

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN SUELOS**



**“CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y
MICROBIOLÓGICAS DEL PROCESO DE ELABORACIÓN
DE BIOL Y SU EFECTO EN GERMINACIÓN DE
SEMILLAS”**

Presentada por:

ANGELA JUDITH DÍAZ MONTOYA

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE EN SUELOS**

Lima - Perú

2017

DEDICATORIA

A mis agricultores,
quienes fueron fuente de inspiración para el presente trabajo.

A mi amado hijo Micael,
con quien es un placer avanzar por la vida cumpliendo sueños.

AGRADECIMIENTO

Culminar este trabajo de investigación ha sido un logro comunitario, por ello quisiera agradecer muy especialmente:

A mi patrocinador de tesis, el Ing. Braulio La Torre, por confiar en mí y brindarme su apoyo constante.

A los docentes del Departamento de Suelos, quienes de manera cariñosa e insistente me motivaron a terminar mi tesis.

Al Taller de Conservación de Suelos y Agricultura Sostenible (CONSAS), por facilitarme sus instalaciones para realizar esta investigación.

Al laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes y su unidad de Microbiología de Suelos - Facultad de Agronomía – UNALM y; al Laboratorio de Fisiología Vegetal - Facultad de Ciencias – UNALM.

A mi familia, especialmente a Alfredo, Micael y a mi hermano Edward, por acompañar mis acciones y apasionarse con mis aventuras.

A mis amigos, compañeros de vida, que siempre están dispuestos a ayudarme, a Roger Vásquez, Carmen Figueroa, Daniela Horna y Juan Guerrero Lázaro.

ÍNDICE GENERAL

	Pag.
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1 Proceso anaeróbico de descomposición de la materia orgánica para la obtención de biol.	2
2.1.1 Factores a considerar en el proceso de digestión	6
a. Materia prima	6
b. Relación Carbono/Nitrógeno	7
c. Temperatura	8
d. pH	8
e. Volumen y mezcla de la carga	9
2.1.2 Factores que inhiben el proceso de digestión	10
2.2 Biodigestores artesanales para la elaboración de biol	11
2.3 El biol y los beneficios de su utilización	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1 Ubicación	18
3.2 Clima	18
3.3 Materiales	19
3.4 Metodología	20
3.4.1 Protocolo de instalación de los biodigestores y elaboración de biol	20
3.4.2 Análisis de bioles	24
3.4.3 Ensayos de germinación	28
3.4.4 Diseño estadístico	29
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1 Características físicas evaluadas durante el proceso de elaboración de los bioles	30
4.1.1 Temperatura	30
4.1.2 Color	32
4.1.3 Olor	34

4.2	Características químicas evaluadas durante el proceso de elaboración de los bioles	37
4.2.1	Conductividad Eléctrica y pH	37
	a. Conductividad eléctrica	37
	b. pH	39
4.2.2	Comportamiento de los macronutrientes	41
	a. Nitrógeno	41
	b. Fósforo	43
	c. Potasio	45
	d. Calcio	47
	e. Magnesio	48
	f. Azufre	50
	g. Sodio	51
4.2.3	Comportamiento de los micronutrientes	53
	a. Hierro	53
	b. Cobre	54
	c. Zinc	55
	d. Manganeso	56
	e. Boro	58
4.2.4	Interpretación de resultados de los análisis de los macro y micronutrientes estudiados	59
4.3	Características microbiológicas evaluadas durante el proceso de elaboración de los bioles	61
4.3.1	Población de bacterias	62
4.3.2	Población de hongos	63
4.3.3	Población de actinomicetos	65
4.4	Bioensayos	67
4.4.1	Sustancias de acción giberélica	68
4.4.2	Sustancias de acción auxínica	68
4.4.3	Sustancias de acción citocinínica	69
4.5	Pruebas de germinación	71
4.5.1	Algodón	
	a. Porcentaje de germinación	72

b. Peso fresco de los germinados	74
4.5.2 Lechuga	
a. Porcentaje de germinación	76
b. Peso fresco de los germinados	78
4.5.3 Alfalfa	
a. Porcentaje de germinación	79
b. Peso fresco de los germinados	81
Análisis sobre los resultados de germinación de semillas	82
V. CONCLUSIONES	83
VI. RECOMENDACIONES	88
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
VIII ANEXOS	95

ÍNDICE DE CUADROS

	Pag.
1 Reacciones bioquímicas en el proceso de digestión anaeróbica y producción de metano	3
2 Características de las arqueobacterias metanogénicas	6
3 Efecto de la concentración de los cationes sobre la digestión anaeróbica	10
4 Fórmulas de biol utilizadas por agricultores en el país	12
5 Tratamientos y fórmulas utilizadas para la elaboración de bioles	22
6 Frecuencia de muestreo para análisis de bioles	24
7 Parámetros físicos, químicos y microbiológicos evaluados en bioles	25
8 Temperatura promedio de los bioles durante el proceso de elaboración (°C)	31
9 Olores asociados a las categorías de descripción de olores en los bioles	36
10 Conductividad eléctrica de los bioles durante su proceso de elaboración (dS/m)	39
11 pH de los bioles durante su proceso de elaboración	41
12 Contenido de nitrógeno en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)	43
13 Contenido de fósforo en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)	44
14 Contenido de potasio en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)	46
15 Contenido de calcio en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)	48
16 Contenido de magnesio en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)	49
17 Contenido de azufre en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)	51
18 Contenido de sodio en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)	52
19 Contenido de hierro en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)	54
20 Contenido de cobre en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)	55
21 Contenido de zinc en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)	56
22 Contenido de manganeso en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)	57
23 Contenido de boro en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)	59
24 Composición química promedio de los cuatro bioles elaborados	59
25 Contenido máximo y mínimo de nutrientes presentes en los bioles	61
26 Población de bacterias mesófilas durante el proceso de elaboración de bioles (UFC/ml biol)	63

27	Población de hongos mesófilos durante el proceso de elaboración de bioles (UFC/ml biol)	64
28	Población de actinomicetos mesófilos durante el proceso de elaboración de bioles (UFC/ml biol)	66
29	Contenido promedio de sustancias de actividad giberélica, auxínica y citocinínica en los bioles elaborados	67
30	Conductividad eléctrica a las dosis de 20 y 40 por ciento de biol (dS/m)	72
31	Conductividad Eléctrica a las dosis de 5 y 10 por ciento de biol (dS/m)	72
32	Porcentaje de germinación de semillas de algodón a dos dosis de biol: 5 y 10 por ciento	73
33	Peso fresco de los germinados de algodón a dos dosis de biol: 5 y 10 por ciento (g)	75
34	Conductividad eléctrica de las diluciones de biol a las dosis de 2 y 4 por ciento (dS/m)	76
35	Porcentaje de germinación de semillas de lechuga a dos dosis de biol: 2 y 4 por ciento	77
36	Peso fresco de los germinados de lechuga a dos dosis de biol: 2 y 4 por ciento (g)	78
37	Porcentaje de germinación de semillas de alfalfa a dos dosis de biol: 2 y 4 por ciento	80
38	Peso fresco de los germinados de alfalfa a dos dosis de biol: 2 y 4 por ciento (g)	81

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pag.
1 Variación de la temperatura ambiental promedio (°C) durante los días de elaboración de los bioles	18
2 Modelo de biodigestor artesanal construido para la investigación	21
3 Carga de los biodigestores artesanales	23
4 Disposición final de los biodigestores durante el proceso de elaboración de bioles	24
5 Extracción de muestras de biol utilizando herramienta de succión	25
6 Determinación de temperatura (izquierda), color (centro) y olor (derecha) durante el proceso de elaboración	26
7 Variación de la temperatura promedio de los bioles durante el proceso de elaboración	30
8 Lectura de color de las muestras de los tratamientos B1 (izquierda) y B4 (derecha).	32
9 Variación del color durante el proceso de elaboración de bioles	33
10 Variación del olor durante el proceso de elaboración de bioles	34
11 Categorías de olores identificados a los 16 ddi (izquierda) y a los 121 ddi (derecha) en los bioles	35
12 Variación de la conductividad eléctrica durante el proceso de elaboración de bioles	38
13 Variación del pH durante el proceso de elaboración de bioles	40
14 Variación del contenido de nitrógeno durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)	42
15 Variación del contenido de fósforo durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)	44
16 Variación del contenido de potasio durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)	46
17 Variación del contenido de calcio durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)	47
18 Variación del contenido de magnesio durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)	49
19 Variación del contenido de azufre durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)	50
20 Variación del contenido de sodio durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)	52
21 Variación del contenido de fierro durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)	53
22 Variación del contenido de cobre durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)	54
23 Variación del contenido de zinc durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)	56
24 Variación del contenido de manganeso durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)	57
25 Variación del contenido de boro durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)	58

26	Variación de la población de bacterias mesófilas durante el proceso de elaboración de bioles (UFC/ml biol)	62
27	Variación de la población de hongos mesófilos durante el proceso de elaboración de bioles (UFC/ml biol)	64
28	Variación de la población de actinomicetos mesófilos durante el proceso de elaboración de bioles (UFC/ml biol)	65
29	Contenido de sustancias giberélicas en los bioles (mg/L)	68
30	Contenido de sustancias auxínicas en los bioles (M)	69
31	Contenido de sustancias citocinínicas en los bioles (M)	70
32	Porcentaje de germinación de semillas de algodón: comparativo entre las dosis de 5 y 10 por ciento	74
33	Peso fresco de los germinados de algodón (g): comparativo entre las dosis de 5 y 10 por ciento	75
34	Porcentaje de germinación de semillas de lechuga: comparativo entre las dosis de 2 y 4 por ciento	77
35	Peso fresco de los germinados de lechuga (g): comparativo entre las dosis de 2 y 4 por ciento	79
36	Porcentaje de germinación de semillas de alfalfa: comparativo entre las dosis de 2 y 4 por ciento	80
37	Peso fresco de los germinados de alfalfa (g): comparativo entre las dosis de 2 y 4 por ciento	81

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pag.
1 Datos meteorológicos de temperatura y humedad relativa para el período diciembre 2009 a abril 2010	95
2 Recuento fotográfico del proceso de carga de los biodigestores artesanales	96
3 Resultado de los análisis químicos realizado a los bioles durante el proceso de elaboración	97
4 Resultado de los análisis de población microbiana realizado a los bioles durante el proceso de elaboración	102
5 Resultado de bioensayos para la determinación de sustancias de actividad auxínica, giberélica y citocinínica.	104
6 Recuento fotográfico de los bioensayos para la determinación de sustancias de acción giberélica, auxínica y citocinínica	105
7 Recuento fotográfico de la determinación del porcentaje de germinación en semillas de algodón, lechuga y alfalfa	108
8 Análisis estadístico del porcentaje de germinación de semillas de algodón	111
9 Análisis estadístico del peso fresco de los germinados de algodón	112
10 Análisis estadístico del porcentaje de germinación de semillas de lechuga	113
11 Análisis estadístico del peso fresco de los germinados de lechuga	114
12 Análisis estadístico del porcentaje de germinación de semillas de alfalfa	115
13 Análisis estadístico del peso fresco de los germinados de alfalfa	116

RESUMEN

Actualmente, no existen parámetros que definan el proceso de elaboración de los bioles en el Perú. A consecuencia de ello, la calidad final del biol producido artesanalmente varía sustancialmente. El objetivo de ésta investigación fue caracterizar el proceso de elaboración de biol y evaluar la variación de las propiedades físicas (temperatura, color y olor), químicas (pH, CE y, macro y micro nutrientes) y microbiológicas (población de bacterias, hongos y actinomicetos), durante el proceso de digestión anaerobia. Se construyeron biodigestores artesanales para ensayar 4 formulaciones de biol elaborados en 121 días. Cada formulación de biol (tratamiento) utilizó diferentes insumos. En el producto final se determinó el contenido de precursores hormonales (giberelinas, auxinas y citoquininas). El efecto de cada formulación de biol fue evaluado en la germinación de semillas de algodón, lechuga y alfalfa. Los resultados de los parámetros físicos mostraron: (1) temperaturas de biol superiores a la temperatura ambiental, (2) color final de los bioles similar para tres tratamientos (pardo olivo) y, (3) olor predominantemente normal y agradable. Los parámetros químicos mostraron: (1) una fase de acidificación al inicio del proceso migrando hacia la neutralidad con similar tendencia para todos los tratamientos, (2) incremento gradual de la CE en todos los tratamientos, (3) contenido de macro y micronutrientes con variación significativa; nitrógeno, potasio, calcio y boro presentaron curvas de variación con similar tendencia. Los parámetros microbiológicos mostraron una disímil variación poblacional de bacterias, hongos y actinomicetos mesófilos entre los tratamientos. Los bioensayos permitieron confirmar la presencia de sustancias de acción giberélica, auxínica y citoquinínica en los bioles elaborados. El efecto en el porcentaje de germinación fue mayor en semillas de algodón remojadas en biol al 5% y lechuga al 2%. El mayor peso de los germinados de alfalfa se obtuvo al 2%.

Palabras clave: biol, biodigestor artesanal, abonos orgánicos, agricultura orgánica

ABSTRACT

Currently, there are no defined parameters for the elaboration of biols in Peru. As a consequence the final quality of the artisan biols vary significantly. The main objective of this research is to characterize the elaboration process of biol and to assess the physical (temperature, color, scent) chemical (pH, EC, and macro and micro nutrients) and microbiological (bacterial, fungal and actinomicetes populations) during the anaerobic digestion process. Artisan biodigesters were built to test four different biol formulations that were prepared in 121 days. Each biol formulation (treatment) was produced using different inputs. The amount of hormonal precursors (auxin, gibberellin, and cytokinin) was determined for each treatment. The effect on germination rate of each biol formulation was tested on cotton, lettuce and alfalfa seeds. Physical parameters showed: (1) biol temperatures higher than room temperatures; (2) final biol color similar for three of the formulations (olive brown); and, (3) biol scent mostly within the normal range and pleasant. Chemical parameters showed across treatments: (1) an acidification phase at the beginning of the process moving towards neutrality; (2) gradual increment of the EC; and (3) significant variability in the content of micro and macronutrients, where nitrogen, potassium, calcium and boron reported similar variation tendency. Microbiological parameters showed a dissimilar variation in the bacterial, fungal and actinomicetes population among treatments. Bioassays allowed confirming the presence of substances of gibberellic, auxinic and cytokinin effect in the biols produced. Finally, the effect on germination rate was higher for cottons seeds soaked in a 5% biol solution and lettuce seeds soaked in a 2% solution. While a higher sprouts weight was obtained from alfalfa seeds soaked in a 2% biol solution.

Keywords: biol, artisan biodigester, organic fertilizers, organic agriculture

I. INTRODUCCIÓN

La elaboración y uso del biol, es una práctica común entre los agricultores orgánicos de nuestro país, ellos han aprendido a elaborarlo en biodigestores artesanales, utilizando formulaciones básicas con insumos propios de cada localidad. Como es un abono fácil de replicar, de bajo costo y que puede ser adaptado a las condiciones de cada agricultor, en la actualidad hay tantas formulaciones para elaborar biol como productores en el país. Sin embargo, tanta diversidad muestra como resultado común para todos los productores que, la aplicación de biol a sus cultivos, mejora la nutrición de las plantas. Tanto ha sido el éxito alcanzado por esta tecnología, que a la fecha hay varias iniciativas para producir biol a mayor escala y comercializarlo como un abono foliar.

Si bien, se ha investigado sobre el efecto del biol en los cultivos, poco se sabe sobre lo que ocurre durante su proceso de elaboración en estos biodigestores artesanales. Por ello, el presente trabajo plantea:

- conocer la variación de las características físicas (temperatura, color y olor), características químicas (pH, CE, macro y micronutrientes) y; la variación poblacional de microorganismos (bacterias, hongos y actinomicetos) durante el proceso de elaboración de cuatro formulaciones (tratamientos) de biol.
- determinar la presencia y contenido de precursores hormonales (sustancias de acción giberélica, auxínica y citoquinínica), en los bioles elaborados.
- evaluar el efecto del biol en la germinación de semillas de algodón, lechuga y alfalfa, utilizando dos dosis.

Esta investigación constituye una aproximación para conocer el proceso que conlleva la elaboración de los bioles y su aplicación; pero además pretende brindar información que permita extraer conclusiones y recomendaciones prácticas respecto a las formulaciones y uso del biol.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 PROCESO ANAERÓBICO DE DESCOMPOSICIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA PARA LA OBTENCIÓN DE BIOL

El proceso de descomposición anaeróbica de la materia orgánica, es realizado en biodigestores; un biodigestor es un sistema natural que aprovecha la digestión anaerobia (en ausencia de oxígeno) de las bacterias que ya habitan en el estiércol, para transformar éste en biogás y fertilizante (Martí 2008). Los principales productos del proceso de digestión anaerobia, en sistemas de alta carga orgánica y en mezcla completa, son el biogás y un bioabono que consiste en un efluente estabilizado; esta materia orgánica rica en elementos minerales también conocida como bioabono, puede presentarse de dos formas: líquida y sólida (Varnero 2011). Martí (2006), precisa que este efluente resultante es la mezcla del influente estabilizado y la biomasa microbiana producida.

El biol es un abono orgánico líquido, resultado de la descomposición de los residuos animales y vegetales en ausencia de oxígeno (INIA 2008). Inicialmente se lo había considerado un producto secundario, pero actualmente se lo está tratando con la misma importancia, o mayor, que el biogás, ya que provee a las familias de un fertilizante natural que mejora fuertemente el rendimiento de las cosechas (Martí 2008).

Los bioprocesos utilizados para estabilizar los residuos orgánicos, se basan en una digestión de tipo aeróbica (compostaje) o de tipo anaeróbica (fermentación con producción de biogás). La calidad de cualquier material orgánico que ha sido bioprocesado, ya sea en forma aeróbica o anaeróbica, está relacionada con la estabilidad biológica y la madurez química que se alcanza durante el desarrollo y, la evolución de las diferentes etapas del proceso. (Varnero 2011).

La digestión anaeróbica y sus etapas:

La digestión anaeróbica es un proceso muy complejo, tanto por el número de reacciones bioquímicas que tienen lugar, como por la cantidad de microorganismos involucrados en ellas. De hecho, muchas de estas reacciones ocurren de forma simultánea. Es un proceso biológico complejo y degradativo, en el cual parte de los materiales orgánicos de un

substrato (residuos animales y vegetales) son convertidos en biogás por un consorcio de bacterias (Varnero 2011) que actúan de forma simbiótica. (Kossmann et al. sf).

Un funcionamiento estable del digestor requiere que estos grupos de bacterias estén en un equilibrio dinámico y armonioso. (Marchaim 1992).

El proceso de digestión anaeróbica a menudo es dividido en tres etapas que permiten ilustrar la secuencia de eventos microbiológicos que ocurren durante el proceso de digestión y producción de metano. Estas etapas diferenciadas son hidrólisis, formación de ácidos (acidogénesis) y metanogénesis (Kossmann et al. sf. y Gerardi 2003).

Sin embargo, otros autores indican que el proceso de digestión anaeróbica se realiza en cuatro etapas fases o etapas. Varnero (2011) indica que estudios bioquímicos y microbiológicos realizados hasta ahora, dividen el proceso de descomposición anaeróbica de la materia orgánica en cuatro fases o etapas: hidrólisis, etapa fermentativa o acidogénica, etapa acetogénica y etapa metanogénica, similar a lo señalado por Lorenzo y Obaya (2005) y Carrillo (2003). El Cuadro 1 muestra estas reacciones bioquímicas en el proceso de digestión anaeróbica.

Cuadro 1: Reacciones bioquímicas en el proceso de digestión anaeróbica y producción de metano

Hidrólisis		
Carbohidratos complejos	→	Azúcares simples
Lípidos complejos	→	Ácidos grasos
Proteínas complejas	→	Aminoácidos
Producción de ácidos		
Azúcares simples + Ácidos grasos + aminoácidos	→	Ácidos orgánicos, incluyendo acetato + alcoholes
Acetogénesis (producción de acetato)		
Ácidos orgánicos + alcohol	→	Acetato
Producción de metano		
Acetato	→	CH ₄ + CO ₂
H ₂ + CO ₂	→	CH ₄
Metanol	→	CH ₄ + H ₂ O

Fuente: Gerardi (2003).

Hidrólisis: en esta etapa, los compuestos orgánicos son solubilizados por acción de enzimas excretadas por bacterias hidrolíticas que actúan en el exterior celular (exoenzimas). La hidrólisis es, por tanto, la conversión de los polímeros en sus respectivos monómeros. (Lorenzo y Obaya 2005). La hidrólisis 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, este proceso proporciona sustratos orgánicos para la digestión anaerobia. (Martí, 2006)

La hidrólisis depende de la temperatura del proceso, del tiempo de retención, de la composición bioquímica del sustrato (porcentaje de lignina, carbohidratos, proteínas y grasas), del tamaño de partículas, del nivel de pH, de la concentración de NH_4^+ y de la concentración de los productos de la hidrólisis, esta etapa hidrolítica puede ser el proceso limitante de la velocidad global del proceso sobre todo cuando se tratan residuos con alto contenido de sólidos (Varnero 2011).

Microorganismos de muchos géneros son los responsables de la hidrólisis, destacan: *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Propioni-bacterium*, *Sphingomonas*, *Sporobacterium*, *Megasphaera*, *Bifidobacterium* (Varnero 2011).

Etapa acidogénica: durante esta etapa tiene lugar la fermentación de las moléculas orgánicas solubles en compuestos que puedan ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas (acético, fórmico, H_2) y, compuestos orgánicos más reducidos (propiónico, butírico, valérico, láctico y etanol principalmente) que tienen que ser oxidados por bacterias acetogénicas en la siguiente etapa del proceso.

La importancia de la presencia de este grupo de bacterias no sólo radica en el hecho que produce el alimento para los grupos de bacterias que actúan posteriormente, sino que, además eliminan cualquier traza del oxígeno disuelto del sistema.

Este grupo de microorganismos, se compone de bacterias facultativas y anaeróbicas obligadas, colectivamente denominadas bacterias formadoras de ácidos. La mayoría de los microorganismos acidogénicos también participan de la hidrólisis. El género *Clostridium*, *Paenibacillus* y *Ruminococcus* están presentes en todas las fases del proceso de fermentación, pero son dominantes en la fase acidogénica (Varnero 2011).

Etapa acetogénica: durante esta etapa, mientras que algunos productos de la fermentación pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos (H_2 y acético), otros (etanol, ácidos grasos volátiles y algunos compuestos aromáticos) deben ser

transformados en productos más sencillos, como acetato (CH_3COO^-) e hidrógeno (H_2), a través de las bacterias acetogénicas. A esta altura del proceso, la mayoría de las bacterias anaeróbicas han extraído todo el alimento de la biomasa y, como resultado de su metabolismo, eliminan sus propios productos de desecho de sus células. Estos productos, ácidos volátiles sencillos, son los que van a utilizar como sustrato las bacterias metanogénicas en la etapa siguiente.

Representantes de los microorganismos acetogénicos son *Syntrophomonas wolfei* y *Syntrophobacter wolini*. Un tipo especial de microorganismos acetogénicos, son los llamados homoacetogénicos. Los principales microorganismos homoacetogénicos que han sido aislados son *Acetobacterium woodii* o *Clostridium aceticum* (Varnero 2011).

Etapa metanogénica: En esta etapa metabólica el CH_4 es producido (Lorenzo y Obaya 2005). Los microorganismos metanogénicos completan el proceso de digestión anaeróbica mediante la formación de metano a partir de sustratos monocarbonados o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente: acetato, H_2/CO_2 , formato, metanol y algunas metilaminas.

Las bacterias metanogénicas activas aparecen en la segunda fase de la fermentación (fase acidogénica). Sin embargo, obviamente el número de Arqueas metanogénicas aumenta en la fase metanogénica. Las principales especies están representadas por *Methanobacterium*, *Methanospirillum hungatii* y *Methanosarcina* (Varnero 2011). Cuadro 2.

El proceso de digestión anaeróbica se realizará eficientemente si las tasas de degradación de las tres etapas son iguales. Si la primera etapa es inhibida, entonces los sustratos para la segunda y tercera etapa serán limitantes y la producción de metano decrecerá. En este proceso participan diferentes grupos de bacterias que trabajan en secuencia, con los productos de un grupo sirviendo como sustratos para otro grupo (Gerardi 2003). El grupo de bacterias participantes de este proceso, se encuentran de forma simbiótica. Por un lado, las bacterias productoras de ácido crean la atmósfera ideal para el desarrollo de las bacterias productoras de metano (condiciones anaerobias y compuestos con bajo peso molecular). Mientras, por el otro lado, los microorganismos productores de metano usan los ácidos producidos por las bacterias; que si no fueran consumidos crearían condiciones tóxicas para las acidogénicas. En la práctica el proceso de fermentación es realizado por un grupo de bacterias que actúan en conjunto. Sin ser posible que alguna de ellas independientemente lleve a cabo todo el proceso (Kossmann et al. sf).

En la primera y segunda fase de la degradación, participan bacterias de al menos 128 órdenes de 58 especies y 18 géneros. En la tercera y cuarta fase de la degradación, se encuentran principalmente bacterias metanogénicas. En la actualidad, se han identificado 81 especies, de 23 géneros, 10 familias y 4 órdenes (Varnero 2011).

Cuadro 2: Características de las arqueobacterias metanogénicas

Grupo	Género	Morfología	Sustratos
I	Methanobacterium	bacilos alargados	H ₂ + CO ₂ HCOO ⁻
	Methanobrevibacter	bacilos cortos	H ₂ + CO ₂ HCOO ⁻
	Methanosphaera	cocos	CH ₃ OH + H ₂
II	Methanothermus	Bacilos	H ₂ + CO ₂ (reduce S°)
III	Methanococcus	cocos irregulares	H ₂ + CO ₂ HCOO ⁻ , piruvato + CO ₂
IV	Methanomicrobium	bacilos cortos	H ₂ + CO ₂ HCOO ⁻
	Methanogenium	cocos irregulares	H ₂ + CO ₂ HCOO ⁻
	Methanospirillum	espirilos	H ₂ + CO ₂ HCOO ⁻
	Methanoplanus	placas	H ₂ + CO ₂ HCOO ⁻
V	Methanosarcina	cocos grandes y en paquetes	H ₂ + CO ₂ , CH ₃ OH, CH ₃ COO ⁻
	Methanolobus	cocos irregulares	CH ₃ OH, metilaminas
	Methanoculleus	cocos irregulares	H ₂ + CO ₂ HCOO ⁻ , alcoholes
	Methanohalobium	cocos irregulares	CH ₃ OH, metilaminas
	Methanococcoides	cocos irregulares	CH ₃ OH, metilaminas
	Methanohalophilus	cocos irregulares	CH ₃ OH, metilaminas, metilsulfuros
	Methanotherix	bacilos alargados y filamentosos	CH ₃ COO ⁻
VI	Methanopyrus	bacilos en cadenas	H ₂ + CO ₂ (crece a 110°C)
VII	Methanocorpusculum	Cocos irregulares	H ₂ + CO ₂ HCOO ⁻ , alcoholes

Fuente: Madigan et al., citado por Carrillo (2004).

2.1.1 FACTORES A CONSIDERAR EN EL PROCESO DIGESTIÓN

a. Materia prima:

La materia prima preferentemente utilizada para ser sometida a este tratamiento es cualquier biomasa residual que posea un alto contenido en humedad (Lorenzo y Obaya 2005), pueden ser residuos orgánicos de origen vegetal, animal, agroindustrial, forestal, doméstico u otros. Las características bioquímicas que presenten estos residuos deben permitir el desarrollo y la actividad microbiana del sistema anaeróbico. El proceso microbiológico no solo requiere de fuentes de carbono y nitrógeno sino que también deben estar presentes en un cierto equilibrio sales minerales (azufre, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, cobalto, selenio, tungsteno, níquel y otros menores) (Varnero 2011).

Los materiales que se pueden usar para la generación de metano son muy diversos:

- residuos de cosechas: malezas, paja, rastrojo de maíz y otros cultivos, forraje deteriorado;
- restos de origen animal: residuos de establos (estiércol, orina, paja de camas), camas de ponedoras, boñigas (estiércol) de cabras y ovejas, desperdicios de matadero (sangre, vísceras), desperdicios de pesca, restos de lana y cuero;
- residuos de origen humano: basura, heces, orina;
- residuos agroindustriales: tortas de oleaginosas, bagazo, salvado de arroz, y desechos de tabaco y semillas, desperdicios del procesamiento de hortalizas y frutas, limos de la prensa en ingenios, residuos de té, polvo de las desmotadoras e industria textil;
- mantillo forestal: ramitas, hojas, cortezas, ramas;
- restos de plantas acuáticas: algas marinas, camalotes (jacinto de agua).

(National Research Council Report, citado por Carrillo 2004).

b. Relación Carbono/Nitrógeno

El carbono y el nitrógeno son las principales fuentes de alimentación de las bacterias metanogénicas. El carbono constituye la fuente de energía y el nitrógeno es utilizado para la formación de nuevas células. Estas bacterias consumen 30 veces más carbono que nitrógeno, por lo que la relación óptima de estos dos elementos en la materia prima se considera en un rango de 30:1 hasta 20:1 (Varnero 2011, Guevara 1996). Una relación C/N con valores de por lo menos 25:1 es recomendable para una óptima producción de gas (Gerardi 2003).

La descomposición de materiales con alto contenido de carbono, superior a 35:1, ocurre más lentamente, porque la multiplicación y desarrollo de bacterias es bajo, por la falta de nitrógeno, pero el período de producción de biogás es más prolongado. En cambio, con una relación C/N menor de 8:1 se inhibe la actividad bacteriana debido a la formación de un excesivo contenido de amonio, el cual en grandes cantidades es tóxico e inhibe el proceso (Varnero 2011).

c. Temperatura

La temperatura es uno de los más importantes factores que afectan la actividad microbiana dentro de un digestor anaeróbico; la producción de metano depende fuertemente de la temperatura (Gerardi 2003). La gama de temperatura para la digestión anaeróbica varía entre 10 y 60°C (Taiganides, citado por Carrillo 2004).

Existen tres rangos de temperatura en los que pueden trabajar los microorganismos anaeróbicos: psicrófilos (por debajo de 25°C), mesófilos (entre 25 y 45°C) y termófilos (entre 45 y 65°C) (Varnero 2011).

Sin embargo, las dos zonas óptimas son la mesófila (30-40°C) y la termófila (45-60°C). Casi todos los digestores funcionan dentro de los límites de temperaturas mesofílicas y la digestión óptima se obtiene a unos 35°C. La velocidad de digestión a temperaturas superiores a 45°C es mayor que a temperaturas más bajas. Sin embargo, dentro de esta gama de temperaturas, las bacterias son sumamente sensibles a los cambios ambientales y el mantenimiento de estas temperaturas elevadas resulta costoso y a veces difícil (Taiganides, citado por Carrillo 2004).

d. pH

La actividad enzimática o funcionamiento del digestor está influenciado por el pH. El pH en un digestor anaeróbico inicialmente disminuirá debido a la producción de ácidos volátiles. Sin embargo, como las bacterias formadoras de metano consumen estos ácidos volátiles se alcalinizará el medio, el pH del digestor se incrementa y luego se estabiliza.

