

**TECNOLÓGICO DE COSTA RICA
CAMPUS TECNOLÓGICO LOCAL SAN CARLOS**

**EFFECTO DE UN BIOESTIMULANTE Y UN BIORREMEDIAADOR DEL
SUELO SOBRE LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DEL FORRAJE
Brachiaria brizantha cv. MG 5 EN UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN
DE GANADO DE CARNE EN FLORENCIA, SAN CARLOS,
ALAJUELA, COSTA RICA**

Trabajo final de graduación presentado a la Escuela de Agronomía
como requisito parcial para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería en
Agronomía

SOFÍA DELGADO RODRÍGUEZ

2019



EFFECTO DE UN BIOESTIMULANTE Y UN BIORREMEDIAADOR DEL
SUELO SOBRE LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DEL FORRAJE
Brachiaria brizantha cv. MG 5 EN UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN
DE GANADO DE CARNE EN FLORENCIA, SAN CARLOS,
ALAJUELA, COSTA RICA

SOFÍA DELGADO RODRÍGUEZ

Aprobado por los miembros del Tribunal Evaluador:

Ing. Agr. Arnoldo Gadea Rivas, M. Sc.


Asesor

Ing. Agr. Edgardo Serrano Elizondo, M. Sc.


Jurado

Ing. Agr. Monserrat Ulloa Meneses, M. Sc.


Jurado

Ing. Agr. Zulay Castro Jiménez, MGA.


Coordinadora
Trabajos Finales de Graduación

Ing. Agr. Luis Alberto Camero Rey, M. Sc.


Director
Escuela de Agronomía

2019

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios primero por darme las herramientas, la sabiduría y la paciencia para poder concluir de manera exitosa mi carrera. Y a mis abuelos Orlando Delgado y Ana Rosa Solórzano por darme su amor y apoyo incondicional en todas las etapas de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Agr. Arnoldo Gadea Rivas, M. Sc, por su tiempo, dedicación y entusiasmo desde que surgió la idea de realizar el ensayo. Además, por el conocimiento transmitido durante todo el proceso, que fue de vital importancia para concluir de la mejor manera.

Al señor Olman Briceño Fallas, por facilitarme el uso de los repastos de Finca Las Nubes para realizar el ensayo. Además, a todo su equipo de trabajo, especialmente a Don Rafa, por su amabilidad y responsabilidad con todo lo relacionado a la investigación.

A la empresa Alltech®, por permitirme usar sus productos para evaluarlos. Al Ing. Quim. Patrick Becker y a la Ing. Agr. Monserrat Ulloa, por estar siempre pendientes y atentos ante cualquier consulta que surgiera en el camino.

Al Colono Agropecuario y personal colaborador, por brindarme las facilidades para realizar el ensayo, entre ellas el transporte, el uso de su tecnología de drones, la anuencia a responder dudas, entre otras. Y un agradecimiento especial para Jose Pablo Vargas, por colaborarme en la labor del muestreo y aplicaciones y a don Edgardo Serrano por brindarme sus ideas desde que se realizó el planteamiento del ensayo.

A mis papás Greivin y Yorleny, y a mis hermanos Luis Enrique y Carolina, por acompañarme en este largo proceso, quienes fueron los que me animaron a seguir adelante, esperando que se sientan orgullosos de los logros que he conseguido.

A mi novio Marco Vinicio, por llegar en una etapa muy importante de mi vida para apoyarme y querer compartir este logro conmigo.

A mis compañeros y amigos del TEC, que me ayudaron durante el largo proceso de los muestreos y estuvieron conmigo en momentos de alegría y dificultad durante toda mi carrera.

Finalmente, a la Escuela de Agronomía, profesores y colaboradores que me brindaron el apoyo y herramientas necesarias para lograr llegar hasta este punto.

TABLA DE CONTENIDOS

TABLA DE CONTENIDOS.....	i
TABLA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE CUADROS	vi
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT	ix
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Justificación	1
1.2 Objetivo general.....	2
1.3 Objetivos específicos.....	3
1.4 Hipótesis de investigación	3
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Generalidades de <i>Brachiaria brizantha</i>	4
2.2 Descripción taxonómica.....	4
2.3 Descripción botánica	5
2.4 Descripción morfológica	5
2.4.1 Tallo.....	5
2.4.2 Hojas	5
2.4.3 Raíz	5
2.4.4 Inflorescencia.....	6
2.5 Cultivar <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5	6
2.6 Calidad nutricional de las plantas forrajeras	6
2.7 Generalidades de los bioestimulantes	8

2.7.1	Grain Set®.....	8
2.7.2	Extracto de <i>Yucca schidigera</i> : saponinas.....	9
2.7.3	Metabolitos derivados de procesos de fermentación.....	10
2.7.4	Aminoácidos y micronutrientes.....	11
2.7.5	Reguladores de crecimiento.....	14
2.8	Generalidades de los biorremediadores de suelo.....	16
2.8.1	Soil Set®.....	16
2.8.2	Metabolitos específicos bacterianos derivados de procesos de fermentación: vitaminas, compuestos enzimáticos y aminoácidos.....	17
2.8.3	Micronutrientes.....	19
2.9	Actividad biológica del suelo.....	22
2.10	Otros métodos para evaluar las variables.....	23
3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
3.1	Localización del área de estudio.....	26
3.2	Período de estudio.....	28
3.3	Área experimental y unidad experimental.....	28
3.4	Material experimental.....	29
3.4.1	Cultivo.....	29
3.4.2	Suelo.....	30
3.4.3	Producto.....	30
3.5	Descripción de los tratamientos y método de aplicación.....	30
3.6	VARIABLES DE RESPUESTA.....	33
3.7	Metodología de la toma de datos.....	33
3.7.1	Biomasa, materia seca, proteína cruda, fibra ácido detergente y fibra neutro detergente.....	35

3.7.2	Actividad biológica	36
3.8	Diseño experimental y arreglo de tratamientos	37
3.8.1	Modelo estadístico.....	37
3.8.2	Análisis estadístico	38
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
4.1	VARIABLES PRODUCTIVAS	39
4.1.1	Biomasa seca	39
4.2	VARIABLES DE CALIDAD	50
4.2.1	Materia seca, proteína cruda, fibra neutro detergente y fibra ácido detergente.....	50
4.3	Actividad biológica del suelo.....	53
4.3.1	Cromatografía.....	60
4.4	Correlaciones variables productivas y de calidad con variables climáticas	65
4.5	Otros resultados	69
4.5.1	Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada	69
4.5.2	Modelo de Fermentación <i>in vitro</i>	72
4.6	Factibilidad económica	73
5	CONCLUSIONES.....	76
6	RECOMENDACIONES	78
7	BIBLIOGRAFÍA	79
8	ANEXOS	98

TABLA DE FIGURAS

FIGURA N°	TÍTULO	PÁGINA
1	Repastos utilizados y sus divisiones con el área que corresponde a cada una de ellas en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	29
2	Distribución de los tratamientos en los cuatro repastos (repeticiones) en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	32
3	Puntos de muestreo por tratamiento para los seis meses de evaluación en el pasto <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela 2018. Fuente: Colono AP Tech, 4 de junio del 2018.	34
4	Biomasa seca total promedio (kg/ha) de los cuatro tratamientos de los seis meses de muestreo en pasto <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 en Finca Las Nubes Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	39
5	Sumatoria de biomasa seca total (kg/ha) de los cuatro tratamientos de los seis meses de muestreo en pasto <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 en Finca Las Nubes Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	40
6	Gránulos de almidón en una matriz de proteína de la materia orgánica del suelo	42
7	Biomasa seca promedio mensual (kg/ha) de los cuatro tratamientos durante los seis muestreos realizados en el pasto <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 en Finca Las Nubes en Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	47
8	Biomasa seca y precipitación promedio mensual (kg/ha) y mm respectivamente de los cuatro tratamientos durante los seis	

	muestreos realizados en el pasto <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 en Finca Las Nubes en Florencia, San Carlos, Alajuela. 2018	48
9	Cromatogramas de los dos muestreos y de los cuatro tratamientos en el ensayo realizado en el forraje <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 en Finca Las Nubes Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	61
10	Zonas de un cromatograma	64
11	Características ideales de un cromatograma	64
12	Cromatograma ideal	65
13	NDVI de los repastos utilizados durante el ensayo, tomado el 23 de noviembre de 2018 en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela	69

LISTA DE CUADROS

CUADRO N°	TÍTULO	PÁGINA
1	Resultado del análisis de suelo tomado de los repastos utilizados para el ensayo en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	27
2	Dosis y frecuencia de aplicación de los tratamientos aplicados en el pasto <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	31
3	Variables de respuesta evaluadas en el pasto <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 durante el ensayo en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela 2018	33
4	Valores medios de Materia Seca, Proteína Cruda, Fibra Neutro Detergente, Fibra Ácido Detergente, para los cuatro tratamientos aplicados al pasto <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 en Finca Las Nubes en Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	50
5	Valores promedio, mínimos y máximos de Materia Seca, Proteína Cruda, Fibra Neutro Detergente, Fibra Ácido Detergente, para los cuatro tratamientos aplicados al pasto <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 en Finca Las Nubes en Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	52
6	Prueba de medias de la variable respiración microbiana del suelo en los cuatro tratamientos en mg CO ₂ /86,5cm ² /día en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	54
7	Índices generales para clases de respiración del suelo, y estado del suelo, en condiciones óptimas de temperatura y humedad, primordialmente para uso agrícola (Woods End Research (1997)	56

8	Correlaciones entre variables productivas y de calidad con las variables climáticas en el pasto <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 en Finca Las Nubes Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	66
9	Resultados de tres variables obtenidas de un Modelo de Fermentación in vitro realizado a los cuatro tratamientos del pasto <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 en Finca Las Nubes Florencia, San Carlos, Alajuela	72
10	Costos de producción de biomasa seca mensuales (kg/ha) para los cuatro tratamientos en pasto <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG 5 en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018	73

RESUMEN

La presente investigación planteó como objetivo principal evaluar el efecto de un bioestimulante (Grain Set[®]) y un biorremediador del suelo (Soil Set[®]) sobre la producción y calidad del forraje *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en un sistema de producción de ganado de carne, además, de evaluar también su efecto en la actividad biológica del suelo donde se ubicó el ensayo. La misma se realizó en Finca Las Nubes, ubicada en Florencia, San Carlos, Alajuela, Costa Rica. Para el desarrollo de la investigación se utilizaron cuatro tratamientos, con cuatro repeticiones, para un total de dieciséis unidades experimentales, las cuales se establecieron en un área de 1,137 ha, durante seis meses con un muestreo por mes, utilizando un diseño experimental de Bloques Completos al Azar con arreglo factorial. Las variables evaluadas fueron la biomasa seca, materia seca, proteína cruda, fibra neutro detergente y fibra ácido detergente, además de la actividad biológica del suelo. Los datos se sometieron a análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple entre los tratamientos, además fueron analizados entre muestreos. De igual forma, se realizó una correlación con tres variables climáticas (precipitación, temperatura y humedad relativa). Los resultados mostraron que en cuanto a la variable productiva (biomasa seca) y actividad biológica, presentaron diferencias significativas (p-valor < 0,05) en el tratamiento Soil Set[®], en las variables de calidad (materia seca, proteína cruda, fibra neutro detergente y fibra ácido detergente) no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos (p-valor > 0,05); no se encontró correlación entre las variables climáticas con el efecto del Grain Set[®] y Soil Set[®] sobre las variables productivas y de calidad estudiadas. Se concluyó que, con el uso de los productos, solos o en conjunto, es posible aumentar la cantidad de animales que pueden alimentarse por hectárea bajo las condiciones de finca evaluada.

Palabras clave: *Brachiaria brizantha*, Bioestimulante, biorremediador, Grain Set[®], Soil Set[®]

ABSTRACT

The main objective of the present investigation was to evaluate the effect of a biostimulant (Grain Set[®]) and a soil bioremediator (Soil Set[®]) on the production and quality of the forage *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 in a beef cattle production system, in addition, to also evaluate its effect on the biological activity of the soil where the trial was located. It was carried out at Finca Las Nubes, located in Florencia, San Carlos, Alajuela, Costa Rica. For the development of the research four treatments were used, with four repetitions, for a total of sixteen experimental units, which were established in an area of 1,137 ha, during six months with a sampling per month, using an experimental design of Complete Blocks at random with factorial arrangement. The variables evaluated were dry biomass, dry matter, crude protein, neutral detergent fiber and acid detergent fiber, in addition to the biological activity of the soil. The data were subjected to analysis of variance and a multiple comparison test between the treatments, in addition they were analyzed between samples. In the same way, a correlation was made with three climatic variables (precipitation, temperature and relative humidity). The results showed that in terms of the productive variable (dry biomass) and biological activity, there were significant differences (p-value <0.05) in the Soil Set[®] treatment, in the quality variables (dry matter, crude protein, fiber neutral detergent and acid detergent fiber) there were no significant differences between treatments (p-value > 0.05); no correlation was found between the climatic variables with the effect of Grain Set[®] and Soil Set[®] on the productive and quality variables studied. It was concluded that, with the use of the products, alone or together, it is possible to increase the number of animals that can be fed per hectare under the evaluated farm conditions.

Key words: *Brachiaria brizantha*, Biostimulant, bioremediator, Grain Set[®], Soil Set[®]

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Justificación

Costa Rica se ha caracterizado por ser un país altamente productivo, tanto en el sector agrícola como en el pecuario, y en ambos es necesaria una constante investigación para mejorar la productividad y el rendimiento, lo que haría a estos sectores ser más aptos para la apertura que está teniendo el país hacia los mercados mundiales. En el caso de la actividad pecuaria, es una de las que ha tenido más relevancia para el desarrollo de diferentes zonas rurales del país, porque ha brindado seguridad alimentaria y desarrollo social, comercial y económico (Martínez 2009).

Según el INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos, Costa Rica), la producción de carne implica el 42,1% del total de la producción pecuaria nacional, lo que la hace una actividad a la cual se le debe presentar especial interés para que, a pesar de las dificultades comerciales, climáticas, de espacio y otras que se puedan presentar, no haya una disminución en la producción, sino que pueda verse mejorada.

En las fincas ganaderas del país, se usa una amplia variedad de pasturas con diferente calidad nutricional y distintos niveles de producción, lo cual es posible debido a las características de la planta y a las condiciones climáticas tropicales de la zona. Una de las especies más utilizadas es la *Brachiaria brizantha*, debido a que se adapta a diferentes condiciones edafoclimáticas. Además, los pastos del género *Brachiaria spp.* han sido mejorados y con su uso se logró un aumento en la productividad de los sistemas pecuarios entre los años 1990 y 2000 en Centroamérica y México, mientras que en Costa Rica se logró mejorar la producción de carne en un 18% en el mismo período (Argel 2006 citado por Villalobos y Montiel 2015). Por lo anterior, surge la necesidad de realizar un estudio para determinar si es posible obtener mayor productividad y de calidad con la implementación de manejos alternativos.

En Costa Rica, hay poca investigación sobre el uso de productos biológicos como los bioestimulantes y los biorremediadores de suelo, como una manera de acompañar, o eventualmente sustituir los productos que convencionalmente se utilizan en los diferentes sistemas de producción; ya que, debido a las prácticas agropecuarias realizadas desde hace algunos años, se ha generado una degradación de los recursos naturales (suelo, aire, mantos acuíferos, etc.) por la carga química a la que se ven sometidos, además de un aumento en los costos para el productor (Caniguante *et al.* 2009, Hernández *et al.* 2010). Por otro lado, según González *et al.* (2012), el estudio de estos productos es de importancia debido a que actúan directamente sobre la fisiología de las plantas generándole algunos beneficios como resistencia ante factores externos, o bien, mejorando su crecimiento, desarrollo y productividad.

Los productos de Alltech Crop Science® (Soil Set® y Grain Set®), están siendo utilizados en muchos países desde 1994, como una manera de innovar y brindar a los productores agrícolas soluciones naturales que incrementen la productividad de los cultivos y que a su vez son amigables con el ambiente. Se han realizado proyectos con varios cultivos para demostrar la efectividad de dichos productos; sin embargo, no hay muchos estudios realizados en pasturas de la región tropical, por lo que ha surgido el interés de comprobar la eficiencia de su uso en este cultivo y así, obtener información al respecto, con el propósito de contribuir al manejo de sistemas pecuarios que mejoren las condiciones productivas de la ganadería de la región.

1.2 Objetivo general

Evaluar el efecto de un bioestimulante (Grain Set®) y un biorremediador del suelo (Soil Set®) sobre la producción y calidad del forraje *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en un sistema de producción de ganado de carne bajo las condiciones agroclimáticas de Florencia, San Carlos, Alajuela, Costa Rica.

1.3 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del Grain Set® y Soil Set® sobre la biomasa, materia seca, proteína cruda, fibra ácido y fibra neutro detergente en el forraje *Brachiaria brizantha* cv. MG 5.
- Evaluar el efecto del Grain Set® y Soil Set® sobre la actividad biológica del suelo cultivado de *Brachiaria brizantha* cv. MG 5.
- Relacionar las variables climáticas (temperatura, humedad relativa, precipitación) con el efecto del Grain Set® y Soil Set® sobre la biomasa, materia seca, proteína cruda, fibra ácido y neutro detergente del forraje *Brachiaria brizantha* cv. MG 5.
- Evaluar la factibilidad económica de la utilización de los productos Grain Set® y Soil Set® sobre el pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5, en un sistema de producción de ganado de carne.

1.4 Hipótesis de investigación

La aplicación de los productos Soil Set® y Grain Set® generan aumento de la biomasa y mejoran la calidad del pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades de *Brachiaria brizantha*

El género *Brachiaria* y sus especies, provienen de las regiones tropicales de África (Villalobos y Montiel 2015). Entre las especies más utilizadas en América tropical están la *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, Toledo y La Libertad; *B. decumbens* cv. Basilisk; *B. humidicola* y *B. ruzizensis* cv. Kennedy (Argel 2006; Zuleta *et al.* 2002). La especie en estudio, se recolectó en la región de Burundi, África en el año 1985 para ser introducida por el CIAT en los diferentes países de América (Lascano *et al.* 2002).

Lascano *et al.* (2002) y Cuadrado *et al.* (2004) mencionan que ésta especie posee una buena adaptación a diferentes condiciones climáticas y edáficas, además de cierto grado de resistencia a plagas como el salivazo. Por otro lado, dicho potencial de adaptación se debe a la alta capacidad de producción de forraje, o sea, a la relación hoja: tallo y a la tasa de crecimiento propia de esta especie (Cuadrado *et al.* 2004).

2.2 Descripción taxonómica

Según Olivera *et al.* (2006) citado por Villalobos y Montiel (2015), la clasificación del forraje en estudio es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Commelinidae

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Subfamilia: Panicoideae

Tribu: Paniceae

Género: *Brachiaria*

Especie: *brizantha*

2.3 Descripción botánica

Las plantas de la especie *B. brizantha* tienen diferentes hábitos de crecimiento (erectas o rastreras), su propagación puede ser por rizomas o estolones. Son perennes con macollamiento vigoroso y de hábito erecto o semierecto pudiendo alcanzar hasta dos metros de altura. Poseen rizomas horizontales cortos, duros y curvos, cubiertos con escamas glabras de color amarillo o morado (Olivera *et al.* 2006).

2.4 Descripción morfológica

2.4.1 Tallo

Los tallos son erectos o suberectos, con pocas ramificaciones. Tienen de seis a catorce internodios de 10 cm a 34 cm de longitud; son además cilíndricos, ovalados, verdes o morados y glabros. Los nudos pueden ser glabros o poco pubescentes, de color morado (Olivera *et al.* 2006). Lascano (2002) menciona que sus tallos son vigorosos debido a que, en condiciones de cercanía con el suelo, los nudos enraízan por lo que el crecimiento lateral de la gramínea aumenta.

2.4.2 Hojas

Según Villalobos y Montiel (2015), la lámina de la hoja es verde y larga, tiene una longitud entre 20 cm y 75 cm y 0,8 cm a 2,4 cm de ancho. Estos pueden tener forma lineal o lanceolada, más delgado hacia el ápice, pueden ser glabras o pubescentes hacia la base. Los bordes son de color blanco o morado y muy dentados (Olivera *et al.* 2006).

Posee una lígula membranácea-ciliada de dos mm de longitud, la vaina es verde o morada hacia los bordes en ocasiones y tiene entre 10 cm y 23 cm de longitud, usualmente es glabra (Olivera *et al.* 2006).

2.4.3 Raíz

Las raíces de esta especie son profundas, blandas y de color blanco o amarillento (Olivera *et al.* 2006).

2.4.4 Inflorescencia

La inflorescencia tiene forma de panícula racemosa, con una longitud entre 34 cm y 87 cm (Villalobos y Montiel 2015), el eje principal es estriado, glabro o pubescente. Tiene de uno a 17 racimos solitarios, unilaterales y rectos y tienen de 8 cm a 22 cm de longitud (Olivera *et al.* 2006 y Villalobos, Montiel 2015).

2.5 Cultivar *Brachiaria brizantha* cv. MG 5

La variedad *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 según la casa comercializadora MATSUDA (2017), es originaria de Burundi, África. Los suelos ideales para su establecimiento son los de mediana a alta fertilidad, requiere de 800 mm/año a 3000 mm/año de precipitación y posee una alta tolerancia a suelos mal drenados y a la sequía. Es recomendable utilizar esta pastura para el pastoreo directo y henificación, ya que su digestibilidad y palatabilidad para los animales es alta.

Según sea la época del año y las condiciones climáticas, así van a variar los rendimientos de los diferentes forrajes; en el caso de *B. brizantha*, en las épocas de mayor precipitación es menos productiva comparándolo con las épocas secas; por otro lado, según sea la cantidad de lluvias recibidas por la pastura el mes anterior, así se verá reflejado el aumento en la producción y crecimiento. La especie *B. brizantha* comparándola con las otras especies de este género, desarrollan un mayor tamaño de hojas debido a que estas son desarrolladas primero que los tallos durante el estadio vegetativo (Barszez 1998 citado por Inoue y Iribas 2013).

2.6 Calidad nutricional de las plantas forrajeras

Un factor que está relacionado con la calidad forrajera y con la productividad de los pastos, es la biomasa, la cual está definida como la cantidad total de materia viviente, en un momento dado y en un área determinada. Esta se expresa en gramos de carbono o en calorías por unidad de superficie, la cual es utilizada para caracterizar el estado de un ecosistema. El promedio de la producción neta anual de biomasa de algunas gramíneas es de 403 g/m² con producción diaria de 1,09 g/m² (Martínez y Leyva 2014).

El valor nutritivo está en función del consumo y calidad, la cual la determinan la composición química y digestibilidad. Esta calidad puede variar de acuerdo a la

edad, fertilidad del suelo, época del año, parte de la planta, especie, entre otras (Larios 2016). Algunos de los parámetros que rigen la composición química son la materia seca, proteína cruda, fibra ácido detergente y fibra neutro detergente.

La materia seca es la parte de un material que queda luego de extraer la mayor cantidad de agua posible del mismo por medio del calor y se expresa como un porcentaje del forraje fresco total cosechado (de la Roza *et al.* 2002). La proteína cruda es un indicador del contenido de compuestos nitrogenados que contiene un forraje, aquí se incluyen todas las proteínas formadas por aminoácidos y otras formadas por amidas, aminas, nitratos y nitritos (Arreaza *et al.* s.f; Sierra 2005)

Con la fibra ácido detergente (FAD) se evalúa la digestibilidad de la materia seca del forraje, ya que esta disminuye al aumentar el nivel de la FAD y está compuesta por celulosa, lignina y sílice (Aparecida de Pinho Costa *et al.* 2007 y Hernández 2011). Los mismos autores mencionan que la fibra neutro detergente (FND) es de importancia para definir tanto la calidad como el consumo, ya que entre más elevado sea su valor (por encima del 55% o 60%), a los animales se le complicará más la ingesta debido a un aumento de los componentes indigestibles del pasto, la misma está compuesta por celulosa, hemicelulosa, lignina y sílice.

Según MATSUDA (2017), el contenido de proteína en la materia seca de *B. brizantha* cv. MG5, es de 8,7% a 13,5% y su nivel de producción como forraje oscila entre las 10 y 18 t/ha/año de MS, lo cual es afirmado también por Aparecida de Pinho Costa *et al.* (2007) y por Inoue y Iribas (2013), quienes mencionan que la producción de este forraje es de 15460 kgMS/ha/año, siendo, además, la más productiva en cuanto a materia seca, tasa de crecimiento y relación hoja:tallo comparándola con otras variedades de *Brachiaria*.

Según lo dicho por Aparecida de Pinho Costa *et al.* (2007) en su investigación, para el cultivar *B. brizantha* cv. MG 5 Victoria Toledo, el mejor intervalo de pastoreo es entre 30 días y 35 días, ya que los valores nutritivos y la tasa de crecimiento del forraje son altos, brindando beneficios a los animales que lo consumen. La composición bromatológica del pasto a los 30 días, determinada por

los mismos autores, es de 21% de materia seca, 12,34% de proteína curda, 65,51% de fibra neutro detergente y 34% de fibra ácido detergente.

Para esta misma especie y accesión (CIAT 26110), Cuadrado *et al.* (2004) encontraron que durante la época lluviosa obtuvieron alta producción de materia seca, donde a 24 días de rebrote tuvo 3534 kg/ha, lo que aumentaba su rendimiento comparándola con otras accesiones. Esta además presentó la mejor relación hoja: tallo. La proteína cruda promedio obtenida fue de 11,5%, la FND de 69,2%, la FDA de 43,6% (valores fueron reportados para la época lluviosa).

