

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGÍA



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ROCA FOSFÓRICA Y ALFALFA EN LA MEJORA DE LA CALIDAD QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE BIOL Y BIOGAS

PRESENTADO POR :

Bach. AZAÑA COLCHADO, TANY YALÚ

Bach. SÁNCHEZ RAMOS, ANA LUISA

ASESOR:

Blgo. Mblgo. VILLANUEVA CARLOS, JOSÉ MANUEL

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA

NUEVO CHIMBOTE – 2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGÍA



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ROCA FOSFÓRICA Y ALFALFA EN LA MEJORA DE
LA CALIDAD QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE BIOL Y BIOGAS

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOTECNOLÓGÍA

V° B° DEL ASESOR

A handwritten signature in blue ink, which appears to read 'José Manuel Villanueva Carlos', is written over a horizontal line.

Blgo. Mblgo. Villanueva Carlos, José Manuel

NUEVO CHIMBOTE – 2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGÍA



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ROCA FOSFÓRICA Y ALFALFA EN LA MEJORA DE
LA CALIDAD QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE BIOL Y BIOGAS

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOTECNOLOGÍA

Msc. Ángel Pablo Castro Alvarado
Presidente

Dr. Roberto Jhalver Vega Paulino

Integrante

Blgo. Mblgo. Villanueva Carlos, José Manuel

Integrante

NUEVO CHIMBOTE – 2019

ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en el Laboratorio 3er piso de la facultad de ciencias, siendo las 12:00 horas del día 25 Noviembre del 2014, dando cumplimiento a la Resolución N° 200-2014-UNS-FC se reunió el Jurado Evaluador presidido por M.Sc. Angel Castro Alvarado, teniendo como miembros a Blyo Mblgo José Villaverde (secretario) (a), y Dr. Roberto Vega Paulino (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de LICENCIADO EN BIOTECNOLOGIA realizado por el, (la), (los) tesista (as) Tary Azara Colchudo Arce Sanchez Ramos

....., quien (es) sustentó (aron) la tesis intitulada: Efecto de la Adición de Roca fosforica y alfalfa en la calidad química y microbiológica del Bld y Biogas.

Terminada la sustentación, el (la), (los) tesista (as)s respondió (ieron) a las preguntas formuladas por los miembros del jurado.

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como MUY BUENO asignándole un calificativo de Diez y siete (17) puntos, según artículo 103° del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional del Santa, vigente (Resolución N° 492-2017-CU -R-UNS)

Siendo las 13:00 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad

Nombre: M.Sc. Angel Castro Alvarado
Presidente

Nombre: Blyo Mblgo José Villaverde
Secretario

Nombre: Dr. Roberto Vega Paulino
Integrante

Distribución: Integrantes J.E (), tesistas () y archivo (02).





Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Tany Yalu AZAÑA COLCHADO
Título del ejercicio: PREGRADO - BIOLOGIA
Título de la entrega: EFECTO DE LA ADICIÓN DE ROCA..
Nombre del archivo: fa_en_la_calidad_qu_mica_y_micro..
Tamaño del archivo: 10.63M
Total páginas: 84
Total de palabras: 18,968
Total de caracteres: 99,860
Fecha de entrega: 05-dic-2019 11:47a.m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega: 1227802009



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar dar gracias a Dios, por darme la fuerza, la sabiduría, por ser mi proveedor, mi guardador y por abrir cada puerta de bendición a mi favor; porque sin Él nada es posible, todo es por ÉL y para ÉL, su misericordia me ha sostenido y con gozo puedo decir “EBEN-EZER” porque hasta aquí me ayudó Jehová.

A mi madre Maritza Ramos, por inculcarme valores y principios, por sus consejos, por confiar en mí, por su paciencia y todo su apoyo incondicional. Por ser el soporte de nuestra familia, aquella mujer de fe, fuerte y valiente que supo levantarse una y otra vez y no darse por vencida.

A mi hermana Angélica, mi cómplice, mi segunda mamá, por todo su apoyo y cariño hacia Sofía y hacia mí, por ser la que me anima y motiva a seguir a pesar de los obstáculos. Por ser aquella mujer luchadora que ha logrado salir adelante a pesar de las dificultades, siempre con una sonrisa.

A cada uno de los profesores que ha sido parte de mi formación académica, sobre todo a aquellos que me motivaron a sacar lo mejor de mí, aquellos que no sólo fueron docentes sino también amigos y consejeros.

A cada una de las personas que me brindaron su apoyo y amistad incondicional pese a cualquier circunstancia, cuentan conmigo siempre.

Ana Luisa Sánchez Ramos

Agradezco a Dios por brindarme salud, por guiarme los pasos, por la sabiduría y por la fortaleza diaria para seguir en la lucha de esta carrera.

Doy gracias a mi madre Orfelinda Colchado Bolaños por su cariño, comprensión y sus sabios consejos, por ser la persona más luchadora y no amilanarse ante nada; a mi Padre Marcelo Azaña Herrera por su apoyo incondicional durante toda la carrera. A mis Hermanas Janeth Rodríguez Colchado por ser mi segunda madre y mi guía, Leyla Azaña Colchado por convertirse al ejemplo a seguir y a cada uno de mis familiares que se involucraron para la realización de este proyecto de investigación.

A la empresa SEDIR, por la oportunidad de realizar el presente trabajo en sus instalaciones y ser partícipes de su equipo de trabajo durante dos años.

Al profesor José Manuel Villanueva Carlos, por toda su paciencia, su cariño y por los conocimientos inculcados en el transcurso de la elaboración de la tesis.

A mi gran amiga María Teresa Pérez Montes por todo su apoyo durante la realización del presente trabajo, por su amistad incondicional durante todos estos años.

A todas y cada una de las personas que en algún momento me tendieron la mano para llevar a cabo cada una de las fases del proyecto.

Tany Yalú Azaña Colchado

DEDICATORIA

A mi madre, Maritza Ramos
Y a mi hermana, Angélica
Por su comprensión y todo
El apoyo que me han brindado
En todos estos años académicos.
Por ser mi soporte y mi guía.
A mi papito Demetrio.

A mi hija, Sofia Shaiel
Mi hermosa, mi princesa,
Mi vida y mi corazón,
Por ser el mayor motivo para
Salir adelante cada día.
Y por recibirme siempre
Con un fuerte abrazo y su
Hermosa sonrisa al llegar a casa.

A todas aquellas personas
Que permanecieron a mi lado,
En buenos y sobretodo malos
momentos.

Ana Luisa Sánchez Ramos

A mis padres Orfelinda y Marcelo, a mis Hermanas Janeth y Leyla por todo el apoyo, amor, confianza y el respaldo durante cada uno de mis pasos.

A todas las personas que han contribuido en mi formación profesional y han sido parte importante para cumplir cada una de mis metas.

Tany Yalú Azaña Colchado

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	vi
DEDICATORIA.....	viii
RESUMEN.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	6
2.1. Objetivo general.....	6
2.2. Objetivos específicos.....	6
III. HIPÓTESIS.....	6
IV. MARCO TEORICO.....	7
4.1. BIODIGESTORES USADOS EN EL PROCESO FERMENTATIVO.....	7
4.1.1. Biodigestor continuo.....	7
4.2. PROCESO ANAERÓBICO DE DESCOMPOSICIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA.....	7
4.2.1. Biogás.....	8
4.2.2. El biol.....	8
4.3. LA DIGESTIÓN ANAERÓBICA Y SUS ETAPAS.....	8
4.3.1. Hidrólisis.....	9
4.3.2. Etapa acidogénica.....	10
4.3.3. Etapa acetogénica.....	10
4.3.4. Etapa metanogénica.....	10
4.4. FACTORES A CONSIDERAR EN EL PROCESO DIGESTIÓN.....	11
4.4.1. Materia prima.....	11
4.4.2. Temperatura.....	11
4.4.3. pH.....	11
4.5. MATERIA ORGÁNICA USADA EN EL PROCESO FERMENTATIVO.....	12
4.5.1. Estiércol vacuno.....	12
4.5.2. Roca fosfórica.....	12
4.5.3. Alfalfa.....	12
4.6. EL BIOL Y LOS BENEFICIOS DE SU UTILIZACIÓN.....	13

4.7. BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL.....	14
4.7.1. Fijación de nitrógeno	15
4.5. 2. Solubilización de fósforo	15
V. MATERIALES Y MÉTODOS	16
5.1. LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO	16
5.2. CARACTERÍSTICAS Y CONSTRUCCIÓN DE BIODIGESTORES.....	16
5.3. PREPARACIÓN Y ADAPTACION DE LA MATERIA ORGÁNICA.....	17
5.4. MONITOREO DE PARÁMETROS DURANTE LA FERMENTACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA.....	19
5.4.1. Tiempo de retención	19
5.4.2. Medición de pH	19
5.5. ALMACENAMIENTO DEL BIOGÁS TOTAL.....	20
5.5.1. Cuantificación de Biogás total.....	21
5.6. DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD QUÍMICA EN MUESTRAS DE BIOL.....	22
5.6.1. Determinación del contenido de fósforo	22
5.6.2. Determinación del contenido de nitrógeno total.....	22
5.6.3. Determinación del contenido de potasio.....	23
5.7. PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA EN MUESTRAS DE BIOL	24
5.7.1. Siembra y aislamiento de bacterias	24
5.7.1.1. Aislamiento de enterobacterias.....	24
5.8. DETERMINACIÓN DE LA MICROBIOTA ASOCIADA AL BIOL.....	24
5.8.1.1. Tinción Gram	25
5.8.1.2. Catalasa	26
5.8.2. PRUEBAS BIOQUÍMICAS	26
5.8.2.1. TSI (hierro-triple azúcar).....	26
5.8.2.2. LIA (agar lisina hierro).....	27
5.8.2.3. Citrato Simmons.....	27
5.8.3. CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS COMO PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL.....	27
5.8.3.1. Capacidad de solubilización de fosfato	28
5.8.3.2. Capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico.....	29
5.9. PRUEBA DE EFICIENCIA NUTRICIONAL DE BIOL.....	29

5.9.1. Evaluaciones biométricas en el cultivo de rabanito	29
VI. RESULTADOS.....	30
6.1. MEDICIÓN DEL pH	30
6.2. MONITOREO DEL COMPORTAMIENTO DE LA TEMPERATURA.....	31
6.3. CUANTIFICACIÓN DE BIOGÁS TOTAL.....	33
6.4. DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD QUÍMICA (NPK) EN MUESTRAS DE BIOL .	34
6.4.1. Determinación de nitrógeno total.....	34
6.4.2. Determinación de fósforo	35
6.4.3. Determinación de potasio.....	36
6.5. IDENTIFICACIÓN DE LA MICROBIOTA ASOCIADA A LAS MUESTRAS DE BIOL	37
6.5.1. Características morfológicas bacterianas y tinción Gram	37
6.5.2. Pruebas bioquímicas	38
6.5.3. Fijación de nitrógeno	39
6.5.4. Solubilización de fosfato.....	40
6.6. PRUEBAS BIOMÉTRICAS EN EL CULTIVO DE RABANITO	41
VII. DISCUSIÓN	43
VIII. CONCLUSIONES.....	48
ANEXO 1: PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FÓSFORO	54
ANEXO 2: PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE NITRÓGENO.....	56
ANEXO 3: DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE POTASIO	57
ANEXO 4. MEDIDAS DE pH.....	58
ANEXO 5. MEDIDA DE PERÍMETRO Y DIÁMETRO DE CÁMARA DE LLANTAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE BIOGÁS.....	59
ANEXO 6. DATOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE POTASIO	61
ANEXO 7. DATOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FÓSFORO	62
ANEXO 8. CUANTIFICACIÓN DE NITRÓGENO	63
ANEXO 9. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE SOLUBILIZACIÓN DE FÓSFORO BICÁLCICO Y TRICÁLCICO.....	64
ANEXO 10. ANALISIS ESTADÍSTICO	66

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Función de los nutrientes en el crecimiento y desarrollo de las plantas	13
Tabla 2. Distribución de la concentración de materia orgánica en los biodigestores según tratamiento, la tabla muestra la proporción de materia orgánica y sustratos usados durante la fermentación.	18
Tabla 3. Caracterización del contenido de Nitrógeno, fósforo y potasio en los sustratos usados como materia prima en la fermentación.....	18
Tabla 4. Contenido de nitrógeno total inicial y final en muestras de biol, la concentración de nitrógeno se expresa en porcentajes en la muestra control: desechos frutas + estiércol vacuno, T1: desechos frutas + estiércol vacuno+ alfalfa, T2: desechos frutas + estiércol vacuno+ roca fosfórica y T3: desechos frutas + estiércol vacuno + alfalfa + roca fosfórica.	34
Tabla 5. Concentración de fósforo inicial y final en muestras de biol, la concentración de fósforo se expresa en mg/L en la muestra control: desechos frutas + estiércol vacuno, T1: desechos frutas + estiércol vacuno+ alfalfa, T2: desechos frutas + estiércol vacuno+ roca fosfórica y T3: desechos frutas + estiércol vacuno + alfalfa + roca fosfórica.	35
Tabla 6. Concentración de potasio inicial y final en muestras de biol, la concentración de potasio se expresa en mg/L en la muestra control: desechos frutas + estiércol vacuno, T1: desechos frutas + estiércol vacuno+ alfalfa, T2: desechos frutas + estiércol vacuno+ roca fosfórica y T3: desechos frutas + estiércol vacuno + alfalfa + roca fosfórica.	36
Tabla 7. Características morfológicas de colinas bacterias aisladas a partir de las muestras de biol de la muestra control y los tratamientos; donde C-01: control - número de bacteria aislada, T1-01: Tratamiento 1 – número de bacteria asilada, T2-01: Tratamiento 2- número de bacteria aislada, T3-01: Tratamiento 3 – número de bacteria aislada.	37
Tabla 8. Resumen de respuesta a pruebas bioquímicas realizadas a las muestras de biol; se muestran las fueron codificadas teniendo en cuenta: tipo de tratamiento, número de colonia por tratamiento, B: Blanco, RF: roca fosfórica, RA: roca fosfórica + alfalfa y A: Alfalfa.	38
Tabla 9. Solubilización de fosfato en medio bicálcio y tricálcico de bacterias obtenidas a partir de muestras de biol, la tabla muestra las solubilización de fosfato bicálcico para las	

muestras T2 -02, T3 -01 y T3-03 correspondientes a la fermentación del tratamiento T2 y T3 respectivamente 40

Tabla 10. Diluciones a partir de la solución patrón para la construcción de la curva de calibración de fósforo..... 54

Tabla 11. Concentración de diluciones en ml para la lectura de la curva de calibración de potasio..... 57

Tabla 12. Cuantificación de biogás producido en L durante la primera repetición, la tabla muestra el cálculo del volumen producido por cada tratamiento..... 58

Tabla 13. Cuantificación de biogás producido en L durante la segunda repetición, la tabla muestra el cálculo del volumen producido por cada tratamiento 58

Tabla 14. Cuantificación de biogás producido en L durante la primera repetición, la tabla muestra el cálculo del volumen producido por cada tratamiento 58

Tabla 15. Análisis descriptivo de los datos obtenidos de la cuantificación de nitrógeno por el método de kejhdal, con intervalo de confianza de 95%..... 59

Tabla 16. Prueba de homogeneidad de varianzas, en datos de determinación de nitrógeno..... 59

Tabla 17. ANOVA aplicada a los datos de la cuantificación de nitrógeno en muestras de Biol 60

Tabla 18. Prueba de homogeneidad de varianzas, en datos de determinación de potasio 61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de descomposición y transformación de la materia orgánica, durante la fermentación anaeróbica.	9
Figura 2. Proceso de Fijación de nutrientes en las plantas, por acción de bacterias con capacidades PGPR.	14
Figura 3. Proceso de solubilización de fósforo en presencia de microorganismos (bacterias).....	15
Figura 4. Estructura final de biodigestores usados en la fermentación en el que se muestra: A. Llave de muestreo y control de pH de la fracción líquida durante la fermentación y B. Sistema de control de salida y almacenamiento de Biogás.	17
Figura 5. Producción de biogás durante la fermentación y su almacenamiento en cámaras de llantas colocados sobre los biodigestores, en la figura se observa los conductos de control para la salida de biogás.	20
Figura 6. Crecimiento bacteriano en agar común como medio de cultivo, usando la técnica de goteo para la visualización del crecimiento por colonia y la determinación de características morfológicas.....	25
Figura 7. Proceso de identificación y visualización microscópica de colonias bacterianas mediante tinción Gram.....	26
Figura 8. Evaluación de capacidad de solubilización de fosfato en bacterias provenientes de muestras de biol, A. Solubilización en medio NBrip bicálcico, B. Medio NBrip Tricálcico.	28
Figura 9. Comportamiento del pH obtenido del biol, durante los 90 días de fermentación por cada tratamiento; Control: desechos frutales + estiércol vacuno, T1: desechos frutales + estiércol vacuno + alfalfa, T2: desechos frutales + estiércol vacuno + roca fosfórica y T3: desechos frutales + estiércol vacuno + roca fosfórica + alfalfa.....	30
Figura 10. Comportamiento de la oscilan de temperatura expresada en °C, durante los meses de abril a junio del 2016 correspondientes a la primera corrida del proceso fermentativo en los biodigestores, las temperaturas varían entre 19°C a 22°C tal como se observa en la gráfica.....	31
Figura 11. Comportamiento de la oscilación de la temperatura expresada en °C, durante los meses de julio a septiembre del 2016 correspondientes a la segunda corrida del proceso fermentativo en los biodigestores, las temperaturas varían entre 18°C a 22°C tal como se observa en la gráfica.	32

Figura 12. Comportamiento de la oscilación de la temperatura expresada en °C, durante los meses de octubre a diciembre del 2016 correspondientes a la tercera corrida del proceso fermentativo en los biodigestores, las temperaturas varían entre 16°C a 21°C tal como se observa en la gráfica.	32
Figura 13. Comparación gráfica del volumen promedio de biogás en cm ³ , producido en cada tratamiento; Control: desechos frutales + estiércol vacuno, T1: desechos frutales + estiércol vacuno + alfalfa, T2: desechos frutales + estiércol vacuno + roca fosfórica y T3: desechos frutales + estiércol vacuno + roca fosfórica + alfalfa; durante el proceso de fermentación de la materia orgánica.	33
Figura 14. Prueba cualitativa de fijación de nitrógeno, A. viraje amarillo en las muestras T2-01, T3-01, B. viraje amarillo y formación de colonias blanquecinas en las muestras C - 01, T1-01, y T3-02 y C. Viraje amarillo en las C -01, T1-01, y T3-02 durante la segunda prueba de fijación de nitrógeno.	39
Figura 15. Medida de altura de plantas de rabinos expresadas en cm, la gráfica muestra el crecimiento de plantas respecto a la fertilización con biol, obtenido a partir de todos los tratamientos realizados.	41
Figura 16. Medida de crecimiento de hojas en plantas de rabinos expresadas en cm, la gráfica muestra el crecimiento de plantas respecto a la fertilización con biol, obteniendo mayor desarrollo foliar en las plántulas fertilizadas con el biol producto del tratamiento 3 (T3), seguida del T1, T2 y el control.	42
Figura 17. Medida del diámetro de frutos de rabanito, la gráfica muestra el crecimiento de plantas respecto a la fertilización con biol, obteniendo mayor desarrollo de fruto en el tratamiento T3, seguido del T1, T2 y el control.	42

RESUMEN

Con el fin de aumentar los niveles de biodisponibilidad de nutrientes elementales como el nitrógeno, fósforo y potasio involucrados en el desarrollo y crecimiento de las plantas; se implementaron biodigestores de modalidad por lote para la digestión de la materia orgánica compuesta por: cáscaras de frutas, estiércol vacuno, roca fosfórica y alfalfa y su posterior conversión a fertilizantes de tipo foliar. Dichos fertilizantes fueron analizados bioquímicamente obteniendo concentraciones de nitrógeno total de 5.36 %, concentraciones de fósforo de 0.63 mg/L y concentraciones de potasio 5.32 mg/L que representan a los mayores valores registrados en el Tratamiento T3, respecto a los tratamientos T1 y T2. Así mismo, se identificó la microbiota asociada al biol dando como resultados 5 bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR), por presentar capacidad de fijación de nitrógeno y solubilización de fósforo siendo la bacteria T3 -02 la que registró ambas capacidades. Finalmente se determinó la eficiencia del biol en plantas de rabanito a través de evaluaciones biométricas, obteniendo los mejores resultados en plantas fertilizadas con biol procedente del Tratamiento T3, determinándose: longitud de planta de 20.33 cm, hojas con 13.13 cm de medida y diámetro de fruto de 5.73 cm; convirtiéndolo en el tratamiento con mejores características agronómicas.

Palabras claves: nitrógeno, fósforo, potasio, bacterias PGPR, evaluaciones biométricas.

ABSTRACT

In order to increase the bioavailability levels of elementary nutrients such as nitrogen, phosphorus and potassium involved in the development and growth of plants; Batch mode biodigesters were implemented for the digestion of organic matter composed of: fruit peels, cattle manure, phosphoric rock and alfalfa and their subsequent conversion to foliar type fertilizers. These fertilizers were analyzed biochemically obtaining total nitrogen concentrations of 5.36%, phosphorus concentrations of 0.63 mg / L and potassium concentrations 5.32 mg / L representing the highest values recorded in Treatment T3, with respect to treatments T1 and T2. Likewise, the microbiota present in the biol was identified, resulting in 5 plant growth promoting bacteria (PGPR), for presenting nitrogen fixation and phosphorus solubilization capacity, with the T3 -02 bacterium being the one that registered both capacities. Finally, the efficiency of the biol in radish plants was determined through biometric evaluations, obtaining better results fertilized plants with biol from the T3 Treatment, determining: plant length of 20.33 cm, leaves with 13.13 cm of measure and diameter of fruit of 5.73 cm; making it the treatment with better agronomic characteristics.

Keywords: nitrogen, phosphorus, potassium, PGPR bacteria, biometric evaluations.

I. INTRODUCCIÓN

El avance en la agricultura y el uso de fertilizantes sintéticos juegan un papel importante en el aumento de la fertilidad del suelo y la productividad de los cultivos (Ning et al., 2017). Sin embargo, el uso excesivo de dichos fertilizantes ha contribuido a reducir el contenido de materia orgánica de los suelos, con la consecuente disminución de la calidad agrícola y por ende la contaminación de las aguas subterráneas que producen riesgos para la salud y causan alteración en el medio ambiente (Dinesh et al., 2010). En la actualidad, existe un requisito cada vez mayor para que la producción agrícola no solo satisfaga altos estándares de calidad, sino también para su producción a través de prácticas ambientalmente racionales (Ning et al., 2017)

A ello se suma, la excesiva producción de residuos sólidos generado en los últimos años, que aproximadamente se traducen en 1600 millones de toneladas por año, generando graves problemas por el deterioro progresivo del medio ambiente y la economía debido a los costos de recolección, transporte y disposición final que son cada vez mayores (Sierra & Barrios, 2013). Por esta razón, la necesidad de reusar los recursos y materias secundarias provenientes de los diversos procesos debido al potencial que posee, con la finalidad de atender la demanda de energía y satisfacer así el aumento de necesidades de la población y expansión sin límites de las actividades industriales y agrícolas en todo el mundo (Al-Rousan & Zyadin, 2014)

La principal forma de reciclar los residuos sólidos es la producción agrícola orgánica, constituido por la reutilización de los residuos de origen vegetal y animal en la elaboración de compost y producción de humus de lombriz (Hermann et al., 2011). En ambas actividades, a partir de materiales de desecho se obtienen enmiendas que al ser aplicadas al suelo permiten elevar integralmente su calidad; tanto la disponibilidad de nutrientes para las plantas, como también la estructura del suelo y su actividad biológica (Charles & Alonso, 2015). Estudios previos han indicado que la aplicación de fertilizantes orgánicos cumple con los requisitos de la agricultura sostenible y el fertilizante

orgánico tiene ventajas aparentes sobre los fertilizantes químicos en muchos aspectos (Guo et al., 2010).

De estos procesos nace una alternativa de fertilización líquida llamada biol, que se ha desarrollado principalmente en países de América del Sur como una solución práctica y económica a los problemas agrícolas y ambientales (Winarso et al., 2016). El término biol hace referencia a un biofertilizante fermentado que estimula en las plantas la formación de raíces, crecimiento de flores, frutos y el desarrollo general de las mismas, que aplicado en pequeñas cantidades, promueve la vida de los microorganismos que mejoran la estructura del suelo y reduce las infecciones fúngicas y bacterianas (Fongaro et al., 2014).

El proceso de elaboración de biol se puede llevar a cabo en dos ambientes; aeróbico o anaeróbico, siendo este último el más recomendado por promover el crecimiento de bacterias fermentativas que convierten los compuestos orgánicos simples producidos durante el proceso de hidrólisis en productos intermedios, principalmente ácidos orgánicos volátiles que dan lugar al incremento de la acidez del medio y por ende inhiben la presencia de microorganismos que inducen la putrefacción (Marín, 2015). Por ello se hace indispensable el uso de un sistema que permita transformar en forma controlada los desechos orgánicos en productos aptos para el uso agrícola; de esta necesidad nace el uso de un biodigestor, como un contenedor hermético e impermeable, dentro del cual se deposita materia orgánica en determinada dilución con agua, que al degradarse da como producto gas metano o biogás y un subproducto líquido llamado biol (Al-Rousan & Zyadin, 2014).

Debido a que el proceso de fermentación se lleva a cabo por un consorcio de microorganismos propios de la materia orgánica usada, el proceso depende de factores como la temperatura, tiempo de retención, pH, contenido de sólidos y contenido de sustancias tóxicas para su éxito (Rivas-Solano et al., 2011); puesto que, la materia orgánica es descompuesta por acción de bacterias acidogénicas que hidrolizan los polímeros y las convierten en ácidos orgánicos solubles; luego las bacterias acetogénicas causan una metabolización de los ácidos orgánicos en acetatos dihidrógenos y carbodióxidos; finalmente bacterias metanogénica convierten en metano las proteínas, hidratos de

carbono y grasas, en la última fase el material de fermentación se vuelve más líquido (Rojas, 2014)

De este proceso anaeróbico, surge el biogás como producto de la fermentación de la materia orgánica, que es representado por el 50-70% de metano (CH_4), 30-40% de anhídrido carbónico (CO_2), 5% de hidrógeno (H_2), 5% de ácido sulfhídrico (H_2S) en su composición (Villanueva et al., 2011). Convirtiéndose en una alternativa prometedora para la sustitución de combustibles fósiles por la disponibilidad energética descentralizada, puesto que su producción de origen renovable disminuye la emisión de gases de efecto invernadero provenientes de la descomposición de desechos orgánicos (Sierra & Barrios, 2013). Por otro lado, debido a los bajos costo de producción, el biogás puede ser usado en cocinas, generación de electricidad e incluso en el funcionamiento de vehículos de tipo diésel (Al-Rousan & Zyadin, 2014).

La obtención de biol y biogás en un biodigestor está determinada por el tipo de materia orgánica o sustrato usado durante la fermentación, ya que la calidad del sustrato influye en forma directa en la calidad del biofertilizante final, por lo que es importante tener en cuenta la cantidad de grasas, proteínas, hidratos de carbono y nutrientes que la materia orgánica posea (Feiz & Ammenberg, 2017). Esto debido a que en el interior del biodigestor se encuentran bacterias que requieren de todos los nutrientes y grasas para el inicio de su crecimiento y desarrollo, con el fin de degradar la mayor materia orgánica posible y obtener una alta producción de biogás, así como biofertilizante rico en contenido de nutrientes como: nitrógeno, fósforo y potasio (Rojas, 2014). Este último responsable del desarrollo de las plantas y del aumento de las propiedades físico-químicas del suelo (Ning et al., 2017)

Por otro lado, el proceso de fermentación en biodigestores está mediado por el uso de excretas de origen animal lo que trae consigo la presencia de bacterias patógenas durante la fermentación, por ello se hace vital conocer la calidad microbiológica de los mismos, puesto que determina la calidad sanitaria del producto y su aptitud para los distintos usos (Owamah et al., 2014). El grupo de bacterias coliformes fecales es el principal indicador de calidad en biofertilizantes, su número en una muestra se usa como criterio de

contaminación y por lo tanto de calidad sanitaria de la misma (Rivas-Solano et al., 2011). Frente a lo cual es importante mantener la hermeticidad en el proceso de fermentación debido a que la falta de oxígeno y las elevadas temperaturas creadas en el ambiente, disminuyen la supervivencia y proliferación de microorganismos patógenos (Hermann et al., 2011)

En Jordania existen cantidades considerables de residuos biológicos de diversos sectores que son transformados en gas, generando alrededor de 1,22 millones de m³ de biogás por día, con una generación total de energía potencial de 275 MWth. Hasta ahora, solo se desarrollaron dos proyectos de biogás a gran escala: la Jordan Biogas Company que simplemente cosecha biogás del vertedero abandonado en combinación con otra unidad de biogás que utiliza los desechos municipales de los mataderos, mercado central de frutas y verduras, productos líquidos de levadura, productos lácteos y fábricas de alimentos para animales (Al-Rousan & Zyadin, 2014).

Estudios de cultivos en Costa Rica demostraron el mejoramiento de las propiedades químicas de los suelos producto de la aplicación de los abonos orgánicos, principalmente biofertilizantes de tipo foliar como el biol, aplicado a cultivos de mora dulce, favoreciendo su rendimiento. Los abonos orgánicos aplicados, incrementaron el pH y el porcentaje de microorganismos, contribuyendo con la disponibilidad de Ca, Mg, K, N y P; el biogás obtenido fue usado como fuente de energía lumínica y de uso directo en cocinas (Fenech, 2009).

En Brasil, la preocupación por el desarrollo de mecanismos limpios ha fomentado la investigación de actividades agroindustriales sostenibles; mediante el uso de biodigestores anaeróbicos para el manejo del estiércol porcino que permite la producción y almacenamiento de biogás, así como la reutilización de los efluentes finales; sin embargo, la reutilización segura depende directamente de parámetros de seguridad tales como la presencia de patógenos involucrados en enfermedades, como los niveles altos de población bacteriana (Fongaro et al., 2014).

Mientras que en Ambato, Ecuador se elaboró biol a base de estiércol de codorniz que fue enriquecido con alfalfa, además de melaza, humus, levadura, ceniza de leña y harina de pescado buscando aumentar los niveles fósforo y nitrógeno presentes en el producto final, con la finalidad de evaluar los factores que influyen en la degradación de la materia orgánica y su posterior acumulación de nutrientes indispensables para el desarrollo de los cultivos, a su vez aprovechar de la mejor manera el estiércol producido en los galpones de crianza de codornices de las provincia de Tungurahua (Ortiz & Renato, 2013).

En nuestro país cada vez son más los estudios realizados con la reutilización de los desechos orgánicos, en Tacna se diseñó, construyó y evaluó el funcionamiento de un biodigestor familiar alimentándolo con estiércol fresco de ganado ovino, la evaluación se realizó durante los meses de marzo 2011 a abril 2011, donde se cuantificó la producción diaria de biol y se modificó cocinas de kerosene para comprobar la utilidad del biogás como combustible; con la finalidad de buscar la rentabilidad a través del uso de desechos orgánicos que darán como resultado el incremento de nutrientes en los suelos y la generación de energías renovables (Cuaila et al., 2012).

Por todo lo antes mencionado, se proyecta optimizar el proceso de la producción del biol, para enriquecer dicho fertilizante, a través de la adición de roca fosfórica como acondicionador de suelos para un mejor enraizamiento de las plantas, fructificación y resistencia contra las enfermedades (Escudero & Mediavilla, 2003); además de la adición de alfalfa, que al ser una leguminosa que no utiliza todo el nitrógeno que absorbe del aire retiene grandes cantidades del mismo en sus raíces, tallos y hojas, convirtiéndola en una materia orgánica ideal para elevar el contenido de nitrógeno en la producción de biol (Campillo, et al., 2003).

Por lo antes mencionado y ante la posibilidad de obtener un biofertilizante (biol) con mayor biodisponibilidad de NPK y la generación de biogás con producto aditivo a bajos costos, resulta importante realizar un estudio sobre la evaluación de la biodisponibilidad química de nutrientes e identificación de la microbiota, asociada a la producción de biol enriquecido con roca fosfórica y

alfalfa. Debido a que el uso de fertilizantes para el acondicionamiento de los suelos resulta costoso y muchas veces perjudicial para el medio ambiente; además, que no todos los sustratos de origen natural se adaptan a los tipos de suelos existentes a causa de los diferentes valores pH y conductividad que presentan.

Por tanto ¿Cuál será el efecto de la adición de roca fosfórica y alfalfa en la calidad química y microbiológica del biol y biogás?

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto de la adición de roca fosfórica y alfalfa en la calidad química y microbiológica del biol y biogás.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar la concentración de nitrógeno, fósforo y potasio en las muestras biol al iniciar y al finalizar la fermentación.
- Cuantificar la producción de biogás total generado durante la fermentación.
- Identificar la microbiota final asociada al proceso fermentativo y su función en el aprovechamiento del biol.
- Determinar el efecto del biol en el crecimiento y desarrollo de plántulas de rabanito.

III. HIPÓTESIS

Se plantea las siguientes hipótesis de investigación:

Si se adiciona alfalfa y roca fosfórica al proceso de digestión de la materia orgánica, entonces se obtendrán un biol con mayor biodisponibilidad en concentraciones de Nitrógeno, Fósforo y Potasio.

Si se obtiene un biol con mayor biodisponibilidad de nitrógeno, fósforo y potasio, entonces existirán microorganismos que solubilizan dichos nutrientes para un mejor aprovechamiento de las plantas.

IV. MARCO TEORICO

4.1. BIODIGESTORES USADOS EN EL PROCESO FERMENTATIVO

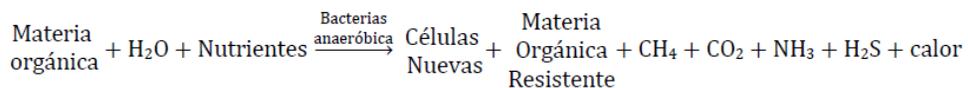
Los biodigestores son tanques herméticos construido para almacenar los residuos orgánicos durante el proceso de descomposición; estos permiten la carga de sustratos de biomasa denominados afluente y la descarga de bioabono o biol denominado efluente y poseen un sistema de recolección y almacenamiento de biogás para su aprovechamiento energético (Tamayo, 2009).

4.1.1. Biodigestor continuo

El digestor por lote, se carga una sola vez de forma total y la descarga se la hace una vez que haya dejado de producir biogás. Por lo general el sistema tipo batch consiste en tanques herméticos con una salida de gas la cual es conectada a un gasómetro flotante, donde se almacena el biogás.

4.2. PROCESO ANAERÓBICO DE DESCOMPOSICIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA

El proceso de descomposición anaeróbica de la materia orgánica, es realizado en biodigestores; siendo los principales productos del proceso de digestión anaerobia el biogás y un bioabono que consiste en un efluente estabilizado; esta materia orgánica rica en elementos minerales también conocida como biol, que puede presentarse de dos formas: líquida y sólida (Varnero 2011). Martí (2006), precisa que este efluente resultante es la mezcla del influente estabilizado y la biomasa microbiana producida.



4.2.1. Biogás

Se denomina biogás al metano que se puede extraer de estos residuos en un generador de gas o un digestor y que es usado para generar energía eléctrica o mecánica (Tamayo, 2009). Todos los desechos orgánicos pueden producir biogás, así sea en mínimas proporciones. La producción de biogás de un determinado desecho orgánico depende de la composición físico - química y especialmente de la cantidad de carbono degradable que contenga. Otros factores que influyen en la producción son las propiedades que definen a la biomasa, con la que se alimenta el biodigestor (Ortiz & Renato, 2013)

4.2.2. El biol

Es un abono orgánico líquido, resultado de la descomposición de los residuos animales y vegetales en ausencia de oxígeno (INIA, 2008). Es una fuente de fitorreguladores que se obtiene como producto del proceso de descomposición anaeróbica de los desechos orgánicos, actúa como bioestimulante orgánico y es capaz de promover el crecimiento y desarrollo de las plantas (Ortiz & Renato, 2013).

4.3. LA DIGESTIÓN ANAERÓBICA Y SUS ETAPAS

La digestión anaeróbica es un proceso muy complejo, tanto por el número de reacciones bioquímicas como por la cantidad de microorganismos involucrados a lo largo de la digestión. De hecho, muchas de estas reacciones ocurren de forma simultánea, por lo que es considerado un proceso biológico complejo y degradativo (Parra, 2015) . El proceso de digestión anaeróbica a menudo es dividido en tres etapas: hidrólisis, acidogénesis y metanogénesis; estas etapas permiten ilustrar la secuencia de eventos microbiológicos que ocurren durante el proceso de digestión y producción de metano (González et al., 2005). Sin embargo, otros autores indican que el proceso de digestión anaeróbica se realiza en cuatro, Parra (2015) indica que estudios bioquímicos y microbiológicos realizados hasta ahora, dividen el proceso de descomposición anaeróbica de la materia orgánica en: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y

metanogénesis, la Fig. 1, muestra estas reacciones bioquímicas en el proceso de digestión anaeróbica.

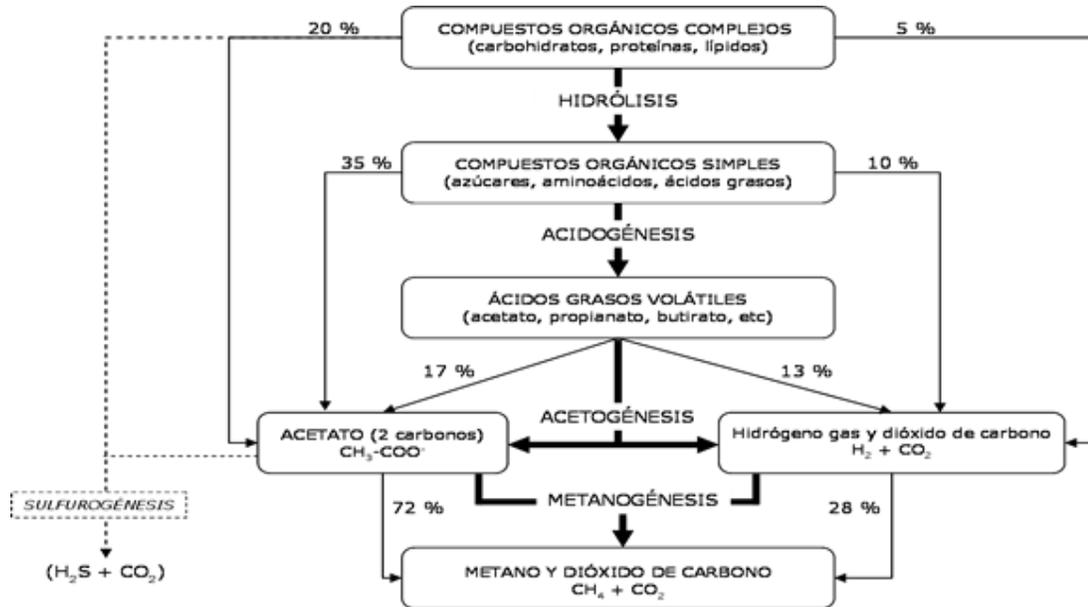


Figura 1. Proceso de descomposición y transformación de la materia orgánica, durante la fermentación anaeróbica.

4.3.1. Hidrólisis

Es la etapa inicial de la degradación anaeróbica, donde los compuestos orgánicos son solubilizados por acción de enzimas excretadas por bacterias hidrolíticas que actúan en el exterior celular (exoenzimas), haciendo posible la conversión de polímeros en monómeros (Restrero, 2011). La hidrólisis depende de la temperatura del proceso, tiempo de retención, de la composición bioquímica del sustrato, tamaño de partículas, nivel de pH, concentración de NH₄⁺ y de la concentración de los productos de la hidrólisis; convirtiéndose en la etapa limitante del proceso sobre todo cuando se tratan residuos con alto contenido de sólidos (Parra, 2015)

4.3.2. Etapa acidogénica

Durante esta etapa tiene lugar la fermentación de las moléculas orgánicas solubles en compuestos que puedan ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas (acético, fórmico, H_2) y, compuestos orgánicos más reducidos como: ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico, ácido láctico y etanol que tienen que ser oxidados por bacterias acetogénicas en la siguiente etapa del proceso. El grupo de microorganismos responsables de esta etapa se compone por bacterias facultativas y anaeróbicas obligadas, y su importancia radica en que eliminan cualquier traza del oxígeno disuelto del sistema, para su fácil uso por las bacterias de la siguiente etapa (Parra, 2015).

4.3.3. Etapa acetogénica

Durante esta etapa, mientras que algunos productos como: hidrógeno y ácido acético pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos, mientras que otros como: etanol, ácidos grasos volátiles y algunos compuestos aromáticos deben ser transformados en productos más sencillos, como acetato (CH_3COO^-) e hidrógeno (H_2), a través de las bacterias acetogénicas. A esta altura del proceso, la mayoría de las bacterias anaeróbicas han extraído todo el alimento de la biomasa y, como resultado de su metabolismo, eliminan sus propios productos de desecho de sus células, siendo estos productos el sustrato usado por las bacterias metanogénicas en la etapa siguiente (Parra, 2015).

