4	0,4
45	5	0,5	4	0,3	4,6	0,4
46	5	0,4	3	0,4	4	0,5
47	5	0,3	5	0,4	5	0,5
48	5	0,4	4	0,2	5,1	0,4
49	4	0,5	3	0,4	4,3	0,5
50	3	0,4	4	0,4	4	0,4
PROMEDIO	4,1979592	0,484	3,94	0,316	4,82	0,398
MODA	5,00	0,50	3,00	0,30	5,00	0,40
MEDIANA	4,00	0,50	4,00	0,30	5,00	0,40

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-5: Datos iniciales de la *Methylobacterium symbioticum* M₂ (10⁹).

<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₂ (10 ⁹)						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul (hojas)		Raygrass perenne (hojas)		Raygrass Nacional (tallo/hojas)	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud(cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	4	0,3	4	0,3	5	0,5
2	4	0,3	3	0,2	4,5	0,3
3	3	0,4	5	0,2	4	0,4
4	4	0,6	4	0,4	5	0,3
5	5	0,5	5	0,2	4	0,3
6	5	0,5	4	0,4	5	0,4
7	4	0,4	3	0,4	5	0,3
8	5	0,3	3	0,4	6	0,5
9	4	0,4	4	0,2	6	0,4
10	4	0,6	4	0,4	4	0,4
11	5	0,5	4	0,3	5,2	0,5
12	3	0,4	5	0,4	5	0,3
13	3	0,6	3	0,2	6	0,3
14	5	0,3	3	0,4	5	0,5
15	4	0,4	4	0,2	6	0,4
16	4	0,6	4	0,4	4	0,4
17	5	0,5	4	0,3	6	0,5
18	3	0,4	5	0,4	5	0,3
19	3	0,6	3	0,2	6	0,3
20	3	0,5	3	0,3	4	0,4
21	5	0,5	4	0,3	5	0,4
22	5	0,4	4	0,4	4	0,5
23	5	0,3	5	0,4	5	0,5
24	4	0,4	5	0,3	5	0,4
25	5	0,3	5	0,3	6	0,3
26	4	0,3	4	0,2	6	0,3
27	5	0,3	3	0,4	4	0,4
28	4,1	0,4	3	0,3	5	0,5
29	3	0,5	5	0,3	5	0,4
30	5	0,6	5	0,4	5	0,4
31	5	0,5	4	0,4	4	0,3
32	4	0,5	3	0,2	5	0,4
33	5	0,5	5	0,4	4	0,5
34	3,2	0,3	5	0,3	4	0,3
35	4	0,6	3,1	0,3	4,5	0,3
36	4,2	0,6	3	0,4	5	0,4
37	4	0,6	4,5	0,3	4	0,4
38	3,5	0,5	3	0,3	6	0,4
39	5	0,5	5	0,4	4,3	0,5
40	5	0,5	4	0,5	6	0,4
41	4	0,7	3	0,3	5	0,3
42	3	0,6	3	0,3	4	0,4
43	4	0,5	4	0,4	4	0,4
44	4	0,3	4	0,5	5	0,5
45	3	0,7	4	0,4	5	0,4
46	5	0,5	5	0,4	4	0,5
47	3	0,4	5	0,3	4	0,3
48	4	0,6	3,2	0,4	5	0,3
49	4,5	0,5	3	0,3	5	0,4
50	4,2	0,6	4,6	0,5	4	0,4
PROMEDIO	4,134	0,472	3,968	0,336	4,85	0,392
MODA	4,00	0,50	4,00	0,40	5,00	0,40
MEDIANA	4,00	0,50	4,00	0,30	5,00	0,40

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.4.2. Primera toma de datos



Ilustración 4-12: Toma de datos de las variables morfológicas de los pastos transcurridos 15 primeros días

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Se realizó la primera toma de medidas de largo y ancho de las hojas de los pastos después de 15 días de aplicar el biofertilizante. En las siguientes tablas se observa los datos tomados el 26 de noviembre de 2022:

Tabla 4-6: Primera toma de datos de la Parcela de control.

PARCELA DE CONTROL						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul		Raygrass perenne		Raygrass Nacional	
	Longitud(cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	38	0,6	11	0,4	20	0,5
2	32	0,5	26	0,3	28	0,6
3	38	0,5	15	0,5	19	0,4
4	30	0,7	16	0,2	18	0,5
5	15	0,5	18	0,4	17,5	0,4
6	19	0,6	24	0,6	27	0,5
7	22	0,5	23	0,2	15	0,6
8	23	0,4	20	0,2	22	0,4
9	20	0,6	20	0,3	32	0,5
10	21	0,5	18	0,1	16	0,4
11	26	0,5	22	0,4	29	0,4
12	35	0,4	29	0,4	31	0,5
13	17	0,5	22,5	0,3	23	0,5
14	31	0,4	17,5	0,2	25	0,5
15	16	0,6	17	0,4	18	0,4
16	33	0,6	11	0,2	24	0,6
17	32	0,6	21,5	0,4	16,5	0,6
18	18	0,5	23	0,4	19,5	0,6
19	25	0,6	20	0,2	32	0,6
20	38	0,5	27,5	0,5	20	0,5
21	27	0,6	26	0,6	22,5	0,4
22	31	0,5	28	0,6	16,5	0,6
23	34	0,4	19	0,5	18,6	0,5
24	36	0,5	17,5	0,4	21,5	0,4
25	19	0,7	23	0,4	20	0,6
26	17	0,5	18	0,2	28	0,4
27	31	0,4	22	0,5	24	0,5
28	18	0,6	24	0,5	15	0,3
29	15	0,4	25	0,4	31	0,4
30	31	0,5	16	0,2	30	0,3
31	30	0,7	18	0,3	26,4	0,5
32	29	0,5	29	0,5	28,4	0,3
33	26	0,5	22	0,5	32	0,4
34	21	0,5	20	0,4	31,5	0,3
35	33	0,4	21,5	0,3	19,5	0,4
36	37	0,6	23	0,6	18,5	0,5
37	15,5	0,5	28,6	0,5	21	0,6
38	15	0,6	20,5	0,4	15	0,3
39	31,5	0,5	11,5	0,3	26	0,3
40	20,5	0,7	15	0,5	20	0,6
41	19	0,6	19,5	0,5	27,5	0,4
42	22,5	0,5	17	0,4	27	0,3
43	31	0,7	20	0,3	29	0,5
44	15	0,6	16	0,4	15,6	0,4
45	17	0,7	24	0,5	24,5	0,5
46	37,5	0,5	26,6	0,6	23	0,6
47	19,6	0,7	16	0,4	25	0,4
48	30	0,7	19,5	0,3	26,5	0,3
49	15	0,6	23,6	0,5	19	0,4
50	25	0,7	25	0,6	17	0,6
PROMEDIO	25,56	0,55	20,74	0,39	23,04	0,46
MODA	15,00	0,50	20,00	0,40	20,00	0,40
MEDIANA	25,50	0,50	20,25	0,40	22,75	0,50

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-7: Primera toma de datos del *Azotobacter vinelandii* A₁ (10⁸).

<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₁ (10 ⁸)						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul		Raygrass perenne		Raygrass Nacional	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud(cm)	Ancho (cm)
1	48	0,8	33	0,5	54	0,5
2	36	0,6	40	0,5	43	0,6
3	39	0,5	44	0,4	50,6	0,7
4	39	0,7	39	0,6	44,5	0,5
5	46	0,5	35	0,6	46	0,5
6	25	0,6	36,5	0,4	47	0,6
7	36	0,7	35,6	0,4	46	0,4
8	21,5	0,6	34,5	0,5	47	0,4
9	34	0,5	40	0,6	43,5	0,5
10	29	0,7	23	0,5	46	0,6
11	47	0,6	36	0,6	48	0,4
12	40	0,8	26	0,4	50	0,5
13	46	0,7	37	0,6	54	0,5
14	25	0,5	33,5	0,5	52	0,4
15	36	0,6	36	0,6	53,5	0,7
16	26,7	0,6	34	0,4	52	0,5
17	29,5	0,8	23	0,5	51	0,5
18	45	0,5	42	0,4	51	0,6
19	43,5	0,6	43	0,5	54	0,6
20	46,5	0,5	33	0,6	48	0,5
21	43	0,7	27	0,5	49	0,4
22	42	0,6	35,5	0,4	49	0,5
23	35,5	0,7	30	0,6	47	0,6
24	38	0,5	34	0,7	48	0,5
25	34	0,5	35	0,5	46,5	0,4
26	43	0,6	37	0,6	43	0,6
27	41	0,6	34	0,7	43,5	0,4
28	28,5	0,5	33	0,5	45	0,5
29	30	0,7	34	0,4	45,5	0,7
30	45	0,5	21	0,6	46	0,5
31	41,5	0,6	37	0,6	48	0,6
32	36,5	0,7	31	0,5	47	0,4
33	37	0,5	36	0,5	49,6	0,5
34	41	0,6	34	0,7	50	0,4
35	42	0,7	39	0,5	51,5	0,4
36	45,5	0,5	30	0,6	44	0,5
37	46,5	0,6	36	0,5	45	0,5
38	49	0,7	41	0,6	44,5	0,4
39	39,5	0,5	29	0,4	48	0,5
40	44	0,5	38	0,7	54	0,4
41	46	0,6	36	0,5	53	0,5
42	38,5	0,5	38,5	0,6	52	0,5
43	25,6	0,7	30	0,4	50	0,5
44	48,5	0,5	34	0,4	50	0,5
45	47	0,6	41	0,5	51	0,4
46	46	0,5	33	0,7	50	0,5
47	27	0,7	35	0,5	51	0,6
48	45	0,5	22,5	0,5	44	0,5
49	40,5	0,5	39	0,6	45	0,4
50	44	0,6	37	0,5	46	0,5
PROMEDIO	38,99	0,60	34,43	0,53	48,34	0,50
MODA	46,00	0,50	34,00	0,50	46,00	0,50
MEDIANA	40,75	0,60	35,00	0,50	48,00	0,50

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-8: Primera toma de datos del *Methylobacterium symbioticum* M₁ (10⁸).

<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₁ (10 ⁸)						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul		Raygrass perenne		Raygrass Nacional	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	48	0,9	45	0,5	49	0,4
2	45	0,8	43	0,5	35	0,5
3	40	0,9	40	0,6	42	0,6
4	46,5	0,9	42,5	0,5	35,5	0,4
5	42	0,7	30	0,3	36	0,6
6	48	0,6	42	0,4	38	0,6
7	39,5	0,7	31,5	0,5	42	0,5
8	41,5	0,8	39	0,7	40	0,4
9	50,5	0,8	35	0,3	40,5	0,5
10	48	0,7	47	0,3	41	0,6
11	47,5	0,8	38	0,5	39	0,5
12	48	0,8	46	0,5	38	0,4
13	40	0,7	41	0,6	37	0,6
14	35	0,9	41,5	0,4	36	0,5
15	46,5	0,6	42	0,6	36,5	0,6
16	35	0,6	32	0,6	41,5	0,4
17	47	0,7	50	0,7	42	0,4
18	41	0,7	49	0,6	36	0,5
19	40,5	0,6	47	0,6	39,5	0,5
20	41	0,7	30	0,6	37	0,7
21	42	0,6	35	0,4	41	0,5
22	40	0,6	32,5	0,5	42	0,6
23	49,5	0,8	36,5	0,6	41	0,4
24	45	0,7	31	0,6	36,5	0,5
25	40,5	0,8	33,5	0,6	38	0,4
26	46,5	0,9	41	0,6	37	0,4
27	41	0,8	34	0,6	40	0,4
28	46	0,7	39	0,7	41,5	0,5
29	40	0,7	35	0,6	48	0,6
30	28	0,8	37	0,7	42,5	0,4
31	47,5	0,7	48	0,6	41,5	0,5
32	45	0,8	37	0,6	40	0,5
33	50	0,7	47	0,7	40	0,6
34	48	0,7	46	0,5	39	0,7
35	51	0,9	34	0,6	45	0,5
36	35	0,8	42	0,7	47	0,5
37	42	0,7	31	0,6	43	0,6
38	36	0,7	37	0,6	43	0,4
39	46	0,6	30	0,7	41	0,5
40	29,5	0,9	46	0,5	40	0,5
41	43,5	0,8	42	0,6	43	0,5
42	36	0,6	43	0,6	38	0,5
43	35	0,7	41	0,6	50	0,4
44	46,5	0,8	41	0,7	37	0,5
45	48	0,7	40	0,6	39	0,6
46	45	0,8	37	0,7	51	0,5
47	42,5	0,9	41	0,6	40	0,4
48	40	0,7	34	0,7	41	0,5
49	46,5	0,8	34	0,5	58	0,6
50	49	0,7	31	0,5	43	0,5
PROMEDIO	43,02	0,75	38,96	0,57	40,97	0,50
MODA	48,00	0,70	41,00	0,60	40,00	0,50
MEDIANA	44,25	0,70	39,50	0,60	40,25	0,50

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-9: Primera toma de datos del *Azotobacter vinelandii* A₂ (10⁹).

