



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA
AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: “EVALUACIÓN DE TRES FUENTES DE HIERRO PARA LA
BIOFORTIFICACIÓN FOLIAR EN RYE GRASS PERENNE (*Lolium
perenne*) VARIEDAD AMAZON”**

AUTOR: DIAZ CHAFLA, SAMANTA CAROLINA

DIRECTOR: ING. LANDÁZURI ABARCA, PABLO ANÍBAL

SANGOLQUÍ

2019



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, "*EVALUACIÓN DE TRES FUENTES DE HIERRO PARA LA BIOFORTIFICACIÓN FOLLAR EN RYE GRASS PERENNE (Lolium perenne) VARIEDAD AMAZON*" fue realizado por la señorita *Díaz Chafla, Samanta Carolina* el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 08 de febrero del 2019


.....
Ing. Pablo Anibal Landázuri Abarca
C.C.: 17082234-8
.....



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Díaz Chafla, Samanta Carolina*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: "*Evaluación de tres fuentes de hierro para la biofortificación foliar en Rye Grass Perenne (Lolium perenne) variedad Amazon*" es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 08 de febrero del 2019

.....
Samanta Carolina Díaz Chafla

C.C. 172713844-6
.....



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN

Yo, *Díaz Chafla, Samanta Carolina* autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: *“Evaluación de tres fuentes de hierro para la biofortificación foliar en Rye Grass Perenne (Lolium perenne) variedad Amazon”*, en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 08 de febrero del 2019

.....
Samanta Carolina Díaz Chafla

C.C.: *172713844-6*
.....

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación lo dedicó principalmente a Dios por ser la guía en mi camino y haberme permitido llegar hasta este momento de mi formación profesional. A mis padres Fausto y Rosario por ser el pilar fundamental de la persona en la que me he convertido, por su apoyo incondicional y llenar mi vida de consejos. A mi novio Freddy por su amor, paciencia y esfuerzo a lo largo de nuestra relación. A mi sobrino Isaac por ser la razón de quererme superar y a un futuro lograr ser un ejemplo a seguir. Al Ing. Pablo por poner su confianza en mí y haberme brindado todos sus conocimientos logrando que culmine esta etapa de mi vida con éxito.

Samanta Díaz

AGRADECIMIENTOS

Al término de esta investigación quiero expresar mis más sinceros agradecimientos:

A Dios, por ser mi camino y fortaleza en cada momento de vida.

A mis Padres, por sus consejos, amor y comprensión incondicional brindada en toda mi vida.

A mi novio Freddy por su apoyo físico, moral y sentimental desde el primer día que iniciamos esta historia de amor.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE, por otorgarme una educación de calidad a través de cada uno mis profesores que me brindaron sus conocimientos, en especial a mí director de tesis el Ing. Pablo Landázuri por el apoyo y consejos entregados en el desarrollo de esta investigación.

Al Lic. Marco Taco e Ing. Patricio Peñaherrera, por el tiempo, ayuda y conocimientos entregados en la fase de laboratorio.

A Luis, Alex, Veronica, Henry, Carol, Mauricio, Miguel, Dayana, Gabriela y Victor por su amistad ya que supieron llegar y actuar tanto con hechos como palabras justo en el momento que más lo necesitaba.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CARÁTULA

CERTIFICADO DEL DIRECTOR..... i

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD ii

AUTORIZACIÓN..... iii

DEDICATORIA iv

AGRADECIMIENTOS v

ÍNDICE DE CONTENIDO vi

ÍNDICE DE TABLAS..... xi

ÍNDICE DE FIGURAS..... xii

RESUMEN..... xiii

ABSTRACT xiv

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes..... 1

1.2 Justificación..... 3

1.3 Planteamiento del problema 5

1.3.1 Problema..... 5

1.3.2 Causas..... 5

1.3.3 Efectos 5

1.4 Objetivos..... 6

1.4.1 Objetivo General 6

1.4.2 Objetivos Específicos 6

1.5 Hipótesis..... 6

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1	Biofortificación.....	7
2.1.1	Biofortificación en los alimentos.....	7
2.1.2	Características agronómicas y nutricionales de alimentos biofortificados.....	7
2.2	Importancia del pasto en la alimentación de los rumiantes	8
2.2.1	Rye Grass Perenne.....	8
2.2.1.1	Clasificación taxonómica	8
2.2.1.2	Origen y distribución geográfica	8
2.2.1.3	Descripción morfológica	9
2.2.1.4	Adaptación.....	9
2.2.1.5	Rendimiento y valor nutritivo	9
2.2.2	Variedad Amazon.....	10
2.2.2.1	Descripción.....	10
2.2.2.2	Siembra.....	10
2.2.2.3	Rendimiento	11
2.3	Importancia del hierro	11
2.4	Hierro en las plantas	12
2.4.1	Transporte del hierro	12
2.4.2	Mecanismo de absorción	13
2.4.3	Funciones del hierro	14
2.4.4	Síntomas de deficiencias del hierro	15
2.4.5	Causas de deficiencia de hierro	16
2.4.6	Interacción del hierro con otros nutrientes	17
2.5	Hierro en animales.....	18
2.5.1	Mecanismo de absorción del hierro.....	18

2.5.2	Funciones del hierro	20
2.5.3	Síntomas de deficiencias del hierro	21
2.6	Clorofila.....	21
2.7	Fertilizantes	23
2.7.1	Importancia de los fertilizantes	23
2.7.2	Métodos de aplicación de fertilizantes	23
2.7.2.1	Fertilización foliar	23
2.8	Fuentes de Hierro	24
2.8.1	Sulfato ferroso	24
2.8.1.1	Beneficios y compatibilidad	25
2.8.1.2	Efectos por oposición y precauciones	25
2.8.2	Kelatex de hierro	25
2.8.2.1	Beneficios y compatibilidad	26
2.8.2.2	Efectos por oposición y precauciones	26
2.8.3	Nutrifer 11%	26
2.8.3.1	Beneficios y compatibilidad	27
2.8.3.2	Efectos por oposición y precauciones	27

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1	Ubicación del lugar de investigación	28
3.1.1	Ubicación política.....	28
3.1.2	Ubicación geográfica.....	28
3.1.3	Ubicación ecológica	29
3.2	Materiales	29
3.2.1	Biológicos.....	29
3.2.2	Campo.....	29

3.2.3 Laboratorio	29
3.3 Métodos	30
3.3.1 Fase de campo	30
3.3.1.1 Implantación ensayo, aplicación de tratamientos, análisis foliar y edáfico	30
3.3.2 Fase laboratorio	31
3.3.3 Diseño experimental	31
3.3.3.1 Factores de estudio	31
3.3.3.2 Tratamientos a comparar	31
3.3.3.3 Tipo de diseño	32
3.3.3.4 Características de las unidades experimentales	32
3.3.3.5 Croquis experimental.....	32
3.3.3.6 Esquema de análisis de varianza	33
3.3.3.7 Análisis funcional.....	33
3.3.4 Variables evaluadas	33
3.3.4.1 Vigor del rebrote.....	33
3.3.4.2 Altura de la planta	34
3.3.4.3 Número de macollos.....	34
3.3.4.4 Longitud de raíz.....	34
3.3.4.5 Materia seca.....	34
3.3.4.6 Clorofila.....	34
3.3.4.7 Análisis bromatológico.....	35
3.3.4.8 Análisis de macro y micronutrientes	36
3.3.4.9 Biodisponibilidad de hierro en hoja y raíz	36

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Vigor de rebrote.....	37
4.2	Número de macollos.....	38
4.3	Altura de planta	39
4.4	Longitud y materia seca de raíces	40
4.5	Concentración de clorofila	42
4.6	Análisis bromatológico.....	44
4.7	Análisis foliar	52
4.8	Biodisponibilidad de hierro ferroso.....	60

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1	Conclusiones.....	62
5.2	Recomendaciones	63
5.3	Bibliografía.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	<i>Descripción de los factores evaluados en el pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon</i>	31
Tabla 2	<i>Análisis de varianza de la biofortificación foliar en rye grass perenne var. Amazon bajo el efecto de diferentes tratamientos de hierro con dos diferentes cortes</i>	33
Tabla 3	<i>Escala de vigor de rebrote</i>	33
Tabla 4	<i>Fórmulas para el análisis bromatológico</i>	35
Tabla 5	<i>Niveles críticos en el forraje</i>	36
Tabla 6	<i>Comparación de tres diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempo sobre la longitud y materia seca de la raíz del pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon</i>	41
Tabla 7	<i>Promedio \pm error estándar de la concentración de clorofila en pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación</i>	43
Tabla 8	<i>Promedio \pm error estándar del análisis bromatológico del pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon en el primer corte bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación</i>	49
Tabla 9	<i>Promedio \pm error estándar del análisis bromatológico del pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon en el segundo corte bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación</i>	50
Tabla 10	<i>Promedio \pm error estándar de la bioacumulación de hierro en el pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación</i>	55
Tabla 11	<i>Promedio \pm error estándar del valor mineral de pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon en el primer corte bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación</i>	57
Tabla 12	<i>Promedio \pm error estándar del valor mineral de pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon en el segundo corte bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación</i>	58
Tabla 13	<i>Comparación del hierro ferroso en hoja y raíz de pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon</i>	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Absorción de la estrategia ii	14
Figura 2	Interacción de nutrientes sinergismo (líneas entrecortadas) y antagonismo (líneas completas).....	18
Figura 3	Esquema del ciclo del hierro en animales.....	19
Figura 4	Biosíntesis de la clorofila.....	22
Figura 5	Vista aérea del lugar de la investigación	28
Figura 6	Distribución de tratamientos en el invernadero de horticultura.....	32
Figura 7	Clorofila de pasto rye grass perenne var. Amazon	35
Figura 8	Promedio \pm error estándar de la altura, número de macollos y vigor de rebrote del pasto rye grass perenne (<i>Lolium perenne</i>) var. Amazon bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación	40
Figura 9	Medias de concentraciones de clorofila total.....	43
Figura 10	Promedios de concentraciones de hierro total	56
Figura 11	Correlación de pearson en la interacción de macro y micronutrientes en el pasto rye grass perenne (<i>Lolium perenne</i>) var. Amazon.....	56

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la biofortificación foliar con diferentes fuentes de hierro en Rye Grass Perenne (*Lolium perenne*) variedad Amazon a fin conocer la mejor fuente (E.D.T.A de hierro, D.T.P.A de hierro y Sulfato de hierro), dosis (15, 20 y 25 mg.l⁻¹) y tiempo (10,20 y 30 días) en la que se bioacumula el hierro en el pasto, cuya importancia de este micronutriente radica por su intervención en sistemas enzimáticos en animales como especies vegetales, siendo este último el más afectado por su baja movilidad en planta y disponibilidad en suelo. La investigación se realizó en las instalaciones del IASA I, bajo invernadero en un área de 21,75 m², y se aplicó un diseño completamente al azar (DCA) con veintisiete tratamientos más un testigo con cuatro repeticiones. A los 40 días luego de la siembra se realizó un corte de igualación de 6cm, cuyo corte fue la partida para la aplicación de los tratamientos a los 10, 20 y 30 días; las variables agronómicas (altura, número de macollos y vigor de rebrote) fueron evaluados cada 8 días, mientras que las de laboratorio (materia seca y fresca, clorofila, análisis de macro y micronutrientes, análisis bromatológico y biodisponibilidad de hierro) se hicieron cada 40 días por dos veces consecutivas. Los resultados de la investigación mostraron que el T14 (D.P.TA, 20ppm, 20 días) con 273,29 mg/kg en el primer corte y 302,97 mg/kg en el segundo se establecieron como el tratamiento con mayor bioacumulación de hierro en el pasto.

PALABRAS CLAVES

- **BIOFORTIFICACIÓN FOLIAR**
- **MICRONUTRIENTE**
- **BIOACUMULACIÓN**

ABSTRACT

These works assess the leaf biofortification with different iron sources in the perennial rye herb (*Lolium perenne*) Amazon variety. This was evaluated in order to know the best source (iron EDTA, iron DTPA and iron sulphate), dose (15, 20 and 25 mg.l⁻¹) in the time (10, 20 and 30 days). The research showed bioaccumulation of iron on the grass. This micronutrient is very important because it lies in intervention in the enzymatic systems in both animals and plant species. The lack of this micronutrient in plants can affect their mobility and availability in soil. The research took place in the IASA I facilities, under greenhouse in an area of 21.75 m², and a completely randomized design (DCA). It was applied with twenty-seven treatments plus a control with four repetitions made on it. 40 days after planting, a 6 cm equalization cut was carried out on the grass. This cutting was the point for the application of the treatments at 10, 20 and 30 days. The agronomic variables such as (height, number of tillers and vigor of regrowth) were evaluated every 8 days, while the laboratory materials (chlorophyll, macro and micronutrient analysis, bromatological analysis and iron bioavailability) were made at 40 for two consecutive times. The investigation results showed that T14 (DTPA, 20 ppm, 20 days) with 273.29 mg.kg⁻¹ in the first cut and 302.97 mg.kg⁻¹ in the second setting as the treatment with the highest bioaccumulation of iron on the grass.

KEYWORDS

- FOLIAR BIOFORTIFICATION
- MICRONUTRIENT
- BIOACCUMULATION

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La agricultura, ha demostrado ser la base de la alimentación de la población, que por su rápido crecimiento se ha direccionado en los últimos años en investigaciones que se centran en mejorar especies y técnicas agrícolas, a fin de satisfacer la demanda social, que presupone un proceso largo y con limitantes, como es el reporte de deficiencias de micronutrientes en cultivos, afectando de forma directa a animales y a la población (Ríos Ruiz, 2013).

Según Márquez, Guillén, De la Cruz, Castañón, Sánchez, Moreno, Latournerie & López (2015), mencionan que a fin de corregir dichas deficiencias en la población, se han presentado cuatro programas para combatir las deficiencias de micronutrientes como la distribución de suplementos dietéticos, diversificación en la dieta, fortificación industrial de los alimentos básicos y establecimiento de programas de biofortificación, siendo este un proceso generador de alimentos con una alta concentración de elementos esenciales indispensables para la dieta de los humanos y animales.

La biofortificación se ha presentado como una herramienta agrícola que facilita la absorción y acumulación de minerales traza (Fe, I, Cu, Zn, Mn, Co, Cr, Se, Mo, H, Sn, Si, y V) en cultivos locales (Pachón, 2009). La importancia dada hacia los micronutrientes se debe a que son sustancias requeridas para el normal crecimiento y desarrollo de los organismos vivos; y su deficiencia en la población se encuentra registrada con un 60 a 80% para de hierro (Fe), 30% para el zinc (Zn), 30% en yodo (I) y alrededor del 15% en selenio (Se); siendo la deficiencia de hierro las más crítica en salud pública en todo el mundo debido a su prevalencia (Sida, Sánchez, Ávila, Acosta, Carlos, & Zamudio, 2015).

Existen dos consorcios internacionales (AgroSalud y HarvestPlus) que se han dedicado a la biofortificación cuyos objetivos se han enfocado en aumentar el contenido de hierro, zinc, beta-carotenos, lisina y triptófano en cultivos como frijol, maíz, trigo, cebada, camote, papa, yuca y arroz (Márquez et al., 2015).

Donde el arroz ha tenido mayor éxito en todo el mundo debido a su enriquecimiento en hierro y zinc; cuyos micronutrientes que en deficiencia han sido los responsables de enfermedades y muertes de millones de personas anualmente, especialmente de niños; por lo que la implantación de programas de biofortificación ya se encuentran en varios países del mundo sobre todo en países en desarrollo (CIAT, INTA, SEMSA, CAISY, ICTA, IDIAP, s.f); donde el consorcio AgroSalud enfoca sus esfuerzos en 14 países de América Latina y el Caribe, mientras que HarvestPlus lo hace en países de África y Asia (Márquez et al., 2015).

En Ecuador existen pocos estudios, tal es el caso de la investigación realizada en biofortificación de seis accesiones promisorias y la variedad INIA-450 de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) mediante la aplicación de quelatos de Fe y Zn, bajo condiciones de invernadero donde las variables evaluadas fueron; índice de clorofila, fluorescencia y acumulación de hierro en hoja y tallo; donde se manifestó que la mayor dosis de hierro aumenta el índice de clorofila y fluorescencia, además de encontrar una acumulación de hierro y zinc en las hojas (Gálvez, 2009).

En otro estudio donde se evaluó la fertilización foliar y edáfica con hierro y zinc en diferentes variedades de papa en el cual se midió características agronómicas, contenido de hierro y zinc, materia seca en pulpa y cascara; resultando un mayor contenido de hierro y zinc en la cascara que en la pulpa sin afectar el rendimiento de las variedades (Gavilanes, 2015).

Mientras que en otro estudio con fertilización foliar y edáfica con hierro y zinc en diferentes cultivares de arroz sobre la concentración en el grano en la región Amazónica, cuyo estudio evaluó características agronómicas y contenido de hierro y zinc; mostró una mejora proporcional en las características agronómicas con las aplicaciones y presentó una concentración de hierro en el grano de arroz de la variedad INIAP-16 con $3,03 \text{ mg.l}^{-1}$ (Valero, 2015).

Finalmente se realizó un estudio de la biofortificación foliar con diferentes fuentes de zinc en Rye Grass Perenne (*Lolium perenne*) variedad Amazon, donde se evaluó características agronómicas, concentración de clorofila, ácido indol acético y diagnóstico foliar, mostrando al final una mayor bioacumulación del micronutriente cuando se utilizó la fuente de E.D.T.A de zinc a una dosis de 20 mg.l^{-1} aplicados a los 30 días consiguiendo un pasto de Rye Grass Perenne variedad Amazon con $62,60 \text{ mg.Kg}^{-1}$ de Zinc (Licito, 2017).

En el presente estudio se evaluó diferentes tipos de fuentes de hierro como fertilizantes, a fin de analizar las dosis y los días en el que el hierro se acumula en el Rye Grass Perenne (*Lolium perenne*) variedad Amazon.

1.2 Justificación

La biofortificación nace porque el Ecuador presenta serios problemas relacionados con la nutrición y alimentación, los cuales son más severos en la población infantil menor a cinco años, donde su mayor prevalencia se encuentra en zonas rurales (Herrera, Carpio & Chávez, 1999 citado por Gavilanes). Dichas deficiencias de micronutrientes y en particular del hierro, ha sido reconocida como un problema de salud pública, debido a sus implicaciones económicas y en el bienestar de la población humana en todo el mundo (Serpa, Vélez, Barajas, Castro, & Zuluaga, 2016).

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (2011), más de 2 billones de personas tienen deficiencia de hierro, lo que representa casi el 25 % de la población mundial; la cual se caracteriza por una disminución en los depósitos de hierro, con baja concentración sérica y baja saturación de transferrina, lo que implica cambios en los niveles de la concentración de hemoglobina que desemboca en una anemia (Serpa et al., 2016). También se puede generar una baja resistencia a infecciones, limitaciones en el desarrollo psico-motor y la función cognoscitiva (Salomón, Landriscini, Galantini, & Miranda, 2011).

Se prefiere cubrir deficiencias de micronutrientes con alimentos de origen vegetal que generalmente contienen agua, hidratos de carbono, fibra y poca grasa mientras que los de origen animal, contienen minerales aunque en ciertas ocasiones la presencia de Fe y Zn disminuyen considerablemente lo que lo vuelve limitante (Carbajal, 2002), de ahí que el uso de la biofortificación permitirá generar productos con niveles más altos de micronutrientes que contrarresten deficiencias.

El proceso de biofortificación en la presente investigación se evaluará con diferentes fuentes de hierro vía foliar para determinar la mejor dosis con la mayor acumulación en el pasto Rye Grass Perenne (*Lolium perenne*) variedad Amazon, el cual es un pasto muy utilizado en diferentes producciones pecuarias, especialmente de rumiantes debido a su amplia área de adaptación y fácil manejo (Vargas C. , 2011).

Por lo que biofortificarlo foliarmente permitirá completar los nutrientes del cultivo, que no pudo adquirirlo del suelo, especialmente cuando se refiere al hierro, micronutriente que de igual forma juega un rol importante en la planta debido a que forma parte de varias enzimas y algunos pigmentos. Adicionalmente, aunque el hierro no se usa en la síntesis de la clorofila, es esencial para su formación (PROMIX, 2018).

1.3 Planteamiento del problema

1.3.1 Problema

El desconocimiento del tipo de formulación, tiempo y dosis óptimas de absorción y acumulación del hierro en el pasto a través de la biofortificación foliar.

1.3.2 Causas

La mayoría de agricultores se encuentran limitados al momento de realizar y analizar un análisis tanto de suelo como foliar sumado al desconocimiento de la importancia de los micronutrientes, que en deficiencia afectan el crecimiento y producción de cultivos; pese a que los otros nutrientes se encuentren en concentraciones adecuadas, en especial cuando se refiere a los nutrientes primarios y secundarios, considerados como principales por el agricultor en un proceso de fertilización debido a su fácil accesibilidad, aplicación y costo.

1.3.3 Efectos

La creciente demanda de productos agrícolas ha generado el agotamiento de la capa fértil de los suelos resultando en una desertificación de suelos y problemas ambientales (Pereira, Maycotte, Restrepo, Calle, & Velarde, 2011). Afectando a diversos cultivos donde las carencias de nutrientes se ven reflejadas en los procesos fisiológicos y desarrollo, que a su vez han afectado a los seres humanos y animales.

Organizaciones reportan que las deficiencias de micronutrientes afectan a la tercera parte de la población mundial, que traen serias consecuencias sobre el aprendizaje del niño, capacidad de trabajo del adulto y pueden provocar enfermedades, y hasta la muerte; más aún cuando existe una deficiencia de hierro que se deriva en anemia (Padrón, 2011). Se han reportado casos de anemia en 800 millones de personas, donde 273 millones son niños y de

estos el 50% son menores de 5 años y el 25% es de 6-12 años. La deficiencia del hierro dependerá del balance determinado por la interacción entre los nutrientes que componen la dieta, la biodisponibilidad, las pérdidas y los requerimientos por crecimiento (Donato & Piazza, 2017).

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de tres fuentes de hierro sobre la biofortificación foliar en Rye Grass Perenne (*Lolium perenne*) variedad Amazon.

1.4.2 Objetivos Específicos

Establecer la mejor fuente, dosis y días de la bioacumulación de hierro en el pasto Rye Grass Perenne.

Determinar el efecto de las fuentes de hierro sobre parámetros agronómicos y fisiológicos del pasto Rye Grass Perenne.

Desarrollar un boletín técnico de biofortificación de hierro en el pasto Rye Grass Perenne.