Una aceptable actividad enzimática de las bacterias formadoras de ácidos ocurre por encima de un pH 5.0, sin embargo una actividad enzimática de las bacterias formadoras de metano no ocurre por debajo de un pH 6.2 (Gerardi 2003), ya que si el valor del pH descendiera por debajo de 6.2, el medio se tornaría tóxico para las bacterias metanogénicas y se inhibiría el proceso (Kossmann et al. sf). El óptimo es entre 5.5 y 6.5 para acidogénicas y entre 7.8 y 8.2 para metanogénicas (Varnero 2011).

El proceso anaeróbico es afectado adversamente con pequeños cambios en los niveles de pH (que se encuentran fuera del rango óptimo). Los microorganismos metanogénicos son más susceptibles a las variaciones de pH que los otros microorganismos de la comunidad microbiana anaeróbica. Los diferentes grupos bacterianos presentes en el proceso de digestión anaeróbica presentan unos niveles de actividad óptimos en torno a la neutralidad. Para que el proceso se desarrolle satisfactoriamente, el pH no debe bajar de 6.0 ni subir de

8.0 (Varnero 2011), valores de pH inferiores a 6 o superiores a 8 son restrictivos y algo tóxicas para las bacterias formadoras de metano (Gerardi 2003).

El pH óptimo para cultivos mixtos se encuentra en el rango entre 6.8 y 7.4, siendo el pH neutro el ideal (Varnero 2011). Gerardi 2003, indica que muchas bacterias anaerobias, incluyendo a las bacterias formadoras de metano, se desempeñan bien en un rango de pH entre 6.8 y 7.2.

Por otra parte, el pH afecta a los diferentes equilibrios químicos existentes en el medio, pudiendo desplazarlos hacia la formación de un determinado componente que tenga influencia en el proceso. Este es el caso de los equilibrios ácido-base del amoníaco y del ácido acético: al aumentar el pH se favorece la formación de amoníaco que, en elevadas concentraciones, es inhibidor del crecimiento microbiano y a pH bajos se genera mayoritariamente la forma no ionizada del ácido acético, que inhibe el mecanismo de degradación del propionato. (Martí 2006).

e. Volumen y mezcla de la carga

El volumen total del biodigestor ha de albergar una parte líquida y otra gaseosa. Normalmente se da un espacio del 75% del volumen total a la fase líquida, y del 25% restante a la fase gaseosa (Martí 2008).

No es conveniente que la carga a degradar esté muy concentrada ni muy diluida, se recomienda una concentración de 5-10%. Sobre la base de los sólidos totales de la carga pueden calcularse la concentración de los lodos, la cantidad de agua que habrá de agregar y las proporciones de los componentes (Guevara 1996).

Todos los días hay que cargar el biodigestor (de carga continua) con una carga de estiércol mezclada 1:4 con agua. De esta manera una parte es de estiércol y cuatro de agua. En artículos y bibliografía anterior se recomendaba en todos los casos mezclas de 1:4 para biodigestores tubulares, pero en el caso de estiércol de ganado bovino, una mezcla de 1:3 es suficiente como se ha visto experimentalmente (Martí 2008).

El contenido del digestor anaeróbico debe ser mezclado; esta mezcla mejora el proceso de digestión al distribuir las bacterias, sustrato y nutrientes en el digestor. Las actividades metabólicas de las bacterias formadoras de acetato y de las bacterias formadoras de metano, requieren este cercano contacto; una mezcla lenta y suave garantiza este contacto. Además, la mezcla permitirá un eficiente hidrolisis y producción de ácidos orgánicos y alcoholes por bacterias formadoras de ácido (Gerardi 2003).

2.1.2 FACTORES QUE INHIBEN EL PROCESO DE DIGESTIÓN

El proceso de digestión anaeróbica es inhibido por la presencia de sustancias tóxicas en el sistema. Estas sustancias pueden formar parte de las materias primas que entran al digestor o pueden ser subproductos de la actividad metabólica de los microorganismos anaeróbicos. Sustancias tales como amoníaco, metales pesados, compuestos halogenados, cianuro y fenoles, forman parte del primer grupo, en tanto que, sulfuro, amoníaco y ácidos grasos de cadena larga, forman parte del último grupo mencionado (Varnero 2011).

Quizás los tres tipos de toxicidad más comunes son por amonio, sulfuro de hidrógeno y metales pesados. Mientras que Lorenzo y Obaya (2005) indican que hay un número significativo de compuestos y sustancias que actúan de forma letal sobre los microorganismos que llevan a cabo el proceso anaerobio inhibiendo éste. Destacan entre éstos, los metales pesados, fenoles, tiosulfatos, tiocianatos, cianuros, agentes oxidantes fuertes como cromatos y cloro, tensoactivos aniónicos, antibióticos, pesticidas y sales. (Gerardi 2003).

También resultan tóxicas las sales de zinc, níquel y cobre, aunque este último puede ser necesario en ínfimas cantidades. Las concentraciones de nitrógeno amoniacal deben ser inferiores a 1,5 g/L. Si bien es un amortiguador, su aumento puede llegar a impedir el proceso. Las sales de los elementos alcalinos y alcalino-térreos pueden ser estimulantes o inhibitorias según la concentración (National Research Council Report, citado por Carrillo, 2004). Cuadro 3.

Cuadro 3: Efecto de la concentración de los cationes sobre la digestión anaeróbica.

Acción	Concentración g/L		
	Estimulante	Inhibitoria	Muy inhibitoria
Sodio	0,1 – 0,2	3,5 – 5,5	8
Potasio	0,2 – 0,4	2,5 – 4,5	12
Calcio	0,1 – 0,2	2,5 – 4,5	8
Magnesio	0,075 – 0,15	1,0 – 1,5	3

Fuente: National Research Council Report, citado por Carrillo (2004).

2.2 BIODIGESTORES ARTESANALES PARA LA ELABORACIÓN DE BIOL

Los agricultores han jugado un papel importante en el proceso de innovación de los biodigestores campesinos. Una vez conocidas las bondades de la técnica para producir abono, la meta fue simplificar su construcción y manejo para facilitar su integración a los sistemas de producción. Como resultado de este proceso se desarrollaron diferentes modelos sencillos y prácticos, que no requieren demasiado estiércol y usan los materiales disponibles en la zona. Lo importante es que el proceso de descomposición sea anaeróbico.

Esta experiencia se inició en 1995 con la construcción de un biodigestor usando una manga cerrada de polietileno grueso (...) en esta manga, que se asemeja a un «estómago», se pueden producir hasta 200 litros de abono líquido cada tres meses, dependiendo de las condiciones climáticas. Este tipo de biodigestor se difundió ampliamente en el Perú y fue adoptado por muchos agricultores de pequeña escala. Sin embargo la corta duración del polietileno, las dificultades para su manipulación, su fragilidad ante el contacto con los animales y los problemas de contaminación de la finca que representan los plásticos de desecho, se consideró necesario realizar innovaciones en su implementación, recurriendo al uso de un cilindro de plástico de una capacidad de 200 litros. El modelo de biodigestor con cilindro fue adaptado inicialmente de un modelo colombiano. El uso del cilindro permitió una mayor facilidad de manejo y mayor duración del material sin crear desperdicios de plástico en el campo. Puede producir 100 litros de abono foliar cada dos o tres meses (400 litros al año) (Gomero 2005).

Existen tantas fórmulas para producir biol, como agricultores que las utilizan; ya que cada uno de ellos adapta la fórmula a su realidad concreta en función de los insumos disponibles.

A continuación se presenta algunas fórmulas utilizadas en nuestro país:

Cuadro 4: Fórmulas de biol utilizadas por agricultores en el país

Fórmula para biol (INIA, 2008)		Fórmula para biol (Colque et al., 2005)	
Estiércol de vacuno fresco	15 kg	Estiércol seco de Ovino y Camélido	40 kg
Suero	1 L	Estiércol fresco de Vacuno	20 kg
Gallinaza	2 kg	Estiércol de Cuy	10 kg
Estiércol de cuy	2 kg	Estiércol de gallina	10 kg
Sal mineral	1 kg	Pescado (híspi y/o carachi)	5 kg
Azúcar	2 kg	Roca fosfórica.	5 kg
Estiércol de alpaca	3 kg	Ceniza	2 kg
Plantas repelentes como: ajeno, eucalipto, palma real; desmenuzados o trozados		Azúcar rubia	6 kg
Para elaborar en un bidón de 100 L Utilizado por los productores de Ccarhuayo, Quispicanchis, Cusco		Alfalfa picada	3 kg
		Ortiga molida	1 kg
		Orín de vaca	6 L
		Leche de vaca	10 kg
		Agua	300 L
		Chicha de cebada y/o maíz.	4 L
Fórmula para biol (Piamonte y Flores, 2000)		Fórmula para biol (FONCODES y PACC Perú, 2014)	
Agua	120 L	Hojas verdes de trébol, alfalfa u otra leguminosa	1.5 kg
Estiércol fresco bovino	30 kg	Melaza o azúcar rubia	1.5 L
Estiércol fresco animales menores	5 kg	Chicha de jora	1.5 L
Humus de lombriz	2 kg	Guano fresco de vaca o cuy	15 kg
Tierra de bosque	4 kg	Guano de gallina (opcional)	1.5 kg
Azúcar rubia	4 kg	Ceniza de leña	0.75 kg
Leche	3 L	Leche o suero	1.5 L
Agua de coco (opcional)	2 L	Levadura (opcional)	1 sobre
Harina pescado (opcional)	2 kg	Agua	Hasta los 55 L
Cáscara de huevo molida	0.5 kg		
Plantas verdes picadas	10 kg		
Suelo arcilloso en polvo	3 kg		
Roca fosfórica	4 kg		
Ceniza de madera	2 kg		
Kit de ingredientes minerales	1.5 kg		
Para elaborar en un cilindro de 200 L		Para elaborar en un cilindro de 60 L	

Como se observa, cada fórmula utiliza diferentes insumos y cantidades; si bien las formulas varían entre sí, la mayoría de ellas coinciden en utilizar los siguientes insumos: estiércol, residuos vegetales, ceniza, leche y azúcar.

El procedimiento para su elaboración en forma sencilla se resume a: colocar en el bidón todos los ingredientes orgánicos y posteriormente los minerales, luego se completa con

agua hasta un 80% del volumen del recipiente y se mezcla de la mejor forma posible todos los ingredientes (INIA 2008, Piamonte y Flores 2000).

Finalmente, es indispensable que el tanque permanezca cerrado herméticamente, permitiendo la salida del gas producido (metano), que debemos eliminar del tanque a través de un sistema de manguera bajo agua (tipo sifón), para su correcta salida: el proceso de descomposición debe ser anaeróbico (sin oxígeno) sin dejar entrar el aire del ambiente (Piamonte 2009). Se debe asegurar el sellado total del envase que contiene el biol, porque si ingresa aire malogrará la fermentación, es decir no se obtendrá biol de buena calidad. (FONCODES y PACC Perú 2014).

El bioabono sólido o líquido no posee mal olor, a diferencia del estiércol fresco, tampoco atrae moscas y puede aplicarse directamente al campo en forma líquida (McCaskey, citado por Soria et al. 2001). El producto final es un líquido de color marrón verdoso oscuro y de olor agradable (como a tierra fresca) (Piamonte y Flores 2000).

Un buen biol tendrá un olor agradable como a jugo de caña y no a podrido, debe ser de un color amarillo. El olor a podrido y la presencia de un color verde azulado indican que la fermentación está contaminada y debe desecharse (FONCODES y PACC Perú 2014).

2.3 EL BIOL Y LOS BENEFICIOS DE SU UTILIZACIÓN

El biol es el efluente líquido que se descarga frecuentemente de un digestor (denominado así con la aceptación de la Red Latinoamericana de Energías Renovables); es un biofactor que promueve el crecimiento en la zona trofогénica de los vegetales por un incremento apreciable del área foliar efectiva, en especial de los cultivos anuales y semiperennes como la alfalfa (Medina, 1990).

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

Además, siendo el bioabono una fuente orgánica de fitoreguladores en pequeñas cantidades es capaz de promover actividades fisiológicas y estimular el desarrollo de las plantas, favoreciendo el enraizamiento (aumenta y fortalece la base radicular), ejerce una acción sobre el follaje (amplía la fase foliar), mejora la floración y activa el vigor y poder germinativo de las semillas, traducándose esto en un incremento significativo de la producción de biomasa vegetal (Varnero 2011). El incremento notable en el sistema radicular es por efecto de la tiamina entre otros componentes; en la composición del biol se encuentran diversos y valiosos precursores hormonales, aunque también ciertos represores como la metionina entre otros. (Medina 1990).

El biol, además de aumentar la producción y mejorar la calidad de los productos considerablemente, también mejora el balance nutricional en la planta, haciéndola más resistente a la embestida de plagas y enfermedades originadas por el desequilibrio ambiental (Colque et al. 2005, INIA 2008, Piamonte 2009).

Warnars y Oppenoorth (2014) indican que el biol, además de ser una gran fuente de nutrientes, tiene muchos efectos positivos y puede ser utilizada para las siguientes aplicaciones:

- Para tratar las semillas y obtener una más alta germinación, resistencia a las enfermedades, mejores rendimientos y, mejor coloración de frutas y vegetales.
- Para aumentar el valor alimenticio del forraje con bajo valor proteínico.
- Para aumentar la disponibilidad de nutrientes para la microflora del suelo, tal como los organismos de fijación de nitrógeno u organismos solubilizantes de fósforo.

Formas de aplicación y usos del biol:

El biol puede ser aplicado directamente al suelo, a las hojas de los cultivos, o con el agua de riego (Colque, et al. 2005, Gomero 2005, INIA 2008, Piamonte 2009).

Las aplicaciones de biol al suelo, son recomendadas para obtener resultados más duraderos buscando estimular la recuperación de la fertilidad de los suelos. Se puede aplicar en el agua de irrigación, o alrededor del tallo de las plantas, en una dilución de 10 a 30% (Piamonte y Flores 2000, Piamonte 2009). Aunque se pierde poco Nitrógeno durante la digestión anaeróbica, el peligro de pérdida de este elemento durante y después de la aplicación es alto, puesto que el amonio puede volatilizarse fácilmente. La infiltración, o mejor incorporación, inmediata al suelo ayuda a reducir las pérdidas (Benzing 2001).

No es recomendable la pulverización de biol puro en el follaje de las plantas, ni tampoco a la semilla antes de la siembra, por el efecto depresivo que puede ofrecer la presencia de metionina como precursor de etileno; (...) por lo tanto hay que encontrar la dilución adecuada a fin de menguar el efecto de la metionina, especialmente bajo condiciones de stress (Medina 1990).

La aplicación de biol a las hojas, se realiza diluyendo el biol, en una proporción del 1 al 10%, y puede repetirse varias veces (3 o 4) durante el ciclo del cultivo. Para el remojo de las semillas de alfalfa y otras leguminosas se usa el biofertilizante al 25% por 12hs y, en cereales y algodón se remojan en una solución al 20% durante la noche anterior a la siembra (Piamonte, 2009; Piamonte y Flores 2000).

Medina (1990), en su experiencia recomienda no emplear el biol en diluciones superiores al 50% si ha de asperjarse al follaje o, del 25% si dicha solución ha de servir para la imbibición de la semilla. Indica también que el tiempo de imbibición o de remojo, también juega un papel importante; en alfalfa por ejemplo si el remojo es sólo de 6 a 8 horas, no se consiguen los resultados que sí se logran con 12 horas de imbibición; el maíz en cambio va a depender si se trata de semillas de tipo amiláceo o cristalino duro, para el primer caso se requiere un tiempo de imbibición de sólo 24 horas, mientras que para el segundo son necesarias 48 a 72 horas. Mientras que para la semilla de cebolla al tener un pergamino tegumental sumamente poroso y permeable, ésta no requiere más allá de 5 a 6 horas de remojo.

Dependiendo de cada cultivo, la semilla se remoja antes de la siembra en una solución de biol que puede estar entre el 10-20% para semillas de cubierta delgada y entre 20-50% para semillas de cubierta gruesa. La importancia del tratamiento de las semillas con biol es por la riqueza de tiamina y triptófano, así como en purinas y auxinas que permiten una germinación más rápida, del mismo modo un notable crecimiento de raíces, por lo cual se tendrá un mejor desarrollo del cultivo y por lo tanto en mayores rendimientos al momento de la cosecha. (Suquilanda, citado por Ramos 2004).

Los beneficios y propuestas para el uso del biol antes mencionados, han sido motivo de diversas investigaciones, a continuación se presentan algunos resultados:

Medina (2013) evaluó la calidad de dos abonos orgánicos líquidos producidos a partir de estiércol de ovino mediante dos procesos consecutivos de fermentación anaeróbica y fermentación homoláctica. El biol obtenido como resultado del primer proceso fue

utilizado en pruebas para la germinación de semillas de lechuga (fitotoxicidad), donde demostró que las concentraciones muy altas de los bioles inhiben la germinación de las semillas de lechuga y limitan el crecimiento de la radícula. Las semillas germinadas en las diluciones 10%, 1%, 0.1% y 0.01% alcanzaron medidas similares e incluso superiores al control. Siendo esto un indicador de la influencia positiva que tendrían estos bioles en la germinación y desarrollo inicial de las plantas.

Carhuacho (2012) al realizar un análisis de germinación con semillas de maíz utilizando tres bioles (elaborados a partir de estiércol de gallinaza), demostró que diluciones mayores de 8.8% de los bioles, impidieron el crecimiento normal de las plántulas en longitud y forma de las radículas, así mismo como la germinación normal de las semillas de maíz. Demostró que a diluciones de biol del 0.1 y 1% el índice de germinación fue superior a 80%.

La investigación realizada por Toalombo (2013), buscó comparar el efecto de la aplicación de 3 bioles elaborados a base de tres diferentes estiércoles (bovino, cuy y cerdo) a 3 frecuencias diferentes (cada 7, 14 y 21 días) en el cultivo de mora (*Rubus glaucus* Benth); los resultados mostraron que la aplicación del biol elaborado con estiércol de cuy a una frecuencia cada 14 días produjo los mejores resultados en el crecimiento y desarrollo de las plantas, incrementando la producción del cultivo de mora.

El trabajo de investigación realizado por Barrios (2001), evaluó la aplicación foliar de seis concentraciones de biol (10%, 20%, 40%, 80% y 100%) y la aplicación de biol al suelo (100%), sobre la producción y calidad del cultivo de vainita (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Bush Blue Lake 47. Los resultados mostraron que no se encontraron diferencias estadísticas significativas para el rendimiento total y los parámetros de calidad (longitud, diámetro y peso promedio de fruto). Sin embargo, las aplicaciones de biol al suelo y vía foliar (100%) lograron incrementar hasta en un 12 % el rendimiento en comparación con el testigo.

Mientras que la investigación realizada para conocer el efecto de la aplicación foliar de biol y la rotación de cultivos (*Crotalaria juncea*) en la producción de espinaca (*Spinacea oleracea*), los resultados si mostraron diferencias estadísticas altamente significativas

respecto al incremento en el rendimiento de espinaca, obteniendo los mayores rendimientos a las concentraciones de 100% y 40%. (Siura et al. 2009).

Wong y Jimenez (2009), al investigar la aplicación de biofertilizantes líquidos a plantas de algarrobo (*Prosopis juliflora*) en vivero, encontraron resultados significativos para las variables altura de planta y número de hojas. Además, observaron que el tiempo de permanencia de las plántulas en fase de vivero disminuyó considerablemente de un promedio de 4 meses a 37 días solamente.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN

El trabajo experimental para la elaboración de los bioles, se realizó en las instalaciones del Taller de Conservación de Suelos y Agricultura Sostenible (CONSAS), de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina – UNALM.

Los análisis químicos y microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes, y en su unidad de Microbiología de Suelos; pertenecientes al Departamento de Suelos - Facultad de Agronomía – UNALM.

Los bioensayos se realizaron en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Biología - Facultad de Ciencias – UNALM, y las pruebas de germinación de semillas, se realizaron en las instalaciones del Programa de Algodón y, en el Laboratorio de Manejo y Conservación de Suelos del Departamento de Suelos – Facultad de Agronomía - UNALM.

3.2 CLIMA

La fase de elaboración de los bioles, se realizó durante la época de verano (diciembre 2009 – abril 2010), período en que la temperatura ambiental promedio fluctuó entre los 18.4°C y 27.6°C (Figura 1) y la humedad relativa promedio fluctuó entre 64 y 90 por ciento (Observatorio Meteorológico “Alexander Von Humboldt” – UNALM). Los valores de temperatura promedio, máxima y mínima, así como la Humedad Relativa Promedio, para los 4 meses durante los cuales se elaboraron los bioles, se presentan en el Anexo 1.



Figura 1: Variación de la temperatura ambiental promedio (°C) durante los días de elaboración de los bioles

3.3 MATERIALES

La investigación se realizó en tres fases experimentales: la instalación de los biodigestores y elaboración de bioles; el análisis de las características físicas, químicas, microbiológicas y la realización de bioensayos y; las pruebas de germinación.

Los materiales, insumos y equipos utilizados en cada fase se presentan a continuación:

a) Fase de Instalación de biodigestores y la elaboración de bioles:

<u>Materiales:</u>	<u>Equipos y herramientas:</u>
Bidones plásticos de 120 litros	Balanzas
Manguera transparente de 1/2 pulgada	Machete
Pegamento plástico	Lampa
Tubo de PVC de 1/2 pulgada	Trinche
Baldes con medida	
Cremalleras y alambre	
Costales y mantas	
Botellas plásticas de 600 ml	
Vara de madera (para remover)	

b) Fase de análisis de las características físicas, químicas, microbiológicas y bioensayos de los bioles:

<u>Materiales e insumos:</u>	<u>Equipos e instrumentos de laboratorio:</u>
Muestras de biol	Termómetro
Botellas de vidrio y plásticas	Balanza precisión
Vasos plásticos	pH-metro
Tabla Munsell	Conductímetro
Placas Petri	Estufa
Jeringa para extraer el biol	Campana extractora Kjeldahl
	Espectrofotómetro absorción atómica
	Microscopio
	Autoclave
	Cámara de flujo laminar
	Incubadora

c) Fase de ensayos de germinación:

Materiales e insumos:

Muestras de biol

Vasos plásticos

Placas Petri

Pipetas

Papel toalla

Jeringas

Agua desionizada

Semillas de lechuga, alfalfa y algodón

Equipos e instrumentos de laboratorio:

Balanza analítica y de precisión

Conductímetro

Estufa

3.4 METODOLOGÍA

La investigación se desarrolló considerando tres fases experimentales. La primera fase considera la instalación de los biodigestores artesanales y la elaboración de bioles (diciembre 2009 – abril 2010), la segunda fase considera la realización de los análisis físicos, químicos y microbiológicos efectuados durante y al final del proceso de elaboración de los bioles y, la realización de bioensayos (mayo – junio 2010) y; la tercera fase considera las pruebas de germinación realizadas con los bioles elaborados (mayo – junio 2010).

A continuación se presenta la metodología empleada y los parámetros evaluados en cada una de las fases:

3.4.1 PROTOCOLO DE INSTALACIÓN DE LOS BIODIGESTORES Y ELABORACIÓN DE BIOL

Se construyeron biodigestores artesanales utilizando bidones plásticos de 120 L de capacidad. Los bidones, antes de ser utilizados, se acondicionaron del siguiente modo:

- Se lavaron minuciosamente durante una semana con detergente, lejía y agua de buena calidad.
- Se verificó que cada tapa cerrara herméticamente (para garantizar que no ingresara aire). A cada tapa, se les hicieron dos agujeros de media pulgada ($\frac{1}{2}$ ") aproximadamente. En cada agujero se introdujo un tubo delgado de PVC que fueron acoplados a mangueras transparentes en la parte exterior.

- El sistema tuvo dos ductos de salida:

Un tubo sirvió para la salida de gases. Hacia la parte interior del bidón, este tubo fue de 8 cm de largo, con ello se garantizó que estuviera siempre en la sección vacía del bidón. Hacia la parte exterior el tubo se conectó a una manguera la que se introdujo en una botella plástica llena con agua, para que sirva como trampa e impida el ingreso de aire.

El segundo tubo sirvió para extraer las muestras líquidas de biol. Hacia la parte interior del bidón, este tubo fue de 35 cm de largo, con ello se garantizó que estuviera dentro del biol en elaboración. Hacia afuera este tubo fue conectado a una manguera que sirvió para la extracción del biol al ser acoplado a un instrumento artesanal que trabajó como un émbolo de succión.

Se tuvo especial cuidado en que ambos tubos impidieran el ingreso de oxígeno y alteraran el proceso de digestión anaeróbica.



Figura 2: Modelo de biodigestor artesanal construido para la investigación

Elaboración de biol

Se experimentó con cuatro (4) diferentes formulaciones de biol, considerando a cada una como un tratamiento diferente. La primera fórmula fue propuesta para la investigación considerando los insumos básicos y proporciones sugeridas por la literatura; la segunda, tercera y cuarta formulación fueron proporcionadas por los asesores de campo de agricultores orgánicos del valle de Mala, Cañete y Supe respectivamente.

Cada formulación para la elaboración de biol fue considerada un tratamiento y contó con tres repeticiones. En el cuadro 5 se presenta los insumos utilizados en cada formulación:

Cuadro 5: Tratamientos y fórmulas utilizadas para la elaboración de bioles

Tratamiento	Formulación para la elaboración de biol (capacidad del envase = 120 L)	Procedencia
B 1	Fórmula 1 75 L de agua 15 kg de estiércol fresco vacuno 2 kg de rumen 7 kg de hierbas verdes picadas	Fórmula sugerida para la investigación
B 2	Fórmula 2 72 L de agua 18 kg de estiércol vacuno seco 3 kg de hierbas verdes picadas 1,2 L de leche 0,6 kg de azúcar rubia 0,6 kg de cáscara de huevo 1,2 L de biol viejo 0,3 kg ceniza	Fórmula compartida por productores orgánicos del valle de Mala (Ing. Carmen Figueroa)
B 3	Fórmula 3 60 L de agua 9 kg de rumen vacuno fresco 9 kg de estiércol vacuno fresco 3 kg alfalfa verde picada 3 kg hierbas verdes picadas 1,2 kg de hojas de tuna picada 0,3 kg ceniza 1,2 kg humus de lombriz 0,3 kg cáscara de huevo 2,4 L melaza 9 kg vísceras de pescado	Fórmula compartida por productores orgánicos de los valles de Cañete y Chincha (Ing. Roger Vásquez)
B 4	Fórmula 4 72 L de agua 18 kg de estiércol vacuno fresco 3 kg de estiércol fresco de animales menores (cabra, conejo y cuy) 1,2 kg de humus de lombriz 2,4 kg de tierra de mantillo 2,4 kg de azúcar rubia 1,8 L de leche 0,3 kg de cáscara de huevo molido 120 g de fermento de pan (levadura) 6 kg de hierbas verdes picadas. 1,8 kg de roca fosfórica. 1,8 kg de ceniza de madera 1 kit de preparados biodinámicos	Fórmula compartida por productores del valle de Supe-Caral (MSc. Rene Piamonte)

Los insumos comunes a todas las formulaciones tuvieron siempre el mismo origen. Por ej. el estiércol fresco de ganado vacuno provino de los corrales de crianza de ganado vacuno de la UNALM, la leche fresca sin pasteurizar provino de la planta piloto de leche de la UNALM, mientras que las plantas verdes picadas fue el resultado de la mezcla de hojas y tallos de maíz morado y alfalfa y, hojas de camote, vetiver, alcachofa, ruda, y neem, provenientes todas de campos de producción de la UNALM.

Carga del biodigestor

El procedimiento empleado para cargar los biodigestores se realizó en el siguiente orden:

1. Se llenó el bidón con la mitad de la cantidad de agua de cada formulación.
2. Se vertió el estiércol y se removió enérgicamente, en las fórmulas que incluían rumen, éste fue agregado inmediatamente.
3. Se agregaron los residuos vegetales picados y, finalmente se adicionaron los demás ingredientes, sin un orden en especial, mezclándolos continuamente.
4. Para la incorporación de la levadura (tratamiento B4) previamente ésta fue disuelta en agua tibia azucarada y dejada reposar por unos minutos. Antes de vaciarla al bidón se agregó leche fresca a la mezcla.
5. Luego de incorporar todos los ingredientes, se procedió a agregar el agua faltante, removiendo toda la mezcla lo más uniformemente posible.
6. Finalmente, se procedió a tapar herméticamente los bidones y se realizaron pruebas para garantizar la salida de gases y líquido.



Figura 3: Carga de los biodigestores artesanales

Todos los biodigestores fueron ubicados en similar condición: en un terreno plano, uno al lado del otro, y bajo la sombra de plantas de plátano.

Los biodigestores artesanales se mantuvieron en condición anaerobia durante los 121 días que demoró el proceso de elaboración de los bioles (05/12/2009 al 05/04/2010). En el Anexo 2 se presenta un recuento fotográfico de la instalación de los biodigestores.



Figura 4: Disposición final de los biodigestores durante el proceso de elaboración de bioles

3.4.2 ANÁLISIS DE BIOLES

Durante el proceso de elaboración de los bioles, se realizaron muestreos quincenales para analizar las características físicas, químicas y microbiológicas. Al finalizar la elaboración del biol, se extrajeron muestras para realizar un análisis completo de características físicas, químicas, microbiológicas y, la realización de un bioensayo para determinar la presencia de sustancias de acción giberélica, auxínica y citocinínica. En el Cuadro 6 se presenta la frecuencia y fechas en que se extrajeron las muestras para los respectivos análisis.

Cuadro 6: Frecuencia de muestreo para análisis de bioles.

Tipo de Análisis	Muestreos realizados a los días después de la instalación (ddi)							
	16 ddi	31 ddi	46 ddi	60 ddi	74 ddi	88 ddi	102 ddi	121 ddi
	21-dic	05-ene	20-ene	03-feb	17-feb	03-mar	17-mar	05-abr
Físico	X	X	X	X	X	X	X	X
Químico	X		X		X			X
Microbiológico		X		X		X		X
Bioensayos								X
Germinación								X

Las muestras de biol se extrajeron utilizando una herramienta construida artesanalmente, que funcionó como un émbolo de succión (similar a una jeringa) que permitió retirar el líquido del biodigestor sin que ingresara oxígeno al interior, tal como se observa en la Figura 5. Cada muestra fue de aproximadamente 300 ml y fue conservada en botellas de vidrio herméticamente cerradas y rotuladas. Se tuvo cuidado de realizar el muestreo siempre a la misma hora (a partir de las 4 pm).