Canchila *et al.* (2009) en su experimento, encontraron en pastos del género *Brachiaria spp.* contenidos de materia seca entre 23,4% y 25,7% variando con la especie, la proteína comprendió entre 5,8% y 7,5% y la FDA tuvo valores entre 44% y 51%; sin embargo, estos valores pueden variar dependiendo los niveles de fertilización que se le da a las plantas. Dentro del grupo de las brachiarias, la especie *B. brizantha* es una de las que tiene mayor concentración de proteína, además de altura, vigor, cantidad de hojas y producción de biomasa.

2.7 Generalidades de los bioestimulantes

Los bioestimulantes, son moléculas compatibles dentro de la fisiología vegetal, los cuales varían en su estructura química y además en el efecto que ocasionan en la planta. Estos pueden activar, potenciar o detener alguna ruta metabólica-fisiológica de las plantas, incrementando el desarrollo, producción y crecimiento de los vegetales (Navarro 2018¹ y Julia 2015).

2.7.1 Grain Set[®]

Según Alltech Crop Science[®] (2016), el Grain Set[®] es un biestimulante que actúa sobre la actividad hormonal de las plantas catalizando algunas reacciones metabólicas de la misma y dando nutrientes esenciales para que procesos vitales como la fotosíntesis se lleven a cabo.

¹ Navarro, M. 26 abr. 2018. Bioestimulación: conceptos básicos y fundamentos fisiológicos (conferencia). Guadalajara, México.

Este producto es utilizado como una manera de acompañar a la aplicación convencional de productos al suelo, ya que en muchas ocasiones algunas variables como condiciones climáticas, pH y estructura del mismo pueden influir en la correcta disponibilidad de nutrientes para la planta. Al aplicar este producto, el mismo se transloca dentro del tejido de la hoja y queda a disposición de la planta para que lo pueda utilizar, lo que lo hace un producto de fácil y rápida absorción. Por otro lado, está compuesto por extractos de plantas que son fuente de saponinas (*Yucca schidigera*), metabolitos derivados de procesos de fermentación, aminoácidos, micronutrientes esenciales (sufre, manganeso, zinc) y reguladores de crecimiento (auxinas, citoquininas y giberelinas).

El modo de acción del mismo radica en estimular el desarrollo radical producto de la síntesis de auxinas, maximizar la utilización de nutrientes, generar una optimización del proceso de fotosíntesis y actuar como surfactante.

2.7.2 Extracto de *Yucca schidigera*: saponinas

El género *Yucca* pertenece a la división *Magnoliophyta*, clase *Liliopsida*, familia *Agavaceae*, y este posee 46 especies. La planta de la especie *Yucca schidigera* se encuentra principalmente en el norte de México y en el sur de Estados Unidos. De esta se extraen dos compuestos químicos que son utilizados en la actividad agrícola, los mismos son las saponinas y los glicocomponentes (Aguirre 2008 citado por López *et al.* 2010).

Según los mismos autores, las plantas pueden generar dos tipos de defensa, las que se activan ante estrés abiótico o ataque de patógenos (inducidas) como las fitoalexinas; o las constitutivas que se producen constantemente, entre las que se encuentran la pared celular o metabolitos como saponinas, glicósidos cianogénicos, entre otros. Por lo que, las saponinas de plantas como *Quillaja saponaria*, *Capsicum frutescens*, *Yucca schidigera*, entre otras, ejercen un efecto antimicrobiano que ayuda a las plantas a mantenerse sanas para un óptimo desarrollo de las mismas, ejemplo de esto es que se ha comprobado que las saponinas de *Yucca schidigera* alteran la pared celular de bacterias no celulolíticas (Díaz 2009).

El mismo autor menciona que las saponinas son metabolitos secundarios y glicósidos, sintetizadas por la vía de los isoprenoides, que se encuentran en grandes cantidades en las plantas y hay de dos tipos, las esteroidales que se encuentran en plantas monocotiledóneas y las terpénicas que están en las dicotiledóneas.

Entre los beneficios de estos extractos para las plantas están que, al tener contacto con el suelo o la planta, inhiben el crecimiento de patógenos sobre el mismo y además actúan sobre órganos de la planta como las raíces promoviendo una mayor absorción de agua y nutrientes (Hernández 2013). Como menciona Ahumada *et al.* (2016), otra característica propia de estos metabolitos es que poseen una elevada actividad superficial al combinarse estructuras de un grupo polar como la azúcar, con uno no polar como el esteroide o terpeno, lo anterior le da características de surfactante y permite reducir la tensión superficial de diferentes fluidos y, por ende, ayuda a la planta a una mejor absorción del producto que se está utilizando.

2.7.3 Metabolitos derivados de procesos de fermentación

Los metabolitos son productos derivados de procesos como la fermentación, donde el oxígeno no es utilizado como aceptor final de la cadena de transporte de electrones y en vez de esto lo es un sustrato orgánico, lo que genera acumulación de moléculas reducidas. Hay dos tipos de rutas metabólicas involucradas en este proceso, y son el metabolismo primario y secundario, donde en el primero se incluye procesos que dan como resultado productos (metabolitos primarios) que ayudan la reproducción celular y otros procesos que son vitales para las células. Por otro lado, el metabolismo secundario produce componentes celulares que no son esenciales para la vida de las células (metabolitos secundarios). Sin embargo, ambos se interconectan debido a que los metabolitos secundarios se derivan biosintéticamente de algunos compuestos primarios (Marinelli y Molinari 2012; Pérez y Jiménez 2011).

Lo anterior lo confirma Ávalos y Pérez (2009), diciendo que las plantas transforman el carbono, nitrógeno y energía que adquieren en actividades como la fotosíntesis, en moléculas llamadas metabolitos primarios que son utilizadas para el

funcionamiento y supervivencia de los organismos vegetales, entre estos productos están los aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos. También mencionan que las plantas utilizan parte del carbono y energía previamente mencionadas, en la síntesis de otras moléculas orgánicas llamadas metabolitos secundarios, las cuales no tienen funciones en las actividades de supervivencia de la planta como respiración, asimilación de nutrientes, entre otros.

Las plantas producen alrededor de 100 000 metabolitos secundarios, los cuales son utilizados por ellas mismas o por los humanos para diferentes industrias como la farmacéutica, alimenticia, entre otras; estos no influyen en el metabolismo primario, pero si tienen diferentes funciones, entre ellas, de defensa como por ejemplo las fitoalexinas, sustancias alelopáticas o disuasorios nutritivos que actúan en contra de diferentes tipos de patógenos. Otros como los alcaloides y pectinas que tienen funciones fisiológicas como en el transporte de compuestos de almacenamiento, regulación de crecimiento, desarrollo, reserva de material nitrogenado, interacción con otros microorganismos y de igual manera ayudan con la protección contra la desecación y radiación ultravioleta. Todo lo anterior repercute en el buen desarrollo de las plantas (Pérez-Alonso y Jiménez 2011; García 2004).

Un ejemplo de lo anterior, es el ácido salicílico, el cual está en las hojas y estructuras reproductivas por lo que participa en la inducción de floración, regulación de las membranas celulares, resistencia a enfermedades, entre otros.

2.7.4 Aminoácidos y micronutrientes

Según CIA/UCR (2002), los bioestimulantes que tienen aminoácidos los contienen libres, en cadenas cortas de uno a diez aminoácidos (oligopéptidos) o en cadenas largas (polipéptidos) que tienen más de diez. Al ser aplicados a las plantas estos ayudan en la producción de proteínas, lo cual usualmente implica gasto de energía para la planta, entonces la planta puede utilizar dicha energía en otros procesos importantes como crecimiento, floración y otros.

Algunos aminoácidos, como la cisteína, colabora con las plantas siendo esta precursora de vitaminas como la tiamina (B1), además de la síntesis de metabolitos

azufrados como el glutatión, que actúa como un antioxidante, de este se obtienen metabolitos azufrados que participan en las respuestas de defensa de las plantas ante condiciones adversas o de estrés. Por otro lado, algunos átomos de azufre que posee la cisteína se unen con otros de hierro y estos a su vez se unen a algunas proteínas que participan en procesos como la fotosíntesis; los cloroplastos mejoran su funcionamiento también si las concentraciones de cisteína son mayores, dándole mayor verdor y tamaño a la planta (Gotor 2010; Gutiérrez 2007).

Otro aminoácido que ayuda en lo relacionado a lo anterior es el glutamato, ya que según De la Rivas (2002) citado por Serna *et al.* (2011) este es uno de los intermediarios de la ruta metabólica de la clorofila, ya que en un estudio realizado por Serna *et al.* (2011), se observó que con la adición de glutamato se aumentaron los niveles de clorofila b, la cual es de importancia para la recepción y conducción de luz al centro de reacción para la realización de la fotosíntesis, además de que incorporando este, se disminuye la acción de la enzima glutamina sintetasa con lo cual se genera un ahorro de energía al no tener que buscar el aporte de nitrógeno para incorporarse en las rutas metabólicas para la formación de esta molécula.

Según los mismos autores, a partir del glutamato se generan otras moléculas como la α -cetoglutarato o aspartato que se puede convertir en oxalacetato, donde ambas tienen participación en el ciclo de Krebs o bien, se puede formar también glutamina o proteínas que pueden participar en la formación de clorofila.

Otros como la glicina, ayudan en la síntesis de porfirinas las cuales son los pilares estructurales de la clorofila y citocromos importantes para el proceso de fotosíntesis; otros estimulan la formación de sustancias biológicamente activas que estimulan la vegetación mediante la formación de clorofila, ácido indolacético, producción de vitaminas y síntesis de sistemas enzimáticos. Por otro lado, los aminoácidos estimulan la absorción de diferentes nutrientes por parte de la planta al formar quelatos con micro elementos como hierro, cobre, zinc y manganeso (Julia 2015; CIA/UCR 2002). El producto a utilizar posee azufre, manganeso y zinc, por lo que, según la información anterior, los mismos aminoácidos que también contiene

el producto, ayudan en la absorción de estos; dichos elementos serán comentados en los párrafos posteriores (Alltech Crop Science 2016).

El azufre se considera el cuarto elemento de importancia y las plantas lo obtienen en mayor cantidad desde el suelo gracias a la mineralización de la materia orgánica o bien, de manera inorgánica con la incorporación de sulfatos. En menores cantidades es obtenido por medio de las hojas al absorber dióxido de azufre (Abasolo y Inguilán 2012). En una evaluación realizada por Guerrero y Burbano (1970) citados por Abasolo y Inguilán (2012), se demostró que, al aumentar la aplicación de azufre hubo un incremento de la materia seca y la absorción de este elemento por parte de la planta. En la investigación realizada por este último autor se determinó que con el uso de azufre para fertilizar se aumenta la altura de las plantas, el número de nudos por planta que a su vez influye en la emergencia de hojas y finalmente en la calidad y cantidad de biomasa, lo que concuerda con la investigación de Rennenberg (1984).

El zinc es considerado por muchos como el nutriente más deficiente en los suelos del mundo (Hernández 2011), este es utilizado por las plantas para su buen funcionamiento ya que está ligado a algunos aminoácidos como cisteína o histidina, a proteínas, lípidos de membrana, ADN, entre otros. Además, alrededor de 300 enzimas lo utilizan para realizar sus actividades, por lo que este actúa como ion catalítico, co-catalítico, estructural y regulador, también como activador enzimático, en la síntesis de proteínas, expresión y regulación génica, integridad estructural y funcional de las biomembranas, entre otras (Barrameda 2016).

Se menciona también que al haber escasez de este elemento la tasa fotosintética disminuye al haber una disminución de la actividad de la anhidrasa carbónica, por otro lado, se genera la inhibición de la síntesis de proteínas y por ende disminución del crecimiento, esto sucede al disminuir la ARN polimerasa (enzima que contiene este elemento), lo que repercute en una menor cantidad de materia seca en las plantas (Lizarazo *et al.* 2013).

Por otro lado, según Lizarazo *et al.* (2013), el manganeso es un micronutriente de importancia debido a que actúa en diferentes procesos

fisiológicos como la síntesis de hormonas, proteínas y aceites, en el metabolismo y asimilación del nitrógeno, activación metabólica de algunas enzimas y formación de metaloproteínas (antioxidantes). El mismo autor resalta la importancia de darle a las plantas la cantidad adecuada de este elemento (pequeñas cantidades), debido a que así, los procesos fisiológicos previamente descritos no tendrán deterioros y la formación de materia seca será la adecuada, además de que algunos procesos importantes para la fotosíntesis como la síntesis de isoprenoides que forman parte de carotenoides, clorofila, giberelinas, citocininas, entre otros, no se verán afectados.

Un nivel adecuado de los nutrientes en los cultivos es importante porque si hay déficit de estos, las concentraciones de metabolitos secundarios pueden disminuir, por lo que un manejo adecuado de tanto los nutrientes esenciales como de los micronutrientes es importante para el buen desarrollo de las plantas y que las mismas puedan expresar su máximo potencial genético (Barrameda 2016).

2.7.5 Reguladores de crecimiento

Los reguladores de crecimiento son también llamados biorreguladores, los cuales se han utilizado en la producción agrícola como una manera de mejorarla cualitativa y cuantitativamente debido al efecto que estos generan en los diferentes procesos y órganos de las plantas (Serna *et al.* 2017). El mismo autor menciona que el efecto que estos puedan tener sobre las plantas depende de factores como la etapa de desarrollo de las mismas, estímulos externos y qué parte de la planta lo recibe, entre otras cosas.

Según Pantoja (2012), las auxinas están presentes en toda la planta, pero están en concentraciones mayores en las regiones meristemáticas en crecimiento activo; éstas se pueden encontrar de manera libre en las plantas en concentraciones entre 1 mg/kg a 100 mg/kg de peso fresco. Esta hormona está implicada en varios procesos fisiológicos de las plantas, además de mantener la dominancia apical e inhibir la brotación axilar lateral, puede prevenir la caída de hojas al concentrarse en los pecíolos, entre otras cosas.

El mismo autor resalta que es importante la presencia de auxinas en los bioestimulantes para que ayuden en el proceso de crecimiento y desarrollo de la planta, ya que, por ejemplo, la elongación celular la regula gracias a un efecto sobre la bomba de protones ATPasa en la membrana plásmica, además de un efecto secundario mediado por la síntesis de enzimas. Orrala (2015) menciona que las auxinas se relacionan también con los tropismos de las plantas, estimula el desarrollo radical e interviene en la división celular estimulando el desarrollo de frutos y hojas, aumentando con esto la producción de los cultivos.

Un aumento en el contenido de citoquininas está demostrado que colabora con la longevidad de la hoja además de aumentarle su capacidad fotosintética tanto en condiciones normales como de estrés (Nishiyama *et al.* 2012 citado por Flávio 2014); además ayudan a regular la apertura estomática, tasa fotosintética y transpiratoria, y generan antagonismo con el efecto del ácido abscísico. Por otro lado, Jankiewicz (2003) citado por Tello (2012) menciona que al formarse en algunas ocasiones la unión citocinina-proteína en la superficie de los cloroplastos, se genera un aumento en la fosforilación que sucede en estos, o bien, al unirse al ARN de transferencia controla la síntesis de proteínas o enzimas al ejercer efecto sobre algunos codones.

Las giberelinas ayudan a las plantas en su crecimiento longitudinal debido a que ayudan a su estiramiento y división celular (Taiz y Zeiger, 2006), lo anterior es afirmado también por Salisbury y Ross (2000) citado por Tello (2012), además de mencionar que este regulador tiene dos mecanismos de acción, donde el primero es la aceleración de la división celular al estimular las células que se encuentran realizando la fase G1 y S, acortando el tiempo de esta última. El segundo mecanismo es el crecimiento celular al hidrolizar moléculas como almidón o sacarosa en otras como glucosa y fructosa, donde las mismas son fuente de energía para el crecimiento, además de disminuir el potencial hídrico provocando turgencia en la célula.

Gonçalves *et al.* (2012) encontraron en su investigación que con dosis de 10 mg L⁻¹ de giberelinas se pudo observar efectos en la altura en plantas de arroz en

relación con el control. Este efecto se dio gracias a la elongación de las células del tallo y hojas.

Flávio (2014) recomienda mezclar los diferentes reguladores en distintas cantidades cada uno, por ejemplo, con dosis bajas de citoquininas y dosis altas de giberelinas; se ha demostrado que el número de hojas de las plantas ha aumentado en 18%, el contenido de materia seca de las hojas aumentó también hasta en un 18% usando bajas concentraciones de citoquininas y una mezcla de citoquininas con giberelinas con $0,5 \text{ g ha}^{-1}$. También, se demostró en el estudio realizado por los mismos autores que la altura de las plantas aumentó hasta en un 44% usando estas fitohormonas en diferentes concentraciones.

En algunos cultivos como la coliflor (*Brassica oleraceae* L.), se ha demostrado que con el uso de giberelinas a una dosis de 5 mg L^{-1} de AG₃ se obtuvo una mayor cantidad de biomasa (Serna *et al.* 2017).

2.8 Generalidades de los biorremediadores de suelo

El término biorremediación se puede asociar con otros como fitorremediación en los cuales se usan organismos naturales como plantas o microorganismos, que en conjunto logran una mejora paulatina del suelo y sus características, esto se logra al intensificar la actividad microbiológica o de sus productos en la rizósfera o en el mismo suelo. Estos organismos realizan también una degradación o transformación de compuestos orgánicos a productos metabólicos mediante sus actividades catabólicas que pueden ser utilizados por las plantas. La efectividad de la actividad microbiológica de la biorremediación se puede complementar con prácticas como la bioestimulación y bioaumentación (Maldonado *et al.* 2010; Benavides *et al.* 2006).

2.8.1 Soil Set®

Según Alltech Crop Science (2016) el Soil Set® es un producto a base de metabolitos específicos bacterianos derivados de procesos de fermentación, entre ellos compuestos enzimáticos o aminoácidos. Además de lo anterior, el producto es una fuente de nutrientes que favorece el desarrollo de algunas bacterias del suelo y planta, entre ellos vitaminas como tiamina, nicotinamida, riboflavina,

piridoxina, entre otros. Este producto posee nutrientes como cobre (2%), hierro (1,6%), manganeso (0,8%) y zinc (3,2%).

Su modo de acción radica en la actividad de las enzimas específicas que se estimulan con la aplicación de este producto, ya que las mismas ayudan en la descomposición de residuos vegetales y generan un desbloqueo de nutrientes para que sean asimilables por las plantas y por los microorganismos que son beneficiosos para el desarrollo vegetal, y las mismas enzimas actúan sobre los microorganismos benéficos activándolos para que ejerzan su función. Por otro lado, este producto colabora con la reducción de la incidencia de patógenos y favorece el desarrollo de raíces, al propiciar un suelo más sano (Ulloa 2018²).

2.8.2 Metabolitos específicos bacterianos derivados de procesos de fermentación: vitaminas, compuestos enzimáticos y aminoácidos

Aparte de lo que se mencionó en la sección 2.7.3 sobre metabolitos derivados de procesos de fermentación, se ha demostrado que la mayoría de las plantas poseen en sus diferentes estructuras internas, unos microorganismos llamados bacterias endófitas, las cuales, junto a sus derivados (metabolitos), pueden ser usados en la biorremediación de suelos contaminados con diferentes sustancias como desperdicios con amoníaco, estiércol animal, hidrocarburos, entre otros; o bien, colaborar con las plantas que realizan esta misma función (Notario 2009; Pérez y Leonardo 2013). Los mismos autores mencionan que las bacterias y los metabolitos obtenidos producto de ellas, usualmente alteran el crecimiento de su hospedero, promoviendo además, la salud de la planta; esto sucede debido a que los metabolitos estimulan la producción de fitohormonas como auxinas, citoquininas y giberelinas, le brindan nitrógeno o le solubilizan hierro a la planta (movilizan nutrientes del suelo) y promueven la producción de antibióticos (controlan o inhiben patógenos), además de mejorar la estructura del suelo, entre otros.

² Ulloa, M. 12 jun. 2018. Información de los productos Grain Set y Soil Set (comunicación personal). San Carlos, Costa Rica, AllTech CropScience.

Las plantas son sustratos que sirven para el crecimiento de microorganismos llamados endófitos, los cuales se ubican en la zona rizosférica y/o en los tejidos internos de las mismas, que son el lugar donde se establecen y desarrollan. Hay unas bacterias específicas que se denominan bacterias promotoras del crecimiento vegetal, las cuales pueden ser rizosféricas, endófitas o simbióticas y que promueven el crecimiento de las plantas con acciones como la fijación biológica de nitrógeno, producción de fitohormonas (auxinas, AIA), solubilización de fosfatos inorgánicos, aumento de minerales menores disponibles para la planta, producción de aleloquímicos y sideróforos, protección a la planta ante diferentes tipos de estrés, entre otras (López *et al.* 2015) (Criollo *et al.* 2012). Torriente (2010) menciona además de las anteriores, que estimulan el crecimiento de la raíz y los pelos radicales, mejorando la absorción de agua y nutrientes.

Las raíces y sus exudados son una fuente de alimento rica en aminoácidos, monosacáridos y ácidos orgánicos, los cuales sirven para mantener el crecimiento y actividad de los microorganismos. Por otro lado, en otras zonas donde se albergan estos microorganismos como el simplasto, pared celular o apoplasto, son zonas ricas en azúcares, carbohidratos, aminoácidos y nutrimentos inorgánicos que les permiten su crecimiento y desarrollo (Notario 2009). Por lo anterior, debido a la importancia que tienen estos microorganismos para las plantas, es relevante darles un medio adecuado para su subsistencia, tal como la incorporación de productos como el Soil Set[®], el cual también es fuente de vitaminas como tiamina, nicotinamida, riboflavina y piridoxina, las cuales promueven su desarrollo.

Las vitaminas o algunos de sus derivados son considerados como coenzimas o como grupos prostéticos de algunas reacciones enzimáticas que incluyen oxidación, reducción y descarboxilación (Burton y Routh 1977). Los mismos autores mencionan que algunas de las vitaminas mencionadas anteriormente, específicamente, las del grupo B hidrosoluble tienen este tipo de propiedades, un ejemplo de esto es la nicotinamida que posee niacina (vitamina B₃), la cual es un componente importante de las coenzimas dinucleótido de nicotinamida-adenina (NAD) y fosfato dinucleótido de nicotinamida-adenina (NADP), mismas que ayudan

en actividades de oxidación-reducción a nivel celular, otro ejemplo es la coenzima A la cual es derivada del ácido pantonénico (vitamina B₅)

Por otro lado, las enzimas presentes en el suelo pueden ser producidas por plantas, animales o microorganismos, donde estos últimos son la principal fuente, ya que algunas se localizan en las membranas plasmáticas de las bacterias o en las membranas mitocondriales de los hongos, por ejemplo (Ferrerías *et al.* 2009). Estas cumplen muchas funciones, como en la transformación de energía, formación de moléculas orgánicas, mineralización al transformar compuestos orgánicos complejos en otras sustancias que las plantas pueden asimilar (nutrientes inorgánicos), catálisis de la conversión de la urea a amonio y CO₂ en el caso de la ureasa y en el ciclaje de nutrientes como la fosfatasa, por lo que son consideradas indicadores de la calidad del suelo donde se encuentran (Ferrerías *et al.* 2009 y Henríquez *et al.* 2014). Por otro lado, Cerón y Melgarejo (2005) mencionan que las actividades enzimáticas están relacionadas con la producción de biomasa, remediación de contaminantes y conservación de ecosistemas, además de un aumento en la fertilidad del suelo.

Por lo anterior, un suelo con buenas características, debido al manejo que se le dé, está relacionado con una alta cantidad de enzimas que realicen diferentes procesos en él. Entre las enzimas que son activadas y promovidas por el producto en cuestión, están la ureasa, fosfatasa, nitrogenasa, glucanasa, celulasa, quitinasa, entre otras, donde la mayoría pertenecen al grupo de las hidrolasas que catalizan reacciones hidrolíticas. Además, de las oxidoreductasas, las cuales intervienen en procesos de oxidación fisiológica (Burton y Routh 1977). Cerón y Melgarejo (2005) mencionan que las hidrolasas, transferasas, oxidoreductasas y liasas están directamente relacionadas con los ciclos del C, N, P y S.

En el capítulo 2.7.4 se menciona lo relacionado con la importancia de los aminoácidos en las plantas.

2.8.3 Micronutrientes

El hierro, es un elemento que forma parte de varios sistemas enzimáticos, por lo que ejerce un alto efecto en la enzima implicada en la fijación del nitrógeno,

colabora con las catalasas que intervienen en la fotorrespiración y en el ciclo de Calvin, interviene también en la biosíntesis de lignina y suberina, colabora con las lipoxigenasas las cuales regulan la peroxidación de lípidos implicados en la senescencia celular y de tejidos, además en las combinaciones incompatibles huésped-patógeno por lo que también ayuda en la resistencia a enfermedades (Juárez *et al.* 2012). Por otro lado, una característica importante sobre el hierro, es que su movilización puede darse en forma conjunta o muy similar que la del fósforo, por lo que las enzimas que solubilizan fósforo mencionadas en el apartado anterior (fosfatasa), pueden colaborar con la eficiencia de este elemento a nivel de planta (López 2017).