1.5 Hipótesis

H₀: La inclusión de diferentes dosis de fuentes de hierro a través de la biofortificación foliar no incrementan la asimilación del nutriente en el pasto Rye Grass Perenne (*Lolium perenne*) variedad Amazon.

H₁: La inclusión de diferentes dosis de fuentes de hierro a través de la biofortificación foliar incrementan la asimilación del nutriente en el pasto Rye Grass Perenne (*Lolium perenne*) variedad Amazon.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Biofortificación

Es un proceso nuevo y sostenible que incrementa el contenido de nutrientes en la parte comestible así como la productividad mediante técnicas de mejoramiento de cultivo, intervención agronómica y biotecnología moderna (Uscátegui, 2011).

2.1.1 Biofortificación en los alimentos

El empleo de la biofortificación como una estrategia para disminuir las deficiencias de los micronutrientes de la población, especialmente del sector rural sin alterar los hábitos alimentarios a través de productos más nutritivos y locales, así como conseguir un flujo de micronutrientes al incluir dichos productos a la alimentación de animales (Uscátegui, 2011). En la actualidad se mencionan alimentos ya biofortificados como el frejol, arroz, maíz, camote y yuca (Calderón, 2012).

2.1.2 Características agronómicas y nutricionales de alimentos biofortificados

Los cultivos biofortificados presentan mayor rendimiento, resistencia a plagas y tolerancia a sequías, mejorando la disponibilidad de los alimentos en el hogar, mientras que en el aspecto nutricional estos pueden elevar su contenido en micronutrientes y carotenos mejorando la ingesta de nutrientes (Boy, 2014).

2.2 Importancia del pasto en la alimentación de los rumiantes

La importancia de los pastos en la alimentación de rumiantes es fácil de destacar por el simple hecho de que son animales herbívoros con un sistema digestivo bastante especializado para el aprovechamiento de tejidos vegetales, por lo que se debe aprovechar al máximo todos los atributos de este sistema digestivo para la utilización de la fuente de energía más abundante en la tierra, como es la celulosa y hemicelulosa presente en todos los pastos (Salgado, 2008).

Los pastos al constituirse como la dieta básica y más económica que dispone el productor para la alimentación de rumiantes lo que ha conllevado a que exista un crecimiento en su siembra pudiendo incluirlo en diversos programas agrícolas como rotación, enriquecimiento de suelo, protección del suelo, etc (Cabrera, s.f.).

2.2.1 Rye Grass Perenne

2.2.1.1 Clasificación taxonómica

El pasto Rye Grass Perenne pertenece a la clase Liliopsida, orden Gyperales y familia Poaceae cuyo nombre científico es *Lolium perenne* (Vibrans, Roldán, & Mondragón, 2009).

2.2.1.2 Origen y distribución geográfica

Su área de origen cubre el sur de Europa, norte de África y zona templada de Asia (Vibrans, Roldán, & Mondragón, 2009). Este ha sido considerado como el primer pasto cultivado para forraje, debido a su fácil adaptación a diferentes tipos de suelo; mencionándose que la planta es verdaderamente perenne en sus lugares de origen, registrándose pastizales de edad mayores de 40 años (Quilligana, 2016).

2.2.1.3 Descripción morfológica

Este pasto es el más usado en el mundo por su habilidad de germinación que va desde 6-10 días aún bajo condiciones poco favorables (Villalobos, 2006). Según Licto (2017), el Rye Grass Perenne presenta ciertas características como la de formar matas densas abundantes de macollos con una altura aproximada de 30-60cm. Además este pasto se distingue por sus raíces fibrosas poco profundas con tallos cilíndricos con nudos macizos en los cuales se insertan las hojas generalmente en posición alterna y opuesta, donde sus hojas son lampiñas con nervaduras paralelas de color verde claro también cada hoja cuenta con una vaina de forma tubular, en general abierta por un lado para rodear al tallo con un crecimiento hacia arriba fuera de la lígula, la inflorescencia está compuesta por espiguillas escalonadas en las ramificaciones (Bernal, 2008).

2.2.1.4 Adaptación

Se adapta en zonas entre los 1800-3600 m.s.n.m, considerando que arriba de los 3000 m.s.n.m su crecimiento puede reducirse con períodos de recuperación de 2 y 4 semanas, adicionalmente se requiere de suelos con una media a alta fertilidad con buen drenaje y buena nutrición en especial en nitrógeno, fósforo y potasio (Villalobos & Sánchez, 2010).

2.2.1.5 Rendimiento y valor nutritivo

El rendimiento del pasto está influenciado por las condiciones climáticas en las que este cultivado, con una frecuencia de corte entre 33 y 45 días se puede obtener 40,5 toneladas de MS/ha/año con un promedio de 2,84 hojas de rebrote (Villalobos & Sánchez, 2010).

La composición del pasto es de un 80 a 90% de agua que básicamente posee hidrogeno y oxígeno mientras que el contenido de materia seca es de 10-20% del peso inicial, donde el 90% de este último representa a tres elementos carbono, hidrogeno y oxígeno eso debido a que las paredes celulares están constituidas por celulosa y un 1,5% estaría representada por elementos minerales (Bernal, 2008). Mientras que la calidad nutricional presenta 25,21% de PC, 58,56% de FDN, 25,57% de FDA, 2,61% de EE (Villalobos & Sánchez, 2010).

2.2.2 Variedad Amazon

2.2.2.1 Descripción

Variedad tetraploide que se desarrolla en alturas de 2400 a 3200 m.s.n.m. y a cualquier tipo de suelo; con excelente desarrollo y vigor, escasa formación de tallos y alta tolerancia a roya pero exigente en riego y fertilización (Impulsores Internacionales, s.f.). Esta variedad de pasto es utilizada en pastoreo o corte, solo o en mezcla con otras gramíneas y leguminosas (ALASKA, 2016).

2.2.2.2 Siembra

Para establecer una buen cultivo de pasto Amazon, se debe optar por un terreno, libre de Kikuyo (*Penisetum clandestinum*), y que provenga de un cultivo limpio, no siendo esta una condición indispensable, dado el alto vigor inicial del mismo, mientras que si se desea sembrar en combinación se hará con leguminosas como trébol blanco o rojo (Gordillo & Vega, 2012). La densidad de siembra será en combinación en una proporción de 40 a 50 kg de Amazon, y 5 kg de trébol por hectárea, mientras que solo es de 70 kg por hectárea (ALASKA, 2016).

2.2.2.3 Rendimiento

Cuenta con una producción de 1236 kg MS.ha⁻¹ con un contenido rico en minerales (Armijos, 2014). Además su producción se caracteriza por ser de buena calidad, palatabilidad, digestibilidad; con una capacidad de carga de 4-6 animales por hectárea (Impulsores Internacionales, s.f.). Su rendimiento dependerá del manejo por lo que recomienda fertilizar después de cada tres cortes o pastoreos mientras que el primer corte se lo debe realizar a los 40 a 50 días con posteriores cortes de 35 a 45 días (Gordillo & Vega, 2012).

2.3 Importancia del hierro

El hierro es un componente clave en el metabolismo de todos los organismos vivos (NUTRIFACTS, s.f.). Este mineral se encuentra en los alimentos de dos formas químicas que son el hierro hemínico mismo que cuenta con una absorción de una cuarta parte y se encuentra en alimentos de origen animal, por otro lado se encuentra el hierro no hemínico el cual tiene una absorción baja aproximada de 8% y está presente en alimentos de origen vegetal (Monge, 2017). El organismo humano presenta aproximadamente entre 4 y 5 g de hierro (Ribas, 2009). Sin embargo, el hierro en el organismo se pierde cada día; 1 mg para un hombre adulto y 1,5 mg para una mujer en edad fértil a través de la descamación de la piel, orina, heces y propio funcionamiento (MARNYS, 2018).

Este mineral es de gran importancia debido a las funciones que desempeña en el crecimiento y desarrollo del organismo, ya que el cuerpo utiliza al hierro principalmente para la formación de hemoglobina así como para elaborar hormonas y tejido conectivo (Monge, 2017). Asimismo, fortalece la calidad de la sangre, previene la fatiga, estimula la piel sana, resistencia al estrés y las enfermedades (MARNYS, 2018).

Mientras que en plantas este mineral es de suma importancia ya que está asociado con el desarrollo de los cloroplastos, la síntesis de ferredoxina y de la clorofila; además se le atribuye a la asociación con enzimas de las mitocondrias y peroxisomas (Ribas, 2009).

2.4 Hierro en las plantas

2.4.1 Transporte del hierro

Según Satterlmacher (2000), menciona que la absorción del hierro empieza en el apoplasto de las células epidérmicas de la raíz. El estudio de *Arabidopsis thaliana* proporciona la primera visión del transporte del hierro en las plantas a partir del gen IRT1 el cual capta al Fe^{2+} , pero que puede inhibirse en presencia del cadmio; sin embargo este se presenta ante una deficiencia de hierro (Eide, Broderius, Fett, & Guerino, 1996). También esta introducción se puede dar por la acción concertada de la molécula reductasa oxidasa férrica (CERTIS, 2016). Esto como antes ya mencionado dependerá del tipo de estrategia donde, el Fe^{3+} del apoplasto, en las estrategia I, debe ser reducido a Fe^{2+} a través del sistema enzimático FC-R mientras que en la estrategia II, es transportado al interior de la célula mediante los transportadores de membrana específicos (Bienfait, Den, & Mesland, 1985).

El paso de raíz al xilema se da a través del simplasto en forma de complejo NA/Fe^{2+} , este una vez adentro se oxida a Fe^{3+} y es transportado a las diferentes partes de la planta como citrato/ Fe^{3+} (Tiffin, 1966) o como complejos con aniones orgánicos como el malato o el malonato e incluso con otro tipo de sustancias orgánicas (Rodríguez, 2010). Para el paso del Fe^{3+} a las hojas este tiene que ser reducido para su ingreso a la célula mediante la enzima FC-R, la cual se encuentra en la membrana plasmática del mesófilo de la hoja bajo la estimulación de la luz; como destino final del Fe en la planta es el cloroplasto donde los últimos estudios indican que transporte es activo y dependiente de la luz (López, 2000).

2.4.2 Mecanismo de absorción

El hierro es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre, donde se estima que los suelos poseen una media del 3,8% de hierro, el cual se presenta en la naturaleza en dos estados de oxidación ferrosa y férrica que en función de las condiciones ambientales puede ser tanto química como biológica (Castillo, 2005). En presencia de O_2 que es el único aceptor de electrones capaz de oxidar al Fe^{2+} a Fe^{3+} , el cual es poco soluble en agua y se precipita como óxido de Fe (Benavides, 1999). Las plantas toman el Fe directamente de la disolución del suelo por las raíces, mediante un proceso de absorción activa en forma de Fe^{2+} y en ocasiones en Fe^{3+} quelatado (Martínez M. , 2012).

Según Mengel y Kirkby (1987), mencionan que la capacidad de aumentar la disponibilidad del Fe, estará relacionado al tipo de planta las cuales pueden ser “no eficientes”, que son aquéllas que ante la deficiencia de Fe pueden permanecer indiferentes o desarrollar reacciones de respuesta con baja intensidad mientras que las “eficientes” desarrollan eficaces mecanismos de adaptación para aumentar su capacidad para adquirir Fe de la disolución del suelo. Donde estas últimas han desarrollado dos estrategias, donde la Estrategia I agrupa a plantas dicotiledóneas y monocotiledóneas no gramíneas y la Estrategia II a gramíneas (Benavides, 1999).

En la estrategia II las raíces de las gramíneas sintetizan y excretan compuestos de bajo peso molecular, llamados fitosideróforos (FS), que forman complejos con el Fe^{3+} que son absorbidos sin reducción a través de un sistema de transporte de Fe^{3+} -fitosideróforo de alta afinidad específico de la membrana plasmática de la raíz, el transporte del complejo hasta el citoplasma de la célula se realiza a través de una proteína de alta especificidad y selectividad denominada YS1, una vez que el complejo se encuentra en el citosol, el Fe^{2+} es liberado y el

FS se degrada o se excreta al exterior nuevamente (Martínez M. , 2012). Los FS también acarrean en este proceso otros cationes como el Zn, Mn y Cu (Benavides, 1999).

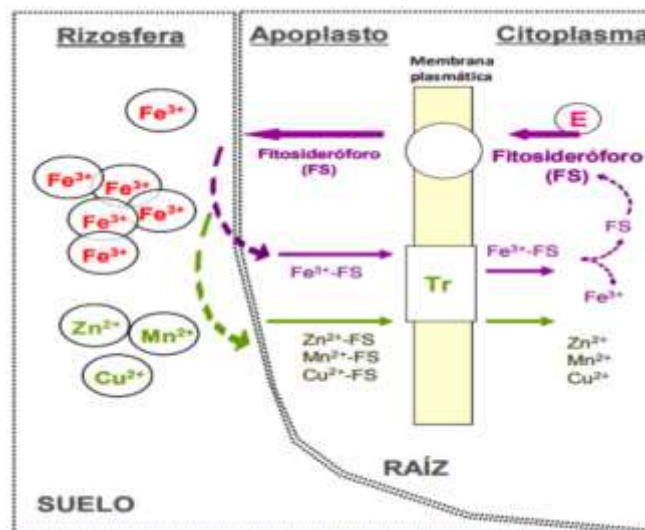


Figura 1 Absorción de la Estrategia II

Fuente: (Benavides, 1999)

2.4.3 Funciones del hierro

El Fe interviene en importantes funciones en el metabolismo de las plantas, principalmente en los sistemas enzimáticos debido a su intervención en relaciones redox que se dividen en no hemídicos y hemídicos. Donde las proteínas hemo abarcan a los citocromos dispuestos tanto en mitocondrias como en cloroplastos facilitando el transporte de los electrones (Martínez G. , 1995). Leghemoglobina, hemoproteína característica en leguminosas debido a su presencia en los nódulos radiculares cuya función es el transportar oxígeno a los bacteroides permitiendo así la fijación del nitrógeno (De felipe, 2009). Según Romheld y Marschner (1991), mencionan que las catalasas monofuncionales que intervienen en la fotorespiración, ciclo de Calvin y cataliza la disminución del peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno. Peroxidasas catalizan la oxidación de varios fenoles también participa en la biosíntesis del etileno, la defensa contra infecciones, en la curación de heridas y en la lignificación de la pared celular (Rivas, Baltasar, Moreno, & Sánchez, 2009).

Según Romheld y Marschner (1991), mencionan que el grupo de los no hemídicos se caracterizan porque el hierro está coordinado con un grupo tiol de cisteína o con S inorgánico formando enlaces Fe-S. Dentro de este grupo se encuentra la ferredoxina que actúa como aceptor de electrones para procesos metabólicos como NADP-1, reducción de N₂, nitrato reductasa y sulfito reductasa (Bodek & Castillo, 2013). El Fe también juega un rol importante en la síntesis de la clorofila, pese a que este como tal no contiene Fe, es necesario en tres períodos para el desarrollo de la biosíntesis debido a su actividad como precursor de las profirinas, el paso de Mg-protoporfirina a protoclorofilida y formación del ácido aminolevulínico (Kyrkby & Römheld, 2007). Cerca del 80 % de Fe de las hojas se localiza en los cloroplastos de ahí que el Fe es esencial para el mantenimiento de la función y estructura; adicionalmente, en las plantas se presenta una proteína que almacena hierro denominada fitoferritina (Azcón & Talón, 2000).

2.4.4 Síntomas de deficiencias del hierro

La ausencia de hierro en los cultivos se manifiesta principalmente en las hojas con un tipo de clorosis; donde en un inicio se aprecia un cambio de coloración intervenal que va desde la tonalidad verde pálido a amarillo pálido que dependerá del grado de intensidad de la deficiencia, manteniendo el color verde oscuro en las nerviaciones (Martínez M. , 2012). Si el déficit es severo se presenta una necrosis marginal en las hojas seguido de la caída prematura de las mismas, llegado en extremos a matar la planta (Ferreyra, Selles, Ruiz, Gil, & Barrera, 2008). Cabe mencionar que la clorosis primero aparece en las hojas más jóvenes y se va extendiendo a las hojas viejas (García, Abadía, & Abadía, 1998).

En el caso de gramíneas o plantas de hoja delgada los síntomas se puede confundir con una deficiencia de magnesio, ya que se presenta en forma de bandas entre nervios de color amarillo alternadas con nervios de color verde (Juárez, Cerdán, & Sánchez, 2018). En las raíces se puede provocar una inhibición de la elongación, un incremento del diámetro y una mayor abundancia de pelos pediculares (Martínez G. , 1995).

2.4.5 Causas de deficiencia de hierro

Las clorosis férrica se presenta por una baja solubilidad del hierro en suelos calcáreos, este hecho en si no ocurre por una baja concentración de hierro en el suelo si no más bien por la descomposición de los minerales en el suelo producto de las reacciones de hidrólisis y oxidación con el agua y aire (Loué, 1988). Otra razón es el pH del suelo debido a que en presencia del oxígeno y medio alcalino, el Fe^{2+} es oxidado a Fe^{3+} el cual es insoluble (Martínez M. , 2011).

La concentración del ión bicarbonato en la disolución del suelo ha sido relacionada con la incidencia de la clorosis férrica ya que un alto contenido de HCO_3^- en la disolución del suelo aumenta el pH disminuyendo el Fe soluble, por lo que una alcalinización provoca una menor secreción de compuestos fenólicos y dificulta la reducción de Fe^{3+} en la membrana plasmática sumado a un descenso en la toma y transporte de hierro hacia la planta (Sánchez A. , 2002). Otra situación son las condiciones ambientales como una alta humedad ya que se da una acumulación de anhídrido carbónico provocando la aparición de bicarbonato; también la baja temperatura produce una inhibición del crecimiento radicular afectando la absorción del Fe mientras que una alta temperatura producen la degradación de fitosideróforos que afecta directamente a la estrategia II (Martínez M. , 2011) y finalmente la clorosis férrica también se puede presentar por las interacciones del hierro con otros elementos.

2.4.6 Interacción del hierro con otros nutrientes

La planta es capaz de detectar deficiencias de un nutriente en concreto, sin embargo este puede verse afectado por el estado de concentración de otro nutriente; las interacciones entre nutrientes hacen referencia a la variación de los elementos en la hoja en función de los niveles del suelo, las mismas que pueden ser positivas o negativas en respuesta a la planta donde dos nutrientes pueden presentar una sinergia cuando tienen baja concentración y antagonismo cuando es alta la concentración, donde el efecto inverso no es común (Oltra, 2016).

Las interacciones se pueden presentarse en la superficie de la raíz o dentro de la planta, cuyas acciones las clasifican en dos categorías, siendo la primera los precipitados o complejo que ocurren entre iones por su capacidad de formar vínculos químicos y la segunda es entre iones con propiedades similares que compiten por el sitio de absorción, adsorción, transporte y función en la raíz o dentro de los tejidos, dichas interacciones son comunes entre nutrientes de similar tamaño, carga, geometría y configuración electrónica (Robson & Pitman, 1983).

En condiciones de campo las interacciones del hierro con otros nutrientes se han presentado de la siguiente manera en el caso del Mn este tiene un efecto antagónico del Fe y en altas concentraciones dentro de la planta pueden bloquear algunas rutas metabólicas en las que interviene el Fe (González & González, 2000). Por otro lado se puede presentar un antagonismo por las altas aplicaciones o contenido de P lo que conduce a la clorosis debido a la inmovilización interna de Fe, probablemente debido a la formación de fosfato de Fe; mientras que en el caso del K este tiene una relación sinérgica con el hierro debido a los procesos más esenciales de la glucólisis y el ciclo de Krebs, donde una concentración adecuada de K disminuye significativamente la toxicidad del Fe (Karnataka, 2011).

El Cu con el Fe tienen un efecto antagónico donde un exceso de Cu interfiere con la capacidad de la planta para absorber y/o trasladar otros nutrientes que inhiben la raíz mientras que un exceso de Fe disminuye la captación de Cu. Otro elemento que se comporta de forma antagónica con el Fe es el Zn donde un exceso de Zn interfiere con la utilización de Fe en las hojas para la síntesis de clorofila. Finalmente el Ca tiene un efecto antagónico con el Fe, debido a que en un nivel alto o en deficiencia de Ca contribuye a la clorosis (Fageria, 2001).

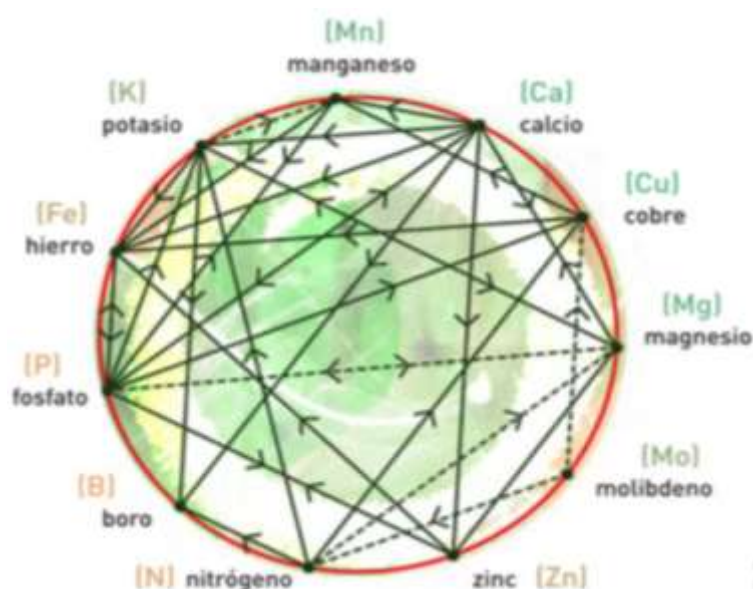


Figura 2 Interacción de nutrientes sinergismo (líneas entrecortadas) y antagonismo (líneas completas).

Fuente: (Mulder, 1953)

2.5 Hierro en animales

2.5.1 Mecanismo de absorción del hierro

Las células del organismo requieren la presencia de hierro de una u otra forma para su normal funcionamiento (García, Eandi, Feliú, & Musso, 2010), debido a sus propiedades como catalizador biológico, cofactor de grupos prostéticos de proteínas y enzimas que participan en el transporte y almacenamiento de oxígeno además de tener un rol fundamental en la respuesta a agentes infecciosos (Gaona, Villarraga, Giorgi, García, Mora, Castillo &

Roque, 2012). En la dieta de los animales el hierro está presente como no hemínico y hemínico siendo este último de gran importancia debido a su gran bioaccesibilidad (Pereiro, 2014), mientras que el no hemínico está limitado ya que en soluciones acuosas con $\text{pH} > 7$, este se encuentra en dos estados de oxidación estables Fe^{2+} y Fe^{3+} , donde este último forma radicales libres que no son directamente viables para la absorción (West & Oates, 2008). El hierro absorbido se almacena en forma de ferritina o se utiliza para formar hemoproteínas (hemoglobina, mioglobina, citocromos, etc).