4.3.4. Etapa metanogénica

En esta etapa metabólica, los microorganismos metanogénicos completan el proceso de digestión anaeróbica mediante la formación de metano a partir de sustratos monocarbonados o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente (González et al., 2005). Las bacterias metanogénicas activas aparecen en la segunda fase de la fermentación (fase acidogénica); sin embargo, su aumento se ve evidenciado en esta fase (Parra, 2015).

4.4. FACTORES A CONSIDERAR EN EL PROCESO DIGESTIÓN

4.4.1. Materia prima

La materia prima preferentemente utilizada para ser sometida a este tratamiento es cualquier biomasa residual que posea un alto contenido en humedad y pueden estar compuestos por residuos orgánicos de origen vegetal, animal, agroindustrial, forestal, doméstico u otros (Hermann et al., 2011). Además, las características bioquímicas de estos residuos deben permitir el desarrollo y la actividad microbiana del sistema anaeróbico. El proceso microbiológico no solo requiere de fuentes de carbono y nitrógeno, sino que también de un equilibrio en sales minerales como: azufre, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, cobalto, selenio, tungsteno, níquel y otros menores (Parra, 2015).

4.4.2. Temperatura

La temperatura es uno de los factores más importantes que afectan la actividad microbiana dentro de un digestor anaeróbico; la producción de metano depende fuertemente de la temperatura (Al-Rousan & Zyadin, 2014). Existen tres rangos de temperatura en los que pueden trabajar los microorganismos anaeróbicos: psicrófilos por debajo de 25°C, mesófilos entre 25 y 45°C y termófilos entre 45 y 65°C (Parra, 2015); sin embargo, las dos zonas óptimas son la mesófila (30-40°C) y la termófila, puesto que casi todos los biodigestores funcionan dentro de los límites de temperaturas mesofílicas y la digestión óptima se obtiene a unos 35°C. La velocidad de digestión a temperaturas superiores a 45°C es mayor que a temperaturas más bajas (Saraz et al., 2007)

4.4.3. pH

La actividad enzimática o funcionamiento del digestor está influenciado potencial de hidrógeno (pH), el pH en un digestor anaeróbico inicialmente disminuirá debido a la producción de ácidos volátiles de la materia orgánica; sin embargo, como las bacterias formadoras de metano consumen estos ácidos volátiles se alcalinizará el medio incrementado los valores de pH y luego se estabilizándolo (Moreno et al., 2012)

Por otra parte, el pH afecta a los diferentes equilibrios químicos existentes en el medio, consiguiendo desplazarlos hacia la formación de un determinado componente que tenga influencia en el proceso. Este es el caso de los equilibrios ácido-base del amoníaco y del ácido acético: al aumentar el pH se favorece la formación de amoníaco que, en elevadas concentraciones, es inhibidor del crecimiento microbiano y a pH bajos se genera mayoritariamente la forma no ionizada del ácido acético, que inhibe el mecanismo de degradación del propionato (Restrero, 2011).

4.5. MATERIA ORGÁNICA USADA EN EL PROCESO FERMENTATIVO

4.5.1. Estiércol vacuno

Tiene principalmente la función de aportar los ingredientes vivos (microorganismos), para que ocurra la fermentación de toda la materia orgánica, los microorganismos son de tipo: levaduras, hongos, protozoos, y bacterias, los cuales son los responsables de digerir, metabolizar y colocar en forma disponible para las plantas y el suelo todos los elementos nutritivos que se encuentren en el tanque de fermentación (Restrero, 2001).

4.5.2. Roca fosfórica

Es un acondicionador de suelos que se usa para todos los cultivos, de forma directa, su principal elemento el (P_2O_5) es indispensable para el buen desarrollo de las plantas, nutriéndolas y brindándole energía para el buen desarrollo masal. La roca fosfórica, contiene un fósforo de lenta liberación, lo cual favorece una constante disponibilidad de fósforo en el cultivo (Torres & De Prager, 2014).

4.5.3. Alfalfa

La utilización de la alfalfa en la producción de biol se debe a que la alfalfa fija nitrógeno al suelo a través de sus nódulos que tiene simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno; así también, provee elementos químicos medicinales y tóxicos que eliminan y controlan algunas plagas (Restrero, 2001)

4.6. EL BIOL Y LOS BENEFICIOS DE SU UTILIZACIÓN

En general, el valor del biol como fertilizante es bastante alto, debido a que contiene nutrientes en una forma fácilmente disponible. Desempeñando un papel importante como fuente de nutrientes para la producción de cultivos, ya que, en comparación con el estiércol, los nutrientes son más disponibles, lo que significa que puede tener un mayor efecto en la fertilización en un corto plazo (Agüero, 2014).

Tabla 1. Función y aporte de los nutrientes en el desarrollo y crecimiento de las plantas

Nutriente	Función
Nitrógeno (N)	Síntesis de proteínas (crecimiento y rendimiento).
Fósforo (P)	División celular y formación de estructuras energéticas.
Potasio (K)	Transporte de azúcares, control de estomas, cofactor de diversas enzimas, reduce la susceptibilidad a enfermedades de las plantas.
Calcio (Ca)	Un importante componente de la pared celular, reduce la susceptibilidad a las enfermedades
Azufre (S)	Síntesis de los aminoácidos esenciales cistina y metionina
Magnesio (Mg)	Parte central de la molécula de clorofila.
Hierro (Fe)	Síntesis de la clorofila.
Manganeso (Mn)	Necesario en el proceso de fotosíntesis.
Boro (B)	Formación de la pared celular. Germinación y elongación del tubo de polen. Participa en el metabolismo y transporte de los azúcares.
Zinc (Zn)	Síntesis de las auxinas.
Cobre (Cu)	Influye en el metabolismo del nitrógeno y carbohidratos.
Molibdeno (Mo)	Componente de las enzimas nitrato reductasa y nitrogenasa

Fuente: (Intagri, 2017)

Además, siendo el bioabono una fuente orgánica de fitoreguladores en pequeñas cantidades es capaz de promover actividades fisiológicas y estimular el desarrollo de las plantas, favoreciendo el enraizamiento, mejora la floración, activa el vigor y poder germinativo de las semillas, traducándose esto en un incremento significativo de la producción de biomasa vegetal (Parra, 2015). El biol, además de aumentar la producción y mejorar la calidad de los productos considerablemente, también mejora el balance nutricional en la planta, haciéndola más resistente a la embestida de plagas y enfermedades originadas por el desequilibrio ambiental (INIA, 2008).

4.7. BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL

Se denomina como PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) a un conjunto de bacterias que habitan en la rizosfera de las plantas y que producen en ellas todo tipo de beneficios; potenciando su crecimiento, mejorando la disponibilidad o la absorción de minerales y ayudan a la producción de hormonas necesarias en el desarrollo de los vegetales (Fuentes & Caballero, 2006). Además, protegen a los cultivos contra posibles agentes patógenos y combaten la contaminación de los suelos, ya sea por contaminantes de tipo orgánico o inorgánico. Estas características hacen de las PGPR bacterias muy estudiadas no solo por su potencial en el crecimiento de cultivos o el ejercicio como agentes de biocontrol, sino también por su intervención en la descontaminación de suelos como de reforestación y recuperación de ecosistemas (Camacho & Torre, 2017).

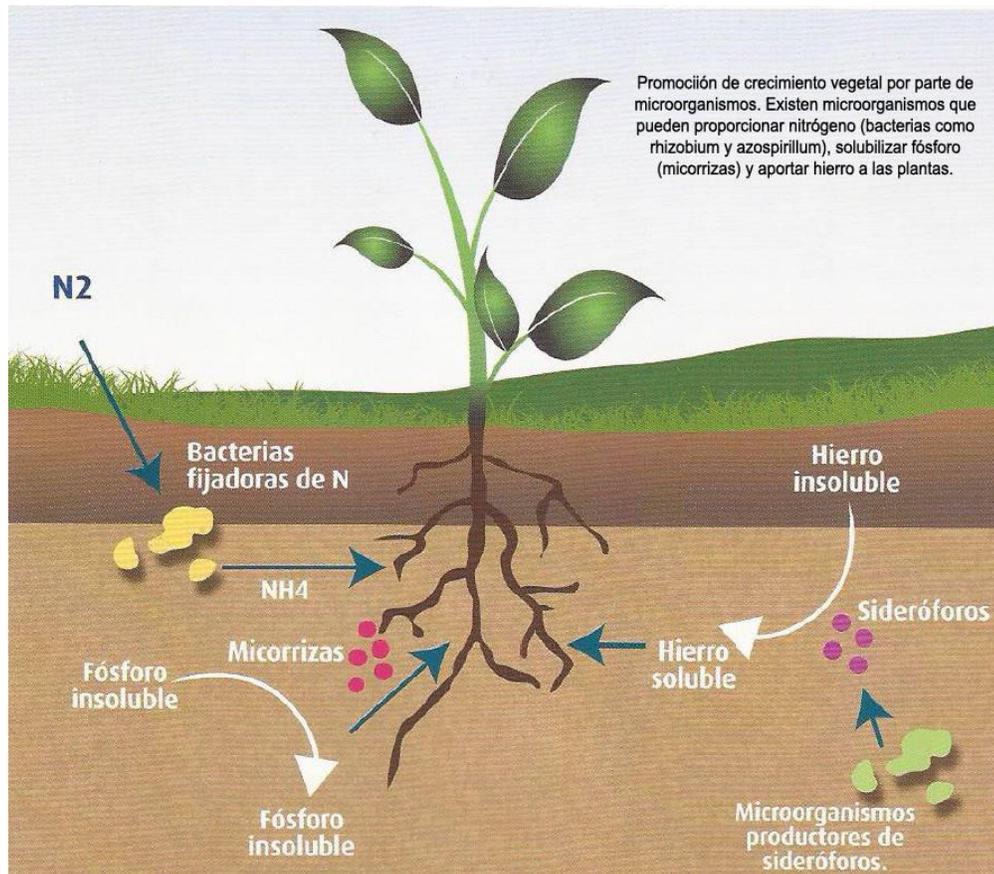


Figura 2. Proceso de Fijación de nutrientes en las plantas, por acción de bacterias con capacidades PGPR.

4.7.1. Fijación de nitrógeno

La mayoría de los organismos son incapaces de metabolizar el nitrógeno, de modo que tiene que ser transformado en compuestos absorbibles y metabolizables por las plantas. La conversión de nitrógeno a formas susceptibles como el amoníaco es esencial para el desarrollo de todos los organismos, ya que el crecimiento de todas las plantas está determinado de forma directa o indirecta por la disponibilidad de nutrientes minerales, en especial del nitrógeno (Marulanda et al., 2009). Una planta con deficiencia de nitrógeno sufriría clorosis, manifestando una coloración amarillenta de tallos y hojas, falta de desarrollo y debilidad. Por el contrario, cuando la planta tiene suficiente nitrógeno, sus hojas y tallos crecen rápidamente (Sánchez-Monedero et al., 2001).

4.5. 2. Solubilización de fósforo

Entre los diversos ciclos geoquímicos mediados por microbios, la solubilización de fosfato asume una importancia considerable debido a lo indispensable del fósforo en la nutrición de las plantas. Aunque los niveles de fósforo del suelo son suficientes para sostener el crecimiento de las plantas, la mayoría de las formas de fósforo están presentes en formas fijas y, por lo tanto, requieren transformación. La solubilización de fosfato por la microflora rizosférica es uno de los medios más importantes para lograr la promoción del crecimiento de las plantas (Llanos, 2017).

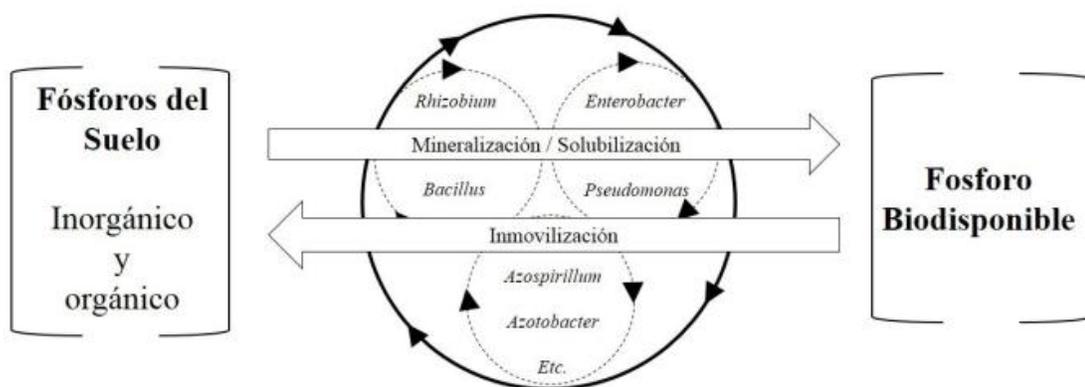


Figura 3. Proceso de solubilización de fósforo en presencia de microorganismos (bacterias).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO

El trabajo se llevó a cabo en el campo experimental de la Empresa Sedit-Moro, así como en el Laboratorio de Investigación de la E.A.P Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional del Santa, localizada en el distrito de Nuevo Chimbote (Santa, Ancash, Perú), durante los meses de abril 2016 a diciembre del 2017.

5.2. CARACTERÍSTICAS Y CONSTRUCCIÓN DE BIODIGESTORES

Se diseñaron biodigestores por lote, con el fin de lograr la homogenización de la materia orgánica durante el proceso de fermentación. Para la construcción de los biodigestores se usaron tanques de polietileno de 30 L de capacidad, dicho tanques fueron modificados y adaptados para el control durante el proceso fermentativo: en la parte inferior del tanque a 30 cm de altura de la base se efectuó un agujero de 2 cm de diámetro en el que se acopló un tubo PVC de ½ plg de 7 cm de longitud, el mismo que fue conectado por un extremo a una válvula de PVC de ½ plg para el muestreo y control del pH de la fracción líquida de la fermentación (biol). En la parte superior sobre la tapa del tanque se acoplaron dos tubos de PVC de ½ plg, el primero de 100 cm de longitud conectado en el centro de la tapa del tanque e introducido hacia el interior del mismo para agitar la mezcla de materia orgánica, y el segundo tubo a una distancia de 10 cm del primero, en el que se acopló un codo de PVC de ½ plg para la unión de un tubo PVC de ½ plg de 16 cm longitud con otro de 15 cm de longitud; que permitió la salida del gas hacia una válvula PVC de ½ plg conectado a una cámara de llanta N°50 para el almacenamiento y control del biogás producto de la fermentación (Fig. 4). Cabe mencionar que cada conexión fue sellada al tanque con teflón y silicona líquida para evitar cualquier tipo de fuga y se dejó secar por 24 h. Las tapas fueron selladas a los tanques con fajas a presión llamadas sunchos, para asegurar la hermeticidad de cada biodigestor.



Figura 4. Estructura final de biodigestores usados en la fermentación en el que se muestra: A. Llave de muestreo y control de pH de la fracción líquida durante la fermentación y B. Sistema de control de salida y almacenamiento de Biogás.

5.3. PREPARACIÓN Y ADAPTACION DE LA MATERIA ORGÁNICA

Para la fermentación, se usaron resto de mango, durazno y manzana provenientes de la producción de néctares de la agroindustrial LA MORINA, mientras que el estiércol vacuno y la alfalfa se obtuvieron de los campos de cultivo SEDIR y la roca fosfórica de la empresa FOSYEIKI S.A. de Sechura, Piura.

El acondicionamiento de la materia orgánica en el biodigestor (Tabla 2), se inició con la dilución de 18 kg de estiércol vacuno en 36 L de agua alcanzando una relación 1:3 para lograr homogeneidad en la mezcla, de forma seguida se adicionó los restos frutales de mango, durazno y manzana previamente seccionados en partes de 1.5 cm de longitud aproximadamente para una degradación rápida y eficiente; posteriormente y de acuerdo a la composición de cada tratamiento (Tabla 3), se adicionó roca fosfórica y alfalfa incluyendo los nudos y raíces. Se realizaron tres repeticiones experimentales del proceso fermentativo.

Tabla 2. Distribución de la concentración de materia orgánica en los biodigestores según tratamiento, la tabla muestra la proporción de materia orgánica y sustratos usados durante la fermentación.

MATERIA ORGÁNICA					
TRATAMIENTO	Estiércol vacuno (Kg)	Residuos de frutas (Kg)	Agua (L)	Alfalfa (Kg)	Roca fosfórica (Kg)
Control	18	1	36	0	0
T1	15	1	36	3	0
T2	15	1	36	0	3
T3	12	1	36	3	3

Se realizaron tres replicas por tratamiento del proceso fermentativo, manteniendo las mismas cantidades de materia orgánica para cada tratamiento. Con el fin de corroborar los resultados de todas las evaluaciones realizadas.

Tabla 3. Caracterización del contenido de Nitrógeno, fósforo y potasio en los sustratos usados como materia prima en la fermentación

MATERIA ORGÁNICA	CONTENIDO DE NITRÓGENO (%)	CONTENIDO DE FÓSFORO (mg/l)	CONTENIDO DE POTASIO (mg/l)
Mango	0.99	0.18	1.8
Manzana	0.84	0.30	1.01
Durazno	0.93	0.15	1.9
Estiércol vacuno	2.80	0.98	1.55
Alfalfa	1.5	0.6	1.3
Roca fosfórica	0.07	1.1	0.0

5.4. MONITOREO DE PARÁMETROS DURANTE LA FERMENTACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA.

5.4.1. Tiempo de retención

El período durante el cual la materia orgánica sufre el proceso de descomposición dentro del fermentador está determinado por el tiempo de retención, se interpreta como el tiempo que la materia orgánica permanece en el biodigestor hasta degradarse totalmente.

El tiempo de retención de la materia orgánica durante el proceso de fermentación estuvo determinado por los valores obtenidos a partir del pH del biol, mismo que fueron medidos tomando muestras de la mezcla. A medida que la materia orgánica dispuesta en los biodigestores se transforma los valores de pH aumentarán de ácidos a neutros o básicos; cuando los valores de pH se mantengan constantes, el tiempo de retención de la materia orgánica habrá culminado y con ello el proceso fermentativo.

5.4.2. Medición de pH

A partir de los 15 días de iniciado el proceso fermentativo se tomaron muestras de biol por la llave inferior de los biodigestores y se almacenaron en frascos de polietileno estériles y herméticos. Con ayuda de un potenciómetro digital se obtuvieron los valores de pH, este proceso fue repetido durante todo el proceso con un intervalo de 15 días. Los valores de pH obtenidos, fueron los indicadores del tiempo de retención de la materia orgánica en los biodigestores y por ende la finalización de proceso fermentativo, con pH de valores neutros o básicos constantes.

5.4.3. Monitoreo de la temperatura

Iniciado el proceso fermentativo de la materia orgánica se realizó el monitoreo diario de la temperatura, para cual se usó un Termohigrómetro digital, el cual fue colocado en los extremos de los biodigestores.

5.5. ALMACENAMIENTO DEL BIOGÁS TOTAL

El gas producto de la descomposición de la materia orgánica en los biodigestores, fue conducido a través de tubos PVC de ½ plg hacia cámaras de llantas N°50 para su almacenamiento (Fig. 5). A lo largo de los tubos se colocó carbón activado con la finalidad de disminuir el impacto de los sulfuros generados evitando el desgaste y corrosión del material. El sistema de transporte de biogás estuvo determinado por la válvula de salida del biodigestor y la válvula de entrada del gasómetro; esta última para el control del almacenamiento en las cámaras para su posterior cuantificación.



Figura 5. Producción de biogás durante la fermentación y su almacenamiento en cámaras de llantas colocados sobre los biodigestores, en la figura se observa los conductos de control para la salida de biogás.

El biogás está compuesto por metano (CH_4) en un porcentaje de 50% a 70%, bióxido de carbono (CO_2) en 30% a 50%, ácido sulfúrico (H_2S) en 0.1% o 1% y nitrógeno (N_2) en 0.5% a 3%, su pureza y calidad dependen de la cantidad de metano que contenga, ya que cuanto mayor es el porcentaje de este gas, se

obtendrá un producto más puro y con mayor poder calorífico (Menna et al., 2007).