Figura 5: Extracción de muestras de biol utilizando herramienta de succión.

Los parámetros físicos, químicos y microbiológicos evaluados, así como el método o equipo empleado, se presentan a continuación:

Cuadro 7: Parámetros físicos, químicos y microbiológicos evaluados en bioles

Características	Parámetros evaluados
Físicas	Temperatura
	Color
	Olor
Químicas	Conductividad Eléctrica (CE)
	pH
	Nitrógeno total disponible
	Fósforo
	Potasio
	Calcio
	Magnesio
	Azufre
	Sodio
	Fierro
	Cobre
	Zinc
	Manganeso
Boro	
Microbiológicas	Población de Bacterias
	Población de Hongos
	Población de Actinomicetos

La metodología empleada para evaluar los parámetros físicos, se presenta a continuación:

- La temperatura, fue medida por determinación directa inmediatamente extraída la muestra, en los mismos envases en que fueron almacenados. Figura 6 (izquierda).
- El color, fue evaluado utilizando la Tabla Munsell. Se tomó una alícuota de biol que fue vertida en una placa petri colocada sobre un fondo blanco. El color se registró siempre bajo la misma luz. Figura 6 (centro).
- El olor, fue evaluado en forma cualitativa por un panel (análisis sensorial). Cada persona calificó el olor en una escala entre: “muy desagradable”, “desagradable”, “normal” y “agradable”, y colocaron además una libre descripción del olor que percibieron, tal como se presenta en la Figura 6 (derecha).



Figura 6: Determinación de temperatura (izquierda), color (centro) y olor (derecha) durante el proceso de elaboración.

Las metodologías para determinar las características químicas están normalizadas por los estándares de calidad del laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas, y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

La metodología empleada para evaluar los parámetros químicos de los bioles se presentan a continuación:

- pH: Potenciométrico.
- Conductividad eléctrica: Medición directa del líquido.
- Nitrógeno: Método de Kjeldahl.
- Fósforo: Método del azul de molibdeno.

- Potasio: Espectrofotometría de absorción atómica.
- Calcio: Espectrofotometría de absorción atómica.
- Magnesio: Espectrofotometría de absorción atómica.
- Azufre: Método turbidimétrico empleando cloruro de bario.
- Sodio: Espectrofotometría de absorción atómica.
- Hierro: Espectrofotometría de absorción atómica.
- Cobre: Espectrofotometría de absorción atómica.
- Zinc: Espectrofotometría de absorción atómica.
- Manganeso: Espectrofotometría de absorción atómica.
- Boro: Método colorimétrico empleando curcumina disuelta en ácido acético glacial.

La metodología empleada para la determinación de la población total de bacterias, hongos y actinomicetos, fue la del Recuento estándar en placa de UFC/gr. Según la Norma Internacional ICMSF 2da Ed. Vol 1, Parte II, Método 1, pág. 120-124 (Traducción de la versión original 1978) Reimpresión 2000. Editorial Acribia. Esta metodología cumple con estándares internacionales y es utilizada por el Laboratorio de Microbiología de Suelos perteneciente al Laboratorio de Análisis de Aguas, Suelos, Plantas y Fertilizantes, del Departamento de Suelos – Facultad de Agronomía - UNALM.

Los bioensayos realizados para conocer la presencia de sustancias de actividad auxínica, giberélica y citocinínica, se realizaron en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Biología - Facultad de Ciencias – UNALM, empleando las siguientes metodologías:

- Para las auxinas se usó el protocolo “Wheat coleoptile straight growth method” sugerido por Wightman y modificado por Hancock, Barlow y Lacey; J. Van Overbeek and Dowding. Se usaron plántulas de trigo (*Triticum aestivum ssp.aestivum*) de la variedad Centenario.
- Para las citocininas se usó el método de Retención de Clorofila propuesto por H. Kende, el cual figura en el manual de Plant Hormones and Growth – Regulating substances. Se usaron cotiledones de rabanitos (*Raphanus sativus*) de la variedad Giant Simpson.
- Para las sustancias de acción giberélica, se usó el protocolo “Bioteste de hipocotilo de *Lactuca sativa*” propuesto en el manual de Fisiología do desenvolvimiento

vegetal de G. Felipe, F.M. Valio, M.F. Pereira, R. R. Sharif y S.R. Viera. Se usaron plántulas de lechuga, variedad mantecosa.

Para los bioensayos, las muestras de bioles fueron trabajadas a una dilución de 5% con agua destilada debido a las altas CE y se ajustó el pH al intervalo de 6.0 – 6.5 a fin de poder compararlos con las curvas estándar elaboradas con los reguladores químicamente puros.

3.4.3 ENSAYOS DE GERMINACIÓN

El ensayo de germinación inicialmente consideró utilizar el biol en dos diferentes grados de descomposición (mitad y final del proceso), en dos concentraciones (20 y 40 por ciento), en las cuales se remojarían semillas de algodón (*Gossypium barbadense*) var Tangüis, linaje LMG-1-72, durante 20 horas.

Se realizó la primera prueba de germinación utilizando el biol a la mitad de su proceso de descomposición, sin embargo se tuvieron inconvenientes que no permitieron contar con resultados concluyentes ya que se tuvo problemas con: la alta CE debido a las diluciones propuestas (20 y 40 por ciento), la alta incidencia de gusano rosado y, el mal funcionamiento de los equipos (estufa y fitotrón).

Debido a esta experiencia, el ensayo de germinación fue rediseñado para realizar las pruebas de germinación utilizando sólo el biol luego de que haya terminado su proceso de elaboración, modificando las diluciones para el remojo de las semillas, se incluyeron otras semillas y, las pruebas se realizaron en condiciones ambientales (para no tener problemas con los equipos).

El ensayo de germinación se realizó utilizando las siguientes semillas:

- semilla de Alfalfa (*Medicago sativa*) var. San Pedro; de calidad certificada, adquirida en una tienda especializada en la venta de semillas.
- semilla de Lechuga (*Lactuca sativa*) var. Raven, fue proporcionada por el Programa de Investigación en Hortalizas de la UNALM (Huerto).
- semilla de Algodón (*Gossypium barbadense*) var. UNA 1, fue suministrada por el Programa de Algodón - UNALM.

Todas las semillas que se utilizaron estuvieron libres de desinfectantes químicos que pudieran alterar los resultados.

El ensayo de germinación se realizó con los bioles terminados (última muestra extraída), a dos dosis. A continuación se presentan las variedades de semillas empleadas y la dosis utilizada en las pruebas de germinación:

<i>Semillas</i>	<i>Dosis empleada</i>
Alfalfa var. San Pedro	2 y 4 por ciento
Lechuga var. Raven	2 y 4 por ciento
Algodón var. UNA 1	5 y 10 por ciento

Las semillas de alfalfa y lechuga, fueron directamente sembradas en placas petri, cubiertas con papel absorbente, y remojadas por 12 horas con biol, mientras que las semillas de algodón antes de ser sembradas, fueron remojadas en las diluciones de biol por 22 horas, luego fueron colocadas en las placas petri y regadas con agua desionizada.

En todos los casos para regar el testigo y realizar las diluciones de los bioles se utilizó agua desionizada con una CE de 4 uS/m. La germinación de las semillas se desarrolló en un lugar a temperatura ambiente y con luz difusa.

Las pruebas de germinación, se realizaron con tres repeticiones, y la cantidad de semillas utilizadas por repetición fueron de 50 semillas para algodón y de 100 semillas para lechuga y alfalfa.

Los parámetros evaluados en las pruebas de germinación fueron:

- Porcentaje de germinación: porcentaje real de todas las semillas de la muestra que han germinado durante la prueba
- Peso fresco de semillas: peso fresco de las semillas germinadas al final de la prueba.

3.4.4 DISEÑO ESTADÍSTICO

El diseño estadístico empleado para analizar los resultados de los análisis durante el proceso de elaboración de los bioles y los resultados de la pruebas de germinación, fue el Diseño Completo al Azar (DCA).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS EVALUADAS DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LOS BIOLES

A continuación se presentan los resultados de las evaluaciones de temperatura, color y olor realizadas durante el proceso de elaboración para los 4 tratamientos de biol investigados.

4.1.1 TEMPERATURA

La temperatura de los bioles durante el proceso de elaboración, mostró una tendencia creciente desde el momento de su instalación hasta los 88 días después de la instalación (ddi). Posteriormente, la temperatura comenzó a descender y se mostró estable hacia el final del proceso 121 ddi (4 meses después de la instalación).

Durante el proceso de elaboración de los bioles, se observó que independientemente de la formulación de los tratamientos, la temperatura mostró un mismo patrón de variación para todos los tratamientos, como se puede observar en la Figura 7.

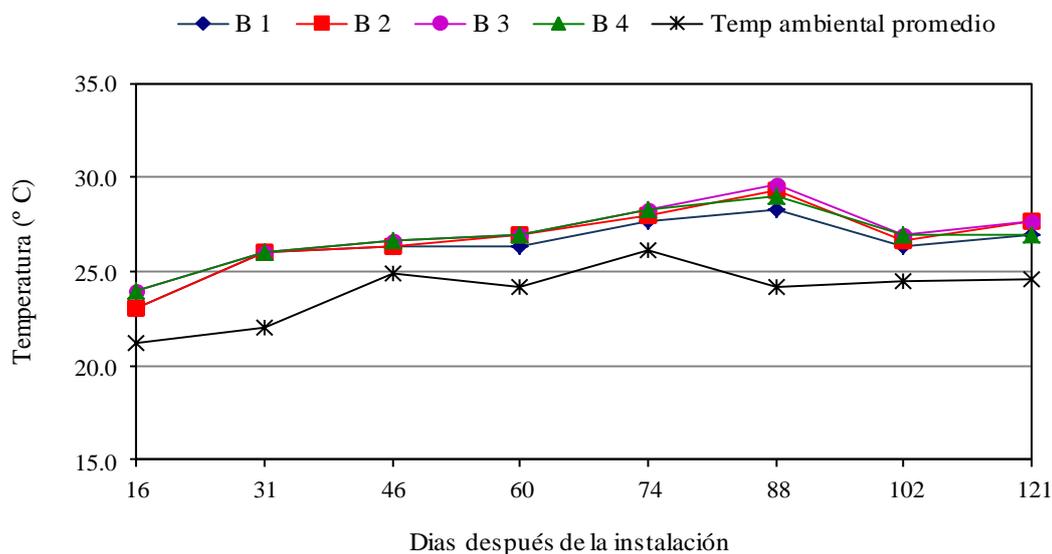


Figura 7: Variación de la temperatura promedio de los bioles durante el proceso de elaboración

Durante la elaboración de los bioles la menor temperatura se presentó a los 16 ddi (23.5°C en promedio), a partir del día 31 la temperatura se mantuvo superior a los 26°C, registrándose la máxima temperatura para todos los tratamientos a los 88 días después de la instalación (29.1°C en promedio).

La temperatura alcanzada a partir del día 31 ddi, permite indicar que el proceso de digestión para la elaboración de los bioles estuvo dentro del rango de temperaturas en que trabajan los microorganismos mesófilos (entre 25 y 45°C) (Varnero 2011), siendo este rango en el que operan la mayoría de biodigestores (Taiganides, citado por Carillo 2004).

Al comparar la temperatura de los bioles con la temperatura ambiental promedio (para los mismos días en que se hizo la evaluación), se observó que durante todo el proceso la temperatura de los bioles siempre fue superior a la temperatura ambiental promedio en un rango entre 1.6 y 4.9°C. Los datos de variación de la temperatura registrada durante el proceso de elaboración de los 4 tratamientos de biol, considerando también la temperatura ambiental se presentan en el Cuadro 8.

Cuadro 8: Temperatura promedio de los bioles durante el proceso de elaboración (°C)

Tratamiento	Temperatura (°C) registrada a los días después de la instalación (ddi)							
	16 ddi	31 ddi	46 ddi	60 ddi	74 ddi	88 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	23.0	26.0	26.3	26.3	27.7	28.3	26.3	27.0
B 2	23.0	26.0	26.3	27.0	28.0	29.3	26.7	27.7
B 3	24.0	26.0	26.7	27.0	28.3	29.7	27.0	27.7
B 4	24.0	26.0	26.7	27.0	28.3	29.0	27.0	27.0
Temp Bioles Prom	23.5	26.0	26.5	26.8	28.1	29.1	26.8	27.3
Temp Amb Prom	21.2	22.0	24.9	24.2	26.1	24.2	24.5	24.6

4.1.2 COLOR

El color de los bioles se fue modificando durante el proceso de elaboración en los tratamientos B1, B2 y B3; sólo el tratamiento B4 mantuvo el mismo color durante todo el proceso. Figuras 8 y 9.

Al finalizar la elaboración de los bioles, el color de los tratamientos B1 y B3, (independientemente de su formulación y cambio de color durante el proceso), mostraron el mismo color: Pardo olivo ligero (2.5Y 5/4), mientras que el color del tratamiento B2 fue Pardo olivo (2.5 Y 4/3). Observándose así que los tratamientos B1, B2 y B3 mostraron colores con similar matiz (2.5Y).

El biol del tratamiento B4, fue el único que al finalizar el proceso presentó un color diferente en matiz, manteniendo el color Olivo (5Y 4/3 – 5Y 4/4) desde el inicio hasta el final de su elaboración.



Figura 8: Lectura de color de las muestras de los tratamientos B1 (izquierda) y B4 (derecha).

Los colores obtenidos en los bioles: pardo olivo ligero, pardo olivo y, olivo, guardan relación con los colores amarillento (FONCODES y PACC Perú 2014) y marrón verdoso oscuro (Piamonte y Flores 2000), señalados para describir el color de un buen biol.

Además, muchos agricultores reconocen que un biol ha terminado su proceso de descomposición cuando presenta una coloración marrón o marrón verdoso oscuro, indicando en muchos casos que se parece al color del té o café. El resultado obtenido en esta investigación, concuerda con esta información.

En ningún caso el color de los bioles fue verde azulado lo que indican que la fermentación está contaminada (FONCODES y PACC Perú 2014).

En la Figura 9 se presenta la variación en el color que experimentaron los 4 tratamientos de biol, durante su proceso de elaboración.

Tratamiento	Variación del color a los días después de la instalación (ddi)						
	16 ddi	31 ddi	46 ddi	88 ddi	102 ddi	121 ddi	
B 1	5Y 4/4	5Y 4/3	5Y 4/3	2.5Y 5/4	2.5Y 5/6	2.5Y 5/4	
	Olivo	Olivo	Olivo	Pardo olivo ligero	Pardo olivo ligero	Pardo olivo ligero	
	<hr/>						
	B 2	10YR 3/4	2.5Y 4/3	2.5Y 4/2	2.5Y 4/3	2.5Y 4/2	2.5 Y 4/3
Pardo amarillento oscuro		Pardo olivo	Pardo grisáceo oscuro	Pardo olivo	Pardo grisáceo oscuro	Pardo olivo	
<hr/>							
B 3		2.5Y 5/6	2.5Y 4/2	2.5Y 4/3	2.5Y 4/4	2.5Y 5/4	2.5Y 5/4
	Pardo olivo ligero	Pardo grisáceo oscuro	Pardo olivo	Pardo olivo	Pardo olivo ligero	Pardo olivo ligero	
	<hr/>						
	B 4	5Y 4/3	5Y 4/4	5Y 4/3	5Y 4/3	5Y 4/3	5Y 4/3
Olivo		Olivo	Olivo	Olivo	Olivo	Olivo	

Figura 9: Variación del color durante el proceso de elaboración de bioles

4.1.3 OLOR

El olor de los bioles durante el proceso de elaboración experimentó grandes cambios de principio a fin, y todos los tratamientos siguieron similar tendencia. Al inicio del proceso, los olores percibidos por el panel, pertenecieron a las categorías *muy desagradable* y *desagradable* y al término del proceso en su mayoría, a las categorías *normal* y *agradable*.

El olor *muy desagradable* estuvo presente sólo al inicio del proceso (16 ddi), predominando luego el olor *desagradable* hasta el día 74 ddi (dos y medio meses), momento a partir del cual comienza a migrar el olor hacia la categoría *normal*, hacia el final del proceso (121 ddi - 4 meses) se presenta principalmente el olor *normal* comenzando a manifestarse el olor *agradable*.

A continuación, se muestra la variación en los olores percibidos durante el proceso de elaboración de los bioles (Figura 10). Estos resultados muestran información consolidada respecto a los olores percibidos por el panel, expresada en porcentaje, para todos los tratamientos.

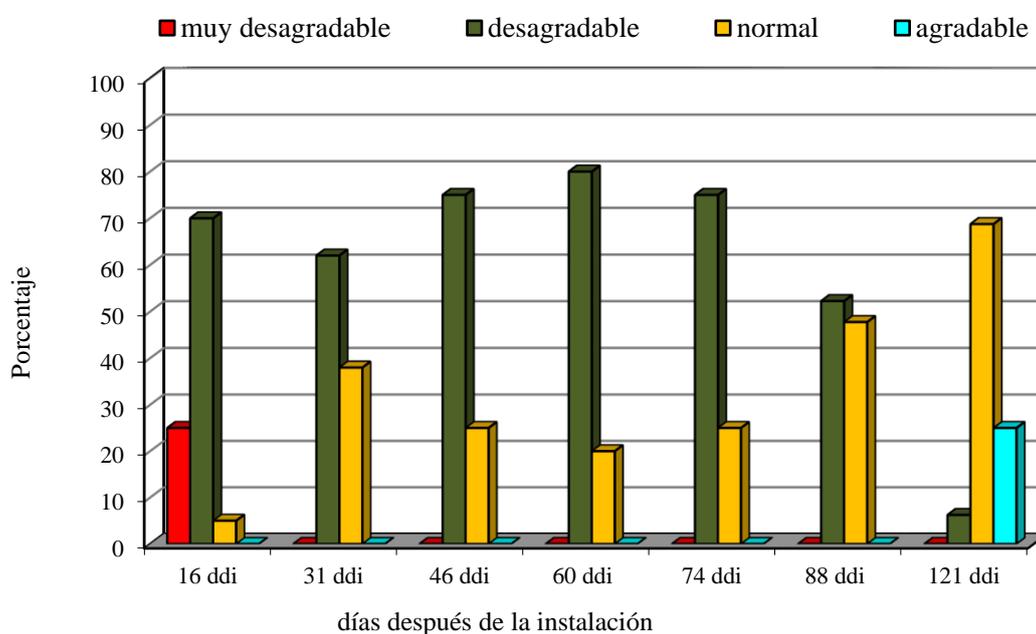


Figura 10: Variación del olor durante el proceso de elaboración de bioles

La presencia de los olores desagradables, según Varnero (2011) se debe a que el guano animal y diversos residuos orgánicos contienen compuestos orgánicos volátiles (e.g. ácido

iso-butónico, ácido butónico, ácido iso-valérico y ácido valérico y al menos otros 80 compuestos) los cuales pueden generar estos olores desagradables. Sin embargo estos olores pueden modificarse, tal como lo indica Hansen et al. citado por Varnero (2011) quienes demostraron que la digestión reduce significativamente la concentración de la mayoría de estos compuestos, lo que minimiza la emanación de olores molestos durante el almacenamiento y aplicación del bioabono.

Al revisar los resultados de olor para los diferentes tratamientos (formulaciones), se observa que hubo diferencia entre ellos.

En la etapa inicial de la elaboración (Figura 11), el biol del tratamiento B3 presentó el olor más desagradable (probablemente debido al uso de vísceras de pescado en la formulación), y el B4 fue el que presentó el olor menos desagradable. Sin embargo esta diferencia inicial tan marcada, al final del proceso no fue notoria, ya que ambos tratamientos B3 y B4 fueron los que presentaron los mejores olores entre *normal* y *agradable*. Es interesante ver como los tratamientos B3 y B4 con fórmulas más complejas y utilizando diferentes insumos, logran al final del proceso equilibrar el producto final presentando un olor semejante.

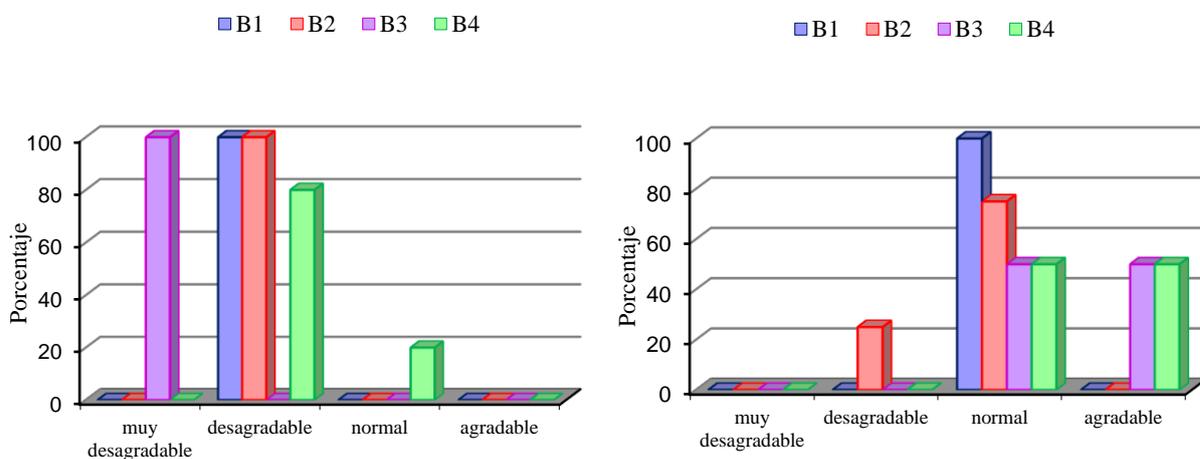


Figura 11: Categorías de olores identificados a los 16 ddi (izquierda) y a los 121 ddi (derecha) en los bioles

El tratamiento B1 migró de un olor *desagradable* a *normal* durante el proceso y, el tratamiento B2 fue variando de un olor *desagradable* a *normal* lentamente, sin embargo

fue el único tratamiento que al finalizar el proceso todavía presentaba olor *desagradable* (25% del panel indicó esta condición).

Durante la determinación del olor, el panel realizó (además de elegir una categoría: *muy desagradable, desagradable, normal y agradable*), una descripción detallada de cada olor percibido relacionándolo con olores conocidos. El Cuadro 9 muestra la descripción de estos olores.

Cuadro 9: Olores asociados a las categorías de descripción de olores en los bioles

Categorías	Olores asociados
Muy desagradable:	Olor nauseabundo, putrefacto, insoportable, apestoso, olor a huevo podrido.
Desagradable:	Olor apestoso, parecido a estiércol en descomposición, desagüe, guano fresco y pescado descompuesto.
Normal:	Olor a estiércol seco, compost descompuesto, macerado de hierbas en descomposición.
Agradable:	Fragancia aromática, olor similar a: tierra húmeda, macerado de hierbas y chicha joven.

Utilizando esta descripción de los olores, podemos decir que el panel identificó el olor de los bioles al inicio del proceso como nauseabundo, putrefacto, similar al olor del huevo podrido y a desagüe, mientras que al finalizar el proceso el olor de los bioles fue similar al del compost descompuesto, tierra húmeda, fermento de hierbas y a chicha dulce.

Los resultados de esta investigación concuerdan con lo señalado por FONCODES y PACC Perú (2014) quienes indican que un buen biol tendrá un olor agradable como a jugo de caña; o similar a tierra fresca como lo señalan Piamonte y Flores (2000).

La descripción del olor de los bioles es relevante para el trabajo práctico de técnicos y agricultores en campo, ya que se considera que un biol ha terminado su proceso de descomposición y está listo para ser utilizado cuando presenta un olor agradable.

Respecto a las características físicas estudiadas: temperatura, color y olor, se observó que cada una de estas características presentan una variación que muestra un patrón o tendencia

similar durante el proceso de elaboración de los bioles, independientemente de los tratamientos.

En la práctica los agricultores utilizan las características físicas de color y olor, como los mejores indicadores para estimar que el proceso de descomposición anaeróbico ha terminado. Se puede confirmar que los resultados de esta investigación guardan relación con el conocimiento práctico de los agricultores, que indican que el biol está listo cuando tiene un color marrón oscuro verdoso y un olor agradable.

4.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS EVALUADAS DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LOS BIOLES

A continuación se presentan los resultados de conductividad eléctrica y pH, así como el contenido de los elementos químicos: macro y micronutrientes evaluados durante el proceso de elaboración de los bioles. Los resultados muestran el valor promedio de las tres repeticiones por cada tratamiento.

4.2.1 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA Y pH

a. Conductividad eléctrica

La Conductividad Eléctrica (CE) durante el proceso de elaboración de los bioles, mostró una misma tendencia de variación incremental para todos los tratamientos independientemente de su formulación. La CE se fue incrementando paulatinamente durante el proceso como se puede observar en la Figura 12.

Los tratamientos registraron, los menores valores y poca variación de la CE desde la instalación hasta el día 31 ddi (un mes). Entre los días 31 al 46 ddi los valores de CE mostraron el mayor incremento. A partir del día 46, el valor de la CE se mostró sin mayor variación hasta el final del proceso (121 ddi).

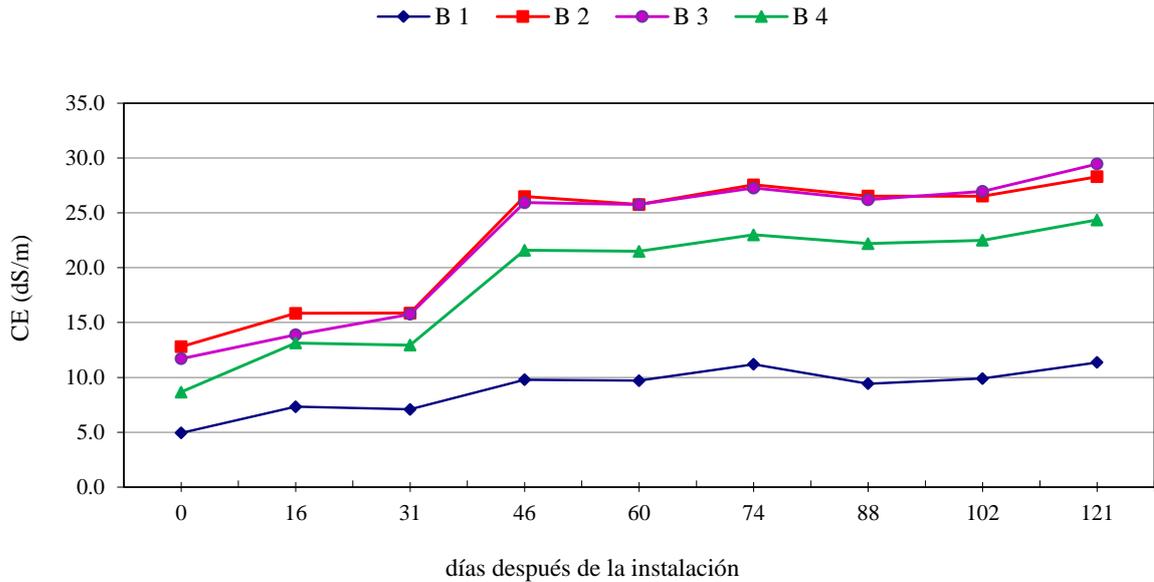


Figura 12: Variación de la conductividad eléctrica durante el proceso de elaboración de bioles

El mayor incremento en la CE registrado a partir de los 31 ddi, podría explicarse al considerar que a partir de ese momento la temperatura de los bioles superó los 25°C, rango en el que trabajan los microorganismos mesófilos. Varnero 2011 señala que la solubilidad de la mayoría de las sales aumenta con la temperatura de manera que la materia orgánica es más accesible para los microorganismos aumentando así la velocidad del proceso.

Al finalizar el proceso, la CE del tratamiento B1 registró el menor valor promedio (11.4 dS/m) y el menor incremento (6.5 dS/m). Los tratamientos B3 y B2, registraron los valores más altos (29,5 y 28,3 dS/m respectivamente) y mantuvieron valores muy similares durante todo el proceso. Cuadro 10.

El valor de la CE se fue modificando durante el proceso de elaboración, en la medida en que la materia orgánica se fue descomponiendo y solubilizando y, que las sales contenidas en algunos insumos utilizados como ceniza y roca fosfórica también se solubilizaran.

Se considera que los valores de la CE difieren entre los tratamientos en función de los insumos empleados y de la cantidad de agua utilizada en cada formulación.

Cuadro 10: Conductividad eléctrica de los bioles durante su proceso de elaboración (dS/m)

Tratamiento	CE (dS/m) a los días después de la instalación (ddi)								
	0	16	31	46	60	74	88	102	121
B1	4.9	7.3	7.1	9.8	9.7	11.2	9.4	9.9	11.4
B2	12.8	15.8	15.9	26.5	25.8	27.6	26.5	26.5	28.3
B3	11.7	13.9	15.8	25.9	25.8	27.3	26.2	27.0	29.5
B4	8.7	13.1	12.9	21.6	21.5	23.0	22.2	22.5	24.4
Promedio	9.5	12.5	12.9	21.0	20.7	22.3	21.1	21.5	23.4

Para el uso del biol en campo, el valor de la CE es de suma importancia, ya que condiciona la dilución (dosis) en la que podrá ser aplicado a los cultivos.

b. pH

Durante el proceso de elaboración de los bioles, el pH presentó una similar tendencia de variación para tres tratamientos: B1, B2 y B4, mientras que el tratamiento B3 siguió similar tendencia sólo hasta los 74 ddi. Figura 13.

Si bien al momento de la instalación cada tratamiento presentó valores de pH muy diferentes entre sí, al poco tiempo (a los 16 ddi), los valores de pH fueron muy similares para todos los tratamientos, mostrando una fase de acidificación del proceso que ocurrió entre los 16 y 60 ddi, registrándose valores en un rango entre 5.7 y 6.4. A partir del día 60 (2 meses) los valores de pH comenzaron a incrementarse paulatinamente (alcalinizarse) hasta el final del proceso para los tratamientos B1, B2 y B4 los que al final presentaron valores de pH cercanos a la neutralidad (entre 6,6 y 7,3). Solamente el tratamiento B3 mantuvo durante todo el proceso un pH ácido (4.1 al inicio y 5.7 al final).

