

## INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS - INIAP

### PROTOCOLO BASE PARA ENSAYOS DE VALIDACIÓN DE CULTIVARES - PASTOS DE LA SIERRA

#### 1. ANTECEDENTES

La cría de ganado en Ecuador se realiza sobre aproximadamente 2.91 millones de hectáreas, de las cuales, el 68% (1.99 millones) son pastos cultivados y el resto son pasturas naturales (ESPAC, 2019). Esta significativa proporción se explica porque el pasto constituye la principal fuente de alimentación más económica tanto del ganado lechero como del destinado a carne que se cría en el país.

Las semillas de pastos constituyen el elemento esencial para el incremento de la producción y productividad en el sector pecuario, sin embargo, en el Ecuador existe un notorio déficit de producción de semillas de especies forrajeras. Este déficit que demanda la actividad ganadera, es cubierto por medio de importaciones que provienen de Estados Unidos del cual se ha importado el 80,77% del total de semillas que ingresaron al Ecuador; de Nueva Zelanda se importó el 6,27%; y el 5,17 % de Holanda y el resto es producción nacional (Hidalgo, 2010).

Esta situación promueve el apareamiento de nuevas especies y/o variedades de pastos en el mercado, las cuales requieren de un periodo de evaluación bajo las condiciones ambientales y de manejo del Ecuador (Guacapiña, 2014).

Ecuador es un país megadiverso, ya que se caracteriza por ser rico en ecosistemas, especies y genes (polimorfismo) que deben ser conservados y utilizados de manera racional y estratégica (Torres, 2010). Según Salvatore et al (2005), los sistemas agrícolas productivos actuales, dependen de la diversidad genética para obtener materiales mejorados que den respuestas al desarrollo y demanda de la agricultura y contribuyan a la producción en cantidad y calidad de alimentos para una población creciente.

De acuerdo a los objetivos y lineamientos del Plan Estratégico del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) 2018-2022, la institución, entre otros objetivos, debe contribuir al incremento sostenido y sustentable de la producción, productividad y al mejoramiento de los productos agropecuarios mediante la generación de nuevos cultivares o variedades, priorizando el uso racional y conservación de los recursos naturales, además de impulsar actividades para obtención de certificaciones relacionadas a la gestión de la I&D+i y de propiedad intelectual, refiriéndose en este último punto al registro y protección de las nuevas variedades o clones mejorados (Zambrano et al., 2018).

Un equipo técnico de especialistas, realizará los ensayos en campo y dichas pruebas indicarán que la variedad a ser registrada cumple con los requisitos para emitir un informe técnico.

Según INGENIOS (2017) y otros autores (Gilliland y Gensollen, 2010; Ramírez et al., 2010) es importante conocer que el derecho de obtentor no concede a su titular el impedimento para que otras personas realicen los siguientes actos con respecto a la variedad protegida:

- a) Hacer uso en el ámbito privado y sin fines comerciales.
- b) Con fines de enseñanza, investigación científica o académica
- c) Actos realizados con el fin de obtener una nueva variedad.

De esta forma, el Estado garantiza y promueve un mayor equilibrio y equidad en el sector agrícola del país. “La protección establecida en el presente Título se extiende a las variedades pertenecientes a todos los géneros y especies vegetales siempre que su cultivo, posesión o utilización no se encuentre prohibido por razones de salud humana, animal o vegetal, soberanía alimentaria, seguridad alimentaria y seguridad ambiental.” Como lo manifiesta el Artículo 471 de INGENIOS sobre Material protegible.

La Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de la Agricultura Sustentable, en su artículo Nro. 33 indica que sólo podrán ser sometidas al proceso de certificación de semilla los cultivares inscritos como tales en el Registro Nacional de Cultivares. Adicionalmente en el artículo Nro. 39 señala que la Autoridad Agraria Nacional inscribirá por una sola vez el material para la producción de semillas certificadas en el registro nacional de semillas y que está prohibido comercializar semillas certificadas que no estén inscritas en el indicado Registro.