<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₂ (10 ⁹)						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul		Raygrass perenne		Raygrass Nacional	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	59	0,5	49	0,6	60	0,5
2	51	0,8	38	0,7	64	0,8
3	47	0,7	29	0,5	59	0,7
4	38	0,8	48,5	0,7	60	0,5
5	37,5	0,7	39,5	0,6	52	0,5
6	38	0,5	33,5	0,6	61	0,6
7	39	0,9	47,5	0,7	65	0,6
8	41	0,8	44	0,7	58	0,5
9	42,5	0,7	35	0,6	59	0,5
10	55	0,7	48	0,6	59,5	0,6
11	57	0,6	46,5	0,7	62,5	0,7
12	58	0,9	30	0,5	60,5	0,5
13	50	0,8	45	0,6	64	0,5
14	51	0,6	32,5	0,7	61	0,6
15	55,5	0,7	36	0,7	63	0,8
16	58	0,8	48	0,5	62,5	0,8
17	59	0,7	49	0,7	58	0,6
18	56	0,8	46	0,6	60	0,7
19	58,5	0,9	39,5	0,7	61	0,6
20	57,5	0,7	41,5	0,5	59	0,7
21	39	0,6	45,5	0,7	50,5	0,6
22	42	0,7	42,5	0,7	57	0,8
23	43	0,8	44	0,6	63	0,6
24	45	0,6	44,5	0,7	60,5	0,7
25	45	0,5	47,5	0,6	58,5	0,5
26	41	0,7	46	0,7	60	0,6
27	50	0,7	46	0,7	63	0,7
28	52	0,6	35	0,6	61	0,5
29	49	0,8	38	0,7	62,5	0,6
30	49,5	0,7	49	0,6	57	0,8
31	55,5	0,7	44	0,7	59	0,7
32	47	0,8	46,5	0,7	60	0,5
33	38	0,8	42	0,6	64	0,6
34	39,5	0,7	41	0,7	63,5	0,6
35	40,5	0,8	40	0,6	57	0,7
36	47	0,6	40	0,7	58	0,6
37	46	0,7	45	0,7	58	0,5
38	46	0,7	47	0,7	63	0,6
39	41	0,5	46	0,6	57	0,5
40	42	0,5	45	0,7	59	0,7
41	58	0,7	43	0,7	61	0,5
42	49	0,8	43,5	0,6	60	0,6
43	39,5	0,8	41	0,7	61	0,7
44	51,6	0,7	42	0,7	59	0,8
45	58	0,8	48	0,6	64	0,6
46	54	0,7	36,5	0,7	63	0,7
47	49,5	0,5	45	0,7	59	0,5
48	56	0,8	39,5	0,7	58	0,6
49	48	0,7	38,5	0,6	57	0,7
50	43	0,8	45	0,7	60,5	0,5
PROMEDIO	48,26	0,71	42,45	0,65	60,06	0,62
MODA	58,00	0,70	45,00	0,70	59,00	0,60
MEDIANA	48,50	0,70	44,00	0,70	60,00	0,60

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-10: Primera toma de datos del *Methylobacterium symbioticum* M₂ (10⁹)

<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₂ (10 ⁹)						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul		Raygrass perenne		Raygrass Nacional	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	74	0,9	55	0,8	72	0,9
2	80	0,7	64,5	0,9	64	0,6
3	82	0,9	68	1	69	0,7
4	50	0,9	72	0,8	68	0,6
5	55	0,7	58,5	0,9	67	0,8
6	81	0,9	64	0,8	65	0,7
7	70	0,8	72,5	0,9	64	0,6
8	64	0,7	66	0,8	68	0,5
9	79	0,8	67	1	69	0,6
10	75	0,9	65	0,8	71	0,8
11	53	0,9	62	0,8	72	0,7
12	54	0,9	56,5	0,7	70	0,5
13	50	0,9	65	0,9	71,5	0,7
14	58	0,8	62	1	69	0,6
15	65	0,9	71	0,9	65	0,7
16	69,5	0,8	65	0,8	60	0,5
17	70	0,9	71	0,9	58	0,6
18	68	0,8	69	0,7	59,5	0,8
19	58,5	0,9	70	0,8	57,5	0,5
20	60	0,8	64	0,8	69,5	0,5
21	64	0,8	57	0,7	73	0,6
22	61	0,7	71	0,8	68	0,7
23	75,5	0,9	62,5	1	69,5	0,5
24	61	0,9	73	0,8	70	0,5
25	50	0,7	63,5	0,9	71,5	0,6
26	54	0,8	67	0,8	70	0,6
27	59	0,9	65	0,9	72,5	0,5
28	54	0,9	71	0,8	71,5	0,5
29	50	0,9	67	0,7	70	0,7
30	70	0,9	65,5	1	71	0,6
31	70	0,8	64	0,8	64	0,8
32	68	0,9	68	0,8	63	0,7
33	54	0,8	67	0,7	65	0,8
34	50	0,9	68,5	0,9	65,5	0,8
35	69	0,8	64	0,9	70	0,7
36	55	0,9	64,5	0,9	71	0,6
37	60	0,8	68	1	64	0,7
38	70	0,8	63	0,8	70	0,9
39	60	0,9	71	0,8	71,5	0,8
40	63	0,9	61	0,7	64	0,7
41	73	0,9	62	0,9	50	0,8
42	75	0,9	73	0,9	52	0,6
43	73	0,8	67	0,9	53	0,7
44	64	0,9	63	0,9	53	0,8
45	60	0,8	71	1	64	0,7
46	59	0,9	62,5	0,9	72	0,6
47	64	0,9	68	0,8	70	0,7
48	54	0,9	64	0,9	50	0,8
49	55	0,9	69	0,9	51	0,7
50	61	0,9	71	0,9	53	0,8
PROMEDIO	63,43	0,85	65,99	0,85	65,44	0,67
MODA	50,00	0,90	71,00	0,90	70,00	0,70
MEDIANA	62,00	0,90	65,75	0,90	68,00	0,70

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.4.3. Segunda toma de datos



Ilustración 4-13: Toma de datos de las variables morfológicas de los pastos transcurridos 20 días después de la segunda aplicación.

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Se realizó la segunda toma de medidas de largo y ancho de las hojas de los pastos después de 20 días de aplicar el biofertilizante. En las siguientes tablas se observa los datos tomados el 16 de diciembre de 2022:

Tabla 4-11: Segunda toma de datos de la Parcela de control.

PARCELA DE CONTROL						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul		Raygrass perenne		Raygrass Nacional	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	40	0,7	15	0,6	52	0,5
2	45	0,9	30	0,5	20	0,6
3	31	0,6	22	0,3	35	0,4
4	33,5	0,7	30,5	0,6	23	0,7
5	39	0,6	45	0,7	30,5	0,5
6	44	0,8	39	0,5	40	0,6
7	31	0,7	45	0,7	48	0,7
8	40	0,5	44	0,6	36,5	0,4
9	42	0,8	41	0,4	46	0,5
10	41	0,7	39	0,5	46,5	0,6
11	41	0,9	34	0,6	41	0,5
12	39	0,7	18,5	0,7	32,5	0,7
13	38,5	0,8	45	0,4	33	0,5
14	37	0,7	42	0,5	29,5	0,4
15	34	0,8	51	0,6	49,5	0,6
16	45	0,9	24	0,5	35	0,7
17	33,5	0,6	38	0,7	25,5	0,5
18	42	0,7	37,5	0,5	27,5	0,4
19	40,5	0,8	48,5	0,4	40	0,6
20	32,5	0,9	22,5	0,6	45,5	0,6
21	39,5	0,8	36	0,7	51	0,7
22	31	0,8	40	0,5	47	0,5
23	34	0,7	22	0,4	38,5	0,6
24	45	0,8	39,5	0,5	39,5	0,6
25	36,5	0,9	33	0,7	45	0,4
26	37	0,9	23	0,5	24,5	0,6
27	37	0,8	36	0,6	36	0,6
28	38	0,7	45	0,7	50	0,4
29	40	0,9	32,5	0,5	41	0,5
30	45	0,7	20,5	0,6	39,5	0,7
31	41,5	0,8	31,5	0,6	48	0,4
32	42	0,9	30	0,7	47	0,6
33	44	0,7	30	0,5	49,5	0,6
34	40,5	0,8	40	0,6	51,5	0,4
35	31	0,8	48,5	0,6	44	0,5
36	35	0,7	47	0,4	51	0,7
37	39,5	0,7	36	0,6	42,5	0,4
38	40	0,9	21,5	0,6	35,5	0,5
39	45	0,6	29	0,4	41	0,6
40	44	0,7	40	0,5	23	0,7
41	42	0,9	48	0,7	46	0,5
42	42,5	0,7	25	0,4	20	0,7
43	43,5	0,8	46	0,5	51	0,6
44	41	0,7	31	0,6	52	0,4
45	40,5	0,8	19	0,7	49,5	0,5
46	37	0,9	31	0,6	38	0,6
47	35	0,7	23,5	0,7	39,5	0,7
48	45	0,8	20	0,5	40	0,4
49	44	0,7	37	0,7	48	0,5
50	42	0,8	19,5	0,6	35	0,6
PROMEDIO	39,35	0,764	33,85	0,562	40,01	0,55
MODA	45	0,7	45	0,6	35	0,6
MEDIANA	40	0,8	35	0,6	40,5	0,6

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-12: Segunda toma de datos del *Azotobacter vinelandii* A₁ (10⁸)

<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₁ (10 ⁸)						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul		Raygrass perenne		Raygrass Nacional	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	50	0,5	46	0,7	58	0,5
2	59	0,7	40	0,7	47	0,5
3	45	0,8	28	0,6	56	0,8
4	57,5	0,7	50	0,7	38	0,5
5	54	0,8	35,5	0,7	39,5	0,8
6	49,5	0,9	41	0,5	41,5	0,6
7	43	0,8	45,5	0,7	57,5	0,6
8	48	0,8	30	0,6	43	0,7
9	47,5	0,7	34	0,7	41	0,8
10	54	0,8	49,5	0,5	42,5	0,6
11	58	0,9	36,5	0,7	45,5	0,6
12	58,5	0,9	47,5	0,7	40	0,8
13	36	0,8	48	0,6	49	0,6
14	35,5	0,7	40	0,7	56	0,6
15	30,5	0,9	41,5	0,6	55,5	0,7
16	37	0,7	36	0,7	51	0,5
17	40	0,6	50	0,7	52	0,7
18	47,5	0,7	44,5	0,6	53	0,4
19	49	0,8	43	0,7	40	0,6
20	51	0,6	36,5	0,6	58	0,6
21	33	0,5	39,5	0,7	56,5	0,4
22	36,5	0,6	41,5	0,7	49	0,5
23	59	0,6	42	0,6	52,5	0,7
24	54	0,7	40	0,7	54	0,7
25	56,5	0,7	45	0,6	43,5	0,5
26	57	0,7	37,5	0,7	51	0,7
27	54,5	0,7	38,5	0,7	57,5	0,6
28	52	0,6	39	0,7	54,5	0,7
29	38	0,8	48,5	0,6	49,5	0,5
30	39	0,7	47,5	0,7	56	0,6
31	37	0,6	49,5	0,8	48,5	0,7
32	36,5	0,7	40	0,7	52,5	0,5
33	38	0,5	39	0,7	55	0,7
34	34,5	0,6	39,5	0,5	57	0,7
35	30	0,6	50	0,8	56,5	0,6
36	48	0,7	36,5	0,7	58	0,6
37	49,5	0,8	45,5	0,6	50	0,7
38	58,5	0,7	41	0,6	54,5	0,6
39	59	0,9	45,5	0,7	40,5	0,5
40	57	0,7	48	0,7	51,5	0,7
41	59	0,7	40,5	0,5	52,5	0,6
42	45	0,6	44,6	0,6	50	0,8
43	44,5	0,7	39,5	0,7	49,5	0,8
44	41	0,7	50	0,7	58	0,7
45	40	0,7	41,5	0,6	54	0,7
46	42	0,7	46	0,8	51	0,7
47	46	0,6	35,5	0,8	52	0,6
48	58,5	0,7	49,5	0,7	57	0,7
49	49	0,6	41	0,8	49,5	0,6
50	47	0,7	40,5	0,7	58	0,6
PROMEDIO	47	0,704	42,102	0,668	50,87	0,63
MODA	59,00	0,70	40,00	0,70	58,00	0,60
MEDIANA	47,75	0,70	41,25	0,70	52,00	0,60

