

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEÚTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS

PROGRAMA PROFESIONAL DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA



EVALUACIÓN DE AC. GIBERELICO, AC. INDOLACETICO, KINETINA COMO BIOESTIMULANTES EN BIOLES PRODUCIDOS POR DIGESTIÓN ANAEROBIA DE RESIDUOS VEGETALES DE ALCACHOFA, BRÓCOLI Y ESPÁRRAGO CON LICOR RUMINAL DE LLAMA (Lama glama) Y VACUNO (Bos primigenius taurus) MEDIANTE LA TÉCNICA DE HPLC.

Tesis presentada por las Bachilleres:

RAFFO ROMERO, ANTONELLA MILAGROS

VEGA PINTO, PAOLA DEL ROSARIO

Para optar el título Profesional de:

INGENIERO BIOTECNÓLOGO

AREQUIPA-PERÚ

2012
1

INDICE GENERAL

RESUMEN	
i ABSTRACT	
ii I.- INTRODUCCIÓN	1
1.1.- OBJETIVOS	3
1.2.- HIPOTESIS	4
1.3.- VARIABLES E INDICADORES.....	4
II.- INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1.- RESIDUOS VEGETALES	5
2.1.1.- ALCACHOFA	6
2.1.2.- BROCOLI	11
2.1.3.- ESPARRAGO	14
2.2.- ABONOS ORGANICOS	18
2.3.- BIOESTIMULANTES.....	20
2.3.1.- ACIDO GIBERELICO	21
2.3.2.- KINETINAS	23
2.3.3.- ACIDO INDOLACETICO	26
2.3.4.- TECNICAS DE DETERMINACION DE BIOESTIMULANTES	28
2.3.4.1.- HPLC.....	29
2.4.- DEGRADACION DE RESIDUOS ORGANICOS	31
2.5.- BIODIGESTORES	34
2.6.- BIOL	38
2.6.1.- USOS DEL BIOL	40
2.6.2.- TIPOS DE BIOL	40

2.7.- FUENTE MICROBIANA	42
2.8.- PERSPECTIVAS FUTURAS	49
III.- MATERIALES Y METODOS	48
3.1.- MATERIALES	48
3.1.1.- LUGAR DE EJECUCION	48
3.1.2.- MATERIAL BIOLÓGICO	48
3.1.3.- MATERIAL DE LABORATORIO	48
3.2.- METODOS	49
3.2.1.- CONFIGURACION EXPERIMENTAL	49
3.2.2.- MATERIAL DE EXPERIMENTACION	53
3.2.2.1.- RECOLECCION RESIDUOS VEGETALES	53
3.2.2.2.- OBTENCION LICOR RUMINAL	54
3.2.3.- CONFIGURACION ESPERFIMMENTAL BIODIGESTORES	54
3.2.4.- OBTENCION DEL BIOL.....	55
3.2.5.- EVALUACION DE BIOL	57
3.2.5.1.- PRE TRATAMIENTO.....	57
3.2.5.2.- ANALISIS FISIOLÓGICO	58
3.2.5.3.- EFECTO BIOL PLANTA	60
3.2.6.- EVALUACION DE BIOESTIMUJLANTES MEDIANTE LA TECNICA DE HPLC	61
3.2.7.- TRATAMIENTO ESTADISTICO	62
IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	64
4.1.- RECOLECCION DE RESIDUOS VEGETALES	64
4.2.- OBTENCION DE LICOR RUMINAL DE VACUNO Y LLAMA	65
4.3.- CONFIGURACION EXPERIMENTAL DE BIODIGESTORES	65
4.4.- OBTENCION DEL BIOL	67

4.4.1.- CONTROL DE PARAMETROS DE BIODIGESTION	68
4.5.- EVALUACION DE BIOL	72
4.5.1.- PRE TRATAMIENTO	72
4.5.2.- EFECTO BIOL PLANTA	74
4.5.3.- ANALISIS FISIOLÓGICO	81
4.5.3.1.-ANALISIS DE GERMINACION ALTURA A LA APARICION DE HOJAS VERDADERAS,NUMERO DE DE NUDOS, LARGO DE RAIZ, Y MASA RADICULAR PARA LA SELECCIÓN DE LOS SEIS MEJORES TRATAMIENTOS	81
4.5.3.2.- SELECCIÓN DE LOS 6 MEJORES TRATAMIENTOS PARA SER EVALUADOS EN HPLC	91
4.5.3.3.- EVALUACION DEL PORCENTAJE DE GERMINACION PARA HALLAR LA MEJOR PROPORCION, MEJOR RESIDUO AGRICOLA, Y MEJOR LICOR RUMINAL	92
4.6.- EVALUACION DE BIOESTIMULANTES	96
CONCLUSIONES	102
RECOMENDACIONES	104
BIBLIOGRAFÍA	105

INDICE DE TABLAS

TABLA 1.- COMPOSICION NUTRICIONAL POR CADA 100 GRAMOS DE ALCACHOFA.....	10
TABLA 2.- COMPOSICION BIOQUIMICA POR 100 GRAMOS DE PRODUCTO COMESTIBLE.....	14
TABLA 3.- COMPOSICION BIOQUIMIA POR 100 GRAMOS DE ESPARRAGO	18
TABLA 4.- COMPOSICION BIOQUIMA DEL BIOL	39
TABLA 5.- PROPORCIONES USADAS EN LOS BIODIGESTORES DE LOS 18 TRATAMIENTOS (LLAMA	56
TABLA 6.- PROPORCIONES USADAS EN LOS BIODIGESTORES DE LOS 18 TRATAMIENTOS (VACUNO)	57
TABLA 7.- CUADRO DE SOLUCIONES STOCK DE BIOESTIMULANTES ...	61
TABLA 8.- TABLA DE LA GRADIENTE NECESARIA PARA HPLC	62
TABLA 9.- CANTIDADES DE RESIDUO Y LIQUIDO EN LOS BIODIGESTORES DE LOS 18 TGRATAMIENTOS	65
TABLA 10.- RENDIMIENTO DE LOS 18 TRATAMIENTOS	71
TABLA 11.- DIFERENCIAS ESTADISTICAS EN LA GERMINACION DE SEMILLAS DE TOMATE Y BROCOLI REMOJADAS EN LOS 18 BIOLES A LAS TRES DIFERENTRES CONCENTRACIONES	73
TABLA 12.- CARACTERISTICAS EVALUADAS A LA GERMINACION Y DESARROLLO DE LA PLANTULA	75
TABLA 13.- DIFEERENCIAS ESTADISTICAS DEL % DE GERMINACION, ALTURA HOJAS VERDADURAS, # NUDOS, LARGO RAIZ MASA RADICULAR.....	81
TABLA 14.- DIFERENCIAS ESTADISTICAS DEL PORCENTAJE DE GERMINACION DE SEMILLAS DE ALCACHOFA, BROCOLI TOMATE, ESPARRAGO	84
TABLA 15.- CUADRO MIXTO DE PORCENTAJE DE GERMINACION	85
TABLA 16.- CUADRO MIXTO DE ALTURA A LA APARICION DE HOJAS VERDADERAS.....	87
TABLA 17.- CUADRO MIXTO DE NUMERO DE NUDOS	89
TABLA 18.- CUADRO RESUMEN DE LOS MEJORES BIOLES PARA CADA PARAMETRO ANALIZADO	92

TABLA 19.- DIFERENCIAS ESTADISTICAS EN EL PORCENTAJE DE GERMINACION PARA CONOCER LA MEJOR PROPORCION ...	93
TABLA 20.- DIFERENCIAS ESTADISTICAS EN EL PORCENTAJE DE GERMINACION PARA CONOCER EL MEJOR RESIDUO AGRICOLA	94
TABLA 21.- DIFERENCIAS ESTADISTICAS EN EL PORCENTAJE DE GERMINACION PARA CONOCER EL MEJOR LICORRUMINAL	95
TABLA 22.- CONCENTRACION HALLADA DE LOS BIOLES SELECCIONADOS MEDIANTE LA TECNICA DE HPLC	99
ANEXO 6.- ANALISIS ESTADISTICO DEL PRE TRATAMIENTO DE GERMINACION.....	129
TABLA 23.- ANALISIS ANOVA PARA EL PORCENTAJE DE GERMINACION EN EL PRE TRATAMIENTO	129
TABLA 24.- PRUEBA DE MULTIPLES RANGOS PARA EL PRE TRATAMIENTO EN GERMINACION DE SEMILLAS DE TOMATE	129
TABLA 25.- PRUEBA DE MULTIPLES RANGOS PARA EL PRE TRATAMIENTO EN GERMINACION DE SEMILLAS DE BROCOLI	129
ANEXO 7.- IMPACTO BIOL-PLANTA	130
TABLA 26.- PRUEBA DE MULTIPLES RANGOS PARA EL EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN GERMINACION DE LAS PLANTULAS DE ESPARRAGO.....	130
TABLA 27.- PRUEBA DE MULTIPLES RANGOS PARA EL EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN GERMINACION DE LAS PLANTULAS DE BROCOLI	130
TABLA 28.- PRUEBA DE MULTIPLES RANGOS PARA EL EFECTO DE LOS TRATAMIENTO EN GERMINACION DE LAS PLANTULAS DE ALCACHOFA	131
ANEXO 8.- ANALISIS ESTADISTICO DEL ANALISIS FISIOLÓGICO.....	132
TABLA 29.- ANALISIS DE VARIANAZA PARA EL PORCENTAJE DE GERMINACION ENTRES RESIDUOS AGRICOLAS.....	132
TABLA 30.- ANALISIS DE VARIANZA PARA EL PORCENTAJE DE GERMINACION ENTRE PROPORCIONES	132
TABLA 31.- ANALISIS DE VARIANZA PARA EL PORCENTAJE DE GERMINACION ENTRE LOS LICORES RUMINALES.....	132

TABLA 32.- ANALISIS DE VARIANZA PARA EL PORCENTAJE DE GERMINACION DE CADA TRATAMIENTO.....	133
TABLA 33.- PRUEBA DE MULTIPLES RANGOS PARA EL PORCENTAJE DE GERMINACION POR CADA TRATAMIENTO	133
TABLA 34.- ANALISIS DE VARIANZA PARA PORCENTAJE DE GERMINACION POR CADA PLANTULA	134
TABLA 35.- PRUEBAS DE MULTIPLES RANGOS PARA EL PORCENTAJE DE GERMINACION POR CADA PLANTULA.....	134
TABLA 36.- ANALISIS DE ANOVA DEL PROCENTAJE DE GERMINACION Y LOS RESIDUOS AGRICOLAS.....	134
TABLA 37.- ANALISIS DE ANOVA DEL PROCENTJAE DE GERMINACION Y LAS PROPORCIONES USADAS EN LOS TRATAMIENTOS	135
TABLA 38.- PRUEBA T-STUDENT PARA EL % DE GERMINACION Y LOS LICORES RUMINALES USADOS EN LOS TRATAMIENTOS	135
TABLA 39.- ANALISIS DE VARIANZA PARA LA ALTURA A LA APARICION DE HOJAS COTILEDONEAS PARA CADA TRATAMIENTO EN LAS CUATRO PLANTULAS	135
TABLA 40.- PRUEBA DE MULTIPLES RANGOS PARA LA ALTURA A LA APARICION DE HOJAS COTILEDONEAS POR CADA TRATAMIENTO EN LAS CUATRO PLANTULAS	136
TABLA 41.- ANALISIS DE VARIANZA PARA LA ALTURA DE HOJAS VERDADERAS ENTRE LOS RESIDUOS AGRICOLAS	137
TABLA 42.- ANALISIS DE VARIANZA PARA LA ALTURA DE HOJAS VERDADERAS ENTRE LAS PROPORCIONES	138
TABLA 43.- ANALISIS DE VARIANZA PARA LA ALTURA DE HOJAS VERDADERAS ENTRE LOS LICORES RUMINALES	138
TABLA 44.- ANALISIS DE VARIANZA PARA LA ALTURA DE HOJAS VERDADERAS POR CADA TRATAMIENTO EN LAS CUATRO PLANTULAS	138
TABLA 45.- PRUEBAS DE MULTIPLES RANGOS PARA ALTURA A LA APARICION DE HOJAS VERDADERAS POR CADA TRATAMIENTO EN LAS CUATRO PLANTULAS	139
TABLA 46.- ANALISIS DE ANOVA DE ALTURA A LA APARICION DE HOJAS VERDADERAS Y LOS TRES RESIDUOS AGRICOLAS.....	139
TABLA 47.- ANALISIS DE ANOVA DE ALTURA A LA APARICION DE HOJAS VERDADERAS Y LAS TRES PROPORCIONES	139

TABLA 48.- PRUEBA T-STUDENT PARA ALTURA A LA APARICION DE HOJAS VERDADERAS Y LOS LICORES RUMINALES	139
TABLA 49.- ANALISIS DE VARIANZA PARA EL NUMERO DE NUDOS ENTRE LOS RESIDUOS AGRICOLAS.....	141
TABLA 50.- ANALISIS DE VARIANZA PARA EL NUMERO DE NUDOS ENTRE PROPORCIONES.....	141
TABLA 51.- ANALISIS DE VARIANZA PARA EL NUMERO DE NUDOS ENTRE LICORES RUMINALES.....	141
TABLA 52.- ANALISIS DE VARIANZA PARA EL NUMERO DE NUDOS POR CADA TRATAMIENTO.....	141
TABLA 53.- PRUEBA DE MULTIPLES RANGOS PARA EL NUMERO DE NUDOS POR CADA TRATAMIENTO	142
TABLA 54.- ANALISIS DE ANOVA PARA EL NUMERO DE NUDOS Y LOS TRES RESIDUOS AGRICOLAS	142
TABLA 55.- ANALISIS DE ANOVA PARA EL NUMERO DE NUDOS Y LAS TRES PROPORCIONES USADAS	143
TABLA 56.- PRUEBA T-STUDENT PARA EL NUMERO DE NUDOS Y LOS DOS LICORES RUMINALES	143
TABLA 57.- COMPARACION DE LARGO DE RAIZ EN LOS DIFERENTES TRATAMINETOS EN LAS ESPECIES CULTIVADAS	144
TABLA 58.- COMPARACION DEL GROSOR DE LA RAIZ EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS EN LAS ESPECIES CULTIVADAS	145
TABLA 59.- COMPARACION DE LA MASA RADICULAR EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS EN LAS ESPECIES CULTIVADAS	146
TABLA 60.- AREA Y TIEMPO DE RETENCION DE ACUERDO A LAS CONCENTRACIONES DE LAS SOLUCIONES STOCK DE AG-3, AIA Y KINETINA.	148

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.- PRODUCCION DE LOS PRINCIPALES PAISES PRODUCTORES DE ESPARRAGO EXCLUYENDO CHINA.....	17
FIGURA 2.- ESTRUCTURA DE LA KINETINA	25
FIGURA 3.- ESTRUCTURA DE LA AIA	26
FIGURA 4.- BIOSINTESIS DEL ACIDO INDOLACETICO A PARTIR DEL TRIPTOFANO EN PLANTAS Y BACTERIAS	28
FIGURA 5.- CROMATOGRAMA RESULTANTE DE LA INYECCION DE UHN EXTRACTO DE UNA CAPSULA DE VITAMINA E, DISUELTA EN SOLVENTE ORGANICO	30
FIGURA 6.- ESQUEMA DE LAS REACCIONES DE LA DIGESTION ANAEROBIA DE MATERIALES POLIMERICOS	34
FIGURA 7.- ESTOMAGO DE RUMIANTES	45
FIGURA 8.- LUGAR EXPERIMENTAL DE LA B IODIGESTION.....	52
FIGURA 9.- LUGAR EXPERIMENTAL PARA ANALISIS FIOSIOLOGICO PARA LAS TRES REPETICIONES	53
FIGURA 10.- RESIDUOS VEGETALES	53
FIGURA 11.- LICOR RUMINAL DE LLAMA Y VACA	54
FIGURA 12.- IMAGEN DEL BIODIGESTOR CON SU PUNTO DE MUESTREO DE MEDICION DE TEMPERATURA Y SALIDA DE GASES	67
FIGURA 13.- BIOLES OBTENIDOS Y ALMACENADOS.....	68
FIGURA 14.- IMAGEN DE LOS 9 BIOLES DE LICOR RUMINAL DE LLAMA	68
FIGURA 15.- IMAGEN DE LOS 9 BIOLES DE LICOR RUMINAL VACUNO	69
FIGURA 16.- CURVA DE LOS Ph DE LOS BIOLES CON LICOR RUMINAL DE LLAMA Y VACUNO DURANTE 60 DIAS DE BIODIGESTION	69
FIGURA 17.- CURVA DE LA TEMPERATURA DE LOS BIOLES CON LICOR RUMINAL DE LLAMA Y VACUNO	70
FIGURA 18.- RENDIMIENTO EXPRESADO EN PORCENTAJE DE LOS 18 TRATAMIENTOS	72

FIGURA 19.- DIFERENCIA ENTRE LAS TRES CONCENTRACIONES EN EL PRETRATAMIENTO DE SEMILLAS DE BROCOLI.....	73
FIGURA 20.- GERMINACION DE SEMILLAS DE TOMATE REMOJADAS EN LOS 18 BIOLES A LAS 3 DIFERENTES CONCENTRACIONES	74
FIGURA 21.- GERMINACION DE SEMILLAS DE BROCOLI REMOJADAS EN LOS 18 BIOLES EN 3 DIFERENTES CONCENTRACIONES	74
FIGURA 22.- IMPACTO EN EL RESIDUO AGRICOLA DE ESPARRAGO.....	76
FIGURA 23.- IMPACTO EN EL RESIDUO AGRICOLA DE BROCOLI	77
FIGURA 24.- IMPACTO EN EL RESIDUO AGRICOLA DE ALCACHOFA	78
FIGURA 25.- IMPACTO AG3 EN PORCENTAJE DE GERMINACION	78
FIGURA 26.- IMPACTO DEL AGUA EN PORCENTAJE DE GERMINACION	79
FIGURA 27.- IMPACTO EN EL BC1 EN PORCENTAJE DE GERMINACION	79
FIGURA 28.- IMPACTO DEL BC2 EN PORCENTAJE DE GERMINACION.....	80
FIGURA 29.- PORCENTAJE DE GERMINACION PARA LOS TRATAMIENTOS ..	83
FIGURA 30.- PORCENTAJE DE GERMINACION PARA LAS 4 PLANTULAS.....	84
FIGURA 31.- ALTURA A LA APARICION DE HOJAS VERDADERAS POR CADA TRATAMIENTO EN LAS 4 PLANTULAS	86
FIGURA 32.- NUMERO DE NUDOS POR CADA TRATAMIENTO DE LAS CUATRO PLANTULAS	88
FIGURA 33.- ANALISIS CUALITATIVO DEL LARGO DE RAIZ PARA LOS 22 TRATAMIENTOS	89
FIGURA 34.- ANALISIS CUALITATIVO DE LA MASA RADICULAR PARA CADA TRATAMIENTO	91
FIGURA 35.- PORCENTAJE DE GERMINACION PARA CONOCER LA MEJOR PROPORCION	93
FIGURA 36.- PORCENTAJE DE GERMINACION PARA CONOCER EL MEJOR RESIDUO	94
FIGURA 37.- PORCENTAJE DE GERMINACION PARA CONOCER EL MEJOR LICOR RUMINAL	95

FIGURA 38.- CROMATOGRAMAS DE LAS SOLUCIONES STOCK DE AG3, AIA Y KINETINA	96
FIGURA 39.- CURVA PATRON DEL AG3	97
FIGURA 40.- CURVA DE CALIBRACION DE LA KINETINA	97
FIGURA 41.- CURVA PATRON PARA EL AIA	99
ANEXO 2 – FOTOGRAFIAS DEL DISEÑO DE BIODIGESTORES FIGURA 42.- ELABORACION DEL DISPOSITIVO DE MEDICION DE TEMPERATURA	112
FIGURA 43.- ELABORACION DE SALIDA DE GASES Y PUNTO DE MUESTREO PARA Ph	112
FIGURA 44.- SELLADO HERMETICO DE LOS PUNTOS DE MEDICION EN CADA BIODIGESTOR	113
ANEXO 3.- FOTOGRAFIAS DE OBTENCION DE BIOL	
FIGURA 45.- RECOLECCION DE BIOL DE LOS DIGESTORES AL FINAL DE LA DIGESTION ANAEROBIA	113
ANEXO 4.- FOTOGRAFIAS DEL PRE TRATAMIENTO	
FIGURA 46.- REMOJO DE SEMILLA	114
FIGURA 47.- PREPARACION DE SERVILLETAS PARA EL PRE TRATAMIENTO.....	114
FIGURA 48.- GERMINACION DE SEMILLAS EN SERVILLETAS	115
ANEXO 5.- FOTOGRAFIAS DEL ANALISIS FISIOLÓGICO	116
FIGURA 49.- CONTEO DE SEMILLAS PARA REMOJO	116
FIGURA 50.- REMOJO DE SEMILLAS	116
FIGURA 51.- PREPARACION DE BANDEJAS PARA LA SIEMBRA.....	117
FIGURA 52.- SEMBRADO DE SEMILLAS	117
FIGURA 53.- DESARROLLO DE LAS PLANTULAS DE ALCACHOFA DE LA REPETICION 1.....	118
FIGURA 54.- DESARROLLO DE LAS PLANTULAS DE ALCACHOFA DE LA REPETICION 2.....	118
FIGURA 55.- DESARROLLO DE LAS PLANTULAS DE ALCACHOFA DE LA REPETICION 3.....	118
FIGURA 56.- PLANTULA DE ALCACHOFA	119

FIGURA 57.- DESARROLLO DE LA PLANTULA DE ESPARRAGO DE LA REPETICION 1.....	119
FIGURA 58.- DESARROLLO DE LA PLANTULA DE ESPARRAGO DE LA REPEETICION 2.....	119
FIGURA 59.- DESARROLLO DE LA PLANTULA DE ESPARRAGO DE LA REPETICION 3.....	120
FIGURA 60.- PLANTULA DE ESPARRAGO.....	120
FIGURA 61.- DESARROLLO DE LA PLANTULA DE BROCOLI DE LA REPETICION 1.....	121
FIGURA 62.- DESARROLLO DE LA PLANTULA DE BROCOLI DE LA REPETICION 2.....	121
FIGURA 63.- DESARROLLO DE LA PLANTULA DE BROCOLI DE LA REPETICION 3.....	122
FIGURA 64.- PLANTULA DE ESPARRAGO.....	122
FIGURA 65.- DESARROLLO DE LA PLANTULA DE TOMATE DE LA REPETICION 1.....	123
FIGURA 66.- DESARROLLO DE LA PLANTULA DE TOMATE DE LA REPETICION 2.....	123
FIGURA 67.- DESARROLLO DE LA PLANTULA DE TOMATE DE LA REPETICION 3.....	124
FIGURA 68.- PLANTULA DE TOMATE	124
FIGURA 69.- EVALUACION DE RAIZ DE LA PLANTULA DE BROCOLI	125
FIGURA 70.- EVALUACION DE RAIZ DE LA PLANTULA DE TOMATE	125
FIGURA 71.- EVALUACION DE RAIZ DE LA PLANTULA DE ALCACHOFA	126
FIGURA 72.- EVALUACION DE RAIZ DE LA PLANTULA DE ESPARRAGO	126
FIGURA 73.- CONTEO DE NUDOS EN PLANTULA DE BROCOLI	127
FIGURA 74.- CONTEO DE NUDOS EN PLANTULA DE TOMATE	127
FIGURA 75.- CONTEO DE NUDOS EN PLANTULA DE ALCACHOFA	128
FIGURA 76.- CONTEO DE NUDOS EN PLANTULA DE ESPARRAGO	128
FIGURA 77.- ALTURA A LA APARICION DE HOJAS COTILEDONEAS A LOS 22 TRATAMIENTOS	137
FIGURA 78.- ANALISIS CUALITATIVO DEL GORSOR DE RAIZ PARA CADA TRATAMIENTO POR LAS CUATRO PLANTULAS.....	146

DEDICATORIA

A nuestros padres Miryam y Jose Luis; Rosa y Marco, como un testimonio de nuestro cariño y eterno agradecimiento por nuestra existencia, valores morales y formación profesional. Porque sin escatimar esfuerzo alguno, han sacrificado gran parte de su vida para formarnos y porque nunca podremos pagar todos sus desvelos, ni aún con las riquezas más grandes del mundo.

A nuestros hermanos Magali y Giovanni, porque su apoyo incondicional y por formar parte activa del desarrollo del presente trabajo.

A nuestro pequeño Luis Eduardo que con su inocencia y el gran corazón de niño nos dió la alegría y fortaleza en este camino.

A todos nuestros amigos los que directa e indirectamente ayudaron a la realización de este proyecto.

A la vida.

“Lo importante en la vida no es el triunfo sino la lucha. Lo esencial no es haber vencido, sino haber luchado bien.”

(Barón Pierre de Coubertin)

AGRACEDIMIENTO

Gracias a ti Dios por bendecirnos para llegar hasta donde hemos llegado, por darnos salud para lograr nuestros objetivos, por darnos la fortaleza para seguir en los momentos difíciles que se nos presentaron a lo largo del desarrollo de este trabajo.

A nuestra asesora de tesis, Magister Roxana Bardales por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en nosotras que podamos terminar nuestros estudios con éxito.

A nuestros profesores durante toda nuestra carrera profesional, aquellos que marcaron cada etapa de nuestro camino universitario, porque todos han aportado con un granito de arena a nuestra formación y ayudaron en asesorías y dudas presentadas en la elaboración de la tesis. En especial a nuestro profesor el Dr. Jose Villanueva por su apoyo ofrecido en este trabajo.

De igual manera agradecer a nuestros jurados por su revisión crítica en muchos aspectos, por su rectitud en su profesión como docentes, por sus consejos, que ayudan a formarte como persona e investigador.

Por ultimo agradecerles a nuestros padres, por ser nuestros aliados, nuestro ejemplo y sobre todo gracias por el apoyo incondicional para esta tesis; a nuestros hermanos por su paciencia, esfuerzo e incondicional amor para hacer realidad éste sueño; a nuestras abuelitas que con su amor nos dieron mucha fuerza y valor para seguir; a nuestros amigos que con su ayuda, su compañía, cariño y tiempo estuvieron siempre con nosotras siendo cómplices en ésta aventura.

Amigos y familiares gracias por estar con nosotras, por su confianza, cariño y todo el apoyo recibido.

Gracias, eternamente gracias, a todos.

RESUMEN

El presente estudio trata del aprovechamiento de los residuos vegetales del esparrago, la alcachofa y el brócoli en la obtención de bioles o abonos orgánicos a través de procesos de biodigestión anaerobia con licor ruminal de llama y licor ruminal de vacuno, evaluando la presencia de 3 bioestimulantes AG3, AIA y Kinetina por HPLC de bioles seleccionados por su efecto fisiológico tanto de germinación como desarrollo de plántula de 4 especies, determinando el mejor residuo vegetal, la mejor proporción y la mejor fuente microbiana. Para tal fin se realizaron 18 biodigestores para producir 18 tipos diferentes de bioles: 3 residuos agrícolas (alcachofa, esparrago y brocoli), 2 tipos de inóculos microbianos (licor ruminal de llama y vacuno) en 3 proporciones de residuos y licor ruminal (1:1, 2:1 y 1:2). En el proceso se evaluó los parámetros de temperatura diariamente y pH cada 3 días y al finalizar el proceso a los 60 días se obtuvieron los bioles los cuales fueron cuantificados para analizar el rendimiento. Estos 18 tratamientos fueron evaluados primero fisiológicamente a través de la germinación de semillas de tomate y brocoli en servilletas para obtener el porcentaje más óptimo de utilización de nuestros bioles. Segundo, se evaluó el efecto de los bioles en diferentes características de 4 especies vegetales, 3 correspondientes a las especies de los residuos vegetales y un testigo el tomate, para ello se trataron desde la semilla hasta la formación de plántulas, 8 semillas por 3 repeticiones de cada tratamiento, evaluándose porcentaje de germinación, altura a la aparición de hojas cotiledoneas, altura a la aparición de hojas verdaderas, largo de raíz, grosor de raíz, masa radicular y número de nudos por tallo. Luego de analizar estas variables se seleccionaron los mejores 6 tratamientos que pasarían a ser medidos el contenido de bioestimulantes AG3, AIA y Kinetina por HPLC. Obteniéndose de los tratamientos de concentraciones biol (25%, 50% y 75%) en la germinación de semillas de tomate y brocoli como el mejor porcentaje el 25%, el mismo que se aplicó para el análisis fisiológico del biol en 4 especies vegetales de los 18 tratamientos de biol, de los cuales se seleccionaron 6 en base a la respuesta de evaluación de plántula, que incluyen como el mejor residuo agrícola el esparrago, el mejor inóculo microbiano el licor ruminal de llama y la mejor proporción de 2:1 correspondiente 2 de residuo agrícola y 1 de licor ruminal. Los mismos que fueron analizados por HPLC, encontrando AIA en los 3 bioles correspondientes a los 3 residuos tratados con licor ruminal de llama, en cuanto a AG3 y Kinetina fueron encontrados en 1 biol de alcachofa con licor ruminal de vacuno.

ABSTRACT

This study is the use of waste vegetable asparagus, artichokes and broccoli in obtaining of organic bioles or fertilizers across the process of anaerobic biodigestion process with rumen liquor of Lama and rume liquor of cattle and evaluating the presence of 3 bioestimulantes GA3, IAA and kinetin bioles HPLC of selected bioles for both physiological effect of seedling germination and development of four species, determining the best kind of vegetable rest, the best rate and the best microbial source. To that were 18 digesters to produce 18 different types of bioles: 3 agricultural wastes (artichoke, asparagus and broccoli), two types of microbial inoculum (rumen liquor called and cattle) in three proportions of waste and rumen fluid (1: 1, 2:1 and 1:2). In the process parameters were evaluated daily temperature and pH every 3 days and at the end of the process at 60 days were obtained which were quantified bioles to analyze performance. These 18 treatments were evaluated first physiologically in the seed germination of tomato and broccoli in the percentage napkins for more optimal use of our bioles. Second, we evaluated the effect of different characteristics bioles in 4 plants, 3 planst of the vegetable resources and a control the tomato, for this the proces was since the seed up the formation from seed to seedling, 8 seeds for 3 reps each treatment, evaluation of germination percentage, height at the cotyledon leaf appearance, height to the emergence of true leaves, root length, root thickness, root mass and number of nodes per stem. After analyzing these variables were selected the top six would become treatments measured bioestimulantes content GA3, IAA and kinetin by HPLC. Obtaining biol treatments concentrations (25%,

50% and 75%) in the seed germination and tomato broccoli as the best percentage of 25%, the same analysis was applied to 4-biol physiological plant species biol the 18 treatments, of which 6 were selected based on the response evaluation of seedlings, including the best agricultural residue asparagus, microbial inoculum better flame rumen liquor and the corresponding 2:1 ratio better 2 of agricultural residue and 1 rumen fluid. They were analyzed by HPLC, AIA found in the 3 bioles 3 residues corresponding to the rumen liquor treated with flame, and about AG3 were found in 1 Kinetin artichoke biol bovine rumen liquor.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Actualmente en el mundo hay una tendencia creciente para obtener y consumir productos inocuos generados sin emplear insumos sintéticos, como insecticidas, herbicidas o fertilizantes inorgánicos en base al manejo de una agricultura orgánica, que tiene una demanda cada vez mayor en los mercados nacionales e internacionales, en los que los clientes están dispuestos a pagar precios más altos debido a que buscan comestibles saludables.(Zuleta, et al., 2006).

Una de las posibilidades de desarrollo agrícola libre de químicos y con un alto valor nutritivo, es el uso de abonos orgánicos entre ellos el Biol, que ayuda a mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas, producido en forma natural y económica (Colque, et al., 2005). En su elaboración es posible el aprovechamiento de los residuos agroindustriales que siguen convirtiéndose en un gran problema no sólo ambiental sino económico, ya que las mismas empresas tienen que asumir altos costos de disposición de éstos. (Yepes, et al., 2008)

Actualmente la creciente producción alcachofa, brócoli y espárrago trae como consecuencia un alto porcentaje de residuos agrícolas de estas plantas que son desaprovechados. Con lo que nace la interrogante de realizar bioles con los residuos

agrícolas para la mejor utilización de estos con diferentes inóculos microbianos como los licores ruminales de llama y vacuno.

Es por esto que hoy en día se ve como alternativa producir abonos orgánicos líquidos, con los residuos agroindustriales, proporcionando información del valor bioestimulante de los bioles obtenidos con diferentes licores ruminales y en las proporciones adecuadas. Es en este punto que se genera la oportunidad de desarrollo de investigación sobre cómo realizar el abono orgánico líquido a partir de residuos agroindustriales.



OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar Ac. Giberélico, Ac. Indolacético y Kinetina como bioestimulantes en bioles producidos por digestión anaerobia a partir de un inóculo del licor ruminal de llama (*Lama Glama*) y vacuno (*Bos primigenius taurus*) con residuos vegetales de alcachofa, brócoli y espárrago mediante HPLC.

Objetivos Específicos

1. Evaluar la producción de biol en base a un biodigestor configurado con las particularidades necesarias para realizar la digestión anaerobia de los residuos de plantas.
2. Analizar calidad del biol de 3 residuos agrícolas alcachofa, espárrago y brócoli con 2 fuentes de inóculo microbiano de licor ruminal de llama y vacuno y 3 proporciones 1:1, 1:2 y 2:1, a través de un análisis fisiológico durante los estadios de desarrollo de plántulas de exportación y tomate.
3. Determinar y cuantificar mediante la técnica de HPLC 3 fitohormonas AG3, AIA y Kinetina en bioles seleccionados de la respuesta del análisis fisiológico.

HIPÓTESIS

Dado que en la actualidad existen innumerables problemas con el bajo aprovechamiento de los residuos agroindustriales obtenidos en grandes cantidades en los campos de cultivo en nuestra localidad y localidades aledañas, se vio como alternativa su aprovechamiento en el manejo de agricultura orgánica, realizando la producción de 18 bioles orgánicos con un tratamiento anaeróbico con diferentes residuos vegetales con dos inóculos microbianos de licor ruminal de llama y vacuno a tres diferentes proporciones 1:1 1:2 2:1 en los cuales se determinara fitoestimulantes naturales como auxina, citoquinina, giberelina mediante la técnica de HPLC y se hallarán los mejores bioles producidos y se determinara la mejor fuente microbiana, mejor fuente de carbono y mejor proporción con una acción en la germinación y desarrollo de plántulas.

VARIABLES E INDICADORES

Variables

➤ Independientes

- Fuentes de residuos agrícolas: Alcachofa, esparrago y brócoli.
- Fuentes de licor ruminal: Llama y vacuno
- Proporciones de materia orgánica y líquido en biodigestores: 1:1, 1:2, 2:1.

Indicadores

- Temperatura: 25-35 °C: la que se mide con termómetro de mercurio.
- pH: 6 a 7.5, el cual es medido con el pHmetro del laboratorio H 101 de la Universidad Católica de Santa María.

CAPÍTULO II

INVESTIGACION BIBLIOGRÁFICA

2.1. Residuos vegetales

Se consideran residuos orgánicos vegetales de la producción agrícola a los residuos de cosecha que están formados por los órganos aéreos y subterráneos de las plantas. También se denominan rastrojos a los residuos de la parte aérea que permanecen en la superficie del suelo después de la cosecha. La cantidad de residuos de cosecha que se aporta a un suelo depende de la biomasa alcanzada en un ciclo de producción.

Los residuos de cosecha aportan biomasa y nutrientes minerales al ser incorporados al suelo. La mayoría de los rastrojos que son aportados anualmente se hallan en un rango de 6.000-8.000kg/ha, como materia seca, lo que significa un aporte de 3.000-3.500kg/ha de carbono y un contenido de nitrógeno que oscila alrededor de los 50kg/ha, por lo que la quema de los rastrojos no sólo implica pérdida de N, sino también la disminución o detención en la acumulación de carbono orgánico necesario para abastecer de energía bioquímica y para la formación de nuevos materiales celulares de labio masa del suelo.