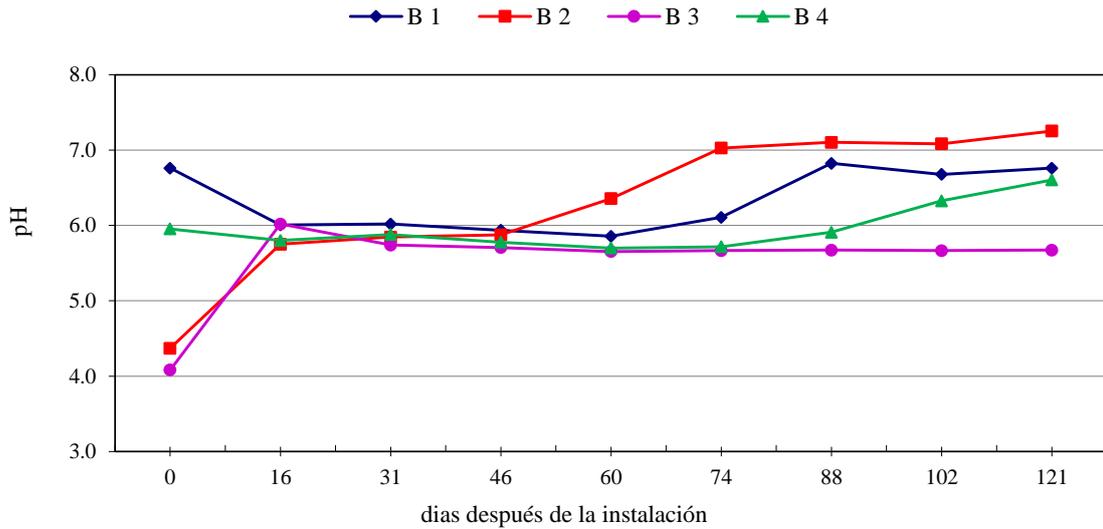


Figura 13: Variación del pH durante el proceso de elaboración de bioles

Esta variación observada concuerda con lo señalado por Gerardi (2003), quien indica que el pH de una digestión anaeróbica inicialmente decrece debido a la producción de ácidos volátiles. Sin embargo, a medida que las bacterias metanogénicas consumen estos ácidos volátiles, el pH se incrementa y estabiliza. Bonten et al. (2014) indica que el pH del efluente es de 0.5 a 2 unidades más alto que el pH del estiércol (usado como insumo).

El rango de pH observado durante el proceso de acidificación (5.7 y 6.4), estaría dentro del rango óptimo en el que se desarrolla el proceso de acidogénesis (5.5 y 6.5) (Varnero 2011). Durante el proceso de metanogénesis, Gerardi (2003), indica que una actividad enzimática de las bacterias formadoras de metano no ocurre por debajo de un pH 6.2. Sólo los tratamientos B1, B2 y B4 lograron superar este valor; el tratamiento B3 presentó un valor inferior (5.7) durante la mayor parte del proceso. Cuadro 11.

Al finalizar el proceso, los tratamientos B1, B2 y B4 presentaron un pH neutro (entre 6.6 y 7.3), y el tratamiento B3 un pH moderadamente ácido (5.7).

Cuadro 11: pH de los bioles durante su proceso de elaboración

Tratamiento	pH a los días después de la instalación (ddi)								
	0	16	31	46	60	74	88	102	121
B1	6.8	6.0	6.0	5.9	5.9	6.1	6.8	6.7	6.8
B2	4.4	5.8	5.8	5.9	6.4	7.0	7.1	7.1	7.3
B3	4.1	6.0	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7
B4	6.0	5.8	5.9	5.8	5.7	5.7	5.9	6.3	6.6
Promedio	5.3	5.9	5.9	5.8	5.9	6.1	6.4	6.4	6.6

4.2.2 COMPORTAMIENTO DE LOS MACRONUTRIENTES

A continuación se presentan los resultados de las evaluaciones del contenido de los macronutrientes: nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre, durante el proceso de elaboración de los bioles.

a. Nitrógeno

Durante el proceso de elaboración de los bioles, la curva de variación del contenido de nitrógeno, mostró similar tendencia, sobre todo para los tratamientos B2, B3 y B4, como se observa en la Figura 14. En la curva se observa que el mayor incremento ocurre hacia los 46 ddi (mes y medio), para luego mantenerse en valores similares hasta el final del proceso.

Este mayor incremento en el contenido de nitrógeno, guarda relación con el mayor incremento en la CE, ocurridos ambos a los 46 ddi.

En todos los tratamientos, el contenido de nitrógeno al final (121 ddi), fue superior al registrado al inicio (16 ddi). Esto se explicaría al considerar lo indicado por Gerardi (2003) quien señala que durante el proceso de digestión gran parte de la materia orgánica se ha mineralizado, por lo que normalmente aumenta el contenido de nitrógeno amoniacal y disminuye el nitrógeno orgánico. Varnero (2011) además precisa que el nitrógeno orgánico es hidrolizado dando lugar a formas amoniacales. Bonten et al. (2014) indican que hasta el 50% del nitrógeno orgánico se convierte en amonio (NH_4^+), una forma de nitrógeno que está directamente disponible para la absorción por las plantas. La fracción

de nitrógeno que se convierte en NH_4^+ depende del contenido de nitrógeno de la materia prima y del grado de descomposición después de la digestión.

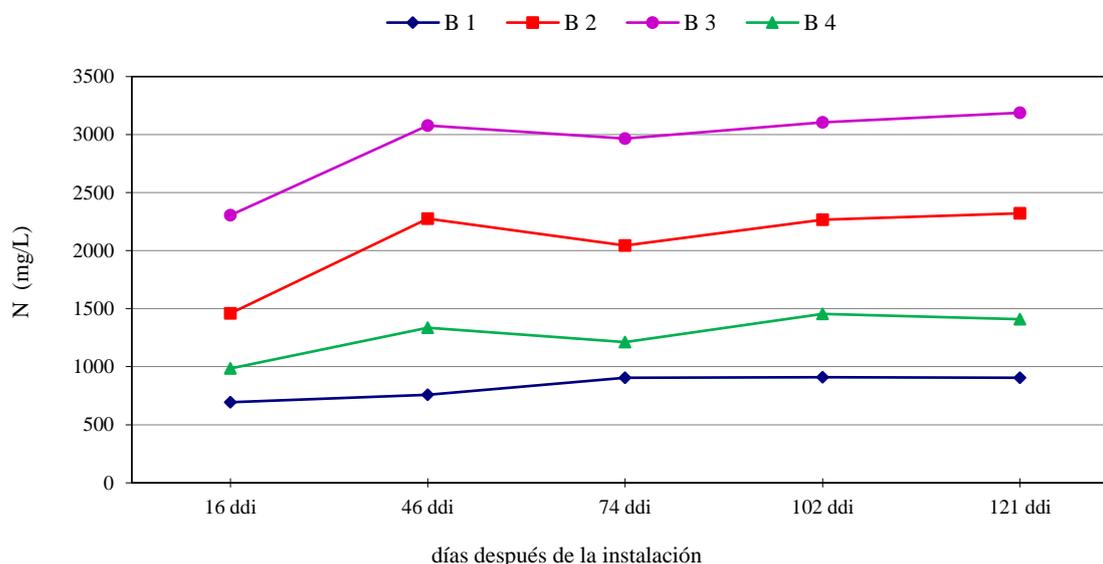


Figura 14: Variación del contenido de nitrógeno durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)

El contenido final de nitrógeno para todos los tratamientos (Cuadro 12), en promedio fluctuó entre 905 y 3186 mg/L. Este amplio rango de valores estaría relacionado con la composición y cantidad de los insumos utilizados en cada formulación de biol.

El tratamiento B3 (con mayor contenido de nitrógeno) empleó en su formulación mayor diversidad de compuestos orgánicos nitrogenados que los otros tratamientos (estiércol fresco de ganado vacuno, vísceras de pescado y humus de lombriz). Mientras que el tratamiento B1 (menor contenido de nitrógeno) empleó en su formulación solo estiércol fresco.

Al finalizar el proceso, el contenido de nitrógeno, varió de mayor a menor en el siguiente orden: B3 (3186 mg/L), B2 (2320 mg/L), B4 (1409 mg/L) y B1 (905 mg/L).

Cuadro 12: Contenido de nitrógeno en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)

Tratamiento	Nitrógeno (mg/L) a los días después de la instalación (ddi)				
	16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	694	758	905	909	905
B 2	1460	2275	2044	2266	2320
B 3	2305	3076	2964	3104	3186
B 4	984	1335	1211	1454	1409
Promedio	1361	1861	1781	1933	1955

Es importante señalar que los bioles B3 y B2, que presentaron mayores contenidos de nitrógeno también presentaron mayor conductividad eléctrica (29.5 y 28.3 dS/m respectivamente); por lo que requerirán una mayor dilución para su aplicación foliar. Mientras que el biol B1 que presentó el menor contenido de nitrógeno y la menor CE, podrá ser empleado a mayor concentración.

b. Fósforo.-

Durante el proceso de elaboración de los bioles, la curva de variación del contenido de fósforo presentó cambios particulares para cada tratamiento, por lo que no se observa un patrón o tendencia en el comportamiento del fósforo durante el proceso (Figura 15). Un aspecto común a todos los tratamientos es que el contenido de fósforo al final del proceso (121 ddi), fue inferior al contenido inicial (16 ddi), observándose sobre todo un descenso marcado entre los 102 y 121 ddi. El contenido final de fósforo total disponible para todos los tratamientos, en promedio varió entre 141 y 290 mg/L.

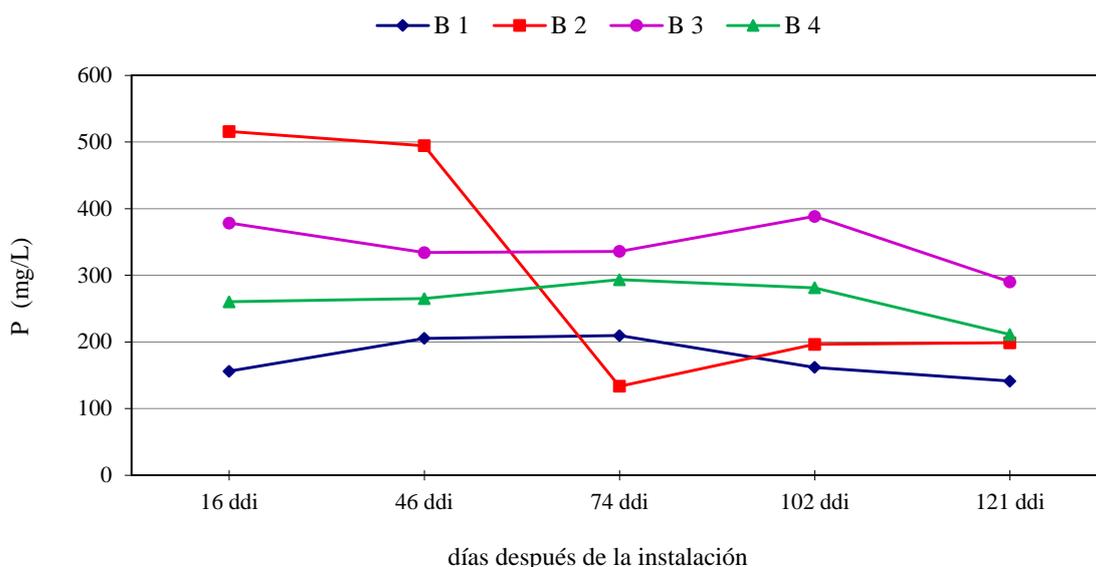


Figura 15: Variación del contenido de fósforo durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)

El tratamiento B2, presentó la mayor variación y descenso en el contenido de fósforo, sobre todo entre los 46 y 74 ddi, para luego presentar un contenido similar al de los otros tratamientos hacia el final de la elaboración. Mientras que el tratamiento B3, presentó el mayor contenido de fósforo durante todo el proceso, esto podría explicarse por el uso de vísceras de pescado en su formulación.

Al finalizar el proceso, el contenido de fósforo total disponible entre los tratamientos, presentó el siguiente orden decreciente: B3 (290 mg/L), B4 (211 mg/L), B2 (199 mg/L) y B1 (141 mg/L). Cuadro 13.

Cuadro 13: Contenido de fósforo en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)

Tratamiento	Fósforo (mg/L) a los días después de la instalación (ddi)				
	16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	156	205	210	162	141
B 2	516	495	134	196	199
B 3	378	334	336	388	290
B 4	260	265	293	281	211
Promedio	328	325	243	257	210

Considerando que la disponibilidad del fósforo decrece al incrementarse el pH, al precipitar el fósforo soluble, esto podría explicar el descenso del contenido de Fósforo al final del proceso de elaboración del biol, justamente cuando el pH en los bioles se incrementa hacia la neutralidad. Este resultado es consistente con lo señalado por Bonten et al. (2014) quienes indican que debido al incremento del pH en el efluente líquido (comparado con el estiércol), la fracción de fósforo disponible parece reducirse durante la digestión.

Siendo posible que hacia el final del proceso, el fósforo que se encontraba en solución haya precipitado o, haya sedimentado al formar parte de otros complejos (quelatos).

Martí (2006) señala que de todas las formas de fósforo, sólo el ortofosfato es susceptible de formar precipitados químicos, siendo los posibles precipitados que pueden formarse los fosfatos de magnesio, fosfatos de calcio, fosfatos de hierro y aluminio y carbonatos de calcio.

Si bien, interesa que bioles contengan un alto contenido de nitrógeno y fósforo para su aplicación, es importante considerar que estos dos elementos son fundamentales para el proceso de elaboración. En este sentido, Gerardi 2003 precisa que estos dos macro nutrientes son de interés para todo proceso de tratamiento biológico; estando disponibles para las bacterias anaeróbicas, incluyendo a las bacterias formadoras de metano, como nitrógeno amoniacal (NH_4^+) y ortofosfato (HPO_4^{2-}). Estos nutrientes, como todos los nutrientes, estarán a disposición de las bacterias sólo en su forma soluble.

c. Potasio

Durante el proceso de elaboración de los bioles, la variación en el contenido de potasio presenta similar tendencia entre los tratamientos. El mayor contenido de Potasio se presenta al inicio del proceso (16 ddi), luego experimenta un descenso gradual hasta el día 102 ddi (3 meses y medio), mostrando hacia el final un ligero incremento, como se observa en la Figura 16.

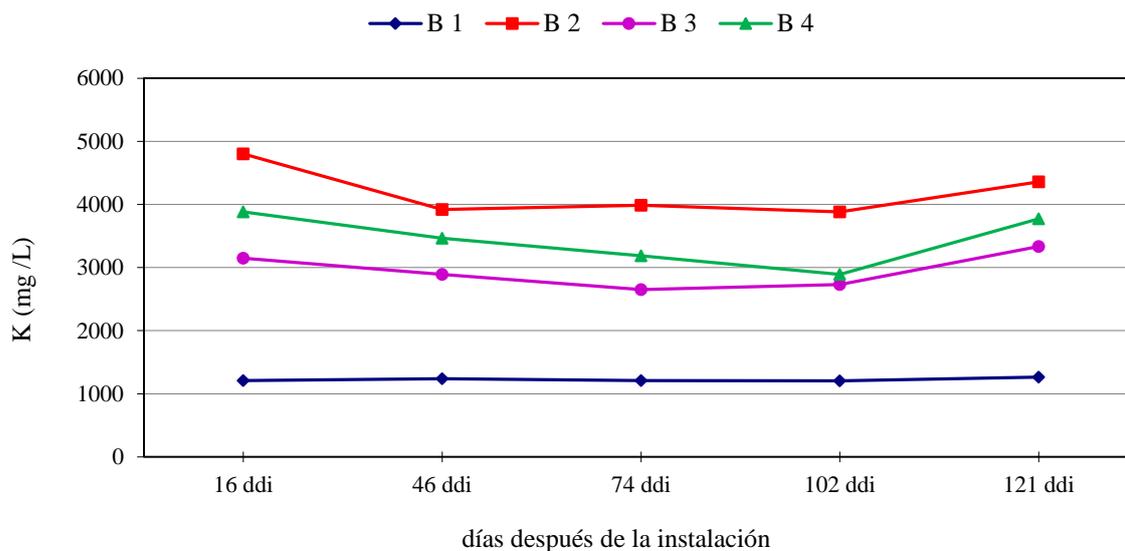


Figura 16: Variación del contenido de potasio durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)

El contenido de potasio para cada tratamiento, registró valores similares al comparar los contenidos iniciales y finales del proceso de elaboración (Cuadro 14). En promedio, el contenido de potasio para todos los tratamientos, fluctuó entre 1265 y 4360 mg/L.

Según los tratamientos, el contenido de potasio fue de mayor a menor en el siguiente orden: B2 (4360 mg/L), B4 (3773 mg/L), B3 (3333 mg/L) y B1 (1265 mg/L).

Cuadro 14: Contenido de potasio en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)

Tratamiento	Potasio (mg/L) a los días después de la instalación (ddi)				
	16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	1208	1239	1211	1204	1265
B 2	4800	3920	3987	3880	4360
B 3	3147	2893	2653	2733	3333
B 4	3880	3467	3187	2893	3773
Promedio	3259	2880	2759	2678	3183

El contenido superior de potasio en los tratamientos B2, B3 y B4 respecto al tratamiento B1, podría explicarse al considerar que estos tratamientos incluyeron ceniza como insumo en sus formulaciones.

d. Calcio

Durante el proceso de elaboración de los bioles, la variación en el contenido de calcio mantuvo la misma tendencia para los tratamientos B4, B3 y B1, y solamente el tratamiento B2 tuvo un comportamiento diferente en los primeros 74 ddi, para luego tener la misma tendencia que los otros tratamientos. Figura 17.

La curva de variación muestra un incremento notorio en el contenido de calcio hacia los 74 ddi, para luego comenzar a descender paulatinamente hasta el final del proceso de elaboración de los bioles.

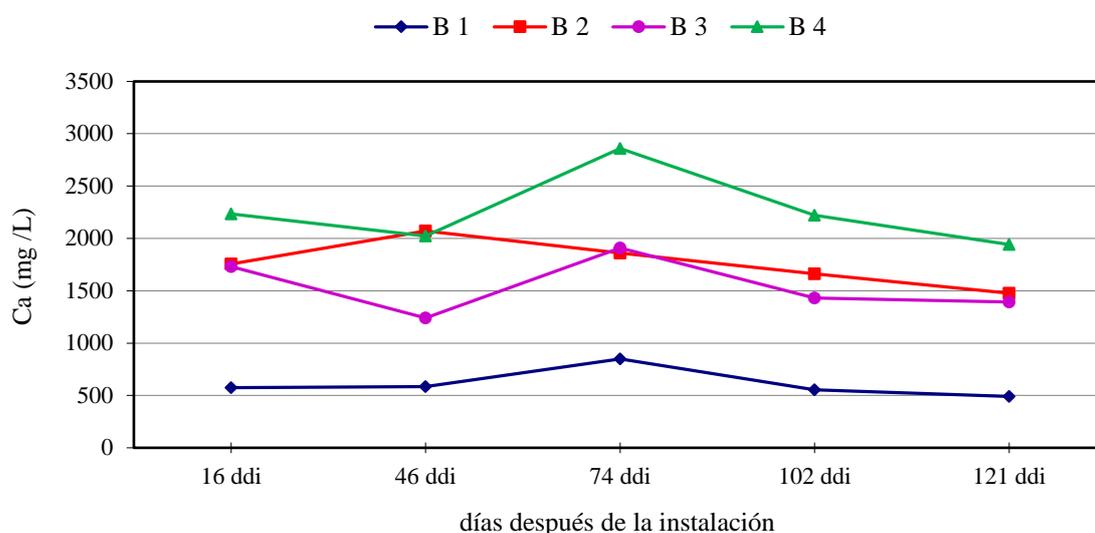


Figura 17: Variación del contenido de calcio durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)

En todos los tratamientos, el contenido de calcio al finalizar el proceso fue inferior al contenido inicial (Cuadro 15). El contenido final de calcio para todos los tratamientos, varió entre 491 y 1941 mg/L).

En orden decreciente, el contenido de calcio en los tratamientos es el siguiente: B4 (1941 mg/L), B2 (1477 mg/L), B3 (1393 mg/L) y B1 (491 mg/L).

El mayor contenido de calcio en los tratamientos B4, B2 y B3, respecto al tratamiento B1, estaría relacionado con el uso de insumos, como cáscara de huevo molido y ceniza, utilizados en estas formulaciones.

Cuadro 15: Contenido de calcio en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)

Tratamiento	Calcio (mg/L) a los días después de la instalación (ddi)				
	16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	575	584	848	554	491
B 2	1757	2071	1860	1663	1477
B 3	1732	1240	1909	1431	1393
B 4	2233	2023	2859	2221	1941
Promedio	1575	1479	1869	1467	1326

Se observó que a los 74 ddi, cuando el pH comienza a incrementar su valor se presentó el mayor contenido de calcio, sin embargo al continuar el proceso, el pH continúa incrementando su valor mientras que el contenido de calcio disminuye progresivamente. La disminución en el contenido de calcio podría deberse a que éste ha precipitado o ha pasado a formar parte de complejos (quelatos). Martí (2006) señala que los posibles precipitados que puedan formarse son fosfatos de magnesio, fosfatos de calcio, fosfatos de hierro y aluminio y carbonatos de calcio.

e. Magnesio.-

El comportamiento del magnesio durante el proceso de la elaboración de los bioles no mostró variación significativa en su contenido durante todo el proceso, evidente sobre todo en los tratamientos B1, B3 y B4. El contenido inicial de magnesio, para todos los tratamientos fué muy similar al contenido final.

Solamente el tratamiento B2 experimentó un ligero incremento en el contenido de magnesio (46 ddi), para luego descender y a partir del día 74 mostrar similar comportamiento a los demás tratamientos, como se observa en la Figura 18.

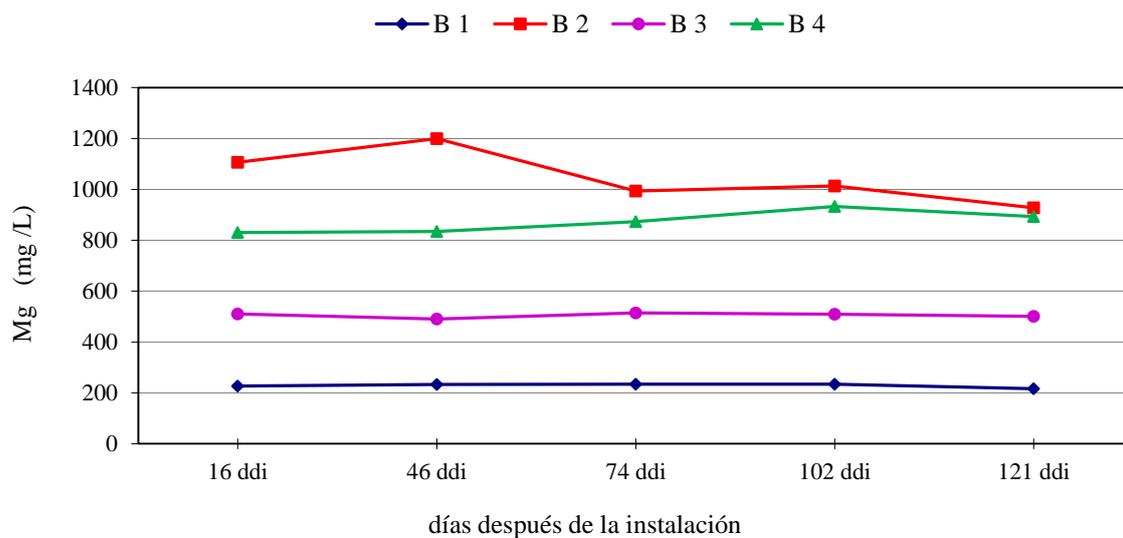


Figura 18: Variación del contenido de magnesio durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)

El contenido de magnesio para todos los tratamientos, al finalizar el proceso varió entre 216 y 928 mg/L. Cuadro 16.

En orden decreciente, el contenido de magnesio presente en los tratamientos es el siguiente: B2 (928 mg/L), B4 (893 mg/L), B3 (501 mg/L) y B1 (216 mg/L).

Cuadro 16: Contenido de magnesio en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)

Tratamiento	Magnesio (mg/L) a los días después de la instalación (ddi)				
	16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	227	233	235	235	216
B 2	1107	1200	993	1013	928
B 3	511	491	515	509	501
B 4	831	835	873	933	893
Promedio	669	690	654	673	635

f. Azufre

Durante el proceso de elaboración de los bioles, la variación en el contenido de azufre mostró una tendencia similar para los tratamientos hasta los 102 ddi. Figura 19.

La curva muestra que el contenido de azufre disminuyó considerablemente desde el inicio hasta el día 74 ddi. A partir de ese momento los tratamientos B1, B2 y B4 mantuvieron una tendencia similar hacia el final (con poca variación en sus contenidos), mientras que el tratamiento B3 mostró un notable incremento en su contenido hacia el final.

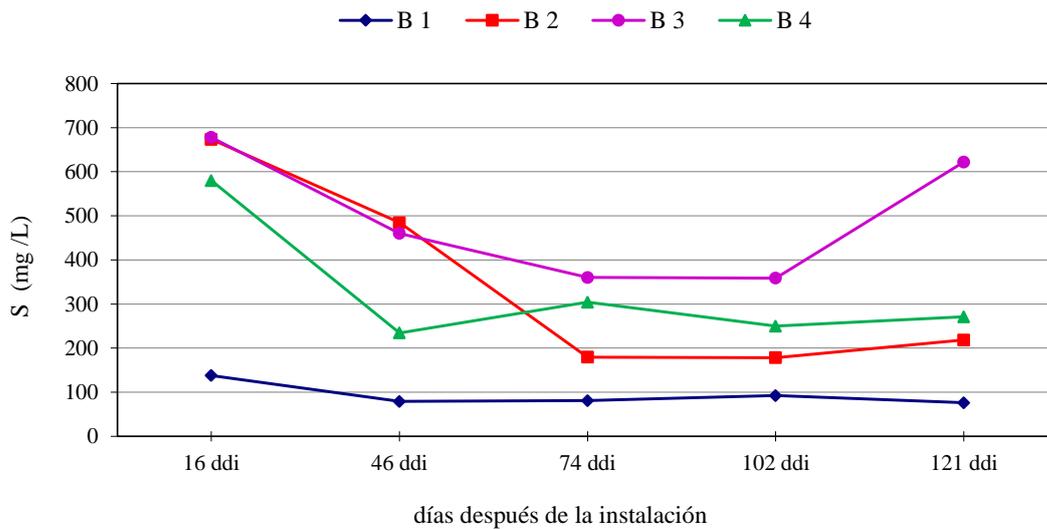


Figura 19: Variación del contenido de azufre durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)

El contenido de azufre para todos los tratamientos, al finalizar el proceso varió entre 76 y 622 mg/L; contenido inferior al inicial que varió entre 138 y 678 mg/L. Cuadro 17.

En orden decreciente, el contenido de azufre presente en los tratamientos es el siguiente: B3 (622 mg/L), B4 (271 mg/L), B2 (219 mg/L) y B1 (76 mg/L).

Cuadro 17: Contenido de azufre en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)

Tratamiento	Azufre (mg/L) a los días después de la instalación (ddi)				
	16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	138	79	81	92	76
B 2	673	484	180	178	219
B 3	678	460	360	359	622
B 4	580	234	304	250	271
Promedio	517	315	231	220	297

Considerando que durante el proceso de descomposición de la materia orgánica, se degradan sustancias que contienen azufre, el cual presenta un olor desagradable, se podría relacionar la disminución del contenido de azufre con la disminución del olor desagradable de los bioles conforme el proceso se iba desarrollando. Justamente cuando el contenido de azufre disminuye (hacia el día 74), es a partir de ese momento que el olor de los bioles en su conjunto comienza a mejorar hasta el final del proceso.

g. Sodio

Durante el proceso de elaboración de los bioles, la variación en el contenido de sodio presentó una tendencia similar para los tratamientos B2, B3 y B4, solamente el tratamiento B1 tuvo un comportamiento de escasa variación mostrando valores similares durante todo el proceso. Figura 20.

El contenido de sodio al final fue superior respecto a los valores iniciales.

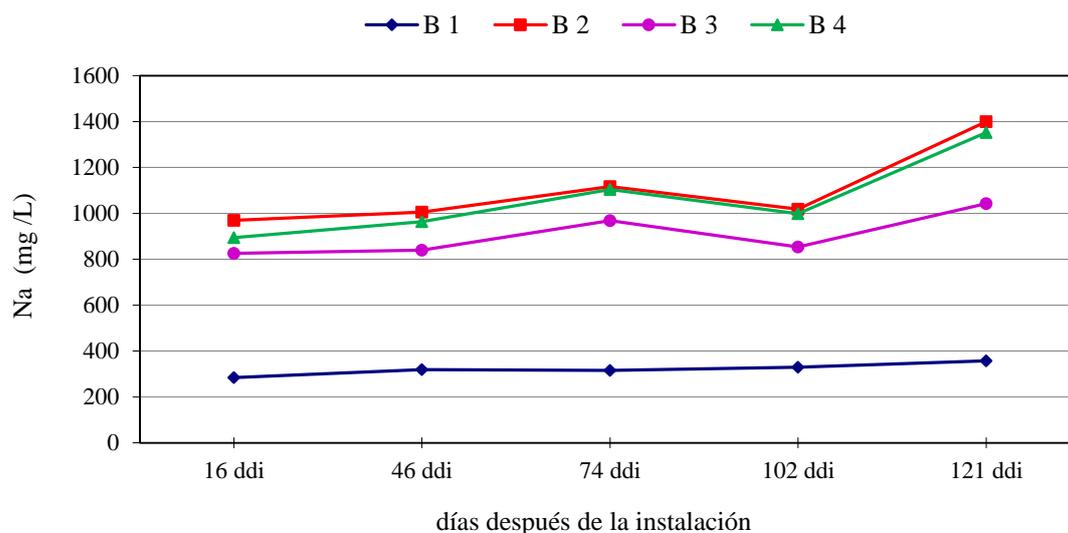


Figura 20: Variación del contenido de sodio durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)

El contenido de sodio para todos los tratamientos, al finalizar el proceso varió entre 357 y 1400 mg/L; contenido superior al inicial que varió entre 284 y 969 mg/L. Cuadro 18.

En orden decreciente, el contenido de sodio presente en los tratamientos es el siguiente: B2 (1400 mg/L), B4 (1352 mg/L), B3 (1043 mg/L) y B1 (357 mg/L).

Cuadro 18: Contenido de sodio en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)

Tratamiento	Sodio (mg/L) a los días después de la instalación (ddi)				
	16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	284	319	316	329	357
B 2	969	1005	1117	1019	1400
B 3	825	840	968	853	1043
B 4	895	964	1104	999	1352
Promedio	743	782	876	800	1038

Este bajo contenido en sodio, permitiría también explicar porque el tratamiento B1 presentó el menor valor de CE (11.4 dS/m).

4.2.3 COMPORTAMIENTO DE LOS MICRONUTRIENTES

A continuación se presentan los resultados de las evaluaciones del contenido de los micronutrientes: Hierro, Cobre, Zinc, Manganeso y Boro, durante el proceso de elaboración de los cuatro tratamientos de bioles.

a. Hierro

Durante el proceso de elaboración de los bioles, la curva de variación del contenido de hierro fue disímil entre todos los tratamientos (Figura 21). No observándose un patrón o tendencia en el comportamiento de este elemento durante el proceso.