El exceso de hierro se deposita intracelularmente como ferritina y hemosiderina en el sistema retículo endotelial del hígado, bazo y medula ósea (Toxqui, De Piero, Courtois, Batidas, Sánchez & Vaquero, 2010); sin embargo la mayor parte del hierro es absorbido en el intestino delgado principalmente por el duodeno a través de los enterocitos (Toxqui et al, 2010). El proceso de absorción es controlado por tres factores: intraluminales (inhiben o promueven la cantidad de hierro disponible para la absorción), mucosales (incluyen la extensión de la superficie de la mucosa y la motilidad intestinal) y somáticos (estado nutricional del hierro de un individuo, la eritropoyesis y la hipoxia) (Nemirovsky, 2010).

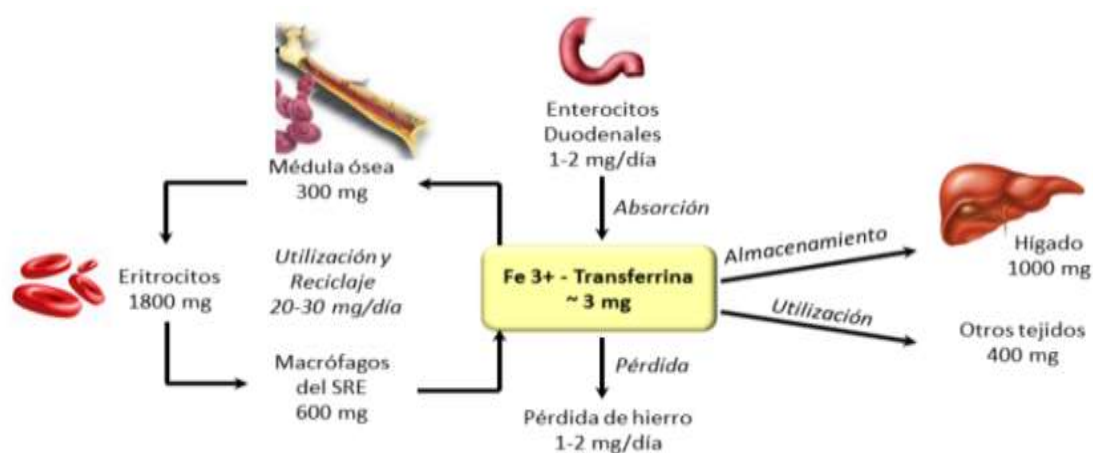


Figura 3 Esquema del ciclo del hierro en animales

Fuente: (Giorgi, 2016)

2.5.2 Funciones del hierro

El hierro participa en varios procesos biológicos y celulares que son vitales para el desarrollo de los animales (Páez, Campos, & Patiño, 2013). Se estima que el 90% de Fe se encuentra en el organismo con un 60-70% en la hemoglobina, 5-7% en la mioglobina de los músculos, un 25% en el interior de la célula en forma de ferritina o hemosiderina en hígado, bazo y riñón y un 0,1% en el sistema enzimático de respiración (Villarreal & Baca, 2014).

Este mineral cumple las siguientes funciones: transporte y depósito de oxígeno en los tejidos a través de la hemoglobina mientras que la mioglobina juega un papel fundamental en el transporte y el almacenamiento de oxígeno en las células musculares, regulando el oxígeno de acuerdo a la demanda de los músculos cuando entran en acción; asimismo en el metabolismo de energía debido al transporte de energía en todas las células a través de los citocromos; también como antioxidante por las enzimas catalasa y peroxidasa en la protección de las células contra la acumulación de peróxido de hidrógeno; también se le atribuye en la participación de la síntesis de ADN ya que el hierro forma parte de una enzima (ribonucleótido reductasa) que es necesaria para la síntesis de ADN y división celular.

El hierro también cumple una función dentro del sistema nervioso central ya que participa en la regulación de los mecanismos bioquímicos del cerebro, en la producción de neurotransmisores y otras funciones encefálicas relacionadas al aprendizaje y la memoria como así también en ciertas funciones motoras y reguladoras de la temperatura; finalmente también influye en el sistema inmune con la enzima mieloperoxidasa que está presente en los neutrófilos que forman parte de las células de la sangre encargadas de defender al organismo contra las infecciones o materiales extraños a través de producción de sustancias (ácido hipocloroso) (Licata, 2018).

2.5.3 Síntomas de deficiencias del hierro

El hierro tiene una función esencial en el metabolismo de los mamíferos y una disminución del mismo desembocaría en una anemia (García, Eandi, Feliú, & Musso, 2010). En los animales un proceso anémico se puede presentar en la preñez, una prolongada hemorragia, alteraciones provocadas por parásitos internos y externos o en enfermedades que afecten el metabolismos debido a que se incrementan los requerimientos del hierro (Mufarregge, 2003).

Sin embargo, la deficiencia de hierro no es común en rumiantes adultos debido al acceso a las pasturas, mientras que esta condición se manifiesta en terneros sin acceso a forraje que son alimentados predominantemente con leche donde la misma tienen un contenido bajo de hierro (Villarreal & Baca, 2014). Según Aburto y Andrews citado por (Villarreal & Baca, 2014) mencionan que los animales en deficiencia de hierro presentan síntomas como una reducción en el apetito que repercutirá en la ganancia de peso y desarrollo, fatiga, sed, membranas de las mucosas se tornan pálidas y en casos severos se presenta la muerte donde los hallazgos de necropsia son un hígado que tiende a estar agrandado, músculos pálidos con sangre diluida y acuosa, y una coagulación lenta.

2.6 Clorofila

La clorofila es un pigmento que se encuentra en todas las plantas y en ciertas algas además es responsable del proceso fotosintético, en el que la energía lumínica es transformada en energía química por plantas, algas y algunas bacterias que les permite desarrollarse (Notario, 1930). Para la transformación lumínica se requiere de los siguientes factores: energía radiante, humedad, temperatura y estrés hídrico (Cambrón, España, Sánchez, Sáenz, Vargas & Herrerías, 2011).

La clorofila es una porfirina insoluble en agua pero soluble en disolventes orgánicos y está constituida por un anillo tetrapirrólico con cuatro pirroles asociados en posición alfa, en estas moléculas los dobles enlaces se encuentran conjugados, mientras que las posiciones β , las porfirinas poseen diversos sustituyentes de acuerdo a su naturaleza y finalmente en el centro se encuentra un átomo metálico siendo este un Mg quelatado (Martínez G. , 1995).

Se pueden distinguir varios tipos de clorofila, siendo las conocidas las a y b su diferencia es que en la clorofila "a" (verde azulada) presenta un grupo metilo (-CH₃) en el carbono 3, y la "b" (verde amarillenta) un grupo aldehído (-CHO) en la misma posición (Lallana & Lallana, 2003). La obtención de la clorofila total es la suma de las clorofilas a y b. Donde la clorofila *a*, es el pigmento principal, que transforma la energía lumínica en energía química, la cual se utiliza en el crecimiento de las plantas, por lo que se considera un pigmento activo, mientras que la clorofila *b* absorbe la luz en longitudes de onda diferentes que la clorofila *a*; la luz se transfiere después a la clorofila *a*, que la transforma en energía; por esto, a la clorofila *b* se le considera un pigmento accesorio y forma parte de las antenas colectoras (Cambrón et al., 2011).

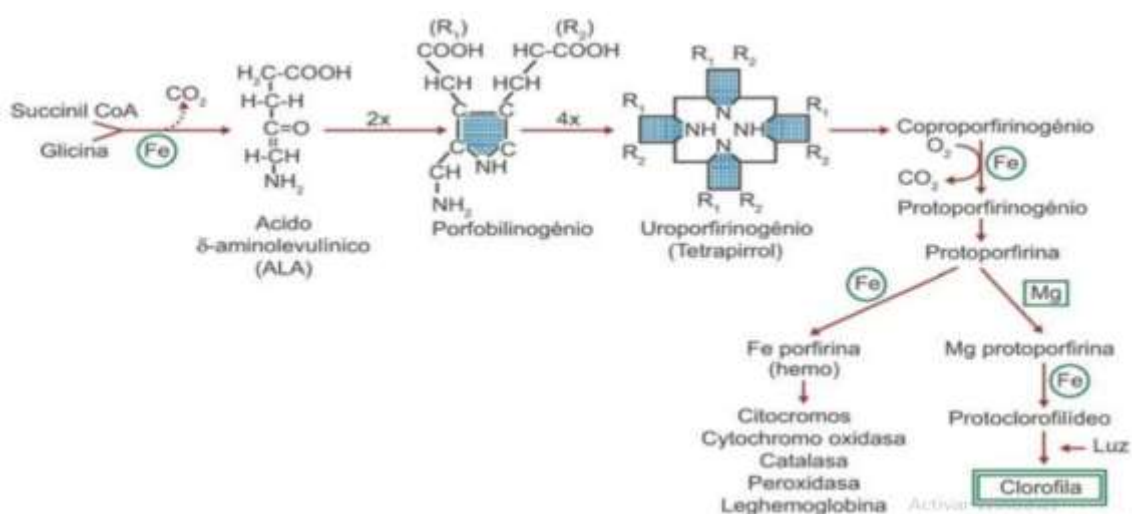


Figura 4 Biosíntesis de la clorofila

Fuente: (Kyrkby & Römheld, 2007)

2.7 Fertilizantes

2.7.1 Importancia de los fertilizantes

El crecimiento exponencial de la población y la búsqueda de los agricultores para obtener respuestas y mejores maneras de producir diversos cultivos ha generado un sin número de investigaciones enfocadas en mejorar los rendimientos de los cultivos a partir del uso de fertilizantes, mismos que proveen nutrientes que los cultivos necesitan. Con los fertilizantes se pueden producir más alimentos y cultivos comerciales, de mejor calidad, mejorando la baja fertilidad de los suelos que han sido sobreexplotados con un solo fin de proveer el bienestar de la sociedad (FAO & IFA, 1992). Además el uso racional y equilibrado de fertilizantes contribuye a reducir la erosión, acelerando la cubierta vegetal del suelo y protegiéndolo de agentes climáticos (ANFFE, 2008).

2.7.2 Métodos de aplicación de fertilizantes

El método de aplicación dependerá del tipo de fertilizante a usar y tipo de equipo requerido, la finalidad del método de aplicación busca una localización de los nutrientes en las zonas del suelo donde exista mayor actividad de las raíces; y este comprende tres formas el aplicar que son: radicular, foliar y por fertirriego (Martínez & Gallardo, 2018).

2.7.2.1 Fertilización foliar

La evolución de las plantas se vio reflejado en la mayoría de los órganos, sin embargo, en las hojas se mantuvo la capacidad original de absorber agua y sales disueltas lo que permitió la posibilidad de proporcionar nutrientes a la planta lo que dio origen a la fertilización foliar, siendo su inicio en el siglo XIX en Europa (Malavolta, 2010).

Como su nombre lo indica la fertilización foliar es nutrir a cualquier planta a través de las hojas en todo el período de desarrollo, este método se utiliza como un complemento a la fertilización al suelo y ha demostrado ser factible, además este método ha ido convirtiéndose como una práctica común entre los productores por los resultados al momento de corregir deficiencias nutrimentales, favorecer el desarrollo de los cultivos, mejorar el rendimiento y la calidad del producto (Santos & Aguilar, 2000).

Fisiológicamente todos los nutrientes pueden ser absorbidos por vía foliar, sin embargo no se puede completar toda la nutrición por este medio debido al alto costo de número de aplicaciones que sería necesario realizar para satisfacer el total de los requerimientos de nutrientes, especialmente de los primarios; no obstante, la aplicación foliar abastece los requerimientos de los micronutrientes (Zn, Fe, Cu, Mn, B y Mo), mientras que simultáneamente se puede suplementar parte de los requerimientos de N-P-K-Ca-Mg-S requeridos en los períodos de estado de crecimiento críticos del cultivo (Venegas, s.f).

2.8 Fuentes de Hierro

2.8.1 Sulfato ferroso

Es una fuente de hierro totalmente soluble en agua, útil para prevenir y corregir carencias de este micro elemento en todos los cultivos, por ser un producto higroscópico y fotosensible, se debe aplicar en horas de la mañana en soluciones de fertirrigación o en aplicaciones foliares, a fin de evitar su insolubilización por efecto de la oxidación (FERMAGRI, 2018).

2.8.1.1 Beneficios y compatibilidad

El sulfato de hierro ha tenido una gran importancia en la agricultura debido a su rápida corrección ante una clorosis férrica y aportando el nutriente mejorando los procesos fisiológicos en los que participa, este producto también ha sido utilizado en suelos alcalinos a fin de bajar el pH ya que este al ser mezclado con el suelo, lo acidifica (AGRICULTURERS, 2016). Este producto es compatible con la mayoría de fertilizantes foliares y fitosanitarios de uso común sin embargo es incompatible con sustancias alcalinas, carbonatos solubles y materiales oxidantes (QUIAGRAL, 2015).

2.8.1.2 Efectos por oposición y precauciones

El sulfato ferroso se considera tóxico para el medio acuático debido a que favorece la eutrofia, en cambio el riesgo para el medio terrestre se manifiesta bajo, mientras que la exposición en el ser humano en ciertas áreas del cuerpo puede tener efectos como irritaciones en piel, vías respiratorias y en el contacto ocular mientras que por ingestión se presenta náuseas, vómitos y diarrea; por lo que se recomienda que al momento de la aplicación del producto se cuente con protección personal como guantes, gafas, botas y overol además de no ingerir alimentos durante la manipulación del producto y conservar al producto en un ambiente seco y ventilado (CTR, 2016).

2.8.2 Kelatex de hierro

Es un fertilizante en forma de polvo soluble, para aplicación foliar, edáfica y en sistemas de fertirriego que aporta el anión hierro, 100% quelatado con EDTA, que garantiza una máxima disponibilidad y eficiencia para el cultivo (COSMOAGRO, 2015).

2.8.2.1 Beneficios y compatibilidad

Favorece a los procesos de fotosíntesis y respiración en las plantas, debido a su alta concentración de hierro con un efecto rápido y eficiente al ser aplicado en los momentos donde la falta de luminosidad afecta la productividad de los cultivos (COSMOAGRO, s.f.). Además es compatible con fertilizantes granulados, polvos y líquidos, como también con la mayoría de insecticidas y fungicidas de uso corriente en agricultura (FARMAGRO, 2016).

2.8.2.2 Efectos por oposición y precauciones

Este producto se considera clasificado como no peligroso por lo que no presenta síntomas y efectos conocidos, pero se debe considerar que al momento de su aplicación no ingerir ningún alimento y hacer uso de guantes, gafas, mascarilla y overol, sin embargo, se ha registrado como peligroso cuando se ingiere en tal caso se debe inducir al vómito y dar de beber abundante agua adicionalmente su almacenamiento no tiene restricciones (COSMOAGRO, 2015).

2.8.3 Nutrifér 11%

Es un fertilizante soluble adecuado para la corrección de carencias de hierro en forma de microgranulos. Se puede aplicar por soluciones nutritivas en fertirrigación e hidroponía, pero también al suelo o foliar (FERMAGRI, 2018).

2.8.3.1 Beneficios y compatibilidad

Nutrifer 11 % al ser un quelato con DTPA garantiza que el nutriente hierro no precipite hasta un pH máximo de 7, permitiendo así una corrección inmediatamente de esta deficiencia y es compatible con la mayoría de quelatos y soluciones de fosfatos solubles (FERMAGRI, 2018).

2.8.3.2 Efectos por oposición y precauciones

Producto no peligroso si se maneja correctamente, sin embargo, se debe evitar el contacto con los ojos y la piel. A altas concentraciones de polvo el producto puede causar irritaciones del tracto respiratorio (FERMAGRI, 2018).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 Ubicación del lugar de investigación

La presente investigación se realizó en las instalaciones de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

3.1.1 Ubicación política

La investigación se ubicó en la provincia Pichincha, cantón Rumiñahui, parroquia San Fernando en la Hacienda el Prado (IASA I).

3.1.2 Ubicación geográfica

Geográficamente el área de estudio se encontró a $78^{\circ} 24' 54''$ de longitud y $0^{\circ} 23' 03''$ de latitud con una altitud de 2713 m.s.n.m.



Figura 5 Vista aérea del lugar de la investigación
Fuente: (GOOGLE EARTH, 2018)

3.1.3 Ubicación ecológica

Zona de vida:	Bosque Húmedo
Piso altitudinal:	Montano bajo
Región latitudinal:	Templada
Precipitación:	1285 mm.año ⁻¹
Temperatura media anual:	14 ° C
Humedad relativa:	68 %

Fuente: (MA-56, 1998-2018).

3.2 Materiales

3.2.1 Biológicos

Semillas de Rye Grass Perenne (*Lolium perenne*) variedad Amazon.

3.2.2 Campo

Suelo homogéneo, carretilla, pala, azadón, set de jardinería, tijera de podar 17``, saran, plástico negro, piola, fundas de papel, regla, cinta métrica, material de oficina, macetas de plástico de 25x20 cm, fertilizantes (sulfato ferroso, E.D.T.A de hierro y D.T.P.A), fijador y atomizadores.

3.2.3 Laboratorio

Materia fresca y seca del pasto, fundas de papel, papel filtro, papel aluminio, papel encerado, crisoles, balones y probetas de 50 y 100 ml, tubos de ensayo, tubos falcon, vasos de precipitación, pizeta, mortero, embudo, pipetas, pera, erlenmeyer de 50ml, balanza, espectrofotómetro, estufa, mufla, centrifuga, equipo de digestión kjeldahl, equipo de

absorción atómica, núcleos de ebullición, tabletas de catalizador kjeldahl, ácido bórico, ácido clorhídrico, 1,10-fenantrolina, acetona, etanol, ácido sulfúrico, vanadato de amonio, molibdato de amonio, ácido nítrico, óxido de lantano, cloruro férrico, hidróxido de sodio, agua destilada y des ionizada.

3.3 Métodos

3.3.1 Fase de campo

3.3.1.1 Implantación ensayo, aplicación de tratamientos, análisis foliar y edáfico

Previo a la implantación del ensayo se realizó un análisis de suelo, para esta actividad se muestreó en zigzag un potrero de Rye Grass; la muestra se envió a los laboratorios de Agrocalidad de Ecuador, donde se analizó pH, materia orgánica, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, manganeso, cobre, zinc y en especial hierro a fin de conocer el contenido inicial de hierro. Del potrero analizado se extrajo 10 quintales de tierra aproximadamente para llenar 112 macetas de 25 x 20 cm, con capacidad de 4,5 kg de suelo. Posterior al llenado de macetas se sembró 20 semillas de Rye Grass perenne (*Lolium perenne*) variedad Amazon en cada maceta a una profundidad de 0,5 cm.

Cuarenta días después de la siembra se efectuó un corte de igualación para unificar el pasto a una altura de 6 cm; el material vegetal del pasto cortado se envió a Agrocalidad de Ecuador donde se analizó cenizas, materia orgánica, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, manganeso, cobre, zinc y hierro a fin de conocer la composición nutricional inicial del pasto. Posterior al corte de igualación se aplicó los tratamientos a los 10, 20 y 30 días a primeras horas de la mañana con atomizadores de 500 ml.

Finalmente, por dos veces a los 40 días, en cada maceta se cortó el pasto a una altura de 6 cm de la base y se almacenó en frascos hasta su análisis en laboratorio; la fase de campo tuvo una duración de 120 días.

3.3.2 Fase laboratorio

Esta fase abarcó la preparación de tratamientos, medición de clorofila, análisis bromatológico (humedad, cenizas, proteína, fibra y grasa), análisis macro y micro nutrientes en hojas, hierro total y Fe^{2+} en hoja y raíz del pasto Rye Grass Perene (*Lolium perenne*) variedad Amazon.

3.3.3 Diseño experimental

3.3.3.1 Factores de estudio

Los factores en estudio fueron: fuentes de hierro, dosis, tiempos de aplicación y cortes (Tabla 1).

Tabla 1

Descripción de los factores evaluados en el pasto Rye Grass Perenne (Lolium perenne) var. Amazon

Fuentes de hierro	Dosis (mg.l^{-1})	Tiempo (días)	Cortes
E.D.T.A Fe	15	10	1
D.P.T.A Fe	20	20	2
FeSO_4	25	30	

3.3.3.2 Tratamientos a comparar

Los tratamientos se obtuvieron al relacionar las fuentes de hierro (FeSO_4 , E.D.T.A de hierro y D.T.P.A de hierro), dosis (15 mg.l^{-1} , 20 mg.l^{-1} y 25 mg.l^{-1}) y tiempos de aplicación (10, 20 y 30 días después del corte de igualación), resultando 27 tratamientos más un testigo,

obteniendo al final 28 tratamientos, donde a su vez cada tratamiento contó con cuatro repeticiones dando un total de 112 unidades experimentales.

3.3.3.3 Tipo de diseño

El experimento se dispuso bajo un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial con cuatro repeticiones

3.3.3.4 Características de las unidades experimentales

Se contó con 112 unidades experimentales representadas por cada una de las macetas con suelo homogéneo de potrero y 20 semillas de Rye Grass Perenne (*Lolium perenne*) variedad Amazon, dispuestas a 15 cm entre maceta y maceta, ocupando un área total de 21,75 m².

3.3.3.5 Croquis experimental

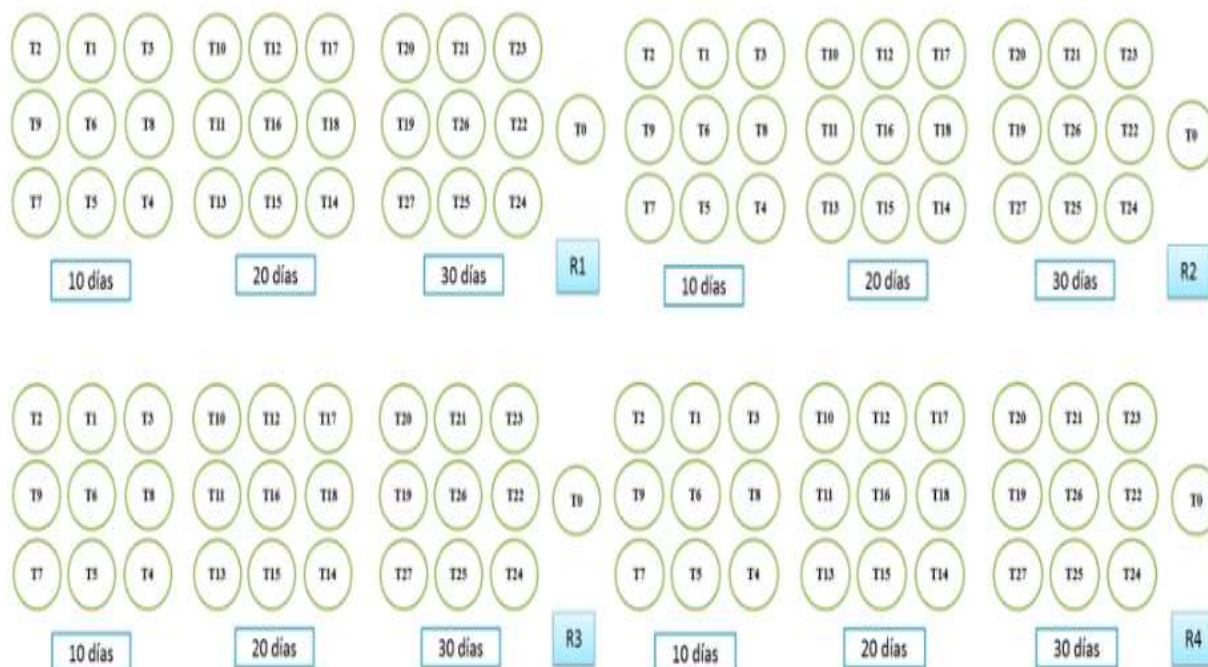


Figura 6 Distribución de tratamientos en el invernadero de horticultura.