El cobre es un elemento que actúa en muchos procesos fisiológicos debido a que se presenta en diferentes estados de oxidación, y estas propiedades redox lo hacen ser un elemento esencial. Este puede actuar estructuralmente en algunas proteínas, en el transporte de electrones que participan de la fotosíntesis, en respuestas de estrés oxidativo, en señalización hormonal y, por otro lado, a nivel celular ayuda en el transporte de proteínas y movilización de otros elementos como el hierro. Se señala también que el cobre debe ser adquirido a nivel de suelo para que desde ahí se movilice por la planta y llegue a los diferentes tejidos (Yruela 2005).

En el apartado 2.7.4 se mencionó sobre la importancia de elementos como el manganeso y el zinc.

Por otro lado, en estudios realizados por la empresa Alltech Crop Science (2016), se ha demostrado en cultivos como el maíz, una mayor resistencia al estrés con el uso de Grain Set[®], también se resalta la importancia de la sinergia entre el Soil Set[®] y el Grain Set[®] al ser aplicados juntos en las dosis de 1 litro/ha y 0,6 litros/ha, respectivamente. Esta importancia radica en que la actividad de enzimas como la ureasa se ha visto aumentada en un 132% con respecto al control (2000 mg de NH₄ liberado por gramo de suelo del control comparado con 4500 mg de NH₄ liberado por gramo de suelo de la mezcla de los productos), donde esas unidades responden a la actividad de la ureasa al realizar el proceso de catálisis de urea

donde el producto final es el NH₄. Por otro lado, en arroz, al mezclar estos dos productos, Alltech Crop Science (2016) considera que ayudó en la resistencia del cultivo al ataque de algunos patógenos.

Según datos de Palazón (2015), en un ensayo realizado en el cultivo de alfalfa en España usando las mismas dosis y tratamientos que en el presente ensayo, se obtuvo que el uso de Grain Set[®] y la mezcla de este con el Soil Set[®] tuvieron los mayores niveles de producción, con valores superiores a las 10 ton/ha. Por otro lado, se obtuvieron altos valores de proteína cruda comparados con el control (superiores al 18% vs 15,7% del control). En el mismo cultivo, pero en Estados Unidos, se hicieron experimentos con la mezcla de estos dos productos y se obtuvieron aumentos desde 0,16% al 1,64% en la proteína cruda, además de diferencias en materia seca de 1216,23 kg/ha entre el tratado con los productos y el control.

En cuanto al solo uso del Soil Set[®], se ha encontrado que aumenta la disponibilidad de nutrientes conforme aumentan los días post aplicación y la cantidad de las mismas. El mejor resultado se dio a los 80 días con dos aplicaciones, generando un 12% más de disponibilidad de nitrógeno nítrico y fósforo, un 30% más de potasio, un 19% de calcio y un 33% de magnesio, todos los anteriores, en su condición asimilable. Por otro lado, se ha observado inhibición de patógenos como el caso de *Fusarium oxysporum* y *Mycosphaerella fijiensis* al aumentar la dosis del producto, obteniendo los mejores resultados con un 1% de concentración de producto. Se han visto, además, buenos resultados en aplicaciones de 2 l/ha, en contra de la incidencia de oidio (Alltech Crop Science 2018).

Se realizó otro experimento con Soil Set[®] a 1l/ha vía foliar en pasto, donde se observó un aumento en los kg de materia seca por hectárea, además de una mejora en la calidad del pasto en variables como proteína cruda, fibra cruda, fibra neutro detergente, energía y disponibilidad de elementos como zinc, manganeso, hierro, fósforo, entre otros (Vonk 2014).

2.9 Actividad biológica del suelo

La actividad biológica del suelo se puede cuantificar de distintas maneras, entre las que se encuentran la determinación de biomasa microbiana, lo cual es una medida indirecta para saber la cantidad de microorganismos existentes y esta se puede medir con parámetros fisiológicos como la respiración del suelo, evaluando la actividad de las enzimas presentes en este o bien, midiendo el nivel de fijación de nitrógeno atmosférico (Mogollón y Martínez 2009; Jaurixje *et al.* 2013).

La respiración del suelo está definida por Palma (2011) y Vásquez *et al.* (2013) como la obtención de CO₂, gracias a una oxidación de la materia orgánica presente en el suelo debido a la actividad de los microorganismos. La cantidad de CO₂ que se obtenga se correlaciona directamente con la actividad biológica del suelo y, por ende, con la biomasa microbiana. El mismo autor menciona que para que se de dicha respiración suceden diferentes procesos bióticos como la respiración de la rizósfera o de los microorganismos, procesos químicos como la oxidación química de los minerales como los compuestos de carbono y procesos físicos como la desgasificación del CO₂ del suelo.

Los microorganismos del suelo son de importancia debido a que realizan funciones ecológicas esenciales que ayudan al mantenimiento de los agroecosistemas, estas funciones se dan sobre el suelo o las plantas permitiendo un uso más eficiente del agua y los nutrientes, ejemplo de esto son las bacterias que ayudan con la fijación biológica de nitrógeno, otra función muy importante es que ayudan con la descomposición de la materia orgánica (Di Ciocco *et al.* 2014).

Debido a lo dicho en los apartados anteriores acerca de los productos que están siendo evaluados en este ensayo, y los cuales según menciona la empresa productora, tienen algún efecto sobre el suelo y su actividad microbiológica, surge la necesidad de determinar si hay algún cambio en dicha actividad, o en el suelo mismo, a lo largo del período de estudio, por lo que se realizarán las pruebas de respiración microbiana o del suelo y cromatografía en el suelo.

En suelos como los que serán utilizados para el presente ensayo, que son de uso agrícola continuo, se espera tener una respiración edáfica menor que la que se

obtendría de otros que sean usados menos intensivamente. En un experimento realizado por Di Ciocco *et al.* (2014), se determinó que la respiración edáfica promedio para este tipo de suelos es de $0,045 \text{ mg CO}_2 / \text{g suelo}^{-1} / \text{día}^{-1}$. En el mismo ensayo se menciona que esta actividad microbiana no se ve influenciada por bajas temperaturas ni por lluvias y que el pH está positivamente correlacionado con la respiración edáfica.

En el estudio realizado por Palma (2011), se menciona que en las muestras control de donde obtuvieron los datos de respiración, las cuales provienen de suelos neutros sin presencia de algún tipo de contaminación, la respiración promedio fue de aproximadamente $10 \text{ mg C-CO}_2 / \text{kg suelo} / \text{día}$.

Por otro lado, la cromatografía, es un método físico con el cuál se separan mezclas complejas para identificar sus componentes y en algunos casos su cantidad. En la cromatografía de suelos, se busca observar el estado en el que se encuentra un suelo, determinando la cantidad de minerales, materia orgánica y enzimas presentes que se correlacionan con la actividad biológica presente en el suelo (Restrepo y Pinheiro 2011). Según los mismos autores, los resultados esperados engloban una buena coloración e integración y armonía entre las zonas observadas en la cromatografía; lo anterior simboliza condiciones ideales de formación de humus, alta actividad biológica, suelo con buena estructura y prácticas no dañinas realizadas al suelo en cuestión.

Esta técnica puede ser utilizada como un apoyo para interpretar otros análisis del suelo como el caso del químico o convencional, seguir y evaluar procesos de biorremediación al observar la actividad enzimática, evaluar la calidad de composts, desechos agroindustriales, entre otros aspectos (Nivia 2017).

2.10 Otros métodos para evaluar las variables

Adicionalmente a lo ya mencionado, existen algunos métodos para complementar los análisis de las variables productivas y de calidad del pasto. Uno de ellos es el NDVI (Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada), el cual mide la relación entre la energía absorbida y emitida por los objetos terrestres en diferentes partes del espectro electromagnético, y en las plantas específicamente,

mide el verdor que se relaciona con la cantidad de vegetación presente en cierta superficie y su estado de salud o vigor vegetativo. Los valores del mismo van de -1 a 1 (Meneses 2011).

Este índice se basa en el comportamiento radiométrico de la vegetación relacionado con la actividad fotosintética y la estructura foliar de las plantas. La respuesta esperada es que la vegetación sana se muestre gracias al contraste existente entre el espectro visible (banda roja (RED)) y el infrarrojo cercano (NIR), ya que, los pigmentos de las hojas absorben una buena parte de la energía recibida proveniente de espectro visible, contrario al NIR, que es reflejada por las paredes celulares de las hojas llenas de agua. Por otro lado, cuando la planta está estresada o en una peor condición, el agua celular disminuye, lo que provoca que la reflectividad del NIR baje y suba la del RED al haber una menor absorción por parte de la clorofila (Díaz 2015).

Existe también el método IFM (*In vitro* Fermentation Model) el cual tiene como fin maximizar la eficiencia de la alimentación, en ella se hacen incubaciones de muestras de alimento simulando la fermentación del rumen para hacer una evaluación de la disponibilidad de energía y proteínas en los alimentos, y, por ende, de la digestión de la alimentación en tiempo real. Con ella se mide la producción de gas por la digestión microbiana para con esto medir la degradación de carbohidratos de rápida o de lenta degradación, la biomasa microbiana para determinar la disponibilidad de proteínas o el balance energía-proteína, entre otros aspectos (Alltech® 2019).

Según Giraldo (2007), la digestibilidad de un pasto se refiere a la cantidad de alimento que desaparece en el tracto digestivo y define la proporción de nutrientes que podrían eventualmente ser absorbidos por el animal. Por otro lado, la digestibilidad real es lo que el animal realmente está aprovechando del alimento, mediante esta evaluación, no se toma en cuenta la proteína que proviene del animal por la secreción de nitrógeno endógeno (mucoproteínas, enzimas pancreáticas, saliva, proteína de origen bacteriano, entre otras) y eso permite saber cuánta proviene del alimento (Parra y Gómez 2008). Que haya una mayor digestibilidad

real de la materia seca significa que los animales que consuman el pasto van a aprovechar más sus componentes gracias a los microorganismos ruminales que colaboran con esta acción o bien, posterior al rumen, la materia puede ser aprovechada a nivel de abomaso.

La biomasa microbiana es importante medirla porque depende de esta se puede ver la disponibilidad de proteínas (cuánta es metabolizable por el animal) y el balance proteína-energía en la ración de alimento, además de que estos microorganismos colaboran con la descomposición de los alimentos para que el animal lo utilice para su mantenimiento (Alltech® 2019). Un alto valor de ácidos grasos volátiles producido gracias al pasto que se consume, es beneficioso, ya que, estos son productos de los procesos digestivos fermentativos del alimento específicamente de carbohidratos como polisacáridos, hemicelulosa, celulosa, pectinas, entre otras, los cuales se pueden convertir en glucosa y posteriormente en ácidos grasos. Estas acciones son llevadas a cabo por bacterias y protozoarios en el rumen, las cuales brindan energía y alimento a los mismos microorganismos y al animal. Los que se producen en mayor cantidad son el acético, propiónico y butírico (Zavaleta s.f)

La misma autora menciona que el ácido propiónico, al llegar por sangre al hígado, participa en la producción de glucosa, además en la síntesis de grasas. El ácido butírico llega al hígado en menor cantidad, pero ayuda con la síntesis de grasas más complejas o es oxidado para producir radicales de acetil para ser usados en el ciclo de Krebs y producir CO₂ y energía. Y, por último, el ácido acético es poco metabolizados por el hígado y sale de él a ser utilizado por tejidos extrahepáticos como tejido adiposo, cerebro, glándulas suprarrenales, entre otros.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del área de estudio

El estudio se realizó en Finca Las Nubes, perteneciente al señor Olman Briceño Fallas, la cual está ubicada en Florencia, San Carlos, Alajuela, Costa Rica; este proyecto se creó en el año 2014. La misma cuenta con 21 ha 183 m² de lotes de pasturas destinados a la alimentación de ganado de engorde de raza Angus. En ellos se tiene sembrado diferentes forrajes según las características del lote (*Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha* y *Panicum maximum*). Esta se encuentra en las coordenadas CRTM05 X: 447909.77 Y: 1148377.60.

El sistema de pastoreo es rotacional, donde el ganado se mantiene aproximadamente doce horas en cada repasto, los cuales tienen un área promedio de 2900 m². Los mismos tienen 29 días de descanso y al día 30 el ganado vuelve a ingresar. Las áreas escogidas para el estudio, se han utilizado para el pastoreo desde que fueron sembradas; en las que no se hace ninguna aplicación de fertilizantes, enmiendas o algún otro producto químico o natural. Sin embargo, en el mes tres de la evaluación, se aplicó Coron, Tracite y O-Phos homogéneamente a los cuatro repastos, los tres a una dosis de 1 l/ha (17 set. 2018) (Ver Anexo 1).

Por otro lado, a los repastos evaluados no se le aplica convencionalmente ningún control de plagas y enfermedades. Sin embargo, durante el ensayo se presentó una alta incidencia de la garrapata del género *Amblyomma*, por lo que al tercer mes se realizaron dos aplicaciones de 1 kg de Baeco cepa BV18 (*Beauveria sp.*) y 1 kg de Metaeco cepa MT34 (*Metarhizium sp.*), ambas cepas son de la empresa Bioeco y se especializan en el control de este tipo de plaga (3 set. 2018 y 17 set. 2018).

Según datos del IMN (Instituto Meteorológico Nacional, Costa Rica) y de la SEPSA (Secretaría Ejecutiva de Planificación Sectorial Agropecuaria, Costa Rica) la Finca en estudio se encuentra en una zona que posee dos estaciones climáticas, la seca (marzo-mayo) y la lluviosa (mayo-febrero) con precipitaciones esporádicas en algunas ocasiones. La precipitación promedio es de 3200 mm anuales y 235,8 mm mensuales y es considerada la tercera región más lluviosa del país, la

temperatura promedio es de 26 °C, la humedad relativa oscila entre 80% y 90% y la evapotranspiración potencial promedio es de 1150 mm anuales y la real de 950 mm/año.

De acuerdo con el mapa de orden de suelos de Mata *et al.* (2016), los suelos que predominan en esta región son los de la mezcla de los órdenes utisoles-inceptisoles. Los últimos son suelos de origen reciente que suelen presentar mezclas de varios tipos de arcillas y otros minerales primarios. Son muy utilizados en diferentes actividades agropecuarias como la ganadería y otras, debido a que le generan pocos problemas a los que hacen uso de ellos. Los ultisoles son utilizados en la producción de cultivos menos exigentes, entre ellos pastos de potreros para la producción de ganado de carne, debido a la baja fertilidad y elevada acidez que estos poseen (Bertsch *et al.* 1993).

Al inicio del ensayo (24 may. 2018), se realizó un análisis del suelo de los repastos donde se llevó a cabo la evaluación, esto, para conocer la condición general inicial del mismo (Cuadro 1). El mismo se tomó de dos secciones de los repastos que fueran representativas para toda el área de estudio.

Cuadro 1. Resultado del análisis de suelo tomado de los repastos utilizados para el ensayo en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

N° Lab	Identificación de campo	pH	cmol(+)/L				mg/L				
			Acidez ext.	Ca	Mg	K	Cu	Mn	Fe	Zn	P
S18_300	Lote 20	4,89	0,55	2,89	1,90	0,07	27	100	123	5,03	4,16
S18_301	Lote 18	4,94	0,61	3,35	1,89	0,10	24	81	103	3,74	5,09
Rangos	Minimos	5,5		4,0	1,0	0,2	1,0	5,0	5,0	3,0	10,0
	Máximos	7,0	<0,5	15,0	6,0	0,8	20,0	50,0	50,0	10,0	40,0

N° Lab	Relaciones cationicas	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K	(Ca+Mg)/K	C.I.C.E	%	
							Saturación de acidez	Materia Orgánica
S18_300	Lote 20	1,5	41,3	27,1	68,4	5,41	10,17	1,88
S18_301	Lote 18	1,8	33,5	18,9	52,4	5,95	10,25	2,37
Rangos	Minimos	2,0	5,0	2,5	10,0	>5	10,0	5
	Máximos	5,0	25,0	15	40,0		30,0	10

3.2 Período de estudio

El estudio de campo se llevó a cabo entre los meses de mayo y noviembre del 2018, período en el cual se hizo la aplicación de los tratamientos, los muestreos del forraje (ambas actividades fueron ejecutadas cada 30 días) y, además, la recolección de muestras en noviembre para el análisis de la actividad biológica.

3.3 Área experimental y unidad experimental

El área experimental total fue de 1,137 hectáreas, ésta incluyó cuatro repastos o unidades experimentales equivalente a las cuatro repeticiones. Los repastos que se evaluaron presentaron una condición de terreno con pendiente promedio de 12% y están dispuestos de Oeste a Este. En la Figura 1 se presenta un plano que permite observar los repastos con los números 1, 2, 3 y 4, los cuales tiene áreas de 0,283, 0,258, 0,286 y 0,310 ha, respectivamente.

Cada repasto fue subdividido en cuatro secciones, y sobre cada una se aplicó el tratamiento correspondiente. La identificación y división de cada repasto se hizo mediante fotogrametría, ya que no deben colocarse obstáculos en medio de estos, considerando que los animales deben circular libremente por toda el área del repasto; además de lo anterior, cada parcela se identificó con rótulos pequeños colocados en las cercas del repasto. En la Figura 1, se puede observar también el área de cada una de las secciones (sub parcelas) en las que fueron divididos los cuatro repastos. En cada sub parcela se establecieron 36 puntos de muestreo que corresponden a los seis tiempos de medición con seis observaciones por cada tiempo.



Figura 1. Repastos utilizados y sus divisiones con el área que corresponde a cada una de ellas en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

Fuente: Colono AP Tech, 4 de junio del 2018

3.4 Material experimental

3.4.1 Cultivo

El pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 utilizado para la alimentación animal, fue el medio utilizado para probar la efectividad de los productos Soil Set® y Grain Set® en el desarrollo del mismo. El área de pasto destinada para el ensayo fue sembrada el 2 de junio del 2016. Estos repastos tienen un período de descanso de 29 días y al día 30 reciben el ganado raza Angus para que se alimenten, la rotación se da en las horas de la tarde y noche (doce horas aproximadamente). Dicho lo anterior, se define que en los seis meses que duró el ensayo, cada repasto recibió a los animales una vez por mes.

3.4.2 Suelo

Mata *et al.* (2016) mencionan que los suelos que predominan en la región donde se encuentra la finca en estudio, son los de la mezcla de los órdenes utisoles-inceptisoles. Son suelos oscuros, arcillosos, duros, irregulares, con mucha pendiente, un nivel bajo de pedregosidad y tienen poco encharcamiento. La mayor parte del suelo estudiado posee una capa de materia orgánica en la superficie.

3.4.3 Producto

Los productos que se utilizaron fueron el Soil Set[®] y Grain Set[®], los cuales son un biorremediador de suelos y un bioestimulante respectivamente. El Soil Set[®] es un producto formulado para el mejoramiento del suelo que incluye metabolitos específicos como algunos compuestos enzimáticos y aminoácidos derivados de procesos de fermentación; se aplicó a una dosis de 1 litro/ha. Por otro lado, el Grain Set[®] es un bioestimulante que actúa sobre la actividad hormonal de las plantas que se aplicó en una dosis de 0,6 litros/ha (ambas dosis se aplican en un volumen de 300,6 litros de agua por hectárea). Dichos productos son formulados por la empresa Alltech Crop Science.

Por otro lado, para la obtención de datos de las condiciones climáticas (temperatura, humedad relativa y precipitación), se hizo uso de los datos de la estación meteorológica del Tecnológico de Costa Rica ubicado en Santa Clara, San Carlos, Alajuela.

3.5 Descripción de los tratamientos y método de aplicación

El estudio consistió en la aplicación de los productos Grain Set[®] y Soil Set[®], donde las dosis, frecuencia y observaciones (Cuadro 2), fueron brindadas por Becker (2018) quien es uno de los encargados del proyecto de producción de estos productos en Costa Rica. La distribución de los tratamientos en los cuatro repastos se muestra en la Figura 2.

Cuadro 2. Dosis y frecuencia de aplicación de los tratamientos aplicados en el pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

Tratamiento	Dosis (l/ha)	Frecuencia
Testigo	Testigo absoluto no tratado	-
Grain Set®	0,6	Cada 30 días durante seis meses
Soil Set®	1	Una vez al inicio del ensayo y otra a los tres meses
Grain Set® + Soil Set®	0,6 y 1, respectivamente	El Grain Set® cada 30 días durante seis meses El Soil Set® una vez al inicio del ensayo y otra a los tres meses

(Becker 2018)³

³ Becker, P. 4 may. 2018. Información de los productos Grain Set® y Soil Set® (correo electrónico). San José, Costa Rica, Alltech CropScience.

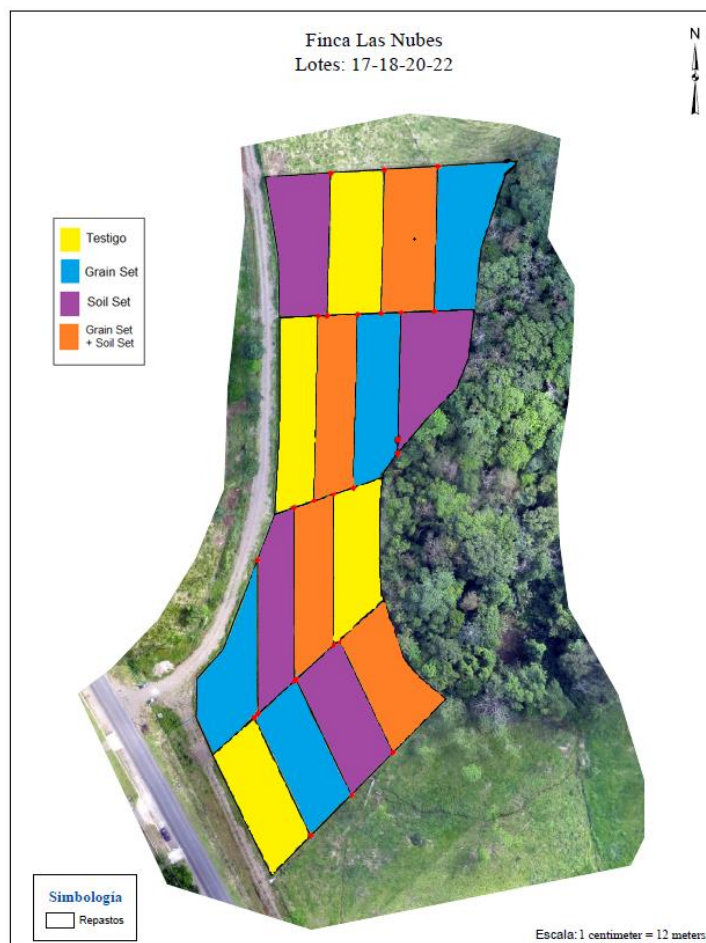


Figura 2. Distribución de los tratamientos en los cuatro repastos (repeticiones) en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

Fuente: Colono AP Tech, 4 de junio del 2018

El trabajo en campo inició ocho días después de que los animales salieron del primer repasto en evaluación, al ejecutarse la primera aplicación de los tratamientos sobre las parcelas ya establecidas. Lo mismo se realizó durante los siguientes tres días en los otros repastos conforme el ganado los fue desocupando. Como se observa en el Cuadro 1, el producto Soil Set[®] se aplicó al inicio del ensayo y la segunda aplicación se hizo a los tres meses y, por el contrario, el Grain Set[®], se aplicó una vez cada 30 días durante los seis meses del proyecto.

Las aplicaciones se realizaron con una motobomba de espalda de 26 litros modelo Shindaiwa ES726 que posee discos de acero para aspersion D3, considerando un volumen de 300,6 litros por hectárea. La calibración del equipo se

realizó para la persona encargada de realizar las aplicaciones durante todo el tiempo de estudio.

Los productos previamente mencionados se aplicaron junto a un coadyuvante con acción mojante y adherente (Nu Film-P), en una dosis de 0,5 ml/litro de agua. Este se utiliza con el fin de que el producto se adhiera de la mejor manera a la planta, pero principalmente como prevención, para evitar el lavado del producto por lluvias, debido a que las mismas son frecuentes en la zona.

3.6 Variables de respuesta

Cuadro 3. Variables de respuesta evaluadas en el pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 durante el ensayo en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela 2018.

Variable	Unidad de medida	Instrumento de medición
Biomasa fresca	Kg/ha	Cuadrícula de 1 x 1 m
Biomasa seca	Kg/ha	Balanza y horno de convección
Materia seca	%	Balanza y horno de convección
Proteína cruda	%	Método de DUMAS
Fibra Ácido Detergente	%	Método de ANKOM Technology
Fibra Neutro Detergente	%	Método de ANKOM Technology
Actividad biológica	mg de CO ₂	Soil CO ₂ Evolution Method

3.7 Metodología de la toma de datos

Las muestras se obtuvieron mediante un muestreo mensual destructivo la mañana antes del ingreso del ganado al repasto (ingresan en la tarde), es decir, en el día 30 (debido a que este es el ciclo de pastoreo) y al día 22 después de haber ejecutado los tratamientos. Esto se realizó durante seis rotaciones, para un total de

seis muestreos. La altura de corte de las muestras fue a 34 cm desde el suelo, que es la altura promedio a la que consumen el pasto los animales de la finca en estudio con un día de estar en cada repasto, por lo que se simula el material consumido por los animales.