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-13: Segunda toma de datos del *Methylobacterium symbioticum* M₁ (10⁸)

<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₁ (10 ⁸)						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul		Raygrass perenne		Raygrass Nacional	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	61	0,9	48	0,7	59	0,7
2	40	0,7	46	0,8	46	0,6
3	68	1	43	0,9	56	0,5
4	38	0,8	37	0,7	61	0,7
5	60	0,7	39,5	0,9	55,5	0,5
6	49,5	0,6	45	0,7	56,5	0,6
7	47,5	0,9	40,5	0,8	58,5	0,7
8	45	0,7	47	0,9	45	0,6
9	61	0,8	42,5	0,7	50,5	0,8
10	60	0,7	38,5	0,8	49,5	0,7
11	58,5	0,6	39	0,8	47	0,7
12	45,5	0,8	40	0,7	42	0,6
13	49,5	0,7	41,5	0,5	45	0,8
14	59,5	0,8	47,5	0,9	40,5	0,7
15	58,5	0,8	42,5	0,6	58	0,7
16	57	0,9	46,5	0,7	38,5	0,8
17	39	0,7	40	0,9	45,5	0,6
18	41	1	45,5	0,7	51	0,8
19	68	0,6	42,5	0,8	52,5	0,6
20	45	0,7	37	0,7	61,5	0,7
21	46,5	0,6	48	0,6	61	0,8
22	67	0,7	51	0,7	49,5	0,6
23	61,5	0,8	40	0,8	63	0,7
24	45,5	0,7	48,5	0,6	49	0,8
25	55,5	0,8	47,5	0,7	41,5	0,6
26	50	0,7	42	0,8	43	0,7
27	52,5	0,6	43,5	0,7	44,5	0,6
28	53	0,8	41	0,7	47	0,7
29	57,5	0,7	41,5	0,6	49,5	0,8
30	65,5	0,8	42,5	0,8	53	0,7
31	63,5	0,7	50	0,7	56,5	0,8
32	62	0,9	49,5	0,8	51	0,7
33	61	1	46	0,8	42,5	0,8
34	58,5	0,7	42	0,7	60	0,6
35	46	0,8	40	0,6	63,5	0,6
36	44,5	0,7	45,5	0,7	61	0,5
37	39,5	0,6	51	0,9	60	0,7
38	41,5	0,9	48,5	0,6	59,5	0,5
39	45	0,7	47,5	0,9	53,5	0,8
40	66,5	0,8	38,5	0,9	49,5	0,5
41	60	0,7	40	0,7	60,5	0,6
42	63,5	0,7	43	0,7	63	0,5
43	60,5	0,8	41,5	0,8	48,5	0,7
44	67	0,8	42	0,9	52,5	0,8
45	59	0,9	39,5	0,7	61	0,7
46	54	1	51	0,7	62,5	0,5
47	41,5	0,8	44,5	0,8	49,5	0,6
48	42,5	0,7	48,5	0,9	58,5	0,8
49	46	0,8	51	0,8	59	0,7
50	40	1	49,5	0,7	63	0,8
PROMEDIO	53,36	0,772	44,07	0,75	53,1	0,672
MODA	61,00	0,70	40,00	0,70	49,50	0,70
MEDIANA	54,75	0,80	43,00	0,70	52,75	0,70

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-14: Segunda toma de datos del *Azotobacter vinelandii* A₂ (10⁹)

<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₂ (10 ⁹)						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul		Raygrass perenne		Raygrass Nacional	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	50	0,8	54	0,6	70	0,5
2	44	0,6	57	0,7	63	0,6
3	75	0,9	46	0,7	58	0,7
4	45,5	0,7	64	0,8	60,5	0,5
5	42	0,8	48,5	0,9	63,5	0,6
6	52,5	0,7	47	0,8	68	0,8
7	59,5	0,6	50	0,7	71	0,8
8	70	0,8	60,5	0,9	70,5	0,6
9	49,5	0,7	63	0,7	62,5	0,7
10	48	0,8	58	0,8	72	0,6
11	61	0,7	55,5	0,6	68	0,7
12	63,5	0,9	49,5	0,8	64,5	0,6
13	64,5	0,8	56	0,7	59,5	0,8
14	66	0,7	63	0,8	57,5	0,6
15	48	0,9	54,5	0,7	69	0,7
16	70	0,7	52,5	0,9	70	0,5
17	72,5	0,8	61	0,7	68,5	0,6
18	49	0,9	62,5	0,7	75	0,7
19	75	0,9	47,5	0,8	74,5	0,5
20	48	0,9	52,5	0,7	70,5	0,6
21	71,5	0,8	59	0,7	73	0,8
22	52,5	0,6	61,5	0,8	68,5	0,7
23	60	0,7	60	0,8	69	0,8
24	65,5	0,8	61,5	0,9	58,5	0,7
25	44,5	0,7	49	0,7	59	0,6
26	47,5	0,9	54,5	0,7	61,5	0,7
27	74,5	0,7	49,5	0,8	65,5	0,6
28	68	0,8	56,5	0,7	64,5	0,5
29	67,5	0,6	53	0,7	66,5	0,6
30	73,5	0,8	51	0,8	66	0,5
31	55	0,7	52	0,8	67,5	0,7
32	73,5	0,8	58,5	0,9	68,5	0,7
33	74,5	0,7	60,5	0,7	70	0,8
34	70	0,9	63	0,5	74,5	0,7
35	71,5	1	47	0,6	75	0,6
36	72	0,7	49	0,7	73,5	0,7
37	75	0,7	54,5	0,7	74,5	0,8
38	64	0,8	64	0,6	70	0,8
39	69,5	0,7	60,5	0,8	75	0,7
40	50	0,7	62	0,8	74,5	0,7
41	49,5	0,8	58,5	0,7	71,5	0,7
42	72	0,8	56,5	0,8	73	0,5
43	56,5	0,9	59,5	0,9	74,5	0,7
44	58,5	1	64	0,8	70,5	0,8
45	64,5	0,7	62,5	0,8	72	0,5
46	63	0,8	61	0,9	69,5	0,6
47	67	0,8	49,5	0,7	68,5	0,7
48	58,5	0,9	58,8	0,8	74,5	0,5
49	69	0,7	63	0,9	70,5	0,5
50	71,5	1	54	0,7	70	0,6
PROMEDIO	61,67	0,782	56,326	0,754	68,51	0,65
MODA	75,00	0,70	63,00	0,70	74,50	0,70
MEDIANA	64,25	0,80	56,75	0,75	69,75	0,70

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-15: Segunda toma de datos del *Methylobacterium symbioticum* M₂ (10⁹)

<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₂ (10 ⁹)						
NUMERO DE MUESTRAS	Pasto azul		Raygrass perenne		Raygrass Nacional	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	102,5	1	82	0,8	77	0,6
2	98,5	0,9	86	0,9	82	0,6
3	104	0,9	77	1	77	0,8
4	120	0,9	89,5	0,9	70,5	0,9
5	95,5	1	78,5	0,8	85	0,8
6	112	0,9	82,5	0,9	84,5	0,8
7	115,5	0,9	83	0,8	71,5	0,7
8	111,5	0,9	84,5	0,9	84,5	0,9
9	100	0,9	80	0,8	79	0,9
10	98,5	1	90	0,7	82,5	0,7
11	99,5	0,9	84,5	1	70,5	0,8
12	103,5	1	85	0,8	73	0,9
13	120,5	1	87,5	0,8	83,5	0,9
14	117	1	83	0,7	79	0,9
15	105	0,8	81	0,9	81,5	0,9
16	119,5	0,9	83,5	0,9	80	0,8
17	95,5	1	88,5	0,9	82,5	0,9
18	110,5	0,9	90	1	79,5	0,8
19	97,5	0,9	79,5	0,8	72,5	0,7
20	106,5	0,9	84,5	0,8	77,5	0,6
21	96,5	1	95	0,7	81,5	0,8
22	116,5	0,8	89,5	0,9	80	0,7
23	114,5	0,9	91	0,9	84,5	0,8
24	118,5	0,9	88,5	0,9	79	0,9
25	119,5	1	79	0,9	73,5	0,7
26	96,5	1	84,5	0,8	74	0,8
27	117	0,9	83,5	0,9	84,5	0,6
28	119,5	1	89	0,8	78,5	0,6
29	120	0,9	81,5	0,9	76	0,7
30	101,5	1	80	0,8	75,5	0,6
31	120,5	1	90,5	1	74,5	0,8
32	117,5	0,9	94,5	0,8	77	0,7
33	119,5	1	79,5	0,8	78	0,8
34	120	1	78	0,7	82	0,6
35	105,5	1	88,5	0,9	76,5	0,7
36	118	1	90	1	81,5	0,7
37	106,5	0,9	86,5	0,9	79,5	0,8
38	111,5	1	88,5	0,8	72,5	0,6
39	100	1	84	0,8	80	0,7
40	112,5	1	85,5	0,9	71,5	0,8
41	108	0,9	82,5	0,8	82,5	0,6
42	99,5	0,9	81,5	0,7	85	0,9
43	109	1	94,5	0,8	76,5	0,7
44	118,5	1	86,5	0,9	79,5	0,8
45	119	0,9	89	1	84	0,6
46	114	1	88	0,9	80,5	0,9
47	107	1	78,5	0,8	79	0,7
48	108,5	1	92,5	0,7	73,5	0,8
49	113,5	1	80	0,8	82	0,7
50	120,5	1	77,5	0,9	70	0,6
PROMEDIO	110,04	0,95	85,15	0,85	78,51	0,752
MODA	119,50	1,00	84,50	0,80	84,50	0,80
MEDIANA	111,50	1,00	84,50	0,85	79,00	0,80

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.5. Tipo de pastizal

4.5.1. Pasto azul

Tabla 4-16: Longitudes promedio del Pasto azul en las distintas parcelas.

Pasto azul (LONGITUD, cm)					
Toma \ Parcela	Parcela de control PC	<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₁ (10 ⁸)	<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₁ (10 ⁸)	<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₂ (10 ⁹)	<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₂ (10 ⁹)
1	4,21	4,15	4,15	4,20	4,13
2	25,56	38,99	43,02	48,26	63,43
3	39,35	47	53,36	61,67	110,04

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Al evaluar la longitud de la planta del *Dactylis glomerata* (Pasto Azul) a los 15 días se reportaron diferencias significativas entre parcelas por efecto de la utilización de cuatro fuentes de biofertilizantes frente a una parcela de control, obteniendo las mejores respuestas al aplicar M₂ (10⁹) con longitudes de 63,43 cm, seguidos de A₂ (10⁹) y M₁ (10⁸) que reportaron valores de 48,26 cm y 43,02 cm respectivamente, mientras tanto, las longitudes más bajas fueron registradas en A₁ (10⁸) y PC con valores de 38,99 cm y 25,56 cm respectivamente como se indica en la Ilustración 4-14 y Tabla 4-16.

Por otra parte, a los 20 días de la segunda aplicación de los biofertilizantes se reportaron las mejores respuestas al aplicar M₂ (10⁹) con longitudes de 110,04 cm, seguidos de A₂ (10⁹) y M₁ (10⁸) que reportaron valores de 61,67 cm y 53,36 cm respectivamente, mientras tanto que las longitudes más bajas fueron registradas en A₁ (10⁸) y PC con valores de 47 cm y 39,35 cm respectivamente como se indica en la Ilustración 4-14 y Tabla 4-16.