Desde el punto de vista nutricional el aporte de fósforo en los rastrojos no es relevante, ya que la mayor concentración del mismo en los órganos vegetales está en las semillas de las especies cultivadas, por lo que es cosechado; no así el potasio, donde un alto contenido se concentra en los rastrojos; esto es especialmente importante en algunos cereales como el

maíz, cuya extracción puede alcanzar hasta 200kg/ha anualmente, cantidad que a veces supera al potasio de intercambio y dos tercios de esta extracción se encuentra en los residuos de cosecha. (Rodríguez, 1992)

Los constituyentes orgánicos de las plantas se dividen generalmente en seis amplios grupos; la celulosa, el constituyente químico más abundante, cuya cantidad varía del 15% a 60% de peso seco; hemicelulosas, que forman frecuentemente del 10% al 30% del peso; lignina, que constituye del 5% al 30% de la planta; la fracción soluble en agua, que incluye azúcares simples, aminoácidos y ácidos alifáticos, que contribuye del 5% al 30% en peso del tejido; constituyentes solubles en alcohol y éter, fracción que contiene grasas, aceites, ceras, resinas y un número determinado de pigmentos y proteínas que tienen en su estructura la mayor parte del nitrógeno o azufre vegetal.

Los constituyentes minerales, generalmente determinados por el análisis de las cenizas varían del 1% al 13% del total del tejido (Alexander, 1996).

2.1.1.- Alcachofa

La alcachofa (*Cynara scolymus*), pertenece a la familia Compositae, cuyo cultivo tiene la finalidad de aprovechar su yema floral, o inflorescencia en capítulo. Se caracteriza por su tallo firme y cabeza compacta, con hojas verdes y flexibles, resistentes y sin manchas, rasgos que identifican a una buena alcachofa y le dan un lugar muy bueno en el mundo de la gastronomía. (Villacis, 2009).

La estructura de la planta se compone en planta que puede considerarse como bianual y trianual, conservándose como vivaz en cultivos muy abandonados y con notable

decrecimiento de la producción. Tallos erguidos, gruesos, acanalados longitudinalmente y ramificados, con más de un metro de altura. Sus hojas son largas, pubescentes (cubierta de pelos suaves y blanquecinos), grandes de 0,9 a un metro de color verde claro por encima y algodonosas por debajo. En cuanto a su sistema radicular, este le permite adaptarse a diferentes tipos de suelos debido a que posee un tallo subterráneo muy desarrollado en los que se acumula los nutrientes para el desarrollo de la planta. Sus flores tienen terminales muy gruesas, recubiertas por escamas membranosas imbricadas (hojas que se recubren entre sí como las tejas) y carnosas en la base constituyendo la parte comestible. El fruto es un aquenio provisto de vilano (pelos simples) que cubren la flor, de forma oblonga y color grisáceo, que son considerados como la semilla de la planta, pesando el litro de 600 a 610 gramos y durando de seis a doce años su facultad germinativa. La forma de la parte comestible es la inflorescencia, alargada o achatada, en forma de rosetón, con hojas verdes superpuestas que parecen escamas y unida al vástago a este se le denomina —corazón de alcachofa con un tamaño y peso variables según la variedad y el uso culinario, varía desde menos de 50 gramos hasta unos 100 gramos o más. (Chaguaro, 2009).

El sector de la alcachofa genera dos tipos de residuos agrícolas. Los más importantes los genera la industria transformadora de este producto. El 70% en peso de la flor de la alcachofa corresponde a las hojas externas o brácteas no destinadas al consumo humano. Sin embargo, estos residuos agrícolas son útiles para la alimentación animal y están destinados a la elaboración de forrajes ensilados (Megías et al., 1991). Por otra parte, la alcachofa contiene sustancias con aplicabilidad terapéutica como cinarina, cinaropicrina, inulina, flavonoides y sales potásicas (Hammouda y Seif-El-Nars, 1993). Estos productos

se utilizan como principios activos en presentaciones simples y compuestas y en fórmulas magistrales para el tratamiento de la anorexia, hepatitis, hipercolesterolemia, arteriosclerosis, hipertensión arterial, estreñimiento, etc. Estudios realizados, han puesto de manifiesto el gran contenido de PPO y POD en las brácteas de la alcachofa. Las PPOs y PODs son enzimas con una alta utilización biotecnológica, por lo que su purificación a partir de una fuente barata, como los residuos agrícolas de la alcachofa, podría tener un gran impacto económico.

El estudio de sus propiedades podría aconsejar su uso en diversos procesos, desplazando a otras PPOs o PODs utilizadas en la actualidad. Además, estos residuos industriales también son ricos en el polisacárido inulina. El otro desecho generado en el sector de la alcachofa es un residuo agrícola. Las hojas y las flores maduras se acumulan al final de cada periodo productivo. Las hojas contienen una alta concentración de una enzima llamada ascorbato peroxidasa (APX), así como cinarina y otros compuestos fenólicos. Las flores maduras contienen en sus estigmas, una alta concentración de una proteasa coagulante de la leche (Sidrach et al., 2005; Sidrach, et al., 2005).

Entre sus beneficios tenemos primero sus usos culinarios, también es un insumo para la industria farmacéutica y su abundante contenido de fibra favorece el tránsito intestinal. La alcachofa es considerada un alimento nutritivo y medicinal que ayuda al organismo de la siguiente manera (Chaguaro, 2009): Tiene un leve efecto reductor del colesterol, posee minerales que ayudan a la transmisión y generación del impulso nervioso y actividad muscular, ayuda al funcionamiento de intestinos, nervios y músculos, favorece el tránsito

intestinal, tiene un efecto diurético, posee sustancias utilizadas en lociones astringentes para el cutis.

La alcachofa tiene como principios activos a la cinarina y cinaropicrina que son compuestos aromáticos responsables del sabor amargo de la alcachofa. La cinarina se conoce por su efecto colerético y diurético. Líneas de investigación actuales se centran en el potencial papel preventivo de la cinaropicrina en enfermedades tumorales. También contiene el ácido cloro génico, compuesto fenólico con capacidad antioxidante. Así mismo tiene esteroides que son sustancias vegetales con semejanza química al colesterol animal, con capacidad para limitar la absorción del colesterol en el intestino; cinarosido, el cual es un flavonoide de acción antiinflamatoria. Y también tiene ácidos orgánicos (málico y cítrico, entre otros): se sabe que potencian la acción de la cinarina y del cinarosido, entre otras muchas funciones (Chaguaro, 2009).

Entre los principales países exportadores de alcachofa están España (20.000 TM anuales aportando 22.2 millones de dólares, con una contribución del 47% del volumen total mundial), Italia (10.030 TM anuales aportando 8.2 millones de dólares con una contribución del 20% del volumen total mundial) y Francia (7.977 TM anuales aportando 6.9 millones de dólares, con una contribución del 16% del volumen total mundial). (FAO, 2003) (Villacis, 2009).

Los principales países a los que se exportó la alcachofa peruana preparada entre enero y noviembre del año 2008 fueron Estados Unidos (43.1 millones de dólares), España (11.3 millones), Francia (7.4 millones), Holanda (2.7 millones), Alemania (2.4 millones) y Canadá (1.7 millones). De acuerdo con las estadísticas de Adex, la exportación de

alcachofas preparadas o en conservas creció de enero a noviembre del 2008 en 38 por ciento y la de alcachofas frescas o refrigeradas en 17 por ciento, respecto a similar período de 2007.(Agencia Peruana de Noticias, 2008).

Del análisis de la planta se desprende la presencia mayoritaria de agua, seguida de hidratos de carbono, el nutriente más abundante, en forma de inulina y fibra; cantidades medias de proteínas en comparación con otras verduras e insignificantes de grasas. La composición nutricional por cada 100 gramos de alcachofa se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición nutricional por cada 100gr de alcachofa.

Por 100 g de producto comestible		
Componente	Contenido	Unidades
Agua	82.5	%
Albuminas	1.5	%
Grasas	0.1	%
Carbohidratos	9.40	%
Cenizas	6.5	%
Potasio	0.243	%
Sodio	0.075	%
Calcio	0.097	%
Magnesio	0.042	%
Fosforo	0.390	%
Hierro	0.025	%
Azufre	0.052	%
Cloro	0.022	%
Vitamina A	20	Mg
Vitamina B1	0.25	Mg
Vitamina B2	0.25	Mg
Vitamina C	0.25	Mg
Vitamina E	0.25	Mg
Vitamina K	0.50	Mg

Fuente: Agroinca, 2008.

2.1.2.- Brócoli

El brócoli *Brassica olerace* var. *Itálica*, pertenece a la familia Brassicaceae de ciclo anual; es originaria del Mediterráneo, principalmente de Italia, en donde se ha encontrado la mayor diversidad genética; un segundo centro de origen se ubica en Asia Menor (Barahona, 2002).

La planta desarrolla un tallo principal relativamente grueso (3 a 6cm. de diámetro), de 20 a 50cm. de alto, sobre el cual se disponen las hojas en forma helicoidal en entrenudos cortos. Las hojas son de tamaño grande, de hasta 50 cm. de longitud y 30cm. de ancho, y varía en número, de 15 a 30cm, según el cultivar. El tallo principal termina en la inflorescencia primaria, conformada por flores dispuestas en un corimbo principal o primario, denominado pan o pella, que corresponde a la parte aprovechada para el consumo. A partir de las ramificaciones de las yemas axilares puede desarrollar inflorescencias naturales (secundarias) de menor tamaño que la principal. La formación de pan no requiere vernalización, aunque existen variedades tardías o vernalizantes que si requieren de un período de bajas temperaturas para florecer. Ésta se gatilla genéticamente después de formarse cierto número de hojas, dependiente de la precocidad del cultivar. Debido al fenómeno de autoincompatibilidad, la variedad presente polinización cruzada entomófila (Giacconi, 1995; Coello, 2005).

El brócoli (*Brassica oleracea* L.) es una hortaliza de importancia económica a nivel mundial debido a sus valores alimenticios y medicinales. Tanto las hojas como la inflorescencia (florete) tienen alto valor nutricional por sus contenidos de proteínas, carbohidratos, fibra, calcio y hierro, entre otros (Yanaguchi, 1983; Fraire, et al., 2010)

El brócoli ha sido calificado como la hortaliza de mayor valor nutritivo por unidad de peso de producto comestible. Su aporte de vitaminas, principalmente C, B2 (riboflavina) y provitamina A, es elevado; además suministra cantidades significativas de minerales como Ca, K y especialmente P. Adicionalmente, en el último tiempo se han determinado una serie de compuestos que tendrían efectos benéficos en la prevención de cáncer, diversificando su consumo y cultivo, tanto como producto fresco como congelado, e incluso como deshidratado (Gebhardt, 1988; Guzmán, 2001).

Los glucosinolatos son uno de los compuestos bioactivos más importantes en el brócoli. Estos compuestos son químicamente estables hasta que entran en contacto con la degradación de la enzima mirosinasa (β -tioglucósido glucohidrolasa, CE 3.2.1.147), que se almacena en diferentes compartimentos de las células de la planta para separar de glucosinolatos. Cuando los tejidos vegetales están dañados, mirosinasa hidroliza rápidamente los glucosinolatos a la glucosa y otros compuestos intermedios inestables, que espontáneamente se reordenan para dar una variedad de productos biológicamente activos, incluyendo isotiocianatos, tiocianatos, epithionitriles o nitrilos dependiendo de las condiciones químicas (Jia et al, 2009).

El incremento significativo de su producción a nivel mundial se ha realizado recién durante los últimos años, en base al conocimiento de su calidad nutritiva y organoléptica. Este aumento de la preferencia por el brócoli coincide con la tendencia general observada en los principales mercados mundiales hacia el consumo de hortalizas. En la actualidad, Estados Unidos es el principal productor y consumidor de brócoli con, aproximadamente, 50 000ha sembradas. En América, el brócoli se cultiva también en México, Guatemala, Chile,

Ecuador y Perú. En Europa, principalmente en Italia, España, Francia, Reino Unido y Holanda. Otros países productores de esta hortaliza son Sudáfrica, Japón y Taiwan.

El cultivo de brócoli desde hace 40 años fue introducido en Perú y a partir del año 1990 la producción del brócoli se viene incrementando de manera significativa en la costa central conjuntamente con el desarrollo de una floreciente agroindustria de exportación de producto congelado. En el año 1992 se sembraron 330ha de esta hortaliza en Chincha y 70ha en Ica. En base a esto, se hace aquí un análisis de su cultivo en relación a las condiciones de producción de la costa central.

Los residuos vegetales se producen en grandes cantidades en el campo, en las industrias alimentarias y en los supermercados, estos residuos se caracterizan por su alto contenido de humedad y su gran volumen específico, la disposición adecuada de estos residuos es un problema de contaminación ambiental (Iguaz y col., 2003). Durante el cultivo de brócoli una vez recolectadas las inflorescencias de calidad comercial, el resto del vegetal es considerado como residuo, estos residuos lignocelulosicos constituyen alrededor del 70% del peso total de la planta de brócoli. Estos residuos lignocelulósicos son una fuente de fibra que está siendo explotada actualmente (Nawirska & Kwasniewska, 2005). Recientemente, el secado de estos residuos lignocelulósicos es una de las operaciones más utilizadas para disponer una fuente de fibra dietética, la cual es reconocida por sus efectos benéficos para la salud. (Cueva, et al., 2010).

La composición bioquímica del producto comestible de alcachofa se observa en la Tabla3.

Tabla 2. Composición bioquímica por 100gr de producto comestible.

Componente	Contenido	Unidades
Proteínas	5.45	G
Glúcidos	4.86	G
Calorías	42	U.I
Vitamina A	3500	U.I
Vitamina B1	100	Mg
Vitamina B2	210	Mg
Vitamina C	118	Mg
Calcio	130	Mg
Fósforo	76	Mg
Hierro	1.3	Mg

2.1.3.- Espárrago

El espárrago (*Asparagus officinalis L.*) es nativo de la parte oriental de Europa, especialmente en las cercanías de las montañas del Cáucaso y en Siberia, según Sturtevant (1890). Hoy en día el espárrago se encuentra en forma silvestre en varias partes de Europa, especialmente abundante en las diferentes secciones de Rusia. Alrededor de un centenar de especies de espárragos se informó del viejo mundo (Engler y Prantl 1888). De todos los tipos de espárragos el *asparagus officinalis* es el más importante económicamente y la única cultivada para alimentos. Varias de las otras especies son cultivadas con fines ornamentales.

La planta de espárrago presenta una porción subterránea conocida como araña que consiste en un rizoma expandido lateralmente y poco profundo que posee yemas en su extremo apical, raíces carnosas de almacenamiento y raíces laterales de absorción (Ornstrup, 1997).

El crecimiento de la araña ocurre cuando las yemas periféricas originan nuevos grupos de gemación para la próxima generación de la planta (Tiedjens, 1926). Al aumentar la temperatura hacia finales del invierno emergen del rizoma los brotes jóvenes llamados turiones, que son la parte comestible de la planta (Ornstrup, 1997), dependiendo su color de la variedad y del sistema de manejo (Barón & Vallejo, 1990). Los turiones que se desarrollan luego de la etapa de cosecha (primavera verano) forman el follaje conocido como helecho, el cual comienza a senescer en el otoño. El nivel de sacarosa de la raíz aumenta durante el período de dormancia invernal y puede servir como señal de inducción de las yemas cuando la temperatura aumenta (Drost, 1997).

El espárrago tiene un período promedio de cosecha de 10 años y llega al máximo de producción a los cuatro o cinco años. Una elevada productividad es esencial para tener un buen retorno de la inversión, teniendo en cuenta que el precio de turiones grandes es mayor que el de los pequeños, registrándose los precios más elevados al inicio de la primavera cuando comienzan a comercializarse los primeros volúmenes (Ellison, 1986; Asprelli et al., 2005).

Los espárragos son unos vegetales que poseen importantes características nutricionales, las cuales se deben a su composición química, rica en vitaminas y sales minerales. La planta del espárrago, conocida científicamente como *Asparagus officinalis*, tiene dentro de sus componentes una gran cantidad de betacarotenos, los cuales son los precursores en nuestro organismo de la vitamina A.

Los espárragos son ricos en vitaminas, las que más se destacan dentro de sus componentes C, B1, B6 y E, las cuales se encuentran en una proporción de 12, 0.2, 0.1 y

2 miligramos por cada 100 gramos de espárragos. Por otra parte, los espárragos tienen cerca de un 90% de agua, por lo que favorecen la eliminación de líquidos acumulados en nuestro organismo. Los espárragos presentan 2.5 gramos de proteínas y 2 gramos de fibra, por cada 100 gramos. Las sales minerales que tiene el espárrago son variadas, las que más se destacan por la abundancia son las de potasio, fósforo y calcio, las que se encuentran en una proporción de 260, 50 y 25 miligramos por cada 100 gramos de espárragos. (Schlegel y Zaborosch, 1993).

Hortaliza originaria de Asia, su cultivo en el Perú se inicia a principio de los años 50 en el departamento de La Libertad con la variedad Mary, siendo desplazada en la actualidad principalmente por la variedad UC157 F1.

A nivel mundial los principales productores de espárrago (*Asparagus officinalis* L.) son China, Perú, EE.UU. y México, tal y como se observa en la Figura 7. En Perú alrededor del 40% de la producción corresponde a espárrago verde, el cual se comercializa en fresco, mientras que el restante 60% corresponde a espárrago blanco, el cual es procesado y enviado a los mercados de la Unión Europea; los EE.UU. y México producen principalmente cultivares verdes (USDA, 2004). De acuerdo con cifras de Global Trade Information (GTI, 2004), durante el año 2003 los principales exportadores de espárrago fresco fueron Perú (66.844 t), México (47.657 t) y EE.UU. (23.675 t); mientras los principales importadores fueron EE.UU. (96.455 t), Unión Europea -15 (21.905 t) y Japón (17.850 t). (Pérez y Márquez, 2001).

Principales países productores (excluyendo a China) -2009-

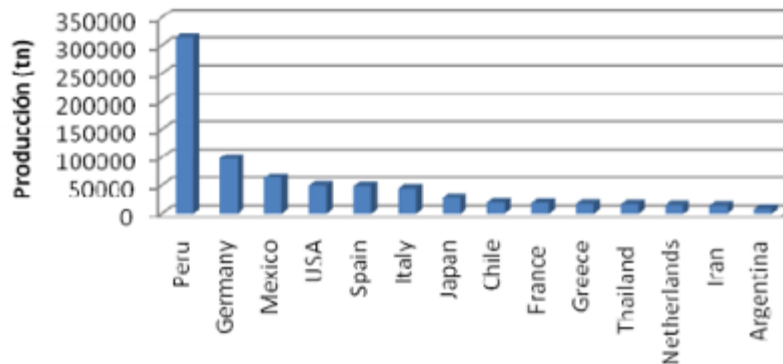


Figura 1. Producción de los principales países productores de espárrago excluyendo a China.

Fuente: Mauricio de la Cuba Restani (2011)

En el Perú, el departamento de La Libertad es el principal productor de espárrago a nivel nacional seguido de los departamentos de Ica y Lima. El espárrago (*Asparagus officinalis* L.) es una planta herbácea perenne de clima templado, su siembra y cosecha es todo el año. Industrialmente el espárrago blanco es comercializado en fresco o conservas, dejando en el último caso como residuo la cáscara o peladilla que representa aproximadamente el 20% del peso total del espárrago. Actualmente en la industria esparraguera, los principales destinos de los residuos orgánicos son la alimentación animal o el desecho en vertederos debido a que no se cuenta con una tecnología para su aprovechamiento (Infoagro, 2004). Sin embargo estos productos contienen sustancias o elementos fitoquímicos, entre ellos, flavonoides y quercitina, con propiedades antioxidantes (Saura-Calixto y otros, 2001; Andrango, 2007).

A continuación se muestra la Tabla 3 en el cual se observa el valor nutricional por cada 100 gramos de espárrago.

Tabla 3. Composición bioquímica por 100gr de espárrago.

Principios inmediatos	%
Agua	92,6g
Celulosa	0,7
Hidratos de carbono	4,5
Grasas	0,2
Proteínas	1,7
Purinas	0,04
Fibra	0,9
Minerales	
Potasio	220mg
Magnesio	16
Calcio	30
Sodio	3,5
Hierro	1,5
Fósforo	55
Cobre	0,19
Vitaminas	
Vitamina A	1,600 U.I.
Vitamina C	299mg
Vitamina Bi	0,1
Vitamina 82	0,14
Vitamina PP..	1

mcg = microgramos (millonésima parte de un gramo) **Fuente:** Diccionario de los Alimentos **Elaborado por:** Vallejos Jeanneth

Dada la importancia que tiene la recuperación y aprovechamiento de cualquier resto vegetal en beneficio de las propias tierras, la mejor forma de aprovechar los residuos vegetales de todo tipo generados en el mismo sin recurrir a su quema, destrucción o a su transporte a vertedero o como forraje, consiste en recuperarlos y procesarlos para conseguir su transformación en compost orgánico o en abono orgánico líquido. En realidad se tratan de dos procesos simples, fácilmente ejecutable en casi cualquier sitio sin grandes esfuerzos, y que nos permite obtener un claro beneficio en el coste del mantenimiento y en la recuperación de la materia orgánica.

Con los residuos vegetales se pueden obtener diferentes tipos de abonos orgánicos, anaerobios como el biol y de este también se produce el biogas, como también por procesos aerobios como lo son el compost o el humus.

2.2. Abonos orgánicos

Monroy, O. y Viniegra G. (1990), mencionan que los abonos orgánicos de origen animal constituyen el enfoque tradicional de las prácticas de fertilización orgánica, constituyendo una de las mejores formas para elevar la actividad biológica de los suelos, además sostiene que los residuos orgánicos son atacados, transformados y descompuestos por la mesofauna del suelo así como por microorganismos, quienes llevan a cabo la descomposición de la materia orgánica, produciendo anhídrido carbónico, agua, nitrógeno en forma amoniacal y nítrica, etc, proceso denominado mineralización.

Los abonos orgánicos son la base fundamental de la agricultura orgánica, existe una gran diversidad de este tipo de fertilizantes, pero los más conocidos son los estiércoles y purines de diferentes animales y el compost de residuos orgánicos, en principio, estos fertilizantes

disponen de la mayoría de nutrimentos necesarios para el crecimiento de los cultivos, pero en algunos casos presentan un desequilibrio en nitrógeno, fósforo y potasio en relación a las necesidades de los cultivos. Otro de los aspectos negativos de los fertilizantes orgánicos es la pérdida de nutrimentos, sobre todo nitrógeno, que se puede producir durante su almacenaje, manipulación y aplicación (Martin, 2003).

Los abonos orgánicos tienen diferente composición, normalmente contienen micronutrientes y macronutrientes entre los que resaltan fósforo y nitrógeno, carbono, vitaminas, minerales, bioestimulantes o fitohormonas, proteínas, carbohidratos y aminoácidos.

ABONOS ORGÁNICOS AEROBIOS	ABONOS ORGÁNICOS ANAEROBIOS
- Estiércoles de diferentes tipos.	- Materiales vegetales y animales.
- Materiales alto % de humedad.	- Materiales de bajo porcentaje de humedad.
- Descomposición.	- Fermentación.
- No tiene proteína.	- Conservación de proteínas.
- Elaboración en más de 30 días.	- Elaboración en menos de 30 días.
- Uso totalmente agrícola.	- Sirve como alimento animal.

2.3. Bioestimulantes

Los reguladores de crecimiento vegetal o fitohormonas, son compuestos orgánicos de bajo peso molecular que actúan a muy bajas concentraciones en sitios distantes de donde son producidos, interviniendo en muchos procesos fisiológicos como el desarrollo de tejidos, crecimiento del tallo y la caída de hojas, entre otros (Purves et al., 2002; Salisbury, 1994).

Estos reguladores están directamente involucrados en procesos metabólicos o en el proceso de desarrollo tal es el caso de la producción de amilasa y la inducción de la floración entre otros, pero al actuar en bajas concentraciones modifican dichos procesos, donde sus efectos varían según su interacción con otros reguladores de crecimiento vegetal, de esta forma regulan o influyen en un rango de procesos celulares y fisiológicos entre los que se cuentan la división celular, diferenciación celular, desarrollo de fruto, tropismos, dormancia de semillas, germinación de semillas, senescencia, abscisión de las hojas, entre otras. (Prusty, et al., 2004) Son usados ampliamente en la agricultura, horticultura y biotecnología para modificar y controlar el desarrollo y crecimiento de las plantas.

Dentro de los reguladores que promueven una respuesta fisiológica, existen cuatro grupos principales de compuestos que ocurren en forma natural, cada uno de los cuales exhibe propiedades de regulación del crecimiento en plantas, y se incluyen auxinas, giberilinas, citoquininas y etileno, mientras que los que inhiben el crecimiento o lo retardan se encuentran el ácido abscísico con una estructura particular y actuando a muy bajas concentraciones dentro de la planta (Kende & Zeevaart, 1997; Tanimoto, 2005).

2.3.1. Ácido Giberélico

Han sido publicadas diversas experiencias de aplicación de ácido giberélico (AG3) con el fin de obtener una producción precoz, reducir el número de nudos y alargar la longitud de los mismos (Jaramillo, 1982). Son compuestos isoprenoides, específicamente diterpenos cíclicos, que se sintetizan a partir de unidades de acetato del acetyl CoA en la ruta del ácido mevalónico. Todas las AG se derivan del esqueleto *entgiberelano*; presentan 19 ó 20

átomos de carbono agrupados en sistemas de 4 ó 5 anillos y un grupo carboxilo unido al C7, esencial para su actividad biológica. Pese al gran número de AG que ocurren naturalmente las que presentan actividad biológica son muy pocas; entre ellas AG1, AG3, AG4, AG5, AG6 y AG7. De las numerosas AG, 128 fueron identificadas en diferentes especies de plantas vasculares y también en siete bacterias y siete hongos (Srivastava, 2002; Sponsel y Hedden, 2004).

Hooley (1994), citado por Fu *et al.* (2001), describe las AG como hormonas diterpenoides tetracíclicas esenciales para el normal desarrollo de las plantas. Los niveles de AG en los vegetales están regulados por mecanismos homeostáticos que incluyen cambios en la expresión de una familia de enzimas de inactivación de AG, conocidas como AG-2-oxidasas (Singh *et al.*, 2002). Las AG cumplen un importante papel fisiológico en el desarrollo de las semillas, el desarrollo de la floración, el crecimiento del tubo polínico y la elongación de brotes y tallos. Los cambios en la concentración de la hormona y la susceptibilidad del tejido vegetal influyen en estos procesos. Sin embargo, los mecanismos moleculares por los cuales las AG son traducidas a cambios morfológicos y bioquímicos dentro de las plantas son desconocidos (Ikeda *et al.*, 2001).

De acuerdo con Sponsel (1996), las giberelinas son sintetizadas a partir del ácido mevalónico en tejidos jóvenes, aunque el sitio exacto aún no se conoce. Todos los tejidos de crecimiento son potencialmente sitios de biosíntesis. Existen evidencias en las cuales el desarrollo de frutos y semillas ocurre en sitios de biosíntesis por el alto contenido de enzimas que pueden convertir el ácido mevalónico (precursor) a AG de 19 carbonos.

Autores como O'Neill y Ross (2002) han demostrado que el ácido 3-indol acético (AIA) promueve la biosíntesis de la giberelina activa (AG1) en brotes de arveja (*Pisum sativum*) en virtud de la supresión de un gen de esta planta llamado *SLN* transcribe niveles de AIA y

dicho gen está involucrado en la activación de AG1 en los brotes extraídos de los cultivos de tejidos.

Existen evidencias de que las giberelinas se translocan en las plantas a través del floema y del xilema (Gómez, 1994). Entre los efectos de las giberelinas, se conoce ampliamente el crecimiento de los tallos, el cual involucra una secuencia de procesos y respuestas, como son la recepción de señales, la activación de uno o más señales de transducción para la transcripción de la respuesta primaria por parte de los genes y una respuesta secundaria que se traduce como tal en la elongación celular. Este efecto se evidencia en el incremento de la longitud en las células y el número de las mismas, lo cual es directamente proporcional al número de aplicaciones de AG3 (Taiz y Zeiger, 1998).

Después de la inducción, las giberelinas promueven diversos aspectos del desarrollo floral, como la identidad de los órganos del meristemo floral, el crecimiento de anteras, y el desarrollo y pigmentación de la corola. En las plantas en roseta, las condiciones de día largo o la aplicación de giberelinas incrementa el tamaño de la región meristemática subapical al aumentar la proporción de células que entran en división celular; esta nueva región meristemática produce la mayoría de células que contribuyen posteriormente a la elongación del tallo (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

2.3.2. Kinetina

Las citoquininas estimulan la formación de brotes, promueven la división celular, ayudan a la germinación, inhiben el alargamiento del tallo, estimulan el crecimiento de los brotes

laterales y retardan el envejecimiento de las hojas. Se encuentra en altas concentraciones en los meristemas y los tejidos en crecimiento hasta donde es traslocado por el xilema desde las raíces, desde donde probablemente es sintetizado por la ruta bioquímica de la adenina (Purves et al., 2002; Salisbury, 1994). (Prusty, et al., 2004). Comúnmente las citoquininas comprenden un grupo de N6-derivados sustitutos de adenina que inducen la división y organogénesis en cultivos de células vegetales y que afectan otros procesos fisiológicos y de desarrollo (Amasino, 1955).

Hace cincuenta años, los científicos de la botánica y los departamentos de Bioquímica de la Universidad de Wisconsin, anunciaron el aislamiento, la cristalización, caracterización y síntesis de 6-furfurilaminopurina (Miller et al., 1955a, 1955b, 1956), una hormona vegetal en una clase que hoy es referida como citoquininas (Skoog et al., 1965). Se propuso la kinetina como nombre trivial para esta sustancia, y se describe su capacidad para promover la división celular en tejidos de prueba de tabaco (*Nicotiana tabacum*). El descubrimiento de la Kinetina marcó la culminación de varios años de investigación en una variedad de proyectos llevados a cabo por muchas personas en los dos departamentos. (Barciszewski et al., 1996). Este derivado de purina puede ser fácilmente escindido del ADN en condiciones ligeramente ácidas debido a la capacidad de su enlace glicosílico (Amasino, 1955), el cual se ve en la Figura 2 de la estructura de la kinetina.

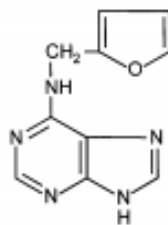


Figura 2. Estructura de la Kinetina

Fuente: Mok, D.W.S. y Mok, M.C. (2001)

También hay una visión que los efectos de citoquininas no son exclusivamente el resultado de la acción de estas, sino que son co-mediado por otros factores y hormonas, ya que las interacciones sinérgicas, antagónicas y aditivos entre ellos se han observado.

Una contribución importante en la identificación de kinetina en productos naturales fue proporcionada por el descubrimiento de sus propiedades electroquímicas (Raman y Elumalai, 1996). Esto dio el primer enfoque para un análisis cromatográfico de kinetina en ADN y extractos de células utilizando un sistema de HPLC con un detector electroquímico. La evidencia crucial para la presencia de N6-furfuryladenine en productos naturales llegó a partir del análisis de espectrometría de masas de los componentes del ADN.

Recientemente, nuevos ejemplos de la presencia de kinetina en los productos naturales han sido reportados (Ratti, 1996; Zhen et al., 2008). La espectrometría de masas y análisis por HPLC mostró kinetina en un extracto de nódulos de las raíces de *Casuarina equisetifolia*, producida por la inoculación de Frankia. Actinomyces que componen el género Frankia se distinguen por su capacidad para inducir fijadoras de nitrógeno en nódulos de las raíces ciertas plantas no leguminosas (Ratti, 1996). También las raíces de palmarosa (*Cymbopogon martinii* var. *Motia*) contienen 6-furfuryladenine, cuyo importe se

incrementó significativamente después de la inoculación de las especies de *Glomus* (Zhen et al., 2008).

2.3.3. Ácido indolacético

Charles Darwin, en su libro *el Poder de Movimiento en las Plantas*, pone de manifiesto la actividad de una sustancia con capacidad para inducir el movimiento frente a una fuente de luz en coleoptilos de *Phalaris canariensis* (alpiste), la cual posteriormente fue identificada como auxina (Arteca, 1996). Desde ese entonces han sido ampliamente estudiadas y juegan un papel central en la regulación del crecimiento de las raíces, promueven la elongación del tallo e inhiben el crecimiento de brotes laterales manteniendo la dominancia apical (Salisbury, 1994; Prusty, et al., 2004).

Ahora se acepta que el AIA es la auxina principal y la más abundante en las plantas. AIA juega un papel importante en la regulación del crecimiento y desarrollo de las plantas (Moore, 1989; Lüthen et al., 1999; Davies, 1995). En los últimos años ha habido un progreso significativo en la comprensión de la vía de señalización de transducción inducida por la vía del AIA (Napier and Venis, 1995; Venis and Napier, 1991; Shahab and Ahmed, 2008).

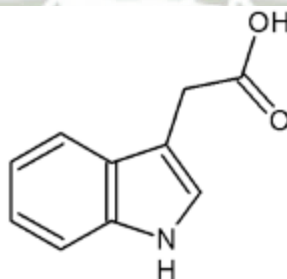


Figura 3. Estructura del AIA

Fuente: Mok, D.W.S. y Mok, M.C. (2001)

El ácido indolacético es una molécula que es sintetizada por plantas y pocos microorganismos; y su estructura se puede observar en la Figura 3. En las plantas, el AIA juega un papel clave tanto en la raíz como en el desarrollo de los brotes. La hormona se mueve de una parte a otra de la planta mediante un importador designado (AUX1) y bombas de expulsión (PIN1-7; Zhao, 2010).

En las células las auxinas naturales como el AIA se encuentran en las células en concentraciones de 10^{-6} y 10^{-8} , y su distribución dentro de los tejidos está sujeta a los principios del transporte activo y polar. Si la concentración del compuesto en el tejido aumenta, el efecto que tienen sobre la planta será la inhibición de la elongación de la raíz, la razón es un estímulo en la producción de etileno, mientras que a bajas concentraciones estimular la elongación de los brotes y las raíces (Salisbury, 1994). (Prusty, et al., 2004).

El AIA es producido predominantemente en las células del ápice (yema) y hojas muy jóvenes de la planta. Las plantas pueden sintetizar AIA por varias rutas biosintéticas independientes. Cuatro de ellos comienzan a partir del triptófano como se observa en la Figura 4, pero también hay ruta biosintética independiente de triptófano. (Mashiguchi, 2011) Las plantas producen principalmente AIA de triptófano a través de indol-3-ácido pirúvico. (Wong, 2011; Sugawara, 2009); el AIA también se produce a partir de triptófano a través de indol-3 -acetaldoxima en Arabidopsis (Taiz y Zieger, 1988), de triptamina (TAM) y del indol-3-acetamida (IAM;González et al., 2007).

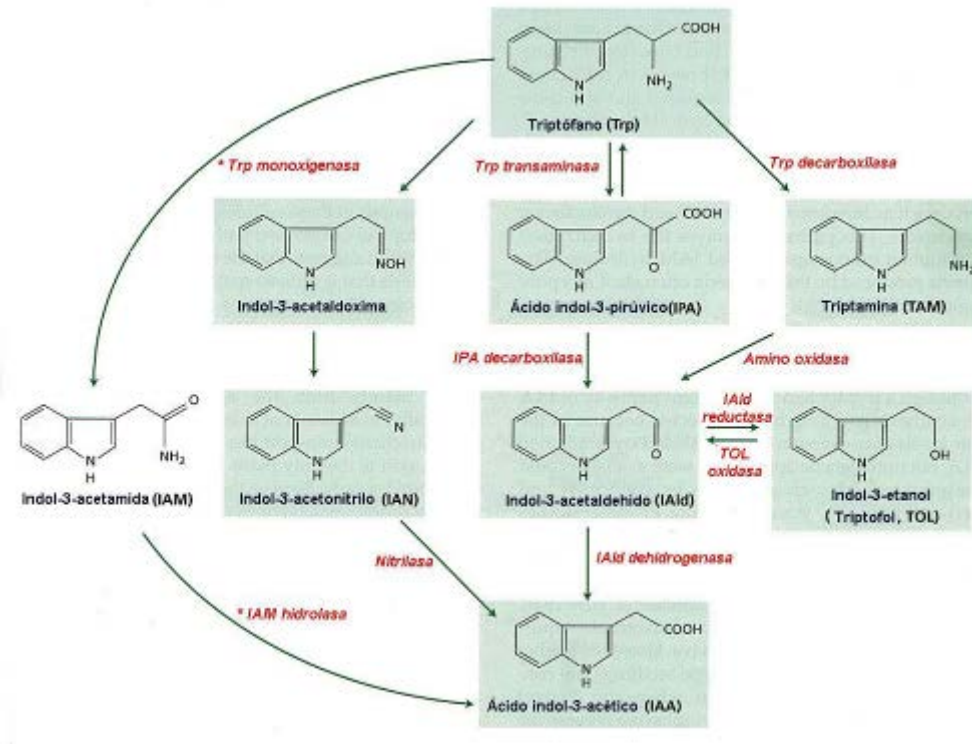


Figura 4. Biosíntesis del Ácido indolacético (indol-3-acetato; auxina) a partir de triptófano en plantas y en bacterias.

Fuente: Figura modificada de Taiz, L. and Zieger, E., (1998), "Plant Physiology". 2nd ed., Sinauer Associates, Inc., Publishers

2.3.4. Técnicas de determinación de bioestimulantes.

Desde que las fitohormonas están típicamente presentes y activas en concentraciones menores en los tejidos de las plantas, su determinación es extremadamente difícil. Además de las bajas concentraciones, las fitohormonas existen en varias formas con diferentes grupos laterales y existen con otros compuestos orgánicos endógenos que pueden interferir en el ensayo final. Por lo tanto es importante que se elija un ensayo, el cual pueda detectar tal cantidad mínima. Tradicionalmente enzima-o radioinmunoensayo (ELISA,RIA), se utilizaron en el campo del análisis de fitohormonas. Las técnicas de inmunoensayo, las cuales son excelentes en la especificidad debido a la única unión ligando-anticuerpo, se

pueden utilizar como una alternativa sensible y relativamente barata para la estimación de los niveles de fitohormonas. Sin embargo, cuando se aplica a los extractos de baja pureza, la cuantificación usando inmunoensayos puede inducir al error debido a la reactividad cruzada de los anticuerpos o su inhibición por sustancias interferentes. La cromatografía de gases, así como la cromatografía de gases-espectrometría de masas es una técnica bien conocida para la determinación de fitohormonas. Sin embargo también requiere de una purificación de las muestras, así como la derivatización antes del análisis por cromatografía de gases. También existe una dificultad para este análisis, y es que las hormonas vegetales por cromatografía de gases pueden ser térmicamente lábiles. (Agilent Technologies, 2011).

2.3.4.1. HPLC

HPLC es una técnica de separación que implica la inyección de un pequeño volumen de muestra líquida en un tubo lleno de partículas pequeñas (3-5 micrometros de diámetro) llamada fase estacionaria; en este tubo los componentes individuales de la muestra se desplazan hacia abajo por un líquido (fase móvil) que es forzado a pasar por la columna por la alta presión suministrada por una bomba. Los componentes están separados uno de otro por el relleno de la columna que involucra diferentes interacciones físicas entre sus moléculas y las partículas de embalaje. Los componentes separados se detectan en la salida de la columna por un dispositivo de flujo que mide su cantidad. (Standardbase techniques, 2012).

La instrumentación de HPLC incluye una bomba, un inyector, el detector y el sistema de datos. El corazón del sistema es la columna donde se produce la separación. Dado que la

fase estacionaria se compone de partículas de tamaño de micrómetros porosos, una bomba de alta presión se requiere para mover la fase móvil en la columna. El proceso cromatográfico comienza mediante la inyección del soluto en la parte superior de la columna. La separación de los componentes se produce como analitos y la fase móvil se bombea a través de la columna. Eventualmente, cada componente eluye de la columna como una banda estrecha (o pico) en la grabadora.

La detección de los componentes de elución es importante, y esto puede ser ya sea selectiva o universal, dependiendo del detector utilizado. La respuesta del detector a cada componente se muestra en una pantalla de ordenador o registrador de gráficos y se conoce como un cromatograma, como se puede ver en la Figura 5. Para recolectar, almacenar y analizar los datos cromatográficos el ordenador, integradores y otros equipos de procesamiento de datos se utilizan con frecuencia. (Instituto Para la Diversificación y Ahorro de la Energía, 2007).

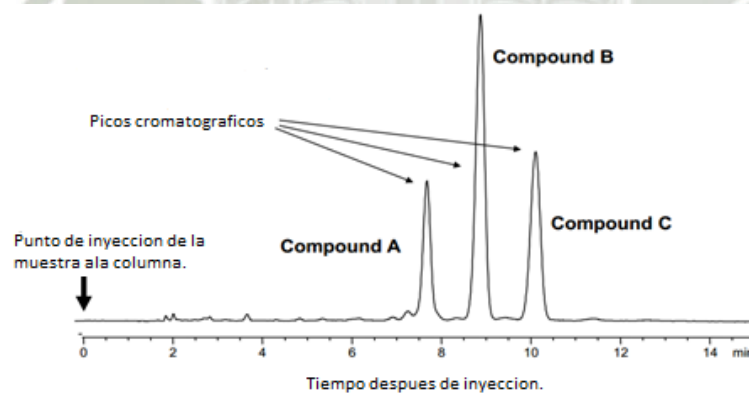


Figura 5. Cromatograma resultante de la inyección de un extracto de una cápsula de vitamina E disuelta en solvente orgánico.

Fuente: Instituto Para la Diversificación y Ahorro de la Energía, 2007

La identificación de los compuestos individuales en la muestra se determina a través del parámetro TR (tiempo de retención) que es el tiempo en el que el compuesto específico eluyo en la columna después de la inyección. La identificación del compuesto también depende de su estructura química, peso molecular, el detector usado y otros parámetros moleculares. (Standardbase Tecniques, 2012). La medición de la cantidad de un compuesto se puede determinar de dos formas. La primera es determinando la altura del pico cromatográfico desde la línea base y la segunda es determinando el área del pico cromatográfico con una línea base. Para realizar una valoración cuantitativa del compuesto, se inyecta una muestra con una cantidad conocida del compuesto de interés, y se relaciona la altura máxima o área del pico con la concentración generando una relación lineal de estos dos parámetros. (Standardbase Tecniques, 2012).

Los bioestimulantes o fitohormonas como estos 3 que nombramos, se encuentran en bioles, abonos orgánicos líquidos, que se obtienen de la degradación anaerobia de residuos orgánicos.

2.4. Degradación de residuos orgánicos

La degradación de residuos orgánicos puede darse de 2 formas principalmente dirigidas o de manera natural. En el caso que sea dirigida se debe dar bajo condiciones controladas, es así como se logra acelerar la velocidad de descomposición de los residuos orgánicos. En el caso de ser procesos de degradación naturales no tienen una dinámica continua, se trata de procesos que no se detienen, esta sujeta a las condiciones ambientales.

Los residuos orgánicos en general están compuestos normalmente de grasas, aceites, resinas, terpenos, carbohidratos (azúcares, almidón, hemicelulosa, celulosa y poliuronidos), ácidos orgánicos, aldehídos, cetonas, alcoholes, lignina, proteínas, aminoácidos, aminas, enzimas, hormonas, vitaminas, pigmentos, fosfatos, sulfatos, carbonatos, clorados, nitratos, sales de potación-sodio-calcio-magnesio y micro elementos.

La degradación de residuos puede ser aerobia o anaerobia. De entre las degradaciones aerobias mas comunes esta el compostaje, vermicompostaje, humus, etc. Por otro lado la biodegradación anaerobia es la que se da en biodigestor.

Los estudios bioquímicos y microbiológicos realizados hasta ahora, dividen el proceso de descomposición anaerobia de la materia orgánica en cuatro fases:

- Hidrolisis

La hidrolisis de la materia orgánica polimérica a compuestos solubles o monómeros es el paso inicial para la degradación anaerobia de sustratos orgánicos complejos, ya que los microorganismos únicamente pueden utilizar materia orgánica soluble que pueda atravesar su pared celular. Por tanto, es el proceso de hidrolisis el que proporciona sustratos orgánicos para la digestión anaerobia. Esta etapa es llevada a cabo por la acción de enzimas extracelulares producidas por los microorganismos hidrolíticos. La etapa hidrolítica puede ser el proceso limitante de la velocidad global del proceso sobre todo cuando se tratan residuos con alto contenido en solidos (Pavlosthatis y Giraldo Gomez, 1991). La hidrolisis depende de la temperatura del proceso, del tiempo de retención hidráulico, de la composición del sustrato (% de lignina, carbohidratos, proteínas y grasas), del tamaño de partículas, del pH, de la

concentración de NH_4 , y de la concentración de los productos de la hidrólisis (Speece, 1983).

- Etapa fermentativa o ácido génica

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 (propiónico, butírico, valérico, láctico y etanol principalmente) que tienen que ser oxidados por bacterias acetogénicas en la siguiente etapa del proceso.

- Etapa acetogénica

Mientras que algunos productos de la fermentación pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos (H_2 y acético), otros (etanol, ácidos grasos volátiles como valerato, butirato, propionato, etc y algunos compuestos aromáticos) deben ser transformados en productos más sencillos, acetato y H_2 , a través de las bacterias acetogénicas. Representantes de los microorganismos acetogénicos son *Syntrophomonas wolfei* y *Syntrophobacter wolini*.

- Etapa metanogénica

Los microorganismos metanogénicos completan el proceso de digestión anaerobia mediante la fermentación de metano a partir de sustratos monocarbonados o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente: acetato, H_2/CO_2 , formato, metanol y algunas metilaminas. Los organismos metanogénicos se clasifican dentro del dominio Archaea y tienen características comunes que los diferencian del resto de procariontes.

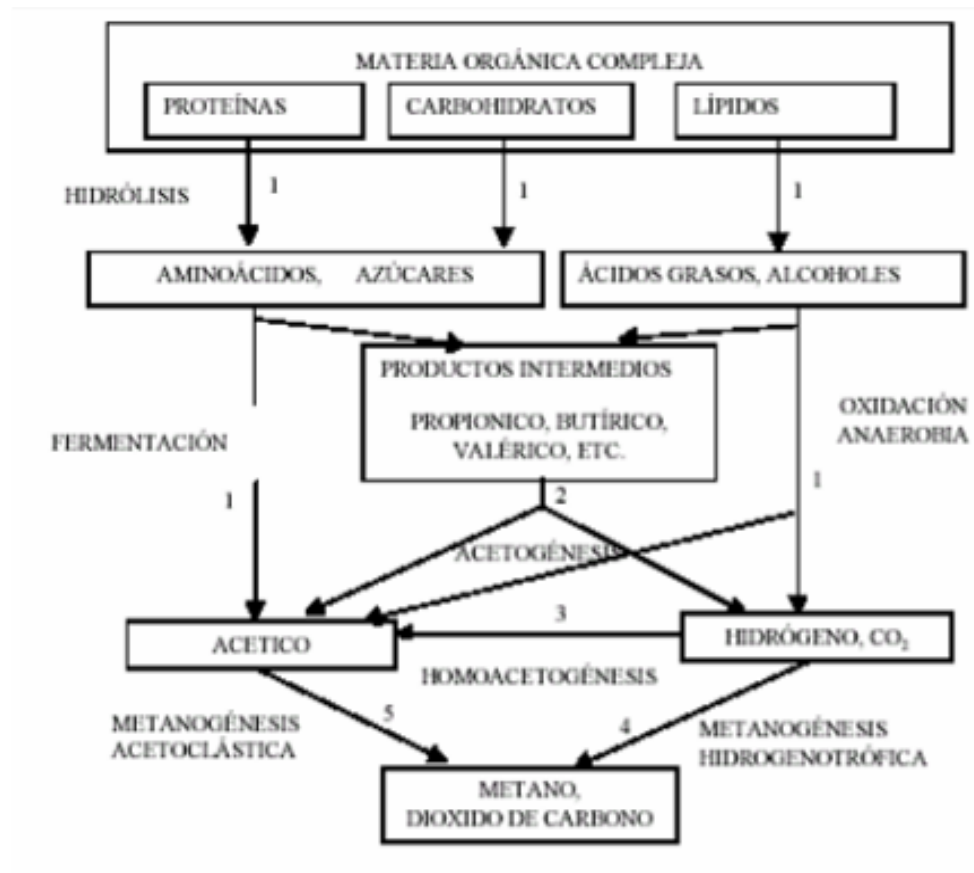


Figura 6. Esquema de reacciones de la digestión anaerobia de materiales poliméricos (Pavlosthatis y Giraldo-Gomez, 1991). Los números indican la población bacteriana responsable de cada proceso: 1, bacterias fermentativas; 2, bacterias acetogénicas que producen hidrogeno; 3, bacterias homoacetogénicas; 4, bacterias metanogénicas hidrogenotróficas; 5, bacterias metanogénicas acetoclasticas.

2.5. Biodigestores

Un biodigestor es una planta mediante la cual, a partir de la materia orgánica (principalmente estiércol), se obtiene biogás y bioabono. El biodigestor tiene como fundamento, la fermentación de la materia orgánica por la acción de bacterias en un medio carente de oxígeno (anaerobio).

Los biodigestores pueden ser alimentados con cualquier tipo de materia orgánica, pero se recomiendan los estiércoles de los diferentes animales de granja e inclusive las heces fecales de los humanos por su eficiencia. En general se considera que el porcentaje de materia seca de las excretas sólidas esta alrededor del 20% y debe ingresar al biodigestor en una mezcla de 5 partes de agua por una de estiércol. (Santana, 1985).

El principio básico de funcionamiento del biodigestor es el mismo que tienen todos los animales, descomponer los alimentos en compuestos más simples para su absorción mediante bacterias alojadas en el intestino con condiciones controladas de humedad, temperatura, y niveles de acidez (Claire, 1992).

La biodigestión es la fermentación realizada por las bacterias anaeróbicas sobre la materia orgánica componente de un 80%, de las excretas, y posee las ventajas de:

- Proporcionar combustible (biogás) para suplir las principales necesidades energéticas rurales.
- Reducir la contaminación ambiental al convertir las excretas, que hacen proliferar microorganismos patógenos, larvas e insectos, en residuos útiles.
- Producir abono orgánico (bioabono), con un contenido mineral similar al de las excretas frescas e igualmente útil para los suelos, los cultivos y para el desarrollo del fitoplancton y del zooplancton utilizado para algunas especies acuáticas en su alimentación.
- Mediante la digestión por bacterias anaeróbicas se destruyen microorganismos, huevos de parásitos y semillas de malezas contenidos en las excretas frescas quedando el fertilizante residual libre de tales gérmenes y plantas indeseables. (Ponton, 2010).

Las condiciones para la biodigestión son:

- Temperatura entre 20°C y 60°C.
- pH (nivel de acidez/ alcalinidad) alrededor de 7.
- Ausencia de oxígeno.
- Gran nivel de humedad.
- Materia orgánica.
- Que la materia prima se encuentran en trozos más pequeños posibles.
- Equilibrio de carbono/ nitrógeno.(Fundación Hábitat, 2005).

Los biodigestores para producción de biol son una adaptación de menor tamaño de un digestor tipo Batch o discontinuo, que requieren una menor carga de materia orgánica y producen una cantidad mínima de metano, insuficiente como fuente de energía, pero efectivo para la producción de un abono orgánico de fácil obtención; para ello se utilizan contenedores como cilindros, baldes o mangas de plástico, siempre y cuando se mantengan las condiciones anaeróbicas de descomposición. Estos biodigestores se cargan una sola vez y sólo son abiertos para extraer el abono elaborado, el cual se filtra, se airea (oxigenación) por algunos días y luego puede ser almacenado. Los materiales utilizados en la carga de un biodigestor, independientemente de la producción de biogás o biol, presentan una relación C/N de 25 a 30, relación agua/materia seca igual a 10, temperatura óptima entre 25–35° C y pH alrededor de 7.0 (Suquilanda, 1995). Para el cargado inicial es importante la utilización de un inóculo, siendo los de mayor uso el líquido ruminal (protozoos y levaduras) o el lodo fermentado (Escalante y Kohashi-Shibata, 1993). (Grupo Aqua Limpia, 2012).

Es importante controlar y medir ciertos parámetros en los biodigestores para poder determinar la eficiencia en la operación y poder realizar rectificaciones al proceso. Si no se

tiene una medición y control de los parámetros es imposible determinar si un biodigestor está operando correctamente. Los parámetros operativos más importantes que se deben medir y registrar en un biodigestor-biogás son los siguientes:

- Cantidades de biomasa con que se alimenta al biodigestor.
- Volumen de la producción de biogás en (m^3/h).
- Concentración de CH_4 (%).
- Concentración de O_2 (%).
- Concentración de H_2S (ppm, mg/l).
- Temperatura, pH, humedad.
- Presión en el biodigestor y tuberías. (Celis y Gallardo, 2008).

2.6. Biol

Los abonos orgánicos líquidos, también conocidos como biol, biofertilizante o biopreparado son obtenidos a partir de la descomposición anaeróbica de materia orgánica y su uso se ha vuelto muy popular en todo Latinoamérica, especialmente entre los pequeños productores (Restrepo, 1998). Diferentes microorganismos transforman la materia orgánica en sustancias húmicas, vitaminas, hormonas y compuestos orgánicos complejos que afectan el metabolismo y la nutrición de los cultivos. El biol se obtiene como un residuo de la producción del biogás en un biodigestor y consiste en una solución acuosa diluida, que se usa como abono foliar (Guerrero, 1993). Su fabricación se puede realizar de diversas formas de acuerdo al tipo de biodigestor que se utilice, pero siempre garantizando las condiciones anaeróbicas.

Para la obtención del biol el informe de USAID2, se recomienda usar cualquier desecho orgánico vegetal o animal para la elaboración del Biol, y también que estén cortados en partículas para que haya mayor área expuesta a la acción de las bacterias. (Botero y Preston, 1987). Su cosecha dependerá del clima y de la cantidad, y el mejor indicador para determinar cuándo está listo, será cuando notemos que ha parado de salir gas por la manguera de salida de gases del biodigestor, esto se observa cuando el olor ya no es tan notorio. El producto final es un líquido de color marrón verdoso oscuro. (Bejarano y Méndez, 2004).

En la Tabla 4 se puede apreciar la composición bioquímica de un biol obtenido a partir de estiércol de ganado lechero estabulado que recibe en promedio una ración diaria de 60% de alfalfa (*Medicago sativa*), 30% de maíz ensilado (*Zea mays*) y 10% de alimentos concentrados:

Tabla 4. Composición bioquímica del Biol.

Componente	Unidad
Sólidos totales	5.6%
Materia orgánica	38%
Fibra	20%
Nitrógeno	1.6%
Fosforo	0.2%
Potasio	1.5%
Calcio	0.2%
Azufre	0.2%
Ácido indo acético	12ng/g
Giberilinas	9.7ng/g
Purinas	9.3ng/g
Tiamina (B1)	187.5ng/g
Riboflavina (B2)	83.3ng/g
Piridoxina (B6)	33.1ng/g
Acido nicotínico	10.8ng/g
Ácido fólico	14.2ng/g
Cisteína	9.2ng/g
Triptófano	56.6ng/g

**ng/g: nanogramo/gramo Fuente: Suquilanda, 1995*

2.6.1. Usos del biol

El biol es cada vez más utilizado en labores agrícolas como tratamiento a la semilla antes de la siembra, al suelo y al follaje aunque en formulaciones y concentraciones variables. Por eso una de las mayores dificultades encontradas en su utilización, es la concentración y forma de aplicación (foliar o al suelo), la que difiere mucho de acuerdo al cultivo, los materiales utilizados en la elaboración del biol y el tiempo de fermentación entre otros (Barrios, 2001). El biol es considerado también como una fuente orgánica de fitorreguladores que en pequeñas cantidades estimulan el desarrollo de las plantas como el enraizamiento, incremento de biomasa radicular y foliar, mejorando la floración y activando el vigor y poder germinativo de las semillas, traduciéndose todo esto en un aumento significativo de las cosechas (Gomero y Velásquez, 1999).

El Biol puede ser utilizado en una gran variedad de plantas, sean de ciclo corto, anuales, bianuales o perennes, gramíneas, forrajeras, leguminosas, frutales, hortalizas, raíces, tubérculos y ornamentales, con aplicaciones dirigidas al follaje, al suelo, a la semilla o a la raíz. Cloure (1992), indica que por su contenido de nutrientes y su alta solubilidad en el agua permite hacer aplicaciones intensivas de Biol, que puede ser bombeado por un sistema de irrigación por aspersores y directamente distribuido en surcos sobre pastos o al pie de las plantas. (AEDES Arequipa, 2006).

2.6.2. Tipos de biol

La mayoría de los bioles dependen de los insumos con que se cuenta en la zona y el modo que se utilizará este abono líquido, los diferentes tipos de biol son:

- **Biol biocida:** Es muy utilizado para el control de plagas y enfermedades, repeliendo a las plagas, nutriendo a la planta evitando de este modo las enfermedades y a la vez se puede utilizar como biofertilizante.

Al usarla en semillas se dejan en remojo antes de la siembra, el tiempo de remojo y la concentración del biofertilizante es muy importante, por ejemplo en anís, alfalfa y otras leguminosas, se usan 4L de biol puro en 13 L de agua para 40 kilos de semilla por 12 horas. (Bejarano y Méndez, 2004).

- **Biol para suelo y hojas:** Nutre a la planta y a la vez repone al suelo los nutrientes extraídos por las plantas, mejorando la fertilidad del suelo.

Las aplicaciones al suelo pueden realizarse en el agua de irrigación, aplicando alrededor del tallos de las plantas, en una dilución de 10 al 30% (10% es 10 litros de biofertilizante liquido más 90 litros de agua), no deben excederse a concentraciones mayores de 50%. (Bejarano y Méndez, 2004).

- **Biol abono foliar:** Es el más utilizado por los agricultores, ya que nutre directamente a la planta vía hojas, contando con el mayor número de macronutrientes y micronutrientes que la planta requiere para poder producir, acelera el crecimiento de las plantas y mejora e incrementa los rendimientos.

Se recomienda un litro de biol puro diluido en 14 litros de agua para cargar una mochila de 15 litros y hasta un máximo de 2 litros por mochila de 15 litros. La aplicación vía foliar puede repetirse varias veces (3 a 4) durante el desarrollo vegetativo del cultivo, la primera

aplicación cuando la plantita tiene entre 10 a 15 cm de altura, las aplicaciones siguientes cada 10 a 15 días después, dependiendo del cultivo. (Bejarano y Méndez, 2004).

Los bioles son producidos con materiales orgánicos como estiércol, residuos vegetales, residuos caseros y todo tipo de material orgánico degradable, la materia orgánica es degradada gracias a la biodigestión anaerobia producida por la fuente microbiana encargada de digerir los materiales orgánicos convirtiéndolos en componentes nutritivos para las plantas.

2.7. Fuente microbiana

Licor ruminal

Los ruminantes son mamíferos herbívoros que poseen un órgano especial en cuyo interior se lleva a cabo la digestión de celulosa y otros polisacáridos mediante la actividad microbiana, porque estos animales carecen de las enzimas necesarias para digerirlos.

El rumen tiene un tamaño relativamente grande, con una capacidad de 100 a 150 litros en una vaca o 6 litros en una oveja, y se encuentra a una temperatura y acidez constantes (39°C, pH 6,5). La naturaleza anóxica del rumen es un factor significativo para su funcionamiento (Schlegel et al., 1993). El forraje llega al rumen o panza, mezclado con la saliva que contiene bicarbonato y allí es sometido a un movimiento rotatorio durante el cual ocurren las fermentaciones. Esta acción peristáltica facilita la adherencia microbiana al material celulósico suspendido (Madigan et al., 2003).

El alimento permanece en el rumen de nueve a doce horas. El fluido ruminal contiene gran cantidad de células, entre ellas 10¹⁰ a 10¹¹ bacterias/mL. Las bacterias y los hongos

celulolíticos actúan produciendo el disacárido celobiosa y glucosa. Ésta experimenta una acción bacteriana en la que se forman principalmente los ácidos acético, propiónico y butírico, dióxido de carbono y metano. Los ácidos grasos atraviesan la pared del rumen y pasan a la sangre. Desde allí van a los tejidos donde son utilizados como la principal fuente de energía. Además los microorganismos del rumen sintetizan aminoácidos y vitaminas esenciales para el animal.

La masa de forraje pasa gradualmente a la redcilla donde se forman unas porciones llamadas rumias que regresan a la boca y son masticadas otra vez. Cuando esta masa sólida queda bien fragmentada es engullida de nuevo pero pasa directamente al libro y termina en el cuajar, donde las condiciones son ácidas y allí se inicia un proceso digestivo que continua en el intestino. Muchas de las células microbianas formadas en el rumen son digeridas y constituyen la principal fuente de proteínas y vitaminas del animal, dado que la pastura es un alimento deficiente en proteínas (Madigan, 2003).

Las reacciones químicas que ocurren en el rumen requieren la actividad combinada de una variedad de microorganismos entre los que predominan las bacterias anaerobias estrictas, dado que el potencial de reducción es de $-0,4V$. La concentración de O_2 a ese potencial es $10^{-22} M$.

Fibrobacter y *Ruminococcus* son las bacterias celulolíticas más abundantes del rumen, pero también degradan xilano. *Fibrobacter* posee una celulasa periplásmica (entre la membrana citoplasmática y la membrana externa) por lo que debe permanecer adherido a la fibrilla de celulosa mientras la digiere, en cambio *Ruminococcus* produce una celulasa que

es secretada. *Los Ruminobacter* y *Succinomonas* amilolíticos se encuentran en minoría, así como *Lachnospira* que digiere pectinas. Los productos de fermentación de estas y otras bacterias son utilizados por otros microorganismos. El succinato se convierte en propionato y CO₂, y el lactato es fermentado a acetato y otros ácidos por *Megasphaera* y *Selenomonas* (Madigan, 2003).

El H₂ producido en el rumen durante los procesos fermentativos nunca se acumula, ya que es utilizado rápidamente por los metanógenos (*Methanobrevibacter*, *Methanomicrobium*) para reducir CO₂ a CH₄. Otra fuente de H₂ y CO₂ es el formiato. La composición media de los gases acumulados en el rumen es aproximadamente 65% CO₂ y 35% CH₄, y se expulsan al exterior por los eructos del animal.

El acetato no llega a convertirse en metano dentro del rumen debido a que el tiempo de retención es demasiado corto para que puedan desarrollarse los organismos acetotróficos y además las bacterias sintróficas degradadoras de ácidos grasos no abundan. Los ácidos atraviesan la pared del rumen hacia la sangre del animal (Schlegel, 1993).

Las condiciones ambientales del rumen son constantes para cada tipo de alimentación. El cambio brusco de pasturas a cereales conduce a un desequilibrio en la composición microbiana que causa enfermedad o aún la muerte del animal, por el crecimiento explosivo de *Streptococcus bovis* que hidroliza almidón produciendo abundante ácido láctico y acidificando el rumen. Esta acidosis causa la eliminación de la microbiota normal (Smith et al., 1988).

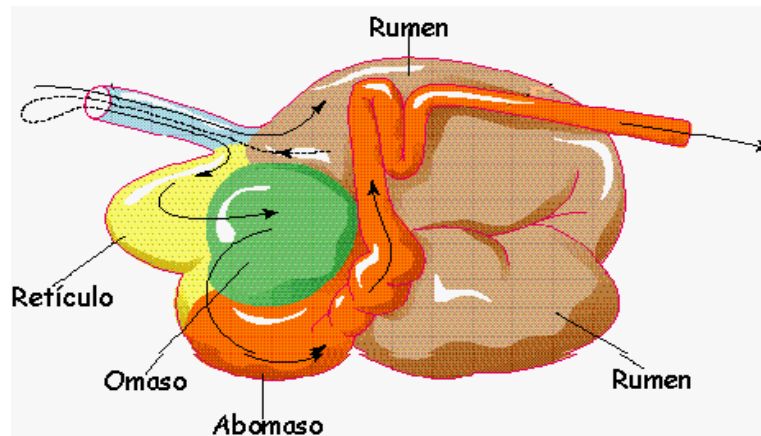


Figura 7. Estómagos de rumiantes. Fuente: Rumiantes Colección educar.

La literatura especializada cita una temperatura entre 39 – 40 °C para las condiciones normales de fermentación ruminal (Church, 1974), pero otros autores (Yokoyama y Johnson, 1988) señalan rangos más amplios entre los 38 y 42 °C.

El pH ruminal descendió con el incremento de la temperatura, independientemente de la dieta, indicando una concentración incremental de ácidos grasos volátiles en el rumen favorecidos por los incrementos de temperatura, lo cual corrobora las afirmaciones de Church (1974). La digestibilidad total aumenta a altas temperaturas, porque el tiempo de residencia de la partículas del rumen se prolonga al disminuir la motilidad ruminal debido al estrés calórico (Tajima et al., 2007). Los animales más grandes son más sensibles a altas temperaturas, y el efecto negativo de las altas temperaturas se magnifica con altas humedades relativas (Tajima et al., 2007).

Son varios los factores que intervienen para cambiar el pH en el rumen. La naturaleza de la dieta suministrada es factor determinante en las fluctuaciones del pH ruminal, aunque los

rumiantes poseen un sistema altamente desarrollado para mantener el pH dentro de los límites fisiológicos – 5,5 a 7,0 (Krause y Oetzel, 2006). El pH ruminal depende la presión parcial del CO₂, como puede observarse en la reacción:



Variaciones en la cantidad de CO₂ disuelto en el medio automáticamente variará la cantidad de iones H⁺ (Marden et al., 2005), entonces, el pH del rumen estará definido por:

$$\text{pH rumen} = 7,74 + \log (\text{HCO}_3^- / \text{pCO}_2)$$

El consumo de forrajes estimula elevadas secreciones de saliva, y los carbohidratos de los forrajes son lentamente digeribles, mientras que el consumo de granos, con carbohidratos rápidamente digeribles genera una importante concentración de ácidos orgánicos (Fischer et al., 1994). El consumo excesivo de carbohidratos rápidamente fermentables resulta en un aumento de la concentración de ácido láctico y en una repentina baja de pH (Krause y Oetzel, 2006), pero la magnitud de la disminución del pH debido a un aumento en la tasa de fermentación ruminal dependerá de la capacidad buffer del rumen (Counotte et al., 1979).

La saliva secretada por el rumiante actúa como lubricante del alimento consumido, con un pH 8,2 en promedio, alto contenido de sodio, potasio, bicarbonato y fosfato, características que le permiten su acción búfer en el licor ruminal (Emery et al., 1960; Krause y Oetzel, 2006). Durante el ayuno prolongado se eleva el pH ruminal, se inhibe el crecimiento de la bacterias que convierten el lactato en ácidos grasos de cadena corta (AGCC), y deja el ecosistema ruminal más susceptible a la acidosis severa (Krause y Oetzel, 2006); cuando el

animal es realimentado, tiende a comer más rápidamente y en mayor cantidad, originándose un doble efecto para bajar el pH, mayor producción de AGCC y ausencia de bacterias capaces de convertir lactato en AGCC. Esto conlleva a establecer condiciones fisiopatológicas: incremento del ácido láctico, hiperosmolaridad, y acidemia sistémica (Krause y Oetzel, 2006). La habilidad del rumen para absorber AGCC ayuda a mantener el pH.

La fibra larga estimula la rumia y la secreción salival, mientras que la fibra corta no puede ser mantenida en el rumen largo tiempo, disminuyendo la digestibilidad y el pH.

El nivel de consumo cuando los animales aumentan el consumo, más material fermentable está entrando al rumen, hay una mayor producción de ácidos orgánicos y baja el pH.

En estas condiciones de alimentación, disminuye la rumia y por consiguiente, la secreción de saliva disminuye, lo cual impide que lleguen al rumen los álcalis contenidos en ella, obstruyendo su acción como neutralizantes de los AGCC. Cuando el pH cae a niveles por debajo de 5,5 se reduce el número de especies de bacterias y los protozoarios no sobreviven, hay un aumento de la osmolaridad del contenido ruminal, se inhibe el consumo, convirtiendo las condiciones del rumen en menos estables y con menor capacidad para mantener el pH en condiciones normales con cambios en la dieta (Krause y Oetzel, 2006).

El pH del rumen baja progresivamente inmediatamente después del suministro del alimento y retorna a los niveles previos a la suplementación en la 24 horas (Cráter et al., 2007). En los sistemas intensivos de producción, donde la utilización de concentrados es alta, la tasa de degradación de la fibra del alimento es disminuida por efecto del pH sobre la actividad

celulolítica de los microorganismos. En estas condiciones de alimentación, disminuya la rumia y por consiguiente, la secreción de saliva disminuye, lo cual impide que lleguen al rumen los álcalis contenidos en ella, impidiendo su acción como neutralizantes de los AGCC. Cuando el pH cae a niveles por debajo de 5,5 se reduce el número de especies de bacterias y los protozoarios no sobreviven, hay un aumento de la osmolaridad del contenido ruminal, se inhibe el consumo, convirtiendo las condiciones del rumen en menos estables y con menor capacidad para mantener el pH en condiciones normales con cambios en la dieta (Krause y Oetzel, 2006).

La humedad del alimento. Cuanto más húmedo es el alimento menos secreción de saliva es necesaria, y menos sales alcalinas entran al rumen, entonces baja el pH. Añadir aceites y grasas también reduce el pH ruminal, ya que actúan de manera tóxica para los microorganismos que fermentan la fibra, y cambia el patrón de fermentación.

Sin embargo, las fluctuaciones del pH pueden ser alteradas a través del manejo de la alimentación.

La acción buffer es la capacidad de una solución para resistir cambios en el pH (Giger-Reverdin et al., 2002), y está definida como el número de moles por litro de H^+ necesarios para causar un cambio en el pH. La del rumen está definida principalmente por el valor de pH, presión parcial de CO_2 y la concentración de sales de ácidos grasos de cadenas cortas (AGCC) (Counotte et al., 1979). El sistema buffer del rumen es muy complejo, descansando sobre una abundante producción de saliva (una vaca puede producir hasta 150L/día), la remoción de los AGCC a través de la absorción en la pared ruminal, el

consumo de carbono por parte de los microorganismos, las sales minerales que reaccionan con los ácidos orgánicos vegetales produciendo CO_2 , la proteína del alimento y el nitrógeno no proteico que al ser degradado generan NH_3 , neutralizan los ácidos en el proceso. La medida del buffer del contenido ruminal es útil al expresar la capacidad de éste para mantenerse más o menos estable a determinado rango de pH.

2.8. Perspectivas Futuras

Nuestra investigación tiene como perspectiva poder comercializar nuestro producto en diferentes empresas o fundos donde los pueda ayudar con los residuos que ellos tienen. Existen dos interesados en este proyecto, la empresa Alsur de Arequipa, ya que esta empresa trabaja procesando alcachofa y manejan el residuo de la alcachofa como forraje animal y algunas veces para poder sembrar rápidamente en el mismo campo, ellos pagan a gente para que retire la broza de campo y la bota, siendo así que como los residuos de alcachofa son mal aprovechados por ellos y hasta a veces demanda un gasto, ellos ven por conveniente darles un mejor uso a estos residuos y nuestra propuesta les dará la oportunidad de realizar un producto a partir de estos residuos. El otro interesado es el dueño del fundo Santa Teresa de Arequipa, el cual produce brócoli y no realiza ningún producto con los residuos, de igual manera que la empresa Alsur lo usa como forraje animal o para nutrir la tierra y es por eso que se encuentra interesado en colaborar con la investigación y también ya que pueden realizar su propio biol a partir de los residuos que tienen.

Así mismo a futuro sería interesante realizar investigaciones con licor ruminal de llama para biodigestión de materiales duros o difíciles para la biodigestión, como lo serían residuos animales como los residuos del pescado que tienen alto contenido de fósforo y que podrían producir un biol más nutritivo con mejores beneficios en el crecimiento de diferentes plantas.



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Lugar de Ejecución

- Laboratorio H101 y H103 de la Universidad Católica de Santa María

3.1.2. Material Biológico

- Licor ruminal de llama
- Licor ruminal de vacuno
- Residuos vegetales de alcachofa
- Residuos vegetales de brócoli
- Residuos vegetales de esparrago.

3.1.3. Material De Laboratorio

- Material de vidrio: probeta de 1000 ml, 500ml; pipetas de 5 y 10 ml; varillas de vidrio; vaso Baker 100ml; frascos de vidrio 650 ml, 250ml; viales; Fiolas de 10 ml; equipo para desgasificar solventes.
- Equipos: Balanza digital, Ph metro; centrífuga; espectrofotómetro; jeringa de 100ul , equipo de HPLC.

Reactivos: Ácido Giberélico, lejía, Ácido Indolacético, Kinetina, Ácido Acético, Acetonitrilo, Metanol.

- Otros: Galones de 4 litros, bandejas de plástico de 163 alveolos, tierra Promex, malla agrícola, tubos de poliestireno de 15 ml; columnas SPE C18, filtro anotop, columna Chromolit RP18.

3.2. Métodos

3.2.1. Configuración Experimental

La etapa de biodigestión se realizó en un área de 2m^2 , donde se dispusieron los 18 biodigestores (Figura 7). Como se puede apreciar en la Figura 9, los biodigestores se colocaron en forma circular, separando 9 de licor ruminal de llama, y 9 de licor ruminal de vacuno; así se buscó contar con una temperatura homogénea (pues teníamos un foco ubicado en medio de ellos). Estos biodigestores estuvieron bajo un soporte de madera cubierto por un plástico, que permitió mantener la temperatura durante el tiempo de biodigestión.

El análisis fisiológico se realizó en un área amplia de 10m^2 , donde se dispusieron las 15 bandejas como en la Imagen 2. Como se ve en la Figura 10, se separaron las bandejas por repeticiones. Cada repetición consta de 5 bandejas: brócoli, espárrago, alcachofa, tomate y la bandeja control. Las bandejas fueron cubiertas por un soporte de madera que está revestido con una manta agrícola. La manta nos ayuda a mantener la temperatura durante todo el día, sin importar la exposición del sol en la mañana y los vientos en las noches.

El HPLC será realizado en el laboratorio 203 de la Universidad Católica de Santa María.



Figura 8. Lugar experimental de la Biodigestión. (A) Disposición de biodigestores, (B) Lugar experimental con soporte y reflectores.

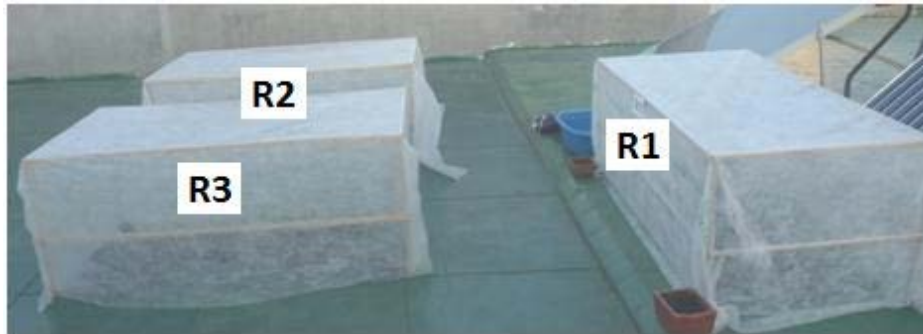


Figura 9. Lugar experimental para análisis fisiológico de las tres repeticiones.

3.2.2. Material de Experimentación

3.2.2.1 Recolección de residuos vegetales

Se utilizaron 3 residuos vegetales, el residuo vegetal de alcachofa, residuo vegetal de espárrago y el residuo vegetal de brócoli, los que fueron obtenidos de diferentes campos de cultivo, según como se observa en la Figura 11.

En el caso del Espárrago se obtuvo del fundo Athos ubicado en el distrito de Guadalupe en la provincia de ICA en el departamento de ICA.

En cuanto a la Alcachofa se obtuvo a través de la empresa ALSUR de Arequipa, que a su vez la obtuvo del fundo ubicado en El Pedregal en la provincia de Caylloma en el departamento de Arequipa.

Finalmente el Brócoli se obtuvo del fundo Santa Teresa ubicado en la Quebrada de Tucos sin/numero La Tomilla – Cayma en la provincia de Arequipa departamento de Arequipa.



Figura 10. Residuos vegetales. (A) Alcachofa, (B) Espárrago, (C) Brócoli.

3.2.2.2. Obtención del Licor Ruminal

Se utilizaron 2 tipos de licor ruminal de un par de rumiantes seleccionados. El primer animal seleccionado fue el vacuno existente en el Camal —Don Goyoll. El segundo rumiante fue una llama que se encontraba en una chacra de un pueblo de la ciudad de Arequipa. Se recolectó aproximadamente 1.5 L de licor ruminal en botellas de plástico de 2.5L (Figura 12). A estas se les debe extraer todo el oxígeno que resta en la botella con el líquido ruminal para que las microorganismos anaerobios puedan desarrollarse en un ambiente anaeróbico.



Figura 11. Licor ruminal de Llama y de Vaca.

3.2.3. Configuración experimental de biodigestores

Se diseñaron biodigestores que cuentan con puntos de medición para 2 parámetros: temperatura y pH.

Su diseño permite mantener la oscuridad interna para beneficiar la digestión anaerobia y los hace totalmente herméticos para evitar el ingreso de aire (puesto que la reacción interna debía ser anaerobia como mencionamos anteriormente).

Es así como los biodigestores se configuran sobre galoneras de plástico verde oscuro de 4 litros (1 galón). Se utilizaron estas galoneras ya que son totalmente oscuras en su interior, lo que beneficia a la degradación anaeróbica, y también se buscó que sean de plástico

grueso, que a pesar de mantenerse mojado durante tanto tiempo no crea óxido o moho como otros materiales (tales como el metal o el plástico delgado).

En cuanto a los medidores de parámetros, se pensó en una manera de medir la temperatura sin tener que abrir las galoneras. Esto con la finalidad de evitar el ingreso de oxígeno. Para esto creamos un dispositivo de medición que fue introducido (a través de un orificio) por la parte superior de las galoneras.

El dispositivo se configuró con varillas de vidrio de 8 mm de diámetro. Fue cortado en fragmentos de 15 cm de largo y estos fueron sellados con calor por uno de sus extremos. Esto permitió hacer con ellos tubos delgados, los mismos que fueron introducidos al centro de corchos de goma. Se procedió de esta forma ya que al introducir el tubo y sellarlo en la galonera había mas riesgo de fugas de aire que con el corcho de goma (que presta una mejor compactación con la galonera). Estos tubos rodeados del corcho de goma fueron introducidos en el orificio que se hizo en las galoneras. Posteriormente el orificio fue sellado con un sellador especial resistente a presión, temperaturas altas y humedad. Esto para evitar todo tipo de fugas. (ANEXO 2)

La medición de la temperatura se realizó a través de estos tubos. En ellos introducimos glicerina y medimos con ella la temperatura interna, de esta forma no necesitamos abrir el biodigestor para realizar las mediciones, evitando con esto el ingreso de aire.

Por otro lado, para realizar las mediciones de pH implementamos un candado de extracción de sangre. El candado fue totalmente sellado para evitar el ingreso de aire e introducido en la parte lateral, aproximadamente a 10 cm de la base. Este permaneció cerrado y sólo fue abierto una vez instalado el inyectable y al momento de retirar las muestras para las mediciones de pH. De este modo era imposible que ingrese aire a los biodigestores (ANEXO 2).

3.2.4. Obtención del Biol

El sistema de experimentación en la obtención de Biol consistió en evaluar diferentes maneras de obtener el fertilizante. Para esto probamos distintas concentraciones en lo referente a la materia orgánica y a la parte líquida (con una concentración del 10% de licor ruminal). Las concentraciones para los residuos agrícolas de alcachofa y brócoli fueron en base a un volumen total de 2100 ml, y para los residuos de espárrago de 1200 ml. De tales concentraciones se desglosaron 3 proporciones por cada tipo de desecho agrícola: 1:1, 1:2 y 2:1. Además, se tuvieron en total 9 tratamientos por cada tipo de licor ruminal, dando como resultado 18 diferentes bioles (Tabla 5).

Una vez llenados los biodigestores, de acuerdo a la información de la tabla X, se sellaron herméticamente los bidones para que se produzca la degradación anaeróbica sin fugas ni entradas de oxígeno.

Tabla 5. Proporciones usadas en los biodigestores de los 18 tratamientos.

TRATAMIENTO CON LICOR RUMINAL DE LLAMA Proporciones			
	Residuos Vegetales		
	Alcachofa	Espárrago	Brócoli
1:1	BIOL 1	BIOL 4	BIOL 7
2:1	BIOL 2	BIOL 5	BIOL 8
1:2	BIOL 3	BIOL 6	BIOL 9
TRATAMIENTO CON LICOR RUMINAL DE VACUNO			
Proporciones	Residuos Vegetales		
	Alcachofa	Espárrago	Brócoli
1:1	BIOL 10	BIOL 13	BIOL 16
2:1	BIOL 11	BIOL 14	BIOL 17
1:2	BIOL 12	BIOL 15	BIOL 18

Tabla 6. Proporciones usadas en los biodigestores de los 18 tratamientos.

LICOR RUMINAL DE LLAMA				LICOR RUMINAL DE VACUNO			
BIOL	RES. VEGETALES (gr)	LIQUIDO (ml)		BIOL	RES. VEGETALES (gr)	LIQUIDO (ml)	
		L. RUMINAL	AGUA			L. RUMINAL	AGUA
BIOL 1	1050	105	945	BIOL 10	1050	105	945
BIOL 2	1400	70	630	BIOL 11	1400	70	630
BIOL 3	700	140	1260	BIOL 12	700	140	1260
BIOL 4	600	60	540	BIOL 13	600	60	540
BIOL 5	800	40	360	BIOL 14	800	40	360
BIOL 6	400	80	720	BIOL 15	400	80	720
BIOL 7	1050	105	945	BIOL 16	1050	105	945
BIOL 8	1400	70	630	BIOL 17	1400	70	630
BIOL 9	700	140	1260	BIOL 18	700	140	1260

A partir del primer día de sellados los biodigestores, se monitoreó diariamente la temperatura, y cada 3 días, el pH. Esto con la finalidad de tener un registro del avance de la degradación y formación de biol. También se determinó el tiempo de retención mediante algunos cálculos. Entre ellos se recurrió a aquel que permite conocer el tiempo que demora el proceso de digestión para obtener el biol.

Una vez culminado el tiempo de retención, se procedió a colar cada uno de los biodigestores. Se tomó en cuenta la cantidad de biol producido en cada biodigestor y se almacenó dicho biol en botellas de plástico que fueron colocadas en un refrigerador (esto con la finalidad de mantener el biol hasta su uso en la germinación de semillas y el riego de las plantas, ver ANEXO 3).

3.2.5. Evaluación de Biol

3.2.5.1. Pre-tratamiento

Para el remojo de semillas y riego de plantas que se realizó a posteriori (en el análisis fisiológico), se emprendió un pre tratamiento de los bioles con la finalidad de obtener la concentración más beneficiosa al 25%, 50% y 75%.

Este pre tratamiento se realizó de la siguiente manera:

- Se tomaron 10 semillas de la planta seleccionada.
- Se colocaron en remojo las semillas en los 18 diferentes bioles, en AG3 y agua (como testigo positivo y negativo, de 12 a 24 horas).
- Transcurrido el tiempo, se colocaron las semillas sobre 4 o 5 servilletas que fueron previamente humedecidas con agua a través de un aspersor.
- Luego se cerraron las servilletas de tal modo que las semillas quedaron atrapadas dentro de las servilletas. Además, las semillas se presionaron para que queden perfectamente planas.
- Se introdujeron las servilletas humedecidas y planas a una bolsa de polietileno.
- Cuando fue necesario se les colocó más agua. Sin embargo, si presentaron un exceso de agua se les presionó para que eliminen el exceso.
- Estas bolsas fueron vistas a contra luz todos los días para analizar la velocidad de germinación (por un periodo corto de tiempo). Dicho análisis dependió del tipo de semilla. (ANEXO 4)

3.2.5.2. Análisis Fisiológico

Se sembraron 4 plantas. 3 de las que se obtuvieron residuos (alcachofa, espárrago y brócoli) y un testigo (tomate), que no tiene mucha variabilidad genética. Las cuatro plantas al ser homogéneas genéticamente, sólo presentaron las diferencias correspondientes a los diferentes tratamientos. (ANEXO 5)

De cada planta se sembraron 8 semillas por tratamiento, que fueron remojadas de la misma

manera durante 12 a 24 horas con los 18 diferentes tratamientos (en frascos y/o bolsas independientes a la concentración determinada en el pre tratamiento). Pasado el tiempo estas semillas fueron sembradas en las bandejas. Una fila por tratamiento. La repetición 1 en orden y la repetición 2 y 3 en desorden. Estas 8 semillas sembradas fueron tratadas a posteriori de diferente manera. Se dividieron en 4 plántulas con riego de biol + agua, y en 4 plántulas con riego de agua. El riego se realizó cada 5 días, siendo 8 plantelas por tratamiento. Así tenemos un total de 144 semillas sembradas por planta.

Asimismo, se sembraron 4 controles: AG3, Biol comercial 1, Biol comercial 2 y Agua. En estos también se sembraron 8 semillas por control y fueron tratadas del mismo modo (4 con riego de biol y 4 sin riego de biol), siendo un total de 32 semillas sembradas por planta.

Finalmente, siendo 144 semillas sembradas por planta para los 18 tratamientos, y 32 semillas sembradas por planta para los 4 controles, tenemos un total de 176 semillas sembradas por planta. Por tanto, fueron sembradas un total de 704 semillas entre las 4 plantas, esto corresponde a una repetición. Para nuestro ensayo realizamos 3 repeticiones (que dan un total 2112 semillas sembradas).

Las 3 repeticiones fueron ubicadas en diferentes lugares y en un mismo espacio. Para cerciorarnos que las diferencias no tengan que ver con el ambiente, las repeticiones fueron cubiertas con un soporte tipo invernadero de madera y este a su vez cubierto con malla agrícola que mantiene constante la temperatura de día y de noche (para que las plántulas tampoco se vean afectadas por la temperatura). La misma malla las protegió del viento.

En cada repetición se ubicaron 5 bandejas. Una bandeja por planta con sus 18 tratamientos. Y una bandeja aparte con los controles de las 4 plantas. Todo ascendió a un total de 5 bandejas, las cuales fueron ubicadas en diferente orden en cada repetición.

Se realizaron mediciones de:

- Emergencia
- Altura de plántula a la aparición de hojas cotiledóneas
- Altura de plántula a la aparición de hojas verdaderas
- Análisis de Raíz: Masa radicular, largo de raíz, grosor de raíz
- Numero de nudos.

En el caso de la emergencia, se realizó durante todos los días hasta que la mayoría de las plantas de una bandeja llegaron al 50%. En ese momento se detuvo el conteo de germinación, para pasar a altura de planta, a la aparición de hojas cotiledóneas.

La altura de planta a la aparición de hojas cotiledóneas se realizó una vez que llegaron la mayoría al 50% y se realizaron las mediciones cada 5 días, durante 20 días, es así como contamos con 4 mediciones.

La altura de planta a la aparición de hojas verdaderas, se inició a la aparición de las hojas verdaderas y se realizó cada 5 días durante 20 días, teniendo un total de 4 mediciones.

En cuanto a los análisis de masa radicular, largo de raíz, grosor de raíz y número de nudos, todos se realizaron pasado un día desde la última medición de altura de planta a la aparición de hojas verdaderas. Luego se contó el número de nudos y se retiraron las plantas. Sus raíces fueron enjuagadas con cuidado para no quebrarlas ni dañarlas. Esto permitió realizar los 3 análisis correspondientes a la raíz.

3.2.5.3. Efecto biol - planta

Se realizó un análisis efecto biol planta en el que se estudiaron los bioles elaborados con los residuos agrícolas de las especies de alcachofa, espárrago y brócoli. Esto en el desarrollo de plántulas de su especie correspondiente, que sirvió para verificar si existe un efecto positivo en la utilización de residuos agrícolas de una especie (en la producción de abonos orgánicos destinados para el cultivo de plantas de la misma especie).

En el caso del residuo de alcachofa, se analizaron los 6 tratamientos producidos con este tipo de residuo: los bioles 1, 2, 3, 10, 11 y 12 en el % de germinación de plántulas de alcachofa, espárrago, brócoli y tomate por separado para así compararlos y mediante un análisis estadístico verificar si existe una diferencia significativa.

Se realizó el análisis del mismo modo para los residuos de espárrago y brócoli. En el caso del residuo espárrago se analizaron los tratamientos 4, 5, 6, 13, 14 y 15 que corresponden a los bioles de este residuo; y para el residuo de brócoli se analizaron los tratamientos 7, 8, 9, 16, 17 y 18.

3.2.6. Evaluación de bioestimulantes mediante la técnica de HPLC Preparación de Curva de calibración

Se preparó 10ml de soluciones Stock de kinetina y ácido indolacético a 50 ppm y el ácido giberelico a 100ppm. En base a estas soluciones stock se preparó 5 diluciones de acuerdo a la Tabla 5 para realizar la curva de calibración:

Tabla 7. Cuadro de soluciones stock de bioestimulantes

Concentración (ppm)			Volumen ml
Kinetina	AIA	AG3	Final (
0,2	0,2	2	10
0,4	0,4	4	10
0,8	0,8	6	10
1,6	1,6	8	10
3,2	3,2	10	10

Extracción solido-fase

Ajustar el pH de los bioles seleccionados a pH 3 añadiendo ácido acético. Posteriormente se centrifugó durante 15 minutos a máxima velocidad y el sobrenadante resultante deberá ser desechado quedándonos con la torta. Después lavar secuencialmente la torta recogida con 2ml de metanol - ácido acético (100:1, v/v), metanol-agua-ácido acético (50:50:1, v/v/v), metanol-agua-ácido acético (30:70:1, v/v/v); y centrifugando durante 5 minutos después de cada lavado.

Los 3 sobrenadantes resultantes de cada lavado fueron transferidos a una columna SPE C18. Estas columnas anteriormente deben ser acondicionadas con 1ml de metanol y 1 ml de agua. Luego de la muestra debemos lavar la columna con agua ajustada a pH 3 con ácido acético, y después las fitohormonas son eluidas con 5 ml de metanol-agua-ácido acético (80:20:1,v/v/v). El eluido se evaporó con aire comprimido, y finalmente, el eluido

evaporado será disuelto en 1 ml de metanol. Antes del análisis de HPLC, el eluido reconstituido será filtrado usando un filtro anotop. (ANEXO 7)

Condiciones de HPLC

Solventes

- Solventes A: Acido acético (0.6%)
- Solvente B: Acetonitrilo

Tabla 8. Tabla de la gradiente necesaria para HPLC.

Tiempo (min)	Solvente A	Solvente B
0	5 %	95%
5	25%	75%
8	25%	75%

Flujo: 2ml/min

Detección: 254 nm

Volumen de inyección: 20ul

Determinación y cuantificación de Fitohormonas

Se corrió los 6 bioles seleccionados por HPLC y con ayuda de la curva de calibración realizada anteriormente se determinara la presencia de las 3 fitohormonas y sus concentraciones respectivas. (ANEXO 6)

3.2.7. Tratamiento Estadístico

Análisis

Se realizó la estadística descriptiva como media, desviación estándar, valores máximos y mínimo para las variables de estudio, asimismo para la comparación de las medias de cada uno de los bioles y fitohormonas se realizó el análisis de varianza de un factor de variabilidad para la comparación inferencial y contraste de hipótesis, la prueba se realizó

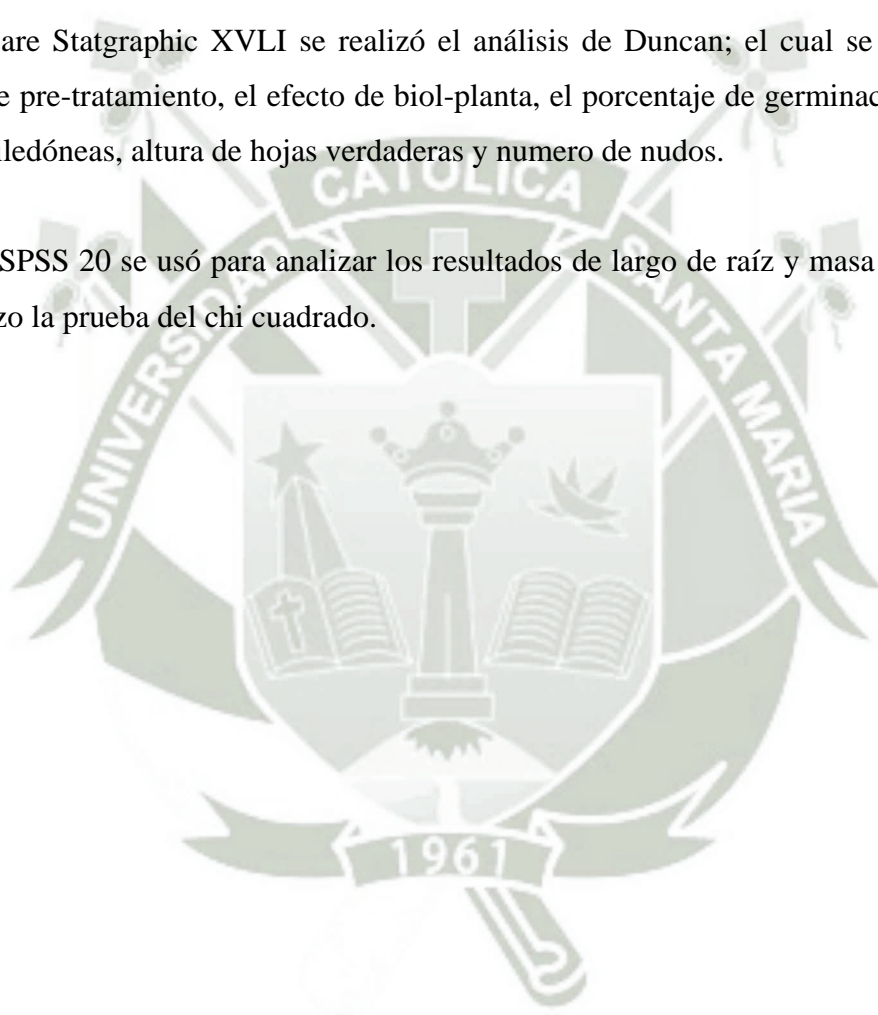
con un nivel de confianza del 5%. Para la demostración gráfica se diseñó diagramas de barras.

Procesamiento

El procesamiento de la información se realizó mediante el software estadístico Stargraphic XVI.I y SPSS 20.

En el Software Statgraphic XVI.I se realizó el análisis de Duncan; el cual se usó para los resultados de pre-tratamiento, el efecto de biol-planta, el porcentaje de germinación, la altura de hojas cotiledóneas, altura de hojas verdaderas y número de nudos.

El software SPSS 20 se usó para analizar los resultados de largo de raíz y masa radicular; en el cual se hizo la prueba del chi cuadrado.



CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Recolección de Residuos Vegetales

Los residuos vegetales de las 3 plantas escogidas fueron obtenidos de diferentes campos de cultivo. En el caso del esparrago, se obtuvo del fundo –Athosl, ubicado en el distrito de Guadalupe (provincia y departamento de ICA). En cuando a la alcachofa, se obtuvo a través de la empresa –ALSURl de Arequipa, que la obtuvieron del fundo ubicado en El Pedregal (provincia de Caylloma y departamento de Arequipa). El brócoli se obtuvo del fundo –Santa Teresal, ubicado en la Quebrada de tucos sin/numero La Tomilla – Cayma (provincia y departamento de Arequipa).

Los 3 residuos fueron tratados de la misma forma. Además, fueron almacenados mientras se obtenía el licor ruminal. Una vez obtenido el licor ruminal se procedió a cortarlos en pequeños pedazos de aproximadamente 1 a 2 cm, tanto hojas como tallos. Fue necesaria la utilización de un hacha para los tallos gruesos difíciles de fraccionar. Con respecto a las otras partes de la planta, se utilizó un cuchillo o una tijera para fraccionarlos. Este fraccionamiento no fue únicamente para facilitar el ingreso a los biodigestores, sino que se recomienda que los residuos estén en trozos pequeños para que haya una mayor área expuesta a la acción de los microorganismos.

Luego de fraccionados los 3 tipos de residuo vegetal, fueron pesados para proceder a su introducción en los biodigestores. El peso dependió de las proporciones utilizadas en los diferentes biodigestores (Tabla 8).

4.2. Obtención de Licor Ruminal de Llama y Vacuno

En esta fase se logró obtener el licor ruminal de llama y vacuno con satisfacción. El líquido del rumen de llama fue extraído de una llama viva teniendo en cuenta la metodología de extracción *in vivo*. Este fue almacenado en una botella de plástico de 2.5 L que se le extrajo el aire excedente para mantener las condiciones anaerobias. El licor ruminal de vacuno fue obtenido del estomago del vacuno siguiendo la metodología de extracción *post mortem* (en el Camal Frigorífico –Don Goyol, ubicado en Vía de Evitamiento s/n Urb. Sta. Anita Cerro Colorado, Arequipa). El líquido ruminal de llama también fue almacenado en una botella de plástico.

Tabla 9. Cantidades de residuos y líquido en los biodigestores de los 18 tratamientos.

LICOR RUMINAL DE LLAMA				LICOR RUMINAL DE VACUNO			
BIOL	RES. VEGETAL	LIQUIDO (ml)		BIOL	RES. VEGETALES (kg)	LIQUIDO (ml)	
		L. RUMINAL	AGUA			L. RUMINAL	AGUA
BIOL 1	1050	105	945	BIOL 10	1050	105	945
BIOL 2	1400	70	630	BIOL 11	1400	70	630
BIOL 3	700	140	1260	BIOL 12	700	140	1260
BIOL 4	600	60	540	BIOL 13	600	60	540
BIOL 5	800	40	360	BIOL 14	800	40	360
BIOL 6	400	80	720	BIOL 15	400	80	720
BIOL 7	1050	105	945	BIOL 16	1050	105	945
BIOL 8	1400	70	630	BIOL 17	1400	70	630
BIOL 9	700	140	1260	BIOL 18	700	140	1260

4.3. Configuración Experimental de Biodigestores

Los biodigestores fueron diseñados con un punto de muestreo, un dispositivo de medición de la temperatura y una salida de gas metano.

El punto de muestreo fue elaborado con los candados de extracción de sangre y lo insertamos en los galones que usamos como reactores. Estos fueron sellados

herméticamente evitando cualquier tipo de fugas. El dispositivo de muestreo estuvo en funcionamiento durante los 60 días de digestión.

El dispositivo de medición de temperatura fue elaborado con una varilla de 10mm de diámetro y 15 cm de largo. Además, fue sellado de un extremo a través del calor. Los tubos se introdujeron en un tapón de caucho para generar mayor hermetismo. Después de ser introducidos en los digestores, los tubos fueron sellados herméticamente al corcho, también los galones, para evitar fugas y entrada de oxígeno. Estos tubos se llenaron con glicerina para medir la temperatura al interior del digestor, ya que la glicerina tendría la misma temperatura de contenido del digestor.

Los biodigestores cuentan con una salida especial para los gases producidos durante la biodigestión. La salida fue fabricada artesanalmente con una manguera delgada introducida en la tapa del biodigestor y sellada perfectamente para que no se produzcan fugas. La manguera entra directamente a una botella que está llena a la mitad con agua. Esto provocará que los gases se diluyan en el agua y salgan al ambiente sin ocasionar una contaminación.

Durante los 60 días de funcionamiento, los biodigestores no tuvieron mayor problema, logrando una digestión anaerobia satisfactoria.



Figura 12. Imagen del biodigestor con su punto de muestreo, de medición de temperatura y salida de gases.

4.4. Obtención de Biol

Una vez recolectado el material vegetal y orgánico, y configurado el biodigestor, se pusieron en marcha los biodigestores. Primero se agregaron los residuos vegetales a los digestores, seguidamente el agua correspondiente y finalmente el licor ruminal. Las cantidades de cada componente fueron de acuerdo a la Tabla 8. El licor ruminal fue agregado al final para evitar el mayor tiempo de contacto con el oxígeno del ambiente y así mantener sus condiciones anaerobias. Finalmente se sellaron los digestores herméticamente con la finalidad de tener un ambiente anaeróbico en el que los microorganismos anaerobios del licor ruminal puedan digerir el material orgánico.



Figura 13. Bioles obtenidos y almacenados en botellas de plástico.

4.4.1. Control de parámetros de biodigestión pH

Durante los 60 días de fermentación se tomaron mediciones de pH cada 3 días con la ayuda del pH metro del laboratorio H-101. Asimismo, todos los días se tomaron mediciones de temperatura con la ayuda de un termómetro de mercurio de 180°C. Estos parámetros fueron evaluados para observar que el proceso de digestión anaerobia se esté realizando correctamente. Por otro lado, se observaron cambios de color en los diferentes tratamientos (Figura 13 y 14). El cambio de color a verde oscuro nos indica la finalización del proceso de biodigestión.

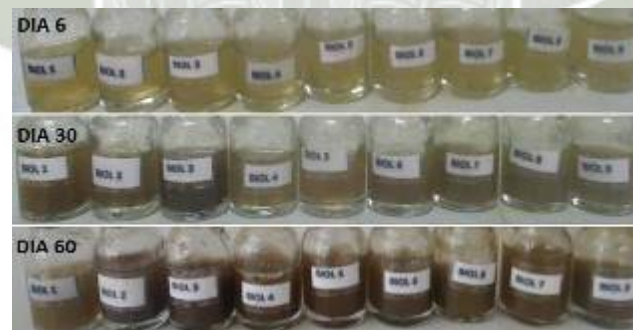


Figura 14. Imagen de los nueve bioles de licor ruminal de llama al día 6, día 30 y día 60 para observar cambio de color.

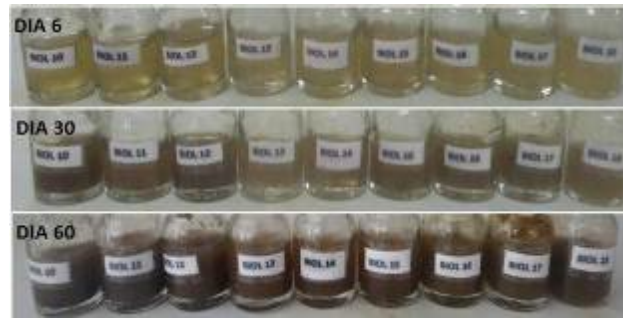


Figura 15. Imagen de los nueve bioles con licor ruminal de vacuno al día 6, día 30 y día 60 para observar su cambio de color

En la Figura 15 se observa que en los primeros días el pH se mantiene ácido debido a que los microorganismos recién se están adecuando a su nuevo ambiente. Sin embargo, después la mayoría de tratamientos aumentan el pH y se mantienen alrededor de 6 o 7, indicando que se esta realizando con éxito la biodigestión. Según McCarty (1964), citado por Soria et al. (2001), el rango óptimo del pH para lograr una mayor eficiencia en la biodigestión es entre 6.6 a 7.6. La biodigestión, cuando mantiene este rango de pH, es un indicador de que esta operando correctamente. Además, el equilibrio ácido-base que tiene lugar en la operación de biodigestores anaerobios es muy importante por la presencia de los diversos tipos de microorganismos que están en el medio y que requieren ser neutralizados para restituir el pH hacia la neutralidad (Mejia, 1996).

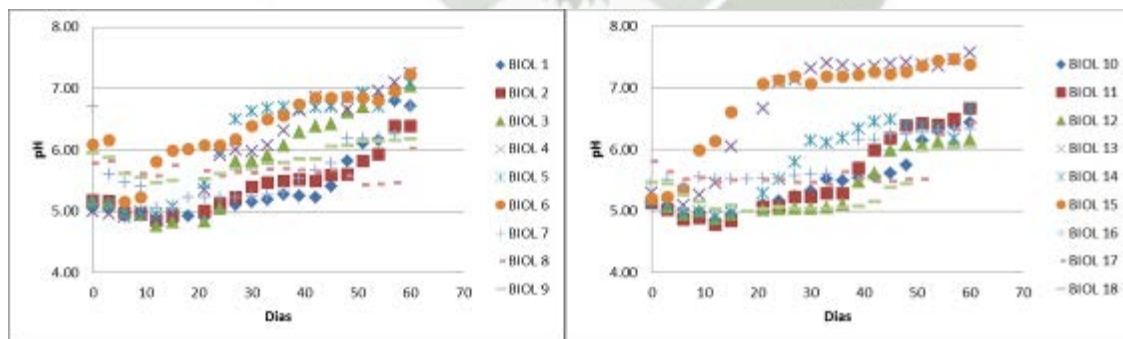


Figura 16. Curva de pH de los bioles con licor ruminal de llama y vacuno durante los 60 días de biodigestión.

Por todo lo expuesto se puede concluir que en este experimento el pH se mantuvo dentro de los rangos deseables (6-7.5) para un proceso de biodigestión adecuado.

Temperatura

La medición de este parámetro es importante debido a que en las diferentes etapas de la fermentación anaerobia hay microorganismos sensibles a cambios bruscos de temperatura. Además, los cambios de temperatura varían mucho la cantidad de días que necesita la biodigestión, por lo que en climas cálidos el tiempo de producción de biol puede ser menor a el tiempo de producción en climas fríos, donde debe dejarse mayor tiempo para que finalice la biodigestión anaerobia.

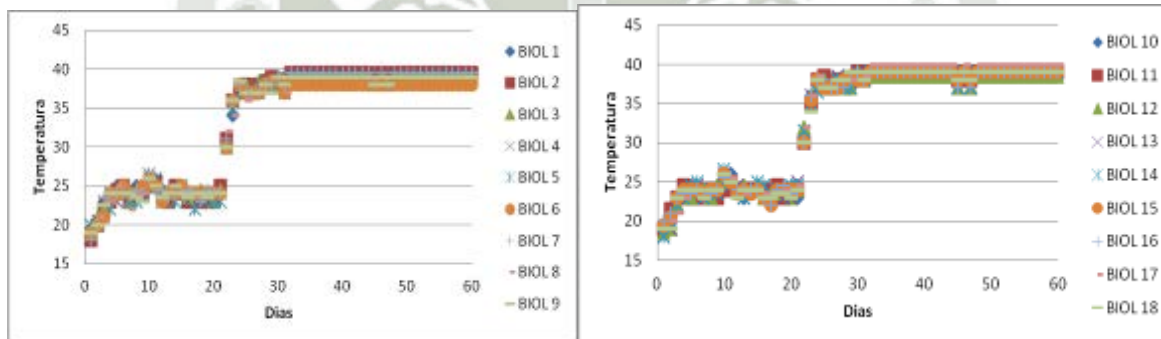


Figura 17. Curva de Temperatura de los bioles con licor ruminal de llama y vacuno.

En la Figura 16 se muestran los gráficos de la medición de temperatura para los 60 días de biodigestión. Asimismo, se ve el aumento de temperatura en los 2 primeros días para los 18 bioles. Esto debido a que los microorganismos necesitan un tiempo para adaptarse a su nuevo ambiente. Se puede ver un aumento de temperatura en el día 22 debido a que colocamos algunos focos de mayor voltaje para generar un ambiente más cálido y favorecer la biodigestión. Un ambiente cálido reduce el número de días de la digestión. La temperatura óptima de fermentación se encuentra entre 25°C y 35°C (Suquilanda, 1995), y en nuestro caso observamos que la temperatura se encuentra mayormente dentro de este rango. De esta forma se favorece el aumento de la población de los microorganismos

digestivos y su crecimiento, además de aumentar la eficiencia de los microorganismos en la degradación de los residuos agrícolas

Tabla 10. Rendimiento de los 18 tratamientos.

	Líquido ingresado(ml)	Líquido extraído(ml)	Líquido Producido(ml)	Materia Sólida Ingresada (Residuo Vegetal)	Rendimiento (%)
BIOL 1	1050	1450	400	1050	38.0952
BIOL 2	700	1270	570	1400	40.7143
BIOL 3	1400	1630	230	700	32.8571
BIOL 4	600	840	240	600	40.0000
BIOL 5	400	810	410	800	51.2500
BIOL 6	800	890	90	400	22.5000
BIOL 7	1050	2050	1000	1050	95.2381
BIOL 8	700	1900	1200	1400	85.7143
BIOL 9	1400	1970	570	700	81.4286
BIOL	1050	1370	320	1050	30.4762
BIOL	700	1070	370	1400	26.4286
BIOL	1400	1620	220	700	31.4286
BIOL	600	810	210	600	35.0000
BIOL	400	690	290	800	36.2500
BIOL	800	1040	240	400	60.0000
BIOL	1050	2000	950	1050	90.4762
BIOL	700	1450	750	1400	53.5714
BIOL	1400	2010	610	700	87.1429

Una vez cumplido el tiempo de la biodigestión (60 días) se obtuvo los bioles, los cuales se procedieron a colar de manera individual para luego medir su volumen final y así evaluar su rendimiento. El rendimiento de cada tratamiento se ve en la Tabla 9.

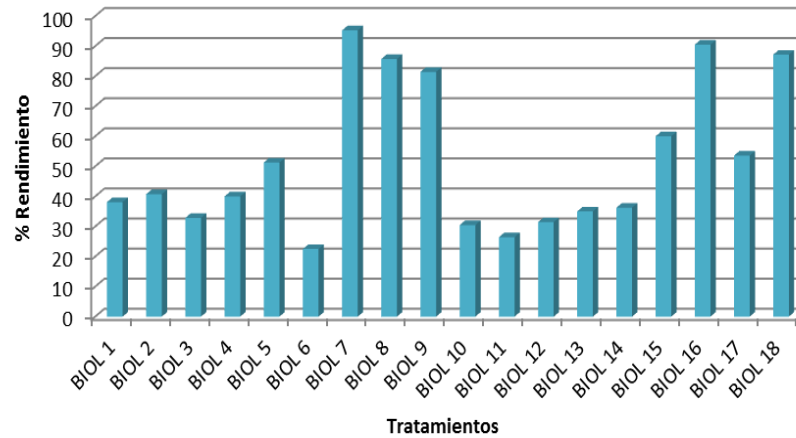


Figura 18. Rendimiento expresado en porcentaje de los 18 tratamientos.

En la Figura 17 podemos observar el rendimiento de los 18 biodigestores, donde se aprecia que el tratamiento 7 tiene un mayor rendimiento en comparación con los otros 17. Asimismo, notamos que junto al tratamiento 7 el tratamiento 16 tiene un buen rendimiento, ambos son producidos con la misma proporción y con el mismo residuo vegetal. La proporción 1:1 y el residuo vegetal del brócoli nos generan una buena productividad en comparación a las demás proporciones y residuos agrícolas .

También podemos observar que no hay una gran diferencia entre los tratamientos producidos con licor ruminal de llama y los tratamientos producidos con licor ruminal de vacuno. De acuerdo a la gráfica los porcentajes de rendimiento varían mucho en cada tratamiento.

4.5. Evaluación de Biol

4.5.1. Pre-tratamiento

Esta etapa se realizo para poder encontrar el porcentaje de dilución adecuado para usarlo en el remojo de las semillas de las 4 plántulas a sembrar.

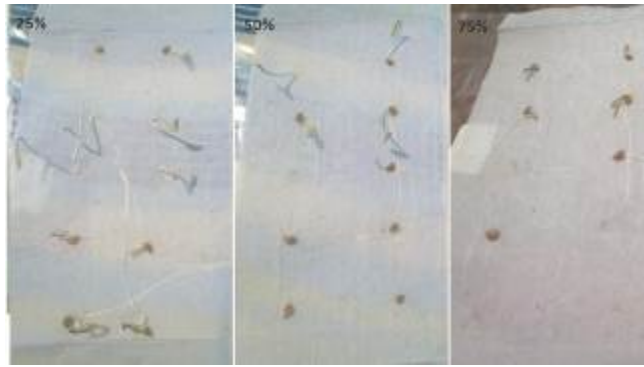


Figura 19. Diferencias entre las tres concentraciones en el pre-tratamiento en semillas de brócoli.

Las bolsas de polietileno usadas para el pre-tratamiento contienen 10 semillas de tomate y 10 semillas de brócoli. Estas fueron previamente remojadas en bioles a 3 diferentes concentración: 25%, 50% y 75%. Las mediciones se realizaron durante 10 días y diariamente se abrieron las servilletas para contabilizar de mejor manera las semillas germinadas, como se observa en la Figura 18.

Tabla 11. Diferencias estadísticas en la germinación de semillas de tomate y brócoli remojadas en los 18 bioles a las tres diferentes concentraciones.

Semillas de Tomate		
Concentración	Media	Significancia
25%	99,4444	a
50%	91,6667	a
75%	86,6667	b
Semillas de Brócoli		
Concentración	Media	Significancia
25%	63,8889	A
50%	45,0000	Ab
75%	33,3333	B

Prueba de Duncan, con nivel de significancia 5% (letras iguales expresan efectos similares y letras diferentes efectos diferentes).

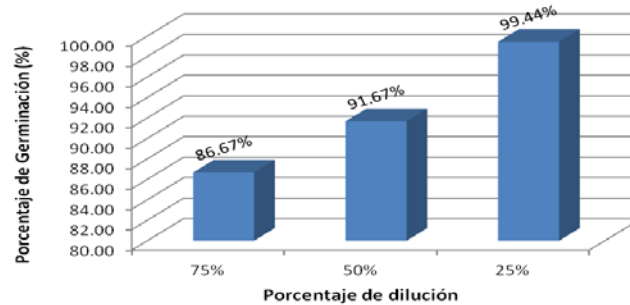


Figura 20. Germinación de semillas de tomate remojadas en los 18 bioles a las tres diferentes concentraciones.

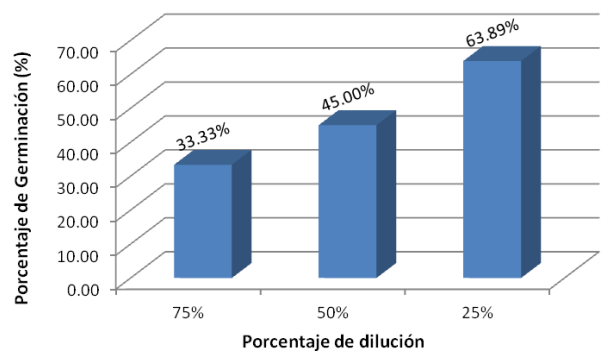


Figura 21. Germinación de semillas de brócoli remojadas en los 18 bioles en tres diferentes concentraciones.

Como podemos observar en la Tabla 10, la concentración adecuada para ambas semillas es la 1, que viene a ser la dilución al 25%. Ella es la que tiene mayor significado en el análisis estadístico del porcentaje de germinación de semillas.

Con esto concluimos que la concentración óptima para los tratamientos es de 25%, como se puede observar de mejor forma en las Figuras 19 y 20. Las plántulas en la siguiente etapa serán tratados a esta concentración, tanto para remojo de semillas como para riego foliar.

4.5.2. Efecto Biol-Planta

La importancia de la influencia del biol – planta es de conocer, si existe un efecto positivo en la utilización de residuos agrícolas, que la especie y producción de abonos orgánicos destinados para el cultivo de plantas de la misma especie; suponiendo que al ser digeridos los residuos agroindustriales de una planta el biol que se obtiene puede tener fitohormonas o componentes propios y necesarios para la misma planta.

Tabla 12. Características evaluadas a la germinación y desarrollo de la plántula en cuatro especies de plantas con aplicaciones de biol elaborado con residuos vegetales(espárrago, brócoli, alcachofa), comparado con dos bioles comerciales, dos controles AG3 y Agua.

	% T Germinació n*	Altura de plántulas *	# Nudos*	Escala de largo raíz en %			Escala masa radicular en %		
				1	2	3	1	2	3
1	84,37 (b)	37,5617(c)	2,71(b)	0	83.3	16.7	8.3	83.3	8.3
2	80,21 (c)	39,9517(c)	2,95(b)	0	83.3	16.7	8.3	58.3	33.3
3	84,37 (b)	38,4971(c)	2,86(b)	0	91.7	8.3	0	75	25
4	86,46 (a)	42,5200(c)	3,06(b)	0	66.7	33.3	0	83.3	16.7
5	81,25 (c)	42,3425(c)	2,98(b)	0	100	0	0	83.3	16.7
6	78,12 (c)	42,5242(c)	3,01(b)	0	66.7	33.3	0	100	0
7	77,08 (c)	38,0400(c)	3,13(b)	8.3	83.3	8.3	25	75	0
8	75 (c)	38,9738(c)	3(b)	16.7	58.3	25	0	100	0
9	82,29 (c)	40,0971(c)	3,03(b)	0	100	0	0	91.7	8.3
10	85,42 (a)	40,0583(c)	2,9(b)	0	91.7	8.3	8.3	83.3	8.3
11	71,87 (c)	35,4361(c)	2,72(b)	0	75	25	0	100	0
12	81,25 (c)	39,5107(c)	2,7(c)	0.0	66.7	33.3	8.3	83.3	8.3
13	77,08 (c)	38,1433(c)	2,93(b)	8.3	91.7	0	0	100	0
14	83,33 (b)	40,8581(c)	2,92(b)	16.7	75	8.3	16.7	83.3	0
15	72,92 (c)	39,9898(c)	3,07(b)	8.3	91.7	0	8.3	83.3	8.3

16	68,75 (c)	38,1828(c)	2,87(b)	0	83.3	16.7	16.7	75	8.3
17	66,67 (d)	36,0899(c)	2,75(b)	0	91.7	8.3	33.3	66.7	0
18	71,87 (c)	36,1467(c)	2,95(b)	0	75	25	8.3	83.3	8.3
19	86,46 (a)	61,2391(a)	4,79 (a)	0	75	25	0	83.3	16.7
20	54,17 (d)	28,7144(d)	2,85(b)	33.3	66.7	16.7	41.7	41.7	16.7
21	66,67 (d)	42,8793(c)	3,93 (b)	16.7	66.7	16.7	25	41.7	33.3
22	71,87 (c)	50,6266(b)	4,46 (a)	8.3	75	0	16.7	66.7	16.7

Ya que al ser digeridos los residuos agroindustriales el biol que se obtiene puede tener fitohormonas o componentes propios y necesarios de la misma planta. El biol producido con residuos agrícolas de espárrago presentó el mayor efecto, obteniéndose 3 de las 4 características medidas como mejores en la planta de espárrago, el biol producido con residuos agrícolas de brócoli un único impacto en cuanto a porcentaje de germinación y el biol producido con el residuo agrícola de alcachofa no presenta ninguna clase de impacto con su propia planta, , como se puede observar en la Tabla 11.

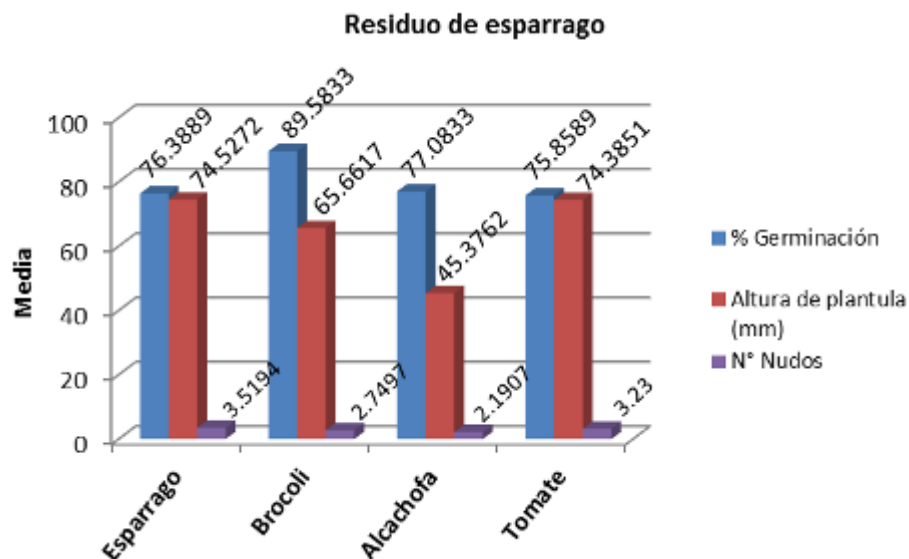


Figura 22. Impacto del residuo agrícola de espárrago en el porcentaje de germinación, altura de planta y número de nudos en las especies de espárrago, brócoli, alcachofa y tomate.

El biol producido con residuos agrícolas de espárrago presentó el mayor impacto positivo en su propia especie. Ya que obtuvo 3 características de las 4 medidas con mayor porcentaje en las plántulas de espárrago, como se puede ver en la grafica 21

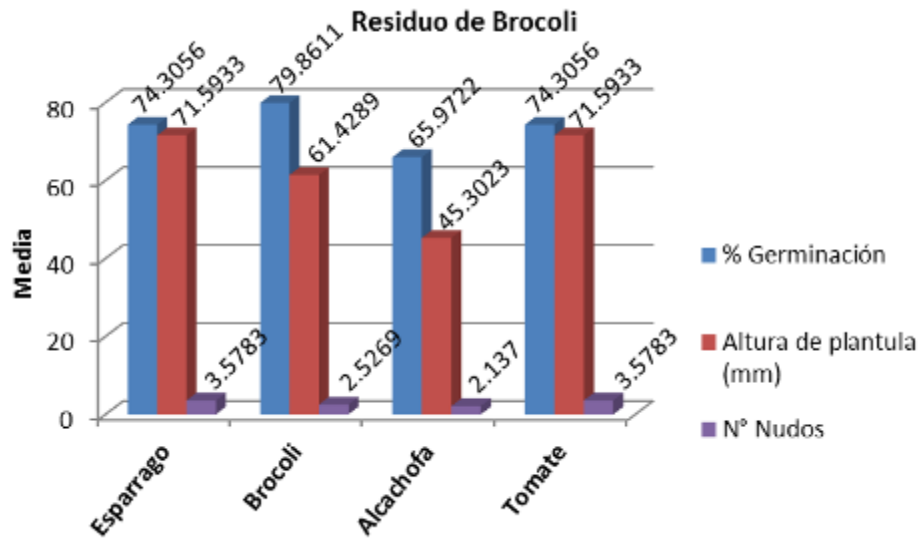


Figura 23. Impacto del residuo agrícola de brócoli en el porcentaje de germinación, altura de planta y número de nudos en las especies de espárrago, brócoli, alcachofa y tomate.

El biol producido con residuos agrícolas de brócoli tiene una sola característica (porcentaje de germinación) con impacto positivo en su propia planta viéndose claramente en la grafica 22.

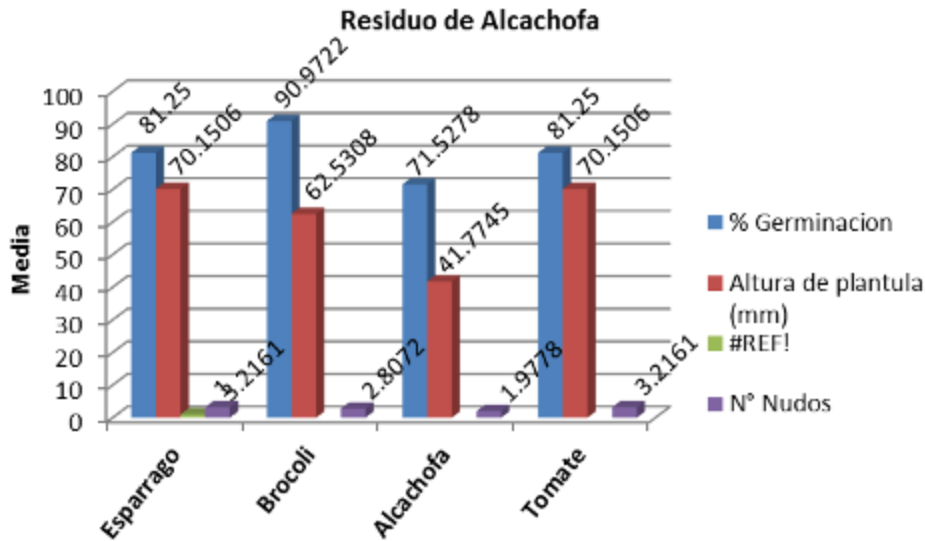


Figura 24. Impacto del residuo agrícola de alcachofa en el porcentaje de germinación, altura de planta, largo de raíz y número de nudos en las especies de espárrago, brócoli, alcachofa y tomate.

Finalmente los tratamientos producidos con el residuo agrícola de alcachofa no presentan ninguna clase de impacto con su propia planta, lo cual podemos observar en la grafica 23.

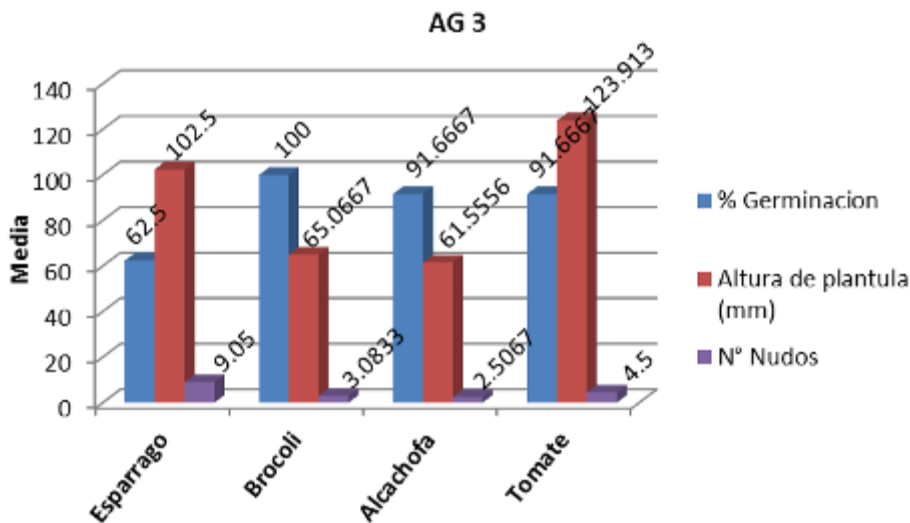


Figura 25. Impacto del AG3 en el porcentaje de germinación, altura de planta y número de nudos en las especies de espárrago, brócoli, alcachofa y tomate.

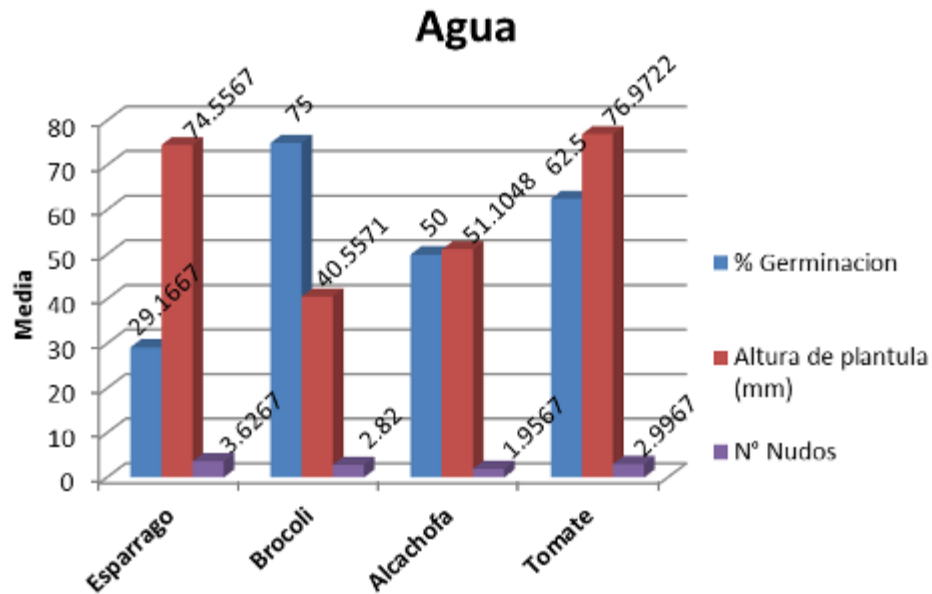


Figura 26. Impacto del agua en el % de germinación, altura de planta, largo de raíz y número de nudos en las especies de espárrago, brócoli, alcachofa y tomate.

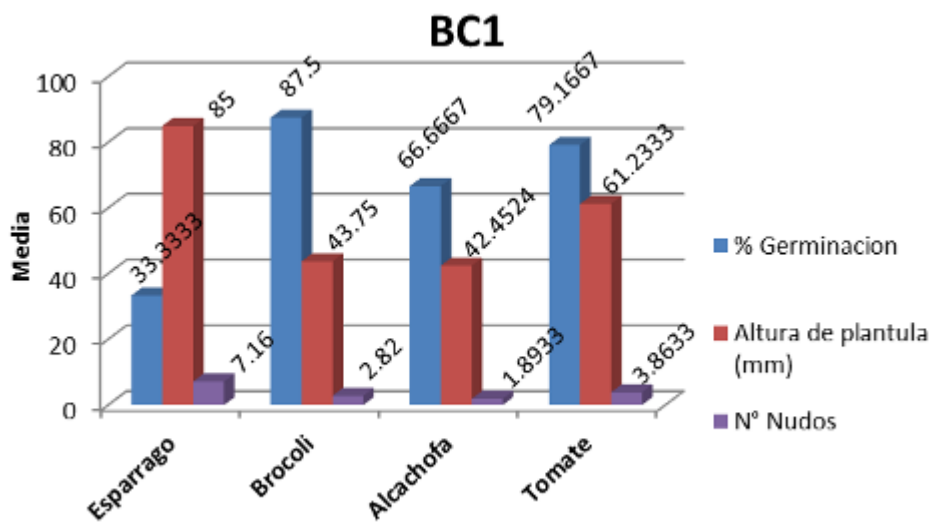


Figura 27. Impacto del BC1 en el porcentaje de germinación, altura de planta y número de nudos en las especies de espárrago, brócoli, alcachofa y tomate.

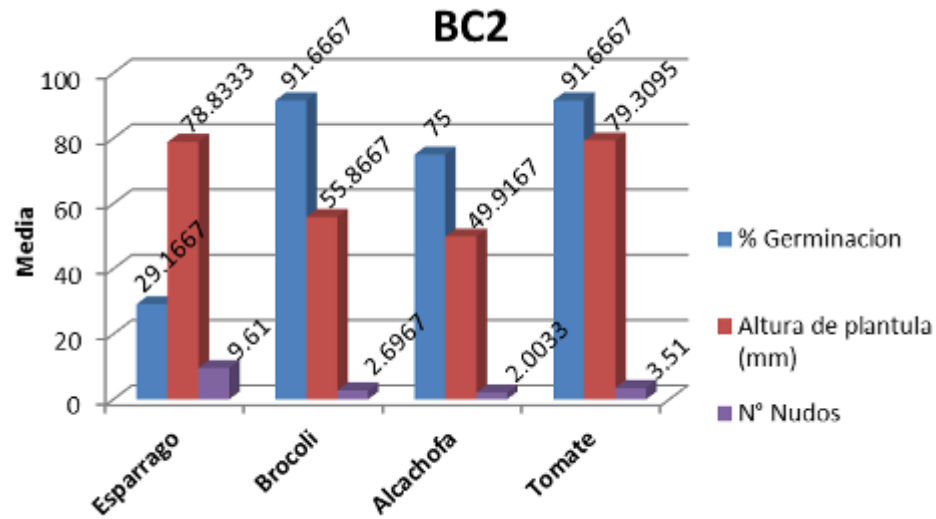


Figura 28. Impacto del BC2 en el porcentaje de germinación, altura de planta y número de nudos en las especies de espárrago, brócoli, alcachofa y tomate.

4.5.3. Análisis Fisiológico

4.5.3.1. Análisis del porcentaje de germinación, altura a la aparición de hojas verdaderas, número de nudos, largo de raíz y masa radicular para la selección de los seis mejores tratamientos.

Tabla 13. Diferencias estadísticas del porcentaje de germinación, altura a la aparición de hojas verdaderas, número de nudos, largo de raíz y masa radicular de las cuatro plántulas con los 22 tratamientos.

% Germinación*		Altura H, Verdaderas*		# Nudos*		Largo Raíz°		Masa radicular°	
T	Media	T	Media	T	Media	T	Media	T	Media
4	86,46 (a)	19	61,2391(a)	19	4,79 (a)	1	16,7%	1	8,3%
19	86,46 (a)	22	50,6266(b)	22	4,46 (a)	2	16,7%	2	33,3%
10	85,42 (a)	21	42,8793(c)	21	3,93 (b)	3	8,3%	3	25%
1	84,37 (b)	6	42,5242(c)	7	3,13(b)	4	33,3%	4	16,7%
3	84,37 (b)	4	42,5200(c)	15	3,07(b)	5	0,0%	5	16,7%
14	83,33 (b)	5	42,3425(c)	4	3,06(b)	6	33,3%	6	0%
9	82,29 (c)	14	40,8581(c)	9	3,03(b)	7	8,3%	7	0%
12	81,25 (c)	9	40,0971(c)	6	3,01(b)	8	25%	8	0%
5	81,25 (c)	10	40,0583(c)	8	3(b)	9	0%	9	8,3%
2	80,21(c)	15	39,9898(c)	5	2,98(b)	10	8,3%	10	8,3%
6	78,12 (c)	2	39,9517(c)	2	2,95(b)	11	25%	11	0%
7	77,08 (c)	12	39,5107(c)	18	2,95(b)	12	33,3%	12	8,3%
13	77,08 (c)	8	38,9738(c)	13	2,93(b)	13	0%	13	0%
8	75 (c)	3	38,4971(c)	14	2,92(b)	14	8,3%	14	0%
15	72,92 (c)	16	38,1828(c)	10	2,9(b)	15	0%	15	8,3%
11	71,87 (c)	13	38,1433(c)	16	2,87(b)	16	16,7%	16	8,3%
22	71,87 (c)	7	38,0400(c)	3	2,86(b)	17	8,3%	17	0%
18	71,87 (c)	1	37,5617(c)	20	2,85(b)	18	25%	18	8,3%
16	68,75 (c)	18	36,1467(c)	17	2,75(b)	19	25%	19	16,7%
17	66,67 (d)	17	36,0899(c)	11	2,72(b)	20	0%	20	16,7%
21	66,67 (d)	11	35,4361(c)	1	2,71(b)	21	16,7%	21	33,3%
20	54,17 (d)	20	28,7144(d)	12	2,7(c)	22	16,7%	22	16,7%

*Prueba de Duncan, con nivel de significancia 5% (letras iguales expresan efectos similares y letras diferentes efectos diferentes) ° Prueba de Chi cuadrado.

F = 2.85
P<0.05

F=1.99
P<0.05

F=1.68
P<0.05

P<0.05

P<0.05

En la tabla 13, para el porcentaje de germinación en las diversas aplicaciones de Biol y controles, según el análisis de varianza de un factor de variación ($F=2.85$), se presentaron diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$). La prueba de Duncan nos indica que los bioles 10,4 y 19 presentaron los mejores. Para la altura de la hoja verde, en la cuarta evaluación de las unidades experimentales, en las diversas aplicaciones de Biol y controles (según el análisis de varianza de un factor de variación) ($F=1.99$) se presentaron diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$). Según la prueba de Duncan, se muestra que con la concentración de biol 19 se encontró la mejor altura de hoja. Asimismo, para el número de nudos en las unidades experimentales de las diversas aplicaciones de Biol y controles (según el análisis de varianza de un factor de variación) ($F=1.68$) se presentaron diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$). Según la prueba de Duncan, se muestra que con la fitohormona 20 y el Biol 19 se encontraron el mayor número de nudos.

También observamos en la tabla 13 que la longitud de raíz en las concentraciones de Biol y controles según la prueba de chi cuadrado ($X^2=63.29$) presentó diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$). A la vez para la masa radicular en las concentraciones de Biol y controles, según la prueba de chi cuadrado ($X^2=69.75$), presentó diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$).

Porcentaje de Germinación

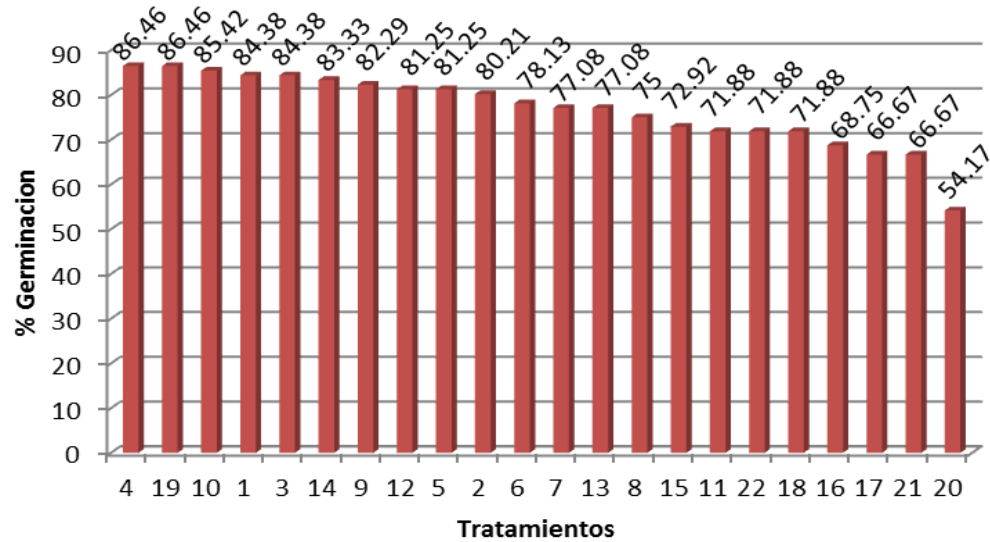


Figura 29. Porcentaje de germinación para los tratamientos.

En la Grafica 24 podemos observar que los mejores tratamientos en cuanto a porcentaje de germinación son el tratamiento 19. Siendo el AG3 usado como control positivo. A continuación tenemos en orden de importancia, y de impacto, la germinación de todos los bioles.

Los 6 mejores tratamientos son los tratamientos 4, 10, 3, 1, 14 y 9, tal como se ve en la Figura 24. Uno es el de brócoli; el tratamiento 9, 2, de los bioles; son de espárrago los tratamientos 14 y 4; y finalmente son de alcachofa los tratamientos 1, 3 y 10.

También notamos que el último tratamiento, el numero 20, es el tratamiento con agua, siendo el control negativo para la experiencia. También tenemos entre los bioles a los tratamientos 21 y 22. Estos bioles están al final, lo que quiere decir que nuestros bioles superan a los bioles comerciales en la variable de germinación de planta.

De estos 6 primeros bioles, comparándolos con los licores, contamos con que los tratamientos 1, 3, 4 y 9 son con licor ruminal de llama, y los tratamientos 10 y 14 son con licor ruminal de vacuno.

Con esto podemos concluir que la planta con los seis primeros bioles es la alcachofa, y en el caso de licor ruminal, los mejores fueron realizados con licor ruminal de llama.

Tabla 14. Diferencias estadísticas del porcentaje de germinación de semillas de Alcachofa, Brócoli, Tomate y Espárrago.

PLANTULAS	Media LS	Significancia
Brócoli	87,1212	a
Tomate	78,0303	b
Alcachofa	71,4015	c
Espárrago	70,2652	c

Prueba de Duncan, con nivel de significancia 5% (letras iguales expresan efectos similares y letras diferentes efectos diferentes)

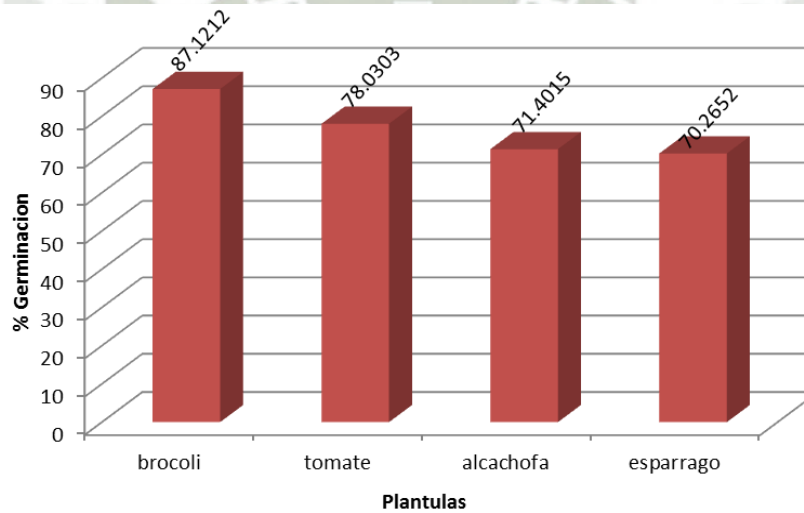


Figura 30. Porcentaje de germinación para las cuatro plántulas: Brócoli, Tomate, Alcachofa y Espárrago.

Como podemos observar en la Tabla 16 y en la Figura 29, nuestros bioles han tenido un impacto en cuanto a planta en el punto de porcentaje de germinación de semilla. Además, el mayor impacto fue en brócoli y tomate, seguido de alcachofa, que tuvo un gran adelanto en días con respecto a su germinación. Y el espárrago, a pesar de no ser de este clima y de difícil siembra, tuvo una germinación exitosa aunque un poco tardía.

Preparamos un cuadro mixto donde tenemos todos los tratamientos y donde podemos ver los promedios para plantas, proporciones y para el licor ruminal. Con el cuadro podemos compararlos y conocer qué residuo vegetal fue el mejor, qué proporción fue la mejor y qué licor ruminal fue el mejor para la producción de los bioles (Tabla 15).

Tabla 15. Cuadro mixto de porcentaje de germinación.

	Licor Ruminal de Llama				Licor Ruminal de Vacuno				Xx
	1:1	2:1	1:2	x	1:1	2:1	1:2	X	
Proporción									
Alcachofa	84,38	80,21	84,38	82,99	85,42	71,88	81,25	79,51	81,25
Esparrago	86,46	81,25	78,13	81,94	77,08	83,33	72,92	77,78	79,86
Brócoli	77,08	75,00	82,29	78,13	68,75	66,67	71,88	69,10	73,61
X	82,64	78,82	81,60		77,08	73,96	75,35		
Xx	79,86	76,39	78,47						
(Proporción)									
Xx (Licor Ruminal)	81,02	75,46							

Del análisis estadístico para determinar si los valores tienen o no diferencias significativas, podemos concluir que según la Tabla 38 (ANEXO 8) los promedios con respecto a residuos agrícolas no tienen diferencias significativas. Según la Tabla 39, en los promedios hallados para proporción, entre residuos agrícolas y parte líquida, no existen diferencias significativas. Finalmente, como se puede ver en la Tabla 40, se analiza si estadísticamente existen diferencias significativas entre los bioles producidos a partir de licor ruminal de llama y los bioles producidos a partir del vacuno. Como podemos observar en la tabla sí existen diferencias significativas.

Altura a la aparición de hojas verdaderas

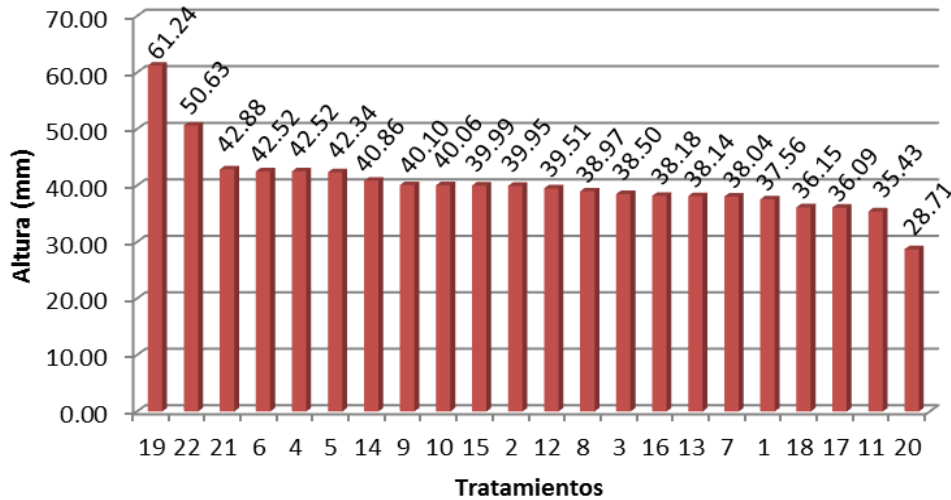


Figura 31. Altura a la aparición de hojas verdaderas por cada tratamiento en las cuatro plántulas.

Se efectuaron 4 mediciones por cada una de las 4 plantas usadas cada 5 días.

Como podemos ver en la Tabla 15, en el caso de la altura a la aparición de hojas verdaderas, sí existe una diferencia significativa, siendo en este caso lo mejor nuestro control positivo AG3 y el tratamiento 19, seguido por los bioles comerciales, que en esta variable tuvieron un impacto positivo. Finalmente tenemos los 6 mejores bioles para estas variables. Ellas corresponden a los tratamientos 6, 4, 5, 14, 9 y 10 (Figura 27).

Estos 6 bioles son tratamientos realizados en cuanto a planta 4 de espárrago, siendo los tratamientos 4, 5, 6 y 14 de esta planta. El tratamiento 9 fue realizado con brócoli y el tratamiento 10 con alcachofa. Viéndolo desde el punto de vista del licor ruminal, tenemos a los tratamientos 4, 5, 6 y 9 preparados con licor ruminal de llama y los tratamientos 10 y 14 con licor ruminal de vacuno.

Podemos concluir que en cuanto a planta, en el caso de altura a la aparición de hojas verdaderas a que predominó como fuente de carbono fue el espárrago, pero en cuanto a la fuente de microorganismos como lo es el licor ruminal, predominó una vez más el licor ruminal de llama

En cuanto a la altura a la aparición de hojas verdaderas se preparó un cuadro con los valores promedio de cada biol, de los que se halló el promedio para los residuos agrícolas, el promedio de las proporciones y el promedio para los licores ruminales, como se puede observar en la Tabla 18.

Tabla 16. Cuadro mixto de altura a la aparición de hojas verdaderas.

	Licor Ruminal de Llama				Licor Ruminal de Vacuno				Xx
	1:1	2:1	1:2	X	1:1	2:1	1:2	x	
Proporción									
Alcachofa	37,56	39,95	38,50	38,67	40,06	35,43	39,51	38,33	38,50
Esparrago	42,52	42,34	42,52	42,46	38,14	40,86	39,99	39,66	41,06
Brocoli	38,04	38,97	40,10	39,04	38,18	36,09	36,15	36,81	37,92
X	39,37	40,42	40,37		38,79	37,46	38,55		
Xx	39,08	38,94	39,46						
(Proporción)									
Xx (Licor Ruminal)	40,06	38,27							

Se realizaron análisis estadísticos para ver si había diferencias significativas, como se puede ver en la Tabla 48, no existen diferencias significativas entre los residuos agrícolas. Asimismo, en la Tabla 49 no existen diferencias significativas entre proporciones utilizadas. Finalmente, en la Tabla 40 se muestran las diferencias significativas entre licores ruminales.

Número de Nudos

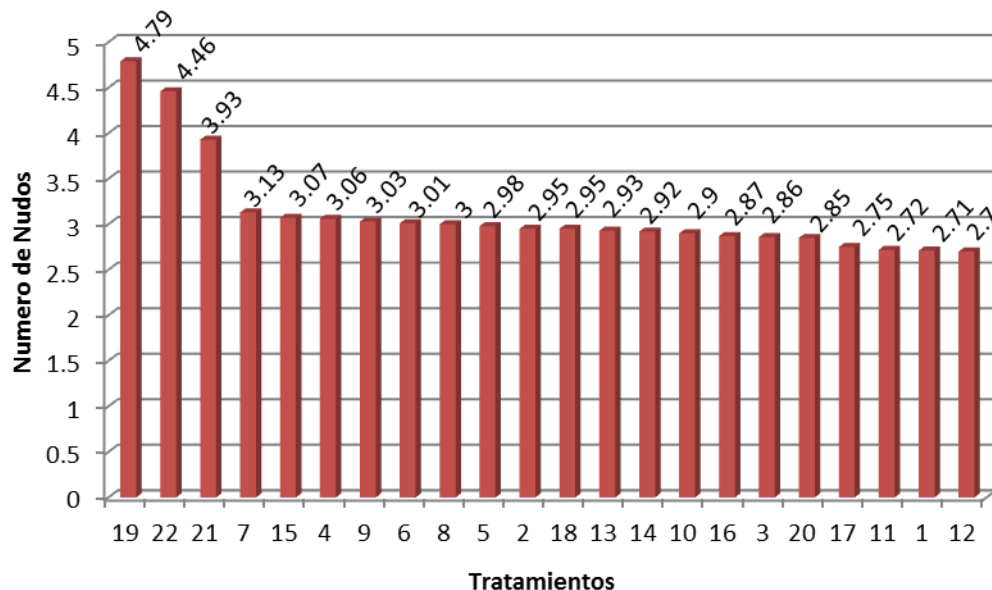


Figura 32. Número de nudos por cada tratamiento de las cuatro plántulas.

En la Tabla 15 podemos observar la variable medida número de nudos, tenemos primero a nuestro control positivo AG3 y a los bioles comerciales que en esta variable tuvieron buen impacto. A continuación tenemos a todos nuestros bioles ordenados en grado de importancia en esta variable.

En este punto los mejores 6 bioles son los tratamientos 7, 15, 4, 9, 6 y 8 (Figura 29). Viendo los tratamientos desde un punto de vista de planta, tenemos a los tratamientos 4, 6 y 15 realizados a base de espárrago, y a los tratamientos 7, 8, 9 realizados a base de brócoli. En cuanto al licor ruminal o fuente microbiana con la que fueron realizados, tenemos a los tratamientos 4, 6, 7, 8 y 9 realizados con licor ruminal de llama y al tratamiento 15 realizado con licor ruminal de vacuno.

Podemos concluir que en la variable de número de nudos, la mejor planta como fuente de carbono fue el espárrago, y la mejor fuente microbiana o licor ruminal, fue el licor ruminal de llama, como en todas las variables anteriores.

Se tomaron las mediciones de números de nudos, luego se procedió a sacar los promedios correspondientes a cada biol y con estos valores a llenar la Tabla 19 (en donde se indica las diferencias entre residuos agrícolas, entre proporciones y entre licor ruminal).

Tabla 17: Cuadro mixto de número de nudos.

Proporción	Licor Ruminal de Llama				Licor Ruminal de Vacuno				Xx
	1:1	2:1	1:2	x	1:1	2:1	1:2	X	
Alcachofa	2,71	2,95	2,86	2,84	2,90	2,72	2,70	2,77	2,80
Esparrago	3,06	2,98	3,01	3,02	2,93	2,92	3,07	2,97	2,99
Brócoli	3,13	3,00	3,03	3,05	2,87	2,75	2,95	2,86	2,96
X	2,96	2,98	2,97		2,90	2,80	2,91		
Xx (Proporción)	2,93	2,89	2,94						
Xx (Licor Ruminal)	2,97	2,87							

Largo de Raíz

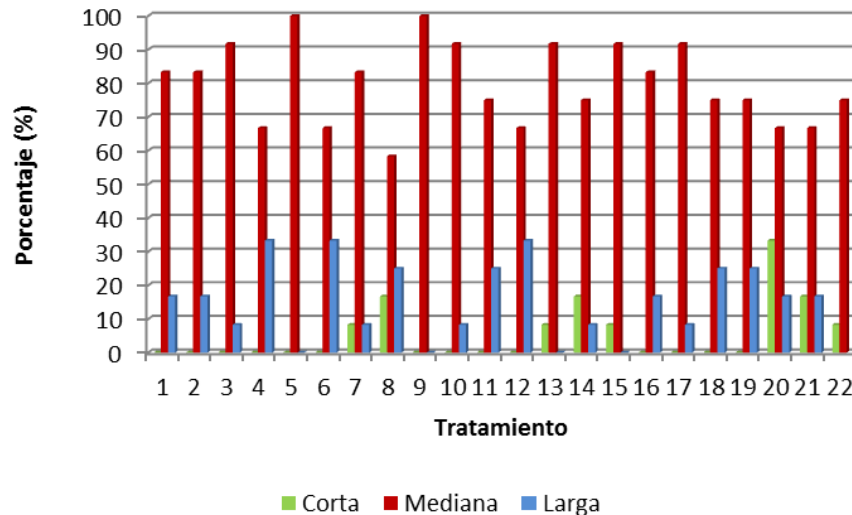


Figura 33. Análisis cualitativo del largo de raíz para los 22 tratamientos.

En la Tabla 15 podemos observar que en cuanto a largo de raíz, nuestros bioles tienen mayor impacto que bioles comerciales, siendo los tratamientos 21 y 22, como se puede ver en la tabla están aproximadamente el biol comercial tratamiento 22 esta en la zona central y el biol comercial tratamiento 21 esta al finalizar la tabla junto con nuestro control negativo tratamiento a base de agua. Y también como podemos observar en la tabla, nuestros bioles tienen mayor impacto que el control positivo AG3, tratamiento 19.

Con esto podemos concluir que nuestros bioles son mejores en cuanto la variable de numero de nudos, tanto como del control positivo como de los bioles comerciales.

De entre los mejores 6 bioles para este punto tenemos a los tratamientos 18, 11, 4, 3, 12 y 6. Estos 6 bioles, viéndolos desde un punto de vista de fuente de carbono. tenemos uno de brócoli, siendo el tratamiento 18; tres de alcachofa, siendo los tratamientos 3, 11 y 12; y dos de espárrago, 4 y 6. Viéndolo desde el punto de vista del licor ruminal que se empleó para realizar los bioles tenemos: a los tratamientos 3, 4, 6, realizados con licor ruminal de llama, y a los tratamientos 11, 12 y 18, realizados con licor ruminal de vacuno.

Para esta variable podemos decir que la mejor planta como fuente de carbono fue la alcachofa, y en cuanto a licor ruminal utilizado, no hubo diferencia en este punto ya que fueron realizados la misma cantidad con licor ruminal de llama y de vacuno

Masa Radicular

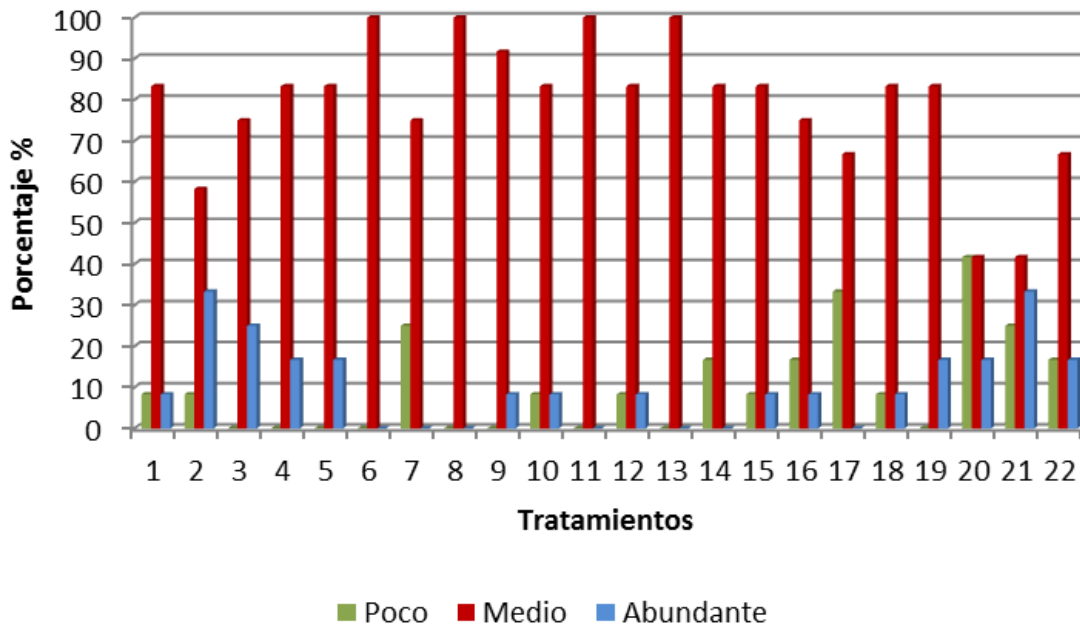


Figura 34. Análisis cualitativo de la masa radicular para cada tratamiento.

En cuanto a la variable de masa radicular, podemos ver que en la Tabla 15 no existen diferencias significativas a análisis, ya que su Valor-F es mayor a 0.05 y este valor debe ser menor a 0.05. Esto es lo correcto para saber que existen diferencias significativas importantes entre los tratamientos.

4.5.3.2. Selección de los 6 mejores tratamientos para ser evaluados en HPLC

Para poder seleccionar a los 6 mejores bioles se tomaran los 6 mejores bioles de cada variable y se tomaran todos los bioles que coinciden en más de una variable. Teniendo como resumen de los mejores de cada variable a todos los mejores en la tabla 20.

Tabla 18. Cuadro resumen de los mejores bioles para cada parámetro analizado.

BIOLES						
% Germinación	1	3	4	9	10	14
Hojas verdaderas	4	5	6	9	10	14
Número de nudos	4	6	7	8	9	15
Largo de raíz	3	4	6	11	12	18

La tabla muestra el resumen de los bioles escogidos en las diferentes variables. De ella podemos deducir que los mejores 6 bioles (en la mayoría de las variables) son los tratamientos 3, 4, 6, 9, 10 y 14.

De estos 6 tratamientos escogidos, los tratamientos 3 y 10 fueron elaborados en base a alcachofa. Los tratamientos 4, 6 y 14, en base a espárrago, y finalmente el tratamiento 9 en base a brócoli. En cuanto al licor ruminal, los tratamientos 3, 4, 6, y 9 fueron elaborados en base a licor ruminal de llama, y el 10 y 14 con licor ruminal de vacuno.

De este punto podemos concluir que la mejor planta como fuente de carbono fue el espárrago, y el mejor licor ruminal como fuente microbiana fue el licor ruminal de llama.

Podemos concluir también que de todos los bioles escogidos en las diferentes variables medidas, el mejor es el tratamiento 4, ya que este coincide entre los mejores 6 de todas las variables analizadas. Este tratamiento fue realizado con espárrago y licor ruminal de llama

4.5.3.3. Evaluación del Porcentaje de Germinación para hallar la mejor proporción, mejor residuo agrícola y mejor licor ruminal.

Mejor Proporción

Se realizó el análisis estadístico para obtener la mejor proporción de residuo vegetal y de licor ruminal (Tabla 21).

De dicho análisis se concluyó que: primero esta el control positivo AG3 y a continuación la mejor proporción. Esta corresponde a la proporción 1:1, luego viene la 2:1 y finalmente la 1:2. Los bioles a esas 3 proporciones son mejores que los dos bioles comerciales y que nuestro control negativo agua.

Tabla 19. Diferencias estadísticas en el porcentaje de germinación para conocer la mejor proporción

Proporción	Media	Significancia
AG3	86,4583	A
1:1	79,8611	Ab
2:1	78,4722	Abc
1:2	76,3889	abc
BC2	71,875	Bc
BC1	66,6667	C
Agua	54,1667	D

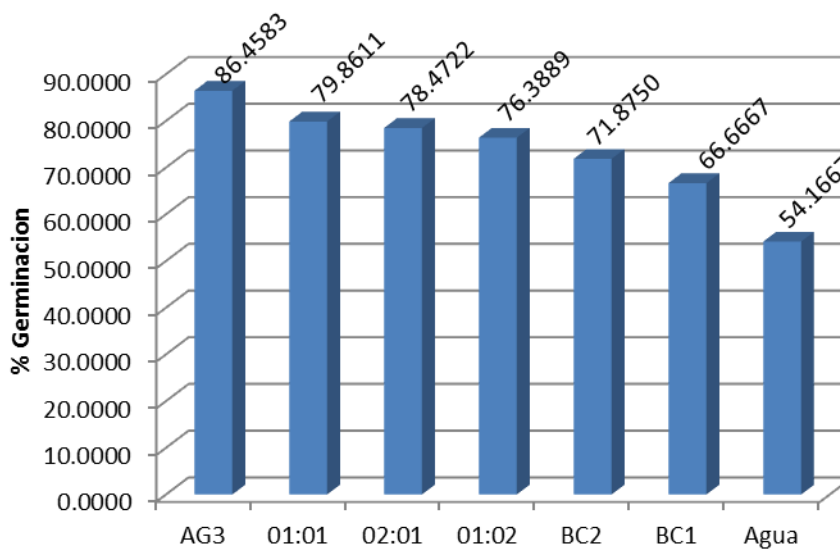


Figura 35. Porcentaje de germinación para conocer la mejor proporción.

Mejor residuo

Se hizo un análisis estadístico para obtener la mejor fuente microbiana (licor ruminal de llama y vacuno) (Tabla 21).

Se concluyó que primero está el control positivo AG3, a continuación la mejor fuente microbiana, es decir, el licor ruminal de llama, y finalmente el licor ruminal de vacuno. Siendo los bioles a estos tres residuos agroindustriales mejores que los dos bioles comerciales y que nuestro control negativo agua

Tabla 20. Diferencias estadísticas en el porcentaje de germinación para conocer el mejor residuo agrícola.

Residuos	Media	Significancia
AG3	86,4583	A
Alcachofa	81,25	Ab
Espárrago	79,8611	Ab
Brócoli	73,6111	Bc
BC2	71,875	Bc
BC1	66,6667	C
Agua	54,1667	D

F = 6.94 P= 0,0000

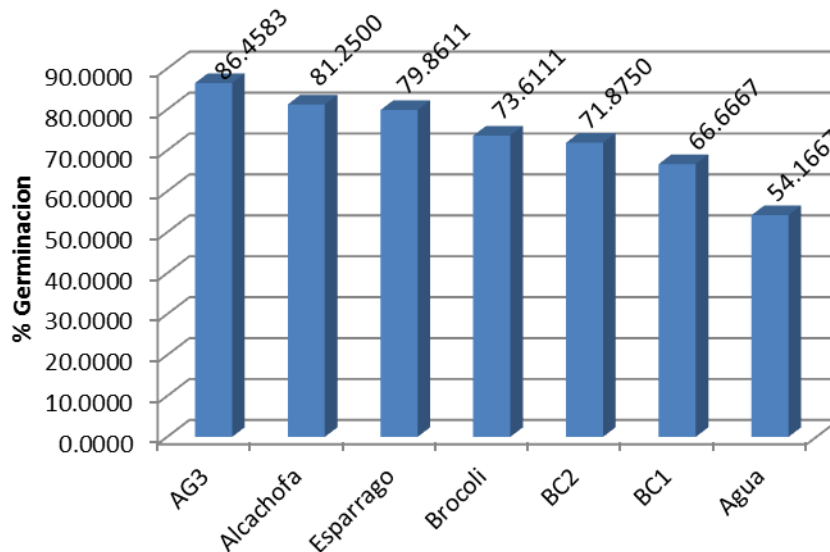


Figura 36. Porcentaje de germinación para conocer el mejor residuo.

Mejor Licor Ruminal

Se realizó el análisis estadístico para obtener la mejor fuente microbiana (licor ruminal de llama y vacuno), como se puede observar en la Tabla 21.

De lo que concluimos que primero está el control positivo AG3 y a continuación la mejor fuente microbiana es el licor ruminal de llama, seguido por el licor ruminal de vacuno. Siendo los bioles a estos tres residuos agroindustriales mejores que los dos bioles comerciales y que nuestro control negativo agua.

Tabla 21. Diferencias estadísticas en el porcentaje de germinación para conocer el mejor licor ruminal.

Licor	Media	Significancia
AG3	86,4583	A
Licor llama	81,0185	Ab
Licor Vacuno	75,463	Abc
BC2	71,875	Bc
BC1	66,6667	C
Agua	54,1667	D

F = 7.77 P= 0,0000

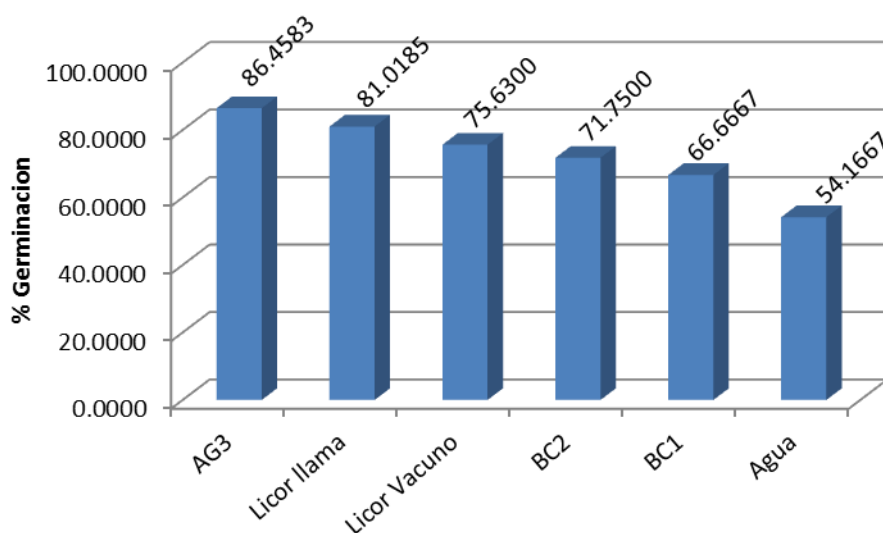


Figura 37. Porcentaje de germinación para conocer el mejor licor ruminal.

4.6. Evaluación de Bioestimulantes

Se realizaron 4 mediciones en el HPLC con diferentes concentraciones de nuestros patrones para poder realizar las curvas de calibración de cada uno de los 3 bioestimulantes. Las primeras concentraciones de kinetina, ácido indolacético y ácido giberélico se pueden observar en la Figura 38.

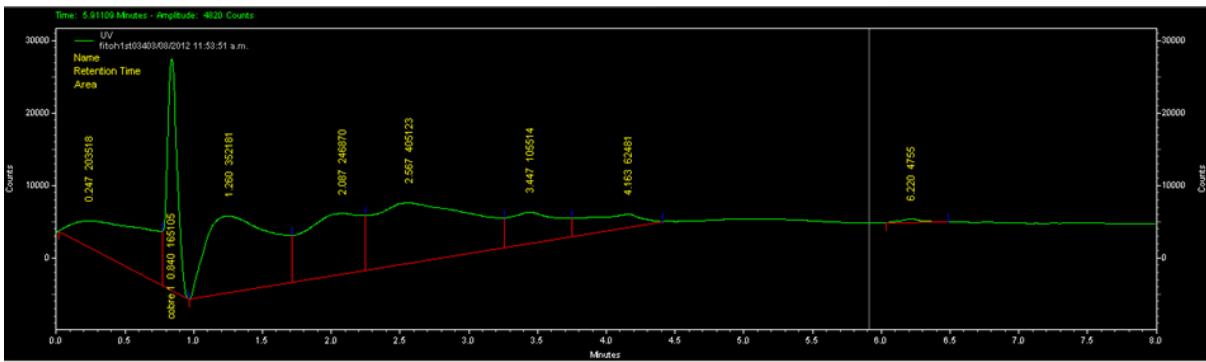


Figura 38. Cromatograma de 1° solución stock de AG3, AIA y Kinetina (2ppm, 0.2 ppm y 0.2 ppm respectivamente)

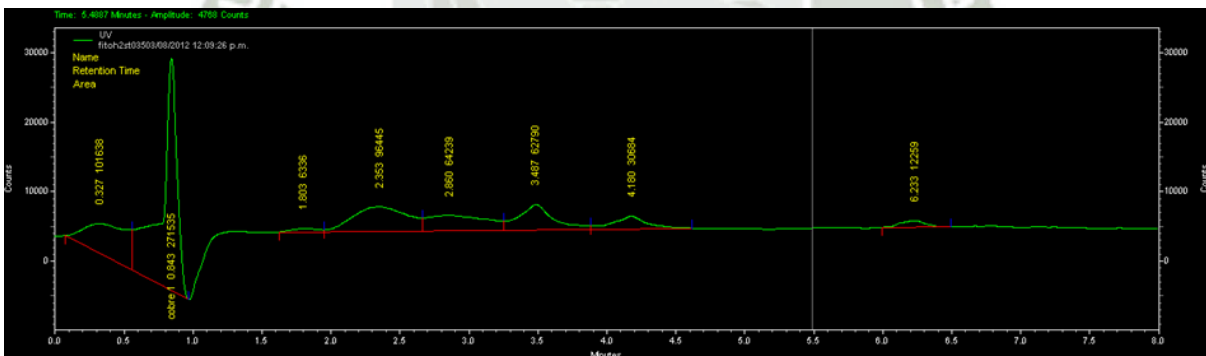


Figura 39. Cromatograma de 2° solución stock de AG3, AIA y Kinetina (4ppm, 0.4 ppm y 0.4 ppm respectivamente)

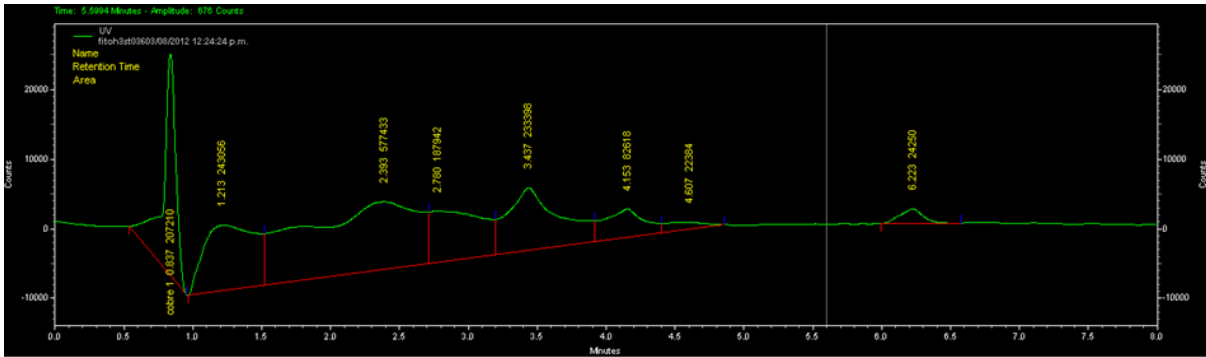


Figura 40. Cromatograma de 3° solución stock de AG3, AIA y Kinetina (6ppm, 0.6 ppm y 0.6 ppm respectivamente)

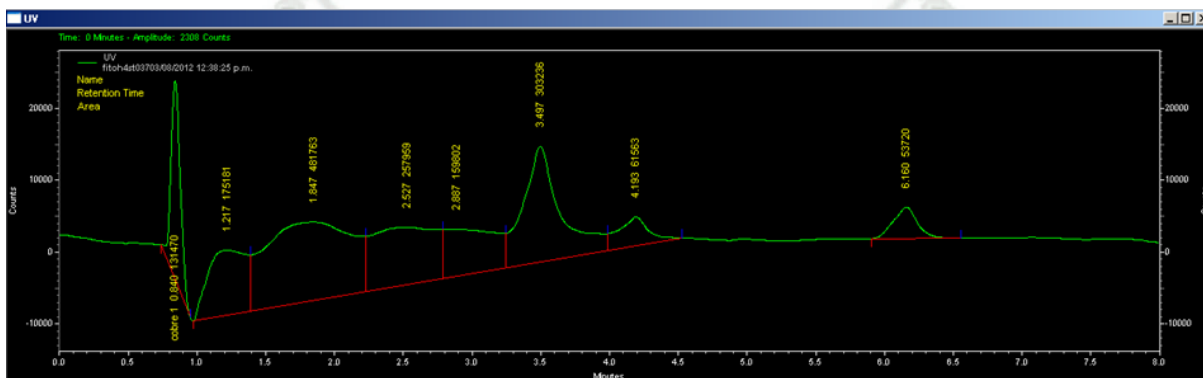


Figura 41. Cromatograma de 4° solución stock de AG3, AIA y Kinetina (8ppm, 0.8 ppm y 0.8 ppm respectivamente)

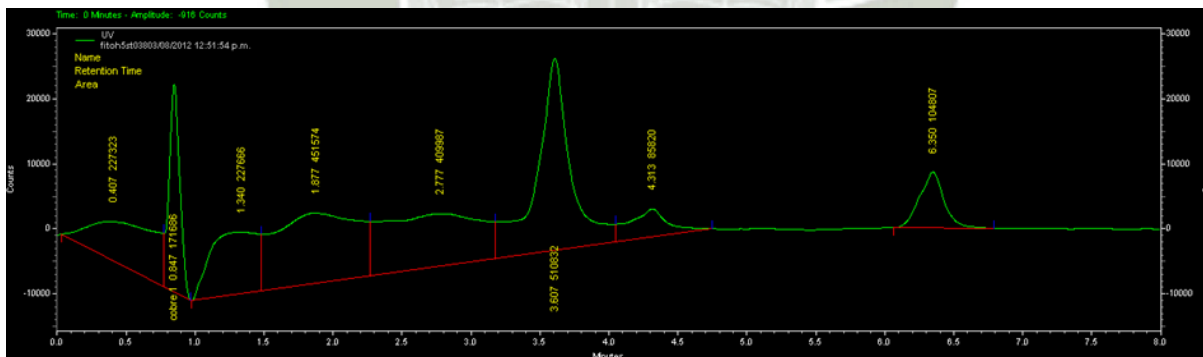


Figura 42. Cromatograma de 5° solución stock de AG3, AIA y Kinetina (10ppm, 1 ppm y 1 ppm respectivamente)

De las Figuras 38, 39, 40, 41 y 42 donde aparecen los 5 cromatogramas correspondientes a 5 soluciones stock, se obtuvieron las 3 curvas de calibración de cada bioestimulante.

De lo que se puede apreciar en la Figura 43,44 y 45, las curvas salieron de la integración de los picos correspondientes a 1 a 3 fitohormonas de las 5 Graficas de los cromatogramas. En dichos picos se traza la curva patrón con el área del pico, el TR y su concentración. Estos datos también se pueden observar en la tabla 62.

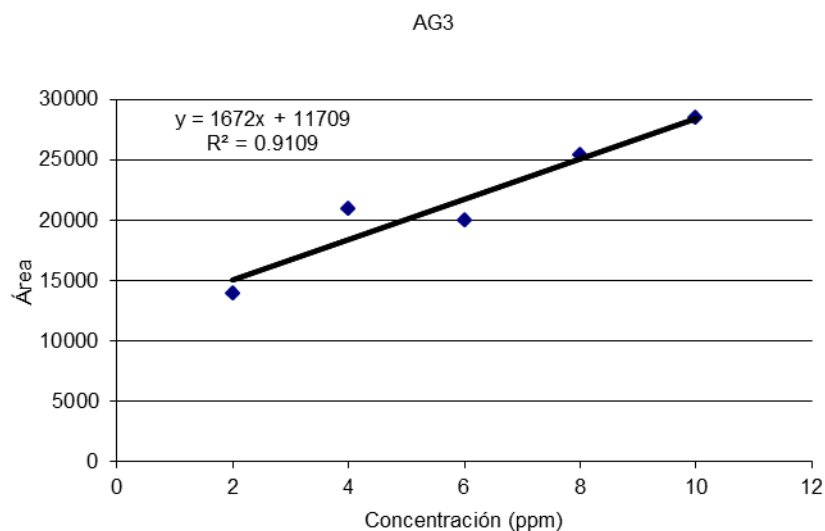


Figura 43. Curva patrón del AG3.

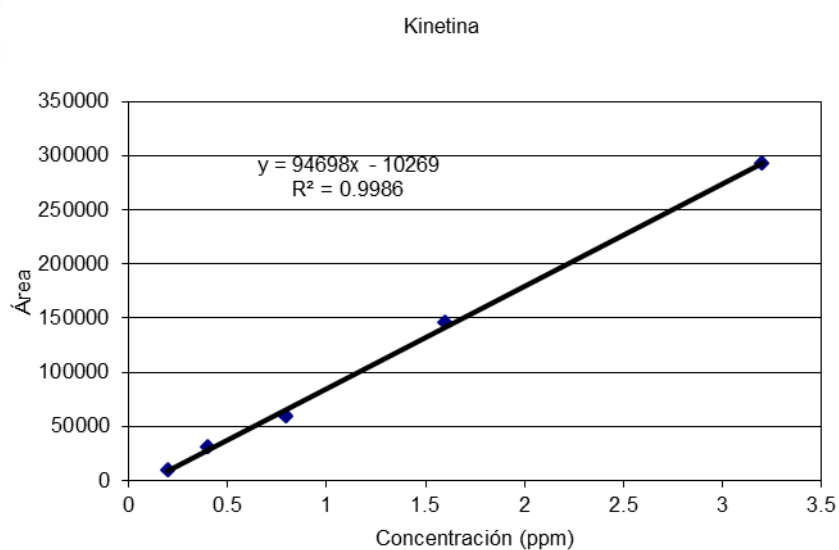


Figura 44. Curva de calibración de la Kinetina.

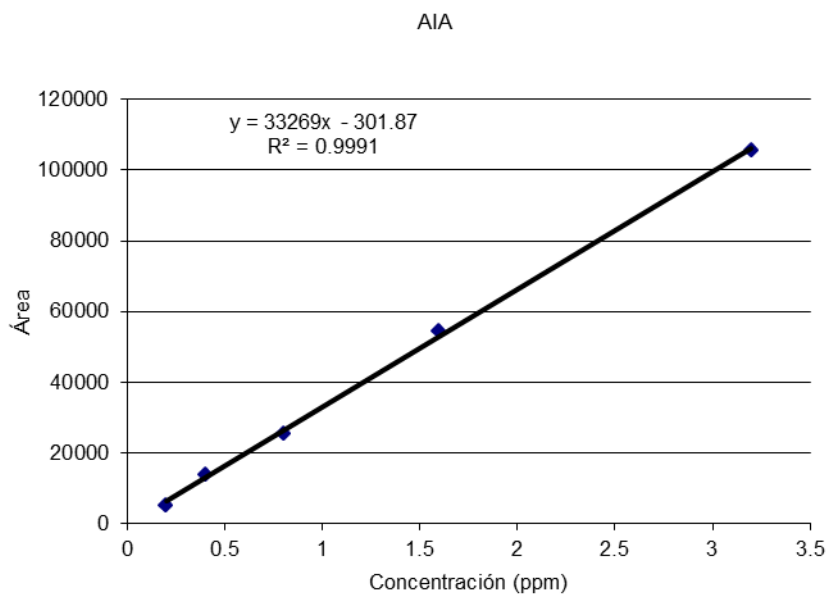


Figura 45. Curva patrón para el AIA.

Una vez realizadas las corridas de patrones y obtenidas las curvas, pudimos pasar nuestros 6 bioles elegidos y con el Área y el TR encontrado por la integración de las graficas, podemos hallar la concentración.

La concentración hallada para los 6 bioles o tratamientos elegidos fueron lo que se observan en la tabla 24.

Tabla 22. Concentración hallada de los bioles selecciones mediante la técnica de HPLC

Bioles	AG3	AIA	KINETINA
3	-	0,37	-
4	-	3,37	-
6	-	-	-
9	-	0,23	-
10	8,15	-	0,19
14	-	-	-

En cuanto a el ácido indolacético, se logró detectar en la mayoría de los bioles. El AG3 tiene baja absorción a la longitud de onda que se está usando, puede no estarse mirando el pico del AG3 por la baja absorción. En cuanto a la kinetina no está confirmado que exista en forma natural en las plantas, sin embargo existen investigadores que afirman que si está presente en las plantas, y en el caso de nuestros bioles en algunos se logró detectar kinetina.



CAPITULO V

CONCLUSIONES

1. Se logro obtener 18 bioles de 3 residuos agricolas (alcachofa, esparrago y brocoli), 2 tipos de inoculos microbianos (licor ruminal de llama y vacuno) en 3 proporciones de residuos y licor ruminal (1:1, 2:1 y 1:2). de los cuales se seleccionaron 6 bioles en base a la respuesta de evaluacion de plantula, que incluyen el mejor residuo agricola el esparrago, el mejor inoculo microbiana el licor ruminal de llama y la mejor proporcion de 2:1 correspondiente 2 de residuo agricola y 1 de licor ruminal. Los mismos que fueron analizados por HPLC, encontrado AIA en los 3 bioles correspondientes a los 3 residuos tratados con licor ruminal de llama, en cuanto a AG3 y Kinetina fueron encontrados en 1 biol de alcachofa con licor ruminal de vacuno.
2. Se logró la producción de biol en base al biodigestor configurado para: facilidad de muestreo, medición de pH, medición de temperatura y emisión de gases sin contaminación. Se registró una temperatura de 20 a 40 grados, siendo esta última temperatura constante en los últimos 40 días. También se registró un pH ácido tanto al inicio como al final del proceso, siendo el pH inicial máximo de 6.15 (tratamiento 6 con licor ruminal de llama) y un pH inicial mínimo de 4.96 (tratamiento 4 con licor ruminal de llama también). El pH para los 18 tratamientos bajo los 60 días de retención de la materia orgánica fue: como mínimo de 4.88 en el tratamiento 3, y como máximo de 7.57 en el tratamiento 13, con licor ruminal de vacuno. Finalmente se registraron los valores de cantidad de biol en los 18 biodigestores. Se evaluó la producción de biol en ml, obteniéndose como los 3 mejores tratamientos los bioles 7, 8 y 16 con 1200, 1000 y 950 ml respectivamente. Asimismo, se evaluó el rendimiento en % de materia orgánica transformada, obteniéndose los tratamientos 7, 16 y 18 como los bioles de mejor rendimiento. Lo que llevó a concluir que los 3 de mayor producción de biol y los 3 de mayor rendimiento fueron realizados con los residuos agrícolas de brócoli.

3. La calidad del biol de los 18 tratamientos (3 residuos vegetales alcachofa, espárrago y brócoli, 2 inóculos microbiano de licor ruminal de llama y vacuno, y 3 proporciones 1:1, 1:2 y 2:1) fue medida por la respuesta fisiológica de la germinación y desarrollo de plántula- siendo el mejor de los residuos vegetales el elaborado con espárrago, el mejor de inóculo microbiano fue el de llama, y la mejor proporción fue 1:2. De la combinación de ellos el mejor fue el de espárrago con licor ruminal de llama y en la proporción 1:1 (T4). La respuesta fisiológica de los 18 bioles (3 residuos vegetales, 2 inóculos y 3 proporciones) mostraron aceleración de la germinación de las 4 especies, resaltando los tratamientos 1,3,4,9,10 y 14 (en su mayoría de espárrago y licor ruminal de llama), los 6 mejores para la altura a la aparición de hojas verdaderas son el 4,5,6,9,10 y 14; para el número de nudos son los tratamientos 4,6,7,8,9 y 15 y finalmente para el largo de raíz los mejores son el 3,4,6,11,12 y 18.
4. Como resultado del análisis de HPLC, tenemos que en la mayoría de los bioles seleccionados por su acción fisiológica en las 4 especies cultivadas, se detecta el AIA en diferentes concentraciones, dependiendo del biol. Respecto al AG3 sólo se detectó en un sólo tratamiento (Biol 10). Esto se puede deber a que esta fitohormona tiene una baja absorbancia a la longitud de onda, en la cual trabajamos ocasionando que en concentraciones consideradas el pico en el cromatograma sea pequeño. En relación a la Kinetina en nuestro cromatograma del tratamiento 10, se ve un pico que corresponde a la kinetina, lo que nos haría suponer que este biol que tiene como fuente de carbono los residuos de alcachofa tiene kinetina, y a la vez confirmar que la kinetina sí se encuentra en forma natural en algunas plantas, como es esta especie de alcachofa.

RECOMENDACIONES

1. Realizar nuevas investigaciones usando métodos alternativos que detecten mínimas cantidades de fitohormonas.
2. Evaluar el licor ruminal de llama para conocer la flora microbiana que esta involucrada en la degradación anaerobia
3. Analizar bioquímicamente el biol para conocer su composición y verificar su impacto en el análisis fisiológico.
4. Para investigaciones posteriores sería recomendable evaluar nitrógeno, fosforo, ácidos grasos volátiles, sólidos totales, concentración de amonio para una producción óptima, también los parámetros de respuesta y de control con mayor frecuencia, con el fin de obtener información más precisa acerca de la evolución del proceso.
5. Realizar un cultivo de microorganismos madre de la flora microbiana de licor ruminal de llama, para no tener que sacrificar animales constantemente.
6. Realizar investigaciones si es posible realizar biol con el licor ruminal de llama pero con residuos animales como los de pescado que tienen gran cantidad de fosforo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ramón Zulueta Rodríguez, Dora Trejo Aguilar, Liliana Lara Capistrán, Héctor López Moctezuma y César E. Moreira Arana.-LOS ABONOS NATURALES| Revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad Veracruzana. vol.XIX no.2., Mayo – Agosto de 2006.
2. Tomás Colque, David Rodríguez, Angel Mujica, Alipio Canahua, Vidal Apaza, Sven-Erik Jacobsen. -PRODUCCION DE BIOL, ABONO LIQUIDO NATURAL Y ECOLOGICO| Estación experimental ILLPA – PUNO, Setiembre 2005.
3. Sandra Milena Yepes, Lina Johana Montoya Naranjo, y Fernando Orozco Sánchez. -VALORIZACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES – FRUTAS – EN MEDELLÍN Y EL SUR DEL VALLE DEL ABURRÁ, COLOMBIA| Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín vol.61 no.1 Medellín, Enero – Junio 2008.
4. José Hernán Villacís Loyola, -ESTUDIO DE FACTIBILIDAD PARA LA PRODUCCION Y COMERCIALIZACION DE ALCACHOFA (Cynara scolymus) en Yaruqui, provincia de Pichinchal, Noviembre 2009.
5. Chaguaro Conde Tannya Pavlova -ESTUDIO DE FACTIBILIDAD PARA LA EXPORTACIÓN DE ALCACHOFA FRESCA HACIA EL MERCADO ITALIANO EN EL PERIODO 2009-20181, Setiembre 2009.
6. Maria Laura Carpio Zamora, Lydia María Chum Candel -PROYECTO APRA LA PRODUCCION Y COMERCIALIZACION DE LA ALCACHOFA EN CONSERVA COMO ALTERNATIVA DE EXPORTACION AL MERCADO ALEMANI, 2007.

7. -Exportaciones de alcachofas preparadas logran cifra récord de US\$ 70.7 millones en 11 meses de 2008, Andina, agencia peruana de noticias, 2008.
8. Sidrach, L., García-Cánovas, F., Tudela, J. y Rodríguez-López, J.N. Purification of cynarases from artichoke (*Cynara scolymus* L.): enzymatic properties of cynarase A. *Phytochemistry* 66, 41-49, 2005.
9. Geovanny Francisco Coello Bonilla -EVALUACIÓN DE CUATRO PRODUCTOS ORGÁNICOS EN EL COMBATE DE PLAGAS Y ENFERMEDADES PARA LA PRODUCCIÓN DE BRÓCOLI (*Brassica oleracea* Vr. Itálica) EN YARUQUIL, 2005.
<http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/5038/1/T-ESPE-IASA%20I-002882.pdf>
10. Ma. de Lourdes Fraire Cordero 1, Daniel Nieto Ángel 1*, Elizabeth Cárdenas Soriano 1, Gabriel Gutiérrez Alonso 2, Rafael Bujanos Muñiz 3 y Humberto Vaquera Huerta 4. -EFFECT OF VARIETIES AND PLANT DENSITY ON THE PHYSICAL QUALITY OF BROCCOLI (*Brassica oleracea* var. *italica*)|. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 33 (2): 141 – 147, 2010
11. Isidro A. Guzman A. -EVALUACION DE LA CAPACIDAD BIOCONTROLADORA DE DOS CEPAS NATIVAS DE TRICHODERMA SPP. SOBRE *RHIZOCTONIA SOLANI* EN ALMACIGERAS DE BROCOLI (*BRASSICA OLERACEA* VAR. ITALICA PLENCK). 2001
12. D.A. Moreno, M. Carvajal, C. Lopez-Berenguer, C. García-Viguera. – Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41 (2006) 1508–1522.

13. Gao-feng Yuan,¹ Bo Sun,¹ Jing Yuan,¹ and Qiao-mei Wang. EFFECTS OF DIFFERENT COOKING METHODS ON HEALTH-PROMOTING COMPOUNDS OF BROCCOLI. J Zhejiang Univ Sci B. 2009 August; 10(8): 580–588.
14. Albert-Puleo M. – Physiological effects of cabbage with reference to its potential as a dietary cancer-inhibitor and its use in ancient medicine. J Ethnopharm, 1983; 9:261-272.
15. Hector E. Solórzano del Río. – Propiedades curativas de las verduras crucíferas (col, brócoli nabos, etc). 2010.
16. Yuridia C. Cuevas P., Dra. Olga N. Campos B., Dra. Dalia I. Sánchez-M., Dr. Jaime López C. –Caracterización Química y Compuestos Fenólico de los Residuos Lignocelulósicos de las Inflorescencias de Brócoli FH-06 de Memorias del VII Congreso del Noreste y III Nacional de Ciencias Alimentarias y Biotecnología. 2010.
17. WALTER S. FLORY, JR. –GENETIC AND CYTOLOGICAL INVESTIGATIONS ON ASPARAGUS OFFICINALIS L. University of Virginia, University, Virginia, December 29, 1931
18. Pablo Diego Asprelli, Fernando Sebastián López Anido y Enrique Luis Cointry, –CARACTERES AGRONÓMICOS EN EL CULTIVO DE ESPÁRRAGO DE DIFERENTES EDADES Y MANEJOS Enero – 2005.
19. Jeanneth Alexandra Vallejos Cevallos –CARACTERIZACIÓN FÍSICA, QUÍMICA Y NUTRICIONAL DEL ESPÁRRAGO VERDE (Asparagus Officinalis), EN TRES DIFERENTES SUELOS EDAFOCLIMÁTICOS DEL

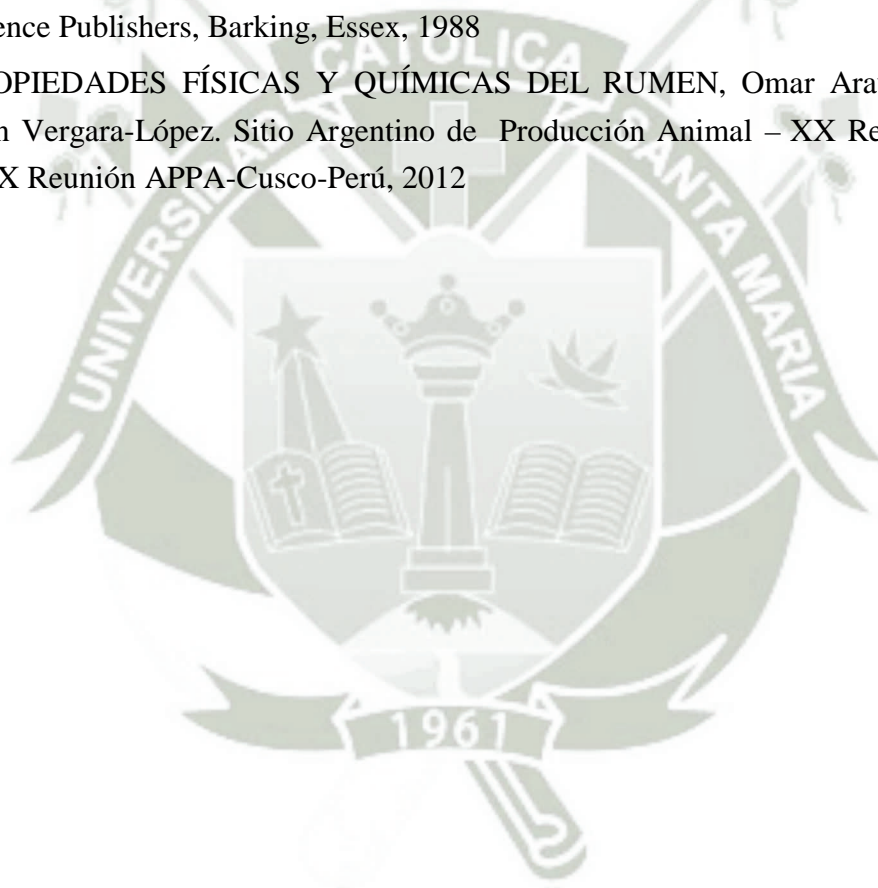
ECUADOR, COMO UN APOORTE A LA NORMA INEN. ESPÁRRAGOS
(*Asparagus officinalis*) REQUISITOS| Quito – Ecuador 2010

20. Germán L. Andrade, Tristán M. Ibañez – Viabilidad económica de la producción de espárrago en la Región del Maule, Chile, 2006.
21. Jhony Pérez Gamarra, Luis Francisco Márquez Villacorta–CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE HARINA DE CÁSCARA DE ESPÁRRAGO BLANCO (*Asparagus officinalis* L.) Y EVALUACIÓN SENSORIAL DE SUSTITUCIONES EN GALLETAS DULCES|. 2001.
22. Néstor Geovanny Andrango Benavides. –EFICIENCIA DEL ABONO BIOPROCANOR DE LA EMPRESA MUNICIPAL DE RASTRO IBARRA EN DOS CULTIVOS PARA DISMINUIR EL EFECTO DE LA DEGRADACIÓN DEL SUELO. Tesis de Ing. De recursos Renovables, 2007.
23. AEDES Arequipa- Manual de elaboración de abono foliar Biol. Serie: Cultivos Orgánicos. Año 9: N° 11. 2006.
24. César Bejarano; Héctor Méndez. –FERTILIZACIÓN ORGÁNICA COMPARADA CON LA FERTILIZACIÓN QUÍMICA EN EL CULTIVO DE FRÉJOL (*Phaseolus vulgaris*), PARA MINIMIZAR EL EFECTO DE DEGRADACIÓN DEL SUELO|. Tesis de Ingenieros en Recursos Naturales Renovables. 2004
25. Raúl Botero y Thomas R. Preston –BIODIGESTORES DE BAJO COSTO PARA LA PRODUCCION DE COMBUSTIBLE Y FERTILIZANTE A PARTIR DE EXCRETAS. Manual para su instalación, operación y utilización|. 1987
26. Ponton Sigcha Ruben Dario –DISEÑO DE UN SISTEMA PARA LA OBTENCION DE BIOL MEDIANTE LOS RESIDUOS SOLIDOS ORGANICOS GENERADOS EN EL CANTON JOYA DE LOS SACHAS|. Riobamba – Ecuador, 2010.

27. 4.SANTANA, A. Factores que Afectan la Población Microbiana de los Biodigestores. 2da ed. Cartago CR, 1985. Pp. 144-147.
28. Fundación Hábitat. –Biodigestores. Una alternativa a la autosuficiencia energética y de biofertilizantesl. Quimbaya, Quindio. 2005.
29. Soluciones Prácticas-ITDG, Tecnologías desafiando la pobreza. –FICHA TECNICA: BIODIGESTORES 8l. 2008.
30. Sociedad Científica Latinoamérica de Agroecología (SOCLA). –Vertientes del pensamiento agroecológico: Fundamentos y Aplicacionesl. Cap. 12: 291-307. 2009
31. Grupo aqua limpia – constructores, 2012.
32. . Celis B. Lina Ximena; Gallardo Ivan Ricardo. –Estandarización de métodos de detección para promotores de crecimiento vegetal (Ácido indol acético y giberelinas) en cultivos microbianosl. 2008.
33. Reeta Prusty, Paula Grisafi, Geral R. Fink. –The plant hormone indoleacetic acid induces invasive growth in *Saccharomyces cerevisiae*". Contributed by Gerald R. Fink, January 29, 2004
34. ^ Zhao, Yunde (2010). "Auxin Biosynthesis and Its Role in Plant Development". *Annual Reviews of Plant Biology* 61: 49–64. DOI:10.1146/annurev-arplant-042809-112308.
35. Mashiguchi K, et al. (2011). "The main auxin biosynthesis pathway in Arabidopsis". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108 (45): 18512–18517. DOI:10.1073/pnas.1108434108. PMC 3215075. PMID 22025724.
36. Won C, et al. (2011). "Conversion of tryptophan to indole-3-acetic acid by TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASES OF ARABIDOPSIS and YUCCAs in Arabidopsis". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108 (45): 18518–18523. DOI:10.1073/pnas.1108436108. PMC 3215067. PMID 22025721
37. Sugawara S, et al. (2009). "Biochemical analyses of indole-3-acetaldoxime-dependent auxin biosynthesis in Arabidopsis". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106 (13): 5430–5435. DOI:10.1073/pnas.0811226106. PMC 2664063. PMID 19279202.

38. Taiz, L. and Zieger, E., (1998), *-Plant Physiology*. 2nd ed., Sinauer Associates, Inc., Publishers
39. Martha Lucía González, Claudia Caycedo, María Fernanda Velásquez, Víctor Flórez y Miriam Ruby Garzón. *-EFECTO DE LA APLICACIÓN DEL ÁCIDO GIBERÉLICO SOBRE EL CRECIMIENTO DE COLIFLOR (BRASSICA OLERACEAE L.) VAR. BOTRYTIS DCI 2007.*
40. Jan Barciszewski a, *, Suresh I.S. Rattan b , Gunhild Siboska b , Brian F.C. Clark b. Kinetin — 45 years on. *Plant Science* 148 (1999) 37–45.
41. Richard Amasino¹ *-1955:Kinetin Arrives. The 50th anniversary of a new plant hormone.* *Plant Physiol.* 2005 Jlu: 128(3): 1177-1184
42. J. Barciszewski, G.E. Siboska, B.O. Pedersen, B.F.C. Clark, S.I.S. Rattan, Evidence for the presence of kinetin in DNA and cell extracts, *FEBS Lett.* 393 (1996) 197–200
43. N. Raman, S. Elumalai, Presence of cytokinin in the root nodules of *Casuarina equisetifolia*, *Ind. J. Exp. Biol.* 34 (1996) 577–580.
44. N. Ratti, K.K. Jonardhanan, Effect on growth, phosphorus and cytokinin contents of palmarosa (*Cymbopogon martini* var. *motia*) by *Glomus* inoculation, *Ind. J. Exp. Biol.* 34 (1996) 1126–1128
45. *Zhen Maa, Liya Gea, Anna S.Y. Leea, Jean Wan Hong Yonga, Swee Ngin Tana,* , Eng Shi Ongb.* Simultaneous analysis of different classes of phytohormones in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using high-performance liquid chromatography and liquid chromatography–tandem mass spectrometry after solid-phase extraction. *analytica chimica acta* 610 (2008) 274–281
46. Agilent Technologies, Inc. *HPLC Basics. Fundamentals of Liquid Chromatography (HPLC).* 2011.
47. *STANDBASE techniques: High Performance Liquid Chromatography.* Drenthe College, The Netherlands, 2012.
48. Instituto para la diversificación y ahorro de la energía. *-Biomasa: Digestores anaerobiosl.* 2007

49. Nuri Marti Ortega. Phosphorus precipitation in anaerobic digestion process. ISBN:1-581112-332-9. 2006
50. PPC – Plantas para curar. (<http://www.plantasparacurar.com/>), 2012
51. Schlegel HG, Zaborosch C. General Microbiology. 2° edition. Cambridge University Press, UK, 1993
52. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Brock Biology of Microorganisms. 10° ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, 2003
53. Smith PH, Bordeaux FM, Wilkie A, Yang J, Boone D, Mah RA, Chynoweth D, Jerger D. Microbial aspects of biogas production. En: Methane from biomass: a systems approach. Smith WH, Frank JR, Abelson PH, eds. Elsevier Applied Science Publishers, Barking, Essex, 1988
54. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL RUMEN, Omar Araujo Febres y Juan Vergara-López. Sitio Argentino de Producción Animal – XX Reunión Alpa , XXX Reunión APPA-Cusco-Perú, 2012



ANEXO 1. ABREVIATURAS

AG : Giberelinas

AG3 : Acido Giberelico AIA : Acido Indolacetico BC1 : Biol comercial 1

BC2 : Biol comercial 2

TR : Tiempo de retención



ANEXO 2. FOTOGRAFÍAS DEL DISEÑO DE BIODIGESTORES



Figura 46. Elaboración del dispositivo de medición de temperatura.



Figura 47. Elaboración de salida de gases y punto de muestreo para pH.



Figura 48. Sellado hermético de los puntos de medición en cada biodigestor.

ANEXO 3. FOTOGRAFÍAS DE OBTENCIÓN DE BIOL



Figura 49. Recolección de biol de los digestores al final de la digestión anaerobia.

ANEXO 4. FOTOGRAFÍAS DEL PRE-TRATAMIENTO

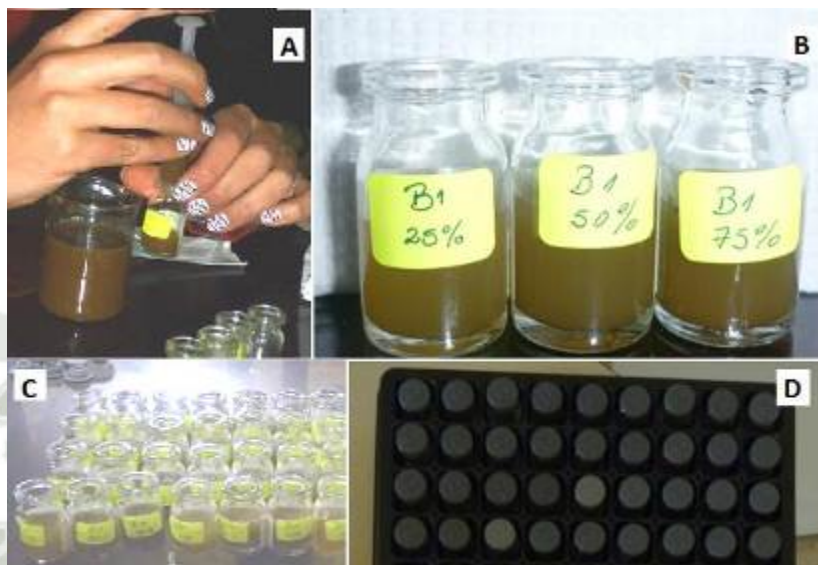


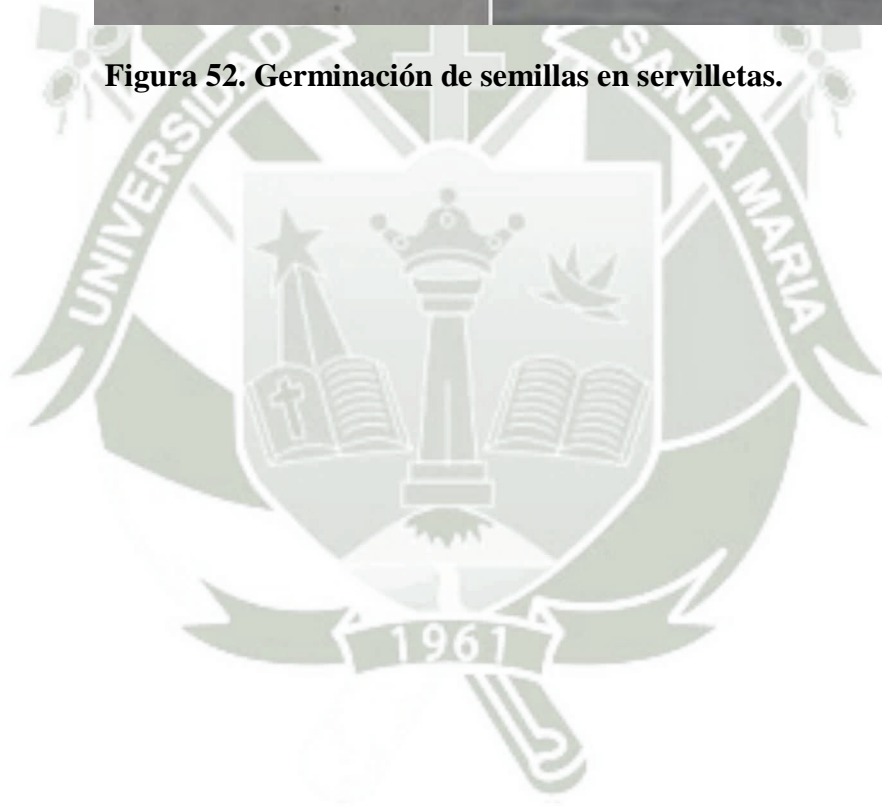
Figura 50. Remojo de semilla. (A) Mezcla del porcentaje deseado, (B) Porcentajes probados, (C) Todas las mezclas de bioles, (D) Remojo de 12 a 24 horas.



Figura 51. Preparación de servilletas para el pre-tratamiento.



Figura 52. Germinación de semillas en servilletas.



ANEXO 5. FOTOGRAFÍAS DEL ANÁLISIS FISIOLÓGICO



Figura 53. Conteo de semillas para remojo.



Figura 54. Remojo de semillas.



Figura 55. Preparación de bandejas para la siembra.



Figura 56. Sembrado de semillas.



Figura 57. Desarrollo de las plántulas de Alcachofa de la repetición 1.



Figura 58. Desarrollo de plántulas de alcachofa de la repetición 2.

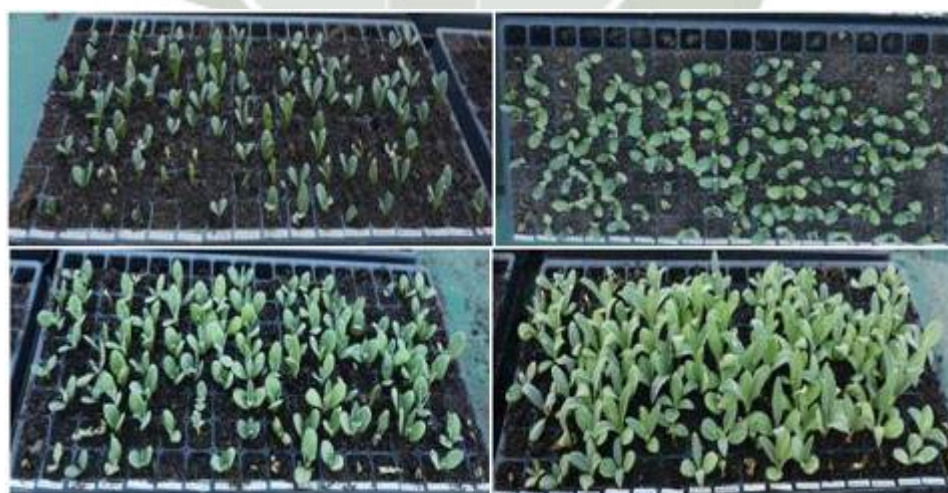


Figura 59. Desarrollo de plántulas de alcachofa de la repetición 3.



Figura 60. Plántula de alcachofa.

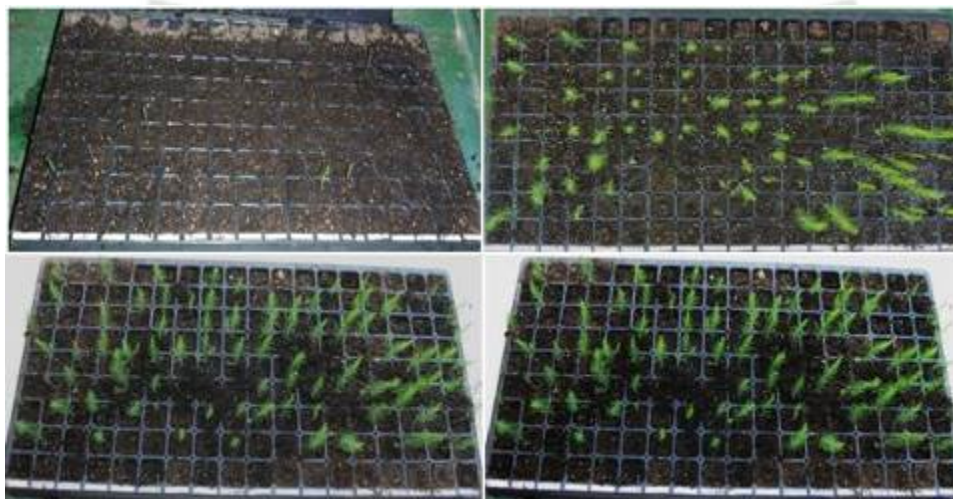


Figura 61. Desarrollo de plántulas de espárrago de la repetición 1.

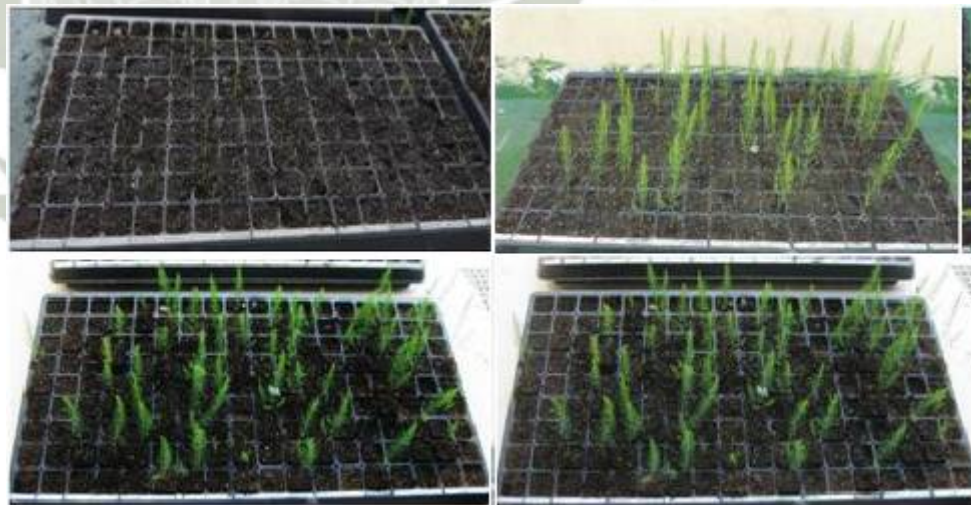


Figura 62. Desarrollo de plántulas de espárrago de la repetición 2.

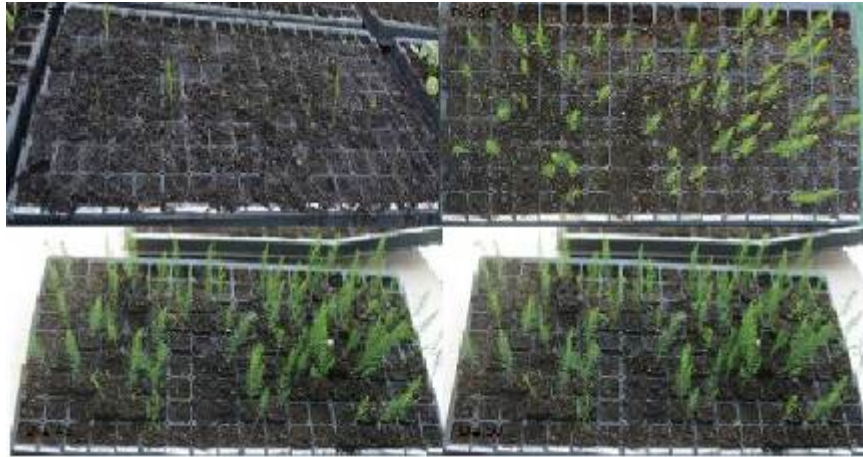


Figura 63. Desarrollo de plántulas de espárrago de la repetición 3.

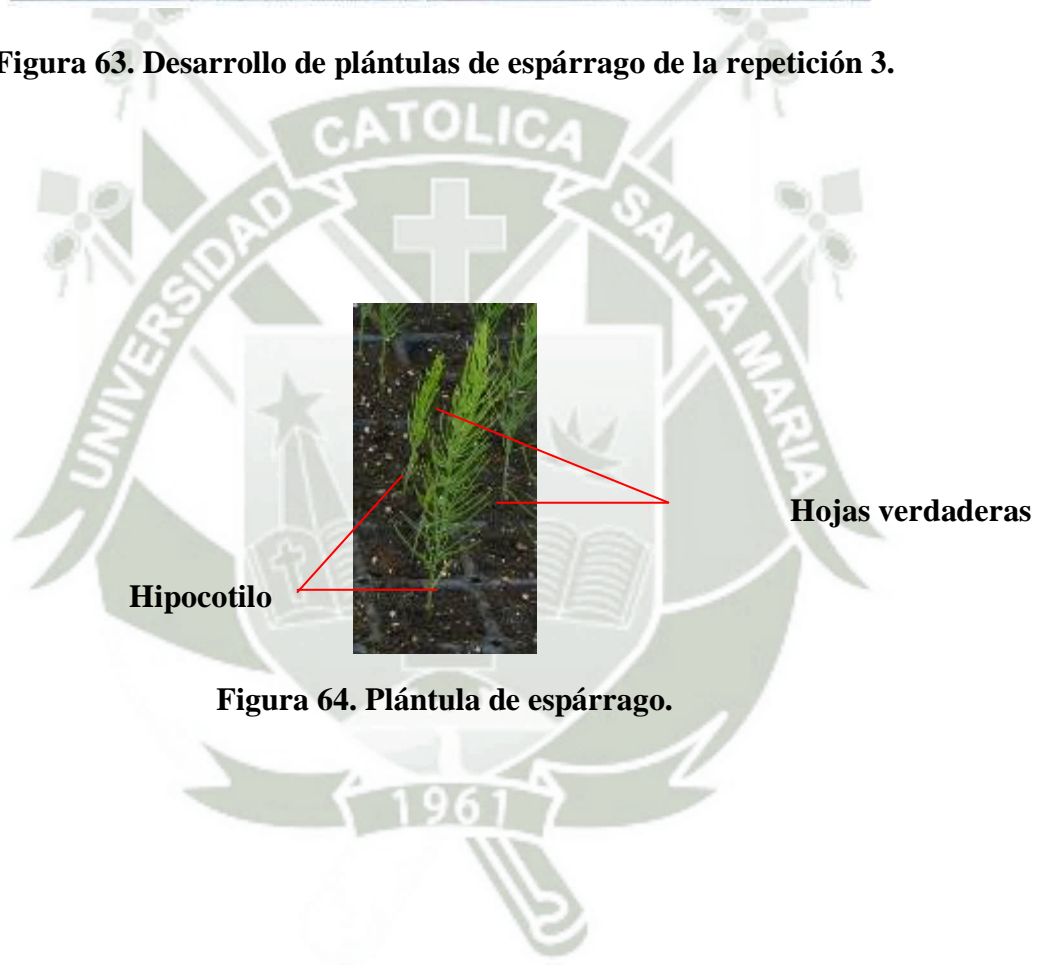


Figura 64. Plántula de espárrago.



Figura 65. Desarrollo de plántulas de brócoli de la repetición 1.



Figura 66. Desarrollo de plántulas de brócoli de la repetición 2.



Figura 67. Desarrollo de plántulas de brócoli de la repetición 3.



Figura 68. Plántula de Brócoli.

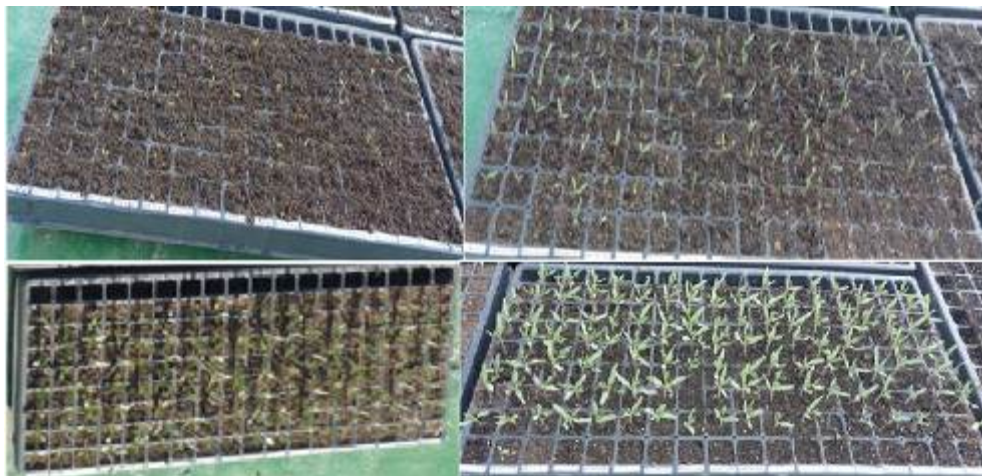


Figura 69. Desarrollo de plántulas de tomate de la repetición 1.

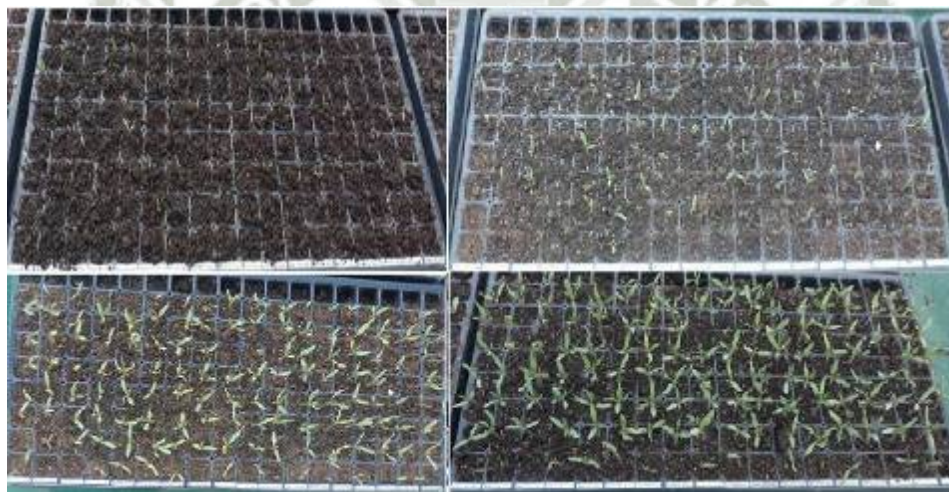


Figura 70. Desarrollo de plántulas de tomate de la repetición 2

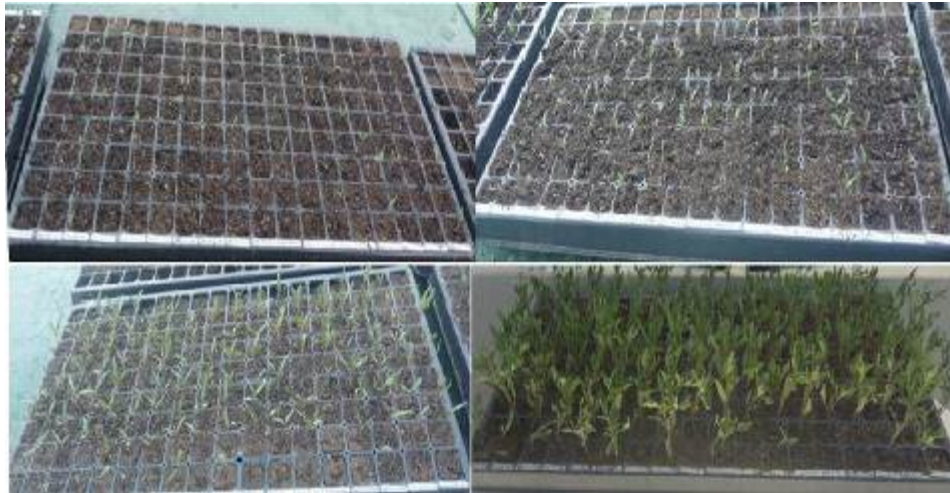


Figura 71. Desarrollo de plántulas de tomate de la repetición 3.

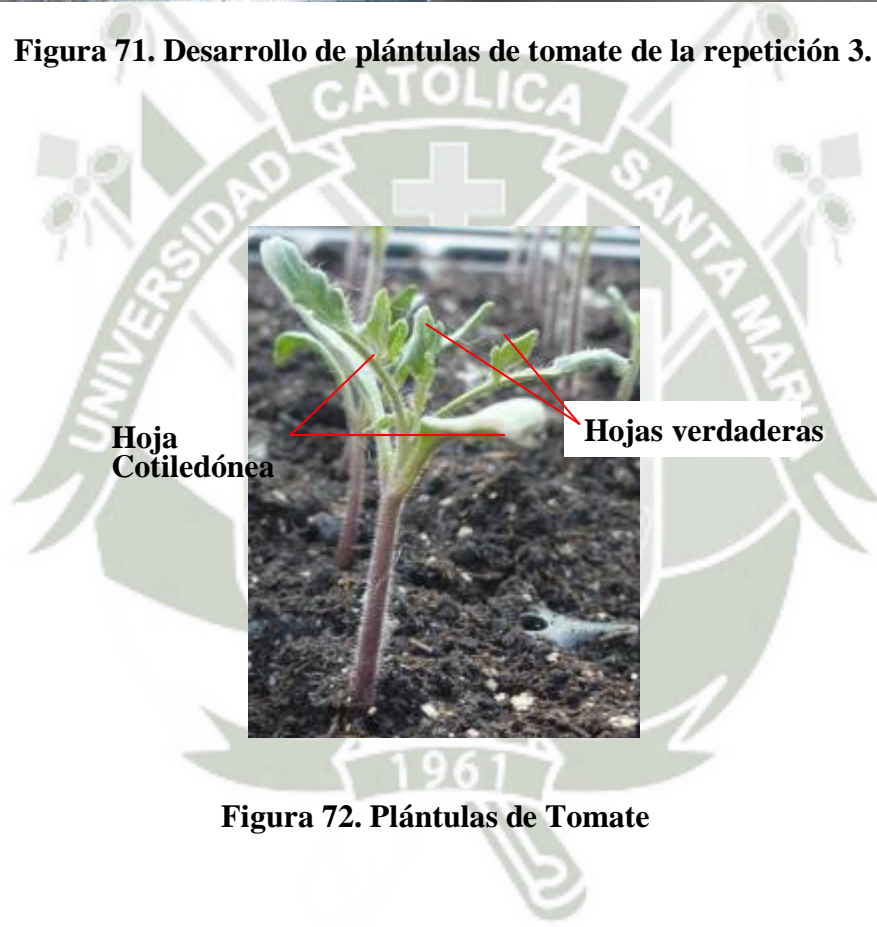


Figura 72. Plántulas de Tomate



Figura 73. Evaluación de raíz de las plántulas de Brócoli. (A) Lavado de raíz (B) Análisis de masa radicular, grosor de raíz (C) Medición de largo de raíz.



Figura 74. Evaluación de Raíz de las plántulas de Tomate. (A) Lavado de raíz (B) Análisis de masa radicular y grosor de raíz. (C) Medición del largo de raíces.



Figura 75. Evaluación de Raíz de plántulas de Alcachofa. (A) Lavado de raíz (B) Análisis de masa radicular y grosor de raíz. (C) Medición del largo de raíces.



Figura 76. Evaluación de Raíz de plántulas de Espárrago. (A) Lavado de raíz (B) Análisis de masa radicular y grosor de raíz. (C) Medición del largo de raíces.



Nudos

Figura 77. Conteo de nudos en plántulas de Brócoli



Nudos

Figura 78. Conteo de nudos en plántulas de Tomate.



Nudo

Figura 79. Conteo de nudos en plántulas de Alcachofa.



Figura 80. Conteo de nudos en plántulas de Espárrago

ANEXO 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PRE-TRATAMIENTO DE GERMINACIÓN

Tabla 23. Análisis ANOVA para el porcentaje de germinación en el pre-tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre tratamientos	1492.59	2	746.296	7.12	0.0019
Intra tratamientos	5344.44	51	104.793		
Total (Corr.)	6837.04	53			

Tabla 24. Pruebas de múltiple rangos para el pre-tratamiento en germinación de semillas de tomate.

<i>Concentración</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
3	18	86.6667	A
2	18	91.6667	A
<u>1</u>	<u>18</u>	<u>99.4444</u>	<u>B</u>

Tabla 25. Prueba de múltiple rangos para el pre-tratamiento en germinación de semillas de brócoli.

<i>Concentración</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
3	18	33.3333	A
2	18	45.0	Ab
<u>1</u>	<u>18</u>	<u>63.8889</u>	<u>B</u>

ANEXO 7. IMPACTO BIOL-PLANTA

Espárrago

Tabla 26. Prueba de múltiples rangos para el efecto de los tratamientos en el porcentaje de germinación de plántulas de espárrago.

Tratamiento	Media	Desv. típ.	Mínimo	Máximo	N	Significancia
1	87.50	12.5	75	100	3	A
4	87.50	12.5	75	100	3	A

10	87.50	12.5	75	100	3	A
2	83.33	19.09	62.5	100	3	A
3	83.33	7.22	75	87.5	3	A
7	83.33	7.22	75	87.5	3	A
9	83.33	14.43	75	100	3	A
13	83.33	7.22	75	87.5	3	A
14	79.17	7.22	75	87.5	3	A
5	75.00	12.5	62.5	87.5	3	A
8	75.00	12.5	62.5	87.5	3	A
12	75.00	0	75	75	3	A
6	70.83	28.87	37.5	87.5	3	A
11	70.83	14.43	62.5	87.5	3	A
16	70.83	19.09	50	87.5	3	A
18	70.83	7.22	62.5	75	3	A
15	62.50	12.5	50	75	3	a
17	62.50	12.5	50	75	3	a
19	62.50	0	62.5	62.5	3	a
21	33.33	19.09	12.5	50	3	b
20	29.17	14.43	12.5	37.5	3	b
22	29.17	14.43	12.5	37.5	3	b

Brócoli

Tabla 27. Prueba de múltiple rangos para el efecto de los tratamientos en el porcentaje de germinación de plántulas de Brócoli.

Tratamiento	Media	Desv. típ.	Mínimo	Máximo	N	Significancia
10	100	0.00	100	100	3	a
19	100	0.00	100	100	3	a
4	95.83	7.22	87.5	100	3	a
5	95.83	7.22	87.5	100	3	a
12	95.83	7.22	87.5	100	3	a
6	91.67	14.43	75	100	3	a
15	91.67	14.43	75	100	3	a
22	91.67	7.22	87.5	100	3	a
1	87.5	12.5	75	100	3	a
2	87.5	12.5	75	100	3	a
3	87.5	12.5	75	100	3	a
9	87.5	21.65	62.5	100	3	a

11	87.5	21.65	62.5	100	3	a
14	87.5	21.65	62.5	100	3	a
21	87.5	12.5	75	100	3	a
17	83.33	14.43	75	100	3	a
7	79.17	26.02	50	100	3	a
8	79.17	19.09	62.5	100	3	a
18	79.17	14.43	62.5	87.5	3	a
13	75	12.5	62.5	87.5	3	a
20	75	12.5	62.5	87.5	3	a
16	70.83	7.22	62.5	75	3	a

Alcachofa

Tabla 28. Prueba de múltiple rangos para el efecto de los tratamientos en el porcentaje de germinación de plántulas de alcachofa.

Tratamiento	Media	Desv. típ.	Mínimo	Máximo	N	Significancia
19	91.67	7.22	87.5	100	3	a
14	87.50	0	87.5	87.5	3	a
3	83.33	19.09	62.5	100	3	a
5	79.17	19.09	62.5	100	3	a
6	79.17	7.22	75	87.5	3	a
12	79.17	19.09	62.5	100	3	a
1	75.00	12.5	62.5	87.5	3	a
4	75.00	12.5	62.5	87.5	3	a
9	75.00	0	75	75	3	a
15	75.00	12.5	62.5	87.5	3	a
22	75.00	12.5	62.5	87.5	3	a
8	70.83	26.02	50	100	3	a
2	66.67	7.22	62.5	75	3	a
10	66.67	7.22	62.5	75	3	a
13	66.67	7.22	62.5	75	3	a
18	66.67	19.09	50	87.5	3	a
21	66.67	7.22	62.5	75	3	a
7	62.50	21.65	37.5	75	3	a
16	62.50	21.65	50	87.5	3	a
11	58.33	19.09	37.5	75	3	a

17	58.33	26.02	37.5	87.5	3	a
20	50.00	12.5	37.5	62.5	3	a

ANEXO 8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL ANÁLISIS FISIOLÓGICO.

Porcentaje de germinación

Tabla 29. Análisis de varianza para el porcentaje de germinación entre residuos agrícolas.

<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	66.1502	2	33.0751	1.79	0.3081
Intra grupos	55.4784	3	18.4928		
Total (Corr.)	<u>121.629</u>	<u>5</u>			

Tabla 30. Análisis de varianza para el porcentaje de germinación entre proporciones.

<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	12.2042	2	6.10212	0.39	0.7064
Intra grupos	46.7979	3	15.5993		
Total (Corr.)	<u>59.0021</u>	<u>5</u>			

Tabla 31. Análisis de varianza para el porcentaje de germinación entre los licores ruminales.

	Licor Llama	Licor Vacuno
Promedio	81.02	75.4633
S	1.97494	1.56308
Coefficiente de Variación	2.4376%	2.07132%
Mínimo	78.82	73.96
Máximo	82.64	77.08
Rango	3.82	3.12
t = 3.82125 Valor-P = 0.0187579		

Tabla 32. Análisis de varianza para el porcentaje de germinación de cada tratamiento.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Efectos principales					
A: planta	11870.3	3	3956.76	17.22	0.0000
B: tratamiento	16498.6	21	785.647	3.42	0.0000
Residuos	54926.6	239	229.818		
Total (corregido)	83295.5	263			

Tabla 33. Pruebas de múltiple rangos para el porcentaje de germinación por cada tratamiento.

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
4	12	86.46	4.37625	A
19	12	86.46	4.37625	A
10	12	85.42	4.37625	A
1	12	84.38	4.37625	A
3	12	84.38	4.37625	A
14	12	83.33	4.37625	B
9	12	82.29	4.37625	b
12	12	81.25	4.37625	c
5	12	81.25	4.37625	c
2	12	80.21	4.37625	c
6	12	78.13	4.37625	c
7	12	77.08	4.37625	c
13	12	77.08	4.37625	C
8	12	75.00	4.37625	C
15	12	72.92	4.37625	C
11	12	71.88	4.37625	C
22	12	71.88	4.37625	C
18	12	71.88	4.37625	C
16	12	68.75	4.37625	C
17	12	66.67	4.37625	D
21	12	66.67	4.37625	D
20	12	54.17	4.37625	D

Tabla 34. Análisis de varianza para porcentaje de germinación por cada plántula.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Efectos principales					
A: tratamiento	16498.6	21	785.647	3.93	0.0000
B: planta	11870.3	3	3956.76	19.78	0.0000
Interacciones					
AB	19718.3	63	312.989	1.56	0.0121
Residuos	35208.3	176	200.047		
Total (corregido)	<u>83295.5</u>	<u>263</u>			

Tabla 35. Pruebas de múltiple rangos para el porcentaje de germinación por plántula.

<i>PLANTA</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Esparrago	66	70.2652	1.8660	A
Alcachofa	66	71.4015	1.8660	a
Tomate	66	78.0303	1.8660	b
Brócoli	66	87.1212	1.8660	c
			<u>4</u>	

Tabla 36. Análisis de Anova del porcentaje de germinación y los residuos agrícolas.

<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	66.1502	2	33.0751	1.79	0.3081
Intra grupos	55.4784	3	18.4928		
Total (Corr.)	<u>121.629</u>	<u>5</u>			

Tabla 37. Análisis de Anova del porcentaje de germinación y las proporciones usadas en los tratamientos.

<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	12.2042	2	6.10212	0.39	0.7064
Intra grupos	<u>46.7979</u>	<u>3</u>	<u>15.5993</u>		
Total (Corr.)	59.0021	5			

Tabla 38. Prueba T-student para el porcentaje de germinación y los licores ruminales usados en los tratamientos.

	<i>Licor Llama</i>	<i>Licor Vacuno</i>
Recuento	3	3
Promedio	81.02	75.4633
Desviación Estándar	1.97494	1.56308
Coficiente de Variación	2.4376%	2.07132%
Mínimo	78.82	73.96
Máximo	82.64	77.08
Rango	3.82	3.12
Sesgo Estandarizado	-0.853885	0.2295
Curtosis Estandarizada		

t = 3.82125 valor-P = 0.0187579

Altura a la aparición de hojas cotiledóneas

Tabla 39. Análisis de varianza para la altura a la aparición de hojas cotiledóneas para cada tratamiento en las cuatro plántulas.

<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	1022.79	21	48.7044	0.94	0.5413
Intra grupos	12555.8	242	51.8835		
Total (Corr.)	<u>13578.6</u>	<u>263</u>			

Tabla 40. Pruebas de múltiple rangos para la altura a la aparición de hojas cotiledóneas por cada tratamiento en las cuatro plántulas.

Tratamiento	N	Promedio	Significancia
19	12	21.18	A
15	12	16.06	A
22	12	15.64	A
3	12	15.37	A
12	12	15.25	A
2	12	15.14	A
10	12	15.12	A
1	12	15.08	A
6	12	14.93	A
21	12	14.66	A
14	12	14.4	A
4	12	14.4	A
20	12	14.39	A
11	12	14.04	a
7	12	13.82	A
17	12	13.74	A
5	12	13.73	A
18	12	13.37	a
13	12	13.08	a
9	12	12.75	a
16	12	11.92	a
8	12	10.1	a

F=0.94 P>0.05

La Tabla 16, según el análisis de varianza de una factor de variación ($F=0.94$) se aprecia que la altura del cotiledón en la primera evaluación en las unidades experimentales en las diversas aplicaciones de Biol y fitohormonas no presento diferencias estadísticas significativas ($P>0.05$).

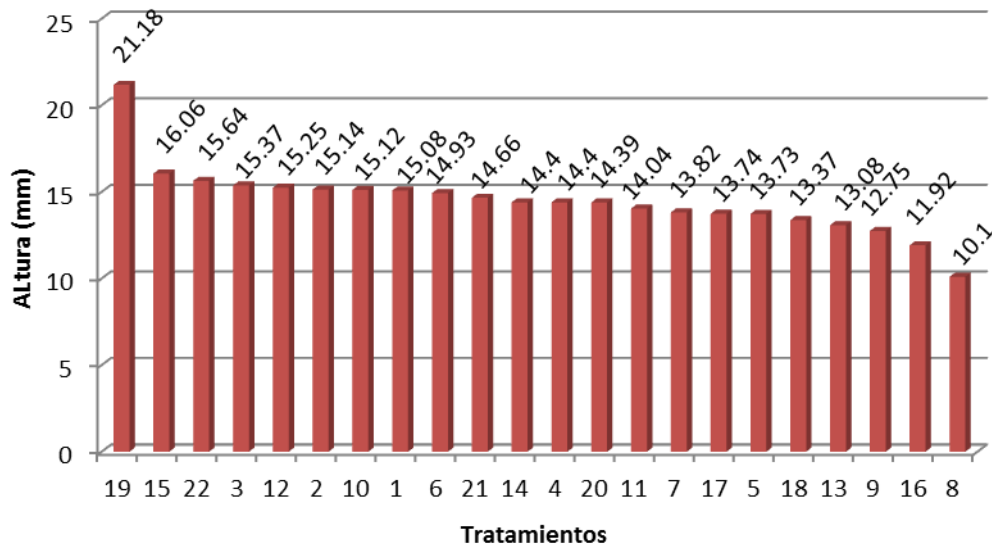


Figura 81. Altura a la aparición de hojas cotiledóneas de los 22 tratamientos.

Se realizaron 4 mediciones cada 5 días de las alturas a la aparición de hojas cotiledóneas en las 4 plantas por igual.

Como podemos observar en la tabla 16 y en la Figura 26, notamos que no existen diferencias significativas estadísticamente hablando en cuanto a las alturas a la Aparición de hojas cotiledóneas, como podemos ver en la tabla su valor 0.5 en Valor-P significa que no existen diferencias significativas entre los tratamientos para esta variable.

Altura a la aparición de hojas verdaderas

Tabla 41. Análisis de varianza para la altura de hojas verdaderas entre los residuos agrícolas.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>G l</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	11.1416	2	5.57082	2.59	0.2225
Intra grupos	6.46425	3	2.15475		
Total (Corr.)	17.6059	5			

Tabla 42: Análisis de varianza para la altura de hojas verdaderas entre las proporciones.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>G l</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.2896	2	0.1448	0.07	0.9339
Intra grupos	6.2052	3	2.0684		
Total (Corr.)	6.4948	5			

Tabla 43. Análisis de varianza para la altura de hojas verdaderas entre licores ruminales.

	Licor Llama	Licor Vacuno
Promedio	40.0533	38.2667
S	0.59231	0.70882
	2	5
Coefficiente de Variación	1.47881 %	1.85233 %
Mínimo	39.37	37.46
Máximo	40.42	38.79
Rango	1.05	1.33

t = 3.35013 Valor-P = 0.028565

Tabla 44. Análisis de varianza para altura a la aparición de hojas verdaderas por cada tratamiento en las cuatro plántulas.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Efectos principales					
A: tratamiento	9439.17	21	449.484	7.82	0.0000
B: planta	18367.2	3	6122.4	106.55	0.0000
Interacciones					
AB	6546.36	63	103.911	1.81	0.0014
Residuos	10112.7	176	57.4583		
Total (corregido)	44465.4	263			

Tabla 45. Pruebas de múltiple rangos para altura a la aparición de hojas verdaderas por cada tratamiento en las cuatro plántulas.

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
19	12	61.2391	2.18819	D
22	12	50.6266	2.18819	C
21	12	42.8793	2.18819	B
6	12	42.5242	2.18819	B
4	12	42.52	2.18819	B
5	12	42.3425	2.18819	B
14	12	40.8581	2.18819	B
9	12	40.0971	2.18819	B
10	12	40.0583	2.18819	B
15	12	39.9898	2.18819	B
2	12	39.9517	2.18819	B
12	12	39.5107	2.18819	B
8	12	38.9738	2.18819	B
3	12	38.4971	2.18819	B
16	12	38.1828	2.18819	B
13	12	38.1433	2.18819	B
7	12	38.04	2.18819	B
1	12	37.5617	2.18819	B
18	12	36.1467	2.18819	B
17	12	36.0899	2.18819	B
11	12	35.4261	2.18819	B
20	12	28.7144	2.18819	A

Tabla 46. Análisis de Anova de altura a la aparición de hojas verdaderas y los tres residuos agrícolas.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>G l</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	11.1416	2	5.57082	2.59	0.2225
Intra grupos	6.46425	3	2.15475		
Total (Corr.)	17.6059	5			

Tabla 47. Análisis de Anova de altura a la aparición de hojas verdaderas y las tres proporciones.

<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	0.2896	2	0.1448	0.07	0.9339
Intra grupos	6.2052	3	2.0684		
Total (Corr.)	6.4948	5			

Tabla 48. Prueba T-Student para altura a la aparición de hojas verdaderas y los licores ruminales.

	<i>Col_3</i>	<i>Col_4</i>
Recuento	3	3
Promedio	40.0533	38.2667
Desviación Estándar	0.592312	0.708825
Coefficiente de Variación	1.47881%	1.85233%
Mínimo	39.37	37.46
Máximo	40.42	38.79
Rango	1.05	1.33
Sesgo	-1.21493	-1.06869
Estandarizado Curtosis Estandarizada		

Número de Nudos

Tabla 49. Análisis de varianza para el número de nudos entre los residuos agrícolas.

<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	0.0401333	2	0.0200667	2.77	0.2084
Intra grupos	0.02175	3	0.00725		
Total (Corr.)	0.0618833	5			

Tabla 50. Análisis de varianza para el número de nudos entre proporciones.

<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	0.0028	2	0.0014	0.21	0.8200
Intra grupos	0.0198	3	0.0066		
Total (Corr.)	0.0226	5			

Tabla 51. Análisis de varianza para el número de nudos entre licores ruminales.

	<i>Licor Llama</i>	<i>Licor Vacuno</i>
Promedio	2.97	2.87
S	0.01	0.0608276
Coefficiente de Variación	0.3367 %	2.11943%
Mínimo	2.96	2.8
Máximo	2.98	2.91
Rango	0.02	0.11
	t = 2.80976	valor-P = 0.0483283

Tabla 52. Análisis de ANOVA para el número de nudos por cada tratamiento.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre tratamientos	75.7626	21	3.60774	1.99	0.0075
Intra tratamientos	439.707	242	1.81697		
Total (Corr.)	515.47	263			

Tabla 53. Pruebas de múltiple rangos para el número de nudos por cada tratamiento.

Tratamiento	N	Promedio	Significancia
19	12	4.79	b
22	12	4.46	b
21	12	3.93	a
7	12	3.13	a
15	12	3.07	A
4	12	3.06	A
9	12	3.03	A
6	12	3.01	a
8	12	3	a
5	12	2.98	a
2	12	2.95	a
18	12	2.95	a
13	12	2.93	a
14	12	2.92	a
10	12	2.9	a
16	12	2.87	a
3	12	2.86	a
20	12	2.85	a
17	12	2.75	a
11	12	2.72	a
1	12	2.71	a
12	12	2.7	a

Tabla 54. Análisis de Anova para el número de nudos y los tres residuos agrícolas.

<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	0.0401333	2	0.0200667	2.77	0.2084
Intra grupos	0.02175	3	0.00725		
Total (Corr.)	<u>0.0618833</u>	<u>5</u>			

Tabla 55. Análisis de Anova para el número de nudos y las tres proporciones usadas.

<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	0.0028	2	0.0014	0.21	0.8200
Intra grupos	0.0198	3	0.0066		
Total (Corr.)	0.0226	5			

Tabla 56. Prueba T-student para el número de nudos y los dos licores ruminales.

	<i>Col_3</i>	<i>Col_4</i>
Recuento	3	3
Promedio	2.97	2.87
Desviación Estándar	0.01	0.060827
Coefficiente de Variación	0.3367%	2.11943%
Mínimo	2.96	2.8
Máximo	2.98	2.91
Rango	0.02	0.11
Sesgo	0	-1.18761
Estandarizado Curtosis Estandarizada		
t = 2.80976 valor-P = 0.0483283		

Largo de raíz

Tabla 57. Comparación del largo de la raíz en los diferentes tratamientos en las especies cultivadas.

BIOLES	Corta		Me liana		Lrga		TO' AL	
	N°.	%	N°.	%	N°.	%	N°.	%
1	0	0.0	10	83.3	2	16.7	12	100.0
2	0	0.0	10	83.3	2	16.7	12	100.0
3	0	0.0	11	91.7	1	8.3	12	100.0
4	0	0.0	8	66.7	4	33.3	12	100.0
5	0	0.0	12	100.0	0	0.0	12	100.0
6	0	0.0	8	66.7	4	33.3	12	100.0
7	1	8.3	10	83.3	1	8.3	12	100.0
8	2	16.7	7	58.3	3	25.0	12	100.0
9	0	0.0	12	100.0	0	0.0	12	100.0
10	0	0.0	11	91.7	1	8.3	12	100.0
11	0	0.0	9	75.0	3	25.0	12	100.0
12	0	0.0	8	66.7	4	33.3	12	100.0

13	1	8.3	11	91.7	0	0.0	12	100.0
14	2	16.7	9	75.0	1	8.3	12	100.0
15	1	8.3	11	91.7	0	0.0	12	100.0
16	0	0.0	10	83.3	2	16.7	12	100.0
17	0	0.0	11	91.7	1	8.3	12	100.0
18	0	0.0	9	75.0	3	25.0	12	100.0
19	0	0.0	9	75.0	3	25.0	12	100.0
20	4	33.3	8	66.7	0		12	100.0
21	2	16.7	8	66.7	2	16.7	12	100.0
22	1	8.3	9	75.0	2	16.7	12	100.0

$$X^2=63.29$$

$$P<0.05$$

Grosor de raíz

Tabla 58. Comparación del grosor de la raíz en los diferentes tratamientos en las especies cultivadas.

BIOLES	Corta		Mediana		Larga		TOTAL	
	N°.	%	N°.	%	N°.	%	N°.	%
1	6	50.0	6	50.0	0	0.0	12	100.0
2	2	16.7	10	83.3	0	0.0	12	100.0
3	3	25.0	9	75.0	0	0.0	12	100.0
4	3	25.0	9	75.0	0	0.0	12	100.0
5	3	25.0	9	75.0	0	0.0	12	100.0
6	4	33.3	8	66.7	0	0.0	12	100.0
7	3	25.0	9	75.0	0	0.0	12	100.0
8	3	25.0	9	75.0	0	0.0	12	100.0
9	2	16.7	10	83.3	0	0.0	12	100.0
10	3	25.0	9	75.0	0	0.0	12	100.0
11	3	25.0	9	75.0	0	0.0	12	100.0
12	4	33.3	8	66.7	0	0.0	12	100.0
13	4	33.3	8	66.7	0	0.0	12	100.0
14	3	25.0	9	75.0	0	0.0	12	100.0
15	3	25.0	9	75.0	0	0.0	12	100.0
16	5	41.7	7	58.3	0	0.0	12	100.0
17	4	33.3	8	66.7	0	0.0	12	100.0
18	2	16.7	10	83.3	0	0.0	12	100.0
19	2	16.7	9	75.0	1	8.3	12	100.0
20	7	58.3	4	33.3	1	8.3	12	100.0
21	4	33.3	5	41.7	3	25.0	12	100.0
22	2	16.7	9	75.0	1	8.3	12	100.0

La tabla 21, Según la prueba de chi cuadrado ($X^2=54.46$) se aprecia que el grosor de la raíz en las concentraciones y fitohormonas no presento diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$).

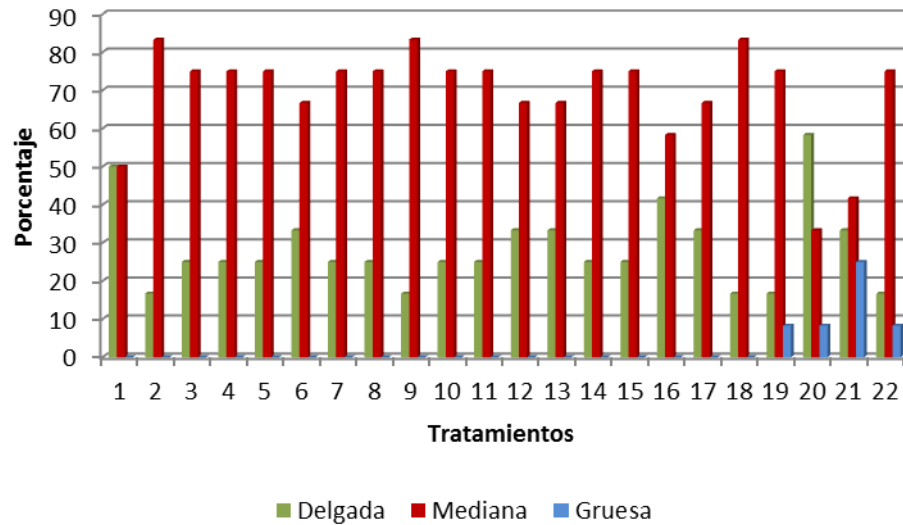


Figura 82. Análisis cualitativo del grosor de raíz para cada tratamiento por las cuatro plántulas.

Masa Radicular

Tabla 59. Comparación de la masa radicular en los diferentes tratamientos en las especies cultivadas.

BIOLES	Poco		Medio		Abundante		TOTAL	
	N°.	%	N°.	%	N°.	%	N°.	%
1	1	8.3	10	83.3	1	8.3	12	100.0
2	1	8.3	7	58.3	4	33.3	12	100.0
3	0	0.0	9	75.0	3	25.0	12	100.0
4	0	0.0	10	83.3	2	16.7	12	100.0
5	0	0.0	10	83.3	2	16.7	12	100.0
6	0	0.0	12	100.0	0	0.0	12	100.0
7	3	25.0	9	75.0	0	0.0	12	100.0
8	0	0.0	12	100.0	0	0.0	12	100.0
9	0	0.0	11	91.7	1	8.3	12	100.0
10	1	8.3	10	83.3	1	8.3	12	100.0
11	0	0.0	12	100.0	0	0.0	12	100.0

12	1	8.3	10	83.3	1	8.3	12	100.0
13	0	0.0	12	100.0	0	0.0	12	100.0
14	2	16.7	10	83.3	0	0.0	12	100.0
15	1	8.3	10	83.3	1	8.3	12	100.0
16	2	16.7	9	75.0	1	8.3	12	100.0
17	4	33.3	8	66.7	0	0.0	12	100.0
18	1	8.3	10	83.3	1	8.3	12	100.0
19	0	0.0	10	83.3	2	16.7	12	100.0
20	5	41.7	5	41.7	2	16.7	12	100.0
21	3	25.0	5	41.7	4	33.3	12	100.0
22	2	16.7	8	66.7	2	16.7	12	100.0

$$X^2=69.75 \quad P<0.05$$

HPLC. Análisis de cada solución stock para realizar una curva de calibración.

Tabla 60. Área y tiempo de retención de acuerdo a las concentraciones de las soluciones stock de AG3, AIA y Kinetina.

AG3		
CC.	Area	TR
2	13936	4.163
4	20950	4.173
6	19987	4.15
8	25395	4.19
10	28433	4.313
Kinetina		
CC.	Area	TR
0.2	9098	3.437
0.4	30766	3.487
0.8	58562	3.437
1.6	145312	3.497
3.2	292042	3.607
AIA		
CC.	Area	TR
0.2	5352	6.213
0.4	13993	6.23
0.8	25356	6.223
1.6	54512	6.16
3.2	105546	6.35