Mensualmente, se definieron al azar seis puntos de muestreo (sub muestras) por tratamiento (mediante fotogrametría, haciendo uso del GPSMAP 64s de marca Garmin y del GPS Trimble R10) para un total de 36 durante todo el ensayo (Haug 2018)⁴. Sin embargo, tomando en cuenta las cuatro repeticiones, fueron un total de 144 puntos por tratamiento (Figura 3), estos se tomaron de la parte central del área, dejando dos metros de borde. Lo anterior, se realizó con una cuadrícula de 1 m x 1 m, recolectando con esto el material necesario para los análisis que corresponden.



Figura 3. Puntos de muestreo por tratamiento para los seis meses de evaluación en el pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela 2018. Fuente: Colono AP Tech, 4 de junio del 2018.

⁴ Haug, J. 2 May. 2018. Muestreo de pasto (entrevista). San Carlos, Costa Rica, Colono Agropecuario

3.7.1 Biomasa, materia seca, proteína cruda, fibra ácido detergente y fibra neutro detergente

Una vez obtenidas las sub muestras mencionadas en el apartado anterior, fueron colocadas en sacos debidamente rotulados con el número de tratamiento y repetición a la que corresponden y se trasladaron al laboratorio de Análisis Agronómicos ubicado en el Instituto Tecnológico de Costa Rica, sede San Carlos. En dicho lugar, se procedió a pesarlas cada una por aparte en una balanza de precisión para obtener el peso húmedo de las mismas. Los datos obtenidos se anotaron y estos dieron como resultado la biomasa fresca de la pastura producida durante el tiempo experimental.

Las muestras que se pesaron previamente, se picaron en una picadora de pasto y se tomó una submuestra de cada una, de aproximadamente 250 g, se introdujeron en una bolsa de papel rotulada y se colocaron en un horno de convección a 55 °C durante 72 horas. Una vez secas, se pesaron cada una por aparte con lo que se obtuvo el peso seco. Posteriormente, se procedió a mezclar las sub muestras de los seis puntos de cada tratamiento y repetición, se molieron y con esto se generó una muestra por tratamiento de cada repetición, para un total de 16.

Con los datos del peso húmedo y seco obtenidos a partir de los aproximados 250 g de cada bolsa, se determinó la materia seca de cada una de las muestras, además de la biomasa seca utilizando también el valor de biomasa fresca obtenido anteriormente. Por otro lado, las personas encargadas del laboratorio utilizaron las 16 muestras previamente mencionadas, para determinar la proteína cruda mediante el método de DUMAS, la fibra ácido detergente y la fibra neutro detergente por el método ANKOM Technology.

Para complementar más los resultados obtenidos, se realizó un vuelo con dron el 23 de noviembre de 2018 (al final del ensayo) para la obtención del NDVI (Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada) de los cuatro repastos y observar las posibles diferencias que se puedan presentar entre ellos y que pudieron causar

alguna diferencia en los resultados. Además de lo anterior, se envió una muestra de cada tratamiento de aproximadamente 250 g del pasto ya seco a 55 °C por 72 horas para la obtención del IFM (Modelo de Fermentación In Vitro) realizado por la empresa Alltech Crop Science en Kentucky, Estados Unidos, con el fin de simular lo que el pasto tratado con cada uno de los tratamientos haría en el rumen de los animales al consumirlo y si su calidad para el animal aumenta o disminuye de acuerdo al tratamiento.

3.7.2 Actividad biológica

La actividad biológica presente en el suelo se determinó mediante la obtención de la tasa de respiración del mismo. La misma se realizó en todos los tratamientos en el último mes de evaluación, en tres puntos elegidos al azar en cada tratamiento de cada repetición. Esta evaluación se realizó con la metodología descrita por Anderson y Ingram (1993) llamada Soil CO₂ evolution, la cual se encuentra en el manual de métodos llamado Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Methods. El tiempo que duró esta prueba realizándose fue de 23 horas.

Adicionalmente, se realizó una valoración cualitativa de la condición del suelo, mediante el método de cromatografía (Restrepo y Pinheiro 2011). Con este se pueden observar las condiciones de los minerales, de la materia orgánica y de la actividad biológica que posee el suelo evaluado, las cuales cambian según sea el manejo que se le ha dado a dicho suelo a lo largo del tiempo. Esto se realizó dos veces, una vez a la mitad del ensayo y otra al final, en ambas ocasiones se realizó tomando suelo de los cuatro tratamientos, de las cuatro repeticiones y homogenizándolos para la obtención de cuatro muestras finales (una por cada tratamiento).

Finalmente, para obtener el resultado final, se utilizó la metodología de valoración cuantitativa utilizada por el laboratorio de suelos de la Compañía Palma Tica, ubicada en Quepos, Costa Rica. La misma se trata de una tabla que evalúa el color, la relación entre las partes del cromatograma y la parte terminal, dando una

calificación final obtenida de la sumatoria de los valores que obtuvieron cada una de las tres partes previamente mencionadas.

3.8 Diseño experimental y arreglo de tratamientos

El presente estudio se realizó mediante un diseño experimental de Bloques Completos al Azar (DBCA) con arreglo factorial. Se asignó aleatoriamente los cuatro tratamientos en cada uno de los cuatro bloques (apartos) y los puntos de muestreo dentro de los tratamientos. Cada uno de los cuatro tratamientos estuvieron definidos por la interacción del factor A (en cuatro niveles definidos por la presencia o ausencia de los productos a utilizar) y el factor B (tiempo durante seis muestreos).

La justificación para la elaboración de bloques, es que se cuenta con repastos debidamente delimitados con cerca, con manejos independientes para cada uno.

3.8.1 Modelo estadístico

Se utilizaron dos modelos estadísticos. El primero para evaluar la interacción tiempo tratamiento y el segundo para evaluar los tratamientos en cada muestreo.

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_i + P_j + T_k + P_j * T_k + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable de medición

μ = Media general de los tratamientos (uso o no de los productos)

β_i = Efecto del i-ésimo bloque

P_j = Efecto del j-ésimo producto utilizado

T_k = Efecto del k-ésimo tiempo de medición

$P_j * T_k$ = Efecto de la interacción entre el producto y tiempo de medición

ϵ_{ijk} = Error experimental

$$Y_{ij} = \mu + B_i + P_j + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable de medición

μ = Media general de los tratamientos (uso o no de los productos)

B_i = Efecto de i-ésimo bloque

P_j = Efecto del j-ésimo producto utilizado

ϵ_{ij} = Error experimental

3.8.2 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de correlación de Pearson entre las variables climáticas en estudio y las variables de producción para explorar la base de datos.

El efecto de los tratamientos se evaluó mediante la técnica de Modelos Lineales Generales y Mixtos (MLMix), con corrección de heterocedasticidad con la función Varident para la variable tratamiento. Se aplicó la Prueba de Comparación Múltiple de LSD Fischer para determinar diferencias significativas entre tratamientos.

Todos los análisis estadísticos se realizarán con el programa InfoStat/P (DiRienzo *et al.* 2017), usando un nivel de significancia de 0,05 excepto en correlaciones que junto a este se usó el de 0,10.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Variables productivas

4.1.1 Biomasa seca

De acuerdo con el análisis de varianza realizado para variable biomasa seca por unidad de área, se encontraron diferencias significativas y como se puede observar en las Figuras 4 y 5, el tratamiento que fue estadísticamente diferente a los demás fue el Soil Set[®] y el resto de tratamientos no mostraron diferencias entre ellos. Sin embargo, productivamente hablando, es decir, el rendimiento en cantidad de biomasa seca en kg/ha obtenida, el promedio total del ensayo para el Soil Set[®] fue de 1274, para el Soil Set[®] + Grain Set[®] con 1204, el Grain Set[®] con 1158 y el Testigo con 1145.

Los valores anteriores en kg/ha/año serían de 15 295 para el Soil Set[®], 14 452 para el Soil Set[®] + Grain Set[®], 13 900 para el Grain Set[®] y 13 740 para el Testigo, valores que están dentro del rango de producción de forraje que brinda la distribuidora de las semillas del pasto utilizado, MATSUDA (2017), la cual menciona que es entre 10 000 y 18 000 kg/ha/año.

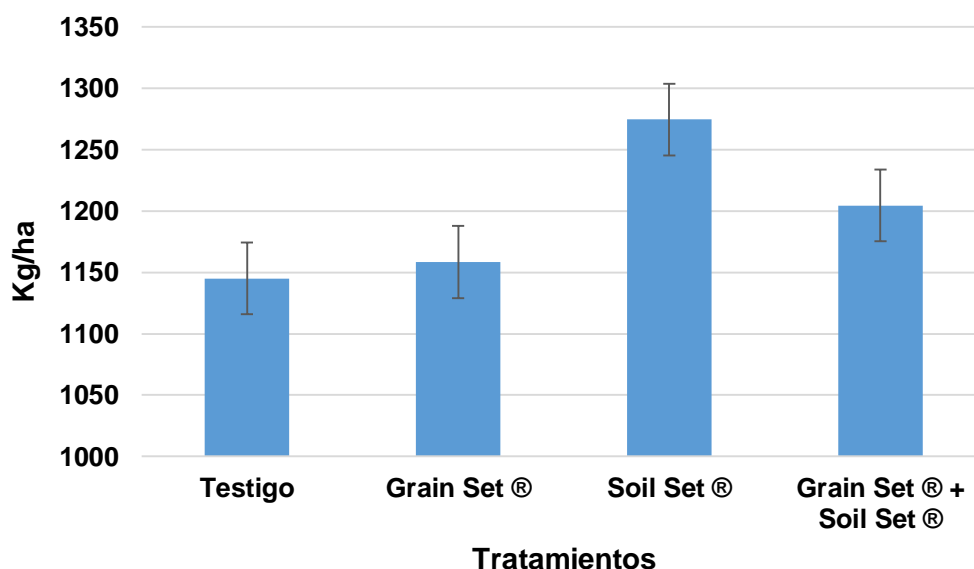


Figura 4. Biomasa seca total promedio (kg/ha) de los cuatro tratamientos de los seis meses de muestreo en pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en Finca Las Nubes Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

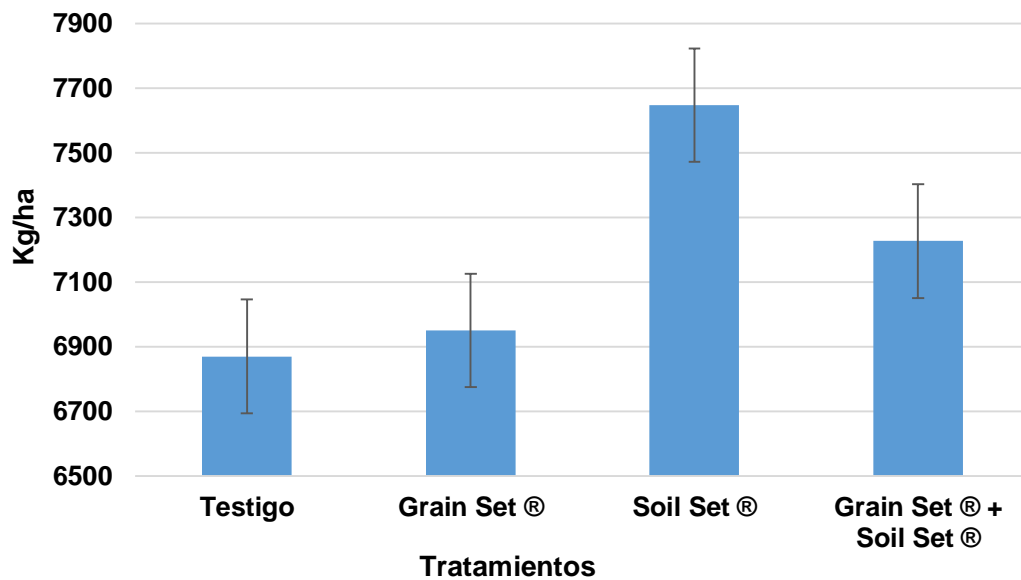


Figura 5. Sumatoria de biomasa seca total (kg/ha) de los cuatro tratamientos de los seis meses de muestreo en pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en Finca Las Nubes Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

Méndez (2002) menciona que los parámetros que influyen directamente en los resultados de esta variable son el número de hojas por planta y la altura, ya que cuando estos aumentan, el peso seco aumenta. Este depende también del balance que existe entre la fotosíntesis y la respiración, del ambiente, edad y variedad de la planta, distribución de asimilados y los contenidos hídricos y nutritivos que también pueden influir en la producción de la biomasa seca (González *et al.* 2018). Cabe resaltar que la pastura estudiada desde antes de iniciar el ensayo, no recibió fertilización alguna, lo que pudo repercutir en que no se obtuvieran valores de biomasa más altos debido a posibles deficiencias del pasto y que por esto no lograra expresar su máximo potencial productivo.

El Soil Set® fue el tratamiento con el que se obtuvo mayor cantidad de biomasa seca promedio (1274 kg/ha) (Figuras 4 y 5), lo anterior se puede atribuir a los diferentes componentes de este producto, ya que, por ejemplo, con la aplicación del mismo, la actividad de diferentes enzimas se vio estimulada (Alltech Crop Science 2016), donde algunas según Henríquez *et al.* (2014) colaboran con la

descomposición de residuos vegetales, generando un mayor desbloqueo de nutrientes en el suelo, los cuales van a ser obtenidos por las plantas radicalmente.

Un ejemplo de los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo de las plantas y que pudo ser desbloqueado por las enzimas ya mencionadas, es el fósforo, el cual según Constanza, Arévalo y Moreno (2014) y Fernández y Rodríguez (2005) suele estar no disponible para las plantas en sus dos formas, orgánico e inorgánico no solubilizado. El orgánico, es hidrolizado por los microorganismos del suelo con ayuda de enzimas como las fosfatasas y fitasas, liberando el fosfato que es asimilable por las plantas.

Los mismos autores mencionan que la enzima citrato sintasa estimula la exudación de ácidos orgánicos y estos son metabolitos producidos por algunas bacterias, los cuales liberan fosfatos y cationes para solubilizar el fósforo inorgánico, algunos ejemplos de estos ácidos son el ácido glucónico, oxálico, malónico o succínico. Constanza, Arévalo y Moreno (2014) mencionan que el modo de acción de estos ácidos radica en que, al ser liberados en el suelo, lo acidifican solubilizando este elemento al quelatar iones metálicos (Ca^{+2} , Mg^{+2} , Al^{+3} , Fe^{+3}) asociados con el fósforo. En un estudio realizado por Álvarez *et al.* (2014) se encontró que, al solubilizar el fósforo, se puede aumentar hasta en 13% el contenido de P en plantas no fertilizadas y en un 73% en plantas fertilizadas con roca fosfórica.

Otras enzimas que está relacionadas con el desbloqueo de nutrientes son las nitrogenasas, las cuales están contenida en las bacterias fijadoras de nitrógeno y se encargan de reducir el N_2 a amonio (NH_4) que es la forma en que las plantas asimilan este elemento (Barea *et al.* 2005 citado por Álvarez *et al.* 2014), las ureasas catalizan la conversión de urea a amoniaco y CO_2 , para luego ser reducido fácilmente a amonio (Ferrerías *et al.* 2009). Por otro lado, las celulasas hidrolizan el enlace β 1,4 de la celulosa generando monómeros de glucosa, en este proceso actúan otras enzimas como la endoglucanasa o la β -glucosidasa, donde la última libera azúcares simples que sirven como fuente de energía para la planta (Guano 2017).

En la Figura 6 también se ejemplifica la función de las enzimas porque se presentan gránulos de almidón en una matriz de proteína (1), donde las proteasas colaboran con la descomposición de proteínas liberando el almidón (2) para que otras enzimas, como las amilasas, actúen sobre el sustrato liberando nutrientes que posteriormente estarán disponibles para las plantas (Becker 2019)⁵

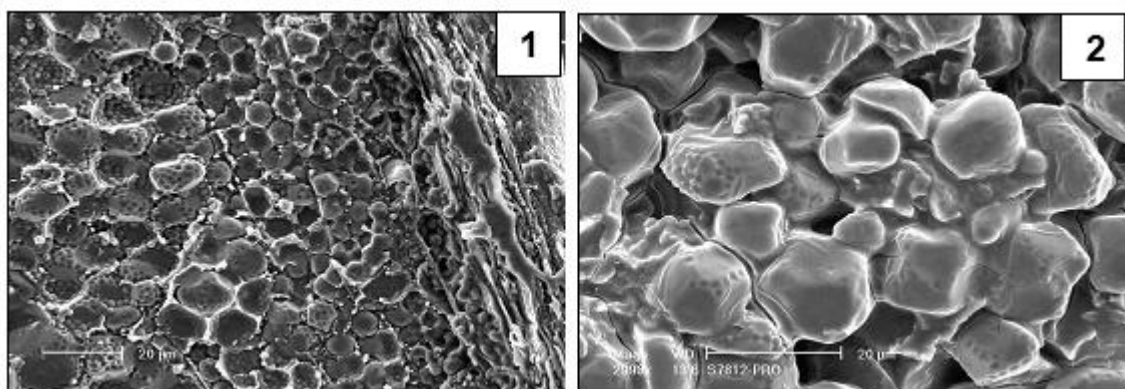


Figura 6. Gránulos de almidón en una matriz de proteína de la materia orgánica del suelo utilizada en un ensayo realizado por Alltech Crop Science (s.f)

Fuente: Kyle McKinney

El producto Soil Set[®] también posee metabolitos bacterianos derivados de procesos de fermentación (Alltech Crop Science 2016), los cuales pudieron tener efecto en el incremento de la biomasa de las plantas tratadas con este, ya que como lo mencionan López *et al.* (2015) y Torriente (2010), estos generan beneficios como un incremento en su crecimiento, desarrollo y salud con la solubilización de fosfatos inorgánicos o con la fijación biológica del nitrógeno ya mencionados en párrafos anteriores, además, mejoran el crecimiento radicular y de los pelos radicales para mejorar la absorción de agua y nutrientes. Los metabolitos también pueden estimular la producción de algunas fitohormonas como auxinas, citoquininas y giberelinas, donde González *et al.* (2007) encontró que, en coliflor, las giberelinas generan un aumento de la materia seca a nivel de tallo y en la altura de las plantas al colaborar con su estiramiento y división celular (Taiz y Zeiger 2006), también

⁵ Becker, P. 24 ene. 2019. Beneficios del Soil Set[®](entrevista). San Carlos, Costa Rica. Alltech CropScience.

Serna *et al.* (2017) menciona que usando giberelinas la cantidad de biomasa aumenta.

Las auxinas según Orrala (2015), ayudan al desarrollo radical y en el crecimiento de hojas gracias a su intervención en la división y elongación celular, lo cual puede repercutir en un aumento de la tasa fotosintética. Las citoquininas colaboran con la longevidad de las hojas, junto con una intervención en el aumento de la capacidad fotosintética y ayudan a regular la tasa transpiratoria de la planta (Nishiyama *et al.* 2012 citado por Flávio 2014). Lo anterior pudo repercutir en el incremento de biomasa que se observó en este en ensayo.

Flávio (2014) usó dosis bajas de citoquininas con dosis altas de giberelinas y encontró que el número de hojas aumenta en un 18% y que la altura de las plantas aumentó en un 44%. Todo lo anterior, termina teniendo efecto en el crecimiento y desarrollo de la planta, porque al haber un incremento del área foliar, se ven beneficiadas las actividades fotosintéticas, lo que a su vez promueve un aumento de la biomasa de la planta y junto con un aumento en la altura, habrá más material disponible como biomasa.

El producto en cuestión colaboró con una mejora en las condiciones microbiológicas del suelo y en la rizósfera (apartado 4.3) y Criollo *et al.* (2012) demuestra que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) generan un aumento en las ganancias de biomasa seca en el pasto *Pennisetum calandestinum*, lo cual se relaciona con el presente ensayo debido a que como ya se mencionó en las características y efectos que genera este producto, se ve estimulada la actividad de los microorganismos del suelo, raíz y planta, dentro de los cuales están incluidas las PGPR. El aumento de la biomasa por acción de estos microorganismos, se debe a una mayor disponibilidad y acumulación de nutrientes y fotoasimilados debido a la capacidad de estos de aumentar la cantidad de nitrógeno, fósforo y algunos minerales menores para que estén disponibles para las plantas, producción de algunas fitohormonas, protección a la planta ante diferentes niveles de estrés, entre otros.

El producto también posee microelementos como el hierro donde Juárez *et al.* (2012) menciona que este forma parte de algunas enzimas, colaborando con su acción, tal es el caso de la nitrogenasa previamente mencionada o las catalasas que tienen efecto en la foto respiración y en el ciclo de Calvin. Por medio de las lipoxigenasas, ayuda en la regulación de la peroxidación de lípidos que regulan la senescencia celular y de tejidos aumentando el tiempo en que la planta se encuentra en un buen estado. Por otro lado, el producto también posee cobre, que actúa estructuralmente en las proteínas y en el transporte de electrones del proceso de fotosíntesis (Yruela 2005).

El zinc, que es otro elemento presente en la formulación del producto, según Barrameda (2016), es un micronutriente que colabora con muchos procesos ya que está ligado a algunos aminoácidos, proteínas, ADN, entre otros, y funciona como ion catalítico o co-catalítico de más de 300 enzimas y como activador de ellas, este actúa además en la regulación de las biomembranas. Si hay escasez de este elemento, la actividad fotosintética disminuye, lo mismo sucede al haber una reducción de la anhidrasa carbónica, al inhibir la síntesis de proteínas porque disminuye la ARN polimerasa que repercute en un menor crecimiento y una menor cantidad de materia seca en las plantas (Lizarazo *et al.* 2013). Los mismos autores mencionan que el manganeso colabora en algunos procesos de síntesis de proteína, activación de enzimas, entre otros, y con esto mantener la producción adecuada de materia seca, además de regular la síntesis de isoprenoides que forman parte los carotenoides o la clorofila que son elementos importantes para que se lleve a cabo la fotosíntesis.

La empresa fabricante de los productos y otros investigadores, han hecho algunos ensayos en diferentes productos para comprobar la eficiencia de los mismos, por ejemplo, en un estudio realizado por Vonk (2014) en producción de forraje de gramíneas, donde se aplicó el Soil Set[®] a 1 l/ha versus un testigo, se observó que la densidad de las raíces aumentó con la aplicación del producto, lo que según Guevara y Guenni (2013) puede beneficiar a las plantas, ya que, habiendo una mayor densidad de raíces en el suelo colabora con la tolerancia a

diferentes tipos de estrés generados por condiciones de sequía por ejemplo, lo cual le permite a las plantas producir la óptima cantidad de biomasa o al menos, acercarse a ella. De igual forma, los mismos autores mencionan que las raíces se engrosan en los primeros estratos, y en la parte inferior del suelo está la mayor densidad de ellas, lo cual les da la capacidad de cubrir gran parte del mismo para buscar agua y nutrientes necesarios para su desarrollo. En el mismo estudio se observó una mayor cantidad de kg/ha de biomasa o materia seca con respecto a donde no se aplicó Soil Set[®], los cuales son resultados que concuerdan a los observados en las Figuras 4 y 5.

Sin embargo, se realizaron ensayos donde se utilizan el Soil Set[®] y el Grain Set[®] juntos, obteniendo resultados positivos producto de esta sinergia, siendo superiores al uso de solamente uno de los productos, un ejemplo de ellos es el realizado por Palazón (2015) en España en el cultivo de alfalfa, donde con la mezcla de estos dos productos y solo el uso del Grain Set[®], se obtuvieron producciones mayores a 10 t/ha. Sin embargo, al usar solamente el Soil Set[®] se obtuvieron valores inferiores. En el mismo cultivo, pero en Estados Unidos, se obtuvo un aumento de materia seca de 1216 kg/ha al usarse ambos productos en comparación con el testigo (Maloney 2014).

En un ensayo en arroz realizado por Ulloa (2016), donde también se evaluaron los dos productos en conjunto versus un testigo, se obtuvo que con el uso de estos se generó un incremento del 20% del rendimiento en grano debido a que se cosecharon 29,3 sacos por hectárea más que en el testigo. En el mismo ensayo se demostró que con estos productos también se puede mantener la sanidad del cultivo, lo cual repercute en el buen desarrollo y crecimiento de la planta.

Los datos anteriores no coinciden con lo obtenido en este ensayo, al no observarse que al usar ambos productos se obtuvieran mejores resultados que solo con el uso del Soil Set[®], esto se puede deber al tipo de cultivo que se evaluó, ya que, el producto ha dado buenos resultados a nivel de grano en arroz o en forrajes utilizados para consumo animal (Ulloa 2019) o bien, en los experimentos realizados por Palazón (2015) y Maloney (2014), los cuales fueron en una leguminosa y este

es en una gramínea. Lo anterior se puede deber también a las condiciones climáticas predominantes de la zona, ya que, en algunas de las ocasiones, cuando correspondía la aplicación mensual del producto de manera foliar, había precipitaciones abundantes y aunque se tomaron medidas preventivas para evitar el lavado del producto como la aplicación de un coadyuvante con acción mojante y adherente o evitar aplicar durante o inmediatamente después de la lluvia, las condiciones fueron muy variables y pudieron afectar la adherencia y penetración del producto. El Soil Set® se pudo ver menos afectado por esto, debido a que, este producto no necesariamente ingresa a nivel foliar, y si lo anterior se llegó a presentar, el mismo puede ejercer su efecto a nivel de suelo y raíz y desde ese medio ingresar a la planta.