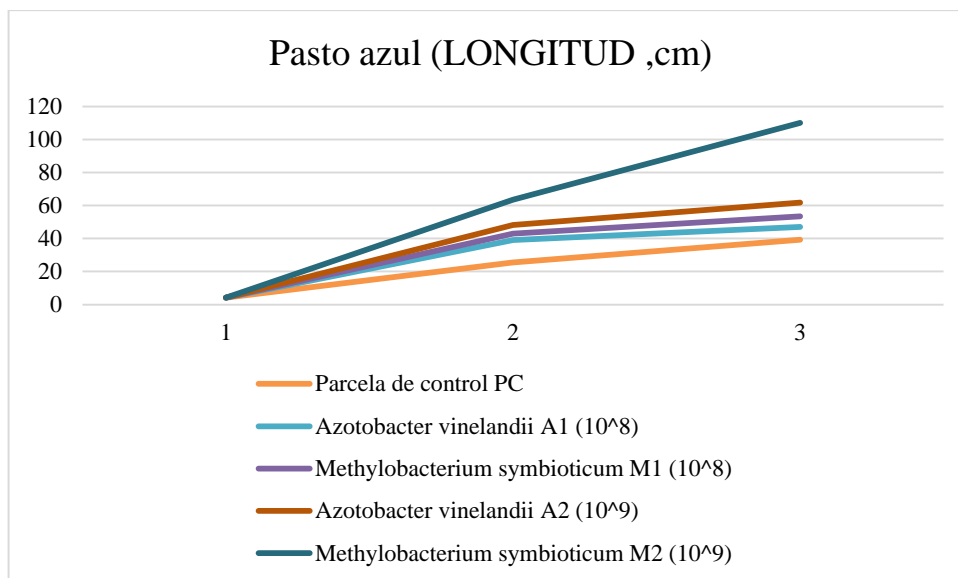


Ilustración 4-14: Longitudes promedio del Pasto azul en las distintas parcelas

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-17: Anchos promedio del Pasto azul en las distintas parcelas.

Pasto azul (ANCHO, cm)					
Parcela	Parcela de control PC	<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₁ (10 ⁸)	<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₁ (10 ⁸)	<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₂ (10 ⁹)	<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₂ (10 ⁹)
1	0,46	0,49	0,5	0,48	0,47
2	0,55	0,6	0,75	0,71	0,85
3	0,76	0,7	0,77	0,78	0,96

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Al evaluar el ancho de la planta del *Dactylis glomerata* (Pasto Azul) a los 15 días se reportaron diferencias significativas entre parcelas por efecto de la utilización de cuatro fuentes de biofertilizantes frente a una parcela de control, obteniendo las mejores respuestas al aplicar M₂ (10⁹) con un ancho de 0,85 cm, seguidos de M₁ (10⁸) y A₂ (10⁹) que reportaron valores de 0,75 cm y 0,71 cm respectivamente, mientras tanto que los anchos más bajos fueron registradas en A₁ (10⁸) y PC con valores de 0,6 cm y 0,55 cm respectivamente como se indica en la Ilustración 4-15 y Tabla 4-17.

Por otra parte, a los 20 días de la segunda aplicación de los biofertilizantes se reportaron las mejores respuestas al aplicar M₂ (10⁹) con un ancho de 0,96 cm, seguidos de A₂ (10⁹) y M₁ (10⁸) que reportaron valores de 0,78 cm y 0,77 cm respectivamente, mientras tanto que los anchos más bajos fueron registrados en PC y A₁ (10⁸) con valores de 0,76 cm y 0,7 cm respectivamente como se indica en la Ilustración 4-15 y Tabla 4-17.

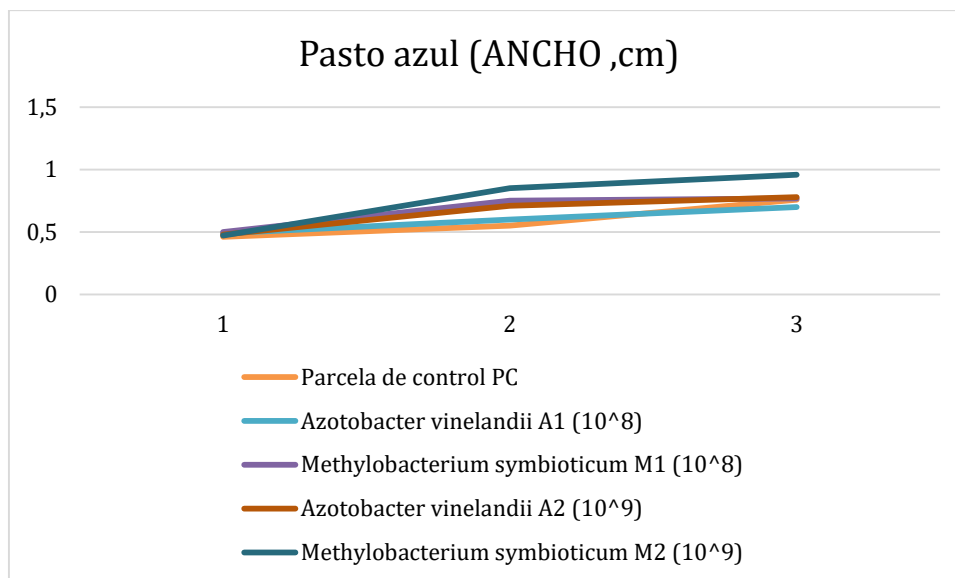


Ilustración 4-15: Anchos promedio del Pasto azul en las distintas parcelas

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.5.2. Raygrass perenne

Tabla 4-18: Longitudes promedio del Raygrass Perenne en las distintas parcelas.

Raygrass Perenne (LONGITUD, cm)					
Parcela Toma	Parcela de control PC	<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₁ (10 ⁸)	<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₁ (10 ⁸)	<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₂ (10 ⁹)	<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₂ (10 ⁹)
1	3,98	3,98	3,96	3,94	3,96
2	20,74	34,43	38,96	42,45	65,99
3	33,85	42,1	44,07	56,33	85,15

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Al evaluar la longitud de la planta del *Lolium perenne* (Raygrass Perenne) a los 15 días se reportaron diferencias significativas entre parcelas por efecto de la utilización de cuatro fuentes de biofertilizantes frente a una parcela de control, obteniendo las mejores respuestas al aplicar M₂ (10⁹) con longitud de 65,99 cm, seguidos de A₂ (10⁹) y M₁ (10⁸) que reportaron valores de 42,45 cm y 38,96 cm respectivamente, mientras tanto que las longitudes más bajas fueron registradas en A₁ (10⁸) y PC con valores de 34,43 cm y 20,74 cm respectivamente como se indica en el la Ilustración 4-16 y Tabla 4-18

Por otra parte, a los 20 días de la segunda aplicación de los biofertilizantes se reportaron las mejores respuestas al aplicar M₂ (10⁹) con longitudes de 85,15 cm, seguidos de A₂ (10⁹) y M₁ (10⁸) que reportaron valores de 56,33 cm y 44,07 cm respectivamente, mientras tanto que las

longitudes más bajas fueron registradas en A₁ (10⁸) y PC con valores de 42,1 cm y 33,85 cm respectivamente como se indica en el la Ilustración 4-16 y Tabla 4-18.

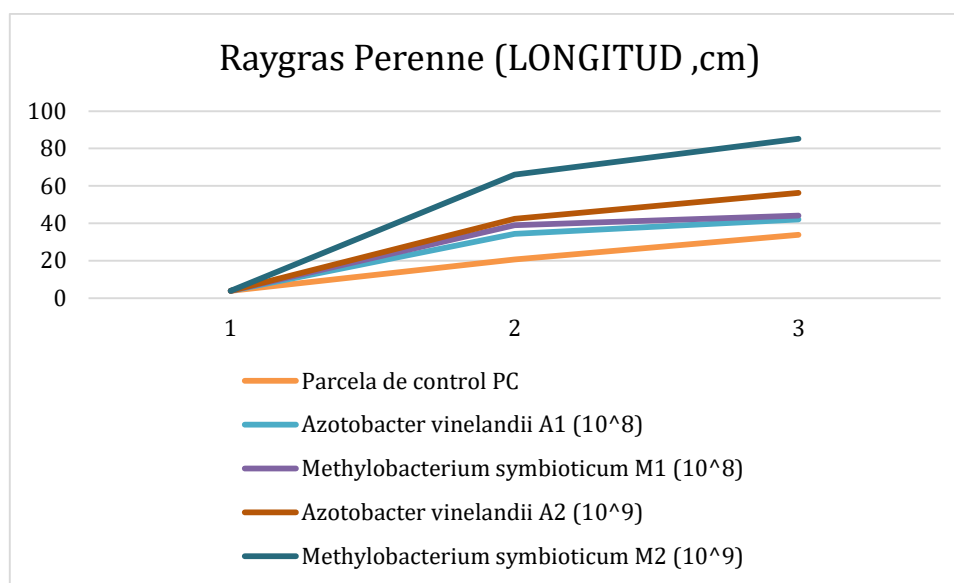


Ilustración 4-16: Longitudes promedio del Raygrass Perenne en las distintas parcelas

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-19: Anchos promedio del Raygrass Perenne en las distintas parcelas.

Raygrass Perenne (ANCHO, cm)					
Parcela	Parcela de control PC	<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₁ (10 ⁸)	<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₁ (10 ⁸)	<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₂ (10 ⁹)	<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₂ (10 ⁹)
1	0,31	0,31	0,3	0,31	0,34
2	0,39	0,53	0,57	0,65	0,85
3	0,56	0,66	0,75	0,75	0,85

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Al evaluar el ancho de la planta del *Dactylis glomerata* (Pasto Azul) a los 15 días se reportaron diferencias significativas entre parcelas por efecto de la utilización de cuatro fuentes de biofertilizantes frente a una parcela de control, obteniendo las mejores respuestas al aplicar M₂ (10⁹) con un ancho de 0,85 cm, seguidos de A₂ (10⁹) y M₁ (10⁸) que reportaron valores de 0,65 cm y 0,57 cm respectivamente, mientras tanto que los anchos más bajos fueron registradas en A₁ (10⁸) y PC con valores de 0,53 cm y 0,39 cm respectivamente como se indica en la Ilustración 4-17 y Tabla 4-19.

Por otra parte, a los 20 días de la segunda aplicación de los biofertilizantes se reportaron las mejores respuestas al aplicar M₂ (10⁹) con un ancho de 0,85 cm, seguidos de A₂ (10⁹) y M₁ (10⁸) que reportaron 0,75 cm, mientras tanto que los anchos más bajos fueron registrados en A₁ (10⁸) y

PC con valores de 0,66 cm y 0,56 cm respectivamente como se indica en la Ilustración 4-17 y Tabla 4-19.

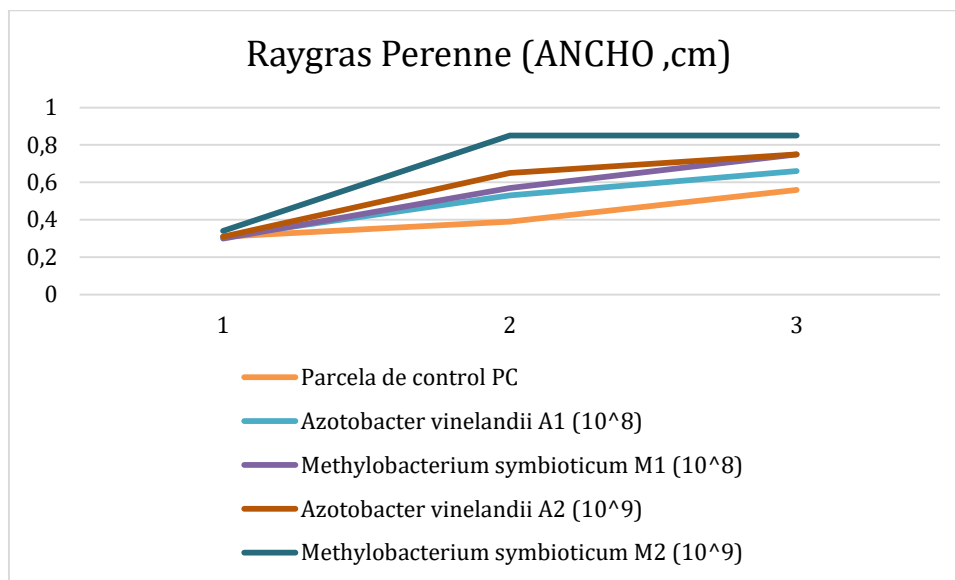


Ilustración 4-17: Anchos promedio del Raygrass Perenne en las distintas parcelas

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.5.3. Raygrass nacional

Tabla 4-20: Longitudes promedio del Raygrass Nacional en las distintas parcelas.