3.3.3.6 Esquema de análisis de varianza

Tabla 2

Análisis de varianza de la biofortificación foliar en Rye Grass Perenne var. Amazon bajo el efecto de diferentes tratamientos de hierro con dos diferentes cortes

F de V	g.l
Tratamientos	27
Cortes	1
Tratamientos x Cortes	27
Error	84
Total	111

3.3.3.7 Análisis funcional

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) para diseños factoriales y prueba de DGC para establecer diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos y cortes, además se realizó un análisis de correlación para macro y micro nutriente en el software estadístico INFOSTAT, finalmente se usó estadística descriptiva.

3.3.4 Variables evaluadas

3.3.4.1 Vigor del rebrote

Esta variable se determinó a partir del corte de igualación, de forma visual observando características como número de macollos, grosor de tallo, altura y color de hoja por unidad experimental, para luego ser calificado por la escala de vigor de rebrote (Tabla 3).

Tabla 3

Escala de vigor de rebrote

Valor	Significado
9 -10	Muy Bueno
7 – 8	Bueno
5 – 6	Regular
0 – 4	Malo

Fuente: (Cárdenas & Garzón, 2011)

3.3.4.2 Altura de la planta

La altura del pasto se tomó una vez por semana luego del corte de igualación, mediante la técnica sin disturbar que consiste en medir de arriba hacia abajo con una regla métrica colocada en forma perpendicular al suelo (Demanet, 2012).

3.3.4.3 Número de macollos

El conteo de macollos se inició cuando el pasto presentó entre 2-3 hojas con una frecuencia de una vez por semana.

3.3.4.4 Longitud de raíz

La longitud de raíz se determinó al finalizar la investigación con el retiro y lavado de raíces de cada uno de los tratamientos, la medición se realizó fotográficamente con el programa ImageJ.

3.3.4.5 Materia seca

El porcentaje de materia seca se determinó por diferencia de peso a los 40 días de cada corte; a partir de las muestras de materia fresca sometidas al secado en estufa por un tiempo de 24 horas a una temperatura de 100 °C a fin de extraer todo el contenido de agua del pasto.

$$\% \text{ de materia seca} = \text{peso materia seca} / \text{peso materia fresca} \times 100$$

Fuente: (Cerdas, Montero, & Somarribas, 2014)

3.3.4.6 Clorofila

Para la medición de clorofila a los 40 días de cada corte, se utilizó el método de extracción (Sumanta, Choudhury, Nishika, & Suprakash, 2014), donde se tomó 0,25 g de materia fresca y se maceró en 2,5 ml de etanol al 95,9%, posteriormente se aforo a 8 ml y se dejó reposar por

24 horas a una temperatura de -4°C , transcurrido el tiempo se centrifugo a 10 000 revoluciones por 15 minutos, luego se separó el sobrenadante en tubos de ensayo y finalmente se leyeron las muestras a 649 nm (clorofila a) y 664 nm (clorofila b) en el espectrofotómetro; cabe mencionar que todo el proceso se llevó en oscuridad.

La clorofila total se obtuvo con las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned} \text{Clorofila } a &= 13,36 A_{664} - 5,19 A_{649} \\ \text{Clorofila } b &= 27,43 A_{649} - 8,12 A_{664} \\ \text{Clorofila total } (a + b) &= 5,24 A_{664} + 22,24 A_{649} \end{aligned}$$

Fuente: (HARTMUT, 1987).



Figura 7 Clorofila de pasto rye grass perenne var. Amazon

3.3.4.7 Análisis bromatológico

Para el análisis bromatológico se recolectó el material vegetal a los 40 luego de cada corte y se determinó el porcentaje de humedad, ceniza, proteína, grasa y fibra bruta (Tabla 4).

Tabla 4

Fórmulas para el análisis bromatológico

Método	Análisis	Fórmula	Descripción
Secado	Humedad	$H\% = \frac{(Ph - Ps)}{Ph} \times 100$	%H: porcentaje humedad Ph: peso muestra húmeda. Ps: peso muestra seca (g)
Calcinación	Ceniza	$\%C = \frac{Pcz - Pc}{M} \times 100$	%C: porcentaje ceniza Pc: peso del crisol (g) Pcz: peso crisol más ceniza. M: peso de la muestra (g)
Kjendahl	Proteína	$\% N = \frac{14 \times N \times V \times 100}{M \times 1000}$ $\% P = \% N \times 6,25$	%N: porcentaje de nitrógeno N: normalidad de la solución (0,1N) V: ácido gastado en la titulación (ml) M: peso de la muestra (g) %P: porcentaje de proteína.

Soxhlet	Grasa	$\%G = \frac{Pbr - Pb}{Pm} \times 100$	%G: porcentaje grasa Pb: peso balón (g) Pbr: peso balón más muestra (g) Pm: peso muestra (g)
Digestión ácida y alcalina	Fibra	$\%F = \frac{Pf - Pp}{Pm} \times 100$	%F: porcentaje de fibra Pf: peso papel más fibra (g) Pp: peso papel (g) Pm: peso de la muestra (g)

Fuente: Laboratorio de química IASA-I

3.3.4.8 Análisis de macro y micronutrientes

A los 40 días de cada corte, se realizó el análisis foliar donde se recolectó y pesó el pasto, posteriormente se lavó y seco las muestras a una temperatura de 100 °C por 24 horas, luego se calcinó las muestras en la mufla a una temperatura de 500 °C por 24 horas a fin de obtener las cenizas, con las cuales se preparó diluciones para cada macro y micronutriente, finalmente se procedió hacer la lectura en el equipo de absorción atómica con el que se determinó la cantidad de hierro, zinc, potasio, sodio, magnesio, manganeso y calcio, mientras que para el fósforo se hizo por el espectrofotómetro a 466 nm; a fin de conocer el estado nutricional del pasto (Tabla 5). Para el análisis radicular se efectuó el mismo proceso al término de la investigación, pero solo se determinó el contenido de hierro total y Fe⁺².

Tabla 5

Niveles críticos en el forraje

Elemento/Nivel	K ppm	P Ppm	N %	Ca %	Mg %	Fe ppm	Mn ppm	Cu ppm	Zn ppm
Bajo	<1,96	<0,21	<2,9	<0,24	<0,26	<70	<48	<10	<26
Medio	1,96-3,05	0,21-0,44	2,9-4	0,24-0,77	0,26-0,42	70-360	48-290	oct-31	26-70
Alto	>3,08	>0,44	>4	>0,77	>0,42	>360	>290	>31	>70

Fuente: (Bernal, 2008)

3.3.4.9 Biodisponibilidad de hierro en hoja y raíz

Para la determinación de hierro ferroso (Fe²⁺) se tomó 2 g de materia fresca previamente lavados y cortados en trozos de 2 mm, estos se colocaron en tubos de ensayo con 10 ml de la solución de 1,10-fenantrolina, los cuales se mantuvieron por 24 horas a temperatura ambiente, se filtró y se procedió a hacer la lectura en el equipo de absorción atómica.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Vigor de rebrote

El vigor de rebrote se valoró a través de la escala de Cárdenas y Granda (Tabla 3) al término de cada corte, esta variable no presentó diferencias significativas entre los dos cortes ($F=1,41$; $p=0,2373$).

Para el primer corte no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos ($F=1,47$; $p=0,0937$) pero si fue significativo para los tratamientos del segundo corte ($F=1,80$; $P=0,0221$); cabe mencionar que la mayoría de tratamientos se encontraron en un rango de 7-9 considerados como buenos a muy buenos a excepción del testigo que fue de 6 considerado como regular esto para el primer corte, mientras que para el segundo corte los tratamientos se encontraron en un rango 7-8 calificándolos como buenos a excepción del testigo que se mantuvo como regular por registrar un valor de 6 (Figura 8).

Los valores obtenidos en cuanto a la disminución del vigor de rebrote entre los dos cortes, fue similar al estudio de Medina (2009) en la localidad de Cotopaxi donde presentó valores entre 9,1-9,6 en el primer corte mientras que en el segundo corte se presentó valores entre 8,7-9,4. Pérez, Hernández, Herrera, & Bárcena (2002), mencionan que la capacidad de rebrote de una planta después de una cosecha o defoliación estara influenciada por varios factores fisiológicos como el área foliar remanente, activación de meristemas de crecimiento y acumulación de reservas de carbohidratos en la raíz.

4.2 Número de macollos

El número de macollos mostró diferencias significativas entre los dos cortes ($F=622,89$; $p<0,0001$), a su vez esta variable mostró diferencias significativas para los tratamientos del primer ($F=9,79$; $p<0,0001$) y segundo ($F=4,40$; $P<0,0001$) corte. En el primer corte el mayor número de macollos fue en el T15 (D.T.P.A, 25ppm, 20 días) con 6 macollos.planta⁻¹ mientras que el menor número de macollos corresponde al T0 (Testigo) con 3 macollos.planta⁻¹ mientras que en el segundo corte se registró un mayor número de macollos al T14 (D.T.P.A, 20ppm, 20 días) con 7,75 macollos.planta⁻¹ siendo su opuesto otra vez el T0 (Testigo) con 4,50 macollos.planta⁻¹ (Figura 8).

Los datos obtenidos en la presente investigación son inferiores al estudio de caracterización agronómica de pastos cultivados en las comunidades de Chopcas donde *Lolium perenne* presentó entre 14-16 macollos.planta⁻¹, esta diferencia se puede atribuir al uso de fertilizantes, especialmente de nitrógeno debido a que varios autores mencionan que el uso de nitrógeno tiene un efecto positivo en la aparición de macollos (Balocchi, Solis, Poff, Keim, & López, 2009). En otro estudio donde se compara el establecimiento de *Lolium perenne* en labranza convencional y cero con un plan de fertilización inicial donde se obtuvo valores entre 2-8 macollos.planta⁻¹ (Vargas J. , 2015); estos datos también son similares a los de Ganderats & Hepp (2003) y Saldanha, Boggiano, & Cadenazzi, (2010), quienes obtuvieron valores de 3 y 5 macollos.planta⁻¹ respectivamente.

De acuerdo a la presente investigación en el primer y segundo corte se llevó una temperatura ambiente promedio de 15 °C y 14 °C respectivamente; el incremento de macollos entre cortes concuerda con el estudio de Lawson, Sale, & Kelly (1997), que mencionan que existe una mayor producción de macollos en invierno y post invierno que en verano. Sin

embargo Donaghy & Fulkerson (2015), mencionan que para tener una tasa de macollamiento elevada se requiere niveles altos de luz, temperaturas medias y disponibilidad de nutrientes; es decir que el desarrollo de macollos es dependiente del ambiente, tiempo de defoliaciones, reservas de carbohidratos y fertilización (Cuevas, 1980).

4.3 Altura de planta

Las alturas de las plantas no presentaron diferencias significativas entre cortes ($F=1,03$; $p=0,3115$), ni entre tratamientos para el primer ($F=0,37$; $p=0,9974$) y segundo ($F=0,44$; $p=0,9913$) corte, sin embargo, se puede destacar que en el primer y segundo corte el T6 (D.T.P.A, dosis 25 ppm, 10 días) obtuvo la mayor altura con 30,25 cm y 29,5 cm respectivamente, mientras que el T0 (Testigo) obtuvo la menor altura con 23,5 cm y 22 cm respectivamente (Figura 8).

Los valores obtenidos en la presente investigación son similares al estudio de residuos orgánicos para la fertilización de pastos, donde *Lolium perenne* obtuvo valores entre 22,30 cm y 27,73 cm de altura, además se menciona que las plantas reaccionan de manera favorable y se ve reflejado en el crecimiento cuando existe una mayor disponibilidad de nutrientes o compuestos orgánicos (Vásquez, 2008). En otro estudio donde se evaluó el efecto de la fertilización en el forraje donde los valores obtenidos sin fertilización en el primer y segundo corte fueron 23,95 cm y 27,02 cm respectivamente mientras que los fertilizados en los mismos cortes se registraron valores entre 29,89 cm y 36,3 cm, esto debido a que una mejora en la nutrición especialmente en nitrógeno subseguido por fósforo, potasio, azufre y micro nutrientes se verá reflejado en una mayor crecimiento en el pasto. (Robalino, 2010).

Velasco, Hernández, & González (2005), mencionan que esta diferencia entre cortes se debe a que el crecimiento de las plantas está relacionada a las condiciones climáticas, el cual se ve reducido en una estación de invierno debido al descenso de temperatura y radiación solar.

Tratamientos	Descripción *PDT	Vigor de rebrote		Número de macollos		Altura (cm)	
		Primer corte	Segundo corte	Primer corte	Segundo corte	Primer corte	Segundo corte
T0	Testigo	6,25±0,25 a	6,00±0,41 b	3,00±0,25 c	4,50±0,25 c	23,50±0,96 a	22,00±3,11 a
T1	E.D.T.A 15 10	7,50±0,29 a	7,25±0,25 a	4,00±0,00 c	6,00±0,00 b	26,00±3,51 a	24,75±3,33 a
T2	E.D.T.A 20 10	8,00±0,58 a	7,50±0,50 a	4,00±0,00 c	6,50±0,29 b	25,25±2,75 a	24,25±0,85 a
T3	E.D.T.A 25 10	7,50±0,50 a	7,50±0,50 a	3,75±0,25 c	5,75±0,25 b	25,50±2,63 a	25,25±3,57 a
T4	D.T.P.A 15 10	8,25±0,48 a	8,50±0,50 a	4,75±0,25 b	7,00±0,41 a	26,00±4,14 a	27,13±3,04 a
T5	D.T.P.A 20 10	8,00±0,41 a	7,50±0,29 a	4,75±0,25 b	7,00±0,41 a	27,25±2,72 a	27,50±2,25 a
T6	D.T.P.A 25 10	7,50±0,29 a	7,75±0,25 a	4,75±0,25 b	6,50±0,50 b	30,25±2,93 a	29,50±1,66 a
T7	Sulfato 15 10	7,75±0,48 a	6,75±0,25 b	3,25±0,25 c	5,50±0,50 b	25,00±2,20 a	23,25±1,49 a
T8	Sulfato 20 10	7,75±0,48 a	7,50±0,50 a	3,50±0,29 c	5,75±0,25 b	25,00±2,48 a	25,75±1,44 a
T9	Sulfato 25 10	7,75±0,25 a	7,50±0,65 a	3,25±0,25 c	5,50±0,25 b	25,75±2,46 a	25,25±2,63 a
T10	E.D.T.A 15 20	7,75±0,48 a	7,25±0,25 a	4,00±0,00 c	6,50±0,29 b	25,00±2,08 a	26,25±2,53 a
T11	E.D.T.A 20 20	7,75±0,48 a	7,50±0,29 a	4,25±0,25 c	6,50±0,50 b	30,00±2,52 a	28,25±2,02 a
T12	E.D.T.A 25 20	7,50±0,29 a	7,50±0,50 a	4,75±0,25 b	6,25±0,48 b	25,75±2,72 a	24,50±1,55 a
T13	D.T.P.A 15 20	8,25±0,25 a	7,75±0,63 a	5,25±0,25 b	7,00±0,58 a	27,25±2,93 a	25,00±3,72 a
T14	D.T.P.A 20 20	9,00±0,00 a	8,50±0,29 a	5,00±0,41 b	7,75±0,75 a	25,00±1,08 a	25,00±2,04 a
T15	D.T.P.A 25 20	8,00±0,41 a	8,75±0,25 a	6,00±0,41 a	7,25±0,25 a	24,75±2,02 a	24,75±2,21 a
T16	Sulfato 15 20	7,50±0,29 a	7,25±0,25 a	3,75±0,25 c	5,50±0,29 b	25,00±2,35 a	24,25±2,32 a
T17	Sulfato 20 20	7,50±0,65 a	7,50±0,50 a	3,50±0,25 c	5,25±0,25 b	25,00±2,89 a	24,00±1,58 a
T18	Sulfato 25 20	8,25±0,48 a	8,00±0,00 a	3,75±0,25 c	5,75±0,25 b	25,25±1,89 a	24,50±2,53 a
T19	E.D.T.A 15 30	7,75±0,25 a	7,75±0,25 a	3,75±0,25 c	6,00±0,00 b	29,00±3,19 a	27,50±1,44 a
T20	E.D.T.A 20 30	8,00±0,41 a	8,00±0,41 a	4,00±0,00 c	6,00±0,00 b	27,00±2,86 a	26,50±2,53 a
T21	E.D.T.A 25 30	7,25±0,48 a	7,75±0,48 a	3,75±0,25 c	6,00±0,00 b	26,25±2,95 a	26,25±1,18 a
T22	D.T.P.A 15 30	8,25±0,48 a	8,00±0,41 a	5,25±0,25 b	7,25±0,25 a	28,50±4,37 a	25,50±2,22 a
T23	D.T.P.A 20 30	7,50±0,29 a	7,50±0,29 a	4,25±0,25 c	6,50±0,50 b	27,00±2,27 a	26,00±1,68 a
T24	D.T.P.A 25 30	7,50±0,29 a	7,50±0,29 a	4,50±0,29 b	6,25±0,25 b	25,25±1,89 a	26,50±2,22 a
T25	Sulfato 15 30	7,75±0,48 a	7,50±0,29 a	3,75±0,25 c	5,50±0,29 b	27,25±2,93 a	24,50±3,57 a
T26	Sulfato 20 30	7,25±0,25 a	7,25±0,25 a	3,75±0,25 c	6,00±0,41 b	25,25±0,75 a	24,75±1,80 a
T27	Sulfato 25 30	7,25±0,25 a	7,75±0,48 a	3,75±0,25 c	5,50±0,29 b	25,25±2,87 a	25,50±2,10 a

*PDT [Producto (hierro), dosis (ppm), tiempo (días)]

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (DGC $p > 0,05$)

Figura 8 Promedio ± error estándar de la altura, número de macollos y vigor de rebrote del pasto rye grass perenne (*Lolium perenne*) var. Amazon bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación

4.4 Longitud y materia seca de raíces

En la tabla (6), se presentan los valores obtenidos en longitud y materia seca de la raíz en los diferentes tratamientos, cabe mencionar que esta variable se midió al final de la investigación, donde se registró la mayor longitud de raíz en el T1 (E.D.T.A, 15 ppm, 10 días) con 32,56 cm mientras que la menor longitud de raíz fue en el T3 (E.D.T.A, 25 ppm, 10 días)

con 23,41 cm. El más alto porcentaje de materia seca en raíz fue del T25 (FeSO₄, 15 ppm, 30 días) con 22,72% y menor porcentaje con el T23 (D.T.P.A, 15 ppm, 30 días) con 15,91%.

Los valores reportados en la longitud de raíces son superiores a los presentados por Cevallos (2015), quien registró para Rye Grass Perenne var. Pichincha valores entre 11,28–22,7cm mientras que para Rye Grass Perenn var. Amazon fueron valores entre 10,69–22,02cm; en cambio reportó valores similares para el porcentaje de materia seca con 23,44% para la var. Amazon y 22,75% para la var. Pichincha con un coeficiente de variación de 3,79%.

Tabla 6

Comparación de tres diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempo sobre la longitud y materia seca de la raíz del pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon

Tratamiento	*PDT	Longitud (cm)	Materia seca (%)
T0	Testigo	23,5	18,49
T1	E.D.T.A 15 10	32,56	20,38
T2	E.D.T.A 20 10	24,71	18,38
T3	E.D.T.A 25 10	23,41	21,65
T4	D.T.P.A 15 10	29,48	19,50
T5	D.T.P.A 20 10	27,47	20,46
T6	D.T.P.A 25 10	31,97	20,18
T7	Sulfato 15 10	24,9	18,23
T8	Sulfato 20 10	24,16	21,67
T9	Sulfato 25 10	26,03	17,31
T10	E.D.T.A 15 20	32,29	20,63
T11	E.D.T.A 20 20	24,46	20,14
T12	E.D.T.A 25 20	30,39	20,96
T13	D.T.P.A 15 20	25,98	17,36
T14	D.T.P.A 20 20	27,5	22,65
T15	D.T.P.A 25 20	24,76	21,44
T16	Sulfato 15 20	24,9	22,11
T17	Sulfato 20 20	26,9	21,33
T18	Sulfato 25 20	28,18	19,27
T19	E.D.T.A 15 30	28,79	19,74
T20	E.D.T.A 20 30	27	19,65
T21	E.D.T.A 25 30	29,7	21,20
T22	D.T.P.A 15 30	30	21,34
T23	D.T.P.A 20 30	28,78	15,91
T24	D.T.P.A 25 30	24,89	20,05

CONTINÚA 

T25	Sulfato 15 30	29,74	22,72
T26	Sulfato 20 30	24,37	20,51
T27	Sulfato 25 30	26,89	21,16

*PDT [*Producto (hierro), dosis (ppm), tiempo (días)*]

4.5 Concentración de clorofila

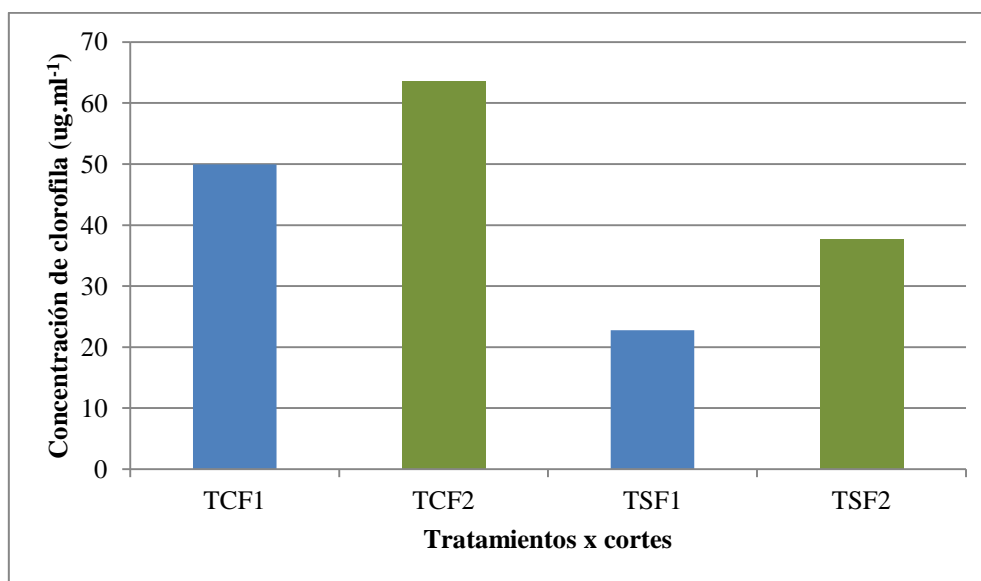
El contenido de clorofila tuvo un efecto significativo entre los dos cortes ($F=56,12$; $p<0,001$) (Figura 9) como en los tratamientos para el primer ($F=1,63$; $p=0,0481$) y segundo ($F=3,11$; $p<0,001$) corte. El tratamiento T14 (D.T.P.A, 20ppm, 20días) presentó la mayor concentración de clorofila tanto para el primer como segundo corte con $76,65 \text{ ug.ml}^{-1}$ y $84,95 \text{ ug.ml}^{-1}$ respectivamente, de igual forma la menor concentración de clorofila en los dos cortes fue con T0 (Testigo) con $22,75 \text{ ug.ml}^{-1}$ y $37,69 \text{ ug.ml}^{-1}$ respectivamente (Tabla 7).

Los valores obtenidos en la presente investigación fueron superiores a los reportados por Licto (2017), ya que obtuvo valores de clorofila total entre $0,45$ y $1,75 \text{ mg.kg}^{-1}$ en el pasto Rye Grass Perenne var. AMAZON. En el estudio de Bell, Rutter & Realton (1979), reportaron valores de clorofila entre $15,41$ y $35,63 \text{ ug.ml}^{-1}$ en *Lolium perenne* L. los cuales son similares para el primer corte mientras que para el segundo son inferiores de acuerdo a la presente investigación.

Las altas concentraciones de clorofila que presentó el pasto en este estudio se debe a la adición del Fe, debido a que este nutriente es importante para la síntesis de la clorofila, por su función en los tres períodos como precursor de las profirinas, el paso de Mg-protoporfirina a protoclorofilida y formación del ácido aminolevulínico (Kyrkby & Römheld, 2007).

Adicionalmente se registró valores más altos en la concentración de clorofila A que en la clorofila B en todos los tratamientos, este suceso se presenta en la mayoría de estudios enfocados en la determinación de clorofila, sin embargo Casierra, Ávila & Riascos (2012), mencionan que se puede dar un efecto contrario en plantas sombreadas, debido a que la

sombra forma un estrés que limita la fotosíntesis, esto es confirmado por Rehiman, Rose, & Sabin (2000), mencionan que una disminución en la intensidad de la luz reduce la actividad fotosintética mientras que la concentración de clorofila b tiende a ser mayor, afectando la relación de clorofilas a.b⁻¹ dentro de la planta.



*TCF1 Tratamiento con fertilización foliar del primer corte; TCF2 Tratamiento con fertilización foliar del segundo corte; TSF1 Tratamiento sin fertilización foliar del primer corte (Testigo); TSF2 Tratamiento sin fertilización foliar del segundo corte (Testigo)

Figura 9 Medias de concentraciones de clorofila total

Tabla 7

Promedio \pm error estándar de la concentración de clorofila en pasto rye grass perenne (*Lolium perenne*) var. Amazon bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación

Tratamientos	Descripción *PDT	Clorofila Total (ug.ml ⁻¹)	
		Primer corte	Segundo corte
T0	Testigo	22,75 \pm 3,87 b	37,69 \pm 1,59 c
T1	E.D.T.A 15 10	48,45 \pm 7,28 b	65,39 \pm 4,19 b
T2	E.D.T.A 20 10	48,34 \pm 8,44 b	57,71 \pm 5,29 b
T3	E.D.T.A 25 10	58,92 \pm 4,33 b	62,93 \pm 0,33 b
T4	D.T.P.A 15 10	45,89 \pm 4,50 b	63,24 \pm 0,16 b
T5	D.T.P.A 20 10	45,22 \pm 8,76 b	62,50 \pm 0,58 b
T6	D.T.P.A 25 10	37,90 \pm 5,29 b	61,95 \pm 0,63 b
T7	Sulfato 15 10	60,66 \pm 15,20 b	66,79 \pm 4,31 b
T8	Sulfato 20 10	46,14 \pm 4,52 b	63,45 \pm 0,56 b

CONTINÚA 

T9	Sulfato 25 10	46,98±4,13 b	63,86±0,35 b
T10	E.D.T.A 15 20	50,01±12,74 b	60,26±1,89 b
T11	E.D.T.A 20 20	49,98±8,10 b	60,00±1,43 b
T12	E.D.T.A 25 20	43,42±5,76 b	62,99±0,61 b
T13	D.T.P.A 15 20	72,81±14,96 a	74,93±12,74 a
T14	D.T.P.A 20 20	76,65±19,12 a	84,95±13,89 a
T15	D.T.P.A 25 20	44,92±7,37 b	61,08±1,49 b
T16	Sulfato 15 20	40,90±5,36 b	62,80±0,95 b
T17	Sulfato 20 20	58,39±3,96 b	62,71±1,58 b
T18	Sulfato 25 20	44,02±7,40 b	62,37±0,98 b
T19	E.D.T.A 15 30	38,11±0,42 b	59,44±1,64 b
T20	E.D.T.A 20 30	44,52±5,79 b	58,55±4,12 b
T21	E.D.T.A 25 30	34,27±2,50 b	63,83±0,85 b
T22	D.T.P.A 15 30	56,61±9,09 b	59,99±1,23 b
T23	D.T.P.A 20 30	57,35±10,78 b	62,09±0,46 b
T24	D.T.P.A 25 30	57,63±8,37 b	62,15±0,16 b
T25	Sulfato 15 30	38,46±6,43 b	62,11±0,52 b
T26	Sulfato 20 30	48,50±11,09 b	63,87±0,32 b
T27	Sulfato 25 30	53,58±9,73 b	62,45±0,76 b

*PDT [Producto (hierro), dosis (ppm), tiempo (días)]

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (DGC $p > 0,05$)

4.6 Análisis bromatológico

De acuerdo al análisis de varianza no se encontró diferencias significativas entre los dos cortes en lo que respecta a materia seca y humedad ($F=0,32$; $p=0,5740$), mientras que en ceniza ($F=204$; $p<0,0001$), proteína ($F=222,65$; $p<0,0001$) y grasa ($F=6,10$; $p=0,0166$) si presentó diferencias significativas entre los dos cortes. Cabe mencionar que para el primer corte estadísticamente los tratamientos evaluados no presentaron diferencias significativas para materia seca y humedad ($F=1,26$; $p=0,2142$) pero si fueron significativas para grasa ($F=1,19$; $p=0,0482$), proteína ($F=37,12$; $p<0,0001$) y fibra ($F=21,06$; $p<0,0001$) y ceniza ($F=2,86$; $p=0,0036$) (Tabla 8); situación similar se presentó en el segundo corte donde proteína ($F=12,59$; $p<0,0001$), ceniza ($F=2,26$; $p=0,0182$) y fibra ($F=2,05$; $p=0,0317$) fueron significativos para los tratamientos pero no para grasa ($F=1,40$; $p=0,1887$), materia seca y humedad ($F=0,55$; $p=0,9583$) (Tabla 9).

Para el porcentaje de humedad el T0 (testigo) con 81,91% presentó el mayor porcentaje de humedad mientras que el menor porcentaje fue del T14 (D.T.P.A, 20ppm, 20 días) con 71,13%, esto para el primer corte; mientras que para el segundo corte el T0 (Testigo) se mantiene con el porcentaje más alto con 81,87% siendo su opuesto el T10 (E.D.T.A, 15ppm, 200 días) por presentar el de menor porcentaje con 74,82%.

Los datos presentados en Cevallos (2015), en el porcentaje de humedad en Rye Grass Perenne var. AMAZON fue de 85,4 - 88,3% los cuales son superiores a los datos obtenidos en los dos cortes. Mientras que Velásquez (2009), obtuvo un porcentaje de humedad en Rye Grass Bianual entre 68,38 – 71,30% para el primer corte mientras que para el segundo fueron valores entre 66,18 – 69,10%; el mismo autor menciona que el agua en especies forrajeras representa entre el 75 – 80% y que el contenido dependiera de varios factores como madurez y condiciones ambientales; asimismo INATEC, JICA, MAG, INTA, & IPSA (2016), mencionan que el contenido de agua varía de acuerdo a la especie, etapa de crecimiento y posición de la planta, por lo que el contenido de humedad fluctúa entre 65 – 85%.

Para el porcentaje de materia seca se encontró en el primer corte un mayor porcentaje en el T14 (D.T.P.A, 20ppm, 20 días) con 28,87% mientras que el menor porcentaje fue en el T0 (Testigo) con 18,09% mientras que para el segundo corte se obtuvo que el T10 (E.D.T.A, 15 ppm, 20 días) con 25,18% presentó el mayor porcentaje mientras que el menor porcentaje fue del T0 (Testigo) con 18,14%. Los valores presentados son similares a los de Dimaté (2016), que reportó valores entre 23,7–27,6% de materia seca en cultivares de *Lolium perenne*. Los pastos deben contener entre un 15 a 35% de materia seca ya que este a su vez esta conformado por ceniza, proteína, extracto etéreo, carbohidratos estructurales y no estructurales (INATEC, JICA, MAG, INTA, & IPSA, 2016).

Para el primer corte en lo que respecta al porcentaje de ceniza se registró un mayor porcentaje con el T16 (FeSO₄, 15 ppm, 20 días) con 13,23% mientras que el menor porcentaje de ceniza fue del T14 (D.T.P.A, 20 ppm, 20 días) con 10,13%, situación fue similar en el segundo corte donde el valor más alto de ceniza fue del T16 (FeSO₄, 15 ppm, 20 días) con 15,91%, mientras que su opuesto con el menor porcentaje de ceniza fue el T14 (D.T.P.A, 20 ppm, 20 días) con 11,64%. Estos valores fueron similares a los de Gutiérrez, Alcoser, Macías, Portilla, & Espinosa (2017), que obtuvieron en pasto Rye Grss Perenne valores entre 12,99–13,94% de ceniza, mientras que Gaón (2018), obtuvo valores entre 9,29-14,49% de ceniza en Rye Grass Perenne y de igual manera Velásquez (2009), registró valores de ceniza entre 12,11–12,98% en el primer corte mientras que el segundo fue de 10,19–1,53% en Rye Grass Bianual en la provincia de Pichincha.

Los datos presentados se encuentran en los rangos permisibles del pasto ya que es de 7–13% de ceniza dentro de la componente de la materia seca (INATEC, JICA, MAG, INTA, & IPSA, 2016). Suárez (2016), menciona que la ceniza al ser una composición inorganica de óxidos, sulfatos, fosfatos, silicatos y cloruros, donde su presencia va a depender de varios factores como el desarrollo y mineralogía del suelo, humedad y reacción del suelo, género, especie y variedad de la planta junto con las condiciones ambientales, desarrollo y distribución de elementos minerales dentro de planta así como el manejo de pradera.

En cuanto al porcentaje de proteína se encontró al T18 (FeSO₄, 25 ppm, 20 días) con 24,39% siendo el valor mas alto de proteína, en tanto el T0 (Testigo) presentó el valor mas bajo de proteína con 9,33 % esto para el primer corte. En el segundo corte el valor mas alto de proteína fue el T14 (D.T.P.A, 20 ppm, 20 días) con 27,46% siendo su opuesto el T0 (Testigo) con 10,15% de proteína.

Los resultados obtenidos en la investigación mostraron ser superiores a los de Dimaté (2016), ya que este presenta valores entre 14,58 – 16,22% de proteína a la quinta semana en el Rye Grass Perenne, de igual forma Villalobos & Sánchez (2010), reportaron valores inferiores de proteína con 25,21% en Rye Grass Perenne tetraploide.

Se puede considerar que el rango de proteína de un pasto esta entre el 3-30 % de MS, lo que esta acorde con los datos obtenidos. De acuerdo al estudio Gutiérrez, Alcoser, Macías, Portilla, & Espinosa (2017), la omisión de nutrientes no afecta la composición bromatológica a excepción cuando se suprime el nitrógeno el cual se ve reflejada en la disminución de proteína. Cabe mencionar que en la presente investigación se omitió la aplicación de macro y micro nutrientes a excepción del hierro, por lo que el incremento de proteína se puede atribuir a que el hierro en exceso está almacenado en gran medida como una fosfoproteína férrica llamada fitoferritina (Menguel & Kirkby, 1987).

El contenido de fibra de igual forma se expresó en porcentaje; en el primer corte el valor más alto de fibra se presentó en el T26 (FeSO_4 , 20 ppm, 30 días) con 21,41%, y el tratamiento con menor contenido de fibra fue el T11 (E.D.T.A, 20 ppm, 20 días) con 14,57%. En el segundo corte el valor más alto de fibra se presentó en el T14 (D.T.P.A, 20 ppm, 20 días) con 30,13% y el menor valor de fibra resultó en el T22 (D.T.P.A, 15ppm, 30 días) con 18,31%. Los datos obtenidos a comparación al estudio de Licto (2017), son inferiores ya que registró valores entre 14,55–55,76% de fibra con la aplicación de quelatos de Zn en *Lolium perenne* var AMAZON. Ramírez, Verdecia, Leonard, & Álvarez (2010), mencionan que el incremento del porcentaje de la fibra está relacionada a los cambios fisiológicos que sufre la planta al envejecer provocando una disminución en la proporción del contenido celular citoplasmático, reducción del lumen celular con sus componentes solubles e incremento de los componentes fibrosos.

Respecto al contenido de grasa, el T4 (D.T.P. A, 15 ppm, 10 días) presentó el mayor porcentaje con 10,95% y el menor porcentaje con 3,45% correspondiente al T11 (E.D.T.A, 20 ppm, 20 días) para el primer corte. En el segundo corte se encontró un mayor porcentaje de grasa con el T1 (E.D.TA, 15ppm, 10 días) con 10,76% y el menor en el T8 (FeSO₄, 20ppm, 10 días) con 4,16%. Los resultados obtenidos son superiores a los presentados por Cevallos (2015), quien señala valores para *Lolium perenne* var. AMAZON entre 3,7–4,7% de grasa, de igual manera Gaón (2018), reporta valores para *Lolium perenne* entre 2,78–5,19% mientras que para el estudio de Alcoser (2016) son inferiores debido a que reporta en *Lolium perenne* var. ONE 50 valores entre 11,4–11,97%. Sin embargo, León citado por (Velásquez, 2009), menciona que el contenido de lípidos de las hojas varía entre 3 -10%; a su vez menciona que la composición de la grasa es importante dentro de los rumiantes para la generación de leche y masa corporal.

Tabla 8

Promedio ± error estándar del análisis bromatológico del pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon en el primer corte bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación

Tratamientos	Descripción(*PDT)	Humedad (%)	Materia seca (%)	Ceniza (%)	Proteína (%)	Fibra (%)	Grasa (%)
T0	Testigo	81,91±0,89 a	18,09±0,89 a	11,52±0,37 a	9,33±0,29 d	17,35±0,51 b	5,08±0,00 b
T1	E.D.T.A 15 10	78,90±1,69 a	21,11±1,69 a	12,74±0,12 a	17,56±0,46 b	17,75±0,38 b	9,20±0,40 b
T2	E.D.T.A 20 10	75,19±2,69 a	24,81±2,69 a	12,29±0,02 a	14,53±0,86 c	20,34±0,51 a	5,76±0,08 b
T3	E.D.T.A 25 10	81,82±2,35 a	18,19±2,35 ^a	12,83±0,02 a	22,49±1,10 a	17,16±0,75 b	6,12±1,45 b
T4	D.T.P.A 15 10	74,87±3,75 a	25,13±3,75 ^a	13,19±0,17 a	22,67±0,32 a	17,13±0,23 b	10,95±1,96 a
T5	D.T.P.A 20 10	78,01±2,56 a	21,99±2,56 a	12,38±0,01 a	17,26±0,29 b	15,67±0,24 c	6,83±0,06 b
T6	D.T.P.A 25 10	73,48±3,11 a	26,52±3,11 a	12,30±0,02 a	12,62±0,87 c	15,91±0,85 c	6,19±0,59 b
T7	Sulfato 15 10	81,31±1,89 a	18,69±1,89 a	12,65±0,06 a	12,39±0,11 c	17,20±0,12 b	5,11±3,30 b
T8	Sulfato 20 10	76,01±3,97 a	23,93±3,97 a	12,24±0,40 a	11,65±0,29 c	17,15±0,11 b	6,54±0,38 b
T9	Sulfato 25 10	72,91±4,89 a	27,19±4,89 a	11,90±0,0005 a	12,19±0,29 c	17,88±1,17 b	5,71±0,57 b
T10	E.D.T.A 15 20	77,52±3,56 a	22,48±3,56 a	11,90±0,84 a	19,25±0,30 b	17,08±0,15 b	5,53±1,43 b
T11	E.D.T.A 20 20	76,98±1,91 a	23,02±1,91 a	12,17±0,07 a	16,67±0,09 b	14,57±0,25 c	3,45±1,65 b
T12	E.D.T.A 25 20	77,26±2,40 a	22,74±2,40 a	12,27±0,02 a	12,26±0,29 c	17,12±0,01 b	7,46±0,73 b
T13	D.T.P.A 15 20	75,40±3,74 a	24,60±3,74 a	11,46±0,12 a	12,79±0,29 c	17,34±0,04 b	7,75±0,00 b
T14	D.T.P.A 20 20	71,13±0,44 a	28,87±0,44 a	10,13±0,99 b	22,03±1,45 a	16,47±0,90 c	5,68±0,84 b
T15	D.T.P.A 25 20	76,05±4,03 a	23,95±4,03 a	11,95±0,00 a	16,48±0,26 b	14,69±0,44 d	6,24±0,55 b
T16	Sulfato 15 20	76,05±2,69 a	23,94±2,69 a	13,23±0,00 a	11,96±0,58 c	17,23±0,58 b	5,02±0,02 b
T17	Sulfato 20 20	78,86±1,72 a	21,14±1,72 a	12,68±0,02 a	11,70±0,29 c	18,76±0,06 b	7,57±0,45 b
T18	Sulfato 25 20	77,90±1,72 a	22,10±1,72 a	11,39±0,005 a	24,39±1,92 a	14,82±0,30 c	7,92±0,64 b
T19	E.D.T.A 15 30	78,98±1,55 a	21,02±1,55 a	12,37±0,00 a	17,21±0,08 b	14,90±0,03 c	7,57±0,25 b
T20	E.D.T.A 20 30	79,00±1,96 a	21,00±1,96 a	10,52±1,60 b	15,73±0,88 b	16,43±0,39 c	5,80±0,05 b
T21	E.D.T.A 25 30	77,77±1,10 a	22,23±1,10 a	12,06±0,02 a	17,72±0,29 b	14,66±0,04 c	7,47±1,19 b
T22	D.T.P.A 15 30	78,15±2,07 a	21,85±2,07 a	12,31±0,17 a	22,64±0,26 a	14,96±0,17 c	7,87±0,37 b

CONTINÚA 

T23	D.T.P.A 20 30	77,67±1,31 a	22,33±1,31 a	12,13±0,00 a	13,12±0,57 c	14,75±0,01 c	6,65±0,16 b
T24	D.T.P.A 25 30	78,21±1,43 a	21,79±1,43 a	11,56±0,14 a	12,69±0,46 c	15,01±0,47 c	7,35±0,14 b
T25	Sulfato 15 30	78,28±1,09 a	21,72±1,09 a	11,77±0,01 a	18,81±0,29 b	15,36±0,03 c	8,85±1,58 b
T26	Sulfato 20 30	80,75±0,95 a	19,25±0,95 a	13,16±0,50 a	14,06±0,66 c	21,41±0,51 a	10,91±3,56 a
T27	Sulfato 25 30	79,05±1,42 a	20,95±1,42 a	11,83±0,25 a	16,62±0,87 b	18,70±0,16 b	7,25±0,75 b

*PDT [Producto (hierro), dosis (ppm), tiempo (días)]

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (DGC $p > 0,05$)

Tabla 9

Promedio \pm error estándar del análisis bromatológico del pasto rye grass perenne (*Lolium perenne*) var. Amazon en el segundo corte bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación.

Tratamientos	Descripción(*PDT)	Humedad (%)	Materia seca (%)	Ceniza (%)	Proteína (%)	Fibra (%)	Grasa (%)
T0	Testigo	81,87±2,12 a	18,14±2,12 a	14,04±1,95 b	10,15±0,13 d	24,13±0,03 b	4,89±0,17 a
T1	E.D.T.A 15 10	77,90±2,33 a	22,10±2,33 a	13,94±0,49 b	17,91±0,61 c	26,41±0,74 b	10,76±0,96 a
T2	E.D.T.A 20 10	77,38±2,09 a	22,63±2,09 a	14,35±0,39 b	20,97±1,16 b	24,32±2,42 b	9,53±0,88 a
T3	E.D.T.A 25 10	78,68±1,49 a	21,32±1,49 a	13,89±0,48 b	22,97±0,57 b	25,76±1,65 b	9,20±2,52 a
T4	D.T.P.A 15 10	78,00±1,61 a	22,01±1,61 a	14,87±0,16 b	22,77±0,36 b	21,69±0,65 b	5,93±0,01 a
T5	D.T.P.A 20 10	78,73±1,37 a	21,27±1,37 a	13,60±0,17 b	16,83±0,20 c	24,47±0,04 b	5,89±0,005 a
T6	D.T.P.A 25 10	79,25±1,60 a	20,75±1,60 a	14,74±0,08 b	19,50±0,29 b	25,06±4,95 b	7,67±0,33 a
T7	Sulfato 15 10	77,89±3,19 a	22,12±3,19 a	14,23±0,03 b	16,16±0,19 c	20,52±0,04 b	9,35±1,97 a
T8	Sulfato 20 10	78,62±2,62 a	21,39±2,62 a	13,80±0,00 b	16,97±0,20 c	21,40±0,16 b	4,16±0,42 a
T9	Sulfato 25 10	76,08±1,84 a	23,92±1,84 a	13,08±0,03 b	19,44±0,12 b	26,22±2,30 b	4,68±0,39 a
T10	E.D.T.A 15 20	74,82±1,38 a	25,18±1,38 a	13,94±0,17 b	22,24±0,05 b	22,17±1,65 b	8,51±1,74 a
T11	E.D.T.A 20 20	79,25±1,12 a	20,75±1,12 a	13,48±0,32 b	17,13±0,05 c	22,14±0,83 b	6,55±0,005 a
T12	E.D.T.A 25 20	77,76±2,62 a	22,24±2,62 a	14,09±0,16 b	19,93±0,25 b	22,41±0,48 b	7,93±0,005 a
T13	D.T.P.A 15 20	78,59±2,24 a	21,41±2,24 a	13,75±0,16 b	18,89±0,06 b	26,75±0,54 b	8,50±0,49 a
T14	D.T.P.A 20 20	79,15±1,74 a	20,85±1,74 a	11,64±1,13 c	27,46±0,96 a	30,13±1,67 a	6,92±2,44 a
T15	D.T.P.A 25 20	78,80±2,29 a	21,20±2,29 a	12,99±0,01 b	22,31±0,29 b	21,19±2,48 b	7,71±2,45 a

CONTINÚA



T16	Sulfato 15 20	78,77±2,52 a	21,23±2,52 a	15,91±0,02 a	17,53±0,24 c	23,65±0,00 b	8,53±3,73 a
T17	Sulfato 20 20	78,24±2,50 a	21,76±2,50 a	14,07±0,04 b	16,47±0,57 c	24,15±1,65 b	9,90±1,06 a
T18	Sulfato 25 20	76,42±1,16 a	23,58±1,16 a	13,00± 0,52 b	22,23±1,82 b	19,64±4,16 b	7,65±0,17 a
T19	E.D.T.A 15 30	77,99±0,80 a	22,01±0,80 a	13,74±0,08 b	17,10±1,42 c	26,80±1,63 b	6,53±0,17 a
T20	E.D.T.A 20 30	78,39±1,11 a	21,61±1,11 a	14,53±0,12 b	16,17±1,25 c	26,00±6,67 b	7,07±1,92 a
T21	E.D.T.A 25 30	78,16±1,71 a	21,84±1,71 a	14,21±0,02 b	19,12±1,16 b	26,50±1,31 b	6,29±2,40 a
T22	D.T.P.A 15 30	77,06±1,56 a	22,94±1,56 a	14,98±0,98 b	18,83±2,91 b	18,31±1,13 b	7,15±0,12 a
T23	D.T.P.A 20 30	76,70±2,11 a	23,30±2,11 a	13,89±0,08 b	18,19±0,87 c	25,95±4,94 b	10,25±1,24 a
T24	D.T.P.A 25 30	80,00±0,81 a	20,00±0,81 a	13,58±0,49 b	17,31±0,29 c	25,94±2,42 b	9,18±0,02 a
T25	Sulfato 15 30	75,30±2,74 a	24,70±2,74 a	14,14±0,05 b	20,90±0,81 b	26,91±0,74 b	9,30±2,78 a
T26	Sulfato 20 30	76,55±2,29 a	23,45±2,29 a	13,72±0,16 b	20,87±0,00 b	25,62±1,74 b	9,10±0,33 a
T27	Sulfato 25 30	75,72±2,65 a	24,28±2,65 a	13,20±0,02 b	20,76±0,58 b	25,40±0,01 b	9,95±0,96 a

*PDT [Producto (hierro), dosis (ppm), tiempo (días)]

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (DGC $p > 0,05$)

4.7 Análisis foliar

De acuerdo al análisis de varianza se presentó diferencias significativas entre cortes (Figura 10) para Fe ($F=12,35$; $p=0,0009$), N ($F=222,09$; $p<0,0001$), K ($F=30,28$; $p<0,0001$), Ca ($F=41$; $p<0,0001$), Mg ($F=28$; $p<0,0001$), Mn ($F=1116,99$; $p<0,0001$), Na ($F=10409,17$; $p<0,001$) y Zn ($F=569,08$; $p<0,0001$), mas no así para P el cual no mostró diferencias significativas ($F=0,78$; $p=0,3824$).

Asimismo, para el primer corte estadísticamente los tratamientos presentaron diferencias significativas para Fe ($F=3,66$; $p=0,0005$), N ($F=37,26$; $p<0,0001$), K ($F=5,96$; $p<0,0001$), Ca ($F=14,08$; $p<0,0001$), Mg ($F=2,48$; $p=0,0100$); Mn ($F=9032,39$; $p<0,0001$); Na ($F=1479,11$; $p<0,0001$) y Zn ($F=1490,77$; $p<0,0001$), sin embargo, para el P ($F=1,47$; $p=0,1586$) no presentó diferencias significativas (Tabla 11). Para el segundo corte se presentaron diferencias significativas en Fe ($F=2,58$; $p=0,0076$), N ($F=12,57$; $p<0,0001$), Ca ($F=47,94$; $p<0,0001$), Mg ($F=2,77$; $p=0,0047$); K ($F=6$; $p<0,0001$), Mn ($F=779,52$; $p<0,0001$); Na ($F=929,59$; $p<0,0001$) y Zn ($F=985,12$; $p<0,0001$), y fue no significativo para P ($F=1,81$; $p=0,0616$) entre tratamientos (Tabla 12).

Para el contenido de hierro total, se puede destacar tanto en el primer como segundo corte al T14 (D.T.P. A, 20 ppm, 10 días) que obtuvo la mayor bioacumulación de hierro con 273,29 y 302,97 mg.kg^{-1} respectivamente, siendo su opuesto el T0 (Testigo) que obtuvo la menor bioacumulación de hierro en los dos cortes con 67,84 y 81,15 mg.kg^{-1} respectivamente (Tabla 10).

Los valores obtenidos son superiores a los reportados por Nova, Pimentel, Adames, Contreras, Pujols, Jiménez & Mella (2014), que obtuvieron una concentración de hierro total de $145,70 \text{ mg.kg}^{-1}$ en la var. Esperanza y $78,40 \text{ mg.kg}^{-1}$ para la de var. Nagua en hojas de arroz. Cabe mencionar que los resultados obtenidos se encuentran dentro del intervalo de 70 y 360 mg.kg^{-1} de materia seca (Bernal, 2008).

Además el contenido mineral en la dieta es importante debido a que estos no pueden ser sintetizados por los animales (Araujo, 2008). Pese a que en la mayoría de animales herbívoros adultos no ha reportado deficiencia de Fe existen excepciones, como es el caso de una pérdida de sangre, alteraciones de parásitos internos y externos, en etapas de preñez y iniciales y cuando se presentan enfermedades que afectan como el metabolismo del elemento (Mufarrege, 2003). Por último se debe considerar la digestibilidad la cual estará condicionada por la absorción del elemento.

De acuerdo al NRC (2001), el contenido de hierro en rumiantes dependerá de la etapa y propósito del animal; en terneros el contenido de hierro oscila entre 18 y $34 \text{ mg.kg}^{-1}\text{PV}$ y en una vaca preñada es de $18 \text{ mg.kg}^{-1}\text{PV}$ por lo que se ha establecido un requerimiento de 34 mg.kg^{-1} de ganancia diaria cubriendo estas necesidades con una dieta total de hierro de 50 mg.kg^{-1} dieta con un coeficiente de absorción para hierro de 0,35 aproximadamente, adecuado para crecimiento pero con una carcasa pálida.

En lo que respecta al contenido N, P, K, Ca, Mg, Mn y Zn tanto para el primer (Tabla 12) como segundo (Tabla 13) corte, se encontraron dentro del rango descrito por Bernal (2008) (Tabla 5); no así para el Na debido a que se encontraron valores entre 2044,97- 2985,07 mg.kg^{-1} para el primer corte mientras que para el segundo estuvieron entre 2047,16-2939,35 mg.kg^{-1} los cuales son superiores a los de Castro, Domínguez, Morales, & Maximino (2017), que

reportaron valores entre 1100 y 2100 mg.kg⁻¹ Na en *Lolium perenne* y también destaca que el contenido de sodio disminuirá con la madurez de la planta; De igual forma se corrobora esta información con Aldana (2011), quien menciona que el contenido de sodio en los pastos está entre 200 y 1500 mg.kg⁻¹.

Adicionalmente, se relacionó los macro y micro nutrientes con el hierro (Figura 11), donde se presentó una correlación positiva entre Fe y Zn ($r=0,18$; $p=0,05$), Fe y Ca ($r=0,28$; $p=0,0025$), Fe y Mg ($r=0,32$; $p=0,0007$), Fe y K ($r=0,53$; $p=1,4 \times 10^{-9}$), Fe y Mn ($r=0,10$; $p=0,28$), Fe y P ($r=0,35$; $p=0,00012$), Fe y N ($r=0,29$; $p=0,0018$) y Fe y Na ($r=0,51$; $p=8 \times 10^{-9}$).

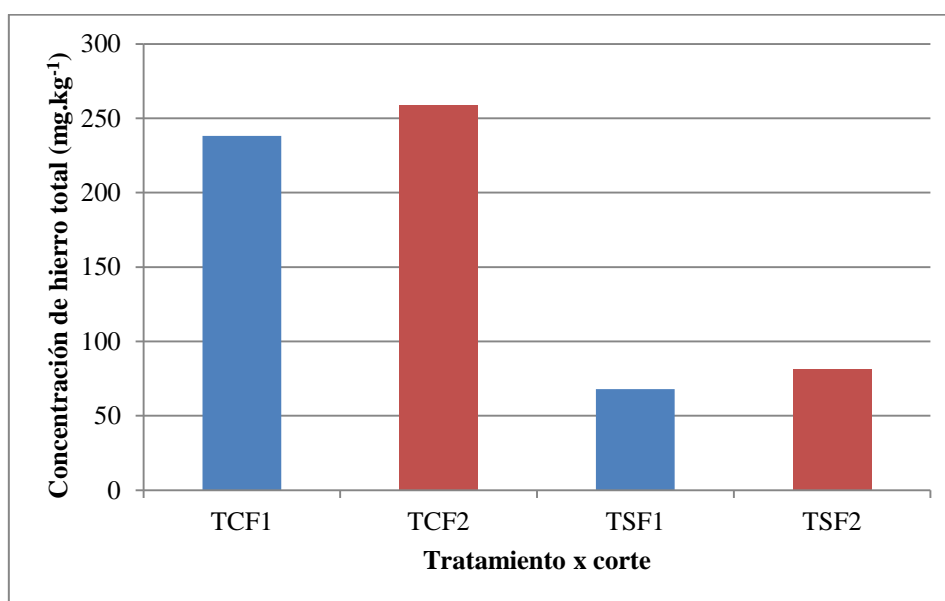
Los tratamientos al encontrarse en un nivel medio y alto según la escala de Bernal de acuerdo a la interpretación foliar y sumado a que el Fe con los otros nutrientes presentó únicamente correlaciones positivas, y al no encontrarse un efecto antagónico en las interacciones del hierro en especial con el fósforo de acuerdo a la literatura (Figura 2), esto se debe a que se aplicó fertilización foliar; donde Ronen (2016), menciona que aplicación foliar supera las limitaciones de la fertilización del suelo tales como la lixiviación, la precipitación de fertilizantes insolubles y el antagonismo entre determinados nutrientes. Además las interacciones entre nutrientes hacen referencia a la variación de los elementos en la hoja en función de los niveles en el suelo (Oltra, 2016).

Tabla 10

Promedio ± error estándar de la bioacumulación de hierro en el pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación.

Tratamientos	Descripción *PDT	Hierro Total (mg.kg ⁻¹ en *PS)	
		Primer corte	Segundo corte
T0	Testigo	67,84±2,00 c	81,15±1,00 b
T1	E.D.T.A 15 10	259,50±0,10 a	267,21±0,50 a
T2	E.D.T.A 20 10	219,57±0,35 a	246,73±0,25 a
T3	E.D.T.A 25 10	225,39±5,00 a	274,20±25,50 a
T4	D.T.P.A 15 10	262,70±1,00 a	244,03±28,50 a
T5	D.T.P.A 20 10	248,11±1,00 a	251,00±0,003 a
T6	D.T.P.A 25 10	255,08±0,05 a	277,01±0,50 a
T7	Sulfato 15 10	271,52±0,50 a	277,53±3,10 a
T8	Sulfato 20 10	269,55±0,05 a	247,44±29,95 a
T9	Sulfato 25 10	241,67±0,50 a	299,25±0,60 a
T10	E.D.T.A 15 20	240,44±0,15 a	240,26±14,75 a
T11	E.D.T.A 20 20	267,78±0,05 a	286,41±3,00 a
T12	E.D.T.A 25 20	271,30±0,05 a	247,54±34,95 a
T13	D.T.P.A 15 20	237,07±1,50 a	294,84±1,50 a
T14	D.T.P.A 20 20	273,29±86±00 a	302,97±6,53 a
T15	D.T.P.A 25 20	166,93±2,61 b	221,75±10,00 a
T16	Sulfato 15 20	234,07±50,51 a	242,64±34,97 a
T17	Sulfato 20 20	227,06±0,45 a	238,57±5,06 a
T18	Sulfato 25 20	201,86±1,00 a	221,56±0,44 a
T19	E.D.T.A 15 30	243,93±0,02 a	287,48±1,44 a
T20	E.D.T.A 20 30	231,84±0,11 a	273,56±1,41 a
T21	E.D.T.A 25 30	223,97±4,99 a	229,78±5,19 a
T22	D.T.P.A 15 30	227,90±0,50 a	266,25±33,10 a
T23	D.T.P.A 20 30	235,32±0,26 a	227,05±18,46 a
T24	D.T.P.A 25 30	198,95±5,01 a	247,18±50,10 a
T25	Sulfato 15 30	236,84±0,15 a	294,63±5,02 a
T26	Sulfato 20 30	227,96±0,02 a	231,17±2,47 a
T27	Sulfato 25 30	230,86±0,00 a	255,24±0,65 a

*PDT [Producto (hierro), dosis (ppm), tiempo (días)] *PF (Peso fresco) *PS (Peso seco)
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (DGC $p > 0,05$)



*TCF1 Tratamiento con fertilización foliar del primer corte; TCF2 Tratamiento con fertilización foliar del segundo corte; TSF1 Tratamiento sin fertilización foliar del primer corte (Testigo); TSF2 Tratamiento sin fertilización foliar del segundo corte (Testigo)

Figura 10 Promedios de concentraciones de hierro total

	Fe(mg.kg ⁻¹)	Zn(mg.kg ⁻¹)	Ca (%)	Mg (%)	K(mg.kg ⁻¹)	Na(mg.kg ⁻¹)	Mn(mg.kg ⁻¹)	P (%)	N (%)
Fe(mg.kg ⁻¹)	1	0,05	0,0025	0,0007	1,40E-09	1,00E-02	0,28	1,20E-04	1,80E-03
Zn(mg.kg ⁻¹)	0,18	1	0,01	0,01	4,30E-04	0,65	9,20E-07	2,50E-04	6,50E-04
Ca (%)	0,28	0,24	1	8,20E-06	0,03	0,18	0,36	0,05	0,02
Mg (%)	0,32	0,24	0,41	1	2,50E-11	0,75	0,07	2,20E-04	0,02
K(mg.kg ⁻¹)	0,26	0,33	0,2	0,58	1	0,14	0,01	0,00007	0,00016
Na(mg.kg ⁻¹)	0,51	0,5	0,4	0,46	0,58	1	0,78	0,15	0,56
Mn(mg.kg ⁻¹)	0,1	0,44	0,09	0,17	0,25	0,33	1	0,83	0,36
P (%)	0,35	0,34	0,19	0,34	0,37	0,39	0,02	1	0,01
N (%)	0,29	0,32	0,23	0,21	0,35	0,42	0,09	0,25	1

Figura 11 Correlación de Pearson en la interacción de macro y micronutrientes en el pasto rye grass perenne (*Lolium perenne*) var. Amazon

Tabla 11

Promedio ± error estándar del valor mineral de pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon en el primer corte bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación.

Tratamientos	*PDT	N (%)	P (%)	K (mg.kg ⁻¹)	Ca (%)	Mg (%)	Mn (mg.kg ⁻¹)	Na (mg.kg ⁻¹)	Zn (mg.kg ⁻¹)
T0	Testigo	1,50±0,05 d	0,15±0,005 a	1,10±0,05 c	0,33±0,03 b	0,32±0,01 b	22,70±2,45 b	2048,10±32,00 a	3,62±0,05 e
T1	E.D.T.A 15 10	2,81±0,07 b	0,32±0,05 a	1,48±0,01 a	0,75±0,01 a	0,50±0,05 a	25,37±0,05 a	2971,09±501,00 a	5,49±0,05 c
T2	E.D.T.A 20 10	2,33±0,14 c	0,27±0,05 a	1,57±0,05 a	0,47±0,02 b	0,47±0,02 a	13,93±0,05 f	2843,33±503,00 a	4,95±0,05 c
T3	E.D.T.A 25 10	3,60±0,18 a	0,34±0,05 a	1,55±0,03 a	0,91±0,05 a	0,47±0,005 a	17,77±0,15 d	2804,65±200,00 a	6,31±0,005 b
T4	D.T.P.A 15 10	3,63±0,05 a	0,29±0,005 a	1,44±0,01 a	0,43±0,02 b	0,34±0,01 b	19,65±0,03 c	2758,18±250,00 a	7,65±0,02 a
T5	D.T.P.A 20 10	2,77±0,04 b	0,28±0,02 a	1,44±0,02 a	0,76±0,03 a	0,45±0,01 a	15,56±0,03 e	2794,81±304,50 a	4,97±0,02 c
T6	D.T.P.A 25 10	2,02±0,14 c	0,27±0,01 a	1,62±0,01 b	0,63±0,01 b	0,49±0,02 a	16,95±0,05 d	2942,98±498,00 a	4,12±0,10 d
T7	Sulfato 15 10	1,99±0,02 c	0,34±0,03 a	1,46±0,01 a	0,90±0,01 a	0,43±0,02 a	19,06±0,05 c	2828,94±475,00 a	7,28±0,05 a
T8	Sulfato 20 10	1,87±0,04 c	0,25±0,05 a	1,40±0,10 b	0,40±0,05 b	0,40±0,05 b	11,55±0,05 g	2827,38±20,00 a	2,37±0,05 f
T9	Sulfato 25 10	1,95±0,05 c	0,25±0,05 a	1,37±0,01 b	0,37±0,01 b	0,43±0,03 a	9,43±0,10 h	2855,37±4,50 a	1,95±0,02 g
T10	E.D.T.A 15 20	3,08±0,05 b	0,27±0,05 a	1,47±0,10 a	0,53±0,05 b	0,44±0,03 a	9,93±0,005 g	2902,82±2,00 a	1,84±0,05 g
T11	E.D.T.A 20 20	2,67±0,02 b	0,33±0,05 a	1,43±0,05 a	0,51±0,02 b	0,43±0,05 a	12,43±0,05 g	2710,83±499,18 a	3,42±0,05 e
T12	E.D.T.A 25 20	1,97±0,04 c	0,29±0,05 a	1,52±0,05 a	0,52±0,05 b	0,43±0,03 a	11,93±0,02 g	2857,84±0,30 a	2,55±0,05 f
T13	D.T.P.A 15 20	2,05±0,04 c	0,25±0,04 a	1,34±0,00 b	0,45±0,05 b	0,38±0,00 b	10,83±0,10 g	2834,55±2,00 a	2,89±0,10 f
T14	D.T.P.A 20 20	3,53±0,24 a	0,26±0,00 a	1,44±0,15 a	0,52±0,10 b	0,37±0,02 b	8,61±0,00 h	2025,48±15,00 a	2,69±1,01 f
T15	D.T.P.A 25 20	2,64±0,04 b	0,22±0,00 a	1,29±0,00 b	0,39±0,10 b	0,36±0,00 b	6,11±0,00 i	2044,97±0,00 a	3,32±0,50 e
T16	Sulfato 15 20	1,92±0,09 c	0,33±0,06 a	1,26±0,05 b	0,40±0,05 b	0,42±0,05 a	7,93±0,10 h	2601,62±1,55 a	4,46±0,04 d
T17	Sulfato 20 20	1,88±0,04 c	0,29±0,05 a	1,35±0,04 b	0,44±0,05 b	0,43±0,05 a	10,36±0,16 g	2985,07±1,47 a	2,55±0,01 f
T18	Sulfato 25 20	3,91±0,31 a	0,28±0,01 a	1,27±0,00 b	0,44±0,02 b	0,41±0,005 b	8,43±0,03 h	2506,45±500,34 a	4,93±0,02 c
T19	E.D.T.A 15 30	2,75±0,01 b	0,26±0,01 a	1,37±0,00 b	0,61±0,05 b	0,43±0,01 a	10,56±0,03 g	2898,75±500,19 a	3,35±0,03 e
T20	E.D.T.A 20 30	2,52±0,14 b	0,24±0,02 a	1,25±0,01 b	0,52±0,05 b	0,42±0,05 a	11,15±0,04 g	2927,24±1,57 a	2,65±0,05 f
T21	E.D.T.A 25 30	2,84±0,04 b	0,21±0,005 a	1,37±0,01 b	0,54±0,05 b	0,36±0,02 b	4,85±0,04 i	2921,83±1,50 a	2,27±0,02 f
T22	D.T.P.A 15 30	3,62±0,04 a	0,25±0,01 a	1,37±0,01 b	0,43±0,05 b	0,39±0,01 b	7,44±0,03 h	2502,22±502,22 a	2,74±0,05 f

CONTINÚA 

T23	D.T.P.A 20 30	2,10±0,09 c	0,28±0,01 a	1,35±0,00 b	0,44±0,05 b	0,42±0,01 a	5,24±0,05 i	2969,23±0,77 a	2,39±0,01 f
T24	D.T.P.A 25 30	2,03±0,07 c	0,26±0,03 a	1,29±0,01 b	0,65±0,10 b	0,46±0,05 a	3,23±0,03 j	2561,14±0,13 a	1,82±0,02 g
T25	Sulfato 15 30	3,01±0,05 b	0,25±0,02 a	1,31±0,01 b	0,77±0,10 a	0,41±0,005 b	5,66±0,02 i	2771,84±0,72 a	1,77±0,04 g
T26	Sulfato 20 30	2,25±0,11 c	0,27±0,02 a	1,37±0,01 b	0,71±0,05 a	0,45±0,02 a	3,24±0,05 j	2820,90±0,10 a	2,61±0,005 f
T27	Sulfato 25 30	2,66±0,14 b	0,29±0,05 a	1,28±0,01 b	0,87±0,05 a	0,39±0,00 b	9,24±0,01 h	2724,37±0,30 a	3.30±0,05 e

*PDT [Producto (hierro), dosis (ppm), tiempo (días)]

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (DGC $p > 0,05$)

Tabla 12

Promedio \pm error estándar del valor mineral de pasto rye grass perenne (*Lolium perenne*) var. Amazon en el segundo corte bajo el efecto de diferentes fuentes de hierro, dosis y tiempos de aplicación.

Tratamientos	*PDT	N (%)	P (%)	K (mg.kg ⁻¹)	Ca (%)	Mg (%)	Mn (mg.kg ⁻¹)	Na (mg.kg ⁻¹)	Zn (mg.kg ⁻¹)
T0	Testigo	1,62±0,02 d	0,15±0,005 a	1,03±0,02 d	0,31±0,02 f	0,36±0,05 b	14,14±0,03 f	2047,16±1,50 a	3,53±0,05 c
T1	E.D.T.A 15 10	2,87±0,10 c	0,28±0,02 a	1,55±0,05 a	0,74±0,05 c	0,46±0,011 a	19,46±0,05 c	2807,10±196,50 a	9,82±0,55 a
T2	E.D.T.A 20 10	3,36±0,19 b	0,26±0,03 a	1,74±0,04 b	0,79±0,01 c	0,57±0,03 a	20,86±0,03 c	2813,75±97,00 a	5,13±0,03 c
T3	E.D.T.A 25 10	3,68±0,10 b	0,31±0,05 a	1,56±0,03 b	0,63±0,01 d	0,45±0,01 a	20,06±0,05 c	2788,57±215,00 a	6,27±1,05 b
T4	D.T.P.A 15 10	3,65±0,06 b	0,29±0,02 a	1,54±0,05 b	0,44±0,02 e	0,46±0,01 a	14,39±0,02 f	2754,34±250,00 a	5,59±0,005 c
T5	D.T.P.A 20 10	2,70±0,03 c	0,28±0,03 a	1,48±0,01 b	0,40±0,01 e	0,43±0,03 a	16,34±0,03 e	2691,59±351,00 a	7,23±0,02 b
T6	D.T.P.A 25 10	3,12±0,05 b	0,33±0,05 a	1,44±0,05 b	0,61±0,01 d	0,45±0,01 a	10,03±0,005 h	2512,61±502,00 a	4,73±0,55 c
T7	Sulfato 15 10	2,59±0,03 c	0,33±0,05 a	1,42±0,02 b	0,33±0,01 f	0,41±0,01 a	11,53±0,05 g	2939,35±461,50 a	5,53±0,05 c
T8	Sulfato 20 10	2,72±0,03 c	0,30±0,05 a	1,44±0,05 b	0,51±0,05 e	0,45±0,01 a	17,48±0,05 d	2709,02±495,00 a	7,29±0,15 b
T9	Sulfato 25 10	3,11±0,02 b	0,26±0,02 a	1,23±0,20 c	0,86±0,02 b	0,43±0,03 a	26,42±0,05 b	2707,12±495,00 a	5,05±0,53 c
T10	E.D.T.A 15 20	3,56±0,01 b	0,26±0,01 a	1,42±0,01 b	0,85±0,02 b	0,51±0,05 a	15,84±0,10 e	2547,03±545,00 a	4,73±0,10 c
T11	E.D.T.A 20 20	2,74±0,01 c	0,23±0,02 a	1,46±0,04 b	0,74±0,05 c	0,50±0,05 a	9,62±0,005 h	2771,62±251,00 a	5,43±0,48 c
T12	E.D.T.A 25 20	3,19±0,04 b	0,30±0,05 a	1,52±0,05 b	0,62±0,05 d	0,50±0,05 a	14,94±0,05 f	2612,60±501,45 a	6,33±0,20 b
T13	D.T.P.A 15 20	3,02±0,01 b	0,24±0,00 a	1,45±0,00 b	0,34±0,00 f	0,41±0,00 a	10,72±0,20 h	2508,18±500,06 a	4,49±0,01 c
T14	D.T.P.A 20 20	4,40±0,16 a	0,29±0,00 a	1,55±0,10 b	0,43±0,02 e	0,49±0,05 a	11,80±0,00 g	2286,30±100,00 a	4,09±0,01 c
T15	D.T.P.A 25 20	3,57±0,05 b	0,27±0,00 a	1,45±0,00 b	0,44±0,00 e	0,45±0,00 a	18,37±0,00 d	2613,30±500,00 a	7,16±0,00 b
T16	Sulfato 15 20	2,80±0,04 c	0,31±0,00 a	1,39±0,00 b	0,42±0,05 e	0,44±0,00 a	15,54±0,45 e	2543,17±499,85 a	10,67±0,97 a

CONTINÚA 

T17	Sulfato 20 20	2,64±0,10 c	0,22±0,01 a	1,50±0,01 b	0,64±0,02 d	0,54±0,10 a	13,07±0,50 g	2664,35±496,14 a	5,09±0,05 c
T18	Sulfato 25 20	3,56±0,29 b	0,36±0,06 a	1,37±0,01 b	0,43±0,02 e	0,40±0,00 a	11,86±0,04 g	2492,62±52,50 a	5,76±0,10 c
T19	E.D.T.A 15 30	2,74±0,23 c	0,29±0,05 a	1,44±0,01 b	0,83±0,02 b	0,45±0,00 a	10,66±0,03 h	2843,26±499,80 a	4,58±0,005 c
T20	E.D.T.A 20 30	2,59±0,20 c	0,24±0,02 a	1,55±0,05 b	0,44±0,03 e	0,45±0,00 a	39,08±0,05 a	2646,58±498,91 a	4,95±0,52 c
T21	E.D.T.A 25 30	3,06±0,19 b	0,32±0,05 a	1,38±0,005 b	0,87±0,03 b	0,45±0,00 a	11,75±0,005 g	2686,66±498,90 a	6,65±0,05 b
T22	D.T.P.A 15 30	3,02±0,47 b	0,25±0,01 a	1,45±0,01 b	0,86±0,03 b	0,46±0,00 a	8,82±1,55 i	2344,78±250,02 a	5,28±0,05 c
T23	D.T.P.A 20 30	2,91±0,14 c	0,31±0,05 a	1,47±0,01 b	0,85±0,03 b	0,46±0,00 a	9,90±0,10 h	2614,29±499,73 a	9,63±0,03 a
T24	D.T.P.A 25 30	2,77±0,05 c	0,28±0,01 a	1,58±0,01 b	0,57±0,01 d	0,45±0,00 a	10,50±0,49 h	2567,13±500,52 a	4,64±0,02 c
T25	Sulfato 15 30	3,34±0,13 b	0,29±0,02 a	1,46±0,02 b	0,85±0,03 b	0,46±0,00 a	12,57±0,44 g	2580,29±500,25 a	6,20±1,40 b
T26	Sulfato 20 30	3,34±0,00 b	0,30±0,02 a	1,47±0,02 b	0,74±0,06 c	0,46±0,00 a	12,54±0,45 g	2656,29±500,00 a	4,96±1,04 c
T27	Sulfato 25 30	3,32±0,09 b	0,24±0,02 a	1,39±0,01 b	1,11±0,05 a	0,45±0,00 a	16,15±0,50 e	2750,47±45,10 a	6,31±0,01 b

*PDT [Producto (hierro), dosis (ppm), tiempo (días)]

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (DGC $p > 0,05$)

4.8 Biodisponibilidad de hierro ferroso

La biodisponibilidad del hierro ferroso se realizó al término de la investigación, y se obtuvo la mayor concentración en el T9 (FeSO₄, 25ppm, 10 días) con 5,33mg.kg⁻¹ y la menor concentración de Fe²⁺ fue en el T0 (Testigo) con 2,52mg.kg⁻¹. Los datos obtenidos son similares a los de Gálvez (2009), quien registró valores entre 4,44 ppm de Fe²⁺ en la accesión ECU-8415 y 6,99 ppm ECU-2658 en hojas de chocho con la aplicación de quelato de hierro en una dosis de 545 ppm de Fe (Tabla 13).

En otro estudio donde se evaluó el efecto de la clorosis férrica en la producción y calidad de la fruta con diferentes portainjertos de nectarios, se obtuvo la mayor concentración de Fe²⁺ con 26,4mg.kg⁻¹ en el portainjeto GF677 siendo su opuesto con 12,3mg.kg⁻¹ de Fe²⁺ en el portainjeto Nemaguard, cuando la hoja presentó una concentración de Fe total de 357 mg.kg⁻¹ y 330 mg.kg⁻¹ respectivamente (Sotomayor, Ruíz, & Castro, 2009).

En la dieta de los animales se ha encontrado que el hierro hemínico se presenta entre un 10 y 20%, mientras que el no hemínico entre un 80 a 90%, con una absorción 50% para el grupo hemo, mientras que el hierro no hemínico sólo tiene una absorción del 1 a 10% (Tostado, Benítez, Pinzón, Bautista, & Ramírez, 2015).

Tabla 13

Comparación del hierro ferroso en hoja y raíz de pasto rye grass perenne (Lolium perenne) var. Amazon

Tratamientos	Descripción *PDT	Fe ²⁺ (mg.kg ⁻¹ en *PF)		Fe Total (mg.kg ⁻¹ en *PS)
		Hoja	Raíz	Raíz
T0	Testigo	2,52	5,42	140,10
T1	E.D.T.A 15 10	4,62	8,56	317,20
T2	E.D.T.A 20 10	4,15	7,07	289,85
T3	E.D.T.A 25 10	3,89	9,40	305,99
T4	D.T.P.A 15 10	4,13	6,44	292,15
T5	D.T.P.A 20 10	4,11	8,75	284,64
T6	D.T.P.A 25 10	5,14	8,26	334,29

CONTINÚA 

T7	Sulfato 15 10	4,19	6,27	314,02
T8	Sulfato 20 10	4,12	6,24	320,46
T9	Sulfato 25 10	5,33	7,66	323,52
T10	E.D.T.A 15 20	3,49	8,76	291,71
T11	E.D.T.A 20 20	3,96	7,78	290,71
T12	E.D.T.A 25 20	3,70	7,12	309,83
T13	D.T.P.A 15 20	4,15	7,22	322,17
T14	D.T.P.A 20 20	4,81	6,57	318,86
T15	D.T.P.A 25 20	3,02	6,84	319,05
T16	Sulfato 15 20	4,14	6,82	315,37
T17	Sulfato 20 20	4,18	7,15	254,79
T18	Sulfato 25 20	5,00	5,57	282,69
T19	E.D.T.A 15 30	4,02	6,58	295,52
T20	E.D.T.A 20 30	2,97	4,76	292,11
T21	E.D.T.A 25 30	4,22	9,63	300,59
T22	D.T.P.A 15 30	2,58	6,13	244,90
T23	D.T.P.A 20 30	4,29	5,64	278,37
T24	D.T.P.A 25 30	4,14	7,52	264,84
T25	Sulfato 15 30	4,01	7,73	267,10
T26	Sulfato 20 30	5,01	5,42	266,02
T27	Sulfato 25 30	3,77	6,52	258,00

**PDT [Producto (hierro), dosis (ppm), tiempo (días)] *PF (Peso fresco) *PS (Peso seco)*

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

La aplicación del T14 (D.T.P.A, 20ppm, 20 días) en el pasto rye grass perenne (*Lolium perenne*) variedad Amazon obtuvo la mayor bioacumulación de hierro con 273,29 mg.kg⁻¹ en MS para el primer corte mientras que para el segundo corte se mantuvo el mismo tratamiento con una bioacumulación de 302,97 mg.kg⁻¹ en MS.

El valor nutricional de acuerdo al T14 (D.T.P.A, 20ppm, 20 días) por presentar la mejor acumulación de hierro tanto para el primer como el segundo corte es de 28,87% y 20,85% de materia seca, 10,13% y 11,64% de ceniza, 5,68% y 6,92% de grasa, 22,03 % y 27,46 % de proteína y 16,47% y 30,13% de fibra respectivamente.

El mayor contenido de Fe²⁺ se obtuvo con la aplicación del T9 (FeSO₄, 25 ppm, 10 días) con 5,33 mg.kg⁻¹ de materia fresca de la hoja.

El mayor número de macollos se obtuvo con la aplicación del T15 (D.T.P.A, 25ppm, 20 días) con 6 macollos/planta para el primer corte, mientras que para el segundo corte fue el T14 (D.T.P.A, 20 ppm, 20 días) con 7,75 macollos.planta⁻¹.

La mayor altura se presentó tanto en el primer como segundo corte con la aplicación del T6 (D.T.P.A, dosis 25 ppm, 10 días) con 30,25cm y 29,5cm respectivamente.

La mayor concentración de clorofila para los dos cortes fue con el T14 (D.T.P.A, 20ppm, 20días) con un valor de 76,65ug.ml⁻¹ y 84,95ug.ml⁻¹.

5.2 Recomendaciones

De acuerdo con los resultados y conclusiones obtenidas en esta investigación se recomienda:

Usar el T14 (D.T.P.A con 9% de hierro) aplicado por vía foliar a una dosis de 20 mg.l⁻¹ después de cada pastoreo ya que presentó la mayor acumulación de hierro en el pasto Rye Grass Perenne var. Amazon.

En aspectos económicos se recomienda como alternativa aplicar sulfato ferroso vía foliar en una dosis de 25mg.kg⁻¹ de cada corte o pastoreo para corregir deficiencias y bioacumular el hierro en el pasto.

Probar el pasto biofortificado con hierro en la alimentación de rumiantes o herbívoros a fin de conocer la asimilación del micronutriente en el animal (sangre, carne o leche), y con ello obtener productos biofortificados que contribuyan con la seguridad alimentaria y nutricional de la sociedad en especial la de niños.

5.3 Bibliografía

- AGRICULTURERS. (2016). *Cómo usar y para qué sirve el sulfato de hierro*. Obtenido de Red de especialistas en agricultura: <http://agriculturers.com/usar-sirve-sulfato-hierro-agricultura/>
- ALASKA. (2016). Semillas. En *Vademécum Agrícola* (pág. 895). EDIFARM.
- Alcoser, L. (Diciembre de 2016). EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA AGRONÓMICA DE NITRÓGENO EN RYE GRASS PERENNE (*Lolium perenne*) VAR. ONE 50. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR. Quito, Ecuador. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9418/1/T-UCE-0004-56.pdf>
- Aldana, J. (2011). Análisis Foliare. *Laboratorios A-L de México S.A. de C.V.* Obtenido de <https://fuentesdeinformacioniapb.files.wordpress.com/2013/11/analisis-foliar.pdf>
- ANFFE. (2008). *LA IMPORTANCIA DE LOS FERTILIZANTES EN UNA AGRICULTURA ACTUAL PRODUCTIVA Y SOSTENIBLE*. Recuperado el 2018, de <http://www.anffe.com/noticias/2008/2008-06-02%20La%20importancia%20de%20los%20fertilizantes%20en%20una%20agricultura%20actual%20productiva%20y%20sostenible/LA%20IMPORTANCIA%20DE%20LOS%20FERTILIZANTES.pdf>
- Araujo, O. (2008). La nutrición mineral del ganado vacuno. En *Desarrollo Sostenible de la Ganadería de Doble Propósito* (págs. 463-475).
- Armijos, W. (2014). Caracterización bromatológica y digestibilidad In Vitro de la materia seca de 15 variedades de pastos de la sierra ecuatoriana. *Univerisdad de las Fuerzas Armadas ESPE*. Ecuador.
- Astudillo, P. (31 de Marzo de 2008). CLOROSIS FÉRRICA EN ÁRBOLES FRUTALES: ACTUALIZACIÓN DE SUS CAUSAS, EFECTOS Y SOLUCIONES PROPUESTAS. *Pontificia Universidad Católica de Valparaíso*. Chile.
- Ayala, M. (2015). YOGURT FORTIFICADO CON VITAMINA A, ÁCIDO FÓLICO, HIERRO Y ZINC EN ANIMALES EXPERIMENTALES CON ANEMIA INDUCIDA. Lima, Perú : UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA.
- Azcón, J., & Talón, M. (2000). *Fundamentos de Fisiología Vegetal*.
- Balocchi, O., Solis, C., Poff, J., Keim, J., & López, I. (2009). FILOCRONO EN UNA PRADERA DE *Lolium perenne* L.: EFECTO DE LA FRECUENCIA DE DEFOLIACIÓN Y FERTILIZACIÓN NITROGENADA.
- Bell, J., Rutter, A., & Realton, J. (1979). Studies on the effects of low levels of sulphur dioxide on the growth of *lolium perenne* L. *The New Phytologist*, 83, 627-643.

- Benavides, A. (1999). Absorción y asimilación de hierro en las plantas. *RESEARCHGATE*, 1-18. Obtenido de <http://www.agroestrategias.com/pdf/Fisiologia%20-%20Absorcion%20y%20Asimilacion%20del%20Hierro.pdf>
- Benavides, A. (2000). *AGROESTRATEGIAS*. Obtenido de <http://www.agroestrategias.com/pdf/Fisiologia%20-%20Absorcion%20y%20Asimilacion%20del%20Hierro.pdf>
- Bernal, J. (2008). *Pastos y forrajes tropicales Tomo 1: Manejo de praderas* (Quinta ed.). Bogota: Consemillas Ltda.; Agrosemillas S.A.
- Bienfait, H., Den, W., & Mesland, N. (1985). Free Space Iron Pools in Roots. *Plant Physiol*, 596-600.
- Bodek, D., & Castillo, S. (2013). Ferredoxinas. *Educación química*, 24(4), 426-430.
- Boy, E. (Mayo de 2014). Investigación nutricional de alimentos biofortificados. *Qué se ha logrado, y hacia dónde vamos?* Guatemala.
- Cabrera, D. (s.f.). *Manejo y Uso de Pastos y Forrajes en Ganadería Tropical*. Obtenido de http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/08_21_24_4.1.1.pdf
- Calderón, V. (Agosto de 2012). EVALUACION DE LA CALIDAD NUTRICIONAL DE ALIMENTOS ELABORADOS CON CULTIVOS BIOFORTIFICADOS. *El Salvador Ciencia y Tecnología*, XVII(23), 16-22.
- Cambrón, V., España, M., Sánchez, N., Sáenz, C., Vargas, J., & Herrerías, Y. (2011). Producción de clorofila en *Pinus pseudostrobus* en etapas juveniles bajo diferentes ambientes de desarrollo. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, XVII(2), 253-260.
- Carbajal, A. (2002). *Los alimentos: fuentes de energía y nutrientes*. Obtenido de <http://webs.ucm.es/info/nutri1/carbajal/manual-14.htm>
- Cárdenas, A., & Garzón, J. (2011). Guía de manejo de pastos para la sierra sur ecuatoriana. (INIAP, Ed.)
- Casierra, F., Ávila, O., & Riascos, D. (2012). CAMBIOS DIARIOS DEL CONTENIDO DE PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS EN HOJAS DE CALÉNDULA BAJO SOL Y SOMBRA. *TEMAS AGRARIOS*, 17(1), 60-71.
- Castillo, F. (2005). *Biotecnología Ambiental*. Madrid: Tébar.
- Castro, H., Domínguez, I., Morales, E., & Maximino, H. (2017). Composición química, contenido mineral y digestibilidad in vitro de raigrás (*Lolium perenne*) según intervalo de corte y época de crecimiento. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8(2), 201-

210. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v8n2/2448-6698-rmcp-8-02-00201.pdf>
- Cerdas, M., Montero, M., & Somarribas, O. (2014). VERIFICACIÓN DEL CONTENIDO DE MATERIA SECA COMO INDICADOR DE COSECHA PARA AGUACATE (persea americana) CULTIVAR HASS EN ZONA INTERMEDIA DE PRODUCCIÓN DE LOS SANTOS, COSTA RICA. *Agronomía Costarricense*, *I*(38), 207-214.
- CERTIS. (2016). *certisagrosostenible*. Obtenido de <http://www.certisagrosostenible.es/wp-content/uploads/2016/07/ebook-certis-nutricion-ferrica-250716.pdf>
- Cevallos, V. (2015). Rendimiento de biomasa de dos variedades de rye grass a tres fuentes de fósforo en la zona Cayambe, provincia de Pichincha. *UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO*. Carchi, Ecuador. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/49000/1064/1/T-UTB-FACIAG-AGR-000216.pdf>
- CIAT, I. S. (s.f.). *Biofortificación del Arroz para América Latina y El Caribe*. Recuperado el 2 de Junio de 2018, de <https://flar.org/wp-content/uploads/2016/02/Hoja-Informativa-Biofortificaci%C3%B3n.pdf>
- COSMOAGRO. (2015). Kelatex Fe. Obtenido de <https://www.cosmoagro.com/web/producto/kelatex-fe/>
- CTR. (2016). *HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD SULFATO FERROSO HEPTAHIDRATADO*. Obtenido de <https://www.ctr.com.mx/pdfcert/Sulfato%20Ferroso%20Heptahidratado.pdf>
- Cuevas, E. (1980). Manejo y utilización de praderas. *Universidad Austral de Chile*, 201.
- De felipe, R. (2009). Fijación biológica de nitrógeno. Estructura-función de la simbiosis Rhizobium-leguminosa. En *Bioteχνologías limpias en agricultura* (págs. 103-151).
- Demagnet, R. (2012). *Producción de Materia Seca*. Recuperado el 3 de Noviembre de 2018, de Praderas y Pasturas: http://www.praderasypasturas.com/files/menu/catedras/praderas_y_pasturas/2012/10-Produccion-de-Materia-Seca.pdf
- Dimaté, H. (2016). Caracterización agronómica y nutricional de cultivares de Raigrás (*Lolium perenne*) en el Noreste de Bogotá. *UNIVERSIDAD DE LA SALLE*. Colombia. Obtenido de http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/18415/13081070_2016.pdf?sequence=1
- Donaghy, D., & Fulkerson, B. (2015). Principles for developing an effective grazing management system for ryegrass-based pastures. *New South Wales Agriculture*, 1-10.

- Donato, H., & Piazza, N. (2017). Deficiencia de hierro y anemia ferropénica. Guía para su prevención, diagnóstico y tratamiento. *Arch Argent Pediatr*, *IV*(115), 404-408.
- Eide, D., Broderius, M., Fett, J., & Guerino, M. (1996). A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast. *Biochemistry*, *93*, 5694-5628.
- Fageria, V. (2001). NUTRIENT INTERACTIONS IN CROP PLANTS. *Journal of Plant Nutrition*, *24*(8), 1269-1290.
- FAO, & IFA. (1992). Los fertilizantes y su uso. Obtenido de <http://www.fao.org/3/a-x4781s.pdf>
- FARMAGRO. (2016). *KELATEX® Ca-Cu-Fe-Zn-Mg-Mn-Fe*. Obtenido de https://gestion.edifarm.com.ec/edifarm_quickagro/pdfs/productos/KELATEX%20CaCuFeZnMgMnFeB-20181018-113556.pdf
- FERMAGRI. (2018). *NUTRIFER 11%*. Obtenido de <http://www.fermagri.com/nutrifer-11--hierro-dtpa.html>
- Ferreira, R., Selles, G., Ruiz, R., Gil, P., & Barrera, C. (2008). *MANEJO DE LA CLOROSIS FÉRRICA EN PALTO*. La Cruz, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín INIA N° 181.
- Gálvez, F. (2009). Biofortificación de seis accesiones promisorias y la variedad INIAP-450 de chocho *Lupinus mutabilis* NET mediante la aplicación de quelatos de hierro y zinc. Ecuador: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Ganderats, S., & Hepp, C. (2003). ECANISMOS DE CRECIMIENTO DE *Lolium perenne*, *Festuca arundinacea* Y *Dactylis glomerata* EN LA ZONA INTERMEDIA DE AYSÉN. *Agricultura Técnica*, *63*(3), 259-265. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072003000300005>
- Gaón, S. (2018). CONTRASTE DE LOS ÍNDICES DE VEGETACIÓN POR RADIOMETRÍA EN RELACIÓN A LA DIGESTIBILIDAD IN SITU DE DOS GRAMÍNEAS FORRAJERAS. Ecuador: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Gaona, S., Villarraga, M. d., Giorgi, G., García, B., Mora, A., Castillo, M., & Roque, M. (2012). Modelo animal de anemia inducida por flebotomía crónica: Relación funcional entre hierro y eritropoyesis. *NOVA PUBLICACIÓN CIENTÍFICA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS*, *10*(17), 50- 63.
- García, N., Eandi, S., Feliú, A., & Musso, A. (2010). Conceptos actuales sobre fisiología y patología del hierro. *HEMATOLOGIA*, *XIV*(2), 48-57.

- García, P., Abadía, J., & Abadía, A. (1998). Tratamientos foliares para la corrección de la clorosis férrica. *Geológica*, 27-31.
- Gavilanes, L. (2015). EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN FOLIAR Y EDÁFICA CON HIERRO Y ZINC PARA LA BIOFORTIFICACIÓN AGRONÓMICA DEL TUBÉRCULO DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.). Riobamba, Chimborazo, Ecuador.
- Giorgi, G. (2016). ESTUDIO DE LA MOVILIZACIÓN INTRACELULAR DEL HIERRO Y SU DESREGULACIÓN. *Tesis de Doctor en Bioquímica*. Argentina: UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR.
- González, R., & González, M. (2000). Relaciones entre niveles de asimilación de nutrientes y calidad de la uva en viñedos cv. Tempranillo afectados por clorosis férrica. *Jornadas Fertilización*, 96-101.
- GOOGLE EARTH. (2018). Obtenido de <https://www.google.com/intl/es/earth/>
- Gordillo, A., & Vega, C. (2012). EVALUACION DE CUATRO VARIEDADES DE RAY GRASS (*Lolium* sp) CON TRÉBOL BLANCO VARIEDAD EMERALD (*Trifolium repens*) EN LA PRODUCCIÓN DE OVEJAS DE 2 A 4 AÑOS DE EDAD EN LA ZONA DE PAILONES. Pichincha, Ecuador: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Gutiérrez, F., Alcoser, R., Macías, G., Portilla, A., & Espinosa, J. (2017). Omisión de nutrientes y dosis de nitrógeno en la acumulación de biomasa, composición bromatológica y eficiencia de uso de nitrógeno de raigrás diploide perenne (*Lolium perenne*). *Siembra*, 4(1), 81- 92.
- Harborne, J. (1973). Chlorophyll extraction.
- HARTMUT, L. (1987). ChlorolShylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *METHODS IN ENZYMOLOGY*, 148, 350-382.
- IMPULSEMILLAS. (s.f.). *Rye Grass Perenne: AMAZON*. Recuperado el 25 de Septiembre de 2018, de <http://www.impulsemillas.com/documentos/fichas/Amazon.pdf>
- Impulsores Internacionales, S. (s.f.). Pastos de clima frío. En *DIVISIÓN PECUARIA* (págs. 611-622).
- INATEC, JICA, MAG, INTA, & IPSA. (2016). *Manual del Protagonista: Pastos y Forrajes*. Recuperado el 2018, de https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Manual_de_Pastos_y_Forrajes.pdf
- Juárez, M., Cerdán, M., & Sánchez, A. (2018). HIERRO EN EL SISTEMA SUELO-PLANTA. 1-32.

- Karnataka, J. (2011). Interaction of micronutrients with major nutrients with special reference to potassium. *Agricultural Science*, 24(1), 106-109.
- Kyrkby, E., & Römheld, V. (2007). *MICRONUTRIENTES EN LA FISILOGIA DE LAS PLANTAS: FUNCIONES, ABSORCIÓN Y MOVILIDAD*. Obtenido de The International Fertilizer Society: <http://www.portalfruticola.com/assets/uploads/2016/12/MicronutrientesenlaFisiologia.pdf>
- Lallana, V., & Lallana, M. (2003). Extracción y separación de pigmentos de los cloroplastos. En *Manual de Prácticas de Fisiología Vegetal* (págs. 13-16). Obtenido de http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/fisiologiaveg/m_didactico/manual_practicas/ExtPig_bED.pdf
- Lawson, A., Sale, P., & Kelly, K. (1997). Efecto de la frecuencia de defoliación en una pastura perenne irrigada en el norte de Victoria 2. *Revista australiana de investigación agrícola*, 48(6), 819-830. doi:<https://doi.org/10.1071/A96089>
- Licata, M. (2018). *ZONADIET*. Obtenido de <https://www.zonadiet.com/nutricion/hierro.htm>
- Licto, S. (2017). ESTUDIO DE LA BIOFORTIFICACIÓN FOLIAR CON DIFERENTES FUENTES DE ZINC EN RYE GRASS PERENNE (*Lolium perenne*) VARIEDAD AMAZON. Quito, Pichincha, Ecuador.
- López, A. (2000). Adquisición y transporte de hierro en plantas. *Tesis Doctoral*.
- Loué, A. (1988). *Micronutrientes en la agricultura*. Madrid, España: Mundiprensa.
- MA-56. (1998-2018). Estación agrometeorológica IASA. *Registros diarios de parámetros climáticos. Base de dato*. Sangolquí.
- Malavolta, E. (2010). *Fertilización foliar*. Obtenido de AGRONET: bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4922/3/216.3.pdf
- MARNYS. (2018). *El Hierro, mineral esencial para nuestro organismo*. Recuperado el 27 de Septiembre de 2018, de <https://www.marnys.es/magazine/hierro-mineral-esencial-para-el-organismo/>
- Márquez, C., Guillén, M., De la Cruz, E. C., Sánchez, E., Moreno, A., Latournerie, L., & López, S. (2015). La Biofortificación de Cultivos: Una Alternativa que Contribuye a la Seguridad Alimentaria y Nutricional. En A. Moreno, J. Reyes, & C. Márquez, *Tópicos Selectos de Sustentabilidad: Un Reto Permanente* (Vol. III, págs. 14-22). Universidad Juárez del Estado de Durango.
- Martínez, G. (1995). *Elementos de Fisiología Vegetal*. España: Mundi-Prensa.

- Martínez, J., & Gallardo, R. (2018). *El suelo y la fertilización*. (E. Vistoso, & P. Jil, Edits.)
Obtenido de INIA: <http://biblioteca.inia.cl/medios/fichas-tecnicas/suelos/FICHA13-Remehue-JosueMartinezLagos.pdf>
- Martínez, M. (Diciembre de 2011). CLOROSIS FÉRRICA: CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA DE ABSORCIÓN DE Fe EN UN PATRÓN DE CÍTRICOS. *UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA*. España.
- Martínez, M. (2012). RESPUESTAS DEL SISTEMA DE ABSORCIÓN DE HIERRO EN LAS RAÍCES DE LOS CÍTRICOS ANTE DIFERENTES CONDICIONES CLOROSANTES DEL MEDIO. Valencia: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN VEGETAL.
- Medina, C. (2009). Evaluación morfoagronómica y nutricional de cinco variedades de rye grass bianual (*Lolium multiflorum*), en lugares representativos de las zonas ganaderas de leche en las provincias de Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo. *Escuela Politécnica Nacional*, 1-131.
- Menguel, K., & Kirkby, E. (1987). *Principios de Nutrición Vegetal*. (I. P. Institute, Ed.) Brinkmann Mulhouse.
- Monge, R. (2017). Hierro mineral. *GUIAS ALIMENTARIAS PARA LA EDUCACION NUTRICIONAL EN COSTA RICA*, 1-6.
- Mufarrege, D. (2003). *Sitio Argentino de Producción Animal*. Obtenido de http://www.produccion-animal.com.ar/suplementacion_mineral/54-hierro_y_manganeso.pdf
- Mulder, D. (1953). Les elements mineurs en culture fruitiere. *Convegno Nazionale Fruitticoltura*.
- Nemirovsky, Y. (2010). Estimación del efecto del camu camu (*Myrciaria dubia*) como fuente de vitamina C, en la biodisponibilidad de hierro. *Tesis para optar el grado de Magister Scientiae*. Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Notario, E. (1930). *NATURHOLISTCA*. Obtenido de <http://www.naturholistica.com/PDF/es/Clorofila.pdf>
- Nova, J., Pimentel, Á., Adames, Á., Contreras, F., Pujols, A., Jiménez, F., & Mella, J. (2014). Hierro y Zinc en el suelo y su expresión en el grano de arroz. *Revista Agropecuaria y Forestal APF*, 3(1), 39-46.
- NRC. (2001). Normas: Minerales. Obtenido de <https://docs.ufpr.br/~freitasjaf/artigos/nrc2001/Minerais.pdf>

- NUTRIFACTS. (s.f.). *HIERRO*. Recuperado el 27 de Septiembre de 2018, de <https://www.nutri-facts.org/content/dam/nutrifacts/pdf/nutrients-pdf-es/Hierro.pdf>
- Oltra, M. (2016). La planta es capaz de detectar deficiencias de un nutriente en concreto, sin embargo este puede verse afectado por el estado de concentración de otrDiagnóstico nutricional de la alcachofa mediante analisis foliar . Universidad de Alicante .
- Pachón, H. (25 de Agosto de 2009). La Biofortificación como Estrategia para la Prevención y el Control de Deficiencias Nutricionales. Panamá.
- Padrón, M. (2011). LA BIOFORTIFICACION DEL ARROZ CON MICRONUTRIENTES: UNA ESTRATEGIA NUTRICIONAL QUE PUEDE SER SOSTENIBLE EN CUBA. (D. d. Bioquímica, Ed.) *Cubana Aliment Nutr*, I(21), 153-158.
- Páez, P., Campos, R., & Patiño, L. (2013). Suplementación y metabolismo de hierro en neonatos bovinos en condiciones de trópico. *Ciencia animal*, 59-65.
- Pereira, C., Maycotte, C., Restrepo, B., Calle, A., & Velarde, M. (2011). *SISTEMAS DE PRODUCCION VEGETAL II*. Recuperado el 2018, de https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/productos/4781/sistemas_de_produccion_vegetal_2.pdf
- Pereiro, M. (2014). Contenido y bioaccesibilidad in vitro del hierro en músculos de novillos Aberdeen Angus alimentados a pastura, pastura más suplemento y feedlot. *Facultad de Ciencias*. Uruguay: Universidad de la República Uruguay.
- Pérez, T., Hernández, A., Pérez, J., Herrera, J., & Bárcena, R. (2002). Respuesta productiva y dinámica de rebrote del ballico perenne a diferentes alturas de corte. *Técnica Pecuaria en México*, 40(3), 251-263.
- PROMIX. (21 de Marzo de 2018). *Rol del hierro en el cultivo de plantas*. Recuperado el 5 de Junio de 2018, de <https://www.pthorticulture.com/es/centro-de-formacion/rol-del-hierro-en-el-cultivo-de-plantas/>
- QUIAGRAL. (2015). *FICHA TÉCNICA SULFATO FERROSO HEPTAHIDRATADO*. Obtenido de <http://quiagral.com.pe/wp-content/uploads/2017/04/FT-Sulfato-Ferroso-Heptahidratado-2017-I.pdf>
- Quilligana, S. (2016). COMPARACIÓN PRODUCTIVA DE TRES CULTIVARES DE RYE GRASS PERENNE (*Lolium perenne*) EN TÉRMINOS DE PRODUCCIÓN Y CALIDAD. 1-82. Quito, Pichincha, Ecuador.
- Ramírez, J., Verdecia, D., Leonard, I., & Álvarez, Y. (2010). Rendimiento de materia seca y calidad nutritiva del pasto *Panicum maximum* vc. Likoni en un suelo fluvisol de la región oriental de Cuba. *Revista electrónica de Veterinaria-REDVET*, 11(7), 1695-7504. Obtenido de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070710/071018.pdf>

- Rehiman, S., Rose, R., & Sabin, T. (2000). Effects of shade on morphology, chlorophyll concentration and chlorophyll fluorescence of four Pacific Northwest conifer species. *New Forests*, 19(2), 171-186.
- Ribas, B. (2009). Importancia del hierro en la alimentación. 265. Recuperado el 27 de Septiembre de 2018, de <https://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/402/423>
- Ríos Ruiz, J. J. (2013). Biofortificación: La Agricultura del Futuro. *Tierras*(203), 126-128.
- Rivas, J., Baltasar, M., Moreno, V., & Sánchez, L. (2009). DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD PEROXIDASA EN EXTRACTOS CRUDOS DE DIFERENTES VEGETALES. *XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería*, 1.
- Robalino, N. (2010). INFLUENCIA DE LA FERTILIZACIÓN Y EL INTERVALO DE PASTOREO EN EL CONTENIDO DE FDN Y ENERGÍA DE UNA MEZCLA FORRAJERA. *UNIVERSIADAD DE LAS FUERZAS ARMADAS ESPE*, 1-184.
- Robson, A., & Pitman, M. (1983). Interactions Between Nutrients in Higher Plants. *Inorganic Plant Nutrition*, 15, 147-180.
- Rodríguez, P. (2010). *Quelatos biodegradables y complejos como correctores de la clorosis férrica. Evaluación de complejos Fe Lignosulfonato*. Madrid, España: Tesis. Universidad Autónoma de Madrid.
- RÖMHELD, V., & MARSCHNER, H. (1991). Functions of micronutrients in plants. *Micronutrients in agriculture* , 297-328.
- Ronen, E. (2016). *Fertilizando*. Obtenido de Fertilización Foliar. Otra exitosa forma de nutrir a las plantas: <http://www.fertilizando.com/articulos/Fertilizacion%20Foliar%20-%20Otra%20forma%20exitosa.asp>
- Saldanha, S., Boggiano, P., & Cadenazzi, M. (2010). Intensidad del pastoreo sobre la estructura de una pastura de *Lolium perenne* cv Horizon. *Agrociencia Uruguay*, 14(1), 44-54.
- Salgado, M. (2008). Alimentación: rol en la sostenibilidad del sistema de producción de ganadería bovina Doble Propósito. En *Desarrollo Sostenible de la Ganadería de Doble Propósito*. (págs. 422-434).
- Salomón, N., Landriscini, M., Galantini, J., & Miranda, R. (2011). Trigo biofortificado con hierro: una nueva opción. *AgroUNS*, IX(16), 8-11.
- Salud, O. M. (2011). *Sistema de Información Nutricional sobre Vitaminas y Minerales (VMNIS)*. Obtenido de Prevalencia mundial de la anemia y número de personas afectadas: https://www.who.int/vmnis/database/anaemia/anaemia_data_status_t2/es/

- Sánchez, A. (2002). Mejora en la eficacia de los quelatos de hierro sintéticos a través de sustancias húmicas y aminoácidos . *Tesis de Doctorado. Universidad de Alicante.*
- Sánchez, J., Vargas, E., Campabadal, C., & Fonseca, H. (1986). CONTENIDO PROTEICO Y MINERAL EN LOS FORRAJES DE LA ZONA MONT AfiOSA CENTRAL DE COSTA RICA, EFECTO DE LA EPOCA CLIMATICA Y EL ESTADO VEGETATIVO. *Agronomía Costarricense*, 179-190. Obtenido de http://www.mag.go.cr/rev_agr/v10n01-2_179.pdf
- Santos, A., & Aguilar, D. (2000). FERTILIZACION FOLIAR, UN RESPALDO IMPORTANTE EN EL RENDIMIENTO DE LOS CULTIVOS. *TERRA*, 17(3), 247-255.
- Sattelmacher, B. (2000). The apoplast and its significance for plant mineral nutrition. *New Phytologist*(22), 167-183.
- Serpa, A., Vélez, L., Barajas, J., Castro, C., & Zuluaga, R. (2016). Compuestos de hierro para la fortificación de alimentos: El desarrollo de una estrategia nutricional indispensable para países en vía de desarrollo. *Agroindustria y Ciencia de los Alimentos*, 340-353.
- Sida, J., Sánchez, E., Ávila, G., Acosta, Carlos, & Zamudio, P. (2015). Biofortificación con micronutrientes en cultivos agrícolas y su impacto en la nutrición y salud humana. *TECNOCENCIA*, IX(2), 67-74.
- Sotomayor, C., Ruíz, R., & Castro, J. (2009). Nuevos portainjertos en nectararios, una solución contra la clorosis férrica. *Agronomía y Forestal*(39), 19-21.
- Suárez, C. (2016). EVALUACIÓN AGRONÓMICA Y NUTRICIONAL DEL PASTO ELEFANTE (*Pennisetum purpureum*) A PARTIR DE DIFERENTES BIOFERTILIZANTES EN LA FINCA LOS ROBLES DE LA FUNDACIÓN UNIVERSITARIA DE POPAYÁN. *UNIVERSIDAD DE MANIZALES*.
- Sumanta, N., Choudhury, I., Nishika, J., & Suprakash, R. (2014). Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents . *Research Journal of Chemical Sciences*, IV(9), 63-69.
- Tiffin, L. (1966). Iron Translocation I. Plant Culture, Exudate Sampling, Iron-Citrate Analysis. *Plant Physiol*, 510-514.
- Tostado, T., Benítez, I., Pinzón, A., Bautista, M., & Ramírez, J. (2015). Actualidades de las características del hierro y su uso en pediatría. *Acta Pediátrica de México*, 36(3), 189-200.

- Toxqui, L., De Piero, A., Courtois, V., Bastida, S., Sánchez, F., & Vaquero, P. (2010). Deficiencia y sobrecarga de hierro; implicaciones en el estado oxidativo y la salud cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 3(25), 350-365.
- Uscátegui, R. (2011). Perspectivas en Nutrición Humana. *XIII(2)*, 119-120.
- Valero, J. (2015). RESPUESTA DE CULTIVARES DE ARROZ A LA FERTILIZACIÓN CON HIERRO Y ZINC, SOBRE SU CONCENTRACIÓN EN EL GRANO, EN LA AMAZONIA ECUATORIANA. Babahoyo, Ecuador.
- Vargas, C. (2011). EVALUACIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE ENMIENDAS HÚMICAS EN LA PRODUCCIÓN PRIMARIA DE FORRAJE DEL *Lolium perenne* (RYE GRASS). Riobamba, Ecuador.
- Vargas, J. (2015). Evaluación y comparación del establecimiento de *Lolium perenne* y *Holcus lanatus* en un suelo con laboreo convencional y otro con cero labranza. 1-39.
- Vásquez, D. (2008). Producción y evaluación de cuatro tipos de bioabonos como alternativa biotecnológica de uso de residuos orgánicos para la fertilización de pastos. *ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO*, 1-115.
- Velasco, E., Hernández, A., & González, V. (2005). Rendimiento y valor nutritivo del ballico perenne (*Lolium perenne* L.) en respuesta a la frecuencia de corte. *Técnica Pecuaria en México*, 43(2), 247-258.
- Velásquez, P. (2009). Evaluación morfoagronómica y nutricional de cinco variedades de Rye Grass BIANUAL (*Lolium multiflorum*) en lugares representativos de las zonas de producción de leche de las provincias de Carchi, Imbabura y Pichinca. *Escuela Politécnica Nacional*. Obtenido de <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1664/1/CD-2283.pdf>
- Venegas, C. (s.f). *FERTILIZACIÓN FOLIAR COMPLEMENTARIA PARA NUTRICION Y SANIDAD EN PRODUCCION DE PAPAS*. Obtenido de JADEFO: <http://www.jadefo.org.mx/jwp/wp-content/uploads/Fertilizacion.pdf>
- Vibrans, H., Roldán, F., & Mondragón, J. (23 de Agosto de 2009). *Lolium multiflorum* . Recuperado el 21 de Septiembre de 2018, de Malezas de México: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/poaceae/lolium-multiflorum/fichas/ficha.htm>
- Villalobos, L. (2006). Disponibilidad y valor nutricional del pasto Rye Grass Perenne Tetraploide (*Lolium perenne*) en zonas altas de Costa Rica. *UNIVERSIDAD DE COSTA RICA. FACULTAD DE CIENCIAS AGROLIMENTARIAS*, 1-140.
- Villalobos, L., & Sánchez, J. (2010). EVALUACIÓN AGRONÓMICA Y NUTRICIONAL DEL PASTO RYEGRASS PERENNE TETRAPLOIDE (*Lolium perenne*)

PRODUCIDO EN LECHERÍAS DE LAS ZONAS ALTAS DE COSTA RICA. I. PRODUCCIÓN DE BIOMASA Y FENOLOGÍA. *Agronomía Costarricense*, 31-42. Obtenido de Tecnología Creativa con Sentido Ecológico: <http://recintodelpensamiento.com/ComiteCafeteros/HojasSeguridad/Files/HojasSeg/HSKelatexHierro2014630101749.pdf>

Villarreal, L., & Baca, R. (2014). *Actualidad Ganadera*. Obtenido de <http://www.actualidadganadera.com/biomont/articulos/anemia-en-rumiantes-un-problema-silencioso.html>

WEBCONSULTAS. (s.f.). *Minerales*. Recuperado el 27 de Septiembre de 2018, de Nutrientes: <https://www.webconsultas.com/dieta-y-nutricion/dieta-equilibrada/micronutrientes/minerales/hierro-1833>

West, A., & Oates, P. (2008). Mecanismos de absorción de hierro hemo: preguntas actuales y controversias. *World Journal of Gastroenterology*, 14(26), 4101-4110.