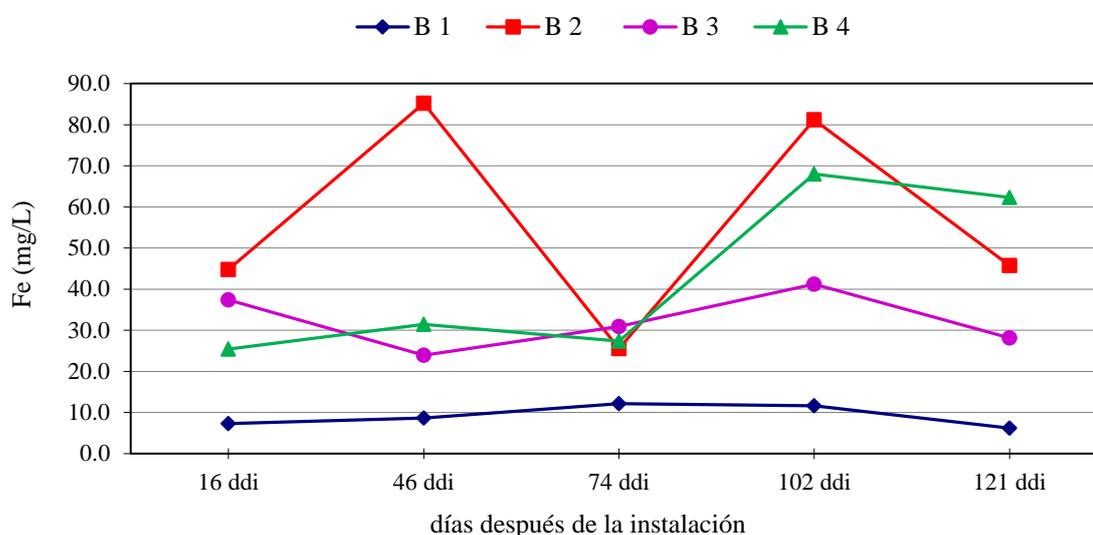


Figura 21: Variación del contenido de hierro durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)

Respecto al contenido de hierro por tratamiento se observó que el tratamiento B1 presentó similar contenido al principio (7 mg/L) y final del proceso (6 mg/L); el tratamiento B2 presentó variaciones de incremento y disminución considerables sin embargo el contenido final (46 mg/L) fue muy similar al inicial (45 mg/L); sólo el tratamiento B4 mostró un incremento en el contenido de hierro al final del proceso.

El contenido de hierro para todos los tratamientos, al finalizar el proceso varió entre 6 y 62 mg/L. Cuadro 19.

En orden decreciente, el contenido de hierro presente en los tratamientos es el siguiente: B4 (62 mg/L), B2 (46 mg/L), B3 (28 mg/L) y B1 (6 mg/L).

Cuadro 19: Contenido de hierro en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)

Tratamiento	Hierro (mg/L) a los días después de la instalación (ddi)				
	16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	7.3	8.7	12.1	11.6	6.2
B 2	44.7	85.2	25.5	81.2	45.8
B 3	37.4	23.9	30.9	41.2	28.1
B 4	25.4	31.4	27.4	68.0	62.3
Promedio	28.7	37.3	24.0	50.5	35.6

b. Cobre

La variación en el contenido de cobre durante el proceso de elaboración de los bioles, presentó dos patrones o tendencias de variación. Figura 22.

Los tratamientos B2 y B4 presentaron una tendencia similar y los tratamientos B1 y B3 otra. Para los tratamientos B2 y B4, el contenido final de cobre fue superior al inicial, mostrando variaciones marcadas durante el proceso; mientras que para los tratamientos B1 y B3 el contenido final fue inferior al inicial, mostrando muy poca variación de principio a fin.

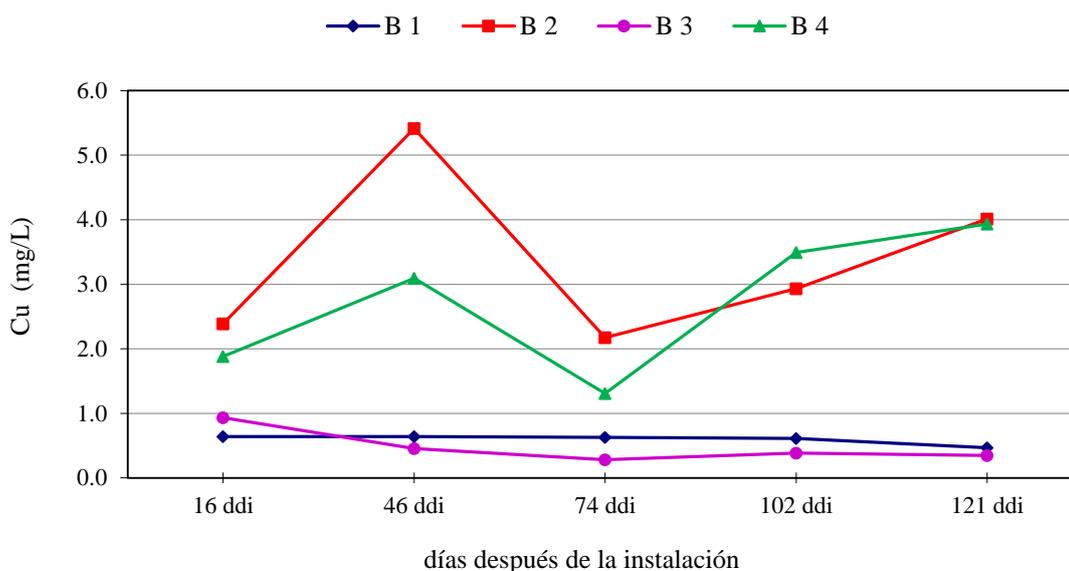


Figura 22: Variación del contenido de cobre durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)

El contenido de cobre para todos los tratamientos, al finalizar el proceso varió entre 0.3 y 4 mg/L. Cuadro 20.

En orden decreciente, el contenido de cobre presente en los tratamientos es el siguiente: B2 (4 mg/L), B4 (3.9 mg/L), B1 (0.5 mg/L) y B3 (0.3 mg/L).

Cuadro 20: Contenido de cobre en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)

Tratamiento	Cobre (mg/L) a los días después de la instalación (ddi)				
	16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	0.6	0.6	0.6	0.6	0.5
B 2	2.4	5.4	2.2	2.9	4.0
B 3	0.9	0.5	0.3	0.4	0.3
B 4	1.9	3.1	1.3	3.5	3.9
Promedio	1.5	2.4	1.1	1.9	2.2

c. Zinc

La variación en el contenido de zinc durante el proceso de elaboración de los bioles, presentó dos tendencias de variación. Los tratamientos B2 y B4 presentaron una tendencia similar mientras los tratamientos B1 y B3 presentaron otra tendencia (Figura 23).

La curva de variación del contenido de zinc se presenta de forma muy similar a la de cobre. Los tratamientos B2 y B4, presentaron un contenido final superior el inicial mostrando una variación considerable durante el proceso, mientras que los tratamientos B1 y B4 mostraron muy poca variación y contenido similar de principio a fin.

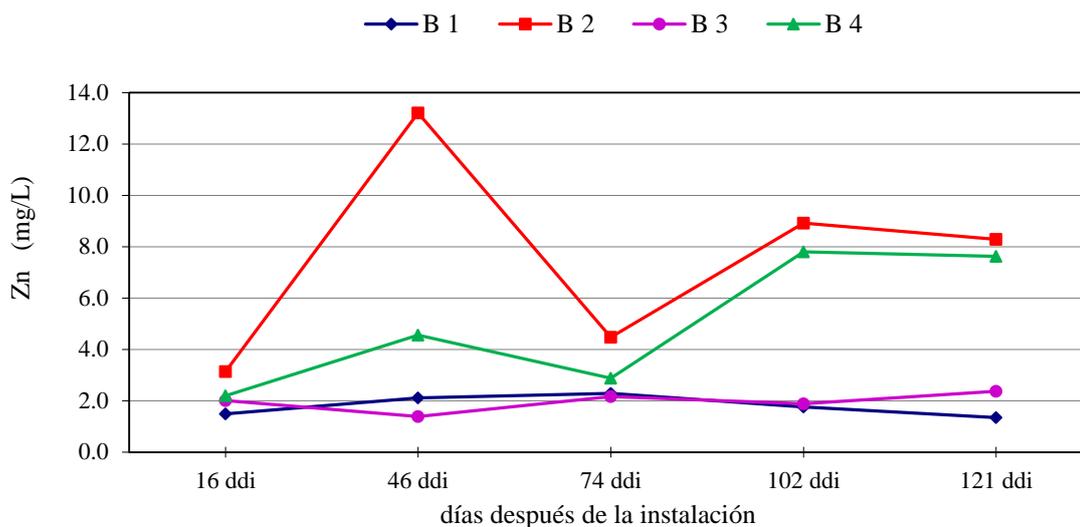


Figura 23: Variación del contenido de zinc durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)

El contenido de zinc para todos los tratamientos, al finalizar el proceso varió entre 1.3 y 8.3 mg/L. Cuadro 21.

En orden decreciente, el contenido de zinc presente en los tratamientos es el siguiente: B2 (8.3 mg/L), B4 (7.6 mg/L), B3 (2.4 mg/L) y B1 (1.3 mg/L).

Cuadro 21: Contenido de zinc en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)

Tratamiento	Zinc (mg/L) a los días después de la instalación (ddi)				
	16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	1.5	2.1	2.3	1.8	1.3
B 2	3.1	13.2	4.5	8.9	8.3
B 3	2.0	1.4	2.2	1.9	2.4
B 4	2.2	4.6	2.9	7.8	7.6
Promedio	2.2	5.3	3.0	5.1	4.9

d. Manganeseo

Durante el proceso de elaboración de los bioles, el contenido de manganeso experimentó poca variación de principio a fin, el contenido final fue menor que el inicial para los

tratamientos B2, B3 y B1, solamente el tratamiento B4 mostró un contenido final ligeramente superior al inicial, mostrando un contenido superior de manganeso respecto a los otros tratamientos desde el principio. Figura 24.

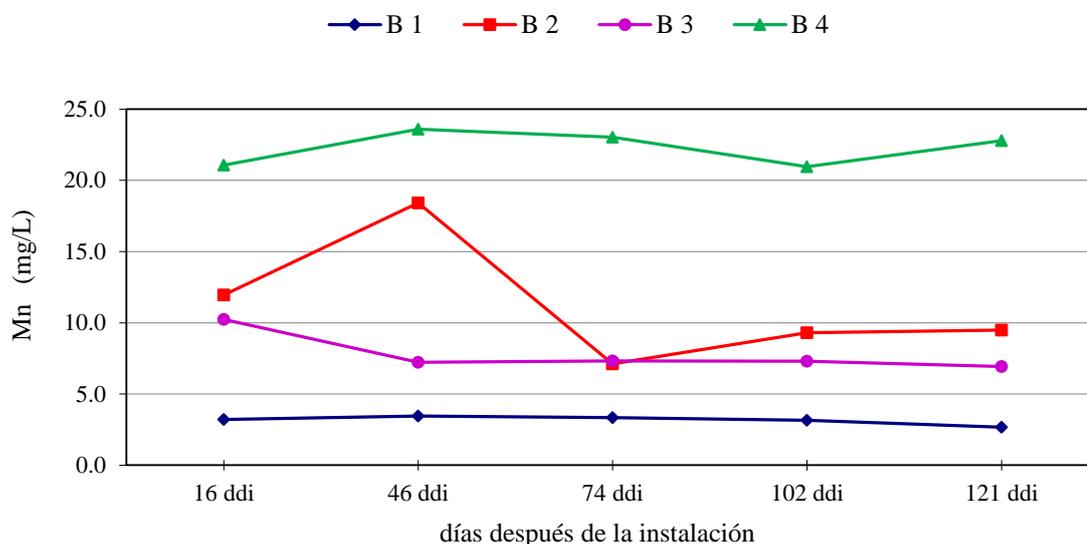


Figura 24: Variación del contenido de manganeso durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)

El contenido de manganeso, para todos los tratamientos, al finalizar el proceso varió entre 2.7 y 22.8 mg/L. Cuadro 22.

En orden decreciente, el contenido de manganeso presente en los tratamientos es el siguiente: B4 (22.8 mg/L), B2 (9.5 mg/L), B3 (6.9 mg/L) y B1 (2.7 mg/L).

Cuadro 22: Contenido de manganeso en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)

Tratamiento	Manganeso (mg/L) a los días después de la instalación (ddi)				
	16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	3.2	3.5	3.3	3.1	2.7
B 2	11.9	18.4	7.1	9.3	9.5
B 3	10.2	7.2	7.3	7.3	6.9
B 4	21.1	23.6	23.0	21.0	22.8
Promedio	11.6	13.2	10.2	10.2	10.5

e. Boro

Durante el proceso de elaboración de los bioles, la variación en el contenido de boro mantuvo la misma tendencia para todos los tratamientos (Figura 25). La curva de variación muestra un incremento progresivo desde el inicio hasta los 74 ddi, para luego comenzar a descender paulatinamente hasta el final del proceso de elaboración de los bioles.

Al finalizar el experimento (121 ddi) el contenido final de boro es inferior al inicial para los tratamientos B1, B2 y B3, mientras que para el tratamiento B4 el contenido final es ligeramente superior al inicial.

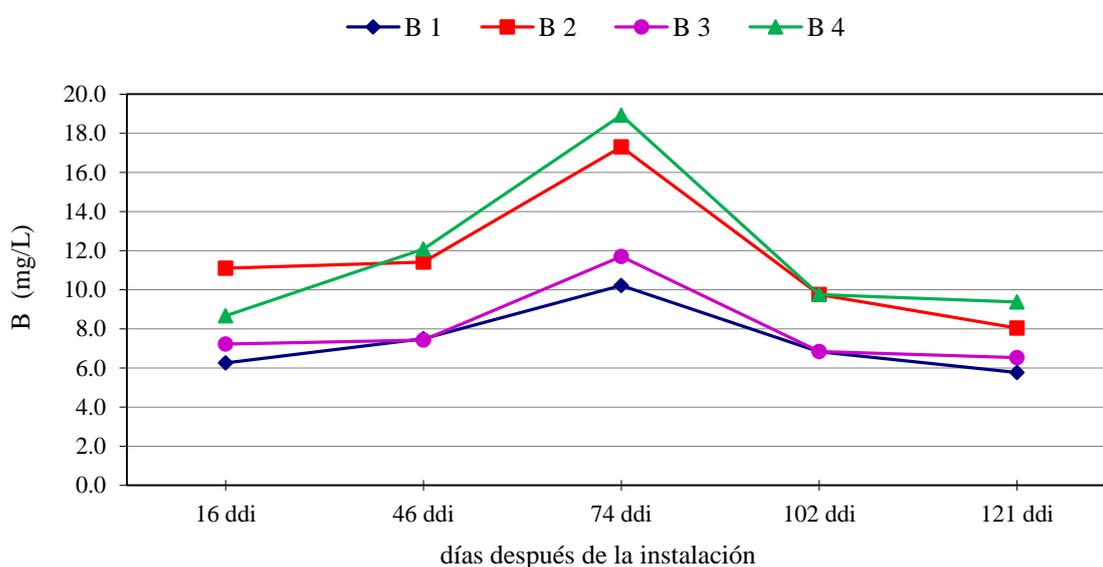


Figura 25: Variación del contenido de boro durante el proceso de elaboración de bioles (mg/L)

El contenido de boro para todos los tratamientos, al finalizar el proceso varió entre 5.8 y 9.4 mg/L. Cuadro 23.

En orden decreciente, el contenido de boro presente en los tratamientos es el siguiente: B4 (9.4 mg/L), B2 (8 mg/L), B3 (6.5 mg/L) y B1 (5.8 mg/L).

Cuadro 23: Contenido de boro en los bioles durante su proceso de elaboración (mg/L)

Tratamiento	Boro (mg/L) a los días después de la instalación (ddi)				
	16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B 1	6.3	7.5	10.2	6.8	5.8
B 2	11.1	11.4	17.3	9.8	8.0
B 3	7.2	7.4	11.7	6.8	6.5
B 4	8.7	12.1	18.9	9.8	9.4
Promedio	8.3	9.6	14.5	8.3	7.4

4.2.4 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS DE LOS MACRO Y MICRONUTRIENTES ESTUDIADOS

Los resultados finales de la composición química promedio de los tratamientos de biol elaborados se presentan en el Cuadro 24. El detalle de los resultados de los análisis químicos realizados durante el proceso de elaboración se presenta en el Anexo 3.

Cuadro 24: Composición química promedio de los cuatro bioles elaborados

Trat	pH	CE (dS/m)	Nutrientes (mg/L)											
			N	P	K	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
B1	6.8	11.4	905	141	1265	491	216	357	76	6	0.5	1.3	2.7	5.8
B2	7.3	28.3	2320	199	4360	1477	928	1400	219	46	4.0	8.3	9.5	8.0
B3	5.7	29.5	3186	290	3333	1393	501	1043	622	28	0.3	2.4	6.9	6.5
B4	6.6	24.4	1409	211	3773	1941	893	1352	271	62	3.9	7.6	22.8	9.4

El Tratamiento B1, con la formulación más sencilla (con menos variedad de insumos), presentó la menor CE, así como el menor contenido en todos los macro y micronutrientes analizados.

Mientras que los tratamientos B2, B3 y B4, con formulaciones más complejas (mayor variedad de insumos), presentaron valores de CE de más del doble respecto al tratamiento

B1, así como contenidos superiores de macro y micronutrientes. La adición de otros ingredientes respecto a la formulación base (tratamiento B1) influyó directamente en el incremento de la CE y el contenido de macro y micronutrientes.

Los resultados del análisis químico muestran una amplia variación en el contenido de los macro y micronutrientes entre los tratamientos. De Groot y Bogdanski (2013), señalan que los estudios realizados al biol como un fertilizante muestran una amplia gama de parámetros, (...) y que el contenido en los bioles varía ampliamente, al depender de muchas variables como: el tipo de estiércol utilizado como materia prima (a partir de cerdos, ganado vacuno o pollos); la materia prima adicional utilizada (tipos de residuos); el forraje para los animales (calidad y cantidad); el clima (particularmente la temperatura) y la tecnología del biodigestor como tal.

Al considerar que los tratamientos B2, B3 y B4 tienen una mayor CE, éstos requerirán una mayor dilución en el momento de su uso, modificando con ello el aporte en contenido de macro y micronutrientes. Por ello en la práctica, es difícil dar una única recomendación en cuanto a la dosis, forma de aplicación, frecuencia para todos los bioles; será necesario que cada formulación de biol sea probada en campo y en pruebas de ensayo-error se vayan definiendo las mejores dosis, frecuencias y, formas de aplicación para cada cultivo. Sería valioso que cada productor pueda conocer la CE del biol que produce (según su formulación), ya que ello le permitirá realizar mejoras respecto a su dilución y uso.

Además, es importante considerar un buen almacenamiento y correcta aplicación del biol, ya que según Bonten et al. (2014), la alta concentración de NH_4^+ en el efluente líquido puede llevar a la volatilización de NH_3 durante el almacenamiento en los casos en que no sea cubierto adecuadamente. Esta volatilización es en la mayoría de los casos considerablemente más alta que la volatilización del NH_3 del estiércol de corral. Más del 50% de NH_4^+ se puede perder en un mes al dejarlo descubierto.

Considerando que cada biol, es elaborado con insumos y proporciones diferentes, y que es producido bajo diferentes condiciones ambientales, podríamos decir que cada uno de ellos presenta características únicas y diferentes. El biol es entonces el resultado de un complejo y dinámico proceso de descomposición de la materia orgánica, donde los insumos, la forma de preparación, las condiciones ambientales y el tiempo, determinan características únicas para cada producto final.

Con la finalidad de evidenciar la amplia variabilidad en el contenido de macro y micronutrientes presentes en los bioles, se presenta el Cuadro 25 que muestra los valores máximos y mínimos registrados en 119 análisis químicos de bioles realizados por el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes del Departamento de Suelos – UNALM, durante los años 2015 y 2016.

Cuadro 25: Contenido máximo y mínimo de nutrientes presentes en los bioles

Valor	pH	CE dS/m	Nutrientes Totales (mg/L)										
			N	P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Cu	Zn	Mn	B
Máximo	9.1	55.5	54880.0	10000.0	13850.0	12710.0	3250.0	9100.0	1522.5	465.0	1301.3	1245.0	1039.8
Mínimo	3.0	3.0	4.2	5.3	18.1	15.5	22.6	13.1	1.0	0.1	0.1	0.1	0.7

Fuente: Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes – UNALM. Elaboración propia.

Ante esta diversidad en los bioles, se torna difícil establecer estándares en cuanto al contenido de macro y micro nutrientes, así como al contenido de precursores de crecimiento para el producto final. Solamente se podrá conocer la composición del biol, al finalizar el proceso y analizarlo. En la versatilidad de la agricultura orgánica esto no es un inconveniente sino más bien una oportunidad, ya que los productores durante pruebas de ensayo error en forma permanente van adaptando sus formulaciones, métodos y dosis de aplicación a sus cultivos, sin la necesidad de saber a detalle la composición de los mismos. Aun así, conociendo la composición química, microbiológica, y la presencia de precursores de crecimiento en el biol, la respuesta que muestre la planta a la aplicación de biol, será al conjunto de los componentes que lo conforman. Como se observó en el ensayo de germinación realizado con las semillas de algodón, lechuga y alfalfa, donde no fue posible determinar si la respuesta de la germinación está asociada a la presencia de una sustancia precursora de crecimiento en particular o al conjunto de componentes.

4.3 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS EVALUADAS DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LOS BIOLES

A continuación se presentan los resultados de los análisis de población microbiana promedio de bacterias, hongos y actinomicetos realizados durante el proceso de elaboración de los cuatro tratamientos de biol investigados.

4.3.1 POBLACIÓN DE BACTERIAS

Durante el proceso de elaboración de los bioles, cada tratamiento mostró una curva de variación poblacional bacteriana diferente, no observándose un patrón o tendencia en la población de bacterias mesófilas. Figura 26.

Los tratamientos B1 y B4 mostraron una tendencia de incremento gradual en la población durante todo el proceso, el tratamiento B2 tuvo un receso en el incremento poblacional entre los días 60 y 88 ddi para luego continuar su incremento y, el tratamiento B3 fue el único que presentó un descenso en la población durante el proceso de digestión y solo hacia el final equiparó a la población inicial.

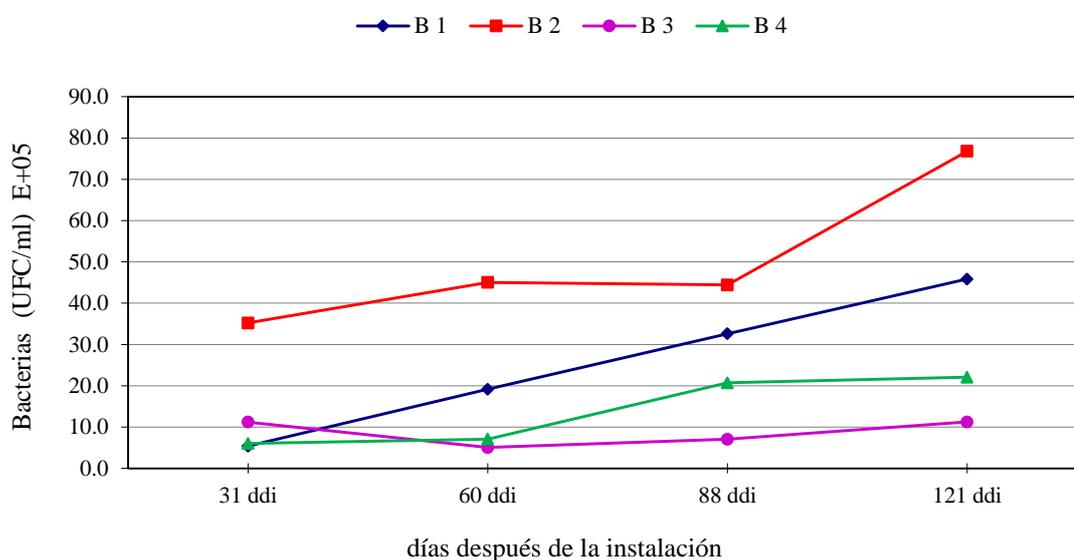


Figura 26: Variación de la población de bacterias mesófilas durante el proceso de elaboración de bioles (UFC/ml biol)

La población de bacterias a los 31 ddi para todos los tratamientos, estuvo en el intervalo entre 5,38 E+05 y 35,21 E+05 UFC/ml biol, y la población bacteriana al final del proceso estuvo en el rango entre 11,24 E+05 y 76,79 E+05 UFC/ml biol. Cuadro 26.

El tratamiento B2, presentó la mayor población bacteriana durante todo el proceso, y el tratamiento B1 fue el que presentó el mayor incremento poblacional.

Cuadro 26: Población de bacterias mesófilas durante el proceso de elaboración de bioles (UFC/ml biol)

Tratamiento	Bacterias (UFC/ml biol) E+05 a los días después de la instalación (ddi)			
	31 ddi	60 ddi	88 ddi	121 ddi
B 1	5.38	19.17	32.59	45.83
B 2	35.21	45.03	44.41	76.79
B 3	11.19	5.05	7.04	11.24
B 4	6.03	7.09	20.70	22.05
Promedio	14.45	19.08	26.19	38.98

En orden decreciente, la población final de bacterias presente en los tratamientos es el siguiente: B2 (76,79 E+05 UFC/ml biol), B1 (45,83 E+05 UFC/ml biol), B4 (22,05 E+05 UFC/ml biol) y B3 (11,24 E+05 UFC/ml biol).

Durante la investigación se evaluó la población total de bacterias, sin realizar un estudio detallado que permitiera conocer los tipos de bacterias presentes; y la población final encontrada estuvo por debajo de la población bacteriana señalada por Gerardi 2003, quien al referirse a la gran y diversa comunidad de bacterias necesaria para la degradación de las sustancias, señala que la abundancia relativa de bacterias dentro de un digestor anaeróbico frecuentemente es mayor de 10^{16} células por mililitro, población compuesta por bacterias sacarolíticas ($\sim 10^8$ células/ml), bacterias proteolíticas ($\sim 10^6$ células/ml), bacterias lipolíticas ($\sim 10^5$ células/ml), y las bacterias formadoras de metano ($\sim 10^8$ células/ml).

4.3.2 POBLACIÓN DE HONGOS

Durante el proceso de elaboración de los bioles, cada tratamiento mostró una curva de variación poblacional de hongos muy diferente entre sí, por lo que no es posible observar un patrón o tendencia en la población de hongos mesófilos. Figura 27.

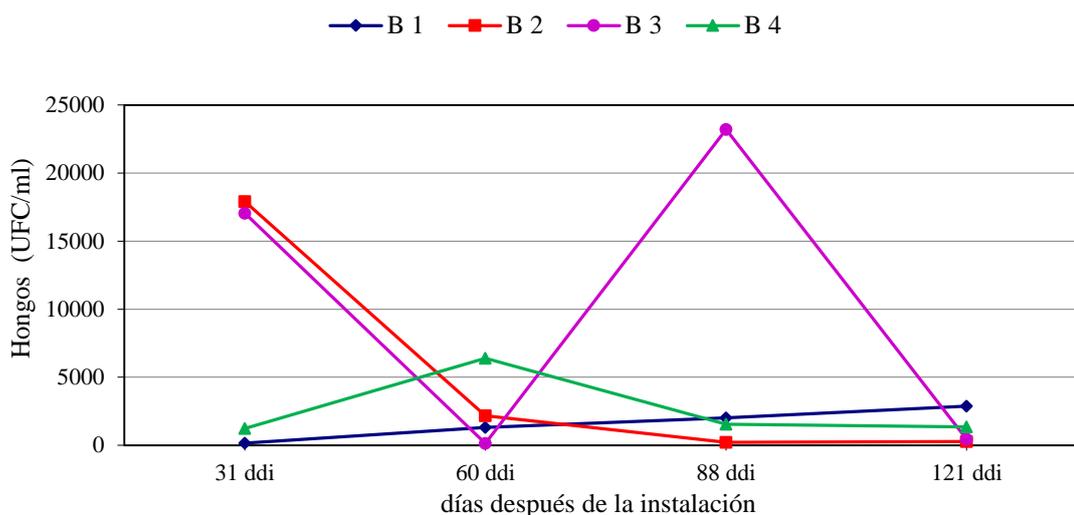


Figura 27: Variación de la población de hongos mesófilos durante el proceso de elaboración de bioles (UFC/ml biol)

Los tratamientos B2 y B3, presentaron una población final de hongos muy inferior a la inicial, mientras que el tratamiento B1 presentó una población final superior a la inicial, y el tratamiento B4 presentó una población final similar a la inicial.

La población de hongos al final (121 ddi) para todos los tratamientos estuvo en el intervalo entre 273 y 2870 UFC/ml biol. Cuadro 27.

En orden decreciente, la población final de hongos presente en los tratamientos es el siguiente: B1 (2870 UFC/ml biol), B4 (1357 UFC/ml biol), B3 (453 UFC/ml biol) y B2 (273 UFC/ml biol).

Cuadro 27: Población de hongos mesófilos durante el proceso de elaboración de bioles (UFC/ml biol)

Tratamiento	Hongos (UFC/ml biol) a los días después de la instalación (ddi)			
	31 ddi	60 ddi	88 ddi	121 ddi
B 1	170	1310	2027	2870
B 2	17920	2177	220	273
B 3	17060	143	23217	453
B 4	1240	6390	1557	1357
Promedio	9098	2505	6755	1238

Durante la investigación se evaluó la población total de hongos, sin realizar una identificación de los géneros que estuvieron presentes. Roballino 2011, al realizar análisis microbiológicos a bioles, elaborados a partir de una formula base con 4 diferentes inoculantes, identificó a los géneros de bacterias Bacillus, Lactobacillus y Pseudomonas como los más abundantes, a la levadura Sacharomyces y, a los hongos Trichoderma, Aspergilluss y Penicillium como los géneros de mayor presencia.

4.3.3 POBLACIÓN DE ACTINOMICETOS

Durante el proceso de elaboración de los bioles, no se pudo observar una tendencia en la variación población de actinomicetos mesófilos para todos los tratamientos. Los tratamientos B2 y B4 mostraron una tendencia similar con diferente amplitud de variación y, los tratamientos B1 y B3 mostraron otra tendencia similar a partir del día 60 ddi hacia el final de la elaboración. Figura 28.