Raygrass Nacional (LONGITUD, cm)					
Toma \ Parcela	Parcela de control PC	<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₁ (10 ⁸)	<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₁ (10 ⁸)	<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₂ (10 ⁹)	<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₂ (10 ⁹)
1	4,41	4,9	4,84	4,82	4,85
2	23,04	48,34	40,97	60,06	65,44
3	40,01	50,87	53,1	68,51	78,51

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Al evaluar la longitud de la planta del *Lolium multiflorum* (Raygrass Nacional) a los 15 días se reportaron diferencias significativas entre parcelas por efecto de la utilización de cuatro fuentes de biofertilizantes frente a una parcela de control, obteniendo las mejores respuestas al aplicar M₂ (10⁹) con longitudes de 65,44 cm, seguidos de A₂ (10⁹) y A₁ (10⁸) que reportaron valores de 60,06 cm y 48,34 cm respectivamente, mientras tanto que las longitudes más bajas fueron registradas en M₁ (10⁸) y PC con valores de 40,97 cm y 23,04 cm respectivamente como se indica en la Ilustración 4-18 y Tabla 4-20.

Por otra parte, a los 20 días de la segunda aplicación de los biofertilizantes se reportaron las mejores respuestas al aplicar M₂ (10⁹) con longitudes de 78,51 cm, seguidos de A₂ (10⁹) y M₁

(10^8) que reportaron valores de 68,51 cm y 53,51 cm respectivamente, mientras tanto que las longitudes más bajas fueron registradas en A₁ (10^8) y PC con valores de 50,87 cm y 40,01 cm respectivamente como se indica en la Ilustración 4-18 y Tabla 4-20.

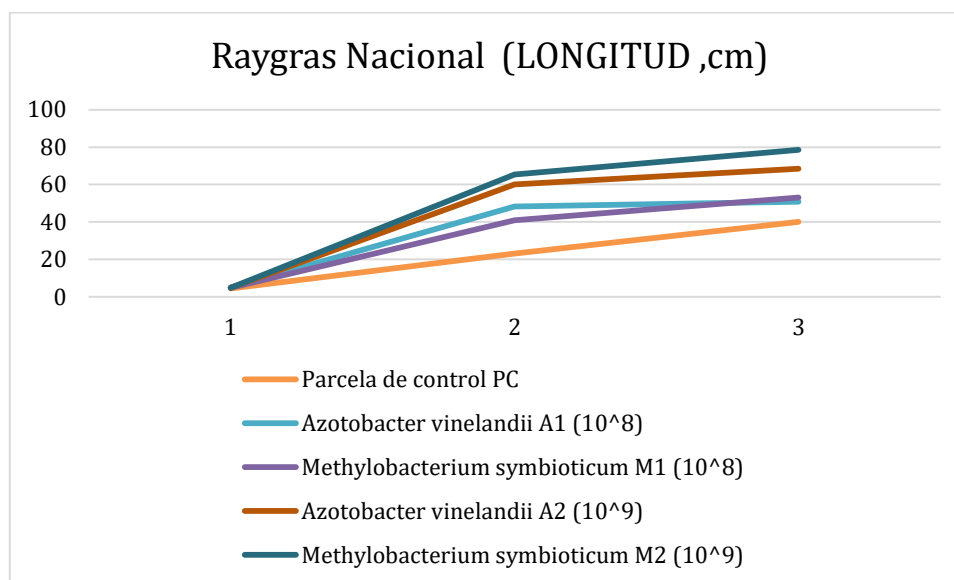


Ilustración 4-18: Longitudes promedio del Raygrass Nacional en las distintas parcelas

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Tabla 4-21: Anchos promedio del Raygrass Nacional en las distintas parcelas.

Raygrass Nacional (ANCHO, cm)					
Toma \ Parcela	Parcela de control PC	<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₁ (10^8)	<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₁ (10^8)	<i>Azotobacter vinelandii</i> A ₂ (10^9)	<i>Methylobacterium symbioticum</i> M ₂ (10^9)
1	0,4	0,4	0,39	0,39	0,39
2	0,46	0,5	0,5	0,62	0,67
3	0,55	0,63	0,67	0,65	0,75

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Al evaluar el ancho de la planta del *Lolium multiflorum* (Raygrass Nacional) a los 15 días se reportaron diferencias significativas entre parcelas por efecto de la utilización de cuatro fuentes de biofertilizantes frente a una parcela de control, obteniendo las mejores respuestas al aplicar M₂ (10^9) con un ancho de 0,67 cm, seguido de A₂ (10^9) 0,62 cm, mientras que M₁ (10^8) y A₁ (10^8) con un valor de 0,5 cm y el ancho más bajo fue registradas en PC con 0,46 cm como se indica en la Ilustración 4-19 y Tabla 4-21.

Por otra parte, a los 20 días de la segunda aplicación de los biofertilizantes se reportaron las mejores respuestas al aplicar M₂ (10^9) con un ancho de 0,75 cm, seguidos de M₁ (10^8) y A₂ (10^9) y que reportaron 0,67 cm y 0,65 respectivamente, mientras tanto los anchos más bajos fueron

registrados en A₁ (10⁸) y PC con valores de 0,63 cm y 0,55 cm respectivamente como se indica en la Ilustración 4-19 y Tabla 4-21.

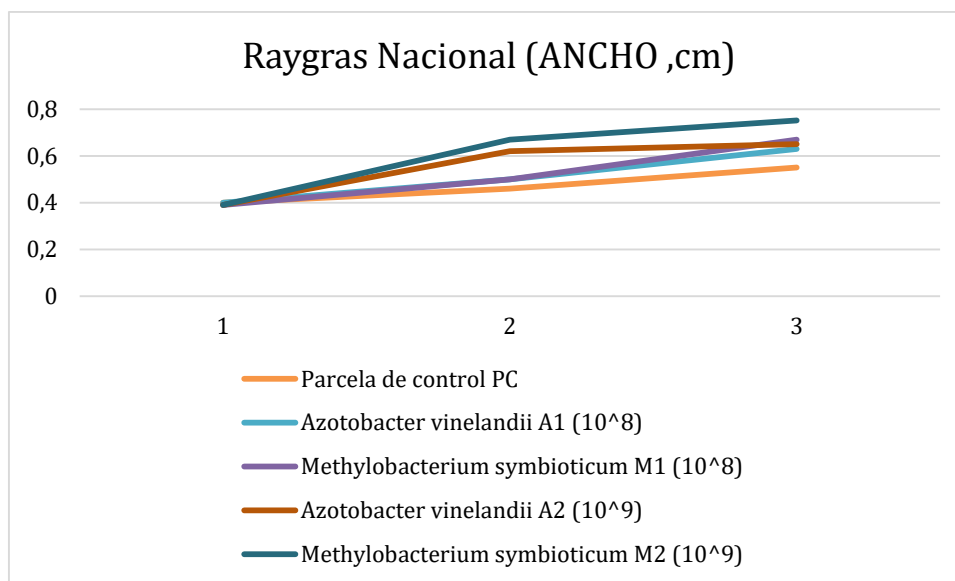


Ilustración 4-19: Anchos promedio del Raygrass Nacional en las distintas parcelas.

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

4.6. Parámetros fisicoquímicos del suelo

Tabla 4-22: Parámetros fisicoquímicos del suelo

Identificación de muestra	pH	% M. O.	% N	REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELO									
				mg/kg						cmol/kg			CE dS/m
				P	Fe	Mn	Cu	Zn	S	K	Ca	Mg	
Inicial	7,23 PN	2,78 A	0,14 B	51,9 A	199,5 A	11,27 M	10,66 A	6,67 M	26,51 A	0,98 A	11,36 A	4,19 A	0,213 NS
Final	7,62 LA	7,18 A	0,36 A	228,6 A	159,7 A	11,46 M	4,36 A	10,78 A	16,34 M	0,58 A	13,87 A	3,36 A	0,314 NS

pH

PN= Prácticamente neutro

LA= Ligeramente Alcalino

Elementos

B= Bajo

M= Medio

A= Alto

Conductibilidad Eléctrica (CE)

NS= No Salino

Realizado por: López, J.; Velasco, D. 2023

Al realizar análisis del suelo previo al inicio de la investigación de los biofertilizantes, se reportó un pH neutro (7,23) y CE no salina (0,213 dS/m), con un contenido alto de materia orgánica (2,78), con un contenido bajo de nitrógeno (0,14%), potasio (51,9), hierro (199,5), cobre (10,66) y azufre (26,51 mg/kg) con un contenido alto, un nivel medio de manganeso (11,27) y zinc (6,67 mg/kg) y con un contenido alto de potasio (0,98), calcio (11,36) y Magnesio (4,19 cmol/kg). Al finalizar la investigación, se pudo identificar que estas variables mejoraron al colocar los

biofertilizantes, un pH ligeramente alcalino (7,62), con un contenido mucho más alto de materia orgánica (7,18%) y nitrógeno (0,36%), potasio (228,6), hierro (159,7), cobre (4,36) y zinc (10,78 mg/kg) con un contenido alto, un nivel medio de manganeso (11,46) y azufre (16,34 mg/kg) y con un contenido alto de potasio (0,58), calcio (13,87) y Magnesio (3,36 cmol/kg).

4.7. Evaluación del potencial del biofertilizante

Se puede apreciar en los datos obtenidos que hay mayor longitud del Pasto azul, Raygrass perenne y Raygrass Nacional al aplicar *Methylobacterium symbioticum* M₂ (10⁹) que tiene su fundamento por lo expuesto por Vadivukkarasi y Bhai (2020, p. 13), donde menciona que el género *Methylobacterium* aplicado de manera foliar mostró un aumento significativo en varios parámetros de cultivo de jengibre, incluyendo el número, largo, ancho de hojas y productividad en comparación con la parcela de control. Además, Chanratana et al. 2018 citados en Aparecida (2022, p. 47-48), informaron que el crecimiento de las plantas se produjo también por la producción de fitohormonas como las citoquininas y auxinas que contenía el tratamiento, mejorando la capacidad fotosintética. Y en el estudio de Aparecida (2022, p. 49) la fertilización nitrogenada realizada en lechuga se pudo observar que los vasos que recibieron las dosis más altas de nitrógeno (D3 y D4) tuvieron la mayor producción de MS (g planta⁻¹) en comparación con el tratamiento D2, que obtuvo valores muy cercanos a los de la modalidad presencial (D1). Por lo que corrobora al resultado obtenido, de tener mejores resultados al aplicar las dosis más altas de *Methylobacterium symbioticum*.

Por otra parte, el biofertilizante a base de *Azotobacter vinelandii* tiene buenos resultados en comparación a la Parcela de control, pero influyó de mejor manera en el pasto *Lolium multiflorum* (Raygrass Nacional). Estudios realizados por Abril et al. (2017, p. 33), sobre el crecimiento del pasto *Megathyrus maximus Jacq* (Hierba de Guinea) con la aplicación de bacterias del género *Bacillus* y *Azoctobacter*, encontraron que las cepas *Bacillus spp* favorece mejor al crecimiento de las raíces y longitud de planta. Y en el estudio de Ariza et al. (2020, p. 92), que manifiesta que los valores de longitud de las plantas de *Brachiaria decumbens* (Pasto Amargo) reflejan un aumento progresivo de la longitud con el tiempo y consiguiéndose un valor numérico mayor para el tratamiento en el que se añadió el inóculo microorganismo AshAssm4 caracterizado como *Azotobacter vinelandii*. Estos resultados demuestran la selectividad de los microorganismos hacia varias especies vegetales (Pincay et al., 2020, p. 29).