Otra respuesta a las diferencias en los resultados de este ensayo con respecto a otros donde se usaron ambos productos (Grain Set® + Soil Set®), es por las condiciones edáficas que diferencian las zonas de estudio de los ensayos, ya que, en Costa Rica, por ejemplo, la mayoría de suelos son ricos en materia orgánica y en actividad biológica, y en otras latitudes esta puede variar o ser menor, lo cual no arrojaría los mismos resultados, generando diferencias en la eficiencia de un producto como el Soil Set®. Por otro lado, los pastos tropicales, como los del género *Brachiaria spp.*, son pastos muy rudimentarios y suelen adaptarse a condiciones de estrés por clima u otros factores, suelos de baja fertilidad, defoliación intensiva y frecuente, entre otras, lo cual los hace ser plantas que pueden sobrevivir sin fuentes externas como lo son los bioestimulantes y por ende, no mostrar mejoras significativas como si se muestran en otro tipo de cultivos ante la aplicación de esta clase de insumos (Navajas 2011).

El comportamiento de los tratamientos a lo largo de los seis muestreos se muestra en la Figura 7, donde se observa que en todos los tratamientos en el mes 2 de muestreo, hubo un incremento en la biomasa seca para una posterior disminución, hasta que en el mes cinco los tratamientos Testigo, Soil Set® y Grain Set® + Soil Set® tuvieron un leve aumento para que luego los dos últimos decrecieran

nuevamente en el sexto mes y el Testigo y el Grain Set® se mantuvieron constantes. En el análisis de varianza se encontraron diferencias significativas entre muestreos.

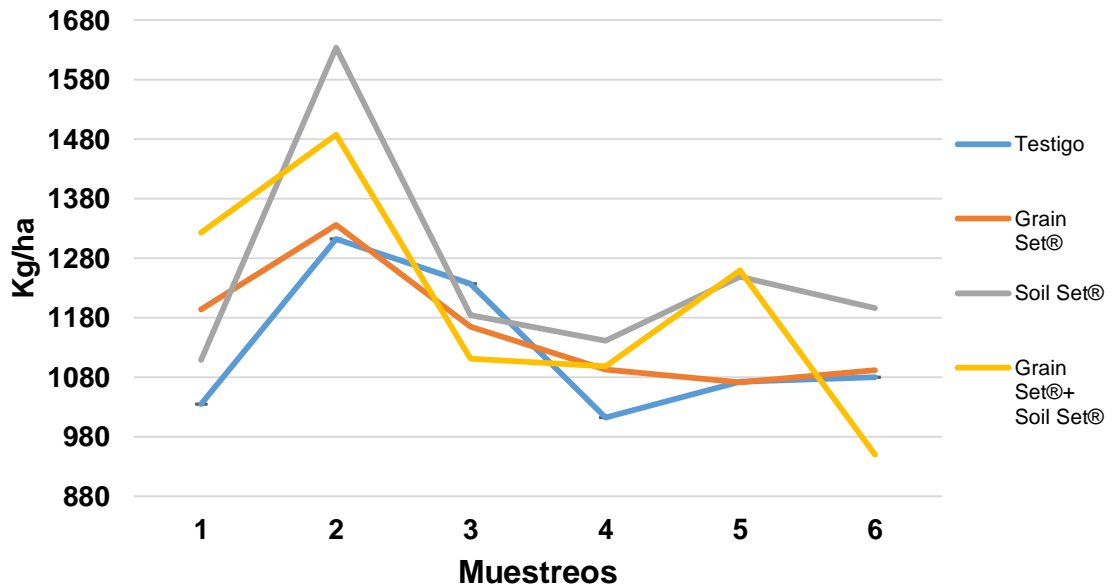


Figura 7. Biomasa seca promedio mensual (kg/ha) de los cuatro tratamientos durante los seis muestreos realizados en el pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en Finca Las Nubes en Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

El aumento en el mes 5 pudo deberse a que diez días antes del cuarto muestreo (realizado en el mes 4) se hizo una fertilización uniforme en todos los repastos donde se aplicó nitrógeno, fósforo y potasio, por lo que la misma se pudo ver reflejada alrededor de un mes después, lo cual concuerda con lo encontrado por Riaño *et al.* (2004) en un experimento realizado en café, que la acumulación de elementos como el nitrógeno y el potasio están relacionados con la acumulación de peso seco. Además, con lo anterior, y observando la Figura 7, se puede determinar que el bioestimulante y el biorremediador necesitan de un complemento para llevar a cabo sus funciones, tal es el caso de la nutrición, porque sin esta, se puede observar en la misma figura que la biomasa seca iba disminuyendo conforme transcurrían los muestreos. Una función del Soil Set® que fue mencionada previamente, es la colaboración con las raíces para la absorción de nutrientes, pero

habiendo escasez de estos en el suelo, el producto no puede tener la eficiencia deseada.

Por otro lado, el aumento de biomasa que se presentó en el mes 2 y que pudo influir en el mes 5 también, fue la precipitación que hubo durante esos meses. En la Figura 8 se observa el patrón de lluvias junto con el comportamiento de la biomasa seca, y se determina que en los meses donde aumentó la cantidad de biomasa seca, la precipitación superó los 400 mm y, por el contrario, en los meses donde la biomasa fue menor, la precipitación fue inferior a los 250 mm mensuales.

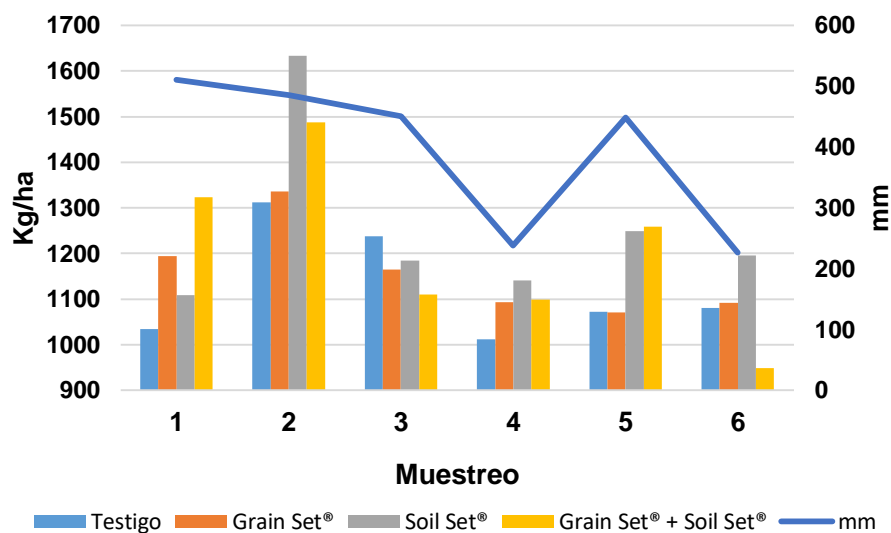


Figura 8. Biomasa seca y precipitación promedio mensual (kg/ha) y mm respectivamente de los cuatro tratamientos durante los seis muestreos realizados en el pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en Finca Las Nubes en Florencia, San Carlos, Alajuela. 2018.

Estos picos de aumento de biomasa en el mes 2 y 5, tuvieron valores de precipitación de 485,6 y 448,7 mm respectivamente, y es probable que el pico de biomasa seca del mes dos fue más sobresaliente debido a que en el mes previo a este muestreo hubo una mayor cantidad de lluvia de 511 mm, esto es confirmado por Barszez (1998) citado por Inoue y Iribas (2013), al mencionar que según sea la cantidad de lluvias recibidas por los forrajes en el mes anterior, así se verán reflejadas las variaciones en la producción y crecimiento. Riaño *et al.* (2004), informan que la interacción genotipo-ambiente regula la velocidad de acumulación

de peso seco y la manera en que se distribuye dentro de la planta. En el apartado 4.4 se discutirá sobre la correlación del clima y las variables estudiadas en esta investigación según el tratamiento.

Durante la toma de datos, se pudo observar una alta variabilidad de los mismos en todos los tratamientos de todos los muestreos, por lo que un aspecto importante a considerar es la altura de corte realizada por los animales durante el pastoreo que fue de aproximadamente a 34 cm desde el suelo y que no se hizo corte de homogenización del repasto posterior a la salida de los animales (cada 30 días), debido a que se quiso hacer el ensayo lo más similar a las condiciones normales de trabajo de la finca. Lo anterior pudo generar un aumento en la heterogeneidad de los pastos y obtener valores diferentes inclusive en las repeticiones obtenidas del mismo tratamiento, esta variabilidad se pudo deber de igual forma a que no todos los animales comieron a la misma altura y puede que unas plantas estuvieran más pastoreadas que otras.

Sin embargo, en el estudio realizado por Rincon (2011) y en otros mencionados por los mismos autores en su artículo, se respalda la altura de corte y el intervalo de pastoreo que se utilizó en este ensayo, donde se afirma que para la especie *B. brizantha* cv. Toledo, la mayor altura de rebrote y la mayor producción de forraje se presentó después de 30 días de descanso y a una altura de corte de 30 cm, datos que coinciden con el procedimiento utilizado para este ensayo.

La importancia de realizar el pastoreo con la intensidad adecuada es porque el pasto necesita de un remanente de hojas jóvenes que inicien con el proceso fotosintético ayudadas por las reservas orgánicas (carbohidratos y compuestos nitrogenados) que hayan quedado en los tallos de la planta, para que juntos logren activar el rebrote y mantener la producción (Rincón *et al.* 2008).

4.2 Variables de calidad

4.2.1 Materia seca, proteína cruda, fibra neutro detergente y fibra ácido detergente

Tomando en cuenta los valores de materia seca, proteína cruda, fibra neutro detergente y fibra ácido detergente arrojados por la investigación como parámetros de evaluación de la calidad nutricional del pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos según el análisis de varianza.

Además, al evaluar las diferencias entre muestreos, tratamientos o la interacción entre ellos, se obtuvo que para la variable materia seca, fibra neutro detergente y fibra ácido detergente no se presentaron diferencias significativas entre la interacción tratamiento x muestreo y en el tratamiento, pero si entre muestreos. Por el contrario, para la proteína cruda no hubo diferencias significativas en ninguno de los anteriores. Dichas diferencias entre muestreos se pueden explicar por factores ambientales, lo cual se discutirá en la sección 4.4.

En el Cuadro 4, se puede observar que los datos no siguieron una tendencia entre tratamientos a lo largo de los muestreos, pero estos y los datos del promedio presentados en el Cuadro 5 si coinciden con lo reportado en la literatura por algunos autores. En este último cuadro se puede observar en los mínimos y en los máximos la alta variabilidad entre los datos de las cuatro variables, lo cual puede explicar la razón del porqué no se encontraron diferencias significativas al realizar el análisis estadístico.

Cuadro 4. Valores medios de Materia Seca, Proteína Cruda, Fibra Neutro Detergente, Fibra Ácido Detergente, para los cuatro tratamientos aplicados al pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en Finca Las Nubes en Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

Muestreo	Tratamiento	MS (%)	PC (%)	FND (%)	FAD (%)
1	Testigo	22,74	9,23	67,00	36,93
	Grain Set®	22,08	9,85	66,95	36,63

	Soil Set [®]	23,45	9,85	66,20	35,33
	GrainSet [®] +Soil Set [®]	22,76	8,90	67,95	36,10
2	Testigo	20,56	9,23	70,18	39,00
	Grain Set [®]	21,48	8,63	69,68	39,90
	Soil Set [®]	22,16	8,35	69,90	39,88
	GrainSet [®] +Soil Set [®]	20,31	9,00	69,60	39,98
3	Testigo	23,63	9,55	70,15	39,25
	Grain Set [®]	23,09	9,35	70,28	39,75
	Soil Set [®]	22,47	9,75	69,08	39,30
	GrainSet [®] +Soil Set [®]	23,15	9,33	69,23	38,48
4	Testigo	25,11	9,18	70,08	36,15
	Grain Set [®]	24,88	9,55	69,20	35,53
	Soil Set [®]	24,21	9,80	69,50	36,13
	GrainSet [®] +Soil Set [®]	25,09	9,48	70,65	36,70
5	Testigo	28,05	9,43	68,35	37,68
	Grain Set [®]	29,79	8,85	68,98	37,48
	Soil Set [®]	27,93	9,00	69,08	37,80
	GrainSet [®] +Soil Set [®]	28,32	8,98	68,50	37,90
6	Testigo	24,94	9,18	69,90	35,80
	Grain Set [®]	25,51	8,78	69,75	35,90
	Soil Set [®]	23,99	9,25	69,50	35,50
	GrainSet [®] +Soil Set [®]	24,00	9,25	69,15	34,95

Cuadro 5. Valores promedio, mínimos y máximos de Materia Seca, Proteína Cruda, Fibra Neutro Detergente, Fibra Ácido Detergente, para los cuatro tratamientos aplicados al pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en Finca Las Nubes en Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

	Promedio	Mínimo	Máximo
Materia seca (%)	21,4	20,3	29,7
Proteína Cruda (%)	9,2	8,35	9,85
Fibra Neutro Detergente (%)	69,1	66,2	70,6
Fibra Ácido Detergente (%)	37,4	34,9	39,9

Para los datos obtenidos en cada una de las variables, Aparecida de Pinho Costa *et al.* (2007) mencionan que, para un intervalo de corte de 30 días y en el mismo pasto utilizado en esta investigación, se esperan obtener valores promedio de 21% de materia seca, 12,34% de proteína cruda, 65,51% de fibra neutro detergente y 34% de fibra ácido detergente. Los datos de Materia Seca promedio del Cuadro 5 están acorde a estos reportes, mientras que la FND y FAD son superiores y la Proteína Cruda es inferior a los reportados por la literatura.

Sin embargo, algunos datos referidos al contenido de Materia Seca presentados en el Cuadro 4, se asemejan a los reportados por Canchila *et al.* (2009), quienes mencionan que ésta variable para pastos del género *Brachiaria spp.* puede oscilar entre 23,4% y 25,7% dependiendo de la especie. En cuanto a la Proteína Cruda, Cuadrado *et al.* (2004), en su investigación mencionan que para la época lluviosa y para esta misma especie y accesión de pasto, la proteína cruda ronda el 11,5%, la que es superior igualmente que los datos obtenidos en este ensayo. Sin embargo, la misma está dentro de rango esperado para este pasto ya que MATSUDA (2017) menciona que los datos de dicha variable deben oscilar entre 8,7% y 13,5%. Lo anterior se respalda con lo dicho por Close y Menke (1986) citado por Navajas (2011), que las gramíneas del trópico son consideradas de menor calidad que las que son usadas en zonas templadas, porque, aunque de ellas se obtienen buenos rendimientos, son deficientes en proteína cruda y relativamente altas en fibra.

Entre otros datos, Cuadrado *et al.* (2004) brindan valores para la FND de 69,2% y para la FDA de 43,6%, donde el porcentaje de la primera variable es similar a los datos obtenidos en este ensayo, lo cual posiblemente se deba a que los autores ya mencionados obtuvieron sus datos para la época lluviosa, y esta investigación se realizó en la época de invierno. Los datos de la FDA son inferiores a los reportados por estos autores.

Otro motivo por el cual no se encontraron mejoras en las variables de calidad, es que los productos que se utilizaron en este ensayo, específicamente los bioestimulantes, colaboran con las plantas en aspectos como aumentar la defensa de estas ante diferentes situaciones de estrés, mejorar la producción en cultivos que produzcan fruto y proporcionar un mejor desarrollo vegetativo, vigor en la brotación y un aumento radicular, no mencionando nada sobre incrementos en las variables de calidad (Granados 2015) (Carrera y Canacuan 2011). Además, usualmente no hay nutrimentos en cantidades óptimas para la producción de forrajes, por lo que este tipo de plantas están acostumbradas a adaptarse a suelos con estas características, lo cual muchas veces no permite que los mismos puedan expresar su máximo potencial (Jarma *et al.* 2012), por lo que esto pudo suceder en este ensayo, ya que como se ha mencionado, los repastos utilizados no recibían un plan de nutrición y durante la evaluación solo se aplicó una fertilización en la mitad de este. De lo anterior, se puede predecir que los productos Grain Set® y Soil Set® no tuvieron influencia en las variables de calidad.

4.3 Actividad biológica del suelo

En el análisis de varianza realizado para la variable de actividad biológica del suelo, la cual fue medida en mg de CO₂ obtenidos en un área y tiempos determinados, se encontró diferencias significativas, y la prueba de medias de esta variable (Cuadro 6) indicó que el suelo tratado con Soil Set® presentó mayor media en cuanto a respiración microbiana, siendo diferente de la aplicación de este producto junto con el Grain Set®, el cual ocupa el segundo lugar. Por último y siendo estos diferentes a los dos mencionados anteriormente, pero iguales entre ellos, en

los suelos donde se aplicó solamente Grain Set® y el Testigo fueron donde se obtuvo menos respiración.

Un dato importante, es que los resultados previamente dichos, son semejantes a los obtenidos en la variable “biomasa seca” ya discutida, lo que podría indicar que ambas variables están relacionadas entre sí. Lo anterior se puede deber a que la actividad enzimática que pudo generar un aumento en la biomasa seca, es promovida por acción de microorganismos presentes en el suelo, los cuales son uno de los principales productores de estas, de manera intra o extracelularmente (Ferrerías *et al.* 2009).

Cuadro 6. Prueba de medias de la variable respiración microbiana del suelo en los cuatro tratamientos en mg CO₂/86,5cm²/día en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

Tratamiento	Medias	E.E	
Testigo	10,56	0,64	C
Grain Set®	11,55	0,55	C
Soil Set®	16,13	0,73	A
Grain Set® + Soil Set®	14,12	0,42	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) usando la prueba LSD Fisher

Según Guerrero *et al.* (2012), al analizar estos resultados, se debe tomar en cuenta que el carbono metabolizado por los microorganismos edáficos puede tomar varios rumbos, entre ellos, irse a la atmósfera como CO₂ por medio de la respiración metabólica de estos individuos, que es el que se puede medir con el método utilizado en este ensayo, se puede descomponer en compuestos más simples para el aprovechamiento de la planta o los mismos microorganismos o bien, se puede almacenar en la misma biomasa microbial. Los mismos autores mencionan que la respiración del suelo o respiración edáfica basal se da debido a la respiración de la rizósfera, de la fauna del suelo y la mineralización de carbono proveniente del suelo o de desechos.

Una parte del carbono presente en el suelo no se ve reflejado en estos valores, ya que según Vásquez *et al.* (2013), hay diferentes tipos de carbono, entre ellos el carbono total, oxidable, no oxidable, el que está en la fracción húmica y el difícilmente oxidable. El carbono no oxidable, por ejemplo, es considerado como recalcitrante o muy estable y se requiere de alta energía para su oxidación o reducción, por lo que los microorganismos no ejercen efecto en él.

Los resultados de la respiración obtenida en el suelo tratado con Soil Set[®], mostrados en el Cuadro 6, pueden ser explicados con que este producto se enfocó tanto en la salud del suelo como en la parte radical de la planta y entre sus componentes tiene metabolitos bacterianos derivados de procesos de fermentación (Alltech Crop Science 2016), los cuales según Perez y Leonardo (2013) benefician la rizósfera de la planta debido a que estos pueden estimular la producción de algunas fitohormonas como auxinas o bien, mejoran la estructura del suelo, situaciones que generan un aumento en el desarrollo radical.

Al verse beneficiada la zona radical, se llevó a cabo un aumento en la secreción de exudados por parte de la raíz, donde según Kaštovska & Šantrůčková, (2007) citado por WingChing-Jones y Uribe (2015) están compuestos de carbohidratos, aminoácidos y ácidos orgánicos, los cuales al moverse hacia el suelo benefician a los microorganismos presentes en este, al funcionar como alimentos o sustrato para ellos. Además, los mismos exudados modifican las propiedades de los suelos como estructura, porosidad, pH, entre otras, las cuales a su vez influyen en la actividad de los microorganismos (IGAC 1993 citado por Mora 2006), por otro lado, los mismos autores mencionan que los pastos *Brachiaria spp.* son plantas que modifican positivamente la estructura del suelo, cosa que favorece a los microorganismos y sus funciones.

Aunado a lo anterior, Di Ciocco *et al.* (2014) menciona en su investigación, que los suelos que posean un mayor, más sano y estable sistema radical, como el caso de cultivos de ciclo más largo como el pasto, comparado a otros que su ciclo dura menos de un año, puede presentar una mayor cantidad de microorganismos a nivel de suelo.

Por otro lado, el Soil Set® debido a la activación que ejerce sobre algunas enzimas, tal y como se mencionó en el apartado 4.1.1, pudo generar beneficios para el mantenimiento de los microorganismos que habitan en el suelo, un ejemplo es la β -glucosidasa que se encarga de hidrolizar carbohidratos de bajo peso molecular para producir azúcares, los cuales son utilizados por estos microorganismos para su sobrevivencia (Eivazi y Tabatabai 1990 citado por García 2017).

Para fortalecer lo anteriormente discutido, se presenta una tabla realizada por Woods End Research (1997) citado por USDA (1999) que posee índices de respiración del suelo en kg de C (en CO₂) /ha/día, con la cual se puede estimar el estado de un suelo, la misma se muestra a continuación:

Cuadro 7. Índices generales para clases de respiración del suelo, y estado del suelo, en condiciones óptimas de temperatura y humedad, primordialmente para uso agrícola (Woods End Research (1997))

Respiración del suelo kg C (en CO₂)/ha/d	Clase	Estado del Suelo
0	Sin actividad del suelo	El suelo no presenta actividad biológica y es virtualmente estéril.
< 10.64	Actividad del suelo muy baja	El suelo ha perdido mucha materia orgánica disponible y presenta poca actividad biológica.
10.64 – 17.92	Actividad del suelo moderadamente baja	El suelo ha perdido parte de la materia orgánica disponible y la actividad biológica es baja.
17.92 – 35.84	Actividad del suelo mediana	El suelo se está aproximando, o alejando, de un estado ideal de actividad biológica.
35.84 – 71.68	Actividad del suelo ideal	El suelo se encuentra en un estado ideal de actividad biológica y posee adecuada materia orgánica y activas

			poblaciones de microorganismos.
> 71.68	Actividad del suelo inusualmente alta	suelo	El suelo tiene un muy elevado nivel de actividad microbiana y tiene elevados niveles de materia orgánica disponible, posiblemente a través del agregado de grandes cantidades de materia orgánica fresca o abonos.

Al convertir los datos obtenidos en este ensayo a las mismas unidades de los datos del Cuadro 7, se obtuvo que el suelo del testigo genera 12,2 kgC/ha/día, el del Grain Set® 13,4 kgC/ha/día, el del Soil Set® 18,6 kgC/ha/día y el del conjunto Grain Set® + Soil Set® 16,4 kgC/ha/día. Y según la clasificación, el suelo de todos los tratamientos excepto el del Soil Set® tuvo una actividad moderadamente baja debido a una posible pérdida de materia orgánica disponible y una disminución en la actividad biológica.

Por otro lado, el suelo donde se le aplicó Soil Set® tuvo una actividad mediana acercándose más al estado ideal de actividad biológica, de igual manera si observamos el valor del suelo donde se aplicó la mezcla de ambos productos, tuvo cercanía con el límite para formar parte de la clase de actividad del suelo mediana. Lo anterior demuestra que con la aplicación del producto Soil Set® al suelo, solo o en compañía, este tendió a tener mejores características y actividad microbiológica.

Según algunos autores, la cantidad de respiración obtenida en los tratamientos se puede ver modificada por algunos factores, entre ellos, la intensidad de pastoreo en las diferentes zonas de cada repasto, tal y como lo menciona Kaschuk *et al.* (2011) que tanto la biomasa como la actividad microbiana disminuyen conforme aumenta el nivel pastoreo de los animales, por la compactación que este provoca en el suelo, ya que según USDA (1999) la aireación se ve disminuida por una disminución en la porosidad, lo que reduce o inhibe el intercambio gaseoso

necesario para la respiración. Por otro lado, el suelo estudiado no ha sido víctima de procesos que rompan la estructura del mismo como el arado que pueda incrementar las poblaciones microbianas, ya que según Mora (2006), después de que hay ruptura del suelo, la cantidad de organismos puede aumentar entre un 30% y 40%, debido a cambios en la porosidad que contribuye a la aireación.

Un factor químico que puede influir en la respiración es el pH, el cual según el análisis de suelo que se obtuvo al inicio del ensayo, estuvo alrededor de 5,3 y según Arroyo y Quesada (2004) citado por Palma (2011), un pH neutro (6,4 - 7,9) favorece el crecimiento de los microorganismos, por lo que este pH inhibe hasta cierto punto su actividad. Sin embargo, en el experimento realizado por Ramos y Zúñiga (2008) a nivel de laboratorio, no se encontraron diferencias en la tasa de respiración en diferentes pH, desde los más ácidos hasta los básicos.

Los mismos autores estudiaron las variables climáticas como la humedad y la temperatura y se encontró que también influyen en la tasa respiratoria de estos microorganismos, ya que, en su experimento, mencionan que la respiración está muy influenciada por el potencial hídrico (Jenkinson (1992) citado por Mora (2006)), además que conforme aumenta el porcentaje de humedad, así va a aumentar también la tasa de respiración. Por otro lado, la tasa respiratoria en ese mismo ensayo aumentó conforme se incrementaba la temperatura hasta llegar a un punto máximo alrededor de 37 °C donde empieza a disminuir nuevamente, y donde la temperatura óptima fue de 27,5 °C.

De igual manera la USDA (1999) menciona que por cada 10 grados Celsius que la temperatura aumente, la actividad microbiana se duplica estabilizándose alrededor de los 35 °C, para luego disminuir, lo que concuerda con lo anteriormente descrito. Por lo que la temperatura del suelo y por ende los microorganismos, pudieron verse afectados por factores como la radiación solar predominante durante el día que se tomaron los datos, la cantidad de plantas que rodeaban los frascos de NaOH (ya que fueron colocados al azar), la presencia o ausencia de árboles en los repastos, entre otras cosas, es decir, los diferentes microclimas que se pudieron generar en todos los repastos.

La precipitación también puede generar cambios en la cantidad de respiración obtenida, ya que se puede presentar una disminución en la variable actividad biológica porque con las lluvias puede haber pérdida de algunos compuestos solubles, los cuales sirven como sustratos para la emisión de CO₂ (Abril *et al.* 2007 citado por Carranza 2012) y desde que se inició el presente ensayo a finales de mayo hasta noviembre del 2018 que fue el mes donde se midió esta variable, habían acumulados alrededor de 2478 mm de lluvia.

En un experimento realizado por Gadea y Furcal (2018)⁶ utilizando el mismo método *in situ* que el que se utilizó para este ensayo, se obtuvo un promedio de 11,6 mg de CO₂ en repastos de lechería con condiciones edafoclimáticas similares a las de este ensayo y donde no se ha aplicado ninguno de los productos (Grain Set[®] y Soil Set[®]), este valor se asemeja al 10,56 mg de CO₂ obtenido en el suelo testigo observado en el Cuadro 6. Lo anterior demuestra que la aplicación del producto Soil Set[®], tanto solo como acompañado con el Grain Set[®], generó un aumento en la respiración del suelo lo cual se debe a un incremento de los microorganismos presentes en este, ya que como lo menciona (Paolini 2017), las propiedades microbiológicas del suelo se alteran dependiendo de los cambios en las condiciones del mismo; y como se mencionó previamente, el producto Soil Set[®] genera modificaciones tanto en el suelo como en la rizósfera.

Se encontró que Palma (2011), realizó un experimento en suelos contaminados por residuos urbanos donde el control fue tomado de una zona cercana a un río y sin la influencia de la contaminación, obteniendo en estos una respiración promedio de 10 mg CO₂/kg suelo/día. Sin embargo, Di Ciocco *et al.* (2014), encontró en su experimento realizado a tres zonas, datos mayores a los anteriores, obteniendo en el pastizal naturalizado con gramíneas de bajo impacto antrópico (80 mg CO₂/kg suelo⁻¹/día⁻¹), en suelo con uso de agricultura reciente utilizado por más de 25 años en ganadería y dos años anteriores al ensayo se utilizó de manera agrícola (65 mg CO₂/kg suelo⁻¹/día⁻¹) y en suelo con uso de agricultura

⁶ Gadea A; Furcal, P. 7 ene. 2018. Ensayo realizado en el curso de Edafología sobre Respiración del suelo (entrevista/correo electrónico). San Carlos, Costa Rica, Instituto Tecnológico de Costa Rica, sede San Carlos.

continúa con más de 40 años de ser utilizado en actividades agrícolas ($45 \text{ mg CO}_2/\text{kg suelo}^{-1}/\text{día}^{-1}$).

También en el ensayo realizado por WingChing-Jones y Uribe (2015) en una zona de pastoreo a una altura de 640 msnm en Turrialba, Costa Rica, encontraron valores de $502 \text{ mg CO}_2/\text{kg suelo}/\text{día}$. Sin embargo, los datos anteriores no son comparables al 100% con los del presente ensayo, debido a que estos tres experimentos fueron realizados a nivel de laboratorio con una muestra de suelo obtenida desde el campo, en cambio, como se mencionó anteriormente, el presente ensayo se realizó *in situ*.

4.3.1 Cromatografía

Con la prueba de cromatografía del suelo, se obtuvo una valoración cualitativa en dos momentos del ensayo (a los tres y seis meses) sobre el efecto que los tratamientos tuvieron a nivel de suelo, observando en los cromatogramas la parte mineral, la de materia orgánica y la enzimática, las cuales están correlacionadas directamente con la actividad biológica presente en el suelo estudiado. En la Figura 9 se pueden observar los cromatogramas de los cuatro tratamientos de las dos veces en que el suelo fue muestreado, de los cuales se obtuvieron las valoraciones para obtener los resultados.

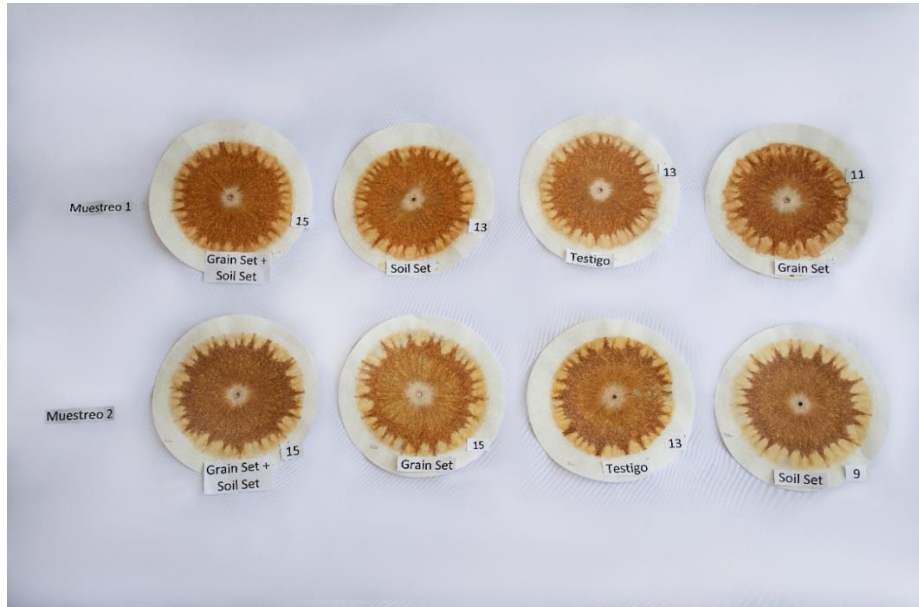


Figura 9. Cromatogramas de los dos muestreos y de los cuatro tratamientos en el ensayo realizado en el forraje *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en Finca Las Nubes Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

Utilizando la valoración cualitativa anterior, se obtuvieron resultados cuantitativos, debido a una escala de evaluación creada y utilizada por la Compañía Palma Tica, donde según la calificación obtenida por cada uno de los cromatogramas se colocaron a continuación en orden de mayor a menor.

Muestreo 1: SS+GS > SS = T > GS

Muestreo 2: SS+GS = GS > T > SS

SS: Soil Set[®], GS: Grain Set[®], SS+GS: Soil Set[®]+Grain Set[®], T: Testigo

En los resultados anteriormente descritos, se puede observar que el tratamiento que obtuvo mejor calificación en los dos muestreos fue en el suelo donde se aplicó ambos productos (Soil Set[®] y Grain Set[®]). Se observa también que el tratamiento Testigo se mantuvo a lo largo del ensayo, sin embargo, el suelo donde se le aplicó Soil Set[®] empeoró y contrario a este, al que se le aplicó Grain Set[®] mostró una mejoría en el segundo muestreo.

De lo anterior, se puede determinar que al aplicar los productos juntos (Soil Set[®] + Grain Set[®]) se obtuvo una consistencia a lo largo del tiempo en estudio en el

buen estado del suelo y se puede predecir que ambos productos trabajando juntos generaron beneficios en el suelo, ya que por ejemplo según Alltech Crop Science (2016), se han hecho otros estudios donde se recomienda la utilización de los dos productos obteniendo beneficios tanto a nivel de planta como de suelo, entre ellos un incremento en la actividad de algunas enzimas que pueden activar los microorganismos del suelo o bien, generando diferentes tipos de resistencia ante algunos patógenos, que eventualmente puedan afectar el correcto desarrollo de los microorganismos benéficos.

Lo esperado, debido a la composición de los productos, es que el Soil Set® genere resultados tanto en compañía del Grain Set® como por sí solo, debido a que es un producto enfocado en beneficiar al suelo y a los microorganismos que en él se encuentran, ya que como menciona Ulloa (2018)⁷ este ayuda en la descomposición de residuos vegetales por acción de algunas enzimas que posee, para que tanto la planta como los microorganismos tengan alimento para subsistir y realizar sus funciones, además de que las mismas enzimas los activan, lo cual se esperaría que se viera reflejado en los cromatogramas al haber una mayor actividad enzimática. Además de que este producto es fuente de algunas vitaminas que promueven su desarrollo donde Oro y Donnamaría (2006) resaltan su función como coenzimas y como precursores de las mismas al regular procesos metabólicos.

Sin embargo, se observó lo contrario, y el suelo tratado con Grain Set® mostró una mejoría en el segundo muestreo con respecto al primero, donde esta variabilidad en los resultados afirma la que se obtuvo en las otras variables estudiadas en este ensayo como en la biomasa seca y en las de calidad (materia seca, proteína cruda, fibra neutro detergente y ácido detergente).

Por otro lado, explicando el comportamiento por parte del Grain Set® puede deberse a que sus componentes, entre ellos aminoácidos, reguladores de crecimiento como auxinas, micro elementos, metabolitos, entre otros mencionados por Alltech Crop Science (2016), generen una mejora en los procesos fisiológicos

⁷ Ulloa, M. 28 ago. 2018. Modos de acción del Soil Set® (entrevista). San Carlos, Costa Rica, Alltech CropScience.

de las plantas, como la fotosíntesis, síntesis de proteínas y otros, lo cual puede repercutir en un buen desarrollo radicular y a su vez con esto, mejorar y aumentar los exudados que de ellos se generan, ya que según Notario (2009) estos sirven como alimento para el crecimiento y desarrollo de algunos microorganismos debido a su composición a base de aminoácidos, monosacáridos y ácidos orgánicos.

Aunque las calificaciones entre tratamientos hayan variado, en todos (indiferentemente del tratamiento) se puede observar que la coloración es la adecuada, y donde la intensidad del color observado varía de acuerdo a los componentes orgánicos que se extraen durante el proceso (Hassold (2003), citado por Nivia (2017)), además de que los colores observados están entre los aceptados para este análisis, lo que demuestra que el suelo estudiado es rico en estos componentes orgánicos. La zona central de los cromatogramas existe y posee un color deseable blanco cremoso con un desvanecimiento suave. Por otro lado, también se observa una buena presencia de materia orgánica, la cual no está bloqueada ni momificada y un buen traslape de esta con la zona mineral, lo cual es deseable, ya que esto es producido por la presencia de actividad microbiológica.

De igual forma, las “nubes” que se forman en los bordes, las cuales son de diferentes tamaños y formas, evidencian variedad y disponibilidad nutricional, además de la disponibilidad enzimática para la formación de hormonas y vitaminas, por ejemplo. Lo anterior demuestra que, a manera general, no es un suelo dañado por compactación, con poca aireación o estructura y que no ha sido víctima de uso excesivo de fertilizantes nitrogenados o solubles o bien, de herbicidas. Por lo que se concluye que, este suelo posee buenas condiciones y no se ha visto expuesto a acciones que pudieran impedir el correcto desarrollo del pasto.

Las anteriores observaciones cualitativas y la evaluación cuantitativa se hicieron tomando en cuenta la explicación dada por Restrepo y Pinheiro (2011), la cual viene muy detallada en el manual y en videos hechos por los mismos autores (Figuras 10,11 y12).

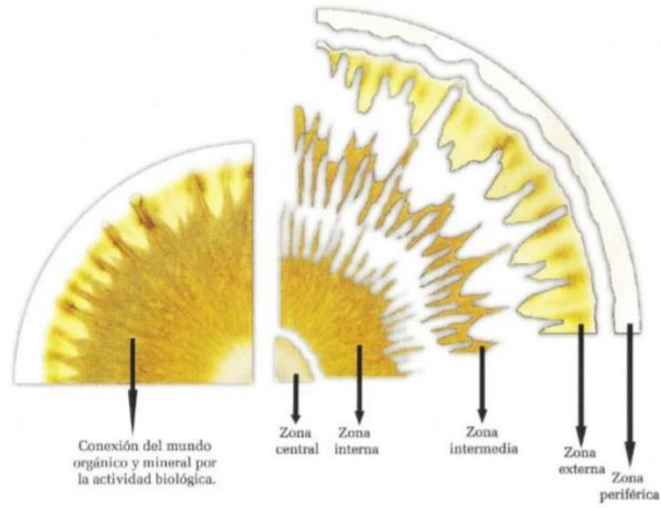


Figura 10.Zonas de un cromatograma

Fuente: Restrepo y Pinheiro (2011)

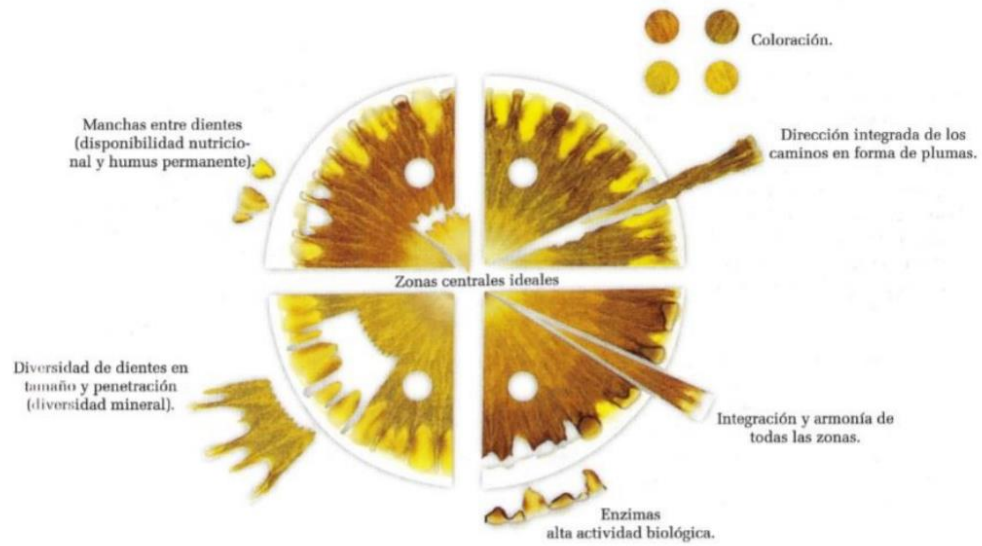


Figura 11.Características ideales de un cromatograma

Fuente: Restrepo y Pinheiro (2011)

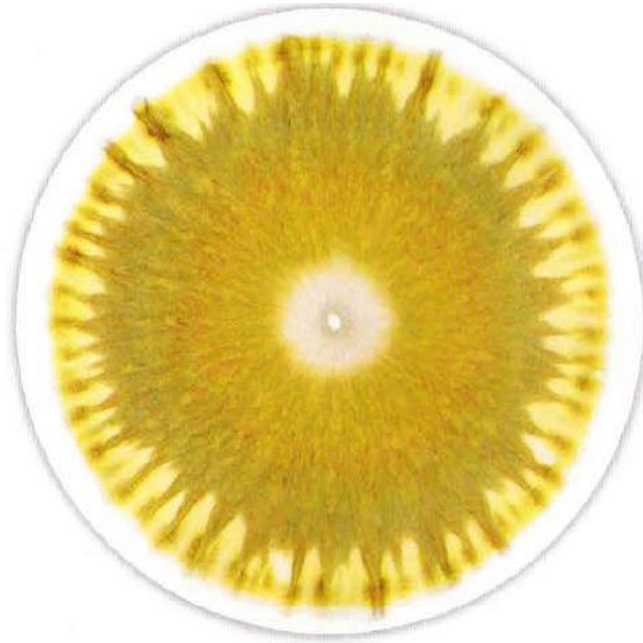


Figura 12.Cromatograma ideal

Fuente: Restrepo y Pinheiro (2011)

4.4 Correlaciones variables productivas y de calidad con variables climáticas

No se encontró correlación entre las variables climáticas con el efecto del Grain Set® y Soil Set® sobre la biomasa seca, materia seca, proteína cruda y fibra ácido y neutro detergente. Debido a lo anterior, se hizo el mismo análisis para conocer la correlación entre las variables en estudio (materia seca, proteína cruda, fibra neutro detergente y fibra ácido detergente), sin importar el tratamiento, con las variables climáticas (temperatura, humedad relativa y precipitación), lo cual se puede observar en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Correlaciones entre variables productivas y de calidad con las variables climáticas en el pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en Finca Las Nubes Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

Variables	Precipitación	Temperatura	Humedad Relativa
Biomasa Seca	0,34**	-	-
Materia Seca	-	-0,61*	-0,75*
Proteína Cruda	0,37**	0,63*	0,46*
Fibra Neutro Detergente	-0,56*	-0,37**	-
Fibra Ácido Detergente	0,48*	0,39**	-

*p<0,05 **p<0,10

En el Cuadro 8 se pueden observar las variables que estuvieron correlacionadas entre sí. Tal y como se mencionó en el apartado sobre biomasa seca de esta discusión (Figura 8), y como se confirma en este análisis de correlación, la misma se vio influida positivamente por la precipitación, es decir, a mayor precipitación hubo un aumento de la biomasa seca, lo cual es confirmado por los autores Zárata (2002), Paz y Díaz (2018) y Álvarez *et al.* (2013). Lo anterior puede deberse a que, en la época lluviosa, la humedad del suelo es mayor y los días son más largos, factores que ayudan a que las plantas acumulen mayor cantidad de biomasa y expresen en mayor cantidad su potencial de crecimiento y variabilidad (Rodríguez *et al.* 2011).

Según Ramírez *et al.* (2011) las precipitaciones se relacionan con aumentos en los rendimientos, ya que el agua es utilizada por las plantas en muchas de sus funciones y participa en casi todos los procesos metabólicos, entre ellas la presión de turgencia que favorece la expansión celular y de los meristemas, al brindar el hidrógeno y el oxígeno que forman parte del proceso fotosintético, entre otras cosas, por lo que promueven un aumento en el área foliar y evitan la rápida senescencia. Jarma *et al.* (2012), menciona también que el agua colabora también con la solubilidad de nutrientes que repercuten en el crecimiento.

Por otro lado, si hay estrés por sequía, el crecimiento se ve afectado específicamente en los tallos y aumentando las porciones de hojas, por lo que

puede haber retrasos en la madurez de las plantas (Adesogan *et al.* (2009) citado por Molano (2012)) y a la larga, la deposición de celulosa y otros compuestos de la pared celular disminuyen su plasticidad e impiden la reanudación del crecimiento, inclusive si el suministro de agua es restablecido Morillo (1994).

En cuanto a la calidad de los pastos, se vieron afectados por las precipitaciones, tal y como se observa en el Cuadro 8, porque si el estrés es hídrico, Adesogan *et al.* (2009) citado por Molano (2012) mencionan que pueden disminuir las concentraciones de la pared celular y de sus componentes (celulosa, hemicelulosa y lignina) en diferentes partes como hojas y tallos, siendo lo anterior una respuesta a la defensa de la planta ante la necesidad de mantener los carbohidratos solubles elevados mientras la misma se ajusta osmóticamente

En el presente ensayo ensayo, no se encontró correlación de la temperatura con la biomasa seca, sin embargo, Álvarez *et al.* (2013) mencionan que existe una correlación con las temperaturas mínimas y máximas. Por otro lado, Baruch y Fisher (1998) citado por Álvarez *et al.* (2013) aclaran que las gramíneas tropicales son sensibles a las bajas temperaturas, y que depende la especie puede oscilar entre 1 y 20°C.

Contrario a lo anterior, la temperatura se correlacionó con las cuatro variables de calidad del forraje (Cuadro 8), lo cual es confirmado por Molano (2012). Con el aumento de esta, se incrementan las fracciones fibrosas al lignificar las paredes celulares, y esto según Pezo (1993), se da porque al haber un aumento en la temperatura, las plantas aumentan su respiración y disminuyen la fotosíntesis, repercutiendo en que haya menos carbohidratos y la planta inicia con la maduración o senescencia, aumentando la parte fibrosas de las paredes, lo cual es realizado por la planta para combatir el estrés, por lo que su influencia es negativa para la calidad del pasto. Morillo (1994) refuerza lo anterior y también menciona que la actividad enzimática asociada a la síntesis de lignina se ve favorecida, y también aclara que la digestibilidad de la materia seca disminuye en 0,6 unidades de porcentaje por cada grado centígrado en que aumenta la temperatura siendo este efecto mayor en tallos que en hojas.

En el estudio realizado por Ramírez *et al.* (2011), encontraron que la biomasa o rendimiento, la materia seca y la fibra ácido detergente tuvieron correlación positiva con la precipitación y la humedad relativa y correlación negativa con la Temperatura. En cuanto a la Proteína Cruda, la correlación negativa fue con la Precipitación y con la Humedad Relativa y la positiva con la Temperatura. Que estas variables resultaran diferentes en el presente estudio (Cuadro 8), se pudo deber a que los dos fueron estudios de campo sin condiciones controladas que pudieran uniformizar los datos y que las localidades de los estudios aquí mencionados tienen condiciones climáticas diferentes lo que va a promover la variabilidad en los resultados. Los mismos autores mencionan que la disminución de la proteína con un aumento de las precipitaciones se debe a que el rendimiento aumenta debido a que la porción del tallo aumenta y esta parte de la planta es la que posee más componentes de la pared celular y menos proteína, lo cual va a disminuir la digestibilidad y la energía.

En cuanto a la humedad relativa, Quintero *et al.* (1995) mencionan que cuando esta aumenta hay una influencia en el contenido de proteína de las hojas, porque disminuye la evaporación y transpiración, aumentando el uso de la humedad del suelo, lo que aumenta el tiempo de maduración de la planta generando pastos con buenos contenidos de proteína durante más tiempo. La precipitación y temperatura también influyen en esta variable. Por otro lado, si la humedad relativa es baja, puede incrementar el déficit hídrico por una mayor demanda por evaporación resultando en una menor digestibilidad de la materia seca (Morillo 1994).

La digestibilidad de la fibra neutro detergente, la cual es utilizada para medir la digestibilidad total del forraje que por sí solas la fibra neutro detergente y la fibra ácido detergente no muestran, estima además la energía neta y el potencial de consumo de alimento (Min 2011 citado por Molano 2012). Esta se ve afectada por las temperaturas, así como lo muestran la FND y la FAD en los datos obtenidos, y donde en una planta que crece con temperaturas más bajas, el contenido de

digestibilidad de la FND aumenta y viceversa (Dupchack 2003 citado por Molano 2012).

4.5 Otros resultados

4.5.1 Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada

Según Arias (2019)⁸ en la Figura 13 se observa el estado de la pastura de los cuatro repastos de la Finca Las Nubes utilizados para esta investigación. La forma de interpretar la escala que se encuentra en la simbología de la imagen, es que entre más cercano a 1 esté el valor del índice, mejor es la condición, y, por el contrario, entre más cerca de -1, la misma disminuye (Meneses 2011).

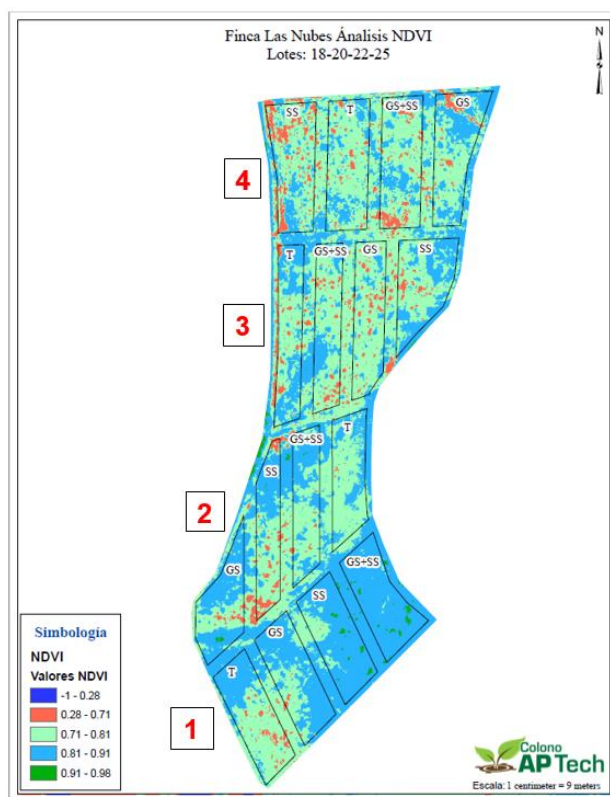


Figura 13. NDVI de los repastos utilizados durante el ensayo, tomado el 23 de noviembre de 2018 en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela.

T=Testigo, GS=Grain Set®, SS=Soil Set®, GS=Grain Set® + Soil Set®

⁸ Arias, A. 22 ene. 2019. Interpretación del NDVI tomado del ensayo realizado en Finca Las Nubes (entrevista). San Carlos, Costa Rica, Colono Agropecuario.

Tomando en cuenta lo anterior y observando la imagen, se puede interpretar que el repasto que está en mejor condición es el 1, seguido por el 2 y el 3 y 4 poseen un estado similar entre sí. A manera general, el pasto de los cuatro apartos estudiados posee una condición media, pero siendo muy heterogéneos entre sí, lo cual respalda la decisión de realizar el bloqueo en el modelo experimental que se tomó cuando se planteó el ensayo y le da utilidad a este método como una opción de observar el sistema de producción que se va a utilizar para algún ensayo y así, conocer el lugar que será estudiado y tomar decisiones previas con respecto a esto.

Se observa también que no hay una consistencia entre la reflectancia del pasto observada para cada uno de los tratamientos entre los diferentes bloques, lo mismo que sucede con la alta variabilidad de los datos obtenidos en las variables productivas y de calidad ya discutidas. Lo anterior, puede deberse a que en este cultivo, estos productos no ejercen la misma función a como lo harían en otro cultivo o bien, que otras variables externas influyeran, como el caso de la nutrición, debido a que desde antes de iniciar con el ensayo no se le aplicaba ningún tipo de fertilización al pasto y hasta el mes tres de muestreo (setiembre), se realizó una con nitrógeno, fósforo y potasio, la cual pudo ser insuficiente y no suplir todas las necesidades que el pasto venía requiriendo y esto ser evidenciado en la biomasa del mismo. La sombra que le daban al pasto algunos árboles ubicados en medio de los repastos pudo influir también, ya que, cuando el dron tomó las fotografías, lo que tomaba era el área foliar del árbol y no del pasto en sí.

Observando el tratamiento Soil Set[®] que obtuvo diferencias significativas para la variable biomasa seca, se ve que en el NDVI en tres de los cuatro repastos (1,2 y 3) hay una considerable zona “azul” es decir, con un alto índice de reflectancia, lo cual puede respaldar dichos resultados.

Los valores más bajos del NDVI (0,28-0,71) que están representados con el color anaranjado, están en mayor cantidad en las zonas de tránsito de los animales, donde descansan o donde hay desagües dentro de los repastos como el caso del repasto 2 en la esquina superior del tratamiento Soil Set[®] o en el mismo tratamiento, pero en el repasto 4 en la línea límite izquierda. Las zonas en color naranja en las

zonas medias de los repastos son de medias a pocas (dependiendo del repasto) lo cual podría evidenciar que no hay sobrepastoreo en estos bloques.

La línea del límite derecho de todos los repastos es azul probablemente debido al efecto del bosque que colinda con ellos, donde hay una mayor y variada cantidad de vegetación, lo que genera una reflectancia mayor capturada en las imágenes tomada por el dron. El color verde claro puede representar las zonas de mayor consumo de pasto de los animales, por lo que, si un pasto ha sido consumido previamente, todavía está en período de recuperación y no va a tener el mismo nivel foliar y por ende fotosintético, comparado a un pasto que no ha sido pastoreado. Lo anterior puede dar una idea de que todos los repastos no están siendo aprovechados al 100% y que hay zonas, como las azules, a las que el ganado no está llegando, por lo que dicho pasto que pudiera ser utilizado se está desperdiciando.

Lo anterior es respaldado por Rincón *et al.* (2008) al mencionar que la acumulación de materia seca del forraje se reduce al aumentar la frecuencia e intensidad del pastoreo, lo mismo puede suceder debido a que hay menos zonas para que intercepten luz y que colaboren con la actividad fotosintética, remoción de reservas orgánicas de la planta, menos toma de agua y nutrientes por parte de las raíces, los cuales son factores que repercuten en el estado de la planta.

Las zonas azules también se pueden explicar porque, por ejemplo, en el repasto 1 la zona de este color coincide con una pendiente pronunciada, por lo que, debido a la misma se puede generar un lavado de nutrientes, agua, minerales y otros desde la parte superior y acumularse en la zona inferior generando pasto de mayor tamaño y calidad. Además, podemos observar que la mayoría de manchas verde oscuro (máximo valor del índice) están ubicadas en esta sección también. Sin embargo, en el repasto 2 no ocurre lo mismo a pesar de haber una pendiente en él, porque las mejores condiciones están en la parte superior de la ladera, así que esta buena condición puede deberse a distintos factores, y no solo a la pendiente dependiendo del repasto y sus características.

4.5.2 Modelo de Fermentación *in vitro*

En el Cuadro 9 se pueden observar los análisis obtenidos haciendo uso del modelo de fermentación *in vitro* y donde se observa el efecto de los cuatro tratamientos utilizados en el presente ensayo en las variables digestibilidad real de la materia seca, biomasa microbiana y ácidos grasos volátiles totales, resultados que son obtenidos en el rumen animal.

Cuadro 9. Resultados de tres variables obtenidas de un Modelo de Fermentación *in vitro* realizado a los cuatro tratamientos del pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en Finca Las Nubes Florencia, San Carlos, Alajuela.

Variables	Testigo	Grain Set[®]	Soil Set[®]	Grain Set[®] + Soil Set[®]
Digestibilidad Real de la Materia Seca (%)	61,23	62,79	59,71	61,63
Biomasa Microbiana (mg/g MS)	84,29	115,67	108,86	90,29
Ácidos Grasos Volátiles Totales (mM)	25,35	32,86	30,34	35,66

León (2019)⁹ observó los análisis resumidos en el Cuadro 9 y mencionó que en la variable digestibilidad real de la materia seca, la disminución del Soil Set[®] con respecto a los otros tratamientos no la consideró como significativa y tampoco fueron relevantes las diferencias presentadas entre los otros tres tratamientos, por lo que de esta variable se obtienen resultados similares a cuando se evaluaron las variables de calidad, donde no se observó que los tratamientos hicieran un efecto significativo en ellas. En la Biomasa Microbiana, las diferencias fueron más marcadas entre tratamientos, donde el superior fue el Grain Set[®] lo cual puede repercutir en un mayor potencial para la digestión de fibras en los pastos tratados con este producto. Y finalmente, en la producción de Ácidos Grasos Volátiles se observó una clara diferencia entre el uso de los productos y el testigo.

⁹ León, H. 4 ene. 2019. Interpretación de los resultados de IFM del ensayo realizado en Finca Las Nubes (correo electrónico). Cartago, Costa Rica, Consultor.

Adicionalmente, la fuente menciona que cuando se trata de pasto, lo ideal es que los ácidos que deben aumentar son el acético y butírico y en los resultados obtenidos, dicha tendencia se presentó en el acético, lo cual es deseable.

Se puede observar en el Cuadro 9, que el pasto al que se le aplicó Grain Set® es el que tendió a presentar los mayores valores de las tres variables presentadas, ya sea aplicado solo o en conjunto con el Soil Set®, y el testigo es el que tendió a tener los menores datos en dos de las tres variables. Sin embargo, entre los tres tratamientos donde se hizo aplicación de alguno de los productos no hubo consistencia en los datos en cuanto si la aplicación en solitario es mejor que la aplicación en conjunto o viceversa para las tres variables estudiadas.

Cabe resaltar que los resultados anteriores son producto de una sola muestra por tratamiento, la cual puede no ser representativa e idealmente se deberían analizar una cantidad mayor de las muestras para obtener resultados significativos.

4.6 Factibilidad económica

En el Cuadro 10 se encuentran los datos para conocer el costo de aplicación de cada uno de los tratamientos y la cantidad de biomasa seca (kg/ha/mes) producida gracias al uso de los productos. Con esto se determinó la cantidad de animales que pueden pastorear en una hectárea según la cantidad de biomasa que se produzca.

Cuadro 10. Costos de producción de biomasa seca (kg/ha) para los cuatro tratamientos en pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

Tratamiento	Biomasa seca (kg/ha/mes)	Animales/ha/ciclo	Costo del producto (₡)	Costo/ aplicación (₡)	Costo de mano de obra/ aplicación (₡)	Costo total/ aplicación (₡)
T	1145	87	-	-	-	-
GS*	1158	88	23150	13890	8625	22515
GS+SS**	1204	91	43605	34345	8625	42970
SS***	1274	97	20455	20455	8625	29080

T=Testigo; GS=Grain Set®; GS+SS= Grain Set® + Soil Set®, SS=Soil Set®

*La aplicación se realiza 1 vez por mes; **La aplicación del Grain Set® se realiza una vez por mes en solitario y el Soil Set® se aplica cada tres meses en conjunto; ***La aplicación se realiza cada tres meses.

Para la obtención de los animales por hectárea mencionados en el Cuadro 10, se tomó en cuenta una pérdida por pisoteo o por deposición de excretas del 35% (Haug 2019)¹⁰. Actualmente, en la finca estudiada, ingresan en promedio 30 animales por repasto y extrapolando los datos de la columna animales por hectárea a los 2900 m² de cada repasto, se debería solamente permitir el ingreso de 25 animales debido a la cantidad de pasto que hay disponible (dato obtenido con la biomasa del tratamiento testigo), ya que si esto no se realiza puede conllevar a un sobre pastoreo o que los animales no consuman la cantidad de alimento que les corresponde y esto puede generarles problemas en su ganancia de peso.

En el Cuadro 10 se observa que si se usa el producto Grain Set®, se puede incorporar un animal más por hectárea a que si se no se le aplica ningún producto al repasto, si se aplica la mezcla de ambos productos, se permite el pastoreo de tres animales más que con el solo uso del producto anterior y si se utiliza el Soil Set®, pueden pastorear seis animales más que con el uso de la mezcla de productos y hay una diferencia de 10 animales con respecto al testigo.

Al ser mensual la aplicación del Grain Set®, anualmente implica un gasto de 270 180 colones, la del Soil Set® se aplica cada tres meses, por lo que el gasto anual sería de 116 320 colones, y aplicar el Grain Set® + Soil Set®, conlleva un gasto mensual de 22 515 colones, excepto en el tercer, sexto, noveno y doceavo mes, donde este sería de 42 970 colones en cada uno de ellos, para una sumatoria anual de 352 000 colones.

Con lo anterior y los animales por hectárea reportados en el Cuadro 10, se puede determinar que el tratamiento Soil Set® es el que posee un costo anual menor y a su vez, es con el que se puede obtener un mayor rendimiento en las pasturas gracias a su aplicación en ellas, debido a que permite ingresar más animales por hectárea. El segundo lugar en cuanto a rendimiento, pero el que posee mayores

¹⁰ Haug, J. 2019. Cantidad de animales permitidos en un repasto de acuerdo a la disponibilidad de pasto (entrevista). San Carlos, Costa Rica, Colono Agropecuario.

costos es al utilizar Grain Set® + Soil Set®, y con solo la aplicación de Grain Set® se sigue obteniendo una mayor productividad que con el testigo, más no significativa, y con un costo intermedio entre los dos anteriores.

5 CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se desarrolló el presente ensayo, se concluye que:

- La biomasa seca del pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5, tratado con Soil Set[®] resultó ser estadísticamente diferente de la biomasa seca de los tratamientos Testigo, Grain Set[®] y Grain Set[®] + Soil Set[®], los cuales fueron estadísticamente igual.
- Desde el punto de vista productivo, la biomasa (kg/ha/año) del pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 tratado con Grain Set[®], Grain Set[®] + Soil Set[®] y Soil Set[®] (en este orden de menor a mayor), se presentó en mayor cantidad comparándola con el testigo.
- Respecto al tiempo de muestreo de la biomasa seca, las diferencias fueron significativas.
- El bioestimulante Grain Set[®] y el biorremediador de suelo Soil Set[®], el uso de ambos y el testigo se comportaron estadísticamente igual con respecto a las variables de calidad (materia seca, proteína cruda, fibra neutro detergente, fibra ácido detergente) del pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5.
- Los tiempos de muestreo presentaron diferencias estadísticamente significativas respecto a materia seca, fibra neutro detergente y fibra ácido detergente de la pastura *Brachiaria brizantha* cv. MG 5, a excepción de la proteína cruda.
- El suelo tratado con Soil Set[®] presentó la mayor actividad biológica del suelo.
- Al aplicar Soil Set[®] en la pastura *Brachiaria brizantha* cv. MG 5, genera un efecto significativo en la biomasa seca y en la actividad biológica del suelo, lo que puede indicar que ambas variables se pueden relacionar entre sí.
- No hubo relación de las variables climáticas (temperatura, humedad relativa, precipitación) con el efecto del Grain Set[®] y Soil Set[®] sobre la biomasa, materia seca, proteína cruda, fibra ácido y neutro detergente en el forraje *Brachiaria brizantha* cv. MG 5.
- Según los resultados de la cromatografía, el suelo evaluado indicó buenas condiciones minerales, orgánicas y enzimáticas independientemente del uso

o no del Grain Set[®] y del Soil Set[®]. Los cromatogramas que poseían Grain Set[®] + Soil Set[®], indicaron la mejor evaluación cuantitativa.

- El Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada, permite conocer el estado general de las plantas, y con esto predecir los factores que pueden estar ocasionándolo. Se logró demostrar la alta variabilidad entre tratamientos debido al estado del pasto observado, además de confirmar la heterogeneidad entre repastos que explica el bloqueo realizado en el modelo estadístico.
- Con el Modelo de Fermentación *in vitro* se comprobó que en las variables medidas por dicho método, el testigo fue el tratamiento que presentó los valores menores y dependiendo de la variable, los otros tres tratamientos presentaron variación en sus valores.
- Al utilizar el producto Soil Set[®], pueden ingresar diez animales más por hectárea. Áreas tratadas con Grain Set[®] y Grain Set[®] + Soil Set[®], igualmente permiten el ingreso de más animales por hectárea que en áreas no tratadas, pero en un número inferior que el Soil Set[®].
- Existen herramientas que pueden colaborar con el productor para darle un panorama más claro sobre el estado de su sistema de producción.

6 RECOMENDACIONES

Considerando los resultados obtenidos en la presente investigación:

- Evaluar el efecto de los productos (Grain Set® y Soil Set®) en verano (noviembre-abril) para observar si hay alguna diferencia con los resultados obtenidos en este ensayo.
- Aplicar los productos durante un mayor tiempo para observar si su efectividad aumenta.
- Realizar el ensayo con la homogenización de todo el repasto posterior al muestreo, para que todo el pasto inicie su rebrote bajo las mismas condiciones.
- Realizar el ensayo en una finca que posea un plan de fertilización establecido para los repastos.
- Debido a la variabilidad de los datos, se recomienda repetir el ensayo con un mayor número de repeticiones.

7 BIBLIOGRAFÍA

Abasolo, E; Inguilán, L. 2012. Efecto del azufre sobre el rendimiento del maíz *Zea mays* L. en suelos de Pupiales, Nariño (en línea). Tesis Lic. San Juan de Pasto, Colombia, Universidad de Nariño. 30 p. Consultado 29 may. 2018. Disponible en: <http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/atenea/biblioteca/85838.pdf>

Ahumada, A; Ortega, A; Chito, D; Benítez, R. 2016. Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico (en línea). Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas 45 (3): 438-469. Consultado 13 de may. 2018. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v45n3/v45n3a06.pdf>

Alltech®. 2019. Alltech® IFM (en línea, sitio web). 8 feb 2019. Disponible en: <https://www.alltech.com/alltech-ifm>

Alltech Crop Science®. 2016. Crop Set y Grain Set: Modo de acción.

Alltech Crop Science®. 2016. Soil Set: Modo de acción.

Álvarez, A; Herrera, R; Díaz, L; Noda, A. 2013. Influencia de las precipitaciones y la temperatura en la producción de biomasa de clones *Pennisetum purpureum* (en línea). Revista Cubana de Ciencia Agrícola 47(4): 413-417. Consultado 8 feb. 2019. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193029815015.pdf>

Álvarez, C; Osorio, W; Díez, M; Marín, M. 2014. Caracterización bioquímica de microorganismos rizosféricos de plantas de vainilla con potencial como biofertilizantes (en línea). Agronomía Mesoamericana 25(2): 225-241. Consultado 1 ene. 2019. Disponible en: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v25n2/a02v25n2.pdf>

Anderson, J; Ingram, J. Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Methods (en línea). Segunda Edición. Wallingford, Inglaterra, C.A.B International. Consultado 7 jun. 2018. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/John_Ingram5/publication/232141777_Tropic

[al Soil Biology and Fertility A Handbook of Methods/links/589b556592851c942ddad326/Tropical-Soil-Biology-and-Fertility-A-Handbook-of-Methods.pdf](http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/215854/1/CAv31n4costa.pdf)

Aparecida, K; Pereira de Oliveira, I; Faquin, V; Pereira das Neves, B; Rodrigues, C; Telo Sampaio, F. 2007. Intervalo de corte na produção de massa seca e composição químico-bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. mg-5¹ (en línea). *Ciência e Agrotecnologia* 31(4): 1197-1202. Consultado 12 may. 2018. Disponible en:

<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/215854/1/CAv31n4costa.pdf>

Arreasa, L; Sanchez, L; Medrano, J; Pardo, O; Mateus, H; Reza, S; Becerra, J; Oliva, M; Arcos, J; Romero, H; Peláez, L; Lodoño, J. Manual técnico: Nutrición y alimentación de bovinos en el trópico bajo colombiano (en línea). Colombia. 30 p. Consultado 12 jun. 2018. Disponible en:

https://books.google.co.cr/books?id=KA_90iNDK8C&pg=PA8&dq=prote%C3%ADna+cruda&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjJIous9c_bAhWCr1kKHQFQB1gQ6AEILDA B#v=onepage&q=prote%C3%ADna%20cruda&f=false

Argel, P. 2006. Contribución de los forrajes mejorados a la productividad ganadera en sistemas de doble propósito (en línea). *Archivo Latinoamericano de Producción Animal* 14(2): 65-72. Consultado 5 abr. 2018. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?la06011>

Ávalos, A; Pérez, E. 2009. Metabolismo secundario de plantas (en línea). *Revista Reduca* 2 (3): 119-145. Consultado 25 may. 2018. Disponible: <http://www.revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798/814>

Barrameda, Y. 2016. Estudio de diferentes aspectos agronómicos y fisiológicos del zinc en plantas hortícolas: fitoextracción y biofortificación (en línea). Tesis Doctorado. Granada, Nicaragua, Universidad de Granada. 60 p. Consultado 31 may. 2018. Disponible en: <http://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/43941/26128172.pdf?sequence=6&isAllowed=y>

Burton, D; Routh, J. 1977. Química orgánica y bioquímica. Atlacomulco, México, McGraw-Hill Interamericana de México, S.A. 416 p.

Canchila, E; Soca, M; Ojeda, F; Machado, R. 2009. Evaluación de la composición bromatológica de 24 accesiones de *Brachiaria spp.* (en línea). Pastos y Forrajes 32(4). Consultado 30 may. 2018. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942009000400002

Caniguante, S; Pizarro, L; Pacheco, P; Bastías, E. 2009. Respuesta de los cvs. de tomate (*Solanum lycopersicum L.*) “poncho negro” y Naomi en diferentes condiciones de crecimiento y la aplicación de un bioestimulante natural Fartum® en condiciones de salinidad (en línea). Idesia 27(3):19-28. Consultado 20 mar. 2018. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292009000300004&lng=en&nrm=iso&tlng=en

Carranza, C; Noé, L; Merlo, C; Ledesma, M; Abril, A. 2012. Efecto del tipo de desmonte sobre la descomposición de pastos nativos e introducidos en el Chaco Árido de la Argentina (en línea). Revista de Investigaciones Agropecuarias 38(1): 97-107 p. Consultado 14 ene. 2019. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/864/86423614016.pdf>

Carrera, D; Canacuán, A. 2011. Efecto de tres bioestimulantes orgánicos y un químico en dos variedades de fréjol arbustivo, cargabello y calima rojo (*Phaseolus vulgaris L.*) en Cotacachi-Imbabura. Tesis Lic. Ibarra, Ecuador, Universidad Técnica del Norte. 88 p. Consultado 11 feb. 2019. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/782/2/03%20AGP%20118%20DOCUMENTO%20TESIS.pdf>

Cerón, L; Melgarejo, L. 2005. Enzimas del suelo: indicadores de salud y calidad (en línea). Acta Biológica Colombiana 10(1): 5-18. Consultado 4 nov. 2018. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3190/319028576001.pdf>

CIA/UCR. 2002. (Memoria). Meléndez, G; Molina, E (eds.). Fertilización Foliar: Principios y aplicaciones (en línea). San José, Costa Rica. 142 p. Consultado 22 may. 2018. Disponible en:

http://www.nutricaoeplantas.agr.br/site/downloads/unesp_jaboticabal/Memoria_CursoFertilizacionFoliar.pdf#page=110

Constanza, L; Arévalo, Z; Moreno, V. 2014. Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal (en línea). *Ciencias Biomédicas* 12(21): 67-79. Consultado 1 ene. 2019. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v12n21/v12n21a06.pdf>

Criollo, P; Obando, M; Sánchez, L; Bonilla, R. 2012. Efecto de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) asociadas a *Pennisetum clandestinum* (en línea). *Revista Corpoica* 13(2): 189-195. Consultado 7 feb. 2019. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v13n2/v13n2a09.pdf>

Cuadrado, H; Torregroza, L; Jiménez, N. 2004. Comparación bajo pastoreo con bovinos machos de ceba de cuatro especies de gramíneas del género *Bracharia* (en línea). *Revista MVZ Córdoba* 9(2): 438-443. Consultado 5 abr. 2018. Disponible en: <http://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/revistamvz/article/view/485/553>

De la Roza, B; Martínez, A; Argamentaría, A. 2002. Determinación de materia seca en pastos y forrajes a partir de la temperatura de secado para análisis (en línea). *Pastos* 32(1): 91-104. Consultado 12 jun. 2018. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/266358413_DETERMINACION_DE_MATERIA_SECA_EN_PASTOS_Y_FORRAJES_A_PARTIR_DE_LA_TEMPERATURA_DE_SECADO_PARA_ANALISIS

Díaz, J. 2015. Estudio de Índices de vegetación a partir de imágenes aéreas tomadas desde UAS/RPAS y aplicaciones de estos a la agricultura de precisión (en línea). Tesis Maestría. Madrid, España, Universidad Complutense de Madrid. 77 p. Consultado 9 feb. 2019. Disponible en: https://eprints.ucm.es/31423/1/TFM_Juan_Diaz_Cervignon.pdf

Díaz, L. 2009. Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos - Una revisión (en línea). *Revista de Estudios Transdisciplinarios*

1 (2): 32-55. Consultado 13 may. 2018. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1792/179214945004.pdf>

Di Ciocco, C; Sandler, R; Falco, L; Coviella, C. 2014. Actividad microbiológica de un suelo sometido a distintos usos y su relación con variables físico-químicas. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias 46(1): 73-85. Consultado 28 may. 2018. Disponible en: http://revista.fca.uncu.edu.ar/images/stories/pdfs/2014-01/Cp06_Di%20Ciocco.pdf

Fernández, M; Rodríguez, H. 2005. El papel de la solubilización de fósforo en los biofertilizantes microbianos (en línea). ICIDICA 39(3): 27-34. Consultado 1 ene. 2019. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120688005.pdf>

Ferreras, L; Toresani, S; Bonel, B; Fernández, E; Bacigaluppo, S; Faggioli, V; Beltrán, C. 2009. Parámetros químicos y biológicos como indicadores de calidad del suelo en diferentes manejos (en línea). Ciencia del Suelo 27(1): 103-114. Consultado 3 jun. 2018. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1850-20672009000100011

Flávio, R. 2014. Características fisiológicas e biométricas de plantas de soja tratadas com fitorreguladores e bioestimuladores de crecimiento (en línea). Tesis Maestría. Río Verde, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano. 37 p. Consultado 27 may. 2018. Disponible en: https://sistemas.ifgoiano.edu.br/sgcursos/uploads/anexos_5/2018-01-04-11-44-25Ricardo%20Fl%C3%A1vio%20Vitorino.pdf

García, D. 2004. Los metabolitos secundarios de las especies vegetales (en línea). Pastos y Forrajes 27(1): 1-12. Consultado 22 may. 2018. Disponible en: <https://payfo.ihatuey.cu/index.php?journal=pasto&page=article&op=view&path%5B%5D=795&path%5B%5D=297>.

García, I. 2017. Actividades enzimáticas determinadas en suelos bajo manejo agrícola sostenible (en línea). Tesis Lic. Valencia, España, Universidad Miguel Hernández. 40 p. Consultado 25 ene. 2019. Disponible en:

<http://dspace.umh.es/bitstream/11000/4299/1/TFG%20Garc%C3%ADa%20S%C3%A1nchez%2C%20Ismael.pdf>

Giraldo, L; Gutiérrez, L; Rúa, C. 2007. Comparación de dos técnicas in vitro e in situ para estimar la digestibilidad verdadera en varios forrajes tropicales (en línea). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 20: 269-279. Consultado 9 feb. 2019. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v20n3/v20n3a05.pdf>

Gonçalves, R; de Camargo, P; Kitahara, D; Marcelo, J; Gonçalves, M. 2012. Fontes e doses de giberelina no desempenho de arroz anão em biotestes (en línea). Comunicata Scientiae 3(4): 306-309. Consultado 22 oct. 2018. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/282858851_Fontes_e_doses_de_giberelina_no_desempenho_do_arroz_anao_em_biotestes

González, L; Falcón, A; Jiménez, M; Jiménez, L; Silvente, J; Terrero, J. 2012. Evaluación de tres dosis del bioestimulante Quitosana en el cultivo de pepino (*Cucumis sativus*) en un período tardío (en línea). Revista Amazónica Ciencia y Tecnología 1(2): 1-6. Consultado 20 mar. 2018. Disponible en: <http://revistas.proeditio.com/REVISTAMAZONICA/article/view/164/141>

González, M; Caycedo, C; Velásque, M; Flórez, V; Ruby, M. 2007. Efecto de la aplicación del ácido giberélico sobre el crecimiento de coliflor (*Brassica oleraceae* L.) var. Botrytis DC (en línea). Agronomía Colombiana 25(1): 54-61. Consultado 1 ene. 2019. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v25n1/v25n1a07.pdf>

Gotor, C. 2010. El poder de la cisteína (en línea). Encuentros con la ciencia 2: 15-18. Consultado 20 set. 2018. Disponible en: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/41022/1/P%C3%A1ginas%20de%20EVENTO%20S310014%5b1%5d.pdf>

Granados, E. 2015. Efecto de biestimulantes foliares en el rendimiento del cultivo de berenjena; Ocos, San Marcos (en línea). Tesis Lic. Coatepeque, Guatemala, Universidad Rafael Landívar. 46 p. Consultado 11 feb. 2019. Disponible en: <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesiseortiz/2015/06/17/Granados-Erick.pdf>

Guano, F. 2017. Evolución de las actividades celulasa, β -glucosidasa y amilasa durante el compostaje de lodos de depuradora y restos vegetales (en línea). Tesis Maestría. Almería, España, Universidad de Almería. 67 p. Consultado 1 ene. 2019. Disponible en: http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/5905/15384_TFM%20Fernanda%20Elizabeth%20Guano%20Andrade.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Guerrero, P; Quintero, R; Espinoza, V; Benedicto, G; Sánchez, M. 2012. Respiración de CO₂ como indicador de la actividad microbiana en abonos orgánicos de *Lupinus* (en línea). *Terra Latinoamericana* 30(4): 355-362. Consultado 13 ene. 2019. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/573/57325814007.pdf>

Guevara, E; Guenni, O. 2013. Densidad y longitud de raíces en plantas de *Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit (en línea). *Multiciencias* 13(4): 372-380. Consultado 3 ene. 2019. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/904/90430055005.pdf>

Gutiérrez, G. 2007. Biosíntesis de Cisteína y Glutión en Tricomas de *Arabidopsis thaliana*: Aislamiento y Caracterización del Promotor del Gen OASA1 (en línea). Tesis Doctorado. Sevilla, España, Universidad de Sevilla. 199 p. Consultado 20 set. 2018. Disponible en: <https://idus.us.es/xmlui/handle/11441/15620>

Henríquez, C; Uribe, L; Valenciano, A; Nogales, R. 2014. Actividad enzimática del suelo-deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa y ureasa – bajo diferentes cultivos (en línea). *Agronomía Costarricense* 38(1): 43-54. Consultado 3 jun. 2018. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/436/43631007003/>

Hernández, J. 2011. Influencia del suelo en la calidad del cuatro especies de pasto en cinco localidades del estado de Durango (en línea). Tesis Maestría. Victoria de Durango, México, Instituto Politécnico Nacional. 115 p. Consultado 29 may. 2018. Disponible en: <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/15627/1/Influencia%20de>

[l%20suelo%20en%20la%20calidad%20de%20cuatro%20especies%20de%20pasto%20de%20Durango.pdf](#)

Hernández, O. 2013. Efecto de biofungicidas en el control de enfermedades radiculares de la espinaca (*Spinacea oleracea*) (en línea). Tesis Lic. Saltillo, México, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 57 p. Consultado 13 de may. 2018. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5846/T19761%20HERNANDEZ%20PEREZ,%20OBED%20ISAI%20%20%20%20%20%20%20%20%20%20TESIS.pdf?sequence=1>

Hernández, O; Ojeda, D; López, J; Arras, A. 2010. Abonos orgánicos y su efecto en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (en línea). *Tecnociencia* 4(1):1-6. Consultado 20 mar. 2018. Disponible en: http://tecnociencia.uach.mx/numeros/v4n1/data/Abonos_organicos_y_su_efecto_en_las_propiedades_fisicas_quimicas_biologicas_del_suelo.pdf

Inoue, S; Iribas, A. 2013. Evaluación agronómica de cinco pastos del género *Brachiaria* en el suelo ultisol del departamento central del Paraguay (en línea). *Investigación Agraria* 10 (1): 46-52. Consultado 12 may. 2018. Disponible en: <http://www.agr.una.py/revista/index.php/ria/article/view/62>

Instituto Meteorológico Nacional. 2009. Resumen meteorológico: enero de 2009 (En línea). San José, CR, IMN. Consultado el 29 may. 2018. Disponible en: <https://www.imn.ac.cr/documents/10179/14629/ENERO>

Instituto Nacional de Estadística y Censos. 2015. VI Censo Nacional Agropecuario: resultados generales (en línea). San José, Costa Rica. INEC. 146 p. Consultado 1 abr. 2018. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00338.pdf>

Jarma, A; Maza, L; Pineda, A; Hernández, J. 2012. Aspectos fisiológicos y bromatológicos de *Brachiaria humidicola* (en línea). *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 7(1): 88-99. Consultado 14 feb. 2019. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/cmvez/v7n1/v7n1a08.pdf>

Jaurixje, M; Torres, D; Mendoza, B; Henríquez, M; Contreras, J. 2013. Propiedades físicas y químicas del suelo y su relación con la actividad biológica bajo diferentes manejos en la zona de Quíbor (en línea), Estado Lara. *Bioagro* 25(1): 47-56. Consultado 27 may. 2018. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S1316-33612013000100006&script=sci_arttext&tlng=pt

Juarez, M; Cerdán, M; Sánchez, A. 2012. Hierro en el sistema suelo-planta (en línea). Alicante, España, Universidad de Alicante. 32 p. Consultado 12 jun. 2018. Disponible en: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/HIERRO.pdf>

Julia, M. 2015. Efecto de un bioestimulante en el rendimiento y calidad *Fragaria vesca* L.var. Aromas en Quiihuac, Laredo-La Libertad (en línea). Tesis Lic. Trujillo, Perú, Universidad Nacional de Trujillo. 44 p. Consultado 13 may. 2018. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7482/Aleg%C3%ADa%20de%20la%20Puente%2c%20Mar%C3%ADa%20Luc%C3%ADa%20Julia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Kaschuk, G., Alberton, O. & Hungria, M. 2011. Quantifying effects of different agricultural land uses on soil microbial biomass and activity in Brazilian biomes: inferences to improve soil quality. *Plant and soil* 338 (1-2): 467-481. Consultado 25 ene. 2019. Disponible en: <https://link.springer.com/journal/11104/338/1/page/1>

Larios, M. 2016. Calidad nutricional de tres forrajes tropicales cosechados a diferentes edades de corte en Zamorano, Honduras (en línea). Tesis Lic. Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 29 p. Consultado 30 may. 2018. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5854/1/CPA-2016-T059.pdf>

Lascano, C; Pérez, R; Plazas, C; Medrano; J; Pérez, O; Argel, P. 2002. Pasto Toledo (*Brachiaria brizantha* CIAT 26110): Gramínea de crecimiento vigoroso para intensificar la ganadería colombiana (en línea). Centro Internacional de Agricultura Tropical. Villavicencio, Colombia. 18 p. Consultado 5 abr. 2018. Disponible en:

https://books.google.es/books?id=mFODoKUK-48C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Lizarazo, M; Hernández, C; Fischer, G; Gómez, M. 2013. Biomasa, parámetros foliares y sintomatología en respuesta a diferentes niveles de manganeso, zinc y boro en curuba (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*) (en línea). Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas 7(1): 31-45. Consultado 31 may. 2018. Disponible en: https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencias_hortícolas/article/view/2033/2028

López, A. 2012. Efecto de la fuente de fósforo y de la inoculación con diferentes microorganismos sobre la absorción de hierro y fósforo por las plantas (en línea). Tesis doc. Sevilla, España, Universidad de Sevilla. Consultado 13 jun. 2018. Disponible en: <https://idus.us.es/xmlui/handle/11441/75375>

López, A; García, S; Bernabeu, P; Casajús, V; Chavez, E; Ormazabal, C; Cavello, I; Cagnola, E; Galar, M; De Luca, L; Boiardi, J; Luna, M. 2015. A1-2556 Diversidad microbioana y productividad de tomare asociadas a la bioestimulación como estrategia de transición agroecológica (en línea). (Memoria). Congreso Latinoamericano de Agroecología (5, 2015, La Plata, Argentina). La Plata, Argentina. 6 p. Consultado 31 may. 2018. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/52708/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1

López, C; Martínez, N; Basurto, M; Pérez, L. 2010. Los compuestos esteroidales o saponinas en la palma del desierto (*Yucca schidigera*) y sus aplicaciones (en línea). Synthesis 55: 16-18. Consultado 13 may. 2018. Disponible en: http://www.uach.mx/extension_y_difusion/synthesis/2011/06/01/los_compuestos_esteroidales_o_saponinas_en_la_palma_del_desierto_y_sus_aplicaciones.pdf

Maldonado, E; Rivera, M; Izquierdo, F; Palma, D. 2010. Efectos de rizosfera microorganismos, y fertilización en la biorremediación y fitorremediación de suelos

con petróleos crudo, nuevo e intemperizado (en línea). *Universidad y Ciencia* 26 (2): 121-136. Consultado 21 may. 2018. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/uc/v26n2/v26n2a1.pdf>

Maloney, T. 2014. Alfalfa Pure Stand Trial using Soil-Set and Grain-Set. Whitewater, Wisconsin.

Marinelli, F; Molinari, F. 2012. Las fermentaciones en la producción de metabolitos secundarios de interés farmacéutico (en línea). *In* Monografía XXXV: Biocatálisis aplicada a la obtención de fármacos y productos de alto valor añadido, Madrid, España, Real Academia Nacional de Farmacia. Consultado 22 de may. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/ES/monoranf.v0i0.1314>

Martínez, A; Leyva, A. 2014. La biomasa de los cultivos en el ecosistema: sus beneficios agroecológicos (en línea). *Cultivos Tropicales* 5(1): 11-20. Consultado 31 may. 2018. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362014000100002

Martínez, J. 2009. Análisis del mejoramiento y competitividad en la ganadería de carne ante la apertura comercial en Costa Rica (en línea). Tesis Lic. Econ. Agr. San José, Costa Rica, UCR. 73 p. Consultado 1 abr. 2018. Disponible en: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/3071/1/31339.pdf>

MATSUDA,. 2017. *Brachiaria brizantha* cv. MG-5 Victoria. Brasil. s.p.

Meneses, C. 2011. El índice normalizado diferencial de la vegetación como indicador de la degradación del bosque (en línea). *Unasyuva* 238(62): 39-46. Consultado 9 feb. 2019. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/015/i2560s/i2560s07.pdf>

Mogollón, J; Martínez, A. 2009. Variación de la actividad biológica del suelo en un transecto altitudinal de la sierra de San Luis, estado Falcón (en línea). *Agronomía Tropical* 59(4): 469-479. Consultado 27 may. 2018. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0002-192X2009000400011&script=sci_arttext

Molano, M. 2012. Caracterización nutricional de forrajes tropicales usando espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) (en línea). Tesis Maestría. Palmira, Colombia, Universidad Nacional de Colombia. 148 p. Consultado 11 feb. 2019. Disponible: <http://bdigital.unal.edu.co/10565/1/7409506.2012.pdf>

Mora, J. 2006. La actividad microbiana: un indicador integral de la calidad del suelo. http://lunazul.ucaldas.edu.co/downloads/Lunazul5_6_9.pdf

Morillo, D. 1994. Efectos de la época seca sobre producción forrajera y bovina (en línea). Revista de Agronomía 11(2): 152-163. Consultado 14 feb. 2019. Disponible en: <http://www.produccioncientifica.luz.edu.ve/index.php/agronomia/article/viewFile/11522/11512>

Navajas, V. 2011. Efecto de la fertilización sobre la producción de biomasa y la absorción de nutrientes en *Brachiaria decumbens* y *Brachiaria híbrido* Mulato (en línea). Tesis Maestría. Bogotá, Colombia, Universidad Nacional de Colombia. 57 p. Consultado 13 feb. 2019. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/5276/1/victormanuelnavajasmartinez.2011.pdf>

Nivia, I. 2017. Análisis del uso de la cromatografía como herramienta cualitativa de diagnóstico de la fertilidad del suelo en sistemas de producción agrícola (en línea). Tesis Bach. Valledupar, Colombia, UNAD. 69 p. Consultado 8 ene. 2019. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/13593/1/1030537336.pdf>

Notario, M. 2009. Aislamiento y caracterización de bacterias endófitas de papa asociadas con síntomas de punta morada (en línea). Tesis Maestría. Coahuila, México, Universidad Autónoma Agraria “Antonio Navarro”. Consultado 31 may. 2018. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3946/T17675%20NOTARIO%20ZACARIAZ,%20MARIA%20ISABEL%20%20TESIS.pdf?sequence=1>

Olivera, Y; Machado, R; del Pozo, P. 2006. Características botánicas y agronómicas de especies forrajeras importantes del género *Brachiaria* (en línea). Pastos y Forrajes 29(1): 1-5. Consultado 5 abr. 2018. Disponible en: <http://www.pasturasdeamerica.com/articulos-interes/notas-tecnicas/caracteristicas-brachiaria/brachiaria.pdf>

Oria, J; Rendón, E; Reyes, H; Romero, I; Velázquez, I (eds.). 2007. La síntesis de isoprenoides a través de la vía MEP; un nuevo blanco de manipulación para la salud y el beneficio humano (en línea). D.F, México, Universidad Autónoma de México. Consultado 24 set. 2018. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/268262696_LA_SINTESIS_DE_ISOPRENOIDES_A_TRAVES_DE_LA_VIA_MEP_UN_NUEVO_BLANCO_DE_MANIPULACION_PARA_LA_SALUD_Y_EL_BENEFICIO_HUMANO

Oro, J; Donnamaría, C. 2006. Acción farmacológica, biofísicoquímica y estructura dinámica de la vitamina C (en línea). Acta Farmacéutica Bonaerense 25(1): 145-154. Consultado 9 ene. 2019. Disponible en: http://www.latamipharm.org/trabajos/25/1/LAJOP_25_1_6_1_508R9MF3CR.pdf

Orrala, E. 2015. efecto de la inoculación con bacterias nativas promotoras de crecimiento vegetal (bpcv) en el cultivo de remolacha (*Beta vulgaris* L.), en la comuna prosperidad, cantón Santa Elena (en línea). Tesis Lic. La Libertad, Ecuador, Universidad Estatal Península de Santa Elena. 76 p. Consultado 31 may. 2018. Disponible en: <http://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/2739/1/UPSE-TIA-2015-035.pdf>

Palazón, P. 2015. Impro-Grain® and Soil-Set Aid® on Alfalfa. Alltech Crop Science. Toledo, España.

Palma, D. 2011. Evaluación de la actividad biológica (Respiración y biomasa microbiana) como indicadores de la salud de suelos ubicados en San Joaquín, Estado Carabobo (en línea). Tesis Lic. Valencia, Venezuela, Universidad de Carabobo. 81 p. Consultado 24 set. 2018. Disponible en:

<http://mriuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/handle/123456789/2777/TEG%20Derlys%20Palma.pdf?sequence=1>

Pantoja, O. 2012. Fertirrigación a través de goteo y bioestimulación enzimática de pepino (*Cucumis sativus* L.) (en línea). Tesis Lic. Coahuila, México, Universidad Autónoma Agraria "Antonio Navarro". 68 p. Consultado 27 may. 2018.

Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5651/T19391%20PANTOJA%20GUERRA,%20OSCAR%20MANUEL%20%20TESIS.pdf?sequence=1>

Paolini, J. 2011. Actividad microbiológica y biomasa microbiana en suelos cafetaleros de los Andes venezolanos (en línea). Terra Latinoamericana 36(1): 13-22. Consultado 25 ene. 2019. Disponible en:

<http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v36n1/2395-8030-tl-36-01-13.pdf>

Parra, J; Gómez, A. 2008. Importancia de la utilización de diferentes técnicas de digestibilidad en la nutrición y formulación porcina (en línea). Revista MVZ Córdoba. Consultado 9 feb. 2019. Disponible en:

<http://revistas.unicordoba.edu.co/revistamvz/mvz-141/resumen/body/v14n1a12.html>

Paz, F; Díaz, H. 2018. Relaciones entre la precipitación, producción de biomasa e índices espectrales de la vegetación: alcances y limitaciones (en línea). Terra Latinoamericana 36: 153-168. Consultado 8 feb. 2019. Disponible en:

<http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v36n2/2395-8030-tl-36-02-153.pdf>

Pérez, C; Leonardo, A. 2013. Bacterias endófitas: un nuevo campo de investigación para el desarrollo del sector agropecuario (en línea). Revista Colombiana de Ciencia Animal 5(2): 439-462. Consultado 13 jun. 2018. Disponible en:

<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4692793.pdf>

Pérez-Alonso, N; Jiménez, E. 2011. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante cultivo *in vitro* (en línea). Biotecnología Vegetal 11(4): 195-211.

Consultado 22 may. 2018. Disponible en:
<https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/255/228>

Pezo, D. 1997. Producción y utilización de pastos tropicales para la producción de leche. En Clavero, T. (ed.). Estrategias de alimentación para la ganadería tropical. Centro de Transferencia de Tecnología en Pastos y Forrajes, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. P 53

Quintero, B; Clavero, T; de Rincón, C; Villar, A; Araujo, O. 1995. Efecto de los factores climáticos y altura de corte sobre el valor nutritivo y producción de materia seca del pasto elefante enano (*Pennisetum purpureum* Schum cv. Mott) (en línea). Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia 12: 81-94. Consultado 11 feb. 2019. Disponible en:
<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:DFisxaqiHPAJ:www.produccioncientifica.luz.edu.ve/index.php/agronomia/article/download/11552/11542+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=cr>

Ramírez, J; Herrera, R; Leonard, I; Cisneros, M; Verdecia, D; Álvarez, Y. 2011. Relación entre factores climáticos, rendimiento y calidad de *Pennisetum purpureum* vc. Cuba CT 169 en el Valle del Cauto, Cuba. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 45(3): 293-297. Consultado 8 feb. 2019. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/1930/193022270013.pdf>

Ramos, E; Zúñiga, D. 2008. Efecto de la humedad, temperature y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio (en línea). Ecología aplicada 7(1,2): 123-130. Consultado 28 ene. 2019. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v7n1-2/a15v7n1-2.pdf>

Restrepo, J; Pinheiro, S. 2011. Cromatografía. 21 ed. Cali, Colombia, Impresora Feriva. 249 p.

Riaño, N; Arcila, J; Jaramillo, A; Chaves, B. 2004. Acumulación de materia seca y extracción de nutrimentos por *Coffea arabica* L. cv. Colombia en tres localidades de la zona cafetalera central (en línea). Cenicafé 55(4): 265-276.

Consultado 6 feb. 2019. Disponible en:
<https://www.cenicafe.org/es/publications/arc055%2804%29265-276.pdf>

Rincon, A. 2011. Efecto de alturas de corte sobre la producción de forraje de *Brachiaria* sp. en el piedemonte Llanero de Colombia (en línea). Revista Corpoica 12(2): 107-112. Consultado 10 feb. 2019. Disponible en:
<http://revista.corpoica.org.co/index.php/revista/article/view/219>

Rincón, A; Ligarreto, G; Garay, E. 2008. Producción de forraje en los pastos *Brachiaria decumbens* cv. amargo y *Brachiaria brizantha* cv. Toledo, sometidos a tres frecuencias y a dos intensidades de defoliación en condiciones del Piedemonte Llanero Colombiano (en línea). Revista Facultad Nacional de Agronomía de Medellín 61(1): 4336-4346. Consultado 10 feb. 2018. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v61n1/a10v61n1.pdf>

Rodríguez, L; Torres, V; Martínez, R; Jay, O; Noda, A; Herrera, M. 2011. Models to estimate the growth dynamics of *Pennisetum purpureum* cv. Cuba CT-169 (en línea). Cuban Journal of Agricultural Science 45(4): 349-354. Consultado 8 feb. 2019. Disponible en: <http://cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/92/86>

Serna, A; Hurtado, A; Ceballos, N. 2017. Efecto del ácido giberélico en el crecimiento, rendimiento y calidad del tomate bajo condiciones controladas (en línea). Temas Agrarios 22(2): 70-79. Consultado 25 set. 2018. Disponible en:
<http://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/123456789/318>

Serna, J; Castro, R; Colinas, M; Sahagún, J; Rodríguez, J. 2011. Aplicación foliar de ácido glutámico en plantas de jitomate (en línea). Revista Chapingo Serie Horticultura 17(1): 9-13. Consultado 22 oct. 2018. Disponible en:
https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:IA_n_jmJlr4J:https://chapingo.mx/revistas/phpscript/download.php%3Ffile%3Dcompleto%26id%3DMTg1MA%3D%3D+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=cr

Sierra, J. 2005. Fundamentos para el establecimiento de pasturas y cultivos forrajeros (en línea). 2 ed. Antioquia, Colombia, Editorial Universidad de Antioquia. 246 p. Consultado 13 jun. 2018. Disponible en:

https://books.google.co.cr/books?id=rbezH_RPHVYC&pg=PA196&dq=prote%C3%ADna+cruda&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjJOus9c_bAhWCr1kKHQFQBIgQ6AEIJjAA#v=onepage&q=prote%C3%ADna%20cruda&f=false

Taiz, L; Zeiger, L. 2006. Fisiología Vegetal. Castellón, España, Universitat Jaume I. 1338 p.

Tello, E. 2012. Efecto de la aplicación de bioestimulantes, fertilizantes foliares y el caolín, sobre el comportamiento agronómico y en la producción de la variedad de arroz (*Oryza sativa*) CR-4477 en Finca La Vega, San Carlos, Alajuela, Costa Rica (en línea). Tesis Lic. San Carlos, Costa Rica, Tecnológico de Costa Rica. 76 p. Consultado 22 oct. 2018. Disponible en: <https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/3321/Efecto%20de%20la%20aplicaci%C3%B3n%20de%20bioestimulantes%2C%20fertilizantes%20foliares%20y%20el%20caol%C3%ADn%2C%20sobre%20el%20comportamiento%20agron%C3%B3mico%20y%20en%20la%20producci%C3%B3n%20de%20la%20variedad%20de%20arroz%20Oryza%20sativa%20CR4477%20en%20Finca%20La%20Vega.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Torriente, D. 2010. Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar: perspectivas de su uso en Cuba (en línea). Cultivos Tropicales 31(1): 19-26. Consultado 31 may. 2018. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v31n1/ctr03110.pdf>

Ulloa, M. 2016. Uso de Soil Set® y Grain Set® para aumentar la producción, mejorar la sanidad y promover una mejor nutrición en el cultivo de arroz en la Finca La Olla, Guanacaste, Costa Rica.

USDA. 1999. Guía para la evaluación de la calidad y salud del suelo (en línea). Washington, Estados Unidos, Departamento de Agricultura. 82 p. Consultado 28 ene. 2019. Disponible en: https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/stelprdb1044786.pdf

Vásquez, J; Macías, F; Menjivar, J. 2013. Respiración del suelo según su uso y su relación con algunas formas de carbono en el departamento de Magdalena,

Colombia (en línea). Bioagro 25(3): 175-180. Consultado 14 ene. 2018. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612013000300004

Villalobos, L; Montiel, M. 2015. Características taxonómicas de pastos *Brachiaria* utilizados en Costa Rica (en línea). Nutrición Animal Tropical 9(1): 39-56. Consultado 1 abr. 2018. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/nutrianimal/article/viewFile/19391/19457>

Vonk, J. 2014. Efficacy of Soil Set® in forage production. Alltech Crop Science. Heemskerk, Holanda.

WingChing-Jones, R; Uribe, L. 2015. Biomasa y actividad microbiana en suelos de uso ganadero y en regeneración de bosque (en línea). Cuadernos de investigación UNED 8(1): 107-113. Consultado 25 ene. 2019. Disponible en: <http://www.kerwa.ucr.ac.cr/handle/10669/73113>

Yruela, I. 2005. Cooper in plants (en línea). Brazilian Journal of Plant Physiology 17(1): 145-156. Consultado 13 jun. 2016. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1677-04202005000100012&script=sci_arttext

Zárate, F. 2002. Importancia y producción del género *Brachiaria* spp. en el trópico (en línea). Tesis Lic. Coahuila, México, Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". 67 p. Consultado 12 feb. 2019. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5799/T13191%20ZARATE%20MEDINA%2C%20%20FELIX%20%20%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Zavaleta, E. s.f. Los ácidos grasos volátiles, fuente de energía en los rumiantes (en línea). Ciencia Veterinaria 1: 223-240. Consultado 9 feb. 2019. Disponible en: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol1/CVv1c09.pdf>

Zuleta, C; Kelemu, S; Cardozo, O. 2002. Identificación de fuentes de resistencia a *Xanthomonas campestris* en *Brachiaria* spp (en línea). Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) (64): 41-47. Consultado 5 abr.

2018.

Disponible

en:

<http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/6356/A2042e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

8 ANEXOS

Anexo 1. Fertilizantes utilizados en el pasto *Brachiaria brizantha* cv. MG 5 durante el ensayo en Finca Las Nubes, Florencia, San Carlos, Alajuela, 2018.

Producto	Elemento que aporta	% del elemento	Dosis (l/ha)	Observaciones
CoRoN 28	Nitrógeno	28	1	Fertilizante líquido de liberación controlada
O-PHOS	Nitrógeno	8	1	Fertilizante líquido
	Fósforo	24		
	Hierro (EDTA)	0,1		
Tracite®	Nitrógeno	2	1	Fertilizante líquido
	Potasio	25		