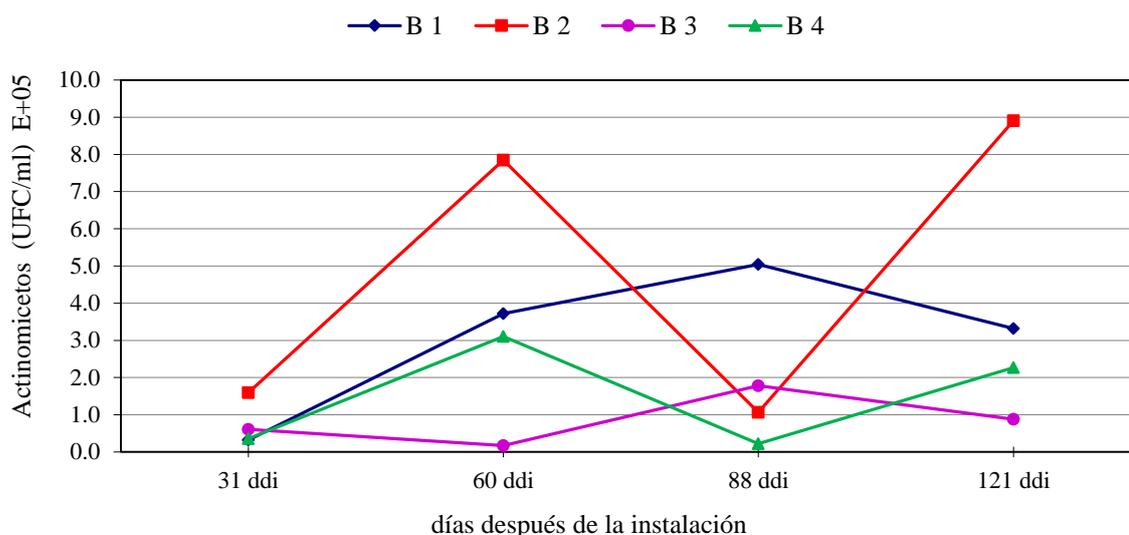


Figura 28: Variación de la población de actinomicetos mesófilos durante el proceso de elaboración de bioles (UFC/ml biol)

Los tratamientos B1, B2 y B4 mostraron una población final de actinomicetos superior a la inicial; sólo el tratamiento B3 presentó una la población final similar a la inicial. Cuadro 28.

Cuadro 28: Población de actinomicetos mesófilos durante el proceso de elaboración de bioles (UFC/ml biol)

Tratamiento	Actinomicetos (UFC/ml biol) E+05 a los días después de la instalación (ddi)			
	31 ddi	60 ddi	88 ddi	121 ddi
B 1	0.32	3.72	5.04	3.32
B 2	1.59	7.85	1.06	8.91
B 3	0.61	0.17	1.78	0.88
B 4	0.36	3.10	0.22	2.27
Promedio	0.72	3.71	2.03	3.84

La población de actinomicetos a los 121 ddi para todos los tratamientos estuvo en el intervalo entre 0.88 y 8.91 E+05 UFC/ml biol.

En orden decreciente, la población final de actinomicetos presente en los tratamientos es el siguiente: B2 (8.91 E+05 UFC/ml biol), B1 (3.32 E+05 UFC/ml biol), B4 (2.27 E+05 UFC/ml biol) y B3 (0.88 E+05 UFC/ml biol).

Este comportamiento fluctuante (incremento y descenso) en las poblaciones de los microorganismos estudiados, sería el resultado de la sucesión de poblaciones de organismos diferenciados, ello estaría fuertemente influenciado por los insumos utilizados, las proporciones empleadas en cada formulación, así como la variación del pH durante el proceso.

Además, los metabolitos secundarios que se forman como resultado de la actividad microbiana, serían los que contribuirían al cambio de olor y color de los bioles.

Los resultados de los análisis de población microbiana realizados a los bioles durante el proceso de elaboración se presentan en el Anexo 4.

Respecto a la población de microorganismos patógenos en los bioles, Warnars y Oppenoorth 2014, señalan que en el biol, no todos los patógenos presentes en el estiércol son eliminados de forma total durante el proceso digestivo y por tanto, pueden causar enfermedades. Gerardi 2003, complementa esta información señalando que las temperaturas relativamente altas y los tiempos de retención largos en la digestión anaeróbica reduce significativamente la cantidad de virus, bacterias y hongos patógenos, y

lombrices parásitas. Esta reducción en el número de patógenos es una característica atractiva en vista de la creciente atención que prestan las agencias reguladoras y el público en general respecto a los riesgos para la salud representados por la utilización de lodos digeridos (biosólidos) para la agricultura y recuperación de tierras. Bernal y Rojas 2014, indicaron que el análisis microbiológico (realizado a 3 bioles ensayados) reportó que los bioles no presentan crecimiento de hongos ni bacterias fitopatógenas.

Soria, et al. (2001), investigaron el proceso de digestión anaerobia con la finalidad de eliminar los patógenos (Coliformes principalmente) contenida en la excreta de cerdo. Los resultados muestran que al inicio de la carga el conteo de Coliformes fue de 9×10^{11} UFC mL⁻¹ (en una muestra), los cuales disminuyeron a cero al cabo de 50 días, que fue el tiempo total de retención de la excreta. Los coliformes se eliminaron en 100% en un tiempo de 50 días, tomando en cuenta que la carga se hizo en el período de verano.

4.4 BIOENSAYOS

Los resultados de los bioensayos realizados, en forma general confirman la presencia de sustancias de acción giberélica, auxínica y citocinínica en los bioles cosechados a los 121 ddi. El Cuadro 29 presenta los resultados del contenido promedio de estas sustancias para los tratamientos de biol ensayados. Anexos 5 y 6.

Cuadro 29: Contenido promedio de sustancias de actividad giberélica, auxínica y citocinínica en los bioles elaborados

Tratamiento	Giberelinas (mg/L)	Auxinas (M)	Citocininas (M)
B 1	5,65	4.28 E-04	6.85 E-04
B 2	7,70	2.87 E-04	-0.17 E-04
B 3	-2,30	9.93 E-04	5.00 E-04
B 4	6,15	8.60 E-04	3.15 E-04

4.4.1 SUSTANCIAS DE ACCIÓN GIBERÉLICA

Presentaron sustancias de acción giberélica los tratamientos B1, B2 y B4, sólo el tratamiento B3 no mostró la presencia de sustancias de acción giberélica, lo que haría suponer que tiene una acción antigiberélica. Cuadro 28 y Figura 29.

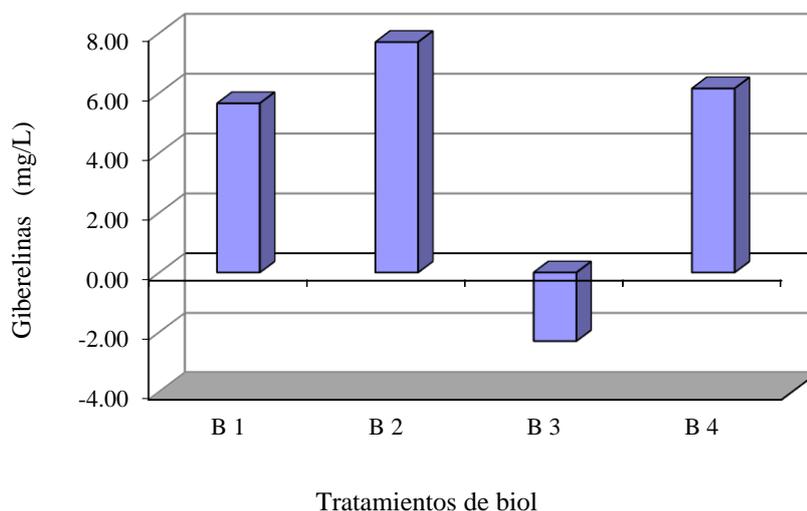


Figura 29: Contenido de sustancias giberélicas en los bioles (mg/L)

El contenido promedio de sustancias de acción giberélica, en los bioles al final de su elaboración, variaron entre los 5,6 y 7,7 mg/L. En orden decreciente, el contenido de sustancias giberélicas en los tratamientos es el siguiente: B2 (7,70 mg/L), B4 (6,15 mg/L), B1 (5,65 mg/L) y B3 (-2,30 mg/L).

Otros estudios confirman la presencia de giberelinas en los bioles. Resultados de análisis de la composición bioquímica del biol muestran un contenido de giberelinas de 8,4 ng/g (Medina y Zegarra, citado por Medina 1990) y; Bernal y Rojas (2014), determinaron la presencia de giberelinas y auxinas, en tres formulaciones de biol ensayados, al realizar una prueba cualitativa por cromatografía de capa fina.

4.4.2 SUSTANCIAS DE ACCIÓN AUXÍNICA

Todos los tratamientos de bioles presentaron sustancias auxínicas. Al finalizar el proceso de elaboración de bioles (121 ddi) el contenido promedio de estas sustancias fluctuaron entre 2,87E-04 y 9,93E-04 M. Cuadro 28 y Figura 30.

En orden decreciente, el contenido de sustancias auxínicas en los tratamientos es el siguiente: B3 (9,93 E-04 M), B4 (8,60 E-04 M), B1 (4,28 E-04 M) y B2 (2,87 E-04 M).

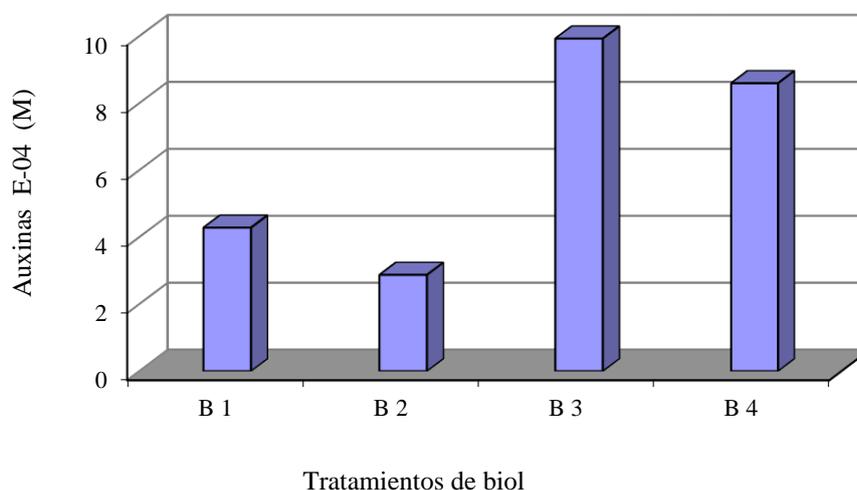


Figura 30: Contenido de sustancias auxínicas en los bioles (M)

En relación a la presencia de sustancias de acción auxínica en los bioles, otros estudios confirman la presencia del Ácido Indolacético y su precursor, el Triptófano. En el caso del Ácido Indolacético se muestran contenidos de 9,0 ng/g y para el Triptófano valores de 42,8 ng/g (Medina y Zegarra, 1987, citado por Medina 1990).

4.4.3 SUSTANCIAS DE ACCIÓN CITOCINÍNICA

Presentaron sustancias de acción citocinínicas los tratamientos B1, B3 y B4, únicamente el tratamiento B2 no presentó acción citocinínica.

El contenido promedio de sustancias de acción citocinínica, en los bioles al final de su elaboración, variaron entre 3,15 E-04 M y 6,85 E-04 M. En orden decreciente, el contenido de sustancias citocinínicas en los tratamientos es el siguiente: B1 (6,85E-04 M), B3 (5,00 E-04 M) y B4 (3,15 E-04 M). Cuadro 28 y Figura 31.

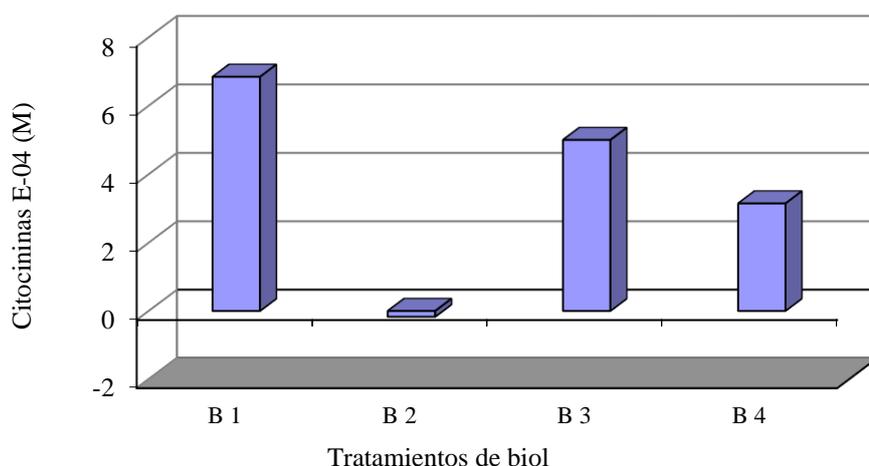


Figura 31: Contenido de sustancias citocinínicas en los bioles (M)

Análisis sobre el tema:

Los resultados de este ensayo, muestran la presencia de sustancias de acción giberélica, auxínica y citocinínica en los bioles; confirmando lo señalado por Medina (1990), Varnero (2011), Gomero (2005), Felipe-Morales y Moreno (2005) y; FONCODES 2014; quienes señalan que los bioles son fuente de fitohormonas.

En forma complementaria, Liu et al. 2009 y Yu et al. 2010, citado por Möller y Müller 2012, señalan que los efluentes contienen una diversidad de sustancias, como las fitohormonas (giberelinas, ácido indolacético), ácidos nucleicos, monosacáridos, aminoácidos libres, vitaminas y ácido fúlvico, etc, con el potencial de promover el desarrollo de las plantas y de incrementar la tolerancia al stress biótico y abiótico.

Calderón (2014) señala que la presencia de sustancias de acción giberélica, auxínica y citoquinínica en los bioles, provendrían del material vegetal utilizado (al contener diferentes hormonas en los tejidos) y, de la acción de los microorganismos que utilizan diferentes insumos para producirlos (de manera similar a como lo hacen los promotores de crecimiento vegetal de la rizósfera: bacterias PGPR (rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal). Estas sustancias serían entonces el resultado de los metabolitos secundarios resultantes del proceso de descomposición de la materia orgánica realizada por los microorganismos, durante el proceso de elaboración de los bioles.

La presencia y cantidad en la que se encuentran estas sustancias, estarían en función de la diversidad, cantidad y proporción de los insumos que se utilizaron según la formulación de los bioles; además de la composición de los microorganismos que estuvieron presentes durante el proceso de digestión. Entre los insumos utilizados, algunos contenían proteínas en diferentes concentraciones (como leche, estiércol o vísceras de pescado); los que al descomponerse liberarían los distintos aminoácidos, entre ellos el triptófano y los ácidos nucleicos (adenina), que serían los precursores para la formación de auxinas y citoquininas respectivamente. Otro de los insumos utilizados en todos los tratamientos, fue el material vegetal (como hojas, mantillo y tallos verdes), cuando este material se degrada en el proceso, se estaría liberando fitol, a partir del cual se formarían las giberelinas. Es probable también que entre la población microbiana, haya bacterias fotosintéticas, las cuales producen ácido mevalónico, precursor de las giberelinas¹.

Una característica especial del biol es que en su composición se encuentran macro y micronutrientes y un conjunto de sustancias precursoras de crecimiento. Por consiguiente la respuesta de la planta a la aplicación de biol, estaría respondiendo a la acción conjunta de éstas, y difícilmente se podrá establecer una relación directa y específica a la presencia de una de estas sustancias.

Considerando que las formulaciones de biol presentan este conjunto de sustancias, se puede comprender el que los agricultores utilicen el biol durante todo el proceso de producción, ya que servirían para distintos propósitos durante el cultivo (favorecer la germinación, promover una mayor área foliar, mejorar la nutrición, entre otros fines).

4.5 PRUEBAS DE GERMINACIÓN

A continuación se presentan los resultados de las pruebas de germinación realizadas con las semillas de algodón, lechuga y alfalfa, las que fueron remojadas a dos dosis de dilución de los bioles cosechados. El Anexo 7 presenta un recuento fotográfico de esta determinación.

¹ Calderón, A. 2014. Precursores de crecimiento en los bioles (entrevista). Laboratorio de Fisiología Vegetal, La Molina, PE. UNALM

4.5.1 ALGODÓN

a. Porcentaje de germinación

La prueba de germinación en Algodón se realizó con la variedad UNA1, procedente del Programa de Algodón de la UNALM.

La primera prueba de germinación se realizó utilizando las dosis de 20 y 40 por ciento. Las semillas mostraron una escasa germinación y problemas sanitarios que imposibilitaron la determinación del porcentaje de germinación. Se consideró que la alta CE de las dosis empleadas afectó la germinación, en el Cuadro 30 se presenta la CE de los bioles a estas diluciones:

Cuadro 30: Conductividad eléctrica a las dosis de 20 y 40 por ciento de biol (dS/m)

Tratamiento	CE de Bioles (dS/m)	
	20%	40%
B1	2.3	4.1
B2	6.9	12.9
B3	7.1	14.2
B4	5.7	10.3

Debido a este impase, se replantearon las diluciones a utilizarse y la prueba de germinación final se realizó utilizando menores dosis de biol: 5 y 10 por ciento. La CE a la dosis 1 (5 por ciento) varió entre 0,6 y 2,2 dS/m, mientras que para la dosis 2 (10 por ciento) fluctuó entre 1.0 y 3.7 dS/m. El Cuadro 31 presenta la CE promedio de los bioles a estas diluciones.

Cuadro 31: Conductividad Eléctrica a las dosis de 5 y 10 por ciento de biol (dS/m)

Tratamiento	CE de Bioles (dS/m)	
	Dosis 1 5%	Dosis 2 10%
B1	0.6	1.0
B2	2.1	3.1
B3	2.2	3.7
B4	1.9	2.6

Los resultados del porcentaje de germinación de las semillas de algodón muestran que utilizando la dosis 1 (5 por ciento) ésta fluctuó entre 59 y 63%; mientras que al utilizar la dosis 2 (10 por ciento) el porcentaje de germinación fue menor fluctuando entre 52 y 57%. Cuadro 32.

Cuadro 32: Porcentaje de germinación de semillas de algodón a dos dosis de biol: 5 y 10 por ciento

Tratamiento	Porcentaje de germinación		
	dosis 1	dosis 2	Testigo
B 1	59.1	56.9	
B 2	60.7	56.9	
B 3	59.3	56.0	
B 4	63.1	52.2	
Testigo			58.7

El testigo mostró un porcentaje de germinación del 58%, valor inferior al registrado al remojar las semillas en biol a la dosis de 5 por ciento, pero superior al remojarlas a una dosis de 10 por ciento. Se observó que al incrementar la dosis de biol, el porcentaje de germinación disminuyó, lo que podría deberse al incremento de la CE o a la presencia de inhibidores de crecimiento, Medina (1990) señala que en la composición del biol se encuentran diversos y valiosos precursores hormonales, aunque también ciertos represores como la metionina entre otros.

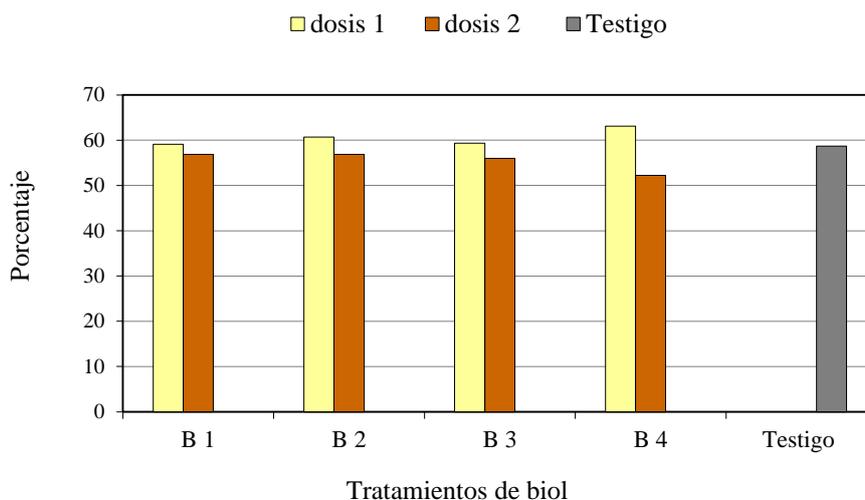


Figura 32: Porcentaje de germinación de semillas de algodón: comparativo entre las dosis de 5 y 10 por ciento

Estadísticamente, para la variable porcentaje de germinación de las semillas de algodón, se encontraron ligeras diferencias significativas entre los tratamientos respecto al testigo. La prueba de Duncan, muestra una diferencia significativa a favor del tratamiento B4 a la dosis 1 (5 por ciento). Anexo 8.

La prueba de Duncan, presenta tres grupos de tratamientos significativamente diferentes. En el primer grupo, el tratamiento B4 a la dosis 1, registra el porcentaje de germinación más alto (63.1%), siendo significativamente diferente que el testigo. El testigo y los tratamientos B1, B2, B3 a las dosis 1 y 2, con medias que van entre 60.7 y 56%, son parte del segundo grupo. Mientras que en el tercer grupo está el tratamiento B4 a la dosis 2, registrando el menor porcentaje de germinación (52.2%).

b. Peso fresco de los germinados

El peso fresco de los germinados de algodón, remojados a la dosis 1 (5 por ciento) fueron mayores, fluctuaron entre 7.81 y 8.16 g; mientras que a la dosis 2 (10 por ciento) el peso de los germinados fue menor, variando entre 7.04 y 7.81 g. Figura 33.

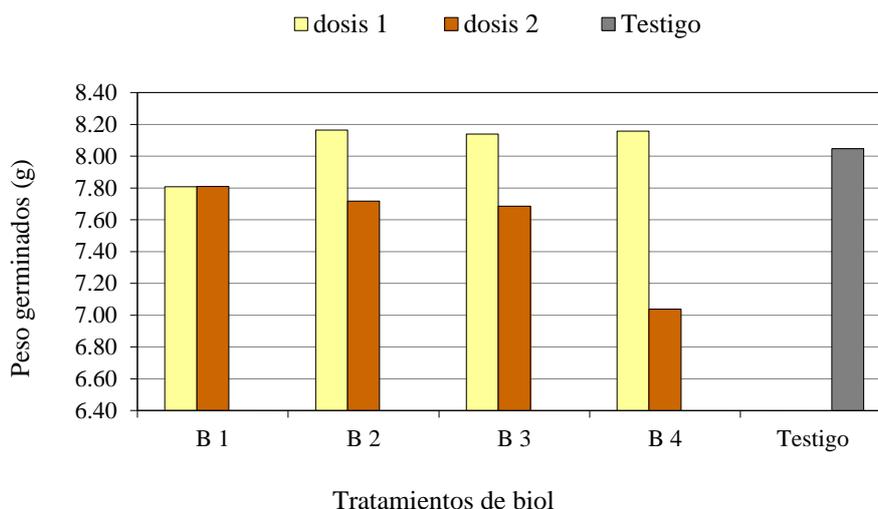


Figura 33: Peso fresco de los germinados de algodón (g): comparativo entre las dosis de 5 y 10 por ciento

El testigo mostró un peso fresco de los germinados de 8.05 g, valor similar al promedio registrado al remojar las semillas en biol a la dosis de 5 por ciento, pero superior al remojarlas a una dosis de 10 por ciento. Cuadro 33.

El peso de los germinados de algodón disminuyó al incrementar la dosis de biol, situación similar a lo observado con el porcentaje de germinación.

Cuadro 33: Peso fresco de los germinados de algodón a dos dosis de biol: 5 y 10 por ciento (g)

Tratamiento	Peso fresco germinados (g)		
	dosis 1	dosis 2	Testigo
B 1	7.8	7.8	
B 2	8.2	7.7	
B 3	8.1	7.7	
B 4	8.2	7.0	
Testigo			8.0

Estadísticamente, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos para la variable peso fresco de los germinados de algodón respecto al testigo. En otras palabras todos los tratamientos de biol a las dos dosis ensayadas tuvieron una respuesta similar al testigo para la variable peso fresco de los germinados. Anexo 9.

4.5.2 LECHUGA

a. Porcentaje de Germinación

La prueba de germinación de lechuga se realizó con la variedad Raven, procedente del Programa de Horticultura de la UNALM. Se utilizaron dos diluciones de biol: dosis 1 (2 por ciento) y dosis 2 (4 por ciento). La CE a la dosis 1 varió entre 0.25 y 0.85 dS/m, mientras que para la dosis 2 fluctuó entre 0.46 y 1.60 dS/m. El Cuadro 34 presenta la CE de los bioles a estas diluciones.

Cuadro 34: Conductividad eléctrica de las diluciones de biol a las dosis de 2 y 4 por ciento (dS/m)

Tratamiento	CE de bioles (dS/m)	
	2%	4%
B1	0.25	0.46
B2	0.72	1.35
B3	0.85	1.60
B4	0.64	1.24

El porcentaje de germinación de las semillas de lechuga fue mayor al remojarlas en biol a la dosis 1 (2 por ciento) variando entre 63 y 67%; siendo menor el porcentaje con la dosis 2 (4 por ciento) fluctuando entre 55 y 67%. Se observó que el porcentaje de germinación disminuyó al incrementarse la dosis de 2 a 4 por ciento, lo que podría deberse al incremento de la CE afectando la germinación de las semillas; Medina (2013) demostró que concentraciones muy altas de los bioles inhiben la germinación de las semillas de lechuga y limitan el crecimiento de la radícula. Cuadro 35.

Cuadro 35: Porcentaje de germinación de semillas de lechuga a dos dosis de biol: 2 y 4 por ciento

Tratamiento	Porcentaje de germinación		
	dosis 1	dosis 2	Testigo
B 1	64.3	54.7	
B 2	64.3	56.0	
B 3	66.7	67.0	
B 4	62.7	57.7	
Testigo			58.0

Los tratamientos B1, B2 y B4A presentaron el mayor porcentaje de germinación a la dosis 1 (dos por ciento). Destacó el tratamiento B3 al mostrar el mayor porcentaje de germinación de lechuga para las dos dosis ensayadas. Figura 34.

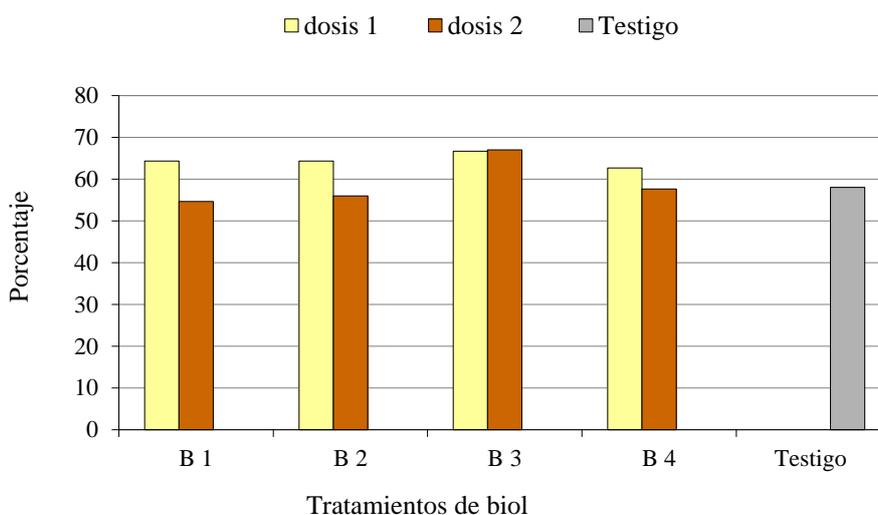


Figura 34: Porcentaje de germinación de semillas de lechuga: comparativo entre las dosis de 2 y 4 por ciento

Estadísticamente para la variable porcentaje de germinación de lechuga, si se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos respecto al testigo. La prueba de Duncan, muestra esta diferencia significativa a favor del tratamiento B3 a las dosis 2 y 1. Anexo 10.

Los resultados de la prueba de Duncan, indican que estas diferencias entre las medias se presentan en tres grupos de tratamientos significativamente diferentes. En el primer grupo, se encuentra el tratamiento B3 para las dosis 1 y 2, registrando los porcentajes de germinación más altos (67,3% y 66.7%), en el segundo grupo se encuentra el testigo y los tratamientos B1 (dosis 1), B2 (dosis 1), B4 (dosis 1 y 2) con medias que van de 64.4% y 57.7%, mientras que el tercer grupo está el tratamiento B1 y B2 a la dosis 2, registrando los menores porcentajes de germinación.

Medina (2013) al investigar el uso de biol, (elaborado con estiércol de ovino), en la germinación de semillas de lechuga, encontró que el uso puro o en concentraciones muy altas de los bioles o bien inhiben la germinación de las semillas o de lo contrario limitan el crecimiento de la radícula de éstas. Encontrando que la dosis óptima es la dilución de 1%.

b. Peso fresco de los germinados

El peso fresco de los germinados de lechuga, remojados a la dosis 1 (2 por ciento) fueron ligeramente superiores respecto a la dosis 2 (4 por ciento). El peso de los germinados variaron entre 0,35 y 0.39 g para la dosis 1 y entre 0.31 y 0.37 g para la dosis 2. El testigo presentó un peso fresco de los germinados de 0.33 g, valor inferior al remojar las semillas a la dosis 1 (2 por ciento). Cuadro 36 y Figura 35.

Cuadro 36: Peso fresco de los germinados de lechuga a dos dosis de biol: 2 y 4 por ciento (g)

Tratamiento	Peso fresco germinados (g)		
	dosis 1	dosis 2	Testigo
B 1	0.36	0.33	
B 2	0.35	0.34	
B 3	0.39	0.37	
B 4	0.37	0.31	
Testigo			0.33

El peso de los germinados de lechuga disminuyó al incrementar la dosis de biol, situación similar a lo observado con el porcentaje de germinación.

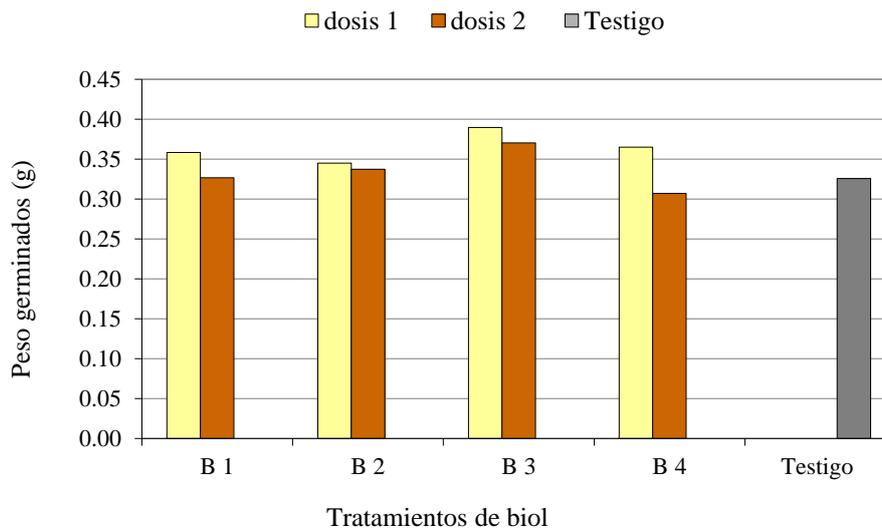


Figura 35: Peso fresco de los germinados de lechuga (g): comparativo entre las dosis de 2 y 4 por ciento

Estadísticamente, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para la variable peso fresco de los germinados de lechuga respecto al testigo. Es decir que todos los tratamientos de biol a las dos dosis ensayadas tuvieron una respuesta similar al testigo. Anexo 11.