5.5.1. Cuantificación de Biogás total

Para determinar el volumen de biogás producido, se usó la metodología propuesta por Mena (2007), método denominado desplazamiento de agua. Que consiste en el uso de un sistema de dos probetas de 1L de capacidad unidas entre sí, y uno extremo de ellas conectada a la fuente de gas; esta última probeta provista de agua, que será desplazada hacia la otra probeta con la presión que el gas ejerce. En este método se determinó el diámetro interno de la probeta usada durante la cuantificación que fue de 6.5 cm y se multiplicó por la altura de agua desplazada por el biogás, expresada del modo siguiente:

$$V = \pi \frac{(6.5\text{cm})^2}{4} * \frac{H}{2} \dots\dots\dots (1)$$

El volumen del agua desalojada, representa el doble del volumen de gas generado a presión atmosférica, al considerar su mitad se obtiene el volumen que se quiere determinar. Entonces, si despejamos esta fórmula (1) y reemplazamos el diámetro de la probeta, obtenemos la ecuación a usar para la cuantificación de biogás:

$$V = 16.59 * H$$

5.6. DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD QUÍMICA EN MUESTRAS DE BIOL

La calidad química del biol está determinada por su contenido nitrógeno (N), fósforo (P) y Potasio (K), para lo cual realizaron las siguientes evaluaciones:

5.6.1. Determinación del contenido de fósforo

Para determinar el contenido de fósforo en las muestras de biol, se usó el método de Olsen, ANEXO 1, (Harris , 2007). Las evaluaciones del contenido de fósforo se iniciaron con la purificación de las muestras de biol, para lo cual se tomaron 5 mL de cada muestra y por separado se colocaron en un matraz, se adicionó 4 g de carbón activado sobre las mismas y 100 mL de NaHCO_3 al 0.5 N, se dejó actuar por 5 min y se filtró usando papel wattman N° 25, este proceso fue realizado dos veces para eliminar la mayor cantidad de impurezas presentes en las muestras.

Se tomó 1 mL del líquido resultante y se agregó en una fiola de 25 mL de capacidad a la que se adicionó 5 mL de solución de molibdato de amonio y 1 mL de solución diluida de SnCl_2 , se aforó con agua destilada y se dejó reposar durante 10 min, para finalmente realizar la lectura usando espectrofotómetro a una longitud de onda de 660 nm y se determinó la concentración de fósforo de acuerdo a la ecuación obtenida a partir de la curva de calibración (ANEXO 1).

5.6.2. Determinación del contenido de nitrógeno total

Para determinar la concentración de Nitrógeno en las muestras de biol se usó el método kjeldahl (Olivares et al., 2012) (ANEXO 2). Se tomó 5 mL de las muestras biol (por cada tratamiento) y por separado se colocó en un matraz kjeldahl, se adicionó 3g de mezcla catalizadora más 4 mL de solución digestora, se homogeneizó la mezcla hasta lograr el aumento de temperatura y presenciar un

viraje hacia un color verde; de forma seguida se adicionaron 10 mL de agua destilada, 12 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 4% y 2 gotas de rojo fenol, así como 15 mL de solución concentrada de NaOH al 40%. Finalmente se tituló con HCL 0.05 N hasta que vire de azul a amarillo tomándose nota del volumen gastado.

Para determinar el porcentaje de nitrógeno se usó la siguiente formula calculándose por el método volumétrico el porcentaje de nitrógeno.

$$\% N = \frac{(V_m - V_b) \times N_{HCl} \times 14 \times 100}{\text{mg de muestra}}$$

Donde:

%N: nitrógeno total

V_m: Volumen de HCl gastado en la muestra

V_b: Volumen de HCl gastado en el blanco

N: Normalidad de HCl

14 : factor de conversión ácidos – base

5.6.3. Determinación del contenido de potasio

Se determinó la concentración de potasio por el método de espectrofotometría de tipo UV – VIS usado por (Ramos et al., 2006), así como la determinación de curva de calibración.

Se tomó 2.5 mL de cada tratamiento de biol y por separado, se agregó 25 mL de acetato de amonio 1N, la mezcla fue agitada por 10 min y se dejó reposar por un período de 10 min, luego se filtraron las muestras usando papel wattman N° 25; el líquido resultante constituyó el extracto de la muestra a partir del cual se realizaron las lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 780 nm. La concentración de potasio se determinó usando la ecuación obtenida a partir de la curva de calibración (ANEXO 3).

5.7. PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA EN MUESTRAS DE BIOL

Las pruebas microbiológicas realizadas a las muestras del biol, constaron de dos etapas: la primera para determinar la presencia de entero bacterias asociadas a la producción y aprovechamiento del biol y la segunda para la identificación bioquímica de las bacterias obtenidas.

5.7.1. Siembra y aislamiento de bacterias

5.7.1.1. Aislamiento de enterobacterias

El aislamiento de enterobacterias, se realizó según la metodología mencionada por Mendoza (2010). Se tomaron 1 mL de las muestras de biol por cada tratamiento, y por separado se realizó una dilución en 9 mL de solución salina al 0.85%; generando una dilución de 10^{-1} . A partir de la nueva solución se extrajo una alícuota y se sembró en condiciones estériles mediante la técnica de estría en medio MacConkey semisólido, finalmente se incubaron a 30°C, por 48 h.

5.8. DETERMINACIÓN DE LA MICROBIOTA ASOCIADA AL BIOL

Debido a la presencia de enterobacterias, evidenciadas en el crecimiento en las placas de agar MacConkey, se procedió a realizar pruebas microbiológicas y bioquímicas complementarias que nos permitieron determinar la microbiota asociada por al biol.

Por lo cual se procedió a considerar las muestras en las placas de acuerdo a: forma, color, tamaño y consistencia de cada colonia formada; es decir con características macroscópicas (Fig.06).

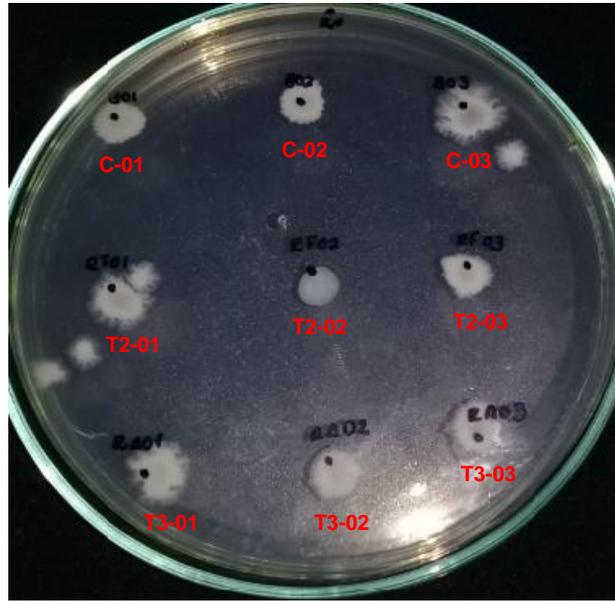


Figura 6. Crecimiento bacteriano en agar común como medio de cultivo, usando la técnica de goteo para la visualización del crecimiento por colonia y la determinación de características morfológicas.

5.8.1. PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS

5.8.1.1. Tinción Gram

Se desarrolló la técnica de color diferencial propuesta por el bacteriólogo danés Hans Christian Joachim Gramen 1844, para determinar la estructura y forma de las muestras asiladas (Andrea & Cynthia, 2014), desarrollándose la siguiente metodología: sobre un porta objetos limpio se colocó una gota de agua destilada y con un asa bacteriológica estéril se tomó una pequeña muestra de la colonia bacteriana y se diluyó en el portaobjetos, la muestra diluida fue fijada al portaobjetos flameando al mechero; se colocó la muestra sobre un soporte y se cubrió con cristal violeta por un período de 1 min, se enjuagó con agua destilada, luego se cubrió la muestra con solución de lugol por 1 min y se volvió a enjuagar para colocar sobre la muestra alcohol por un período de 5 seg y se enjugó, finalmente se cubrió la muestra con safranina por 1 min y se enjuagó. La muestra se dejó secar y se observó al microscopio en todos los aumentos (Fig. 07), y usando 1 gota de aceite de inmersión para la resolución 100X.

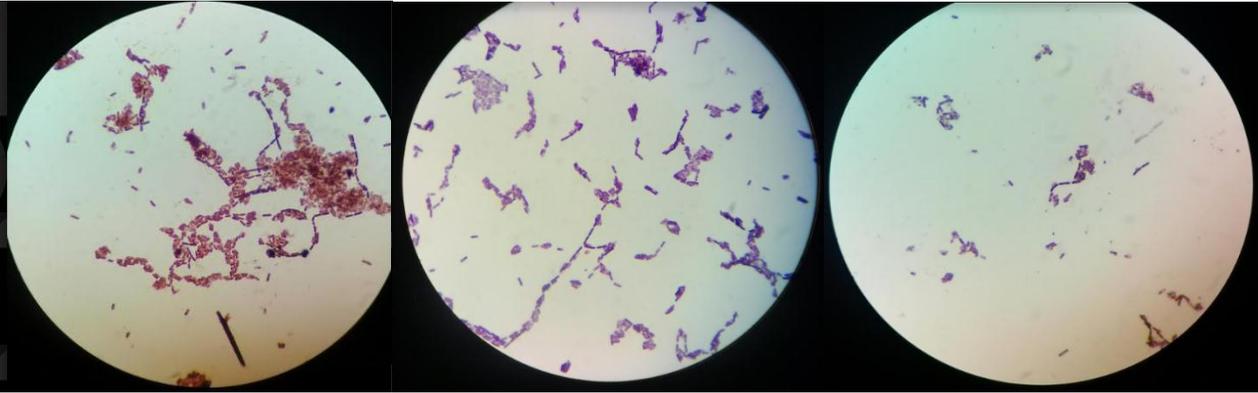


Figura 7. Proceso de identificación y visualización microscópica de colonias bacterianas mediante tinción Gram.

5.8.1.2. **Catalasa**

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de Hidrogeno (H_2O_2) en agua y oxígeno. El peróxido de Hidrogeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo aerobio de los hidratos de carbono (Sánchez, 2008)

Con un asa bacteriológica se tomó una muestra de la colonia y se colocó sobre una lámina porta objeto estéril, sobre la cual se adicionó una gota de peróxido de hidrógeno y se dejó reaccionar.

5.8.2. **PRUEBAS BIOQUÍMICAS**

5.8.2.1. **TSI (hierro-triple azúcar)**

Prueba usada para la fermentación de la glucosa, lactosa y sacarosa y la producción de H_2S por parte de la bacteria sumándole producción de gas. El cambio de color rojo-anaranjado (color inicial del medio) a amarillo indica fermentación (Lipincott & Wilkins, 2000).

El medio fue hidratado a una concentración de 0.8 g/l y llevado al autoclave a $121^\circ C$ por 15 min, se inoculó la muestra por el método de punción en medio inclinado y se conservó a $37^\circ C$ por 24 h.

5.8.2.2. **LIA (agar lisina hierro)**

Si el microorganismo produce lisina descarboxilasa, la acción de esta enzima sobre la lisina dará lugar a la cadaverina, la cual provocará un cambio de pH hacia la alcalinidad dando un color morado que sobrepasa la acidez debido a la glucosa. Así pues, un fondo amarillo indica que no se produce lisina descarboxilasa y un color morado que si es producida (Lipincott & Wilkins, 2000).

Se hidrató el medio a una concentración de 35 g/l para luego ser distribuidos en tubos de ensayo a razón 4 mL por tubo y se esterilizó a 121°C durante 15 min. Se dejó enfriar en forma de pico de flauta dejando un fondo vertical apto para la siembra por punción.

5.8.2.3. **Citrato Simmons**

El medio de cultivo es diferencial en base a que los microorganismos son capaces de utilizar citrato como única fuente de carbono y usan sales como única fuente de nitrógeno, con la consiguiente producción de alcalinidad (Lipincott & Wilkins, 2000).

Se suspendió 24,2 g/L y se distribuyó en tubos y se esterilizó en el autoclave a 121°C durante 15 min. Se dejó enfriar en posición inclinada; se inoculó las muestras con un asa bacteriológica por punción en los tubos

5.8.3. CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS COMO PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL

Para determinar la capacidad PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria), en bacterias provenientes de muestras de biol, se realizaron pruebas de solubilización de fósforo y fijación de nitrógeno (Bach & Díaz, 2008). Las bacterias fueron previamente caracterizadas de forma morfológica y bioquímica.

5.8.3.1. Capacidad de solubilización de fosfato

Para determinar la capacidad de solubilización de fosfato (Fig. 08) se inocularon por separado las bacterias en 3 mL de caldo nutritivo y se incubaron por un período de 24 h. Del caldo resultado se tomó 1 mL y se diluyó en 9 ml de solución salina al 0.85%, a partir de la dilución se tomó 4 μ l y se sembró en forma de goteo sobre medio NBRIP Tricálcico y Bicálcico semisólido (ANEXO 9). Las placas que contenían el medio fueron incubadas a 28°C durante 30 días, tiempo durante el cual se determinó la capacidad de solubilización de fosfato realizando mediciones en forma semanal al crecimiento de halos y colonias (mm) (Nguyen *et al.* 1992) citado por (Zúñiga, 2012).

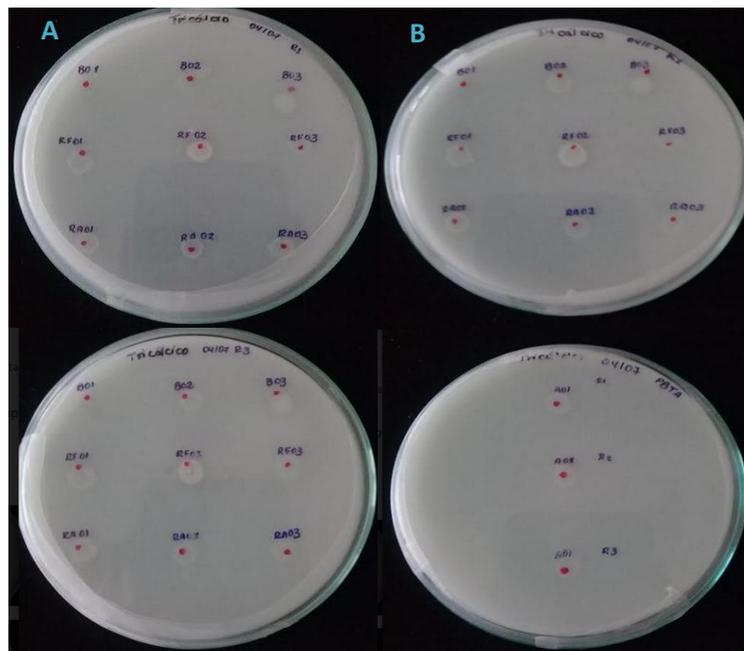


Figura 8. Evaluación de capacidad de solubilización de fosfato en bacterias provenientes de muestras de biol, A. Solubilización en medio NBrip bicálcico, B. Medio NBrip Tricálcico.

Se reactivaron las bacterias a partir de cultivos puros por triplicado en tubos con 10 ml de MMSN, las que fueron incubadas a 28°C por 72 h. Luego de la incubación se realizó la comparación de la turbidez presentada en cada tubo con los tubos de la escala turbidimétrica de Mc Farland.

5.8.3.2. **Capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico**

Para determinar la capacidad de fijación de nitrógeno, se tomaron muestras de bacterias purificadas y por extensión se realizó la siembra de las mismas en medio mineral semisólido. La evaluación de las placas se realizó entre los 3-5 días de su siembra; el proceso fue repetido dos veces consecutivas según protocolo (Alonso et al., 2017). Las respuestas serán positiva cuando el medio de color verde vire a color amarillo y mantenga esta capacidad durante todas las repeticiones. Se reactivaron las bacterias a partir de cultivos puros por triplicado en tubos con 10 ml de MMSN, las que fueron incubadas a 28°C por 72 h. Luego de la incubación se realizó la comparación de la turbidez presentada en cada tubo con los tubos de la escala turbidimétrica de Mc Farland

5.9. **PRUEBA DE EFICIENCIA NUTRICIONAL DE BIOL**

Para determinar la eficiencia nutricional de las muestras de biol sobre el desarrollo de las plantas, se realizó un ensayo biométrico en plantas de rabanitos con el fin de monitorear cuantitativamente el crecimiento de las mismas. Se sembraron semillas de rabanito sobre sustrato Aranmix #8 en bandejas de 30 alvéolos con 100 cc de capacidad; se realizaron riegos inter diarios durante un período de 5 días hasta obtener la germinación de las semillas. Culminado este período se dio inicio a la aplicación en forma foliar del biol, tomándose 10 plantas por tratamiento. El biol fue diluido con agua en concentraciones 3:1 y adicionado sobre las plantas con una cantidad aproximada de 10 ml con frecuencias de 4 días.

5.9.1. **Evaluaciones biométricas en el cultivo de rabanito**

Las evaluaciones biométricas se iniciaron a los 10 días de la germinación de las plantas, realizándose evaluaciones biométricas basadas en la medida de longitud de planta, tamaño de hojas y tamaño de fruto como parte de un análisis cuantitativo de caracteres que determinar la evolución de las plantas durante 30 días. Los caracteres evaluados en las plántulas corresponden al método descrito por Squeo & León, 2007.

VI. RESULTADOS

6.1. MEDICIÓN DEL pH

Se obtuvieron valores de pH ácidos en rangos de 4 a 5 durante el inicio de la fermentación como resultado de la presencia de ácidos orgánicos producto del proceso hidrolítico de la materia orgánica, por acción de microorganismos presentes en el biodigestor. El comportamiento del pH en el biodigestor fue incrementándose hacia pH neutros con valores que oscilan entre los 7 a 7.12 tal y como se muestra en la Fig. 9. donde el pH en el biodigestor de control y los tratamientos muestran el mismo comportamiento.

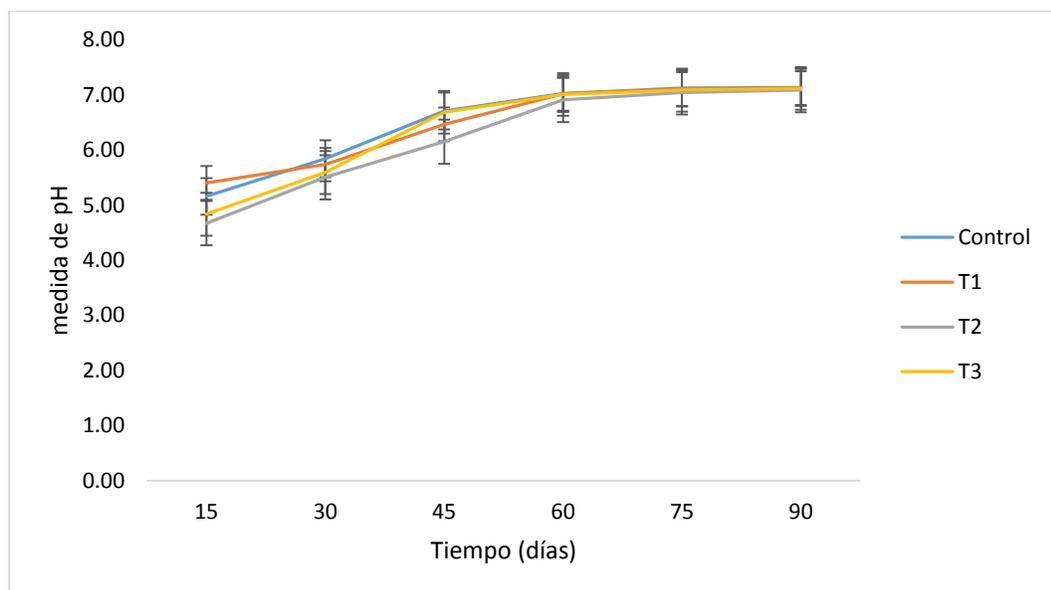


Figura 9. Comportamiento del pH obtenido del biol, durante los 90 días de fermentación por cada tratamiento; Control: desechos frutales + estiércol vacuno, T1: desechos frutales + estiércol vacuno + alfalfa, T2: desechos frutales + estiércol vacuno + roca fosfórica y T3: desechos frutales + estiércol vacuno + roca fosfórica + alfalfa

6.2. MONITOREO DEL COMPORTAMIENTO DE LA TEMPERATURA

El monitoreo de la temperatura se llevó a cabo durante los meses de abril a diciembre del 2016, donde se mostraron oscilaciones de temperatura entre los 17.1°C y los 22.8°C tal como muestran las Fig.10, Fig.11 y Fig.12. Estos rangos de temperatura varían de acuerdo a los meses y las estaciones de los años; sin embargo, se observa que los cambios de temperatura no son extremos y que el rango en el que se encuentran se debe a que la ubicación geográfica del lugar experimental es cálida y relativamente húmeda.