En el Reglamento a la Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de la Agricultura Sustentable en el artículo Nro. 45 se estable los requisitos para realizar el registro de los cultivares, entre los cuales consta el informe de resultados de ensayos de validación de cultivares. Además, en dicho reglamento indica en su Sección II, Artículo 50, que los ensayos de validación de cultivares son las pruebas en campo, a las que se somete un cultivar como requisito previo al registro de cultivares, con la finalidad de verificar: 1) La adaptación a una zona agroecológica definida; 2) Validación agronómica y/o agroindustrial, según la información proporcionada en la ficha técnica del cultivar; y 3) Validación de los descriptores varietales reportados por el interesado.

## 2. JUSTIFICACIÓN

La importación de semillas de pastos en el Ecuador se la realiza en forma continua y debido a esto, en el mercado aparecen nuevas especies y/o variedades, las cuales necesariamente deben ser evaluadas bajo las condiciones y manejo de nuestro país.

A fin de dar cumplimiento a lo establecido en el Reglamento a la Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de la Agricultura Sustentable- LOASFAS emitido por parte de la Presidencia de la República y publicado en registro oficial Nro. 194, el Instituto tiene que acogerse a las competencias establecidas en dicho documento y debe elaborar los protocolos de para ejecutar los ensayos de validación.

El Reglamento a la Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de la Agricultura Sustentable indica en su Sección II, Artículo 51, indica que los ensayos de validación de cultivares deberán realizarse con base al protocolo establecido por el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), el cual será adaptado según cada caso.

Además, este Reglamento indica en el Artículo 53 que la Autoridad Agraria Nacional, como parte del proceso del registro del cultivar recibirá de parte del INIAP una copia del informe de resultados y verificará los resultados favorables de dichos ensayos,

para emitir el certificado de registro respectivo previa recomendación del Comité Técnico de Semillas.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo General

- Validar el desarrollo de especies y/o variedades de pastos de la sierra en parcelas de investigación.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Validar la adaptación de materiales de pastos de la sierra en una zona agroecológica definida.
- Determinar el potencial productivo y valor nutricional de los materiales de pastos de la sierra.

### 4. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.1 Materiales

##### 4.1.1 Material vegetal

Especies y/o variedades de pastos de la sierra (Rye grass perenne, Rye grass anual, Rye grass Bianual, Rye grass hibrido, Pasto azul, Avena, Festuca, Festulolium, Trébol blanco, Trébol Rojo, Alfalfa, Llantén, Achicoria)

##### 4.1.2 Insumos agropecuarios

Fertilizantes compuestos, fertilizantes nitrogenados y herbicida de baja toxicidad que se aplicará para la preparación del suelo.

##### 4.1.3 Materiales y Equipos

Cinta métrica, estacas, piolas, palas, balde, fundas, GPS, bomba de mochila, hoz, cuadrante metálico de 0.25 m<sup>2</sup>, costales, cámara digital, motoguadaña, balanza de campo, estufa, cámara fotográfica, libreta de campo, alambre de púa y barreno para análisis de suelo.

#### 4.2 Metodología

##### 4.2.1 Características del sitio experimental

###### 4.2.1.1 Ubicación

Se indicarán las características del sitio experimental donde se realice el ensayo de validación. La información a registrarse se indica en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Ubicación del experimento.

Provincia
Cantón
Parroquia
Sitio
Altitud
Latitud
Longitud

El ensayo se realizará mínimo en dos localidades dependiendo de la especie y/o variedades de pastos de la sierra a registrarse y los requerimientos del interesado. Cualquier variación en el número de localidades se definirá en el protocolo específico.

#### 4.2.1.2 Características agroclimáticas

Se registrarán las condiciones climáticas del sitio experimental donde se realice el ensayo de validación. La información a registrarse se indica en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Condiciones climáticas del sitio experimental

Zona climática
Temperatura promedio
Precipitación media anual
Heliofanía
Humedad relativa promedio

#### 4.2.1.3 Características edáficas

Previo a la implementación del ensayo, se realizará un análisis de suelo para conocer las características físico-químicas del mismo, como base para el manejo nutricional y riego del cultivo en evaluación, evitando restricciones nutrimentales y de agua para que las especies y/o variedades expresen sus caracteres distintivos.

#### 4.2.2 Tratamientos

Se indicará el número de especies y/o variedades con sus nombres respectivos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Tratamientos a evaluarse, cabe mencionar que el número de testigos pueden variar

Nº Tratamiento	Descripción	Origen
T1		
T2		
T3		
T4		
T5		
T6		

#### 4.2.3 Unidad experimental

La unidad experimental debe estar constituida por una parcela de al menos de 100 m<sup>2</sup> para cada uno de los tratamientos. Utilizando diseño experimental con al menos tres repeticiones.

Cuadro 4. Características de la unidad experimental.

Unidad experimental	Características
Número de unidades experimentales	-
Número de repeticiones	3
Número de tratamientos	-
Área total del experimento (m <sup>2</sup> )	-
Área neta del experimento (m <sup>2</sup> )	-
Área parcela total (m <sup>2</sup> )	-
Área parcela neta (m <sup>2</sup> )	-

\* Los valores son referenciales y requerirán de ajustes dependiendo de especificaciones

#### 4.2.4 Análisis estadístico

Se utilizará un diseño de bloques completamente al azar. Los datos serán analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias estadísticas entre tratamientos. Además, se utilizará la Prueba de Tukey al 5% para determinar diferencias entre medias. Para el análisis de datos se podrá utilizar paquete estadístico INFOSTAT

#### 4.2.5 Variables y métodos de evaluación

El registro de las variables se realizará con un técnico especialista y un asistente de campo.

##### 4.2.5.1 Análisis físico de las semillas

En el Laboratorio del Departamento de producción de semillas de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP, se pesará 100 gramos de semilla y se analizará visualmente las posibles impurezas presentes en la misma. Posteriormente

se pesará todas las impurezas y se expresará el valor total en porcentaje, este procedimiento se repetirá por tres ocasiones (Medina, 2009).

#### 4.2.5.2 Porcentaje de germinación de las semillas

Se determinará mediante el conteo de 100 hasta 300 semillas obtenidas de la muestra. Serán puestas a germinar en bandejas de germinación. Serán observadas de 7 a 21 días post siembra.

#### 4.2.5.3 Valor cultural de la semilla

Se calculará multiplicando el porcentaje obtenido en la prueba de pureza por el porcentaje restante de la prueba de germinación. Esto es:

$$\%V.C = \frac{\% \text{ Semillas puras} \times \% \text{ germinación (0\% semillas viables)}}{100}$$

#### 4.2.5.4 Vigor de macollo/planta

Permite medir el vigor con que crece la planta para lo que se emplea una escala ordinal de 1 a 5, se evaluará hasta la cosecha o corte, cuya descripción se indica a continuación en el cuadro 5:

Cuadro 5. Escala de evaluación de vigor de planta

Escala: 1-5	Descripción
1	Malo
2	Regular
3	Bueno
4	Muy bueno
5	Excelente

#### 4.2.5.5 Altura de planta

Esta variable se registrará desde la base del tallo hasta la inserción de la hoja bandera, tomando cinco plantas por parcela útil. Se evaluará hasta la cosecha o corte.

#### 4.2.5.6 Número de hojas

Se registrará en cinco plantas por parcela útil, se contabilizará en número de hojas existentes en la planta.

#### 4.2.5.7 Diámetro de tallo

Este parámetro se registra en el tallo de los pastos, desde la primera evaluación hasta que alcance la madurez fisiológica, utilizando un calibrador de Vernier, registrándose la medición a partir de los 10 cm. desde la base para los pastos de crecimiento rastrero y 20 cm para los de crecimiento erecto, semierecto o matoso.



#### 4.2.5.8 Días a floración

Este dato se registrará desde la siembra hasta el inicio de la floración.

#### 4.2.5.9 Días de floración

Se evalúa este dato tomando en cuenta el tiempo que dura la floración hasta que se observa las últimas flores durante el periodo de floración y así planificar el periodo de cosecha, especialmente en las leguminosas forrajeras

#### 4.2.5.10 Tipo de inflorescencia

Se registrará en tipo de flor que presente la planta: panícula, racimo, espiga, entre otras.

#### 4.2.5.11 Ancho de la hoja (cm)

Esta variable se evaluará en dos hojas por cada planta. Se registrará en la parte media de las hojas. Escogidas al azar en la planta.

#### 4.2.5.12 Largo de hoja (cm)

Esta variable se registrará en dos hojas por cada planta. Se registrará desde la base de la hoja hasta el ápice de hoja.

#### 4.2.5.13 Número de macollos

Se registrarán en dos plantas por parcela útil, se contabilizará.

#### 4.2.5.14 Rendimiento

Se evaluará el rendimiento considerando el estado fisiológico de las variedades de pastos. El intervalo de aprovechamientos estará comprendido entre los 30 a los 45 días (León *et al.*, 2018); por lo que, se realizará mínimo 8 cortes para la evaluación. Empleando una motoguadaña, se cortará el pasto de cada una de las parcelas de las parcelas dejando una reserva de 5cm desde el suelo, para posteriormente pesar todo el pasto cortado y expresarlo en kilogramos de materia verde por parcela y por hectárea. Para evaluar la materia seca se pesará una muestra de 500 g de pasto, la cual se colocará en una funda plástica sellada para evitar la pérdida de humedad. Se procederá a secar en una estufa con aire forzado a 100° C durante 12 horas (De La Roza *et al.*, 2012). Para estimar la materia seca se utilizará la siguiente fórmula (Silva, 2011):

Porcentaje de Materia seca= (peso seco / peso húmedo)\*100%

#### 4.2.5.15 Relación hoja tallo

Una vez tomadas las medidas anteriores se procede a separar las hojas de los tallos para pesarlos en una balanza de reloj, por separado, para obtener la relación en porcentaje. Esta variable se la tomara en 5 plantas al azar en 28 días de edad previo un corte de igualación.

#### 4.2.5.16 Peso del tallo (kg)

De las plantas obtenidas para rendimiento de materia verde, se procederá a retirar las hojas y se pesarán los tallos.

#### 4.2.5.17 Peso de hojas (kg)

De las plantas obtenidas para rendimiento de materia verde, se procederá a retirar los tallos y se pesarán las hojas.

#### 4.2.5.18 Peso de raíz (kg)

Con la finalidad de determinar el anclaje de la planta y la capacidad de absorción de nutrientes del suelo se procederá a pesar las raíces. Esta variable se la analizará en fundas plásticas

#### 4.2.5.19 Análisis de calidad nutricional

Se tomará una muestra de un kilogramo de pasto en el segundo aprovechamiento. Las muestras serán enviadas al laboratorio de Nutrición y Calidad de la EESC, donde se determinará la calidad nutricional de las especie y/o variedades de pastos mediante análisis proximal: humedad, fibra cruda, cenizas, proteína, extracto libre de nitrógeno y extracto etéreo. Además se realizará un análisis Fibra Detergente Neutra (FDN), digestibilidad in-vitro y energía metabolizable (Gonzales, 2017).

### 4.3 Manejo específico del experimento

#### 4.3.1 Análisis de suelo

Antes de instalar el experimento, se tomará una muestra representativa de suelo del lote seleccionado para el estudio. Se recolectarán 10 submuestras a una profundidad de 20 cm. Posteriormente se mezclarán las muestras y se colectará 1 kg del suelo en una funda plástica cyclop limpia, la cuál será correctamente etiquetada. Esta muestra se enviará al Departamento de Manejo Suelos y Aguas de la Estación Experimental Santa Catalina para su respectivo análisis químico (INIAP, 2011).

#### 4.3.2 Preparación del suelo

Para la preparación del suelo se iniciará aplicando herbicida (Glifosato 2 L ha<sup>-1</sup>) en el lote seleccionado de la UAIP, con el propósito de controlar efectivamente posibles contaminaciones con otras especies. Después de 3 semanas se procederá con una labor de arado a una profundidad no mayor de 20 centímetros. Una vez que el material vegetal se haya descompuesto, se pasará una rastra de discos y dependiendo del terreno se realizará uno o dos cruces para que el suelo quede bien mullido y suelto (Rodríguez *et al.*, 2013.)

#### 4.3.3. Siembra

En cada unidad experimental, se sembrará las semillas de pastos, dispersando uniformemente las semillas al voleo en forma manual por cada parcela, finalmente se tapará las semillas utilizando un rastrillo, lo que facilita que las semillas queden a 1.5-2.0 cm del suelo para proteger del sol y las lluvias abundantes (Rodríguez *et al.*, 2013).



#### 4.3.4. Fertilización

La fertilización edáfica de fondo, desarrollo y mantenimiento se realizará en base a la recomendación básica de nutrientes que demanda el cultivo en base a un análisis de suelos.

#### 4.3.5. Corte o aprovechamiento

El primer corte se realizará aproximadamente a los 70 días después de la siembra, los otros cortes, se realizarán dependiendo de la especie en base a los factores fenológicos que tarda cada planta en estar lista para su nuevo aprovechamiento. Se realizará en promedio 4 cortes.

Los indicadores fenológicos que muestran que las plantas están listas para ser aprovechadas son: Para las especies anuales cuando empiecen a aparecer las primeras inflorescencias y en el caso de especies perennes las plantas deben poseer tres hojas por macollo (Rodríguez *et al.*, 2018). Para el pasto azul cuando tenga 4 hojas verdaderas estados en el que la composición de nutrientes es muy elevada y la digestibilidad es muy alta (León *et al.*, 2018).

### 5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Se establecerá un cronograma en base al ciclo del cultivo a evaluarse, considerando los puntos mencionados en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Cronograma de actividades.

Actividades	MESES													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1. Elaboración del perfil específico para el material a evaluarse	X													
2. Análisis de las semillas		X												
3. Muestreo del suelo		X												
4. Preparación del suelo		X												
5. Siembra		X												
6. Fertilización		X			X			X			X			
7. Cortes				X	X	X	X	X	X	X	X			
9. Evaluación				X	X	X	X	X	X	X	X			
9.Toma de muestras para el análisis requeridos							X				X			
10. Análisis de resultados					X	X	X	X	X	X	X	X		
11.Redacción del Informe final												X	X	
12.Presentación del informe final														X

Estas actividades se realizan cuando INIAP ejecute en su totalidad los ensayos de validación de cultivares. Sin embargo, cuando el interesado opte por la modalidad de supervisión, el equipo técnico definirá en el protocolo específico el número de visitas obligatorias que INIAP deberá realizar a los ensayos a fin de constatar los parámetros solicitados para los ensayos de validación.

## 6. PRESUPUESTO DEL ENSAYO

Se elaborará un presupuesto con base a los insumos requeridos para la implementación y manejo del experimento, número de visitas, ciclos de evaluación y localidades a evaluarse.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

De la Roza, B., Martínez, A y Argamentería, G. (2012). Determinación de materia seca en pastos y forrajes a partir de la temperatura de secado para análisis. p.19

Gonzales, K. (2017). Pastos y forrajes. Valor nutricional. p. 2-3.

Gilliland, T; Gensollen V. 2010. Review of the protocols used for assessment of DUS and VCU in Europe – Perspectives. En: Huyghe C. [Ed.]. Sustainable use of genetic diversity in forage and turf breeding. Heidelberg: Springer. pp. 261 - 275.

Guacapiña, A. (2014). Evaluación del comportamiento agronómico y nutricional de 65 variedades de pastos de la sierra. Tesis previa para la obtención del título de Ingeniero Agropecuario. IASA I. ESPE. p. 55- 87.

Hidalgo, E. (2010) "Proyecto de factibilidad para la importación y comercialización de semillas de pasto para la empresa H.Agrosef s.a. que efectúa sus actividades comerciales en las provincias de carchi, pichincha y Cotopaxi. Universidad Tecnológica Equinoccial. Facultad de Ciencias Económicas y Negocios, Quito, Ecuador.

INEC-ESPAC. (2019). Visualizador de estadísticas y censos. Informe Ejecutivo.

INGENIOS (Obtenciones Vegetales). 2017. El Derecho de Obtentor, su proceso de solicitud es un beneficio justo para el sector agrícola del país. Boletín 005. Quito, Ecuador. <https://www.propiedadintelectual.gob.ec/el-derecho-de-obtentor-su-proceso-de-solicitud-es-un-beneficio-justo-para-el-sector-agricola-del-pais/>

INIAP. (2011). Tríptico para la toma de muestras para análisis de suelos, laboratorio de suelos. Estación Experimental Central de la Amazonía. Centro de Investigaciones y Capacitación. p.1-2

Medina, C. (2009). Evaluación morfológica y nutricional de cinco variedades de rye grass bianual en lugares representativos de las zonas ganaderas de leche en las provincias de Cotopaxi, Tungurahua y Cotopaxi. p. 66-69.

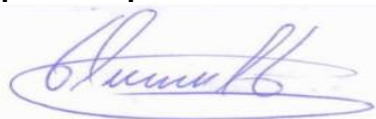
- Mier, V. (2011). Determinación del comportamiento agronómico del pasto, variedad Rye grass anual, bajo las condiciones climáticas y de suelo del lugar de siembra. Recuperado de <http://www.repositorio.utb.edu.ec:8080/.../>. (Enero 2020).
- León, R., Bonifaz, N. y Gutiérrez F. (2018). Pastos y Forrajes del Ecuador. Siembra y producción de pasturas. 1era Edición. Editorial Universitaria Abya-Yala Quito, Ecuador.
- Ramírez, M; Carballo A; Santacruz, A; Conde, V; Espitia, E; González, F. 2010. Distinción, homogeneidad y estabilidad mediante caracterización morfológica en variedades de amaranto. Rev. Mex. Cienc. Agríc vol.1 no.3. p. 335-349.
- Rodríguez, L., Clavijo F., Llanagrá, P. y Godoy A. (2013). Manejo de pastos para pequeños y medianos productores en la sierra centro del Ecuador. Programa Nacional de Ganadería. Quito, Ecuador.
- Salvatore, M., Pozzi, F., Ataman, E., Huddleston, B. y Bloise, M. 2005. Mapping global urban and rural population distributions. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- Silva, N. 2011. ¿Cómo medir la materia seca de los forrajes ensilados? Tulare, California.
- Torres, María de Lourdes (2010). Agrobiodiversidad y Biotecnología. Rev. *Polémika*. Vol 2 No 5. USFQ, Quito, Ecuador. p 130-139.
- Zambrano, J; Barrera, V; Murillo, I; Domínguez, J. 2018. Plan Estratégico de Investigación y Desarrollo Tecnológico del INIAP 2018 – 2022. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. INIAP, Quito, Ecuador.

**Elaborado por:**

Ing. Antonio Guacapiña  
Aspirante a Investigador 2

**Revisado por:**

Ing. Doris Tixe  
Directora de Producción y Servicios (E)

**Aprobado por:**

Ing. William Viera  
Director de Gestión del Conocimiento Científico (E)