4.5.3 ALFALFA

a. Porcentaje de germinación

La prueba de germinación de alfalfa variedad San Pedro, se realizó utilizando dos diluciones de biol: dosis 1 (2 por ciento) y dosis 2 (4 por ciento); similares a las dosis empleadas en la prueba de germinación de lechuga. La CE a la dosis 1 varió entre 0.25 y 0.85 dS/m, mientras que para la dosis 2 fluctuó entre 0.46 y 1.60 dS/m. La CE de los bioles a estas diluciones se presenta en el Cuadro 33.

El porcentaje de germinación de las semillas de alfalfa varió entre 73 y 76% al utilizar la dosis 1 (2 por ciento); mostrando valores muy similares al utilizar la dosis 2 (4 por ciento) fluctuando 74 y 76%. Cuadro 37 y Figura 36.

Cuadro 37: Porcentaje de germinación de semillas de alfalfa a dos dosis de biol: 2 y 4 por ciento

Tratamiento	Porcentaje germinación		
	dosis 1	dosis 2	Testigo
B 1	73.1	73.7	
B 2	73.9	75.7	
B 3	76.4	75.7	
B 4	75.0	75.0	
Testigo			71.7

El testigo mostró un porcentaje de germinación del 72%, valor ligeramente inferior a los porcentajes de germinación de las semillas remojadas en biol.

Estadísticamente, para la variable porcentaje de germinación de alfalfa, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos respecto al testigo. En otras palabras todos los tratamientos de biol a las dosis ensayadas tuvieron una respuesta similar. Los resultados de la prueba de Duncan, muestran que no hay diferencia a favor de ningún tratamiento, mostrando un único grupo. Anexo 12.

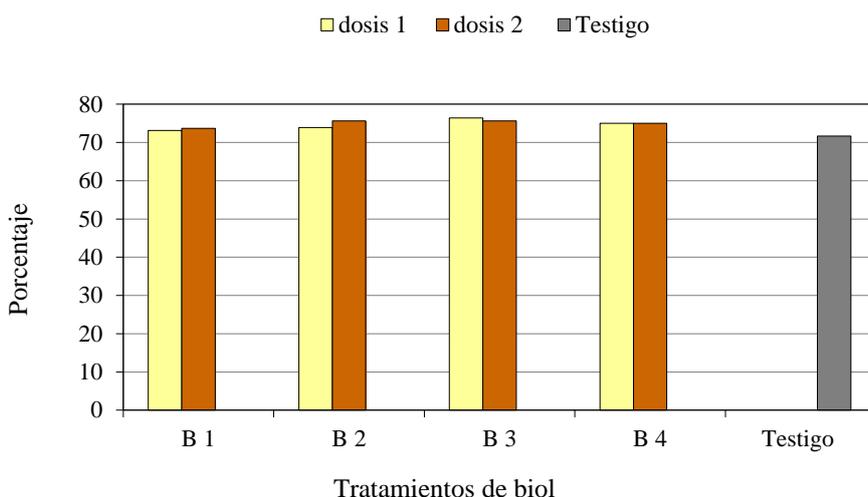


Figura 36: Porcentaje de germinación de semillas de alfalfa: comparativo entre las dosis de 2 y 4 por ciento

b. Peso fresco de los germinados

El peso fresco de los germinados de alfalfa, remojados a la dosis 1 (2 por ciento) fue mayor que a la dosis 2 (4 por ciento). El peso fresco de los germinados para la dosis 1 varió entre 1.49 y 1.63 g; mientras que a la dosis 2 varió entre 1.39 y 1.56 g. El testigo presentó un peso fresco de germinados de 1.43 gr, valor inferior al remojar las semillas a la dosis 1 (2 por ciento). Cuadro 38 y Figura 37.

Cuadro 38: Peso fresco de los germinados de alfalfa a dos dosis de biol: 2 y 4 por ciento (g)

Tratamiento	Peso fresco germinados (g)		
	dosis 1	dosis 2	Testigo
B 1	1.49	1.48	
B 2	1.63	1.56	
B 3	1.49	1.39	
B 4	1.51	1.48	
Testigo			1.43

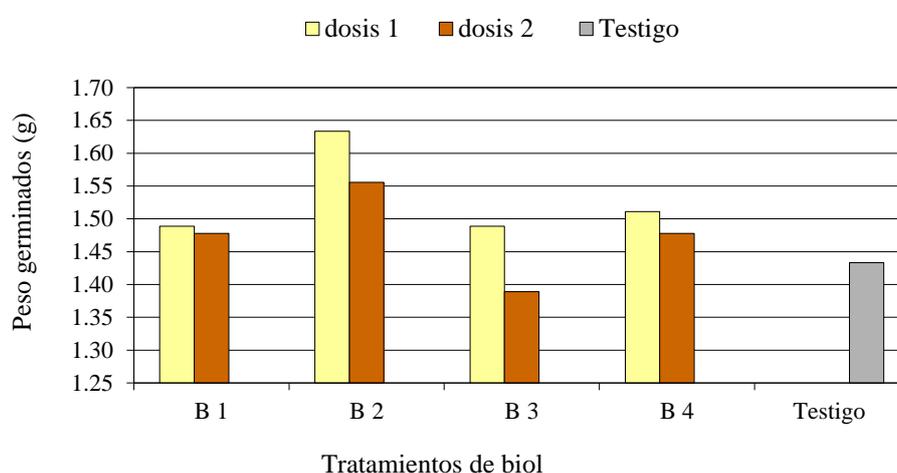


Figura 37: Peso fresco de los germinados de alfalfa (g): comparativo entre las dosis de 2 y 4 por ciento

Estadísticamente, para la variable peso fresco de los germinados de alfalfa, si se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos respecto al testigo. La prueba de Duncan, muestra esta diferencia significativa a favor del tratamiento B2 a las dosis 1(2

por ciento). Los resultados de la prueba de Duncan, indican que estas diferencias se deben a que existen tres grupos significativamente diferentes. En el primer grupo, se encuentra el tratamiento B2 a la dosis 1 al registrar el mayor peso fresco de los germinados de alfalfa (1,63 g), siendo significativamente diferente a los demás tratamientos. El segundo grupo está conformado por los tratamientos B1 (dosis 1 y 2), B2 (dosis 2), B3 (dosis 1) y B4 (dosis 1 y 2). El testigo y el tratamiento B3 (dosis 2), registran los menores valores de peso fresco de los germinados de alfalfa. Anexo 13.

Análisis sobre los resultados de germinación de semillas:

La semilla como organismo vivo, inicia su proceso de germinación, en respuesta a diversos estímulos externos. Este experimento buscó evaluar la respuesta de las semillas al ser remojadas en biol, con la finalidad de comprobar que la presencia de las sustancias precursoras de crecimiento afectaban positivamente la germinación.

En el camino experimental y durante el análisis de los resultados, se pudo ir comprobando la complejidad para establecer una relación directa y específica entre una característica del biol y la respuesta que muestra la planta.

Esto se evidenció claramente en el ensayo de germinación de las semillas, cuando al buscar favorecer que las semillas recibieran la mayor concentración de precursores hormonales (mayor concentración de biol) no fue posible debido a la CE que presentaban los bioles. Es decir que esta característica química determinó principalmente la dosis de dilución a la que podrá aplicarse el biol, considerando la sensibilidad que tienen las plantas a la CE. Es importante considerar que las semillas al ser remojadas en biol diluido, fueron introducidas en soluciones complejas de macro y micronutrientes y, de precursores de crecimiento. Por ello se tornó difícil poder concluir y demostrar que la respuesta de la planta se debe a la presencia de un elemento químico en particular, o aun precursor de crecimiento específico. Las plantas estarían reaccionando al conjunto; es decir a la interacción entre elementos químicos, precursores de crecimiento y población microbiana presentes en el biol.

V. CONCLUSIONES

1. La temperatura mostró un mismo patrón de variación para todos los tratamientos, se incrementó hasta los 88 ddi, luego comenzó a descender y mantuvo valores similares hacia el final del proceso (121 ddi). La temperatura de los bioles en promedio variaron entre 23.5° y 29.1°C; valores que siempre fueron superiores a la temperatura ambiental promedio que fluctuó entre 21.2° y 26.1°C.
2. El color, se fue modificando durante la elaboración de los bioles en los tratamientos B1, B2 y B3, sólo el tratamiento B4 mantuvo el mismo color (olivo). Finalizada la elaboración, los bioles B1, B2 y B3 presentaron el mismo matiz (2.5Y) y los tratamientos B1 y B3 además el mismo value y chroma (2.5Y 5/4). Los colores que describen a los tratamientos B1, B2 y B3 son Pardo olivo y Pardo olivo ligero.
3. El olor, experimentó grandes cambios durante la elaboración de bioles. Al inicio se percibió como *muy desagradable* y *desagradable* y, al término como *normal* y *agradable*. El olor *muy desagradable* estuvo presente sólo hasta los 16 ddi, predominando luego el olor *desagradable* hasta el día 74 ddi a partir del cual migra hacia el olor *normal*, hacia el final del proceso 121 ddi predomina el olor *normal* y se comienza a manifestar el olor *agradable*. Al finalizar, los tratamientos B3 y B4 presentaron similares olores, entre *normal* (50%) y *agradable* (50%); el tratamiento B1 *normal* (100%) y; el B2 entre *normal* (75%) y *desagradable* (25%).
4. La Conductividad Eléctrica, mostró una tendencia de variación incremental similar para todos los tratamientos (independiente de su formulación). El menor valor e incremento de la CE, se observó desde la instalación hacia los 31 ddi; desde este momento hacia los 46 ddi se observó el mayor incremento, para luego presentar escasa variación hacia el final del proceso (121 ddi). Al finalizar, el tratamiento B1 presentó el menor valor promedio (11.4 dS/m) y el menor incremento (6.5 dS/m), mientras que los tratamientos B3, B2 y B4 presentaron valores más altos (29,5; 28,3 y 24.4 dS/m respectivamente) y mayor incremento.
5. El pH presentó similar tendencia de variación para tres tratamientos: B1, B2 y B4, mientras que el tratamiento B3 siguió la misma tendencia sólo hasta los 74 ddi. A la instalación cada tratamiento presentó diferente valor de pH, pero al poco tiempo (16 ddi) éstos eran muy similares, entre los 16 y 60 ddi todos los tratamientos mostraron una fase de acidificación con un rango de valores entre 5.7 y 6.4. A partir de los 60 ddi

hacia el final del proceso, el pH comenzó a incrementarse paulatinamente para los tratamientos B1, B2 y B4 (fluctuando sus valores finales entre 6.6 y 7.3); y sólo el tratamiento B3 se mantuvo ácido (5.7) hasta el final.

6. La curva de variación en el contenido de nitrógeno, mostró una tendencia similar en los tratamientos B2, B3 y B4; el mayor incremento ocurrió hacia los 46 ddi y luego mantuvo valores similares hacia el final del proceso. El contenido de nitrógeno al final (121 ddi) fue superior al inicial (16 ddi) en todos los tratamientos (con un incremento promedio aproximado de 43% respecto al valor inicial). El contenido final fluctuó entre 905 y 3186 mg/L.
7. Las curvas de variación en el contenido de fósforo fueron diferentes para cada tratamiento, por lo que no se observó una tendencia en el comportamiento de este elemento. El contenido de fósforo al final del proceso (121 ddi) fue inferior al inicial (16 ddi) observándose sobre todo un descenso marcado hacia el final (a partir del día 102), en promedio disminuyó un 36% respecto al contenido inicial. El contenido final fluctuó entre 141 y 290 mg/L.
8. Durante la elaboración de los bioles, la variación en el contenido de potasio presentó similar tendencia para todos los tratamientos y experimentó muy poca variación. El mayor contenido de potasio se presentó al inicio (16 ddi), luego experimentó un descenso hasta el día 102, mostrando un ligero incremento hacia el final. Los valores finales son ligeramente inferiores a los iniciales (descendieron en promedio 2% respecto al inicial). El contenido final fluctuó entre 1265 y 4360 mg/L.
9. La variación en el contenido de calcio, muestra una curva con similar tendencia para los tratamientos B4, B3 y B1, sólo el tratamiento B2 tuvo un comportamiento diferente hasta los 74 ddi, luego, todos los tratamientos mostraron similar tendencia hacia el final. El contenido de calcio al finalizar el proceso fue inferior al inicial para todos los tratamientos (con una disminución promedio de 15% respecto al contenido inicial). El contenido final fluctuó entre 491 y 1941 mg/L.
10. El contenido de magnesio no mostró una variación significativa durante todo el proceso, evidente sobre todo en los tratamientos B1, B3 y B4. Por lo que el contenido final de magnesio es muy similar al inicial (descendiendo en promedio un 5% respecto al valor inicial). El contenido final fluctuó entre 216 y 928 mg/L.
11. El contenido de azufre, mostró una variación con similar tendencia hasta los 102 ddi. En los primeros 74 ddi hubo una considerable disminución de su valor y los tratamientos B1, B2 y B4 mantuvieron valores similares hacia el final, mientras que el

- tratamiento B3 mostró un incremento hacia el final. El contenido final de azufre es inferior al inicial para todos los tratamientos. La disminución más notoria se observó en los tratamientos B1, B2 y B4 (descendiendo en promedio 55% respecto a sus valores iniciales), mientras que el tratamiento B3 sólo disminuyó en 8% respecto al valor inicial. El contenido final de azufre varió entre 76 y 622 mg/L.
12. La variación en el contenido de sodio, presentó una curva con similar tendencia para los tratamientos B2, B3 y B4, sólo la curva del tratamiento B1 se mostró diferente. Al finalizar el proceso el contenido de sodio fue superior al inicial en todos los tratamientos; incrementando su valor promedio en 47% para los tratamientos B2 y B4 y en 26% para los tratamientos B1 y B3 respecto al contenido inicial. El contenido final de sodio total disponible fluctuó entre 357 y 1400 mg/L.
 13. La curva de variación en el contenido de hierro fue disímil entre todos los tratamientos, no observándose una tendencia en su comportamiento. El contenido de hierro al final del proceso fue inferior al inicial para los tratamientos B1, B2 y B3, mientras que para el tratamiento B4 el contenido final fue superior al inicial. El contenido final de hierro fluctuó entre 6 y 62 mg/L.
 14. Las curvas de variación en el contenido de cobre y zinc se mostraron muy similares. Las curvas mostraron dos tendencias. Los tratamientos B2 y B4 presentaron una tendencia similar con variaciones marcadas y contenido final superior al inicial; mientras que los tratamientos B1 y B3 presentaron otra tendencia con poca variación durante el proceso siendo el contenido final inferior al inicial (cobre) y con valores finales similares al inicial (zinc). Al final del proceso, el contenido de cobre fluctuó entre 0.3 y 4 mg/L y el de zinc varió entre 1.3 y 8.3 mg/L.
 15. El contenido de manganeso experimentó poca variación durante el proceso, la curva de variación no mostró una tendencia para el comportamiento de este elemento. Los tratamientos B1, B2 y B3 mostraron un contenido final menor al inicial (disminución de 22% en promedio respecto al inicial) y, el tratamiento B4 tuvo un contenido final ligeramente superior al inicial (incremento de 8% en promedio respecto al inicial). El contenido de manganeso al final varió entre 2.7 y 22.8 mg/L.
 16. La curva de variación en el contenido de boro fue similar para todos los tratamientos. Mostró incremento progresivo desde el inicio hasta los 74 ddi, y luego descendió paulatinamente hacia el final. El contenido final de boro fue inferior al inicial para los tratamientos B1, B2 y B3 (disminuyó 15% en promedio respecto al inicial) y

ligeramente superior al inicial para el tratamiento B4 (incremento de 8% respecto al inicial). El contenido de boro al final varió entre 5.8 y 9.4 mg/L.

17. Las curvas de variación poblacional de bacterias mesófilas, se mostraron diferentes entre los tratamientos, no observándose un patrón de variación. Los tratamientos B1 y B4 mostraron una tendencia de incremento gradual en todo el proceso, el tratamiento B2 tuvo un receso en el incremento poblacional entre los días 60 y 88 ddi, y el tratamiento B3 presentó un descenso en la población durante el proceso de digestión y solo hacia el final equiparó su población inicial. La población bacteriana al final del proceso (121 ddi) estuvo en el rango entre $11,24 \text{ E}+05$ y $76,79 \text{ E}+05$ UFC/ml biol.
18. La curva de variación poblacional de hongos mesófilos, se mostró muy diferente para cada tratamiento, por lo que no se pudo observar una tendencia. Los tratamientos B2 y B3, presentaron una disminución poblacional, con una cantidad final muy inferior a la inicial, el tratamiento B1 presentó un incremento mostrando una población final superior a la inicial, y el tratamiento B4 presentó una población final similar a la inicial. La población de hongos al final fluctuó entre 273 y 2870 UFC/ml biol.
19. Las curvas de variación poblacional de actinomicetos, se mostraron diferentes entre los tratamientos, sin poder encontrar una tendencia común. Los tratamientos B2 y B4 mostraron una tendencia similar con diferente amplitud y, los tratamientos B1 y B3 mostraron una tendencia similar a partir del día 60 ddi hacia el final del proceso. Los tratamientos B1, B2 y B4 mostraron una población final superior a la inicial y el tratamiento B3 presentó una población final similar a la inicial. Al final, la población de actinomicetos varió entre $0,88$ y $8,91 \text{ E}+05$ UFC/ml biol.
20. Los bioensayos permitieron confirmar la presencia de sustancias de acción giberélica, auxínica y citocinínica en los bioles elaborados.
Los tratamientos B1, B2 y B4 presentaron sustancias de acción giberélica, y el tratamiento B3 no mostró presencia de esta sustancia, lo que haría suponer que tiene una acción anti giberélica. El contenido promedio varió entre los 5,6 y 7,7 mg/L.
Todos los tratamientos presentaron sustancias auxínicas, el tratamiento B3 presentó el mayor contenido ($9,93 \text{ E}-04 \text{ M}$) y el tratamiento B2 el menor ($2,87 \text{ E}-04 \text{ M}$).
Los tratamientos B1, B3 y B4, presentaron sustancias de acción citocinínicas, sólo el tratamiento B2 no presentó acción citocinínica. El contenido promedio de esta sustancia varió entre $3,15 \text{ E}-04 \text{ M}$ y $6,85 \text{ E}-04 \text{ M}$.
21. El porcentaje de germinación de las semillas de algodón, fue superior al remojar las semillas en biol a la dosis de 5% que a 10%. Estadísticamente se encontraron ligeras

diferencias significativas entre los tratamientos respecto al testigo; la prueba de Duncan muestra una diferencia significativa a favor del tratamiento B4 a la dosis de 5%.

El peso fresco de los germinados de algodón fue mayor al remojar las semillas a la dosis de 5% respecto a la dosis de 10%; sin embargo estadísticamente no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos respecto al testigo.

22. El porcentaje de germinación de lechuga, fue mayor al remojar las semillas en biol a la dosis de 2% que a 4%. Destacó el tratamiento B3 que mostró el mayor porcentaje de germinación respecto a los otros tratamientos. Estadísticamente se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos respecto al testigo. La prueba de Duncan muestra esta diferencia a favor del tratamiento B3 a ambas dosis.

El peso fresco de los germinados de lechuga, fue ligeramente superior a la dosis de 2% respecto a la dosis de 4%. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas para esta variable.

23. El porcentaje de germinación de alfalfa presentó valores similares al remojar las semillas en biol a las dosis de 2 y 4 %. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas para esta variable.

El peso fresco de los germinados de alfalfa fue mayor a la dosis de 2%, destacando el tratamiento B2 para ambas dosis. Estadísticamente, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos respecto al testigo. La prueba Duncan mostró esta diferencia a favor del tratamiento B2 a la dosis de 2%.

VI. RECOMENDACIONES

1. Durante la elaboración de los bioles, se evaluó la población total de microorganismos (bacterias, hongos y actinomicetos) presentes en el proceso. Esta información general, no permitió conocer la diversidad de microorganismos que participan del proceso. Se sugiere a futuro realizar estudios que permitan identificarlos; sobre todo identificar la presencia de microorganismos benéficos para el suelo y cultivos.
2. Con la finalidad de incrementar la carga de microorganismos que garantice la digestión anaerobia, las fórmulas de biol utilizan activadores como levadura, chica o rumen. Se recomienda investigar si la población de microorganismos (cantidad y diversidad) es modificada por esta adición, y si se observan diferencial en el producto final.
3. Este experimento se realizó en condiciones anaeróbicas, sin embargo en la práctica de campo los agricultores elaboran biol bajo diferentes condiciones: anaerobias, mixtas (anaeróbicas y aeróbicas) y aeróbicas. Sería interesante conocer las diferencias que existen en la composición del producto final, resultante entre estas diferentes formas de elaboración.
4. Se dispone de escasa información respecto a la riqueza del biol como fito estimulante. Es un tema que requiere de mayor estudio y profundización.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barrios, F. 2001. Efecto de diferentes concentraciones de biol aplicados al suelo y foliarmente en el cultivo de vainita (*Phaseolus vulgaris* L.) Tesis Ing. Agr., Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina - UNALM. 63p.

Bernal, M. y Rojas, P. 2014. Optimización del proceso de elaboración y el uso de los abonos biofermentados (biol) (en línea). Tesis Ing. Agr. Cuenca, EC. Universidad de Cuenca. 130 p. Consultado 26 ago. 2016. Disponible en <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/5479>

Benzing, A. 2001. Agricultura Orgánica - Fundamentos para la región andina. Ed. Neekar-Verlag, Villingen-Schwenningen. DE. 682 p.

Bonten, L; Zwart, K.; Rietra, R; Postma, R; de Haas, M. 2014. Bio-slurry as fertilizer; Is bio-slurry from household digester a better fertilizer than manure? A literature review (en línea). Wageningen, Alterra Wageningen UR (University & Research centre), Alterra report 2519. 46p. Consultado 7 set. 2016. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/268148367_Bioslurry_as_a_fertilizer

Carhuancho, F. 2012. Aprovechamiento del estiércol de gallina para la elaboración de biol en biodigestores tipo batch como propuesta al manejo de residuo avícola. Tesis Ing. Amb. Lima, PE. UNALM. 148 p. Consultado 5 set. 2016. Disponible en <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/1769>

Carrillo, L. 2003. Microbiología Agrícola. Universidad Nacional de Salta. AR. Consultado 19 oct. 2009. Disponible en <http://www.unsa.edu.ar/matbib>

Carrillo, L. 2004. Energía de Biomasa. Edición del autor. S.S. Jujuy, AR. 82 p. Consultado 29 oct. 2016. Disponible en http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files/energia%20biomasa_0.pdf.

p. 25. Fuente original: Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Brock. 2003- Biology of Microorganisms. 10ª edición. Prentice HallPearson Education Inc, Upper Saddle River.

p. 30. Fuente original: National Research Council Report 1977. Methane Generation from Human, Animal, and Agricultural Wastes. National Academy of Sciences, Washington.

p. 34. Fuente original: Taiganides EP 1980. Biogas: recuperación de energía de los excrementos animales. Zootecnia 35: 2-12.

Colque, T; Rodriguez, D; Mujica, A; Canahua, A; Apaza, V; Jacobsen S. 2005. Producción de biol: Abono líquido natural y ecológico. (En línea) INIA-EE Illpa, Puno, Perú. 16 p. Consultado 29 oct. 2009. Disponible en <http://www.quinoa.life.ku.dk/~media/Quinoa/docs/pdf/Outreach/ManualBiolfinal.ashx>

De Groot, L; Bogdanski, A. 2013. Bioslurry = Brown Gold?: A review of scientific literature on the co-product of biogas production (en línea). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Rome, IT. 45p. Consultado 1 abr. 2016. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/018/i3441e/i3441e.pdf>

Felipe-Morales, C; Moreno, U. 2005. Producción de biogás con estiércol de cuy (en línea). LEISA. Revista de Agroecología 21 (1) p. 23-24. Consultado 30 ago. 2016. Disponible en http://www.agriculturesnetwork.org/magazines/latin-america/energia-en-la-finca/produccion-de-biogas-con-estiercol-de-cuy/at_download/article_pdf

FONCODES (Fondo de Cooperación para el Desarrollo Social, PE); PACC Perú (Programa de Adaptación al Cambio Climático, PE). 2014. Producción y uso de abonos orgánicos: Biol, compost y humus (en línea). Manual técnico N° 5. 43 p. Consultado 2 abr. 2016. Disponible en <http://www.paccperu.org.pe/publicaciones/pdf/126.pdf>

Gerardi, M. 2003. The Microbiology of Anaerobic Digester (en línea). New Jersey, US. WILEY. 188 p. (Wastewater Microbiology Series). Consultado 1 abr. 2016. Disponible en <http://es.bookzz.org/book/544947/69db96>

Gomero, L. 2005. Los biodigestores campesinos, una innovación para el aprovechamiento de los recursos orgánicos (en línea). LEISA. Revista de Agroecología. 21 (1) p. 25-27. Consultado 2 ene. 2016. Disponible en http://www.agriculturesnetwork.org/magazines/latin-america/energia-en-la-finca/los-biodigestores-campesinos-una-innovacion-para/at_download/article_pdf

Guevara, A. 1996. Fundamentos básicos para el diseño de biodigestores anaeróbicos rurales. Producción de gas y saneamiento de efluentes (en línea) Lima, PE. CEPIS. 80 p. Consultado 29 oct. 2009. Disponible en <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/scan2/031042/031042.pdf>.

INIA (Instituto Nacional de Investigación Agraria). 2008. Producción y uso de biol: folleto. Serie N° 2: Tecnologías innovativas apropiadas a la conservación insitu de la agrobiodiversidad. 1 ed. Lima, PE. 11 p.

Kossmann, W; Pönitz, U; Habermehl, S; Hoerz, T; Krämer, P; Klinger, B; Keller, C; Wittur, T; von Klopotek, F; Krieg, A; Euler, H. s.f. Biogas Digest vol. I: Biogas Basics. ISAT - GTZ. 46 p. Consultado 25 ago. 2016. Disponible en http://biogas.ifas.ufl.edu/ad_development/documents/biogasdigestvoll.pdf

Kossmann, W; Pönitz, U; Habermehl, S; Hoerz, T; Krämer, P; Klinger, B; Keller, C; Wittur, T; von Klopotek, F; Krieg, A; Euler, H. s.f. Biogas Digest vol. II: Biogas-Application and Product Development. ISAT - GTZ. 81 p. Consultado 31 ago. 2016. Disponible en http://www.pseau.org/outils/ouvrages/giz_biogas_digest_volume_ii_biogas_application_and_product_development_1998.pdf

Lorenzo, Y; Obaya, M. 2005. La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte 1 (en línea). ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar. 39(1): 35-48. La Habana, CU. Consultado 12 abr. 2016. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120659006>

Marchaim, U. 1992. Biogas processes for sustainable development (en línea). FAO Agricultural Services Bulletin No 95. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Rome, IT. Consultado 15 abr. 2016. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-t0541e/T0541E00.htm>

Martí H., J. 2008. Biodigestores familiares: Guía de diseño y manual de instalación. Biodigestores de polietileno tubular de bajo costo para trópico, valle y altiplano. La Paz, BO. GTZ - Proagro. 85p. Consultado 28 oct. 2009. Disponible en <http://www.bivica.org/upload/biodigestores-familiares.pdf>

Martí O., N. 2006. Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process (en línea). Dissertation.com. Boca Raton, Florida, USA. Consultado 7 set. 2016. Disponible en <http://www.bookpump.com/dps/pdf-b/1123329b.pdf>

Medina Vargas, A. 1990. El Biol: Fuente de Fitoestimulantes en el Desarrollo Agrícola. Cochabamba, BO. Programa Especial de Energías UMSS-GTZ. 77p. p. 58. Fuente original: Medina y Zegarra 1987?. El Biol en la Agricultura Tecnificada. Simposio sobre Biogas y derivados, Pucallpa, PE.

Medina Valdiviezo, A. 2013. Evaluación de la calidad de biol de segunda generación de estiércol de ovino producido a través de biodigestores. Tesis Ing. Amb. Lima, PE. UNALM. 143 p.

Möller, K., Müller, T., 2012. Effects of anaerobic digestion on digestate nutrient availability and crop growth: A review (en línea). Engineering in Life Sciences 12(3), 242-257. Consultado 7 set. 2016. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/232322621_Effects_of_anaerobic_digestion_on_digestate_nutrient_availability_and_crop_growth_A_review

Fuente original:

Liu W; Yang, Q; Du, L. 2009. Soilless cultivation for high-quality vegetables with biogas manure in China: feasibility and benefit analysis. Renew. Agr. Food Syst. 24, 300-307.

Yu, F; Luo, X; Song, C; Zhang, M; Sahn, S. 2010. Concentrated biogas slurry enhanced soil fertility and tomato quality. *Acta Agric. Scand. Sect. B Soil Plant Sci.* 60, 262-268.

Piamonte, R.; Flores, P. 2000. Biofertilizante líquido enriquecido. Folleto de divulgación. Instituto de Desarrollo y Medio Ambiente (IDMA). Lima, PE. 40 p.

_____. 2009. Biofertilizante líquido: Conceptos y prácticas. 5 p. Sin publicar.

Ramos, F. 2004. Efecto de Bioles en la producción de maíz morado. Tesis Ing. Agr. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina-UNALM. 101p.

Robalino, H. 2011. Evaluación de la Actividad Biológica y Nutricional del Biol en diferentes formulaciones y la respuesta a su aplicación en cultivos de arroz (*Oriza sativa*) y maíz (*Zea mays*), en Guayas (en línea). Tesis Mg. Biotecnología Agr. Guayaquil. EC. Escuela Superior Politécnica del Litoral-ESPOL. 77p. Consultado 15 abr. 2016. Disponible en <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/16917>

Siura, S; Montes, I; Dávila, S. 2009. Efecto del biol y la rotación con abono verde (*Crotalaria juncea*) en la producción de espinaca (*Spinacea oleracea*) bajo cultivo orgánico (en línea). *Anales científicos UNALM* 70 (1):1-8. Lima, PE. Consultado 29 mar. 2016. Disponible en <http://revistascientificasunalm.org/index.php/cientificos/article/viewFile/331/149>

Soria, M; Ferrera-Cerrato, R; Etchevers, J; Alcántar, G; Santos, J; Borges, L; Pereyda, G. 2001. Producción de biofertilizantes mediante digestión de excreta líquida de cerdo (en línea). *Terra Latinoamericana* 19(4):353-362. Chapingo, MX. Consultado 5 abr. 2016. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57319408>

Fuente original: McCaskey, A.T. 1990. Microbiological and chemical pollution potential of swine waste. pp. 12-32. In: *Memorias del Primer Ciclo Internacional de Conferencias sobre Manejo y Aprovechamiento de Estiércol de Cerdos*. CINVESTAV. Guadalajara, Jal., MX.