Los resultados de las variables morfológicas del *Dactylis glomerata* (Pasto azul) presentados en esta investigación son superiores a los reportados por Molina (2010, p. 36), que menciona que al evaluar *Dactylis glomerata* (Pasto azul) a los 30 días alcanzó una longitud de 24,29 cm con la

aplicación del vermicompost y Guamán (2020, p. 28) alcanzó una longitud de 26,23 cm que correspondía a la utilización de humus. En cambio, en esta investigación a los 15 días de la primera aplicación de biofertilizantes la longitud oscilaba de 25,56 cm en la parcela de control hasta 63,43 cm en la parcela de *Methylobacterium symbioticum* M₂ (10⁹). A su vez Hidalgo (2010, pp. 43-46) indica que al evaluar la longitud de la planta *Lolium perenne* (Raygrass perenne) a los 40 días la longitud fue de 39,27 cm que se obtuvo con la utilización de diferentes niveles de Vermicompost, para finalmente ubicar la menor respuesta en las parcelas del grupo control con una longitud de planta de 27,38 cm. Por otra parte, el estudio de Irigoyen (2020, p. 36) en Huaraz perteneciente a la sierra peruana, la longitud de *Lolium perenne* (Raygrass perenne) osciló de 61 a 78 cm con tres niveles de abono foliar biol a los 42 días de su aplicación. Según Caiza (2020, p. 14), los tallos alcanzan longitudes de 30-70 cm, sus hojas de 2 a 6 mm de ancho, y los datos reportados en la presente investigación se encuentran dentro de estos valores, siendo 85,15 su mayor longitud y 0,85 su mayor ancho. Los resultados expresados de la longitud a los 35 días del *Lolium multiflorum* (Raygrass nacional) con dos aplicaciones de biofertilizante *Methylobacterium symbioticum* M₂ (10⁹) en la comunidad de Llio, son similares al ser comparados con los registros de Chuqui (2020, p. 40), la longitud de planta alcanzada con el humus fue de 80,60 cm en 30 días y Viera (2021, p. 15), destaca el tratamiento T4 (gallinaza a 20 000 kg/ha), obteniendo 64,38 cm de longitud de planta similar al resultado obtenido al aplicar *Azotobacter vinelandii* A₂ (10⁹) que dio una longitud de 68, 51 cm . Estos resultados permiten concluir, que existe un buen potencial de los biofertilizantes aplicados en esta investigación.

Los resultados obtenidos del análisis inicial y final del suelo guardan similitud a los reportados por Lok y Suárez, (2014, p. 402), en su artículo “Efectos de la aplicación de fertilizantes en la producción de biomasa de la *Moringa Oleífera* y en algunos indicadores del suelo durante el establecimiento”, los resultados indicaron que el N y P contribuyen de manera positiva en cualquier combinación de fertilizantes, pero a diferencia de estas el Ca, Mg y pH dependen del contenido del material orgánico existente, en ese sentido, los fertilizantes orgánicos pueden tener el mejor efecto. En pastos la materia orgánica se considera alta si es mayor al 4% y bajo cuando es inferior al 2.9 % (Bonilla, 2013, p. 20), en la investigación a los 35 días después de la aplicación de los biofertilizantes aumentó de 2,78% a 7,18%, por lo que se considera un tratamiento eficiente para este tipo de cultivo y para mejorar la calidad del suelo. Por otra parte, el pH tiene una relación directamente proporcional entre los contenidos de los macronutrientes (Ca²⁺ y Mg²⁺), de tal modo que al aumentar o disminuir alguno de estos, también aumente o disminuya, respectivamente (Lok y Suárez, 2014, p. 402). Encontrando un comportamiento similar al obtenido en este trabajo y adjudicando el incremento del pH al aumento de los contenidos de Ca y Mg. Estos resultados permiten concluir, que los biofertilizantes tuvieron mayor dominio sobre las propiedades físicas

químicas del suelo e influyeron en el crecimiento de los pastos en el periodo de las dos aplicaciones comprendido en 35 días.

.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- ✓ Se elaboró cuatro biofertilizantes, que contienen: 100 gramos de sustrato inoculado, 10 litros agua destilada, 1 litro de melaza, 15 litros de té de banano como fuente de potasio, 25 gramos de Auxinas y 5 ml de Giberelinas. Y se diferenció cada uno porque se añadió 10 y 15 litros de diferente sustrato activo microbiano para 1: *Azotobacter vinelandii* A₁ (10⁸UFC/mL), 2: *Methylobacterium symbioticum* M₁ (10⁸UFC/mL), 3: *Azotobacter vinelandii* A₂ (10⁹UFC/mL) y 4: *Methylobacterium symbioticum* M₂ (10⁹UFC/mL)
- ✓ Los biofertilizantes basados en *Azotobacter vinelandii* y *Methylobacterium symbioticum*, demostraron ser efectivos en el crecimiento de tres especies de pasto que se evaluaron a los 15 y 20 días de la aplicación. La aplicación de *Methylobacterium symbioticum* (10⁹UFC/mL) mejoró el crecimiento en longitud y ancho de las hojas principalmente de la especie de pasto azul con 110,04 cm en longitud y 0,96cm de ancho.
- ✓ Los biofertilizantes utilizados junto con las especies vegetales influyeron en los parámetros fisicoquímicos del suelo como es: pH, materia orgánica, nitrógeno, fósforo, calcio y zinc por lo que se presume una mejoría en la calidad del suelo y contribuyeron al desarrollo de los pastos cultivados.

5.2. Recomendaciones

- ✓ Se recomienda continuar estudios relacionados con la aplicación de biofertilizantes en el cultivo de las tres variedades de pasto y determinar el efecto que tienen en cada parcela con un análisis de calidad de suelo.
- ✓ Se recomienda que durante la aplicación del biofertilizante tomar en cuenta las condiciones climáticas como el periodo de invierno o verano para apreciar que el suelo este húmedo ya que, a mayor humedad mayor absorción de nutrientes y por ende los microorganismos se adhieren con mayor facilidad.

- ✓ Se recomienda la elaboración de los biofertilizantes en estado granulado, con el objetivo de reducir las veces de aplicación, conservar la mayor concentración y preservar los microorganismos.
- ✓ Se recomienda realizar un análisis microbiológico antes y después de la aplicación de los biofertilizantes, a fin de detallar la concentración de microorganismos presentes ya sean benéficos o patógenos.
- ✓ Se recomienda evaluar los biofertilizantes en otros cultivos a diferentes concentraciones e incorporar más aditivos orgánicos para potencializar su formulación.
- ✓ Se recomienda en futuras investigaciones realizar una valoración económica comparada con fertilizantes químicos utilizados comúnmente.

BIBLIOGRAFÍA

ABRIL, J.L. et al. "Efecto de la inoculación con bacterias del género *Bacillus* sobre el crecimiento de *Megathyrus maximus* Jacq, en condiciones de estrés hídrico". *Revista agronómica del noroeste argentino* [en línea], vol. 37, no. 1, (2017), pp. 25-37. ISSN 2314-369X. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S2314-369X2017000100003&script=sci_arttext&tlng=en.

ACUERDO MINISTERIAL N° 28. SUSTITÚYESE EL LIBRO VI DEL TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACIÓN SECUNDARIA. 2015. Quito Ecuador: s.n. 2015.

AGROPAGES. "Produtos biológicos registrados / lançados em 2020 - Tecnologias patenteadas que fortalecem a posição de mercado". [en línea], (2021). Disponible en: <http://news.agropages.com/News/NewsDetail-- -37967.htm>.

AGUADO, Gerardo. *Introducción al Uso y Manejo de los Biofertilizantes en la Agricultura* [en línea]. Celaya, Guanajuato, México: INIFAP/SAGARPA. 2012. Disponible en: <file:///C:/Users/W7/Downloads/Libro-biofertilizantes.pdf>.

ALCARRAZ, Mario et al. "Azotobacter y Rhizobium como biofertilizantes naturales en semillas y plantas de frijol caupí". *Avances* [en línea], vol. 22, no. 2, (2020), pp. 239-251. DOI ISSN 1562-3297. Disponible en: <http://www.ciget.pinar.cu/ojs/index.php/publicaciones/article/view/538/1610> Recibido:

APARECIDA, Juliana. *Efeito De Microrganismos Fixadores De Nitrogênio Que Habitam a Filosfera Na Nutrição Da Alface* [en línea]. S.l.: s.n. 2022. Disponible en: [https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/25262/1/Juliana Marchetti.pdf](https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/25262/1/Juliana%20Marchetti.pdf).

ARIZA, Sebastián et al. "Evaluación de fijadores biológicos de nitrógeno libres sobre el crecimiento de gramíneas en suelo degradado". *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 22, no. 1, (2020), pp. 87-97. ISSN 0123-3475. DOI 10.15446/rev.colomb.biote.v22n1.78019.

ARMENTA, Adolfo et al. "BIOFERTILIZANTES EN EL DESARROLLO AGRÍCOLA DE MÉXICO". *Ra Ximhai*, vol. 6, no. 1, (2010), pp. 51-56.

AYALA, Felipe et al. "Vermicompost, synthetic auxins, and greenhouse production of gray squash Cucurbita pepo L.". *Terra Latinoamericana*, vol. 38, no. 2, (2020), pp. 257-265. ISSN 23958030. DOI 10.28940/terra.v38i2.620.

BAPTISTE, Jean et al. "Fine-Scale Adaptations to Environmental Variation and Growth Strategies Drive Phyllosphere Methylobacterium Diversity". *AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY*, vol. 13, no. 1, (2022), pp. 1-17.

BAUTISTA, Francisco et al. *Técnicas de muestreo para manejadores de recursos naturales*. Segunda ed. México: Instituto de geografía Universidad Nacional Autónoma de México. 2011. ISBN 9786070221279.

BONIFACIO, Liz. *EFFECTO DE DOS TIPOS DE ABONOS ORGÁNICOS SOBRE LAS PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS EN SUELO DEGRADADO Y SU INFLUENCIA EN EL CRECIMIENTO DEL PACAE (Inga feuillei) EN SUPTTE SAN JORGE – LEONCIO PRADO, HUANUCO – 2019 - 2020* [en línea]. S.l.: s.n. 2021. Disponible en: http://repositorio.udh.edu.pe/bitstream/handle/123456789/238/uzuriaga_cespedes_ever_tesis_maestria_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

BONILLA, Angel. "Comportamiento agronomico de seis variedades de reygrass (*Lolium multiflorum*- *Lolium perenne*) con una fertilizacion quimica en el canton Salcedo". S.l.: UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO. 2013.

CAIZA, Brayán. "ESTUDIO DE ADAPTACIÓN DE SIETE PASTOS Y TRES MEZCLAS FORRAJERAS CON LA UTILIZACIÓN DE LACTOFERMENTOS EN EL BARRIO SAN LUIS DE YACUPUNGO PARROQUIA PASTOCALLE CANTÓN LATACUNGA PROVINCIA DE COTOPAXI. 2019-2020" [en línea]. S.l.: s.n. 2020. Disponible en: <http://journal.um-surabaya.ac.id/index.php/JKM/article/view/2203>.

CAMELO, Mauricio. *Desarrollo tecnológico de un biofertilizante con base en la bacteria diazotrófica Azotobacter chroococcum*. [en línea]. S.l.: UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA Desarrollo. 2010. Disponible en: www.novaPDF.com.

CASTRO, Leida & GONZÁLEZ, José. "Factores relacionados con la activación líquida de microorganismos de montaña (mm) Agronomía". *Agronomía Costarricense*, vol. 45, no. 1, (2021), pp. 81-92.

CHAMPE, Pamela et al. *Microbiología* [en línea]. 2ª Edición. S.l.: Wolters Kluwer Health. 2008. Disponible en: <https://elibro.net/es/ereader/esepoch/125446?page=4>.

CHAPIN, F. et al. "Principles of terrestrial ecosystem ecology". *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*, (2012), pp. 63-89. DOI 10.1007/978-1-4419-9504-9.

CHÁVEZ, Ismael et al. "Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agrobiotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México". *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 11, no. 6, (2020), pp. 1423-1436. ISSN 2007-0934. DOI 10.29312/remexca.v11i6.2492.

CHUQUI, Olga. *ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO “ UTILIZACIÓN DE DOS FUENTES ORGÁNICAS EN LA PRODUCCIÓN DE Lolium multiflorum (RYE GRASS ANNUAL*. S.l.: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. 2020.

COBOS, Fernanda & NARVÁEZ, Daniela. *Fenología y producción de Rye grass (Lolium multiflorum) bajo sistema de labranza convencional y alternativa en la Granja de Irquis* [en línea]. S.l.: UNIVERSIDAD DE CUENCA RESUMEN. 2018. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28826/3/Trabajo de Titulación.pdf.pdf>.

CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR. CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR. S.l.: s.n. [sin fecha].

CUESTA, Angélica et al. "Estrategias de cultivo en la producción de alginatos por *Azotobacter vinelandii*". *Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Minas*, ([sin fecha]), pp. 1-8.

DEPARTAMENTO AGRONOMÍA INFOAGRO. "«Azotobacter» y su aplicación en agricultura". *infoAgro.com* [en línea]. 2022. [Consulta: 28 julio 2022]. Disponible en: <https://www.infoagro.com/documentos/imprimir.asp?iddoc=362&idcap=1>.

ECHEVERRI, Julián et al. "Comparative evaluation of the productive and agronomic parameters of the kikuyo *Pennisetum clandestinum* grass under two fertilization methods". *Revista Lasallista de Investigación* [en línea], vol. 7, no. 2, (2010), pp. 94-100. ISSN 1794-4449. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-44492010000200010&lng=en&nrm=iso&tlng=es.

EQUIZA, Itxaso. *Optimización de nutrición nitrogenada en hortalizas de hoja crecidas en sistema de hidroponía pura NGS®: Uso de inoculantes microbianos.* S.l.: Universidad Pública de Navarra. 2021.

ETCHELET, María Inés. *Aislamiento y caracterización de microorganismos extremófilos de reactores de producción de hidrógeno* María Inés Etchelet Agradecimientos. S.l.: s.n. 2019.

FAO. "Praderas, pastizales y cultivos forrajeros". *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación* [en línea]. 2018. Disponible en: <https://www.fao.org/agriculture/crops/mapa-tematica-del-sitio/theme/spi/praderas-pastizales-y-cultivos-forrajeros/praderas-pastizales-y-cultivos-forrajeros/es/>.

FAO. "Activación de Microorganismos". *Centro Regional de Investigación e Innovación para la Sostenibilidad y Los Territorios Rurales (CERES) de la Agricultura.* 2020.

GALLEGO, J. et al. "Caracterización de una metilobacteria aislada de la superficie del grano de arroz". *Libro de resúmenes de II Iberoamerican conference On Beneficial Plant-Microorganism-Environment Interactions*, vol. Sesión IV, no. August 2014, (2013), pp. Pag 285 y 286. DOI 10.13140/2.1.3698.1767.

GARCÍA, Cipriano & RODRÍGUEZ, Guadalupe. "PROBLEMÁTICA Y RIESGO AMBIENTAL POR EL USO DE PLAGUICIDAS EN SINALOA". *Ra Ximhai*, vol. 8, no. 3, (2012), pp. 1-12. ISSN 4612517601.

GAVILÁNEZ, Freddy. *Diseños y análisis estadísticos para experimentos agrícolas.* Madrid: DIAZ DE SANTOS. 2021. ISBN 978-84-9052-350-6.

GIRAUD, Michel & LASCANO, Lucas. "Fertilizantes Orgánicos: un fortalecimiento de la Agroecología". *Dirección General de Escuelas*, (2020), pp. 1-16.

GONZÁLEZ, Paco. "Consecuencias ambientales de la aplicación de fertilizantes Autor Resumen". *Biblioteca del Congreso Nacional de Chile* [en línea], (2019), pp. 1-5. Disponible en: <http://bcn.cl/28ziq>.

GUALAVISÍ, Aurora. *Determinación del valor nutritivo del ray grass perenne (Lolium perenne) destinado a la alimentación del ganado vacuno mediante la correlación entre grados Brix y digestibilidad Cayambe - Ecuador 2013* [en línea]. S.l.: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA

SALESIANA SEDE QUITO CARRERA: 2014. Disponible en:
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7074/1/UPS-ST001236.pdf>.

GUAMÁN, Oscar. "EVALUACIÓN PRODUCTIVA DE *Dactylis glomerata* (PASTO AZUL) MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE TRES FUENTES ORGÁNICAS EN UN SISTEMA SILVOPASTORIL". S.l.: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. 2020.

HIDALGO, Pedro. *Evaluación del comportamiento productivo de una mezcla forrajera de Ray grass, Pasto azul y Trébol blanco mediante la utilización de diferentes niveles de Vermicompost* [en línea]. S.l.: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. 2010. Disponible en: <http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/1256/1/17T0964.pdf>.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS. "Boletín Técnico «Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua, 2020»". *Boletín Técnico*. S.l.: 2021.

IRIGOYEN, Jairo. *Rendimiento de ray gras (lolium perenne) con tres niveles de abono foliar biol y dos épocas de aplicación en el distrito de independencia-huaraz* [en línea]. S.l.: s.n. 2020. Disponible en: <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/4414>.

KLOEPPER, J.w. et al. "Effects of Rhizosphere Colonization by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Potato Plant Development and Yield". *PHYTOPATHOLOGY*, no. 1078-1082, (1980), pp. 1-33. ISSN 00652296.

KONEMAN, Elmer & ALLEN, Stephen. *Diagnostico Microbiologico Texto Y Atlas en color* [en línea]. 6a Edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana. 2006. Disponible en: EDITORIAL MEDICA panamericana.

LEÓN, Ramiro et al. *Pastos y forrajes del Ecuador*. S.l.: s.n. 2018. ISBN 9789978103180.

LOK, Sandra & SUÁREZ, Y. "Efecto de la aplicación de fertilizantes en la producción de biomasa de Moringa oleifera y en algunos indicadores del suelo durante el establecimiento". *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* [en línea], vol. 48, no. 4, (2014), pp. 399-403. ISSN 0034-7485. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193033033015.pdf>.

LORSA. "Registro Oficial N° 583/2009. Ley Orgánica del Régimen de la Soberanía Alimentaria". *Siteal* [en línea], (2009), pp. 1-14. Disponible en: https://siteal.iiep.unesco.org/sites/default/files/sit_accion_files/siteal_ecuador_0228.pdf.

MENDOZA, Sergio et al. "Ahijamiento de *Lolium perenne* L. asociado con *Dactylis glomerata* L. y *Trifolium repens* L.". *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, vol. 6, no. 16, (2019), pp. 57-64. ISSN 2007-9028. DOI 10.19136/era.a6n16.1392.

MOLINA, Carlos. *EVALUACIÓN DE DIFERENTES ABONOS ORGÁNICOS EN LA PRODUCCIÓN DE FORRAJE DE UNA MEZCLA FORRAJERA DE *Medicago sativa* (Alfalfa) Y *Dactylis glomerata* (Pasto azul), EN EL CANTON MOCHA PARROQUIA LA MATRIZ* [en línea]. S.l.: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. 2010. Disponible en: <http://epa.sagepub.com/content/15/2/129.short%0Ahttp://joi.jlc.jst.go.jp/JST.Journalarchive/materia1994/46.171?from=CrossRef>.

NEME, E. & MONSERRAT, S. "Evaluación del comportamiento de bacterias potencialmente probióticas en medio de cultivo suplementado con pectina cítrica". *Revista agronómica del noroeste argentino* [en línea], vol. 40, no. 1, (2020), pp. 23-30. ISSN 2314-369X. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2314-369X2020000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

NODA, Yolai. "Las Micorrizas: Una alternativa de fertilización ecológica en los pastos.". *Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"*, (2009), pp. 1-10.

OCHOA, Diana & VALAREZO, José. "Caracterización y análisis de rentabilidad de los sistemas de producción ganaderos presentes en el cantón Yantzaza, Ecuador". *Revista Cedamaz* [en línea], vol. 4, no. 1, (2014), pp. 76-85. Disponible en: <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/cedamaz/article/view/240>.

PALACIOS, Edwin. "Pastos y forrajes tropicales introducidos y experimentados en el alto de mayo". *Agrovet* [en línea]. 2014. [Consulta: 29 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.engormix.com/ganaderia-%0Acarne/articulos/pastos-forrajes-tropicales-introducidos-t30925.htm>.

PDOT. "PROCESO DE ACTUALIZACION DEL PLAN DE DESARROLLO Y ORDENAMIENTO TERRITORIAL DE LA PARROQUIA SAN ANDRÉS". , (2019), pp. 1-140.

PINCAY, R. et al. "Inoculantes Bacterianos Del Género *Azotobacter* En La Asociación Del Pasto *Andropogon Gayanus* Con *Clitoria Ternatea* Y Kudzu (*Pueraria Phaseoloides*)". [en línea], (2020), pp. 27-35. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/347507318_INOCULANTES_BACTERIANOS_DE_L_GENERO_AZOTOBACTER_EN_LA_ASOCIACION_DEL_PASTO_ANDROPOGON_GAYANUS_CON_CLITORIA_TERNATEA_Y_KUDZU_PUERARIA_PHASEOLOIDES.

PINCHE, E. & RICSE, M. *Evaluación de la influencia de fertilizantes químicos en la calidad de suelos agrícolas* [en línea]. S.l.: s.n. 2020. Disponible en: https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12840/2038/Gloria_Trabajo_Academico_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

QUILLIGANA, Sandra. *COMPARACIÓN PRODUCTIVA DE TRES CULTIVARES DE RYEGRASS PERENNE (Lolium perenne) EN TÉRMINOS DE PRODUCCIÓN Y CALIDAD, TAMBILLO- ECUADOR 2015* [en línea]. S.l.: UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR FACULTAD. 2016. Disponible en: file:///Users/andreataquez/Downloads/guia-plan-de-mejora-institucional.pdf%0Ahttp://salud.tabasco.gob.mx/content/revista%0Ahttp://www.revistaalad.com/pdfs/Guias_ALAD_11_Nov_2013.pdf%0Ahttp://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v66n3.60060.%0Ahttp://www.cenetec.

RAMÍREZ, J. et al. "El clima y su influencia en la producción de los pastos". *REDVET Revista electrónica de veterinaria* [en línea], vol. 18, no. 6, (2017), pp. 1-12. ISSN 1695-7504. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060617/061701.pdf>.

ROJAS, Natalia. *EVALUACIÓN DE DOS RESIDUOS PECUARIOS EN LA ELABORACION DE UN BIOFERTILIZANTE EMPLEANDO FERMENTACIÓN ANAEROBIA*. S.l.: UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA. 2020.

ROSSO, Alberto. "La economía de los forrajes y su utilización estratégica". *Sitio Argentino de Producción Animal* [en línea], (2003), pp. 5. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/23-economia_forrajes.pdf.

SAGARDOY, Marcelo & MANDOLESI, María. *Biología del Suelo*. S.l.: s.n. 2004. ISBN 978-987-9281-97-0.

SALAS, Mary. *Biogeografía de aislamientos del género bacteriano Methylobacterium , asociados a las cactáceas Cylindropuntia spp .* S.l.: Benemérita Universidad Autónoma De Puebla. 2020.

SÁNCHEZ, D. et al. "EVALUACIÓN DE *Azotobacter vinelandii* Y *Pseudomonas denitrificans* EN *Dioscorea rotundata* EN CONDICIONES DE CAMPO". *FAVE*, vol. 17, no. 1, (2018), pp. 35-43.

SÁNCHEZ, José. *Adaptabilidad De Pastos, En La Comuna Jurídica Cubinche, Tabacundo - Ecuador 2013*. S.l.: s.n. 2015.

SANTAMARÍA, Johanna et al. *Microbiología General: Principios Básicos de Laboratorio*. Bogotá: UTadeo. 2014. ISBN 978-958-725-153-1.

STAMENKOVIĆ, Sandra et al. "Microbial fertilizers: A comprehensive review of current findings and future perspectives". *Spanish Journal of Agricultural Research*, vol. 16, no. 1, (2018), pp. 1-18. ISSN 1695971X. DOI 10.5424/sjar/2018161-12117.

TANDAPILCO, Jhonatan. *Aislamiento y caracterización microbiológica, bioquímica y molecular de *Agrobacterium tumefaciens* a partir de tejidos vegetales infectados* [en línea]. S.l.: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. 2020. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/14554>.

TENCIO, Rolando. *Reproducción y aplicación de los microorganismos de montaña (MM) en la actividad agrícola y pecuaria* [en línea]. 2015. S.l.: s.n. 2015. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/AV-1847.pdf>.

THOMPSON, Louis & TROEH, Frederick. *Los suelos y su fertilidad*. 4a edición. S.l.: s.n. 2021.

TORTORA, Gerard et al. *Introducción a la microbiología*. 9a Edición. S.l.: s.n. 2007.

VADIVUKKARASI, Ponnusamy & BHAI, R. Suseela. "Phyllosphere-associated *Methylobacterium*: a potential biostimulant for ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) cultivation". *Archives of Microbiology* [en línea], vol. 202, no. 2, (2020), pp. 369-375. ISSN 1432072X. DOI 10.1007/s00203-019-01753-6. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01753-6>.

VESSEY, J. Kevin. "Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers". *Plant and Soil*, vol. 255, no. 2, (2003), pp. 571-586. ISSN 0032079X. DOI 10.1023/A:1026037216893.

VIERA, Neil. *EFFECTO DE LOS ABONOS ORGÁNICOS A PARTIR DE RESIDUOS AGROPECUARIOS EN EL RENDIMIENTO DEL RYE GRASS ANUAL (Lolium multiflorum Lam) EN CONDICIONES AGROECOLÓGICAS DE HUACRACHUCO, MARAÑON 2019.* S.1.: UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN ESCUELA DE POSGRADO. 2021.

VIVANCO, Oscar et al. "Effect of the application of Azospirillum sp. And Azotobacter sp. And the growth and productivity of kikuyo (Pennisetum clandestinum)". *Bionatura*, vol. 6, no. 4, (2021), pp. 2156-2160. ISSN 13909355. DOI 10.21931/RB/2021.06.04.4.

ZAVALA, Jesus et al. "Evaluación para la producción de Azotobacter sp. promotor de crecimiento para cultivos de Coffea arabica". *Ciencia e Investigación*, vol. 23, no. 1, (2020), pp. 45-50. ISSN 1561-0861. DOI 10.15381/ci.v23i1.18751.



ANEXOS

ANEXO A: ÁREA DE ESTUDIO, TERRENO UBICADO EN LA COMUNIDAD DE LLÍO



ANEXO B: ANÁLISIS DEL BIOFERTILIZANTE EN LABORATORIO



ANEXO C: APLICACIÓN DE LOS BIOFERTILIZANTES EN LAS PARCELAS



ANEXO D: MUESTRA DE SUELO ENVIADA AL LABORATORIO



ANEXO E: RESULTADOS DEL POTENCIAL DE LOS BIOFERTILIZANTES APLICADOS EN LOS PASTOS



Parcela de control



Azotobacter vinelandii A₁ (10⁸)



Methylobacterium symbioticum M₁ (10⁸)



Azotobacter vinelandii A₂ (10⁹)



Methylobacterium symbioticum M₂ (10⁹)

ANEXO F: RESULTADOS INICIALES DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DEL SUELO POR UN LABORATORIO CERTIFICADO

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	LABORATORIO DE SUELOS, FOLIARES Y AGUAS Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 023828860 Ext. 2080	PGT/SFA/09-FO01
	INFORME DE ANÁLISIS DE SUELO	Rev. 5
		Hoja 1 de 2

Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditación N° SAE LEN 09.003

Informe N°: LN-SFA-E22-1180
Fecha emisión Informe: 29/08/2022

DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante¹: Daniela Velasco

Teléfono¹: 0984488359

Dirección¹: Ciudadela Juan Montalvo

Correo Electrónico¹:
daniela1997velasco@gmail.com

Provincia¹: Chimborazo

Cantón¹:
Riobamba

N° Orden de Trabajo: 06-2022-087

N° Factura/Documento: 010-001-3252

DATOS DE LA MUESTRA:

Tipo de muestra¹: Suelo	Conservación de la muestra: Lugar fresco y seco	
Cultivo¹: Pasto		
Provincia¹: Chimborazo	Coordenadas¹:	X: -1,562290
Cantón¹: Guano		Y: -78.717155
Parroquia¹: San Andrés		Altitud: ----
Muestreado por¹: Daniela Velasco		
Fecha de muestreo¹: 15-08-2022	Fecha de inicio de análisis: 16-08-2022	
Fecha de recepción de la muestra: 16-08-2022	Fecha de finalización de análisis: 29-08-2022	

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA ¹	PARÁMETRO ANALIZADO	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO
SFA-22-1434	M1	pH a 25 °C	Electrométrico PEE/SFA/06 EPA 9045D	---	7,23
		Materia Orgánica *	Volumétrico PEE/SFA/09	%	2,78
		Nitrógeno *	Volumétrico PEE/SFA/09	%	0,14
		Fósforo *	Colorimétrico PEE/SFA/11	mg/kg	51,9
		Potasio *	Absorción Atómica PEE/SFA/12	cmol/kg	0,98
		Calcio *	Absorción Atómica PEE/SFA/12	cmol/kg	11,30
		Magnesio *	Absorción Atómica PEE/SFA/12	cmol/kg	4,19
		Hierro *	Absorción Atómica PEE/SFA/13	mg/kg	199,5
		Manganeso *	Absorción Atómica PEE/SFA/13	mg/kg	11,27
		Cobre *	Absorción Atómica PEE/SFA/13	mg/kg	10,00
		Zinc *	Absorción Atómica PEE/SFA/13	mg/kg	0,07
		Conductividad Eléctrica *	Conductímetro PEE/SFA/08	dS/m	0,213
		Azufre *	Turbidimétrico PEE/SFA/10	mg/kg	20,51

Analizado por: Edison Vega

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción parcial de este informe.

¹ Datos suministrados por el cliente; el laboratorio no se responsabiliza por esta información.

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	LABORATORIO DE SUELOS, FOLIARES Y AGUAS Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 023828860 Ext. 2080	PGT/SFA/09-FO01
	INFORME DE ANÁLISIS DE SUELO	Rev. 5 Hoja 2 de 2

Observaciones:

- Informe revisado por: Edison Vega
- El laboratorio no es responsable del muestreo por lo que los resultados se aplican a la muestra como se recibió.
- Los ensayos marcados con (*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación del SAE.
- Las interpretaciones que se indican a continuación, están FUERA del alcance de acreditación del SAE.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS – REGIÓN SIERRA											
PARÁMETRO	MO (%)	N (%)	P (mg/kg)	K (cmol/kg)	Ca (cmol/kg)	Mg (cmol/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	S (mg/kg)
BAJO	< 1,0	< 0,15	< 10,0	< 0,20	< 1,0	< 0,33	< 20,0	< 5,0	< 1,0	< 3,0	< 12,0
MEDIO	1,0 - 2,0	0,15 - 0,30	10,0 - 20,0	0,20 - 0,38	1,0 - 3,0	0,33 - 0,66	20,0 - 40,0	5,0 - 15,0	1,0 - 4,0	3,0 - 7,0	12,0 - 24,0
ALTO	> 2,0	> 0,30	> 20,0	> 0,38	> 3,0	> 0,66	> 40,0	> 15,0	> 4,0	> 7,0	> 24,0

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS – REGIÓN SIERRA Y COSTA					
	ÁCIDO	LIGERAMENTE ÁCIDO	PRÁCTICAMENTE NEUTRO	LIGERAMENTE ALCALINO	ALCALINO
pH	≤ 5,5	> 5,5 – 6,5	> 6,5 – 7,5	> 7,5 – 8,0	> 8,0

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS – REGIÓN SIERRA				
	No Salino (NS)	Ligeramente Salino (LS)	Salino (S)	Muy Salino (MS)
CE* (dS/m)	< 2,0	2,0 – 3,0	3,0 – 4,0	4,0 – 8,0

FUENTE: INIAP, 2002



EDISON OSWALDO
VEGA HIDALGO

ING. Edison Vega
Responsable de Laboratorio
Suelos, Foliare y Aguas

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción parcial de este informe.

* Datos suministrados por el cliente: el laboratorio no se responsabiliza por esta información.

ANEXO G: RESULTADOS FINALES DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DEL SUELO POR UN LABORATORIO CERTIFICADO

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOO-SANITARIO	LABORATORIO DE SUELOS, FOLIARES Y AGUAS Vía Interoceánica Km. 14% y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 023828860 Ext. 2080	PGT/SFA/09-FO01 Rev. 5
	INFORME DE ANÁLISIS DE SUELO	Hoja 1 de 2

Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditación N° SAE LEN 09.003

Informe N°: LN-SFA-E23-0044
Fecha emisión Informe: 26/01/2023

DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante¹: Daniela Velasco

Dirección¹: Ciudadela Juan Montalvo

Provincia¹: Chimborazo

Cantón¹:
Riobamba

Teléfono¹: 0984488359

Correo Electrónico¹:
daniela1997velasco@gmail.com

N° Orden de Trabajo: 06-2023-001

N° Factura/Documento: 010-001-3358

DATOS DE LA MUESTRA:

Tipo de muestra ¹ : Suelo	Conservación de la muestra: Lugar fresco y seco
Cultivo ¹ : Pasto	
Provincia ¹ : Chimborazo	Coordenadas ¹ : X: -1.562290
Cantón ¹ : Guano	Y: -78.727155
Parroquia ¹ : San Andrés	Altitud: ----
Muestreado por ¹ : ----	
Fecha de muestreo ¹ : ----	Fecha de inicio de análisis: 13-01-2023
Fecha de recepción de la muestra: 13-01-2023	Fecha de finalización de análisis: 26-01-2023

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

CODIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA ¹	PARÁMETRO ANALIZADO	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO
SFA-23-0044	M1	pH a 25 °C	Electrométrico PEE/SFA/06 EPA 9045D	---	7,62
		Materia Orgánica*	Volumétrico PEE/SFA/09	%	7,18
		Nitrógeno*	Volumétrico PEE/SFA/09	%	0,36
		Fósforo*	Colorimétrico PEE/SFA/11	mg/kg	228,6
		Potasio*	Absorción Atómica PEE/SFA/12	cmol/kg	0,58
		Calcio*	Absorción Atómica PEE/SFA/12	cmol/kg	13,87
		Magnesio*	Absorción Atómica PEE/SFA/12	cmol/kg	3,36
		Hierro*	Absorción Atómica PEE/SFA/13	mg/kg	159,7
		Manganeso*	Absorción Atómica PEE/SFA/13	mg/kg	11,46
		Cobre*	Absorción Atómica PEE/SFA/13	mg/kg	4,36
		Zinc*	Absorción Atómica PEE/SFA/13	mg/kg	10,78
		Azufre*	Turbidimétrico PEE/SFA/16	mg/kg	16,34
		Conductividad Eléctrica*	Conductímetro PEE/SFA/08	dS/m	0,314

Analizado por: Edison Vega, Paulina Llve

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción parcial de este informe.

¹ Datos suministrados por el cliente: el laboratorio no se responsabiliza por esta información.

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	LABORATORIO DE SUELOS, FOLIARES Y AGUAS Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 023828860 Ext. 2080	PGT/SFA/09-FO01
	INFORME DE ANÁLISIS DE SUELO	Rev. 5 Hoja 2 de 2

Observaciones:

- Informe revisado por: Edison Vega
- El laboratorio no es responsable del muestreo por lo que los resultados se aplican a la muestra como se recibió.
- Los ensayos marcados con (*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación del SAE.
- Las interpretaciones que se indican a continuación, están FUERA del alcance de acreditación del SAE.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS - REGIÓN SIERRA											
PARÁMETRO	MO (%)	N (%)	P (mg/kg)	K (cmol/kg)	Ca (cmol/kg)	Mg (cmol/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	S (mg/kg)
BAJO	<1,0	<0,15	<10,0	<0,20	<1,0	<0,33	<20,0	<5,0	<1,0	<3,0	<12,0
MEDIO	1,0 - 2,0	0,15 - 0,30	10,0 - 20,0	0,20 - 0,38	1,0 - 3,0	0,33 - 0,66	20,0 - 40,0	5,0 - 15,0	1,0 - 4,0	3,0 - 7,0	12,0 - 24,0
ALTO	>2,0	>0,30	>20,0	>0,38	>3,0	>0,66	>40,0	>15,0	>4,0	>7,0	>24,0

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS - REGIÓN SIERRA Y COSTA					
	ÁCIDO	LIGERAMENTE ÁCIDO	PRÁCTICAMENTE NEUTRO	LIGERAMENTE ALCALINO	ALCALINO
pH	≤ 5,5	> 5,5 - 6,5	> 6,5 - 7,5	> 7,5 - 8,0	> 8,0

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS - REGIÓN SIERRA				
	No Salino (NS)	Ligeramente Salino (LS)	Salino (S)	Muy Salino (MS)
CE* (dS/m)	< 2,0	2,0 - 3,0	3,0 - 4,0	4,0 - 8,0

FUENTE: INIAP, 2002



Edison OBALDO VEGA
EDALGO

Ing. Edison Vega
Responsable de Laboratorio
Suelos, Foliare y Aguas

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción parcial de este informe.

¹ Datos suministrados por el cliente: el laboratorio no se responsabiliza por esta información.



esPOCH

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL**

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 26/ 07/ 2023

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Jhoselin Viviana López Paca Daniela Estefania Velasco Rojano
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Ingeniería en Biotecnología Ambiental
Título a optar: Ingeniera en Biotecnología Ambiental
f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo

1250-DBRA-UPT-2023