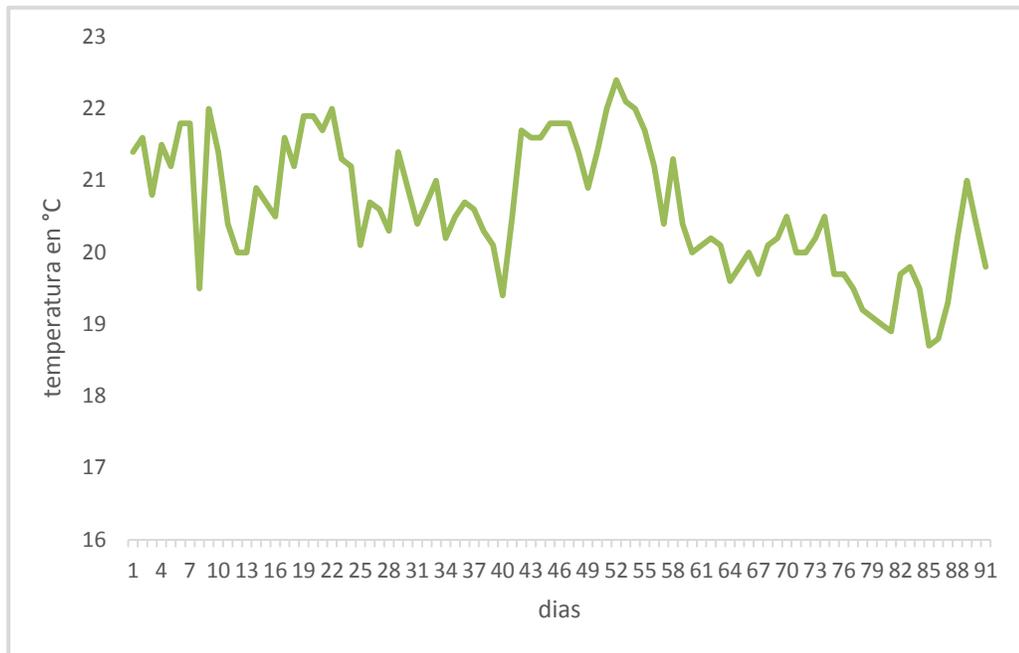


Figura 10. Comportamiento de la oscilan de temperatura expresada en °C, durante los meses de abril a junio del 2016 correspondientes a la primera corrida del proceso fermentativo en los biodigestores, las temperaturas varían entre 19°C a 22°C tal como se observa en la gráfica.

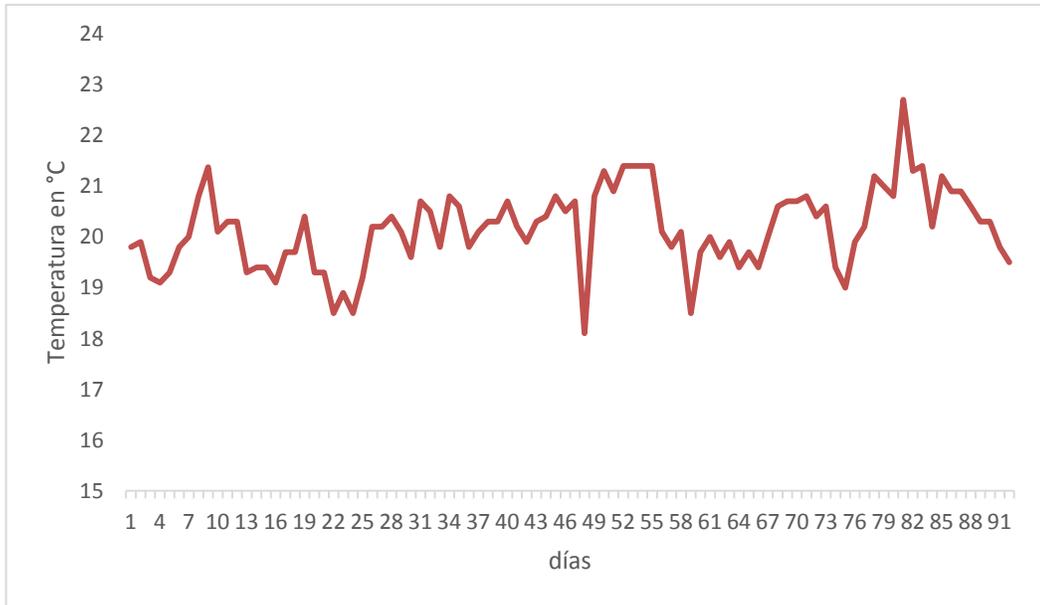


Figura 11. Comportamiento de la oscilación de la temperatura expresada en °C, durante los meses de julio a septiembre del 2016 correspondientes a la segunda corrida del proceso fermentativo en los biodigestores, las temperaturas varían entre 18°C a 22°C tal como se observa en la gráfica.

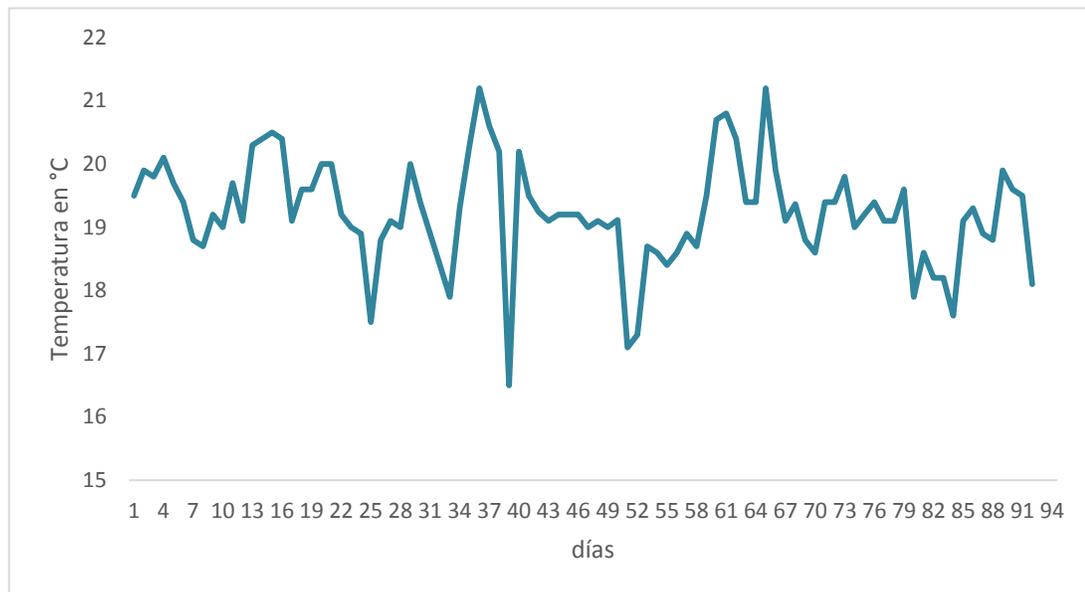


Figura 12. Comportamiento de la oscilación de la temperatura expresada en °C, durante los meses de octubre a diciembre del 2016 correspondientes a la tercera corrida del proceso fermentativo en los biodigestores, las temperaturas varían entre 16°C a 21°C tal como se observa en la gráfica.

6.3. CUANTIFICACIÓN DE BIOGÁS TOTAL

Se registró una mayor producción de biogás en el biodigestor de control con un promedio de 1659.00 cm³ de biogás producido, seguido del tratamiento 2 (T2) con un volumen de 1571.07 cm³, el tratamiento 1 (T1) con 1494.75 cm³ de biogás y finalmente el tratamiento 3 (T3) con un total de 1487.017 cm³ de biogás. Los volúmenes de biogás total registrados representan al volumen producido durante todo el proceso fermentativo de la materia orgánica. Las variaciones de volúmenes de producción de biogás entre los tratamientos se deben a la materia orgánica usada en la fermentación, tal y como se muestra en la Fig. 13.

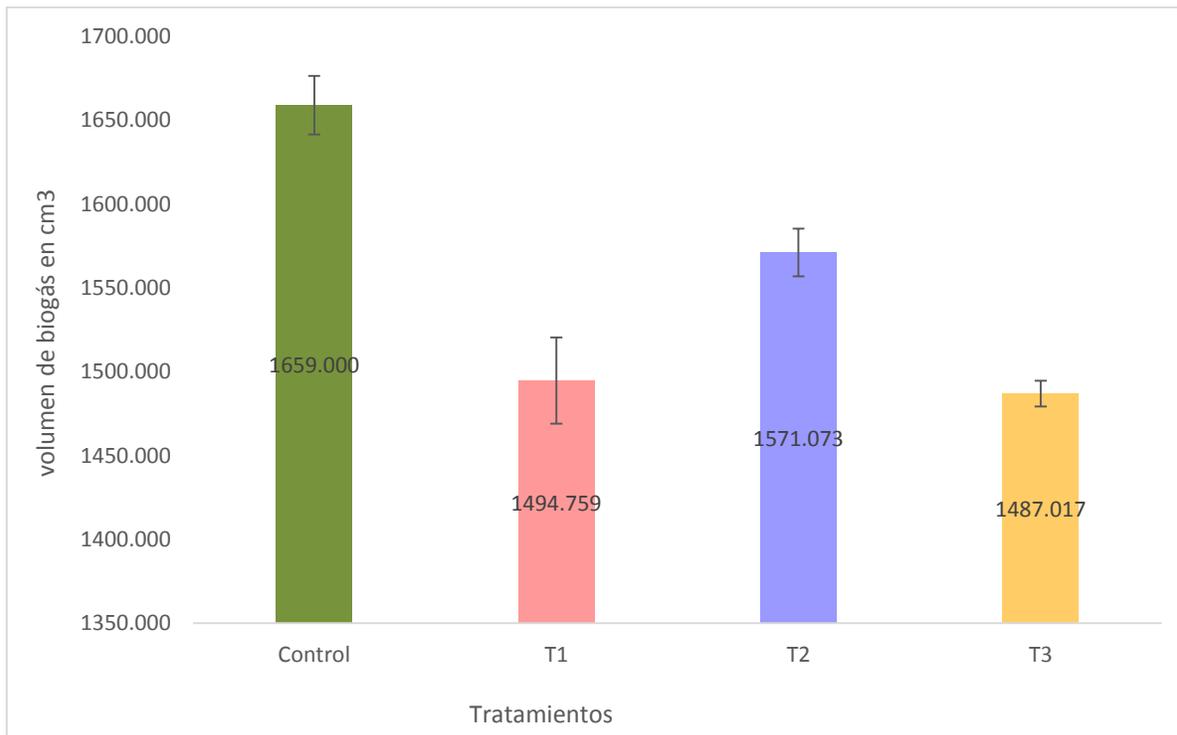


Figura 13. Comparación gráfica del volumen promedio de biogás en cm³, producido en cada tratamiento; Control: desechos frutales + estiércol vacuno, T1: desechos frutales + estiércol vacuno + alfalfa, T2: desechos frutales + estiércol vacuno + roca fosfórica y T3: desechos frutales + estiércol vacuno + roca fosfórica + alfalfa; durante el proceso de fermentación de la materia orgánica.

6.4. DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD QUÍMICA (NPK) EN MUESTRAS DE BIOL

6.4.1. Determinación de nitrógeno total

El contenido de nitrógeno presente en las muestras de biol fue determinado por el método de Kjeldahl basado en la volumetría ácido-base. En la Tabla 4, se muestran los contenidos de nitrógeno total por cada elemento usado como materia orgánica, así como en el biol producto de la fermentación; donde se obtuvieron concentraciones de 5.36 % y 4.44% de nitrógeno total en los tratamientos T3 y T1 respectivamente debido a que el contenido de nitrógeno en el material orgánico fermentado fue mayor. Dichos datos son comparados con los valores iniciales de Nitrógeno obtenidos a partir de la materia orgánica usada, detallado en la Tabla 3.

Sin embargo, el T3 presentó mayor concentración de nitrógeno respecto al nitrógeno final contenido en el biol, lo que representa mayor biodisponibilidad del nutriente; que se ve reflejado en la menor pérdida de nitrógeno residual expresado en la Tabla 4, que representa a la concentración de nutriente usado en la producción de biogás y/o el contenido de nutriente contenido en el biosol.

Tabla 4. Contenido de nitrógeno total inicial y final en muestras de biol, la concentración de nitrógeno se expresa en porcentajes en la muestra control: desechos frutas + estiércol vacuno, T1: desechos frutas + estiércol vacuno+ alfalfa, T2: desechos frutas + estiércol vacuno+ roca fosfórica y T3: desechos frutas + estiércol vacuno + alfalfa + roca fosfórica.

Tratamiento	Contenido de nitrógeno total (%)		
	Materia orgánica inicial	Biol final	Residual
Control	5.56 ± 0.02	3.14 ± 0.90	2.42 ± 1.04
T1	7.06 ± 0.02	4.44± 0.34	2.62 ± 0.46
T2	5.63 ± 0.05	3.66± 0.37	1.97 ± 1.54
T3	7.13 ± 0.28	5.36± 0.81	1.77 ± 2.89

Razón-F: 6.653, valor-P:0.014

Los resultados reportados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de un tratamiento y otro, obteniendo un valor-P de la prueba F menor que 0.05, con un nivel de confianza de 95%.

6.4.2. Determinación de fósforo

El contenido de fósforo en las muestras de biol, fue determinado mediante la ecuación de la recta obtenida a partir de la curva de calibración (ANEXO 2); en la Tabla 5, se muestra que los tratamientos T2 y T3, muestran mayores concentraciones final de fósforo con 0.62 mg/l y 0.63 mg/L respectivamente, siendo también los tratamientos que mostraron mayores concentraciones de fósforo en la materia orgánica usada al inicio de la fermentación. Ambos tratamientos fueron enriquecidos con roca fosfórica que al ser sometido a un proceso fermentativo donde el pH inicial ácido permite su descomposición y su conversión a componentes con mayor solubilidad para las plantas. Los resultados reportados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de un tratamiento y otro, obteniendo un valor-P de la prueba F menor que 0.05, con un nivel de confianza de 95%.

Tabla 5. Concentración de fósforo inicial y final en muestras de biol, la concentración de fósforo se expresa en mg/L en la muestra control: desechos frutas + estiércol vacuno, T1: desechos frutas + estiércol vacuno+ alfalfa, T2: desechos frutas + estiércol vacuno+ roca fosfórica y T3: desechos frutas + estiércol vacuno + alfalfa + roca fosfórica.

Tratamiento	Contenido de fósforo (mg/L)		
	Materia orgánica inicial	Biol final	Residual
Control	0.7 ± 0.025	0.57±0.002	0.13 ±0.011
T1	1.3± 0.057	0.59±0.003	0.71 ± 0.005
T2	1.8± 0.021	0.62±0.001	1.18 ± 0
T3	2.4 ± 0.016	0.63±0.004	1.77 ± 0.005

Razón-F: 202.628, valor-P:0.000

6.4.3. Determinación de potasio

Para determinar la concentración de potasio presente en las muestras de biol, se usó la ecuación de la recta obtenida a partir de la curva de calibración (ANEXO 4). La concentración de potasio fue mayor en las muestras control y el Tratamiento 3 (T3) con 4.78mg /L y 5.32 mg/L, de ambos tratamientos el T3 presentó mayor concentración de potasio en la materia orgánica cargada en el biodigestor, obteniendo varianza estadísticamente significativa entre la media de contenido de potasio entre un nivel de tratamientos y otro, puesto que el valor-P de la prueba F es menor que 0.05, con un nivel de confianza de 95%.

Tabla 6. Concentración de potasio inicial y final en muestras de biol, la concentración de potasio se expresa en mg/L en la muestra control: desechos frutas + estiércol vacuno, T1: desechos frutas + estiércol vacuno+ alfalfa, T2: desechos frutas + estiércol vacuno+ roca fosfórica y T3: desechos frutas + estiércol vacuno + alfalfa + roca fosfórica.

Tratamiento	Concentración de potasio (mg/L)		
	Materia orgánica inicial	Biol final	Residual
Control	6.26 ± 0.21	4.78±0.48	1.48 ± 0.38
T1	7.56 ± 0.10	3.31±0.54	4.25 ± 0.49
T2	6.26 ±0.19	2.87±0.64	3.39 ± 0.72
T3	7.56 ±0.20	5.31±0.48	2.25 ± 0.36

Razón-F: 13.601, valor-P: 0.002

6.5. IDENTIFICACIÓN DE LA MICROBIOTA ASOCIADA A LAS MUESTRAS DE BIOL

6.5.1. Características morfológicas bacterianas y tinción Gram

Las bacterias aisladas a partir de las muestras de biol, fueron cultivadas en agar común por un período de 24 h, tiempo después del cual se mostró el crecimiento bacteriano por colonia, observándose las diferencias morfológicas mostradas en la Tabla 7. Donde las bacterias obtenidas a partir del biol del biodigestor de control muestran las mismas características en cuanto a color, forma, superficie, borde y textura, así como reacción positiva para la tinción Gram evidenciando bacterias del género Bacilo.

Tabla 7. Características morfológicas de colonias bacterias aisladas a partir de las muestras de biol de la muestra control y los tratamientos; donde se codifican las bacterias de acuerdo al tratamiento al que pertenecen y el número de individuo que representan.

MUESTRA	COLOR	FORMA	SUPERFICIE	BORDE	TEXTURA	GRAM
C-01	Blanco	Filamentosa	Plana	Filamentoso	Semimucoso	Bacilo gram -
C-02	Blanco	Filamentosa	Plana	Filamentoso	Semimucoso	Bacilo gram +
C-03	Blanco	Filamentosa	Plana	Filamentoso	Semimucoso	Bacilo gram +
T1-01	Blanco	Filamentosa	Plana	Filamentoso	Semimucoso	Bacilo gram +
T2-01	Blanco	Filamentosa	Plana	Filamentoso	Semimucoso	Bacilo gram +
T2-02	Blanco	Circular	Acumulada	Redondeado	Mucoso	Bacilo gram +
T2-03	Blanco	Filamentosa	Plana	Filamentoso	Semimucoso	Bacilo gram +
T3-01	Blanco	Filamentosa	Planoconvexa	Filamentoso	Semimucoso	Bacilo gram +
T3-02	Blanco	Filamentosa	Planoconvexa	Filamentoso	Seco	Bacilo gram +
T3-03	Blanco	Filamentosa	Plana	Filamentoso	Seco	Bacilo gram +

En todas las colonias formadas se observaron colores blancos, en cuanto a la forma la muestra T2 -02 presenta forma circular a diferencia de todas las muestras; así también muestra superficie acumulada, mientras que los T2-03 y T3-

03 presentan superficies planas respecto a la superficie plana mostrada en todas las muestras. En cuanto a la formación del borde se observaron bordes del tipo filamentosos a excepción del tratamiento T2-02 con borde redondeado y textura mucosa, a diferencia de la textura seca mostrada en las muestras T3-01 y T3 -03.

6.5.2. Pruebas bioquímicas

Tabla 8. Resumen de la respuesta de bacterias a pruebas bioquímicas realizadas a las muestras de biol; las muestras fueron codificadas teniendo en cuenta: tipo de tratamiento, número de colonia por tratamiento.

MUESTRA	MEDIO			
	TSI	LIA	CITRATO SIMONS	CATALASA
C- 01	A/A +	K/A -/-	Positivo/azul	+
C-02	A/A +	K/A -/-	Positivo/azul	+
C- 03	A/A -	K/A -/-	Negativo/verde	+
T1- 01	A/A -	K/A -/-	Positivo/azul	-
T2- 01	A/A +	K/A -/-	Positivo/azul	+
T2- 02	A/A -	K/A -/-	Negativo/verde	+
T2- 03	K/A -	K/A -/-	Negativo/verde	+
T3- 01	A/A -	K/A -/-	Negativo/verde	+
T3- 02	A/A +	K/A -/-	Positivo/azul	-
T3- 03	A/A +	K/A -/-	Positivo/azul	+

Control: desechos frutales + estiércol vacuno

T1: desechos frutales + estiércol vacuno + alfalfa

T2: desechos frutales + estiércol vacuno + roca fosfórica

T3: desechos frutales + estiércol vacuno + roca fosfórica + alfalfa

Con el fin de determinar las características metabólicas de las bacterias en estudio y descartar la presencia de enterobacterias infecciosas, se llevó a cabo pruebas bioquímicas, como: Triple Sugar Iron (TSI), Lysine Iron Agar (LIA), Citrato Simons y Catalasa; usadas para la identificación de enterobacterias. A partir de las cuales se obtuvieron enterobacterias libres de patogenicidad, debido a que en la prueba TSI se muestra Bacterias con pico de flauta ácido / profundidad ácida (A/A) para microorganismos tienen la facultad de fermentar

glucosa y lactosa resultando una reacción ácida (amarilla) y ácida en el fondo (amarillo). Así también para LIA se obtuvieron alcalinización (K) del medio de cultivo con un viraje hacia el púrpura en todo el tubo, o como medio de cultivo neutro con acidificación (A) con viraje hacia el amarillo en la columna del tubo. Finalmente, resultados negativos a catalasa para las muestras T1-01 y T3-02 a diferencia de las muestras restantes que presentan reacción positiva para catalasa.

6.5.3. Fijación de nitrógeno

A partir de las bacterias aisladas de las muestras de Biol, se realizaron pruebas de capacidad de Fijación de nitrógeno. Las bacterias sembradas en medio de cultivo NBrip e incubadas a temperaturas 37 °C por tres días mostraron virajes de color verde a amarillo (Fig. 14), indicando la capacidad de fijación de nitrógeno de las bacterias, esta capacidad se realiza en dos siembras consecutivas. Durante la primera siembra las muestras C -01, T2-01, T3-01 presentaron viraje amarillo y las muestras T1-01, y T3-02 viraje amarillo y colonias blanquecinas; sin embargo, al realizar la segunda prueba de fijación solo las muestras T1-01, y T3-02 presentaron viraje amarillo en el medio de cultivo, lo que indica que poseen mayor capacidad de fijación de nitrógeno.

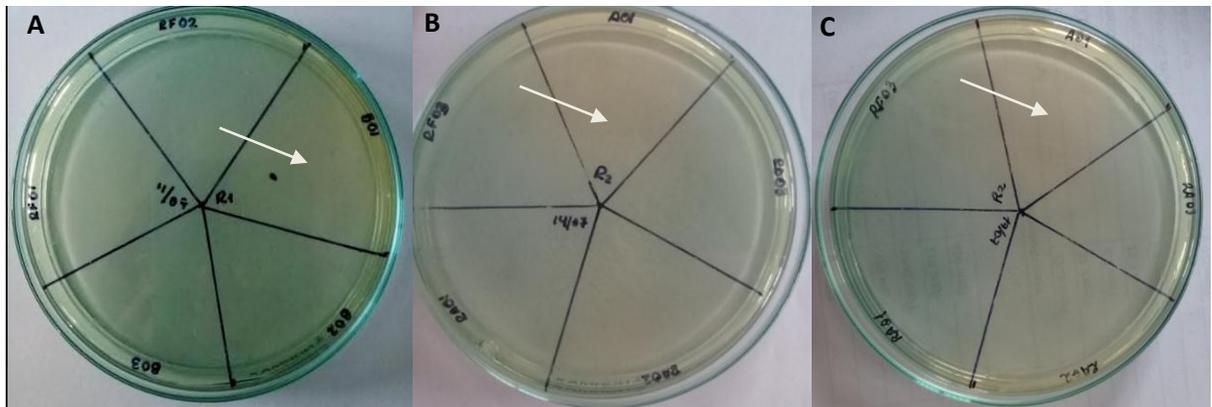


Figura 14. Prueba cualitativa de fijación de nitrógeno, A. viraje amarillo en las muestras T2-01, T3-01, B. viraje amarillo y formación de colonias blanquecinas en las muestras C -01, T1-01, y T3-02 y C. Viraje amarillo en las C -01, T1-01, y T3-02 durante la segunda prueba de fijación de nitrógeno.

6.5.4. Solubilización de fosfato

La capacidad de solubilización de fosfato de las bacterias, fue determina por la formación de halos en el medio de cultivo, respecto al crecimiento de la colonia, siendo las muestras T2 -02, T3-02 y T3-03 los que presentaron capacidad solubolizadora de fosfato bicálcico con 3.48 mm, 2.11mm y 2.69 mm respectivamente como se muestra en Tabla 9 y ANEXO 10. Dichas muestras corresponden a los tratamientos T2 y T3, mismos que fueron enriquecidos con roca fosfórica como parte de la materia orgánica usada durante la fermentación.

Tabla 9. Solubilización de fosfato en medio bicálcio y tricálcico de bacterias obtenidas a partir de muestras de biol, la tabla muestra las solubilización de fosfato bicálcico para las muestras T2 -02, T3 -01 y T3-03 correspondientes a la fermentación del tratamiento T2 y T3 respectivamente

Muestras	SOLUBILIZACIÓN DE FOSFORO (mm)			
	Bicálcico		Tricálcico	
	15 días	30 días	15 días	30 días
C-01	0	0	0	0
C-02	0	0	0	0
C-03	0	0	0	0
T1-01	0	0	0	0
T2-01	0	0	0	0
T2-02	2.41	3.48	0	0
T2-03	0	0	0	0
T3-01	0	0	0	0
T3-02	2.18	2.11	0	0
T3-03	2.51	2.69	0	0

Finalmente, según la escala de Mc Farland, las 10 bacterias estudiadas se encontraron en valores $< 1.5 \times 10^8$ UFC.ml⁻¹ como mínimo y como máximo valores de 6×10^8 UFC.ml⁻¹

6.6. PRUEBAS BIOMÉTRICAS EN EL CULTIVO DE RABANITO

En el análisis cuantitativo del desarrollo morfológicas de las plantas de rabanito, se determinó que las plántulas fertilizadas con el biol obtenido del tratamiento 3 (T3), presentó mayores longitudes de planta, medidas de hojas y diámetro de fruto, con valores de 20.33 cm, 13.13 cm y 5.73 cm respectivamente, datos que son mostrados en las Fig. 15, Fig. 16 y Fig.17. Dicho tratamiento usó: desechos frutales + estiércol vacuno + alfalfa+ roca fosfórica como materia prima de fermentación y a la vez obtuvo los mayores valores de disponibilidad de NPK.

En la Fig.15, se observa que se obtienen mayores valores de alturas para las plantas de rabanito fertilizadas con el T3, seguido del T2, T1 y el control, mostrando diferencias en el desarrollo de la planta.

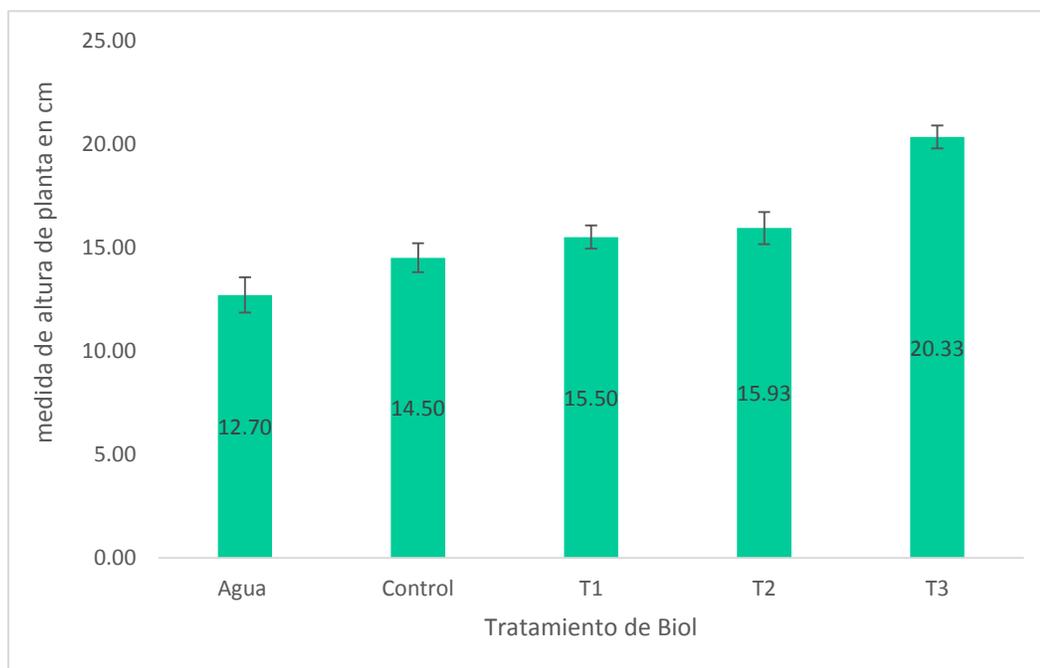


Figura 15. Medida de altura de plantas de rabinos expresadas en cm, la gráfica muestra el crecimiento de plantas respecto a la fertilización tipo foliar usando biol, obtenido a partir de todos los tratamientos: Agua: plantas sin fertilización solo por riego con agua, muestra control: biol a partir de desechos frutas + estiércol vacuno, T1: Biol a partir de desechos frutas + estiércol vacuno+ alfalfa, T2: Biol a partir de desechos frutas + estiércol vacuno+ alfalfa, T3: Biol a partir de desechos frutas + estiércol vacuno + alfalfa + roca fosfórica.

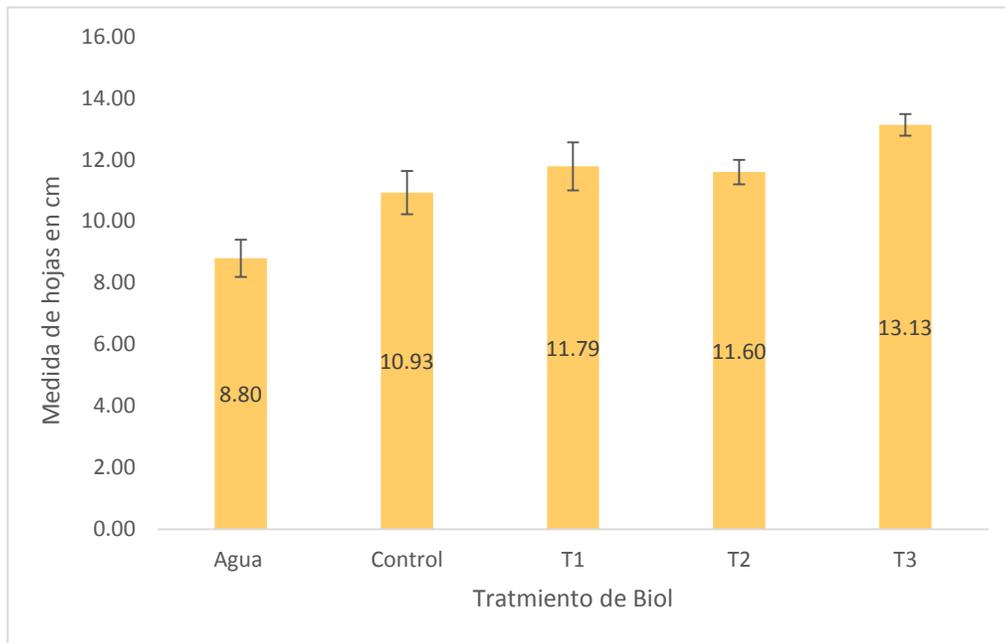


Figura 16. Medida de crecimiento de hojas en plantas de rabinos expresadas en cm, la gráfica muestra el crecimiento de plantas respecto a la fertilización con biol, obteniendo mayor desarrollo foliar en las plántulas fertilizadas con el biol producto del tratamiento 3 (T3), seguida del T1, T2 y el control.

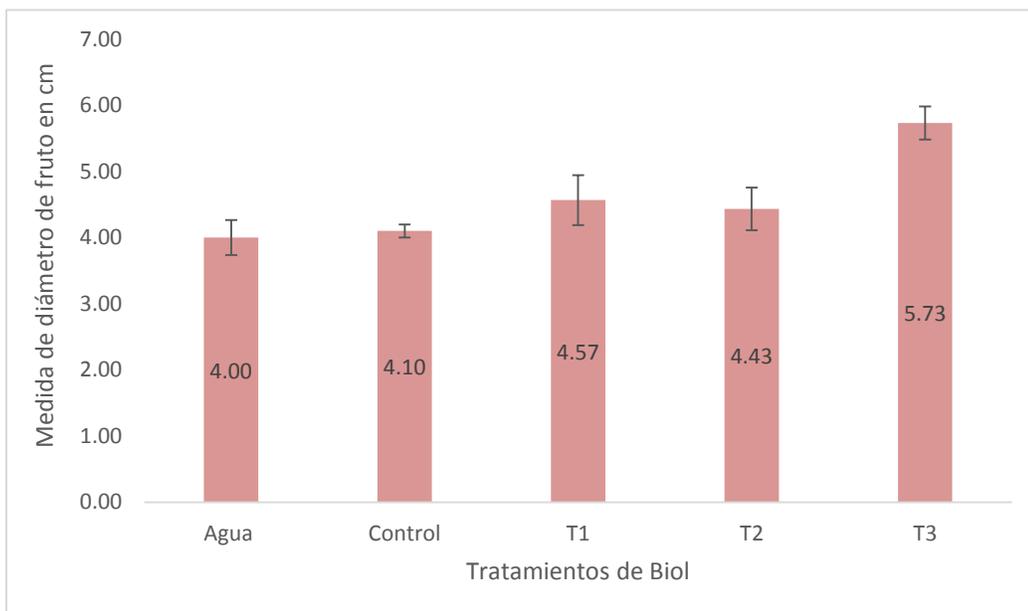


Figura 17. Medida del diámetro de frutos de rabanito, la gráfica muestra el crecimiento de plantas respecto a la fertilización con biol, obteniendo mayor desarrollo de fruto en el tratamiento T3, seguido del T1, T2 y el control.

VII. DISCUSIÓN

Los valores de pH tienen una influencia directa sobre la producción de biol, debido a su acción sobre los procesos microbianos; razón por la cual se observan disminución de pH en la fase inicial de la fermentación ya que la acción de los microorganismos sobre la materia orgánica más lábil produce la liberación de ácidos orgánicos (Agüero, 2014). De acuerdo a los resultados obtenidos del monitoreo de pH durante el período de fermentación en los cuatro tratamientos, se obtuvieron valores iniciales de pH que oscilan entre 4.67 a 5.16, siendo los tratamientos T2 y T3 los que mostraron mayor acidez con valores de 4.67 y 4.84 respectivamente. Sánchez-Monedero et al., 2001, mencionan que la baja de pH más pronunciada se deben a las condiciones anaeróbicas del biodigestor, puesto que se forman mayores cantidades de ácidos orgánicos además que tiene un influencia directa con el tipo y calidad de materia orgánica usada. En una segunda fase se produce la alcalinización del medio, debido a la pérdida de los ácidos orgánicos y la generación de amoníaco procedente de la descomposición de proteínas, por lo que se obtuvieron valores de pH 6.15 y 6.45 y finalmente valores de pH de 7.01 que tienden a la neutralidad por la formación de compuesto húmicos que le confieren la propiedad de tampón (Tamayo, 2009).

Del mismo modo la temperatura como una variable en la descomposición de materia orgánica y la producción de biogás influye de forma decisiva en la rapidez y cantidad de metano generado, por lo que, cuando el objetivo es la producción y cuantificación de este hidrocarburo, la temperatura se encontrará por encima de 10 °C (González & Longoria, 2005). Durante el proceso de biodigestión se registraron temperaturas ambientales de 23°C - 30 °C, cuyos valores se encuentran dentro de los rangos óptimos de producción de biogás y descomposición de materia orgánica por acción de las bacterias que se desarrollan en el medio. Según Saraz et al.,2007, la biodigestión anaerobia puede ocurrir en un amplio rango de temperaturas entre los 5°C y los 60°C, además el proceso no se ve afectado por el incremento de temperatura en unos pocos grados. Sin embargo, un decrecimiento súbito en unos grados podría retardar la producción de metano, sin afectar la actividad de las bacterias, de acuerdo con un estudio, la temperatura más adecuada para la producción de biogás obtenida en un experimento en laboratorio con un

biodigestor rural modelo indiano, fue 31°C (Matos et al., 2016). Asimismo, (Cuaila et al., 2012), reporta una temperatura del biodigestor entre 30 a 40°C, oscilando la temperatura ambiente entre 20 y 30°C durante los meses de evaluación, produciendo posteriormente biogás en forma diaria con un promedio de 400 litros/día en un biodigestor familiar de 2m³.

La cantidad de biogás que puede producirse, depende de la hermeticidad con la que se mantenga el biodigestor, así como la materia orgánica usada en el proceso fermentativo; En las Figura 13, se observan los valores de biogás producido por tratamiento se registra una mayor producción de biogás en el biodigestor de control con un promedio de 1659.00 cm³ de biogás producido, seguido del tratamiento 2 (T2) con un volumen de 1571.07 cm³, el tratamiento 1 (T1) con 1494.75 cm³ de biogás y finalmente el tratamiento 3 (T3) con un total de 1487.017 cm³ de biogás. El aumento de biogás en el Control y T2 se vio influenciado por la mayor hermeticidad que poseían los contenedores, ya que no existieron fugas por un óptimo control. Ante esto (Baldeón & Tang, 2011) afirman que cuando existe mayor hermeticidad en un contener, las temperaturas incrementan y el resultado es la descomposición acelerada de la materia orgánica en el contenedor, lo que libera gases y produce el biogás. En el trabajo realizado por Cuaila et al., (2012) reporta que los biodigestores producen aproximadamente 0.2 m³ de biogás por m⁻³ del biodigestor al día cuando la fermentación se encuentra en etapa psicrófila y que la producción del mismo está directamente relacionado al tipo de materia orgánica usada durante el proceso fermentativo; especialmente si se usa excretas de origen animal.

Por otra parte, la fase líquida o biol, resultante del proceso fermentativo es usada para la fertilización de plantas, por a su contenido de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) (Warnars & Oppenoorth, 2014). La concentración de estos compuestos depende de la materia orgánica usada y su capacidad de solubilización durante el proceso fermentativo (Leblanc et al., 2007), con relación al contenido de P se obtuvieron mayores concentraciones en los tratamientos T2 y T3 con 0.62 mg/L y 0.63 mg/L respectivamente; ambos tratamientos contenían roca fosfórica como parte de la materia orgánica

fermentada en el biodigestor. Zapata & Roy, 2007 mencionan que el pH ácido de los suelos, un alto contenido de materia orgánica y la disponibilidad de agua son los factores que influyen en la reactividad de la roca fosfórica aumentando su solubilización y por ende su efectividad agronómica; siendo el proceso fermentativo un ambiente óptimo para lograr su solubilización en fosfatos que son reflejados en los valores mayores de P en los tratamientos T2 y T3 a diferencia del T1 y control. (Torres & de Prager, 2014), han sugerido que una concentración de 0.2 mg/L de fósforo es suficiente para un crecimiento óptimo. Por otra parte, Ortiz & Renato, 2013, reportan concentraciones de 0.40% y 0.319% en dos de sus tratamientos, usando roca fosfórica para enriquecer sus biofertilizantes.

Del mismo modo se determinó la concentración final de nitrógeno en todas las muestras de biol en estudio, obteniendo mayores valores en los tratamientos T1 y T3 con 3.63% y 4.56% de nitrógeno respectivamente, tal y como se indica en la Tabla 4. Donde el uso de estiércol como materia orgánica en la fermentación adiciona la mayor concentración de nitrógeno al biol obtenido; sin embargo, el tratamiento control que contenía estiércol en mayores proporciones presentó baja concentración de nitrógeno. Peralta-Veran et al. (2016), explica que la generación de amoníaco y por ende la concentración de nitrógeno en las excretas dependerá de la humedad de la misma y la dieta a la que el animal fue sometido, lo que se reflejará en el proceso fermentativo. Por tanto, mayores valores en los tratamientos T1 y T3 están relacionado a la adición de alfalfa como parte de la materia orgánica en el proceso fermentativo. Duarte Gustavo (2016) explica que alfalfa contiene elevadas concentraciones de nitrógeno en sus nódulos obtenido mediante la relación simbiótica con el *Rizhobium* en el suelo durante su crecimiento; además, provee los elementos químicos y medicinales que eliminan y controlan algunas plagas (Restrero, 2011). Según Ortiz & Renato, 2013 realizaron enriquecimiento de biofertilizantes a base de codornaza y alfalfa obteniendo valores de 4.40% de nitrógeno con un pH de 7.01.

Así también, se determinó la concentración de potasio en cada tratamiento, siendo los tratamientos Control y T3, los más sobresalientes, con valores de 477.86 mg/L y 531.46 mg/L respectivamente. Hecho que es explicado por el uso de estiércol bovino como fuente de potasio durante la fermentación por presentar una concentración de 3.75% (Figuroa et al., 2010). Este nutriente es clave en la relación agua-planta por mantiene niveles adecuados de agua en las plantas, regulando la apertura y cierre de los estomas que acumulan el potasio durante la transpiración celular (Intagri, 2017). De acuerdo a los resultados obtenidos, el tratamiento T3 es el que presenta las mayores concentraciones de NKP solubilizadas debido al uso de roca fosfórica, alfalfa y estiércol bovino como fuentes de dichos nutrientes durante la fermentación.

Además del contenido de nutrientes que los biofertilizantes poseen, deben de cumplir características que permitan y garanticen optimizar la calidad de los suelos, facilitar la penetración del agua, incrementar la retención de la humedad y sobre todo mejorar su actividad biológica (Agüero, 2014). Siendo importante identificar la microbiota a la cual se encuentra asociada, ya que las bacterias juegan un rol importante en el aprovechamiento de los nutrientes (Camacho & Torre, 2017). Por lo que se asilaron bacterias a partir de las muestras de biol obtenidas de los distintos tratamientos, obteniendo 10 bacterias diferenciadas entre ellas por su color, forma, superficie, borde y textura; sin embargo, relacionadas entre sí por su respuesta positiva frente a la tinción Gram, obteniendo bacilos Gram positivos, tal y como son mostrados en la Tabla 7. Carlo et al., 2015, realizaron la evaluación de la población microbiana en un proceso fermentativo de composta en función al tiempo, observando la predominancia de bacilos Gram positivos en todas las fases de la fermentación, al igual que cocos Gram positivos mientras que los microorganismos gram negativos tendieron a desaparecer frente a los incrementos de temperatura y los cambios de valores de pH.

Por esta razón es necesario conocer la calidad microbiológica de las bacterias identificadas, para así evaluar su efectividad en las plantas cuando son usadas a través de la aplicación del biol, siendo las pruebas de solubilización de fosfato y fijación de nitrógeno las más usadas para determinar la capacidad de

promoción vegetal que poseen algunas de las bacterias (Pathak & Kumajir, 2016). Para determinar la capacidad de fijación de nitrógeno se realizó la siembra de las bacterias en medio NFB, el cual se caracteriza por el viraje del medio (Fuentes & Caballero, 2006). A partir de esta evaluación se obtuvieron resultados positivos por el viraje del medio de verde a amarillo en las muestras T1-01, y T3-02 mostrados en la Fig. 14, las muestras pertenecientes a los tratamientos T1 y T3 contenían alfalfa y nódulos de la misma como parte de la materia orgánica usada en la fermentación, así como la formación de fitohormonas durante el proceso fermentativo que contribuirían al desarrollo de este tipo de bacterias. Para Malusá et al. (2012) los endófitos son microorganismos que tiene un mayor potencial de transferencia a la planta, por presentar una mayor fuente de nitrógeno debido que al encontrarse en el interior de las plantas acumulan el potencial de fijación y cuando son liberados al medio vuelven a generar la relación simbiote.

Así también, al realizarse la evaluación de la capacidad de solubilización de fósforo con las 10 bacterias aisladas, se determinó que las bacterias T2 -02, T3-02 y T3-03 presentaron formación de halos de 3.48 mm, 2.11mm y 2.69 mm respectivamente en el medio Nbrip Bicálcio, lo que indica la capacidad de solubilizar fosfatos. Llanos Machaca (2017) determinó la presencia de bacterias solubilizadoras de fosforo a partir de material de compost, encontrando bacterias del género bacilo que al ser expuestas al medio NBrip alcanzaban capacidades de solubilización de hasta 2.71mm.

Finalmente, buscando determinar la efectividad del biol obtenido sobre el desarrollo y crecimiento de los cultivos, se realizaron pruebas biométricas en cultivos de rabanito con todos los tratamientos obtenidos; evidenciando que el cultivo aplicado con el T3 alcanzó longitudes de planta, medidas de hojas y diámetro de fruto, con valores de 20.33 cm, 13.13 cm y 5.73 cm respectivamente en comparación con los cultivos tratados con los tratamiento control, T1 y T2, lo que indica una interacción directa del biol con mayor solubilización de nutrientes alcanzados y el desarrollo de las plantas. Para Benaissa (2019) este hecho está relacionado a las fitohormonas presentes en las muestras de biol, reflejado en la estimulación de desarrollo de las plantas

como: alargamiento de hojas, raíces y formación de frutos de mayor tamaño; además que al ser nutrientes con mayor disponibilidad tendrán una acción de mayor respuesta haciendo que las plantas logren mayor aprovechamiento de los mismos.

VIII. CONCLUSIONES

Se determinó un volumen de producción de biogás de 1659.00 cm³ en el Control, seguido de 1571.07 cm³ de biogás en el Tratamiento 2, siendo ambos los tratamientos que obtuvieron los mayores volúmenes de biogás total, debido a la influencia del tipo y cantidad de la materia orgánica usada para el proceso fermentativo, así como la hermeticidad del biodigestor.

Se obtuvieron concentraciones finales de 5.36 % y 4.44% de nitrógeno total en los tratamientos T3 y T1 respectivamente, mientras que los tratamientos T2 y T3, muestran mayores concentraciones final de fósforo con 0.62 mg/l y 0.63 mg/L y finalmente los tratamientos Control y T3 registraron concentraciones finales de potasio de 4.78mg /L y 5.32 mg/L. Por tanto, las mayores concentraciones de NPK solubles luego de la fermentación se obtuvieron en el T3, debido a que la carga de materia orgánica presentó mayor porcentaje inicial de dichos componentes.

Se determinó la capacidad PGPR en 10 bacterias aisladas a partir de muestras de biol, usando medios de cultivos selectivos para la fijación de nitrógeno y solubilización de fosfato, siendo las bacterias T1-01, y T3-02 las que presentaron la capacidad de fijación de nitrógeno por el viraje en su medio de cultivo y las bacterias T2 -02, T3-02 y T3-03 presentaron formación de halos durante su crecimiento en el medio fosfatado lo que indica la capacidad de solubilización de fosforo que estas bacterias presentan, así mismo se determinó que la bacteria T3-02 presentó ambas capacidades.

Se realizó una evaluación biométrica en plántulas de rabanito para determinar la eficiencia de los diferentes tratamientos de biol, obteniendo longitudes de planta de 20.33 cm, hojas con 13.13 cm de medida y diámetro de fruto de 5.73 cm, siendo estos los mayores valores registrados en plántulas fertilizadas con el T3.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agüero, D. R. (2014). Generalidades de los abonos orgánicos: importancia del bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas. 35(4), 8.

Alonso, G. M. M., Aguilar, Y. T., Forte, I. H., & Nualles, M. V. (2017). Cuantificación de la fijación biológica de nitrógeno en canavalia ensiformis crecida en un suelo pardo mullido carbonatado mediante los métodos de abundancia natural de ^{15}N y diferencia de n total. 38(1), 9.

Al-Rousan, A., & Zyadin, A. (2014). A Technical Experiment on Biogas Production from Small-Scale Dairy Farm. Journal of Sustainable Bioenergy Systems, 04(01), 10-18. <https://doi.org/10.4236/jsbs.2014.41002>

Camacho, M., & Torre, M. I. L. (2017). Efecto promotor de bacterias PGPR sobre cultivo de papa bajo diferentes sustratos a nivel de invernadero. The Biologist, 13(1). <https://doi.org/10.24039/rtb2015131157>

Charles, N. J., & Alonso, N. J. M. (2015). (*Solanum lycopersicum* L.), Bajo sistema protegido. 36(1), 10.

Cuaila, J. L. S., Coaquira, C. A., Perez, J. J. L., & Cabanillas, C. R. (2012). Producción de biogás y biol a partir de excretas de ganado: experiencias en la ciudad de Tacna.

Dinesh, R., Srinivasan, V., Hamza, S., & Manjusha, A. (2010). Short-term incorporation of organic manures and biofertilizers influences biochemical and microbial characteristics of soils under an annual crop Turmeric (*Curcuma longa* L.). Bioresource Technology, 101(12), 4697-4702. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.108>

Duarte Gustavo. (2016). Fertilización de Alfalfa: Artículos. Recuperado 14 de febrero de 2019, de Fertilizando.com website: <http://www.fertilizando.com/articulos/Fertilizacion%20de%20Alfalfa.asp>

Figuroa-Viramontes, U., Cueto-Wong, J. A., Delgado, J. A., Núñez-Hernández, G., Reta-Sánchez, D. G., Quiroga-Garza, H. M., & Faz-Contreras, R. (2010). Estiércol de bovino lechero sobre el rendimiento y recuperación aparente de nitrógeno en maíz forrajero. 9.

Fongaro, G., Viancelli, A., Magri, M. E., Elmahdy, E. M., Biesus, L. L., Kich, J. D., ... Barardi, C. R. M. (2014). Utility of specific biomarkers to assess safety of swine manure for biofertilizing purposes. Science of The Total Environment, 479-480, 277-283. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.02.004>

Fuentes-Ramírez, L., & Caballero-Mellado, J. (2006). Bacterial Biofertilizers. En PGPR: Biocontrol and Biofertilization (pp. 143-172). https://doi.org/10.1007/1-4020-4152-7_5

González-Ávalos, E., & Longoria-Ramírez, R. (2005). Variación del pH durante los procesos anaerobios de emisión de metano por el secado y la fermentación de excretas de ganado bovino en el centro de México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 21(4), 159-170.

Guo, J. H., Liu, X. J., Zhang, Y., Shen, J. L., Han, W. X., Zhang, W. F., Zhang, F. S. (2010). Significant Acidification in Major Chinese Croplands. *Science*, 327(5968), 1008-1010. <https://doi.org/10.1126/science.1182570>

Harris, D. (2007). Microanalysis of the benefits of China's family-size biogas digesters. En *Energy* (Vol. 24, págs. 4457-4466). Beijing - China: ELSEVIER.

Hermann, B. G., Debeer, L., De Wilde, B., Blok, K., & Patel, M. K. (2011). To compost or not to compost: Carbon and energy footprints of biodegradable materials' waste treatment. *Polymer Degradation and Stability*, 96(6), 1159-1171. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.12.026>

INIA. (2008). Repositorio Institucional INIA: Producción y uso del biol— Proyecto Perú conservación in situ de los cultivos nativos y sus parientes silvestres PER/98/G33. Recuperado 3 de noviembre de 2019, de <http://repositorio.inia.gob.pe/handle/inia/115>

Intagri. (2017). Fuentes Orgánicas de N-P-K para la Nutrición de los Cultivos | Intagri S.C. Recuperado 1 de julio de 2018, de <https://www.intagri.com/articulos/agricultura-organica/fuentes-organicas-de-n-p-k-para-la-nutricion-de-cultivos>

Llanos Machaca, M. Y. (2017). Bacterias solubilizadoras de fosfato del género bacillus en suelos de la provincia de el Collao (Puno) y su efecto en la germinación y crecimiento de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) en condiciones de invernadero.

Leblanc, H. A., Cerrato, M. E., Miranda, A., & Valle, G. (2007). Determinación de la calidad de abonos orgánicos a través de bioensayos. 12.

León Mendoza, L. H. (2010). Determinación del potencial promotor del crecimiento vegetal de las enterobacterias aisladas de la rizósfera del cultivo de maíz (*Zea mays L.*). *Scientia Agropecuaria*, 177-185. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2014.04.02>

Lipincott, W., & Wilkins, J. (2000). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Estados Unidos: Editorial Medica Panamericana.

Malusá, E., Sas-Paszt, L., & Ciesielska, J. (2012). Technologies for Beneficial Microorganisms Inocula Used as Biofertilizers. *The Scientific World Journal*, 2012. <https://doi.org/10.1100/2012/491206>

Marín, S. R., & De, J. (2015). Biodegradabilidad anaerobia de fracción orgánica de residuo urbano pretratado mediante esterilización. 131.

Marulanda, A., Barea, M., & Azcón, R. (2009). Stimulation of Plant Growth and Drought Tolerance by Native Microorganisms (AM Fungi and Bacteria) from Dry Environments: Mechanisms Related to Bacterial Effectiveness | SpringerLink. Recuperado 3 de noviembre de 2019, de <https://link.springer.com/article/10.1007/s00344-009-9079-6>

Matos, C. F., Pinheiro, É. F. M., & Paes, J. L. (2016). Universidade federal rural do rio de janeiro instituto de tecnologia programa de pós-graduação em engenharia agrícola e ambiental. 66.

Menna, M., Branda, J., Murcia, G., Garín, E., Belliski, G., & Moschione, E. (2007). Metodología de bajo costo para la cuantificación de biogás en biodigestores de laboratorio. 11, 107-113.

Moreno, S. A. S., Montoya, M. A. M., & Martínez, A. L. M. (2012). Identificación de bacterias productoras de polihidroxicanoatos (PHAs) en suelos contaminados con desechos de fique. (2), 12.

Ning, C., Gao, P., Wang, B., Lin, W., Jiang, N., & Cai, K. (2017). Impacts of chemical fertilizer reduction and organic amendments supplementation on soil nutrient, enzyme activity and heavy metal content. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(8), 1819-1831. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61476-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61476-4)

Olivares-Campos, M. A., Hernández-Rodríguez, A., Vences-Contreras, C., Jáquez-Balderrama, J. L., & Ojeda-Barrios, D. (2012). Lombricomposta y composta de estiércol de ganado vacuno lechero como fertilizantes y mejoradores de suelo. *Universidad y ciencia*, 28(1), 27-37.

Ortiz, R., & Renato, A. (2013). Elaboración de abono orgánico tipo biol a partir de estiércol de codorniz enriquecido con alfalfa y roca fosfórica para elevar su contenido de nitrógeno y fósforo. Recuperado de <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/6642>

Owamah, H. I., Dahunsi, S. O., Oranusi, U. S., & Alfa, M. I. (2014). Fertilizer and sanitary quality of digestate biofertilizer from the co-digestion of food waste

and human excreta. *Waste Management*, 34(4), 747-752. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.01.017>

Parra, Ricardo. (2015). Anaerobic digestión: Biotechnological mechanisms in waste water treatments and their application in food industry. Recuperado 3 de noviembre de 2019, de Scielo website: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552015000200014

Pathak, D., & Kumar, M. (2016). Microbial Inoculants as Biofertilizers and Biopesticides. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2647-5_11

Peralta-Veran, L., Juscamaita-Morales, J., & Meza-Contreras, V. (2016). Obtención y caracterización de abono orgánico líquido a través del tratamiento de excretas del ganado vacuno de un establo lechero usando un consorcio microbiano ácido láctico. *Ecología Aplicada*, 15(1), 1-10.

Ramos, A., Durango, J., Grandett, G., Díaz, B., & Barrera, J. L. (2006). Evaluación de las diferentes formas de potasio en suelos de la zona platanera de Córdoba (Colombia). *Agronomía Colombiana*, 24(2), 334-339.

Restrero, J. (2011). Elaboración de abonos orgánicos fermentados y biofertilizantes foliares (SIBE). Recuperado 13 de febrero de 2019, de SIBE website: <http://bibliotecasibe.ecosur.mx/sibe/book/000028259>

Rivas-Solano, O., Faith-Vargas, M., & Guillén-Watson, R. (2011). Biodigestores: Factores químicos, físicos y biológicos relacionados con su productividad. *Revista Tecnología en Marcha*, 23(1), 39.

Rojas, H. (2014). Estudio del efecto de la aplicación de microorganismos efectivos en la calidad del biol en un proceso de biodigestión anaeróbica. 86.

Sánchez, W. (2008). Prueba de La Catalasa | Microbiología | Patología clínica. Recuperado 3 de noviembre de 2019, de SCRIB website: <https://es.scribd.com/doc/8705261/Prueba-de-La-Catalasa>

Sánchez-Monedero, M. A., Roig, A., Paredes, C., & Bernal, M. P. (2001). Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, EC and maturity of the composting mixtures. *Bioresource Technology*, 78(3), 301-308. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00031-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00031-1)

Saraz, J. A. O., Velásquez, H. J. C., & Sánchez, H. G. (2007). Evaluación de un sistema de biodigestión en serie para clima frío. 60(2), 18.

Sierra, C. A. S., & Barrios, R. L. A. (2013). Biogás a partir de residuos orgánicos y su apuesta como combustibles de segunda generación. *Ingenium*, 14(28), 6-15.

- Squeo, L., & León, F. (2007). Capítulo III Transpiración. 1, 67-78.
- Tamayo, J. A. S. (2009). Diseño, Construcción y Puesta en Marcha de un Biodigestor a Escala Piloto para la Generación de Biogás y Fertilizante Orgánico. 140.
- Tortora, N., Oliva, M., López, Y. (2007). Estudios de eliminación de microorganismos patógenos de residuales porcinos en un biorreactor con tiempo de retención corto. Venezuela: Rev. Comp. Producción.
- Torres, C. P., & de Prager, M. S. (2014). Efecto de la aplicación de roca fosfórica y la inoculación con bacterias solubilizadoras de fosfatos sobre el crecimiento del ají (*Capsicum annum L.*). Acta Agronómica., 9.
- VARNERO, M.T. 2011. "Manual del biogás" Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Santiago de Chile, Chile. 119.
- Villanueva, E. B. D., Rosa, A. T., Benintende, S., Cariello, M. E., Castañeda, L., Figoni, E., ... Mascheroni, F. (2015). Estudio de la población microbiana en las etapas iniciales del compostaje. *ceres*, 48(280). Recuperado de <http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/2774>
- Winarso, S., Pandutama, M. H., & Purwanto, L. D. (2016). Effectivity of Humic Substance Extracted from Palm Oil Compost as Liquid Fertilizer and Heavy Metal Bioremediation. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 9, 146-157. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.110>
- Zapata, F., & Roy, R. N. (2007). Utilización de las rocas fosfóricas para una agricultura sostenible. Roma: FAO: Organismo Internacional de Energía Atómica.
- Zúñiga, D. (2012). Manual de Microbiología Agrícola: Rhizobium, PGPRs, Indicadores de Fertilidad e Inocuidad. Universidad Agraria La Molina. Lima-Perú: Ed. Olaya M.

ANEXO 1: PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FÓSFORO

A. Curva de calibración

Para la construcción de la curva de calibración de fósforo, se usó como solución patrón 0.57 g del reactivo fosfato de sodio dibásico dodecahidratado ($\text{NaHPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) a una concentración de 100 ppm, que fue diluida en agua destilada usando una fiola de 100 mL de capacidad. A partir de la solución patrón se realizaron diluciones que permitió determinar los valores en la recta (Tabla 10).

Tabla 10. Diluciones a partir de la solución patrón para la construcción de la curva de calibración de fósforo

Concentración (ppm)	Volumen sol. Patrón (mL)	Volumen de agua destilada (mL)	Volumen total (mL)
0.5	0.125	24.87	25
0.7	0.175	24.82	25
0.8	0.1	24.9	25
0.9	0.225	24.77	25
1	0.25	24.75	25

El volumen de las diluciones mostradas en la Tabla 10, fueron colocados en fiolas de 25 mL y se le añadió 2.5 mL de reactivo de Molibdato de amonio de forma directa hacia la solución, evitando el derrame en las paredes de la fiola, de forma seguida se añadió 1mL de cloruro estañoso y se aforó a 25 mL usando agua destilada. Las soluciones fueron leídas usando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 660 nm.

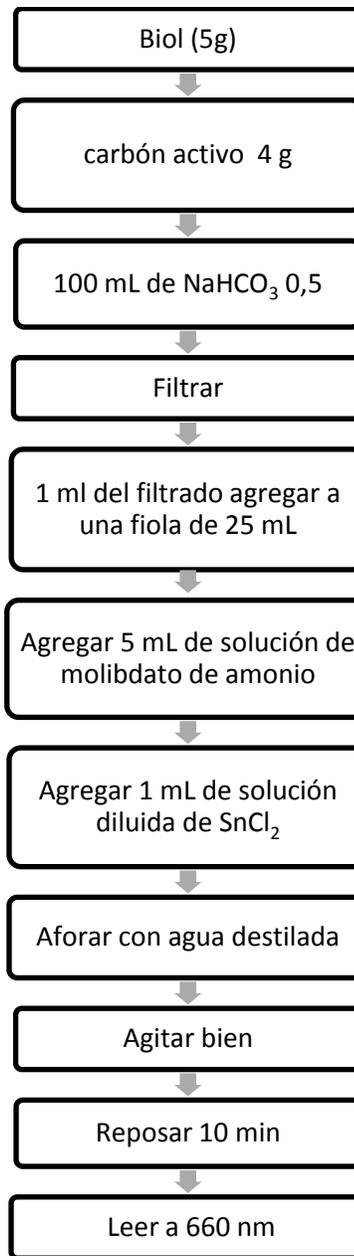
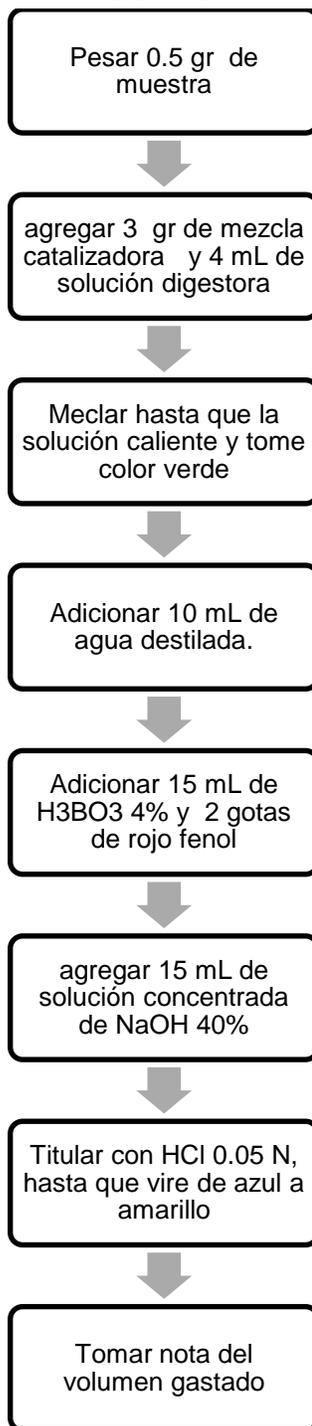


Figura 18. Flujo de proceso de preparación de muestras para la cuantificación del contenido de fósforo en muestras de biol.

ANEXO 2: PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE NITRÓGENO



ANEXO 3: DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE POTASIO

A. Curva de calibración

La curva de calibración de potasio se determinó a partir de una solución de acetato de amoníaco al 1N (solución A) y una solución patrón de potasio (solución B):

Solución A: acetato de amoníaco 1N, pH7

En una probeta se añadió ácido acético glacial en un volumen de 28.75 mL y se aforó a 250 mL con agua destilada; en otra probeta se diluyó 37.5 ml de amoníaco y se aforó a 250 mL con agua destilada, ambas diluciones se mezclaron lentamente y se dejó enfriar hasta una temperatura de 20°C a 25°C y se ajustó un pH de 7.

Se pesaron 0.47 gr de cloruro de potasio (KCl) y se diluyó en 250 mL de agua destilada; las diluciones fueron medidas a 786 nm de acuerdo a la Tabla 11.

Tabla 11. Concentración de diluciones en ml para la lectura de la curva de calibración de potasio.

Concentración de diluciones de potasio a 25mL	
Solución patrón (mL)	Acetato de amoníaco (mL)
0.25	24.75
0.5	24.5
1.25	23.75
2.5	22.5

Dilución a partir de cc. 2.5 mL	
solución patrón (mL)	acetato de amoníaco (mL)
0.25	24.75
0.5	24.5
1.25	23.75

ANEXO 4. MEDIDAS DE pH

Tabla 12. Medida del pH en la fase líquida de la fermentación respecto al tiempo en días de fermentación, la tabla muestra los datos correspondientes a la primera repetición.

Tratamiento	Tiempo (días)					
	15	30	45	60	75	90
Control	5.12	5.89	6.73	7.04	7.13	7.14
T1	5.43	5.77	6.45	7.01	7.09	7.11
T2	4.63	5.49	6.12	6.92	7.05	7.08
T3	4.82	5.59	6.67	7.02	7.1	7.13

Tabla 13. Medida del pH en la digestión respecto a los días de fermentación, la tabla muestra los datos correspondientes a la segunda repetición.

Tratamiento	TIEMPO (días)					
	15	30	45	60	75	90
Control	5.22	5.78	6.69	7.01	7.1	7.12
T1	5.4	5.69	6.48	7.03	7.14	7.15
T2	4.71	5.53	6.19	6.9	7.03	7.1
T3	4.89	5.61	6.7	7	7.09	7.12

Tabla 14. Medida del pH en la digestión respecto a los días de fermentación, la tabla muestra los datos correspondientes a la tercera repetición.

Tratamiento	TIEMPO (días)					
	15	30	45	60	75	90
Control	5.14	5.86	6.71	7.03	7.14	7.15
T1	5.39	5.75	6.47	7.03	7.1	7.11
T2	4.68	5.5	6.15	6.91	7.06	7.09
T3	4.80	5.58	6.69	7.01	7.08	7.11

ANEXO 5. MEDIDA DE PERÍMETRO Y DIÁMETRO DE CÁMARA DE LLANTAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE BIOGÁS

Tabla 15. Determinación del volumen de biogás generado durante la primera corrida, por el método de desplazamiento de agua. La tabla muestra el volumen de biogás en cm³ por tratamiento.

Tratamiento	Volumen de biogás en cm3					Biogás total (cm3)
	1	2	3	4	5	
Control	350.049	351.708	351.708	326.823	260.463	1640.751
T1	287.007	298.62	313.551	303.597	293.643	1496.418
T2	321.846	316.869	326.823	325.164	295.302	1586.004
T3	290.325	296.961	305.256	303.597	295.302	1491.441

Tabla 16. Determinación del volumen de biogás generado durante la segunda corrida, por el método de desplazamiento de agua. La tabla muestra el volumen de biogás en cm³ por tratamiento.

Tratamiento	volumen de biogás en cm3					Biogás total (cm3)
	1	2	3	4	5	
Control	320.187	346.731	346.731	320.187	326.823	1660.659
T1	287.007	305.256	326.823	305.256	295.302	1519.644
T2	320.187	320.187	346.731	318.528	263.781	1569.414
T3	318.528	326.823	305.256	265.44	262.122	1478.169

Tabla 17. Determinación del volumen de biogás generado durante la tercera corrida, por el método de desplazamiento de agua. La tabla muestra el volumen de biogás en cm³ por tratamiento.

Tratamiento	Volumen de biogás en cm ³					Biogás total (cm ³)
	1	2	3	4	5	
control	343.413	341.754	343.413	326.823	320.187	1675.59
T1	282.03	305.256	305.256	288.666	287.007	1468.215
T2	318.528	320.187	326.823	305.256	287.007	1557.801
T3	290.325	298.62	326.823	287.007	288.666	1491.441

ANEXO 6. DATOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE POTASIO

Tabla 18. Datos de la concentración de potasio obtenidos de muestras de biol de los diferentes tratamientos al finalizar la primera corrida experimental.

Tratamiento	Absorbancia 768 nm	concentración (ppm)
Control	0.05	5.242
T1	0.045	4.716
T2	0.027	2.821
T3	0.034	3.558

Tabla 19. Datos de la concentración de potasio obtenidos de muestras de biol de los diferentes tratamientos al finalizar la segunda corrida experimental

Tratamiento	Absorbancia 768 nm	Concentración (ppm)
Control	0.051	5.347
T1	0.049	5.137
T2	0.024	2.505
T3	0.037	3.874

Tabla 20. Datos de la concentración de potasio obtenidos de muestras de biol de los diferentes tratamientos al finalizar la tercera corrida experimental

Tratamiento	Absorbancia 768 nm	Concentración (ppm)
Control	0.054	5.663
T1	0.046	4.821
T2	0.023	2.400
T3	0.03	3.137

ANEXO 7. DATOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FÓSFORO

Tabla 21. Datos de la concentración de fósforo en muestras de biol de los diferentes tratamientos al finalizar la primera corrida experimental

Tratamiento	Absorbancia (660nm)	concentración (ppm)
Control	0.204	0.576
T1	0.231	0.592
T2	0.279	0.620
T3	0.218	0.584

Tabla 22. Datos de la concentración de fósforo en muestras de biol de los diferentes tratamientos al finalizar la segunda corrida experimental.

Tratamiento	Absorbancia (660nm)	concentración (ppm)
Control	0.211	0.580
T1	0.232	0.592
T2	0.27	0.615
T3	0.22	0.585

Tabla 23. Datos de la concentración de fósforo en muestras de biol de los diferentes tratamientos al finalizar la tercera corrida experimental.

Tratamiento	Absorbancia (660nm)	concentración (ppm)
Control	0.208	0.578
T1	0.237	0.595
T2	0.276	0.618
T3	0.221	0.586

ANEXO 8.CUANTIFICACIÓN DE NITRÓGENO

Tabla 24. Determinación del contenido de nitrógenos en muestras de biol obtenidas a partir del proceso fermentativo durante la primera corrida.

muestra	Nitrógeno %
Control	6.160
T1	3.930
T2	4.280
T3	3.990

Tabla 25. Determinación del contenido de nitrógenos en muestras de biol obtenidas a partir del proceso fermentativo durante la segunda corrida.

muestra	Nitrógeno %
Control	5.370
T1	3.820
T2	4.830
T3	3.230

Tabla 26. Determinación del contenido de nitrógenos en muestras de biol obtenidas a partir del proceso fermentativo durante la tercera corrida.

muestra	Nitrógeno %
Control	4.540
T1	3.230
T2	4.200
T3	2.190

ANEXO 9. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE SOLUBILIZACIÓN DE FÓSFORO BICÁLCICO Y TRICÁLCICO

Tabla 27. Determinación de la capacidad de solubilización de fósforo, la tabla la capacidad de solubilización de 10 bacterias seleccionadas por medio de la diferenciación de tamaños de colonias y formación de halos en los medios de cultivo Nbrip Bicálcico y tricálcico.

tratamiento	Repeticiones	07 /07 /017						21/07/2017					
		Bicálcico 28 °C			Tricálcico 28°C			Bicálcico 28°C			Tricálcico 28°C		
		Colonia (mm)	Halo (mm)	Diferencia (mm)	Colonia (mm)	Halo (mm)	Diferencia (mm)	Colonia (mm)	Halo (mm)	Diferencia (mm)	Colonia (mm)	Halo (mm)	Diferencia (mm)
C-01	R1	5.09	0	5.09	6.22	0	0	6.29	0	6.29	6.24	0	0
	R2	4.67	0	4.67	7.09	0	0	4.99	0	4.99	6.76	0	0
	R3	5.97	0	5.97	7.13	0	0	6.12	0	6.12	6.96	0	0
C-02	R1	6.05	0	6.05	6.97	0	0	6.67	0	6.67	6.95	0	0
	R2	4.19	0	4.19	5.85	0	0	4.31	0	4.31	7.08	0	0
	R3	6.52	0	6.52	7.55	0	0	6.63	0	6.63	7.05	0	0
C-03	R1	6.88	0	6.88	6.06	0	0	6.01	0	6.01	5.87	0	0
	R2	5.26	0	5.26	6.75	0	0	4.19	0	4.19	6.36	0	0
	R3	7.25	0	7.25	5.57	0	0	6.36	0	6.36	6.85	0	0
T1 -01	R1	6.23	0	6.23	5.82	0	0	6.34	0	6.34	6.63	0	0
	R2	5.22	0	5.22	5.86	0	0	4.45	0	4.45	6.54	0	0
	R3	6.03	0	6.03	6.44	0	0	5.81	0	5.81	7.14	0	0
T2 -01	R1	5.4	0	5.4	6.02	0	0	6.18	0	6.18	6.75	0	0
	R2	4.18	0	4.18	5.63	0	0	4.19	0	4.19	6.8	0	0
	R3	6.62		6.62	6.06	0	0	6.13	0	6.13	7.41	0	0
T2 -02	R1	5.5	7.5	2	5.65	0	0	5.77	7.8	2.03	5.77	0	0
	R2	3.5	6.28	2.78	5.09	0	0	4.06	6.35	2.29	5.41	0	0
	R3	6.22	8.67	2.45	6.13	0	0	6.33	8.9	2.57	6.1	0	0

T2 -03	R1	7.65	0	7.65	5.87	0	0	6.31	0	6.31	6.54	0	0
	R2	4.23	0	4.23	5.17	0	0	4.13	0	4.13	6.74	0	0
	R3	6.44	0	6.44	6.86	0	0	6.07	0	6.07	7.29	0	0
T3 -01	R1	7.15	9.69	2.54	7.54	0	0	7.77	9.9	2.13	6.8	0	0
	R2	4.75	6.55	1.8	6.6	0	0	4.9	7.01	2.11	6.39	0	0
	R3	7.56	9.77	2.21	8.17	0	0	7.82	9.9	2.08	6.53	0	0
T3-02	R1	5.25	0	5.25	5.8	0	0	5.62	0	5.62	5.18	0	0
	R2	4.26	0	4.26	5.96	0	0	3.37	0	3.37	5.78	0	0
	R3	5.7	0	5.7	6.21	0	0	5.78	0	5.78	5.56	0	0
T3 -03	R1	7.52	11.29	3.77	7.04	0	0	8.02	12.4	4.38	7.06	0	0
	R2	7.29	6.59	0.7	6.94	0	0	7.29	6.7	0.59	6.93	0	0
	R3	6.83	9.9	3.07	6.57	0	0	6.9	10	3.1	6.89	0	0

ANEXO 10. ANALISIS ESTADÍSTICO

ANEXO 10.1. Análisis de datos de la cuantificación del contenido de nitrógeno

Tabla 28. Análisis descriptivo de los datos obtenidos de la cuantificación de nitrógeno por el método de kejhdal, con intervalo de confianza de 95%.

Tratamientos	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
Control	3	3.1167	0.87552	0.50548	0.9418	5.2916	2.19	3.93
T1	3	4.4367	0.34298	0.19802	3.5847	5.2887	4.20	4.83
T2	3	3.6800	0.39887	0.23029	2.6891	4.6709	3.23	3.99
T3	3	5.3567	0.81008	0.46770	3.3443	7.3690	4.54	6.16
Total	12	4.1475	1.03921	0.30000	3.4872	4.8078	2.19	6.16

Tabla 29. Prueba ANOVA, en datos de determinación de nitrógeno

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig. (valor P)
Entre grupos	8.481	3	2.827	6.653	0.014
Dentro de grupos	3.399	8	0.425		
Total	11.880	11			

ANEXO 10.2. Análisis de datos de la cuantificación del contenido de potasio

Tabla 30. Análisis descriptivo de los datos de la cuantificación de potasio en muestras de Biol, con el 95% de confianza

tratamientos	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
Control	3	4.71433	0.480955	0.277679	3.51958	5.90909	4.189	5.133
T1	3	3.27733	0.540345	0.311968	1.93504	4.61962	2.821	3.874
T2	3	2.82100	0.640416	0.369745	1.23012	4.41188	2.400	3.558
T3	3	5.24200	0.482152	0.278371	4.04427	6.43973	4.716	5.663
Total	12	4.01367	1.137178	0.328275	3.29114	4.73620	2.400	5.663

Tabla 31. Prueba ANOVA, en datos de determinación de Potasio

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	11.893	3	3.964	13.601	0.002
Dentro de grupos	2.332	8	0.291		
Total	14.225	11			

ANEXO 10.3. Análisis de datos de la cuantificación del contenido de fósforo**Tabla 32.** Análisis estadístico aplicada a los datos de la cuantificación de fósforo en muestras de Biol, con el 95% de confianza

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Límite		Mínimo	Máximo
					inferior	superior		
Control	3	0.57800	0.002000	0.001155	0.57303	0.58297	0.576	0.580
T1	3	0.59367	0.003786	0.002186	0.58426	0.60307	0.591	0.598
T2	3	0.62167	0.001528	0.000882	0.61787	0.62546	0.620	0.623
T3	3	0.63233	0.004041	0.002333	0.62229	0.64237	0.628	0.636
Total	12	0.60642	0.022757	0.006570	0.59196	0.62088	0.576	0.636

Tabla 33. Prueba ANOVA, en datos de determinación de Fósforo

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0.006	3	0.002	202.628	0.000
Dentro de grupos	0.000	8	0.000		
Total	0.006	11			

ANEXO 10.4. ANÁLISIS DE DATOS DEL CRECIMIENTO DE FRUTO DE RABANITO

Tabla 34. Análisis estadístico aplicada a los datos del crecimiento de los frutos de rabanito tratados con diferentes muestras de bioll, con el 95% de confianza

TRATAMIENTOS	N	Media	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
Agua	3	4.0	0.264575	6.61438%	3.8	4.3	0.5
Control	3	4.1	0.1	2.43902%	4.0	4.2	0.2
T1	3	4.56667	0.378594	8.29038%	4.3	5.0	0.7
T2	3	4.43333	0.321455	7.25087%	4.2	4.8	0.6
T3	3	5.73333	0.251661	4.38944%	5.5	6.0	0.5
Total	15	4.56667	0.68313	14.9591%	3.8	6.0	2.2

Tabla 35. ANOVA del diámetro del fruto de rabanito por tratamientos de biol

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	5.75333	4	1.43833	18.44	0.0001
Intra grupos	0.78	10	0.078		
Total (Corr.)	6.53333	14			

Tabla 36. Análisis estadístico aplicada a los datos de la altura de las plantas de rabanito tratadas con diferentes muestras de bioll, con el 95% de confianza

TRATAMIENTOS	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
Agua	3	12.7	0.8544	6.72756%	11.8	13.5	1.7
Control	3	14.5	0.7	4.82759%	13.7	15.0	1.3
T1	3	15.5	0.556776	3.59211%	14.9	16.0	1.1
T2	3	15.9333	0.776745	4.87497%	15.3	16.8	1.5
T3	3	20.3333	0.550757	2.70864%	19.7	20.7	1.0
Total	15	15.7933	2.68261	16.9857%	11.8	20.7	8.9

Tabla 37. ANOVA de la altura de las plantas de rabanito por tratamientos de biol

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	95.876	4	23.969	49.18	0.0000
Intra grupos	4.87333	10	0.487333		
Total (Corr.)	100.749	14			

Tabla 38. Análisis estadístico aplicada a los datos del largo de hoja de las plantas de rabanito tratadas con diferentes muestras de bioll, con el 95% de confianza

<i>TRATAMIENTOS</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Coefficiente de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Rango</i>
Agua	3	8.8	0.608276	6.91223%	8.4	9.5	1.1
Control	3	10.9333	0.702377	6.42418%	10.2	11.6	1.4
T1	3	11.7867	0.780085	6.61837%	11.0	12.56	1.56
T2	3	11.6	0.4	3.44828%	11.2	12.0	0.8
T3	3	13.1333	0.351188	2.67402%	12.8	13.5	0.7
Total	15	11.2507	1.55129	13.7884%	8.4	13.5	5.1

Tabla 39. ANOVA del largo de hoja de las plantas de rabanito por tratamientos de biol

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	30.1807	4	7.54517	21.49	0.0001
Intra grupos	3.5104	10	0.35104		
Total (Corr.)	33.6911	14			

EFECTO DE LA ADICIÓN DE ROCA FOSFÓRICA Y ALFALFA EN LA MEJORA DE LA CALIDAD QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE BIOL Y BIOGAS

por TANY YALU AZAÑA COLCHADO

Fecha de entrega: 05-dic-2019 11:47a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1227802009

Nombre del archivo: fa_en_la_calidad_qu_mica_y_microbiol_gica_del_biol_y_biogas.docx
(10.63M)

Total de palabras: 18968

Total de caracteres: 9986

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ROCA FOSFÓRICA Y ALFALFA EN LA mejora de CALIDAD QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE BIOL Y BIOGAS

INFORME DE ORIGINALIDAD

20%

INDICE DE SIMILITUD

18%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

13%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	5%
2	docplayer.es Fuente de Internet	2%
3	docslide.net Fuente de Internet	1%
4	repositorio.uta.edu.ec Fuente de Internet	1%
5	idus.us.es Fuente de Internet	1%
6	www.cubasolar.cu Fuente de Internet	1%
7	ridum.umanizales.edu.co:8080 Fuente de Internet	1%
8	Submitted to UNIV DE LAS AMERICAS Trabajo del estudiante	1%

9	www.scielo.org.pe Fuente de Internet	<1%
10	12104411.blogspot.com.ar Fuente de Internet	<1%
11	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	<1%
12	Submitted to ECCI Trabajo del estudiante	<1%
13	www.perusolar.org Fuente de Internet	<1%
14	documents.mx Fuente de Internet	<1%
15	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	<1%
16	www.scielo.org.co Fuente de Internet	<1%
17	www.scribd.com Fuente de Internet	<1%
18	www.piaggio.com.pe Fuente de Internet	<1%
19	Submitted to Universidad Santo Tomas Trabajo del estudiante	<1%
20	Submitted to Universidad Católica de Santa	<1%

María

Trabajo del estudiante

21	www.biobioorganico.cl Fuente de Internet	<1%
22	Submitted to Universidad Peruana Cayetano Heredia Trabajo del estudiante	<1%
23	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	<1%
24	bdigital.unal.edu.co Fuente de Internet	<1%
25	Submitted to CONACYT Trabajo del estudiante	<1%
26	cio.mx Fuente de Internet	<1%
27	repositorio.unapiquitos.edu.pe Fuente de Internet	<1%
28	repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr Fuente de Internet	<1%
29	tierra.rediris.es Fuente de Internet	<1%
30	www.upm.es Fuente de Internet	<1%
31	Submitted to Fundacion Universidad de America	

	Trabajo del estudiante	<1%
32	www.acontecerveracruzano.com.mx Fuente de Internet	<1%
33	www.galapagos-islas.com Fuente de Internet	<1%
34	www.slideshare.net Fuente de Internet	<1%
35	repositorio.una.edu.ni Fuente de Internet	<1%
36	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1%
37	dspace.umh.es Fuente de Internet	<1%
38	Submitted to Consorcio CIXUG Trabajo del estudiante	<1%
39	Submitted to Universidad de Jaén Trabajo del estudiante	<1%
40	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	<1%
41	Tadashi Kato. "Nitrogen Metabolism and Utilization in Citrus", Wiley, 2011 Publicación	<1%

www.fertilizando.com

42	Fuente de Internet	<1%
43	redpav-fpolar.info.ve Fuente de Internet	<1%
44	www.upme.gov.co Fuente de Internet	<1%
45	Submitted to Universidad Distrital FJDC Trabajo del estudiante	<1%
46	bibdigital.epn.edu.ec Fuente de Internet	<1%
47	oa.upm.es Fuente de Internet	<1%
48	Submitted to Universidad Nacional de Tumbes Trabajo del estudiante	<1%
49	gasure.udea.edu.co Fuente de Internet	<1%
50	Submitted to Universidad de Cundinamarca Trabajo del estudiante	<1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 15 words

Excluir bibliografía

Activo