Tabla de Colores Munsell. Consultado 2 set. 2016. Disponible en
http://www.edafologia.net/programas_suelos/practclas/horsol/comun/munsells.htm
http://www.edafologia.net/programas_suelos/practclas/horsol/comun/m25y.htm
http://www.edafologia.net/programas_suelos/practclas/horsol/comun/m5y.htm
http://www.edafologia.net/programas_suelos/practclas/horsol/comun/m10yr.htm

Toalombo, M. 2013. Aplicación de abonos orgánicos líquidos tipo biol al cultivo de mora (*Rubus glaucus* Benth) (en línea). Tesis Ing. Agr. Ambato, EC. Universidad Técnica de Ambato. 92 p. Consultado 14 abr. 2016. Disponible en
<http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/6490>

Varnero, M. 2011. Manual de biogás (en línea). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Ministerio de Energía (MINENERGIA), Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), Global Environment Facility (GEF). Santiago de Chile, CL. 120 p. Consultado 4 abr. 2016. Disponible en:
www.fao.org/docrep/019/as400s/as400s.pdf

Fuente original: Hansen M.N., Birkmose T., Mortensen B. y Skaaning K. 2004. Environmental effects of anaerobic digestion and separation of slurry - odour, ammonia emission and nitrogen utilisation. Correll, A. (Ed.) Grøn Viden, Markbrug, no. 296. Danish Institute of Agricultural Sciences, Dep. of Agricultural Engineering.

Warnars, L; Oppenoorth, H. 2014. Bioslurry: A supreme fertiliser. A study on bioslurry results and uses (en línea) s.l. Hivos. 52 p. Consultado 5 abr. 2016. Disponible en
https://www.hivos.org/sites/default/files/bioslurry_book.pdf

Wong, M. y Jimenez, E. 2009. Comparación del efecto de 2 biofertilizantes líquidos a base de estiércol caprino y vacuno sobre parámetros de crecimiento de algarrobo (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC) en fase de vivero (en línea). ESPOL. Guayaquil. EC. Consultado 14 abr. 2016. Disponible en <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/509>

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: DATOS METEOROLÓGICOS DE TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA PARA EL PERÍODO DICIEMBRE 2009 A ABRIL 2010

Dia/Variable/Año	Dic 2009				Ene 2010				Feb 2010				Mar 2010				Abr 2010			
	Temperatura Prom (°C)	Temp. Maxima (°C)	Temp. Minima (°C)	Humedad Relativa Prom (%)	Temperatura Prom (°C)	Temp. Maxima (°C)	Temp. Minima (°C)	Humedad Relativa Prom (%)	Temperatura Prom (°C)	Temp. Maxima (°C)	Temp. Minima (°C)	Humedad Relativa Prom (%)	Temperatura Prom (°C)	Temp. Maxima (°C)	Temp. Minima (°C)	Humedad Relativa Prom (%)	Temperatura Prom (°C)	Temp. Maxima (°C)	Temp. Minima (°C)	Humedad Relativa Prom (%)
1	20.30	24.00	16.50	84	20.90	23.00	17.70	88	22.90	25.80	17.80	83	24.40	27.80	19.40	78	25.60	29.90	18.40	67
2	19.30	22.70	17.20	88	21.30	22.90	19.30	87	23.20	26.90	20.80	80	24.20	27.60	18.00	77	25.20	28.80	17.80	70
3	19.40	21.60	17.10	88	21.60	24.90	17.00	86	24.20	27.80	20.40	75	24.20	26.70	20.70	82	24.90	29.00	17.50	72
4	18.70	20.40	17.20	89	24.00	27.30	19.60	76	25.60	29.40	18.00	74	23.50	27.60	20.00	82	24.20	27.90	17.50	75
5	18.60	21.10	16.80	88	22.00	25.80	20.00	84	25.50	29.60	20.80	74	23.90	27.30	19.90	81	24.60	28.60	20.00	71
6	20.80	25.10	17.10	79	23.20	27.20	19.80	82	24.80	26.80	21.20	78	22.50	24.50	20.60	85	24.40	28.50	19.40	74
7	20.00	23.50	16.70	83	20.80	22.80	18.20	90	26.30	30.20	20.70	72	24.20	28.30	19.00	80	24.00	27.60	19.20	75
8	19.80	21.40	17.30	86	20.90	22.60	19.60	89	24.80	27.30	21.50	79	25.10	29.00	19.40	77	23.40	27.20	18.80	77
9	22.60	26.30	18.30	76	24.70	28.50	19.90	76	23.10	24.90	21.20	84	23.60	27.30	20.80	81	23.90	27.50	18.40	73
10	18.80	20.50	17.50	90	22.40	24.40	20.10	86	23.60	27.40	21.00	82	25.30	28.90	20.80	77	23.50	27.50	17.50	74
11	19.80	22.90	17.10	84	22.50	24.80	20.00	85	27.60	32.20	21.00	67	25.20	28.90	20.50	77	24.80	28.90	18.00	71
12	19.00	20.90	17.00	86	22.60	24.50	20.20	86	27.20	30.00	22.40	64	24.70	28.10	21.50	79	23.90	28.50	17.60	74
13	18.40	20.80	17.10	89	22.30	24.80	20.10	85	25.90	29.80	20.40	75	25.40	28.20	20.90	78	26.20	30.10	19.60	64
14	20.60	23.90	17.40	81	22.20	24.50	20.20	87	26.10	30.60	20.10	77	25.00	28.90	19.00	76	27.00	31.60	18.20	64
15	21.20	24.70	15.10	78	23.90	28.10	18.80	81	24.40	29.60	20.40	82	23.20	26.40	19.20	80	24.60	28.50	19.60	77
16	22.30	25.80	16.10	78	21.20	21.80	20.40	90	26.60	30.50	21.50	71	22.50	24.50	21.00	85	24.80	30.20	17.40	70
17	22.30	25.80	17.50	78	22.80	25.60	20.10	83	26.10	30.20	21.30	73	24.50	28.80	20.80	85	23.00	26.10	18.80	79
18	22.90	26.40	17.20	75	22.10	23.80	19.80	84	26.10	29.60	20.30	74	24.30	28.50	20.00	79	21.80	26.20	17.50	82
19	21.90	25.00	18.10	84	22.40	24.80	19.00	84	24.60	28.30	19.40	80	25.90	29.60	22.20	74	21.90	24.90	18.10	82
20	22.40	25.10	19.20	83	24.90	28.70	18.70	76	24.60	28.30	20.30	80	25.90	29.80	20.00	70	21.20	25.60	16.90	82
21	21.20	22.40	19.70	87	23.40	27.20	18.40	83	24.90	28.50	20.30	81	24.70	28.50	18.90	75	21.40	25.60	16.40	80
22	20.50	21.30	18.90	88	22.40	25.80	19.70	85	25.00	29.90	20.70	81	25.30	30.20	20.00	73	22.30	25.50	16.20	76
23	20.80	22.00	18.90	86	23.10	26.10	20.20	79	25.00	29.20	21.00	78	26.50	29.50	21.00	68	20.40	25.20	16.20	78
24	20.40	21.40	18.90	87	24.90	29.30	19.90	71	26.80	31.00	19.90	69	25.50	29.20	19.40	72	21.80	26.00	15.40	78
25	20.70	22.60	18.60	87	24.50	30.30	18.40	76	26.00	30.80	19.50	71	26.40	29.80	19.00	69	21.80	26.00	16.40	79
26	21.70	26.80	19.20	83	24.80	28.40	19.90	77	25.50	28.90	21.10	76	25.90	28.90	20.40	71	22.50	26.60	16.80	77
27	22.00	24.60	19.80	81	22.60	25.00	20.00	85	25.90	29.80	19.60	72	26.00	29.40	20.40	70	21.80	25.40	17.00	81
28	23.20	26.90	18.20	74	23.50	25.80	21.30	81	24.30	28.00	19.00	81	24.70	28.60	19.00	74	22.90	27.00	17.00	76
29	23.70	27.00	20.00	74	24.50	28.40	21.10	76					23.70	27.20	19.00	75	22.80	27.50	16.90	74
30	22.60	25.80	17.00	76	26.40	30.30	21.00	71					23.60	27.00	19.40	73	24.10	27.90	17.90	70
31	22.40	26.00	16.50	79	25.60	29.00	19.40	74					25.30	29.90	18.00	68				

Fuente: Observatorio Meteorológico A. Von Humboldt – Universidad Nacional Agraria La Molina. Lat: 12°05s – Long: 76° 57'w – Alt: 243.7 msnm.

ANEXO 2: RECUENTO FOTOGRÁFICO DEL PROCESO DE CARGA DE LOS BIODIGESTORES ARTESANALES



ANEXO 3: RESULTADO DE LOS ANÁLISIS QUÍMICOS REALIZADO A LOS BIOLES DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN

Nitrógeno (mg/L)

Tratamientos	Repetición	Número de días después de la instalación				
		16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B1	11	694.40	772.80	840.00	896.00	856.80
	12	716.80	784.00	1008.00	918.40	912.80
	13	672.00	716.80	868.00	912.80	946.40
B2	21	1607.20	2352.00	2307.20	2441.60	2615.20
	22	1288.00	2156.00	1668.80	2060.80	2184.00
	23	1484.00	2318.40	2156.00	2296.00	2161.00
B3	31	2212.00	2940.00	3108.00	3292.80	3416.00
	32	1960.00	3152.80	3472.00	3136.00	3438.40
	33	2744.00	3136.00	2312.80	2884.00	2704.80
B4	41	1120.00	1271.00	1276.80	1545.60	1400.00
	42	784.00	1400.00	1108.80	1304.80	1344.00
	43	1047.20	1332.80	1248.80	1512.00	1484.00

Fósforo (mg/L)

Tratamientos	Repetición	Número de días después de la instalación				
		16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B1	11	160.36	206.03	197.88	167.08	87.53
	12	154.95	226.72	226.19	124.98	118.03
	13	153.15	183.62	204.96	193.88	218.48
B2	21	412.61	426.72	104.07	163.25	180.81
	22	592.79	575.00	130.62	285.74	257.94
	23	542.34	481.90	166.02	140.29	157.49
B3	31	381.98	376.72	358.94	364.21	293.81
	32	427.03	375.00	367.79	515.41	333.27
	33	326.29	250.86	281.06	285.74	243.59
B4	41	286.29	301.32	323.54	479.04	324.30
	42	231.05	248.46	266.90	193.88	100.09
	43	263.43	245.60	289.91	170.91	209.51

Potasio (mg/L)

Tratamientos	Repetición	Número de días después de la instalación				
		16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B1	11	1220	1204	1192	1256	1256
	12	1212	1320	1188	1136	1288
	13	1192	1192	1252	1220	1252
B2	21	5320	3840	4640	3640	4960
	22	4160	3440	3200	3760	3680
	23	4920	4480	4120	4240	4440
B3	31	3520	2480	2640	2880	3280
	32	2360	3040	2680	2880	3400
	33	3560	3160	2640	2440	3320
B4	41	3440	2440	2680	2840	3600
	42	4040	3960	3640	2760	3840
	43	4160	4000	3240	3080	3880

Calcio (mg/L)

Tratamientos	Repetición	Número de días después de la instalación				
		16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B1	11	588.00	580.00	860.00	548.40	425.60
	12	578.80	619.60	860.00	507.20	483.60
	13	559.20	552.80	824.00	606.00	564.00
B2	21	1596.00	1880.00	1820.00	1748.00	1756.00
	22	1936.00	2224.00	1764.00	1788.00	1540.00
	23	1740.00	2108.00	1996.00	1452.00	1136.00
B3	31	1620.00	1268.00	1880.00	1472.00	1304.00
	32	1716.00	1192.00	1880.00	1476.00	1428.00
	33	1860.00	1260.00	1968.00	1344.00	1448.00
B4	41	1916.00	2276.00	2708.00	2528.00	2208.00
	42	2520.00	1780.00	2892.00	1924.00	1712.00
	43	2264.00	2012.00	2976.00	2212.00	1904.00

Magnesio (mg/L)

Tratamientos	Repetición	Número de días después de la instalación				
		16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B1	11	228.00	228.00	228.00	240.00	208.00
	12	232.00	252.00	240.00	224.00	216.00
	13	220.00	220.00	236.00	240.00	224.00
B2	21	120.00	1320.00	1040.00	1160.00	1040.00
	22	96.00	1000.00	820.00	880.00	784.00
	23	116.00	1280.00	1120.00	1000.00	960.00
B3	31	492.00	492.00	508.00	504.00	476.00
	32	504.00	480.00	520.00	544.00	516.00
	33	536.00	500.00	516.00	480.00	512.00
B4	41	768.00	820.00	820.00	880.00	920.00
	42	804.00	816.00	840.00	1000.00	880.00
	43	920.00	868.00	960.00	920.00	880.00

Sodio (mg/L)

Tratamientos	Repetición	Número de días después de la instalación				
		16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B1	11	288.00	296.00	312.00	324.00	360.00
	12	284.00	348.00	312.00	340.00	344.00
	13	280.00	312.00	324.00	324.00	368.00
B2	21	1088.00	1136.00	1236.00	1128.00	1520.00
	22	808.00	828.00	928.00	820.00	960.00
	23	1012.00	1052.00	1188.00	1108.00	1720.00
B3	31	788.00	820.00	916.00	836.00	940.00
	32	848.00	840.00	1012.00	924.00	1144.00
	33	840.00	860.00	976.00	800.00	1044.00
B4	41	764.00	852.00	968.00	852.00	1056.00
	42	956.00	1004.00	1164.00	1072.00	1520.00
	43	964.00	1036.00	1180.00	1072.00	1480.00

Azufre (mg/L)

Tratamientos	Repetición	Número de días después de la instalación				
		16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B1	11	114.00	69.33	68.00	100.67	58.67
	12	106.67	96.67	87.33	78.00	74.67
	13	193.33	72.00	88.00	98.67	95.33
B2	21	586.67	466.67	171.33	160.00	194.67
	22	700.00	533.33	193.33	231.33	279.33
	23	733.33	453.33	174.00	144.00	182.00
B3	31	633.33	446.67	369.33	372.00	560.00
	32	686.67	506.67	364.67	376.00	773.33
	33	713.33	426.67	346.67	328.00	533.33
B4	41	440.00	213.33	264.67	286.67	388.67
	42	760.00	275.00	334.67	272.67	225.33
	43	540.00	215.00	313.33	190.67	198.67

Fierro (mg/L)

Tratamientos	Repetición	Número de días después de la instalación				
		16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B1	11	8.40	7.44	12.24	14.44	6.04
	12	7.36	8.64	16.24	12.32	7.20
	13	6.16	9.92	7.92	8.08	5.44
B2	21	29.32	43.84	18.12	47.68	29.16
	22	69.20	144.80	37.88	157.20	81.12
	23	35.72	67.04	20.64	38.72	27.00
B3	31	34.16	24.12	32.56	53.12	33.36
	32	38.32	24.92	33.84	43.72	27.72
	33	39.60	22.76	26.28	26.72	23.36
B4	41	29.32	52.04	31.92	122.40	78.60
	42	29.64	21.20	24.80	22.52	32.16
	43	17.32	21.00	25.36	59.12	76.08

Cobre (mg/L)

Tratamientos	Repetición	Número de días después de la instalación				
		16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B1	11	0.76	0.64	0.68	0.84	0.44
	12	0.60	0.68	0.76	0.56	0.52
	13	0.56	0.60	0.44	0.44	0.44
B2	21	2.12	4.92	1.80	2.36	3.92
	22	2.60	5.36	2.44	3.88	4.68
	23	2.44	5.96	2.28	2.56	3.44
B3	31	0.60	0.44	0.28	0.40	0.36
	32	1.16	0.48	0.32	0.44	0.40
	33	1.04	0.44	0.24	0.32	0.28
B4	41	2.24	6.08	1.36	5.88	3.92
	42	1.68	1.40	1.12	1.48	2.36
	43	1.72	1.80	1.44	3.12	5.52

Zinc (mg/L)

Tratamientos	Repetición	Número de días después de la instalación				
		16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B1	11	1.52	1.84	2.04	2.04	1.28
	12	1.64	2.08	3.48	2.04	1.68
	13	1.32	2.44	1.36	1.20	1.08
B2	21	2.88	9.24	4.04	5.76	8.04
	22	2.88	16.40	5.20	15.20	10.68
	23	3.68	14.00	4.20	5.80	6.16
B3	31	1.16	1.08	3.48	3.28	3.08
	32	2.44	1.40	1.56	1.48	1.44
	33	2.44	1.68	1.48	0.92	2.60
B4	41	2.84	6.64	3.12	15.20	8.84
	42	1.92	3.48	2.64	2.68	5.44
	43	1.84	3.56	2.88	5.52	8.60

Manganeso (mg/L)

Tratamientos	Repetición	Número de días después de la instalación				
		16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B1	11	3.32	3.48	3.20	3.32	2.04
	12	3.28	3.80	3.72	2.88	2.64
	13	3.00	3.08	3.08	3.24	3.32
B2	21	10.72	17.12	7.68	10.28	9.92
	22	13.56	18.92	5.68	11.20	11.96
	23	11.56	19.20	8.00	6.40	6.56
B3	31	9.36	7.84	7.84	7.84	7.08
	32	11.36	6.84	6.68	6.88	6.52
	33	10.00	7.00	7.44	7.16	7.20
B4	41	20.16	29.20	23.28	32.00	33.76
	42	20.36	20.08	22.92	14.68	12.60
	43	22.72	21.48	22.88	16.20	22.00

Boro (mg/L)

Tratamientos	Repetición	Número de días después de la instalación				
		16 ddi	46 ddi	74 ddi	102 ddi	121 ddi
B1	11	6.27	7.64	10.74	6.89	6.36
	12	5.87	7.60	10.49	6.48	6.06
	13	6.64	7.24	9.41	7.10	4.87
B2	21	12.26	11.36	17.62	10.38	8.34
	22	10.34	11.34	13.92	8.97	8.12
	23	10.70	11.54	20.36	9.92	7.64
B3	31	7.30	7.20	10.22	6.81	6.23
	32	7.05	7.15	10.14	7.02	6.04
	33	7.30	7.91	14.72	6.70	7.32
B4	41	8.10	10.08	20.04	10.04	8.73
	42	8.20	10.98	16.66	10.16	9.62
	43	9.67	15.16	20.04	9.06	9.75

ANEXO 4: RESULTADO DE LOS ANÁLISIS DE POBLACIÓN MICROBIANA REALIZADO A LOS BIOLES DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN

Bacterias: Organismos mesófilos totales (UFC/ml biol) E+05

Tratamiento	Repetición	Número de días después de la instalación			
		31 ddi	60 ddi	88 ddi	121 ddi
B 1	T-11	7.75	11.98	77.32	31.86
	T-12	1.40	35.52	10.73	101.31
	T-13	7.00	10.00	9.71	4.31
B 2	T-21	29.60	15.21	1.60	82.36
	T-22	73.66	102.91	82.52	36.77
	T-23	2.36	16.97	49.12	111.25
B 3	T-31	12.23	0.38	16.36	31.20
	T-32	6.35	4.36	2.80	2.40
	T-33	15.00	10.41	1.96	0.13
B 4	T-41	10.83	5.73	56.96	59.76
	T-42	3.90	0.37	3.98	4.10
	T-43	3.35	15.16	1.16	2.28

Hongos: Organismos mesófilos totales (UFC/ml biol) E+03

Tratamiento	Repetición	Número de días después de la instalación			
		31 ddi	60 ddi	88 ddi	121 ddi
B 1	T-11	0.03	0.03	4.75	7.13
	T-12	0.10	3.61	1.03	1.25
	T-13	0.38	0.29	0.30	0.23
B 2	T-21	1.69	0.36	0.03	0.03
	T-22	52.06	5.88	0.53	0.78
	T-23	0.01	0.29	0.10	0.01
B 3	T-31	0.01	0.39	0.10	0.13
	T-32	51.16	0.03	1.74	0.18
	T-33	0.01	0.01	67.81	1.05
B 4	T-41	0.05	0.23	0.36	1.01
	T-42	0.77	0.01	2.88	0.95
	T-43	2.90	18.93	1.43	2.11

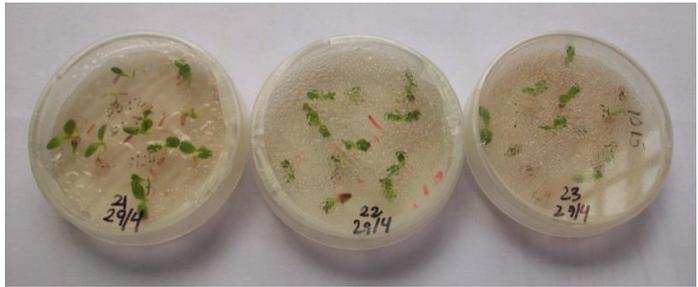
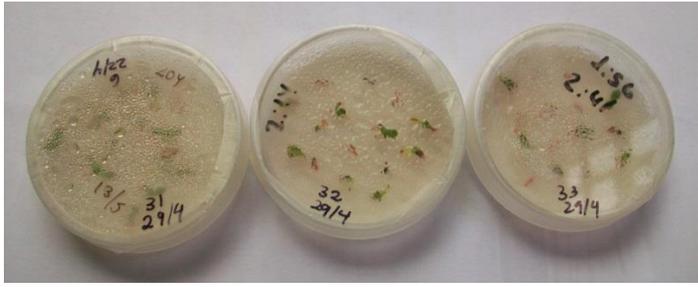
Actinomicetos: Organismos mesófilos totales (UFC/ml biol) E+05

Tratamiento	Repetición	Número de días después de la instalación			
		31 ddi	60 ddi	88 ddi	121 ddi
B 1	T-11	0.950	7.580	8.690	2.530
	T-12	0.001	2.920	4.420	6.720
	T-13	0.001	0.660	2.010	0.700
B 2	T-21	3.300	2.630	0.130	5.040
	T-22	1.330	3.950	2.310	4.530
	T-23	0.150	16.970	0.750	17.150
B 3	T-31	1.430	0.380	4.660	1.910
	T-32	0.100	0.100	0.650	0.700
	T-33	0.300	0.030	0.030	0.030
B 4	T-41	0.880	5.760	0.375	5.550
	T-42	0.100	0.050	0.230	0.410
	T-43	0.100	3.500	0.060	0.840

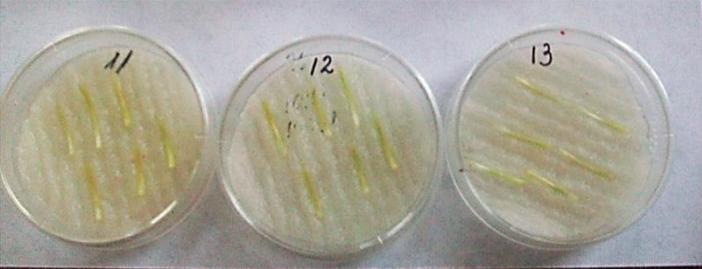
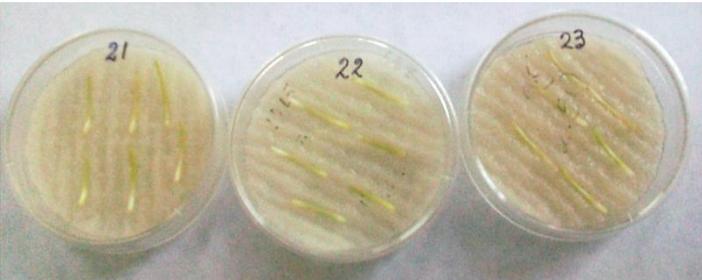
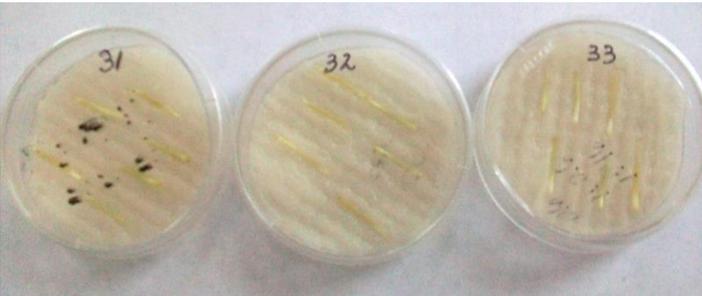
ANEXO 5: RESULTADO DE BIOENSAYOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS DE ACTIVIDAD AUXÍNICA, GIBERÉLICA Y CITOCINÍNICA.

Tratamiento	Repetición	Giberelinas (mg/L)	Auxinas (M)	Citocininas (M)
B1	M - 11	14.68	0.000445475	0.00083308
	M - 12	3.06	0.000397255	0.00054737
	M - 13	-0.78	0.000441766	0.00067368
B2	M - 21	4.79	0.000222923	-0.00010827
	M - 22	9.45	0.000204377	-2.7068E-05
	M - 23	8.86	0.000434347	8.4211E-05
B3	M - 31	-1.83	0.000823813	0.00016842
	M - 32	-2.22	0.000927671	0.00077594
	M - 33	-2.86	0.001228116	0.00055639
B4	M - 41	-3.60	0.000619807	-7.5188E-05
	M - 42	7.15	0.000693991	0.00024962
	M - 43	14.90	0.001265208	0.00076992

ANEXO 6: RECUESTO FOTOGRÁFICO DE LOS BIOENSAYOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS DE ACCIÓN GIBERÉLICA, AUXÍNICA Y CITOCINÍNICA

Determinación de Giberelinas	
B1	
B2	
B3	
B4	

Determinación de Sustancias Auxínicas

B1	
B2	
B3	
B4	

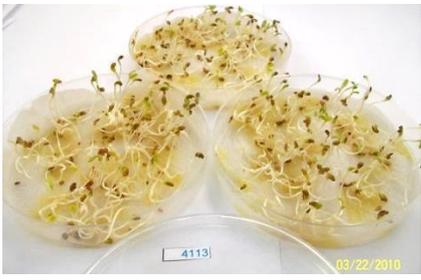
Determinación de Sustancias Citocinínicas



ANEXO 7: RECUENTO FOTOGRÁFICO DE LA DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN EN SEMILLAS DE ALGODÓN, LECHUGA Y ALFALFA

Tratamiento	Semillas de algodón	
	Dosis 1 (5%)	Dosis 2 (10%)
B1		
B2		
B3		
B4		

Semillas de lechuga		
Tratamiento	Dosis 1 (2%)	Dosis 2 (4%)
B1		
B2		
B3		
B4		

Semillas de alfalfa		
Tratamiento	Dosis 1 (2%)	Dosis 2 (4%)
B1		
B2		
B3		
B4		

ANEXO 8: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE ALGODÓN

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F calculado	Pr > F
Tratamiento	8	686.008889	85.751111	1.75 *	0.1042
Error	66	3241.777778	49.117845		
Total corregido	74	3927.786667			
CV (%)	12.07237				
Promedio	58.05333				

Prueba de Duncan

Duncan Agrupamiento	Media	N	TRA
A	63.111	9	7
A			
B A	60.667	9	3
B A			
B A	59.333	9	5
B A			
B A	59.111	9	1
B A			
B A	58.667	3	9
B A			
B A	56.889	9	2
B A			
B A	56.889	9	4
B A			
B A	56.000	9	6
B			
B	52.222	9	8

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

ANEXO 9: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PESO FRESCO DE LOS GERMINADOS DE ALGODÓN

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Calculado	Pr > F
Tratamiento	8	8.93922578	1.11740322	1.33	0.2428
Error	66	55.30542222	0.83796094		
Total corregido	74	64.24464800			
CV (%)	11.69753				
Promedio	7.825600				

Prueba de Duncan

Duncan Agrupamiento	Media	N	TRA
A	8.1656	9	3
A			
A	8.1578	9	7
A			
A	8.1422	9	5
A			
B A	8.0500	3	9
B A			
B A	7.8122	9	2
B A			
B A	7.8089	9	1
B A			
B A	7.7178	9	4
B A			
B A	7.6867	9	6
B			
B	7.0389	9	8

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

ANEXO 10: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE LECHUGA

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F calculado	Pr > F
Tratamiento	8	1572.657778	196.582222	2.48**	0.0203
Error	66	5224.888889	79.164983		
Total corregido	74	6797.546667			
CV (%)	14.43770				
Promedio	61.62667				

Prueba de Duncan

Duncan Agrupamiento	Media	N	TRA
A	67.333	9	6
A			
A	66.667	9	5
A			
B A	64.444	9	3
B A			
B A	64.444	9	1
B A			
B A	62.889	9	7
B A			
B A	58.000	3	9
B A			
B A	57.778	9	8
B			
B	56.000	9	4
B			
B	54.667	9	2

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

ANEXO 11: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PESO FRESCO DE LOS GERMINADOS DE LECHUGA

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F calculado	Pr > F
Tratamiento	8	0.04544264	0.00568033	1.56	0.1541
Error	66	0.24032245	0.00364125		
Total corregido	74	0.28576509			
CV (%)	17.29125				
Promedio	0.348979				

Prueba de Duncan

Duncan Agrupamiento	Media	N	TRA
A	0.38964	9	5
A			
B A	0.37052	9	6
B A			
B A	0.36504	9	7
B A			
B A	0.35827	9	1
B A			
B A	0.34504	9	3
B A			
B A	0.33733	9	4
B A			
B A	0.32666	9	2
B A			
B A	0.32580	3	9
B			
B	0.30704	9	8

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

ANEXO 12: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE ALFALFA

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F calculado	Pr > F
Tratamiento	8	111.653333	13.956667	0.62	0.7549
Error	66	1476.666667	22.373737		
Total corregido	74	1588.320000			
CV (%)	6.333809				
Promedio	74.68000				

Prueba de Duncan

Duncan Agrupamiento	Media	N	TRA
A	76.444	9	5
A			
A	75.667	9	6
A			
A	75.667	9	4
A			
A	75.000	9	7
A			
A	75.000	9	8
A			
A	73.889	9	3
A			
A	73.667	9	2
A			
A	73.111	9	1
A			
A	71.667	3	9

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

ANEXO 13: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PESO FRESCO DE LOS GERMINADOS DE ALFALFA

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F calculado	Pr > F
Tratamiento	8	0.32444444	0.04055556	2.07**	0.0518
Error	66	1.29555556	0.01962963		
Total corregido	74	1.62000000			
CV (%)	9.340385				
Promedio	1.500000				

Prueba de Duncan

Duncan Agrupamiento	Media	N	TRA
A	1.63333	9	3
A			
B A	1.55556	9	4
B A			
B A	1.51111	9	7
B A			
B A	1.48889	9	1
B A			
B A	1.48889	9	5
B A			
B A	1.47778	9	2
B A			
B A	1.47778	9	8
B			
B	1.43333	3	9
B			
B	1.38889	9	6

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes