

**UNIVERSIDAD CATÓLICA SEDES SAPIENTIAE**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**



**TESIS DE INVESTIGACIÓN**

**“PRODUCCIÓN DE BIOFERTILIZANTE MEDIANTE  
FERMENTACIÓN DE LA CUYINAZA POR BACTERIAS DEL  
GÉNERO *Lactobacillus* AISLADAS DEL FERMENTO DE LA  
CHICHA DE CEBADA”**

**EJECUTOR:**

**Bach. EDWIN WILFREDO AGUIRRE LÓPEZ**

**ASESORA:**

**Mg. HEIDI ISABEL SÁNCHEZ TORRES**

**LIMA – 2017**

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

ACTA N° 005 - 2017/UCSS/FIA

Siendo las 10:00am horas, del día 24 de julio de 2017, en la Sala de Sustentación de la Facultad de Ingeniería Agraria de la Universidad Católica Sedes Sapientiae – sede Lima, los miembros del Jurado de Tesis, integrado por:

- |  |                 |
|--|-----------------|
| 1. Blgo. Jorge Luis López Bulnes       | Presidente      |
| 2. Blgo. Sergio Ángel Huatuco Trinidad | Primer Miembro  |
| 3. Ing. Eloy Munive Jáuregui           | Segundo Miembro |
| 4. Blga. Heidi Isabel Sánchez Torres   | Asesora         |

Se reunieron para la sustentación de la tesis titulada: “**PRODUCCIÓN DE BIOFERTILIZANTE MEDIANTE FERMENTACIÓN DE LA CUYINAZA POR BACTERIAS DEL GÉNERO *Lactobacillus* AISLADAS DEL FERMENTO DE LA CHICHA DE CEBADA**”; que presenta el Bachiller en Ciencias Ambientales, el señor **Edwin Wilfredo Aguirre López**, cumpliendo así con los requerimientos exigidos en el reglamento para la modalidad de titulación; la presentación y sustentación de un trabajo de investigación original, para obtener el Título Profesional de **Ingeniero Ambiental**.

Terminada la sustentación, el Jurado luego de deliberar, acuerda:

APROBAR  .....

DESAPROBAR  .....

La tesis, con el calificativo de **BUENA** y eleva la presente Acta al Decanato de la Facultad de Ingeniería Agraria, a fin de que se declare EXPEDITO para conferirle el TÍTULO de INGENIERO AMBIENTAL.

Firmado en Lima, 24 de julio de 2017.

  
BLGO. JORGE LUIS LÓPEZ BULNES  
PRESIDENTE

  
BLGO. SERGIO A. HUATUCO TRINIDAD  
1° MIEMBRO

  
ING. ELOY MUNIVE JÁUREGUI  
2° MIEMBRO

  
BLGA. HEIDI ISABEL SÁNCHEZ TORRES  
ASESORA

## **DEDICATORIA**

Al agricultor altoandino

para que esta investigación pueda ayudarle a incrementar su producción agrícola

y así mejorar su alimentación,

sus ingresos,

sus esperanzas y

su vida

## **AGRADECIMIENTOS**

Doy las gracias a todas las personas que han apoyado, fomentado y permitido la realización del presente trabajo, con mención especial para la Sra. Patricia Hifume Honores, quien desde el inicio apoyó integralmente esta investigación que ahora se plasma en este documento. Muchas gracias.

A la Prof.<sup>a</sup> Natalia Cusihuamán Unda, por su acompañamiento y soporte. Ella y los hermanos Mileny, Jesús y Noé Quispe Quispe han facilitado mi tiempo durante la redacción. Muchas gracias.

A los Prof.<sup>es</sup> Heidi Sánchez Torres, Bertha Ruiz Jange y Armando Chiclla Salazar, por su disponibilidad y asesoramiento. Muchas gracias.

A la Sra. Rosalía Narváez Espinoza, por su compromiso con los usuarios del laboratorio. Muchas gracias.

A los amigos y amigas FIA-UCSS de la Sede Lima: estudiantes, profesores, personal administrativo y de servicio, por su esperanzador aliento para el logro de esta investigación. Muchas gracias.

# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
CARÁTULA	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE APÉNDICES	xii
<b>RESUMEN</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xv</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>xvi</b>
<b>CAPÍTULO I: REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>1</b>
1. ANTECEDENTES	1
2. BASES TEÓRICAS	4
2.1. Residuos sólidos de granjas	4
2.2. Cuy	5
2.3. Cuyinaza	6
2.4. Procesos fermentativos ácido lácticos	8
2.5. Bacterias ácido lácticas (BAL)	8
2.5.1. Características	8
2.5.2. Metabolismo	9
2.5.3. Aplicaciones de las BAL	10
2.5.4. Género <i>Lactobacillus</i>	10
2.6. Melaza	13
2.7. Requerimientos nutricionales de las plantas	14
2.7.1. Nutrientes más importantes	14
2.7.2. Fertilizante foliar	15
2.8. Biofertilizante	15
2.8.1. Definición e importancia	15
2.8.2. Biol	16
2.9. Bioensayos de toxicidad	16

	Pág.
<b>CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>18</b>
1. DISEÑO DE LA INVESTIGACION	18
1.1. Lugar y Fecha	18
1.2. Descripción del Experimento	18
1.3. Tratamientos	20
1.4. Diseño Estadístico del Experimento	24
1.5. Unidades Experimentales	24
1.6. Desarrollo Experimental e Identificación de Variables y su Mensuración	24
1.6.1. Aislamiento de la Cepa de Bacterias del Género <i>Lactobacillus</i>	24
1.6.2. Caracterización Morfológica y Bioquímica de la Cepa Aislada	25
1.6.3. Obtención del Inóculo de Bacterias <i>Lactobacillus</i> sp. (IBL)	26
1.6.4. Determinación de la Concentración Óptima del Inóculo de Bacterias <i>Lactobacillus</i> sp. en los Tratamientos para la Fermentación de la Cuyinaza	26
a. Medición del Potencial de Hidrógeno (pH) en los Tratamientos	26
b. Preselección de los Tratamientos	27
1.6.5. Selección del Tratamiento más Eficiente en la Producción de Biofertilizante entre los tratamientos preseleccionados	27
a. Aplicación de los tratamientos preseleccionados para la fermentación de la Cuyinaza	27
b. Medición del pH de los Tratamientos Preseleccionados	28
c. Medición del Porcentaje de Acidez Titulable de los Tratamientos Preseleccionados	28
d. Selección del Tratamiento más Eficiente entre los Tratamientos Seleccionados	29
1.6.6. Análisis Microbiológico del Biofertilizante Producido por el Tratamiento más Eficiente	30
1.6.7. Análisis Químico de Interés Agronómico o Caracterización Físico-químico del Biofertilizante Producido por el Tratamiento más Eficiente	30
1.6.8. Cálculo del Índice de Calidad de la Materia Orgánica o Relación C/N	31
1.6.9. Estabilidad del Biol	32
1.6.10. Bioensayo de Toxicidad en las Semillas de “Lechuga”	32
a. Efecto del Biofertilizante en la Germinación	32
b. Cálculo del Índice de Germinación, Índice del Porcentaje de Germinación Residual Normalizado e Índice de Elongación Radical Residual Normalizado	34
1.7. Análisis Estadístico de Datos	37
2. MATERIALES	38
2.1. Material Biológico	38
2.2. Medios de Cultivo y Reactivos	38
2.3. Equipos	38
2.4. Otros Materiales	39

	Pág.
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>40</b>
1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y BIOLÓGICA DE LAS BACTERIAS DEL GÉNERO <i>Lactobacillus</i> AISLADAS DEL FERMENTO DE LA CHICHA DE CEBADA	40
2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN ÓPTIMA DEL INÓCULO DE <i>Lactobacillus</i> sp. EN LOS TRATAMIENTOS PARA LA FERMENTACIÓN DE LA CUYINAZA	40
2.1. Acondicionamiento del Sustrato	41
2.2. Medición del Parámetro pH en los Tratamientos	43
2.3. Preselección de los Tratamientos	50
3. SELECCIÓN DEL TRATAMIENTO MÁS EFICIENTE EN LA PRODUCCIÓN DE BIOFERTILIZANTE ENTRE LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS	51
3.1. Medición del pH de los Tratamientos Preseleccionados	51
3.2. Medición del Porcentaje de Acidez Titulable de los Tratamientos Preseleccionados	54
3.3. Selección del Tratamiento más Eficiente	57
4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL BIOFERTILIZANTE PRODUCIDO POR EL TRATAMIENTO MÁS EFICIENTE	58
5. ANÁLISIS QUÍMICO DE INTERÉS AGRONÓMICO O CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL BIOFERTILIZANTE PRODUCIDO POR EL TRATAMIENTO MÁS EFICIENTE	59
5.1. Caracterización Físico-química del Biol T4	60
5.2. Caracterización Físico-química del Biosol T4	62
6. CÁLCULO DEL ÍNDICE DE CALIDAD DE LA MATERIA ORGÁNICA O RELACIÓN C/N DEL BIOFERTILIZANTE	63
7. ESTABILIDAD DE BIOL T4 PRODUCIDO	64
8. BIOENSAYO DE TOXICIDAD DEL BIOL T4 EN LAS SEMILLAS DE “LECHUGA”	65
8.1. Efecto del Biol T4 en la Germinación de las Semillas de “Lechuga”	65
8.2. Efecto del Biol T4 en el Índice de Germinación, Índice del Porcentaje de Germinación Residual Normalizado e Índice de Elongación Radical Residual Normalizado Calculados para las Semillas de “Lechuga”	68
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>73</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>74</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>75</b>
<b>TERMINOLOGÍA</b>	<b>81</b>
<b>APÉNDICES</b>	<b>84</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> <i>Composición nutritiva de productos cárnicos</i>	6
<b>Tabla 2.</b> <i>Contenido nutricional del estiércol de cuy y de otras especies (medido en gramos por cada 100gramos de excretas)</i>	7
<b>Tabla 3.</b> <i>Composición de la melaza</i>	13
<b>Tabla 4.</b> <i>Factores y dosis considerados en la investigación</i>	20
<b>Tabla 5.</b> <i>Composición de los tratamientos y del control en base a los factores inóculo de bacterias Lactobacillus sp. (IBL), melaza y cuyinaza</i>	23
<b>Tabla 6.</b> <i>Metodologías empleadas para la caracterización del biol</i>	31
<b>Tabla 7.</b> <i>Descripción de los tratamientos y del control para el bioensayo en semillas de “lechuga”</i>	33
<b>Tabla 8.</b> <i>Condiciones iniciales de pH de los materiales utilizados para la fermentación láctica</i>	41
<b>Tabla 9.</b> <i>Caracterización físico-química de la cuyinaza utilizada en la investigación.</i>	42
<b>Tabla 10.</b> <i>Registro diario promedio del pH (<math>X</math>) con las desviaciones estándar (<math>\pm DE</math>) de los tratamientos y del control</i>	44
<b>Tabla 11.</b> <i>Análisis de varianza del pH en el día 5 según la variación entre tratamientos</i>	49
<b>Tabla 12.</b> <i>Registro diario del pH promedio de los tratamientos preseleccionados con las desviaciones estándar (<math>X \pm DE</math>)</i>	52
<b>Tabla 13.</b> <i>Análisis de varianza del pH en los tratamientos preseleccionados</i>	52
<b>Tabla 14.</b> <i>Registro del porcentaje de ácido láctico titulable promedio producido por los tratamientos preseleccionados con las desviaciones estándar (<math>X \pm DE</math>)</i>	54
<b>Tabla 15.</b> <i>Análisis de varianza del porcentaje de ácido láctico titulable en los tratamientos preseleccionados</i>	55
<b>Tabla 16.</b> <i>Volumen de biol producido por los tratamientos preseleccionados</i>	57
<b>Tabla 17.</b> <i>Resultados del análisis microbiológico de la cuyinaza, Biol T4 y Biosol T4</i>	59

	Pág.
<b>Tabla 18.</b> <i>Caracterización físico-química del Biol T4 y otros bioles</i>	61
<b>Tabla 19.</b> <i>Caracterización físico-química de la cuyinaza, Biosol T4 y otros biosoles</i>	62
<b>Tabla 20.</b> <i>Índice de calidad de la materia orgánica o relación C/N</i>	64
<b>Tabla 21.</b> <i>Registro de la variación del pH del Biol T4 durante 75 días</i>	64
<b>Tabla 22.</b> <i>Medición del pH de los tratamientos aplicados a la semilla de “lechuga”</i>	66
<b>Tabla 23.</b> <i>Registro de los Porcentajes de germinación por acción de los tratamientos en las semillas de “lechuga”</i>	66
<b>Tabla 24.</b> <i>Análisis de varianza de la germinación con las variación de las diluciones del Biol T4</i>	67
<b>Tabla 25.</b> <i>Efecto del Biol T4 sobre el Índice de germinación (IG), Índice del Porcentaje de Germinación Residual Normalizado (IGN) y el Índice de Elongación Radical Residual Normalizado (IER) de las semillas de “lechuga” por acción de las diluciones del Biol T4</i>	69

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Metabolismo de las bacterias ácido lácticas homofermentativas (Nelson et al., 2000; Stryer, 1994 citados por Ortiz, 2006).	11
<b>Figura 2.</b> Metabolismo de las bacterias ácido lácticas heterofermentativas (Nelson et al., 2000; Stryer, 1994 citados por Ortiz, 2006).	12
<b>Figura 3.</b> Diagrama de flujo para la obtención del inóculo <i>Lactobacillus</i> sp.	21
<b>Figura 4.</b> Diagrama de flujo para la producción del biofertilizante.	22
<b>Figura 5.</b> Esquemas de la plántula de “lechuga” con las partes medidas en la investigación.	34
<b>Figura 6.</b> Diagrama de bigotes de los efectos principales de los parámetros inóculo IBL, melaza y cuyinaza, y de la interacción doble entre inóculo IBL y cuyinaza sobre el pH.	46
<b>Figura 7.</b> Grafica de barras de las medias del efecto de la interacción doble entre el inoculo IBL y la cuyinaza sobre el pH. No existen diferencias estadísticamente significativas para letras iguales.	47
<b>Figura 8.</b> Diagrama de bigotes de los efectos de los parámetros inóculo IBL, melaza y cuyinaza sobre el pH en el Día0 y en el Día5 de la fermentación.	48
<b>Figura 9.</b> Variación diaria del pH promedio en los tratamientos incluido el control T0.	50
<b>Figura 10.</b> Variación diaria del pH promedio de los tratamientos preseleccionados y del control T0.	53
<b>Figura 11.</b> Variación diaria del porcentaje de ácido láctico titulable promedio producido en los tratamientos preseleccionados.	55
<b>Figura 12.</b> Relación del pH promedio con el porcentaje de ácido láctico titulable promedio de los tratamientos preseleccionados.	56
<b>Figura 13.</b> Gráfica de dispersión entre el pH y el porcentaje de ácido láctico titulable producido por los tratamientos preseleccionados.	57

	Pág.
<b>Figura 14.</b> Variación del pH del Biol T4 en función del tiempo.	65
<b>Figura 15.</b> Variación de las elongaciones de la radícula y del hipocotilo.	70
<b>Figura 16.</b> Índice de Germinación Normalizada (IGN) e Índice de Elongación de la radícula (IER) en el bioensayo de la “lechuga” por acción de diversas diluciones del Biol T4	70
<b>Figura 17.</b> Gráfica de bigotes de las variaciones del Índice de Germinación de los tratamientos del bioensayo en las semillas de “lechuga”.	71

## ÍNDICE DE APÉNDICES

	Pág.
<b>APÉNDICE 1:</b> FICHA TÉCNICA DEL MEDIO DE CULTIVO MAN ROGOSA SHARE (MRS)	84
<b>APÉNDICE 2:</b> REGISTRO DE LOS VALORES DE pH DE LOS TRATAMIENTOS Y SUS RÉPLICAS	85
<b>APÉNDICE 3:</b> PRUEBA DE NORMALIDAD DE LOS VALORES DE pH DEL DÍA0 Y DEL DÍA5 DE LOS TRATAMIENTOS	86
<b>APÉNDICE 4:</b> ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS EFECTOS PRINCIPALES Y DE LAS INTERACCIONES DOBLE Y TRIPLE DE LOS FACTORES	87
<b>APÉNDICE 5:</b> ANÁLISIS DE VARIANZA DEL pH DE LOS TRATAMIENTOS	89
<b>APÉNDICE 6:</b> REGISTRO DE LOS VALORES DE pH DE LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS Y DE SUS RÉPLICAS	90
<b>APÉNDICE 7:</b> PRUEBA DE NORMALIDAD DE LOS VALORES DE pH DEL DÍA0 Y DEL DÍA5 DE LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS	91
<b>APÉNDICE 8:</b> ANÁLISIS DE VARIANZA DEL pH DE LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS Y SUS RÉPLICAS	92
<b>APÉNDICE 9:</b> REGISTRO DE LOS VALORES DEL PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO TITULABLE DE LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS Y DE SUS RÉPLICAS	93
<b>APÉNDICE 10:</b> PRUEBA DE NORMALIDAD DE LOS VALORES DEL PORCEN- TAJE DE ÁCIDO LÁCTICO TITULABLE PRODUCIDO EN LOS DIAS 0 Y 5 DE LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS	93
<b>APÉNDICE 11:</b> ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO TITULABLE PRODUCIDO EN LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS	94
<b>APÉNDICE 12:</b> CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL ENTRE EL pH Y EL	

	Pág.
PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO TITULABLE PRODUCIDO POR LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS.	95
<b>APÉNDICE 13:</b> INFORMES DE LOS ANÁLISIS EN LOS LABORATORIOS	96
<b>APÉNDICE 14:</b> CÁLCULO DEL ÍNDICE DE CALIDAD DE LA MATERIA ORGÁNICA (C/N)	102
<b>APÉNDICE 15:</b> REGISTRO DE LOS VALORES DEL PORCENTAJE DE LA GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS DE “LECHUGA”	102
<b>APÉNDICE 16:</b> ANOVA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN	103
<b>APÉNDICE 17:</b> REGISTRO DE LOS ÍNDICE DE GERMINACIÓN DE CADA TRATAMIENTO Y SUS RÉPLICAS	104
<b>APÉNDICE 18:</b> PRUEBA DE NORMALIDAD DE LOS ÍNDICES DE FERMI- NACION	104
<b>APÉNDICE 19:</b> ANALISIS DE VARIANZA DEL ÍNDICE DE GERMINACIÓN	105
<b>APÉNDICE 20:</b> REGISTRO DE LOS VALORES DE LA ELONGACIÓN DE LA RADÍCULA DE LAS SEMILLAS DE “LECHUGA” DE LOS TRATAMIENTOS Y RÉPLICAS	106
<b>APÉNDICE 21:</b> REGISTRO DE LOS VALORES DE LA ELONGACIÓN DEL HIPOCOTILO DE LAS SEMILLAS DE “LECHUGA” DE LOS TRATAMIENTOS Y RÉPLICAS	108
<b>APÉNDICE 22:</b> PRUEBA DE NORMALIDAD DE LOS VALORES DE LAS ELONGACIONES DE LA RADÍCULA Y DEL HIPOCOTILO	109
<b>APÉNDICE 23:</b> ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ELONGACIÓN DE LA RADÍCULA Y DEL HIPOCOTILO	110
<b>APÉNDICE 24:</b> REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA INVESTIGACIÓN	111

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue producir un biofertilizante mediante la fermentación del estiércol de cuy o cuyinaza por la acción de una cepa bacteriana del género *Lactobacillus* aislada del fermento de chicha de cebada y minimizar el impacto negativo al ambiente causado por el estiércol de los cuyes generado diariamente en una granja de producción. Se aisló, identificó y caracterizó bioquímicamente una cepa bacteriana de *Lactobacillus* sp. con morfología bacilar, Gram positivo, catalasa negativa, oxidasa negativa, no esporulada, fermentadora de glucosa, lactosa y/o sacarosa, sin producción de sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) ni de gas. Doce tratamientos fueron sometidos a un proceso de fermentación durante cinco días empleando la cepa *Lactobacillus* sp. y se preseleccionó tres tratamientos T1, T4 y T6 con un pH menor de 4,50. Se efectuó un nuevo proceso fermentativo durante cinco días, siendo el tratamiento T4, constituido por 0,15 L de inóculo de bacterias *Lactobacillus* sp., 0,25 kg de melaza de caña y 0,60 kg de cuyinaza, el seleccionado como el más eficiente porque alcanzó un pH promedio de 2,83±0,15 y un porcentaje promedio de ácido láctico titulable de 3,60±0,12. El biol y biosol obtenidos del tratamiento T4 presentaron 6020 mg.L<sup>-1</sup> y 2,16 por ciento de nitrógeno, 3349,75 mg.L<sup>-1</sup> y 0,90 por ciento de fósforo, 18900 mg.L<sup>-1</sup> y 5,15 por ciento de potasio, 173,10 g.L<sup>-1</sup> y 78,34 por ciento de materia orgánica respectivamente. Y además, presentaron un alto contenido de micronutrientes. No se reportó la presencia de bacterias patógenas como coliformes totales, coliformes fecales y *Salmonella* sp.. El Biol T4 mantuvo su pH por debajo de 4,03 durante un periodo de 75 días. El ensayo de toxicidad en las semillas de “lechuga” (*Lactuca sativa* L.) de la variedad Duett indicó que el Biol T4 diluido al 0,01 por ciento resultó ser óptimo porque mostró una acidez que no inhibió la germinación y que logró un Índice de Germinación (IG) cercano al 100 por ciento.

**Palabras claves:** Biol, cuyinaza, *Lactobacillus* sp., fermentación, chicha de cebada.

## ABSTRACT

The objective of this research was to produce a biofertilizer by fermentation of the guinea pig manure by the action of a bacterial strain of the genus *Lactobacillus* isolated from the fermentation of barley chicha and to minimize the negative impact to the environment caused by the guinea pig manure generated daily on a production farm. Was isolated, identified and characterized biochemically a bacterial strain of *Lactobacillus* sp. with bacillary morphology, Gram positive, catalase negative, oxidase negative, non sporulated, glucose fermenter, lactose and / or sucrose, without production of hydrogen sulphide (H<sub>2</sub>S) or gas. Twelve treatments were submitted to a fermentation process for five days using the *Lactobacillus* sp. strain and were preselected three treatments T1, T4 and T6 with a pH of less than 4,50. Was carried a new fermentation process during five days, being the treatment T4, constituted by 0,15 L of inoculum of bacteria *Lactobacillus* sp., 0,25 kg of cane molasses and 0,60 kg of guinea pig manure, the one selected as the most efficient because it reached an average pH of 2,83±0,15 and an average percentage treatable lactic acid of 3,60±0,12. The biol and biosol obtained from the T4 treatment presented 6020 mg.L<sup>-1</sup> and 2,16 percent of nitrogen, 3349,75 mg.L<sup>-1</sup> and 0,90 percent of phosphorus, 18900 mg.L<sup>-1</sup> and 5,15 percent of potassium, 173,10 g.L<sup>-1</sup> and 78,34 percent of organic matter respectively. In addition, they had a high micronutrient content. The presence of pathogenic bacteria such as total coliforms, fecal coliforms and *Salmonella* sp. were not reported. Biol T4 maintained its pH below 4,03 over a period of 75 days. The toxicity test on “lettuce” (*Lactuca sativa* L.) seeds of the Duett variety indicated that the Biol T4 diluted to 0.01 percent proved to be optimal because it showed an acidity that did not inhibit germination and achieved a Germination Index (IG) of close to 100 percent.

**Key words:** Biol, cuyinaza, *Lactobacillus* sp., fermentation, barley chicha.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, los negocios internacionales de productos alimenticios agrarios exigen el cumplimiento de ciertos estándares de calidad e inocuidad que garanticen un consumo libre de afectaciones a la salud de las personas. La agricultura orgánica está surgiendo como una alternativa viable para satisfacer esas exigencias, puesto que es un sistema de producción que favorece a la salud de los suelos, el ecosistema y las personas (Federación Internacional de Movimientos de Agricultura Orgánica [IFOAM], 2017), Para lo cual, el uso de agroquímicos debe ser muy reducido o nulo siendo la agricultura orgánica una alternativa viable de reemplazo técnica, ecológica y económicamente (Danzos, 2007).

El uso directo de los estiércoles de animales como fertilizantes orgánicos proporciona al suelo y a las plantas una significativa cantidad de nutrientes. Sin embargo, la aplicación directa de dicho fertilizante orgánico podría incorporar una gran carga de patógenos que afectarían a las personas que tengan contacto con el sembrío (Terán, 2009). Además, se generan impactos negativos en el ambiente como la salinización de los suelos, la contaminación de nitratos en aguas subterráneas y la emisión de gases de amonio y metano al aire. La eutrofización de los cuerpos de agua cercanos a lugares fertilizados con excretas de animales, tiene como consecuencia la proliferación de fitoplancton y especies macrófitas, limitando el ingreso de oxígeno al agua e impactando negativamente la vida acuática. Por estas razones, es necesario procesar los estiércoles antes de ser usados como fertilizantes para que su impacto ambiental sea positivo y no negativo (Peralta, 2010).

Los microorganismos tienen un rol importante en la agricultura debido a que muchos de ellos funcionan como estimulantes en la germinación de semillas y en el enraizamiento, incrementan los nutrientes por la acción de sus metabolismos, mejoran la estructura edáfica, controlan biológicamente la presencia de patógenos, remedian y eliminan contaminantes. Razones por las cuales, se debe hacer énfasis en las tecnologías provenientes de la microbiología en la agricultura. Una técnica beneficiosa y simple se logra con el uso de los biofertilizantes. (Bowen y Rovira, 1999 citado por Grageda-Cabrera, Díaz-Franco, Peña-Cabriales, y Vera-Nuñez, 2012).

Los biofertilizantes son productos derivados de un proceso microbiano que ayudan a las plantas mejorando su nutrición y proporcionándoles protección. Dentro de los microorganismos más utilizados en los procesos de producción de biofertilizantes se tiene a hongos micorrícicos y bacterias. Estas bacterias son promotoras del crecimiento vegetal fijando nitrógeno atmosférico, produciendo vitaminas, nutriendo la rizósfera y controlando la presencia de patógenos (Grageda-Cabrera et al., 2012).

La presente investigación busca dar un aporte en la producción de biofertilizantes o fertilizantes orgánicos fermentando estiércol de cuy o cuyinaza por poseer un buen potencial agronómico (Oliveira, 2010), mediante la acción de una cepa bacteriana de *Lactobacillus* sp. aisladas del fermento de la chicha de cebada. Además, porque en la actualidad, se ha elevado la producción de la cuyinaza debido al incremento de la crianza de cuyes a nivel comercial en muchas zonas del Perú (Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI], 2016).

Los objetivos de este trabajo de investigación son los siguientes:

- Aislar, caracterizar morfológica y bioquímicamente, y obtener un inóculo de las bacterias del género *Lactobacillus* presente en el fermento de la chicha de cebada.
- Seleccionar el tratamiento más eficiente en la producción de biofertilizante por fermentación de la cuyinaza entre aquellos que obtengan pH menor a 4,50, sin la presencia visible de cepas de microorganismos como mohos o levaduras en su superficie y que no presente olor fétido.
- Medir el porcentaje de acidez titulable, analizar la presencia de coliformes totales y fecales, analizar la composición fisico-química de interés agronómico y calcular el Índice de Calidad de la Materia Orgánica del biofertilizante producido por el tratamiento más eficiente.

# CAPÍTULO I: REVISIÓN DE LITERATURA

## 1. ANTECEDENTES

Zamudio (2005), aisló bacterias del género *Lactobacillus* a partir de la chicha de jora, masato, vinos, aceitunas, quesos, yogurt y jugo de frutas naturales. Utilizó 0,50 mL o 0,50 g de la muestra líquida o sólida respectivamente, enriqueciéndola con caldo Man Rogosa Share (MRS) e incubándolas a 28 °C por 48 horas en microanaerobiosis dentro de una jarra-vela. Se sembró, luego, en agar MRS mediante la técnica de las estrías considerando entre 48 y 72 horas. Se cultivó en caldo MRS a las colonias seleccionada, incubándose por 24 horas a 28 °C. Posteriormente, para uniformizar colonias, se subcultivó en agar y en caldo MRS. Se identificó y seleccionó a las colonias como género *Lactobacillus* si fueron catalasa negativa, fermentadores de azúcar, Gram positivo, no esporulados, bacilos y microaerófilicos.

Tobía, Uribe, Villalobos, Soto y Ferris (2003), aislaron, seleccionaron y caracterizaron bacterias ácido lácticas en ensilajes de soya. La soya con la que se investigó fue cortada y una parte fue soleada para minimizar su humedad, conformando dos dosis: una hidratada y la otra con hidratación parcial. Las proporciones de melaza usadas fueron de 0 por ciento, 4 por ciento y 8 por ciento, que luego de mezclarlas con la soya fueron introducidas en bolsas plásticas transparentes y cerradas para evitar la oxigenación. Se utilizó un diseño al azar con arreglo factorial 3x2, tres dosis de melazas y dos de soya. Para el aislamiento, se extrajeron 10 g de muestra de los tratamientos que no presentaran olores putrefactos, no presenten textura pajosa y que logren pH menores a cinco. La muestra se mezcló en 90 ml de agua destilada desde el cual se extrajo 0,10 ml para sembrarlo en agar Rogosa por cinco días a 30 °C. Tiempo después, se caracterizó a las colonias con

pruebas de catalasa, tinción de Gram y pruebas Api 50 CHL. Resultando que la cepa aislada presentó características a más del 90 por ciento de *Lactobacillus brevis*.

Ossa, Vanegas y Badillo (2010), buscaron la concentración óptima de melaza de caña que permitiera el desarrollo de la bacteria *Lactobacillus plantarum*. Se ajustó el pH con algunos productos químicos en los tratamientos que fueron sometidos a diferentes temperaturas durante 24 horas. El parámetro evaluado fue el crecimiento bacteriano, el cual fue de  $10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup> para concentración de melaza al 20 por ciento y 25 por ciento, y de valores menores en las demás concentraciones: 5 por ciento, 10 por ciento, 30 por ciento. Al aplicar un análisis de varianza factorial se evidenció que no existía diferencias significativas entre las concentraciones de 20 por ciento y 30 por ciento, razón por la cual se seleccionó la concentración del 20 por ciento (p/v) logrado a  $30,00 \pm 1,00$  °C durante 24 horas con  $5,20 \pm 0,10$  de pH porque fue de menor costo. Se demostró que la melaza de caña incrementa la actividad microbiana ácido láctica con un sustrato de melaza al 20 por ciento.

Estela, Rychtera, Melzoch, Quillama y Egoavil (2007), investigaron acerca de la producción de ácido láctico por la actividad de *Lactobacillus plantarum* a través de cultivos batch y continuo. Los cultivos estaban compuestos por glucosa, levadura, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, citrato de amonio, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O y MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O. fueron siete ensayos de cultivo batch en los cuales se evaluó el rendimiento de la biomasa y el ácido láctico producido. La cantidad de ensayos que se realizaron para el cultivo continuo fueron seis. Todos fueron monitoreados con un software cada dos horas registrándose el contenido de masa seca, concentración de glucosa y concentración de lactato, que es convertible en equivalentes de ácido láctico. Los resultados indicaron que a menor cantidad de sales de manganeso se logró un 100 por ciento de conversión del sustrato en los cultivos batch, mientras que en el cultivo continuo se alcanzó la mayor producción de ácido láctico y de biomasa en una dilución 0.50 L.h<sup>-1</sup> del sustrato suministrado.

González, Gómez y Jiménez (2003), recopilaron información referente a las cualidades antimicóticas de las bacteriocinas producidas mediante el metabolismo de las bacterias

ácido lácticas. Al unirse a la membrana citoplasmática, las bacteriocinas forman en ella poros por donde fluyen iones desde la célula, debilitándola al inicio para después causarle la muerte. Razón por la cual se caracterizan eficientemente como inhibidores microbianos que afectan la salud humana y animal. Las bacteriocinas más representativas son la nisina y la plantaricina generadas por bacterias Gram positivas del género *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Lysteria* y *Lactobacillus plantarum* respectivamente.

Del Pino, Perdomo, Repetto y Mori (2008), experimentaron con estiércol de gallina, estiércol de vaca y cama de pollo para encontrar comportamientos en la mineralización de estos materiales al ser incorporados en el suelo. Los aspectos considerados fueron el aporte de nitrógeno, influencia en la estructura del suelo y la cómo influyen en las actividades microbianas edáficas. Los tratamientos con sus tres repeticiones estuvieron compuestos por los estiércoles sin la presencia de oxígeno por 11 semanas y a 21 °C. Se midió el pH, conductividad eléctrica, humedad y desde muestras extraídas de los tratamientos se midió el nitrógeno mineral presente. La cama de pollo incorporó más nitrógeno mineral, seguida del estiércol de gallina y luego de la vaca. Para la producción de CO<sub>2</sub>, consecuencia de la respiración microbiana, el suelo con estiércol de gallina produjo más, luego la cama de pollo y después el estiércol de vaca. En cuanto a la actividad microbiana, la incorporación de estiércol al suelo promueve el accionar de la flora microbiana que proporciona beneficios al suelo para que se desarrollen las plantas.

Peralta, Juscamaita y Meza (2016), produjeron biol desde excretas de ganado vacuno con la aplicación del consorcio microbiano ácido láctico B-lac. Se consideraron 25 tratamientos de 1,50 kg cada uno constituidos por melaza, consorcio B-lac y excretas. Se seleccionó a los tratamientos que obtuvieran pH menor, ausencia de malos olores, cepas de mohos y levaduras. Se realizó una nueva experimentación con los tratamientos seleccionados cuyo peso inicial fue de 2 kg por cada uno. Se evaluó diariamente el pH y el porcentaje de acidez titulable. Posteriormente, se analizó microbiológica y físico-químicamente, calculándose la relación C/N del producto producido. Se aplicó un Diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 5x5 y tres repeticiones. Para

el análisis estadístico se aplicó un análisis de varianza con la Prueba de Tukey para la comparación de medias ( $p \leq 0,05$ ) a través de la versión 8,20 del software SAS. Se seleccionó al tratamiento 20 (20 por ciento melaza, 15 por ciento B-lac) porque obtuvo el menor pH, que en el análisis microbiológico reportó ausencia de coliformes totales y fecales. Del biol obtenido del tratamiento 20, se calculó en 25 la relación C/N. Se concluyó que al quinto día de iniciada la fermentación de las excretas de ganado vacuno por acción del consorcio B-lac se logró producir abono orgánico líquido con mayores concentraciones de nitrógeno, fósforo y potasio que otros bioles comerciales.

Román (2012), trató biológicamente a la cuyinaza para elaborar un biofertilizante mediante la fermentación. Se consideraron 16 tratamientos conformados por cuyinaza, melaza y consorcio B-lac dentro de envases cerrados herméticamente, midiéndose el pH durante once días. Se seleccionaron los tratamientos que lograron un pH de 4,50 o menor al quinto día de iniciada la fermentación, entre aquellos que presentaron mayor nivel de insumos que los hacen más costosos y porque no presentaron diferencias significativas con los tratamientos seleccionados. El tratamiento T13 fue elegido como el mejor y estuvo compuesto por 20 por ciento de melaza, 10 por ciento de B-lac y 70 por ciento de cuyinaza. La fermentación realizada con el consorcio B-lac resulta ser una opción en el manejo de la cuyinaza porque permite la producción de biofertilizantes: biol y biosol.

## **2. BASES TEÓRICAS**

### **2.1. Residuos Sólidos de Granjas**

El incremento de la crianza de animales en granjas unido al deficiente manejo de sus residuos orgánicos podrían generar algún impacto negativo en el suelo, cuerpos de agua, sanidad de los mismos animales, además de afectar paisajísticamente el lugar donde son acumulados. Asimismo, podrían favorecer al desarrollo de procesos patológicos y bacterianos cuyos efectos podrían convertirse en un

problema (Shimada, 1983 citado por Julca, 2000). Dentro de los residuos orgánicos de las granjas se tiene a las deyecciones sólidas y líquidas, las camas o superficies en donde habitan los animales, restos de alimentos, entre otros. Las excretas o deyecciones sólidas son los principales residuos generados en los sistemas de producción animal, siendo éstas las principales responsables de los impactos sobre el aire, el suelo y el agua, debido a que se concentran en áreas reducidas y son además fuentes de nutrientes, metales pesados, antibióticos y patógenos (Herrero y Gil, 2008 citado por Peralta, 2010). La generación de olores es otra consecuencia de la actividad de crianza de animales a gran escala debido a los procesos anaerobios que finalmente generan amoníaco.

## **2.2. Cuy**

El cuy (*Cavia porcellus*), cuya carne es apreciada por su alto contenido nutritivo (Ordoñez, 2003) y por su bajo nivel de grasa (ver Tabla 1), es una alternativa para paliar las necesidades alimenticias de las personas en muchos lugares de bajo nivel socioeconómico (Figueroa, 1988 citado por Molina, 2012). Desde hace muchos años, este animal convive con las personas en Colombia, Ecuador, Bolivia y Perú (Chauca, 1997; Quispe, 2012 citados por Tapie, 2013). En los últimos años, se ha generado una mayor demanda de este animal por el incremento de su consumo en las zonas urbanas (MINAGRI, 2016).

En el Perú, los cuyes se desarrollan en muchos departamentos, siendo en Ancash, Apurímac, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Junín, La Libertad y Lima, los lugares de mayor producción (MINAGRI, 2016). Desde hace algunos años, el número de granjas para la crianza de cuyes va en aumento, en donde se busca una mayor producción, lo cual implica mejorar las técnicas de cuidado. Un factor de cuidado es el exceso de humedad del lugar en donde habitan los cuyes, debiendo ser controlado con algún tipo de camas, que podría ser paja, aserrín, viruta, entre otros materiales (Enríquez y Rojas, 2004).

Tabla 1

***Composición nutritiva de productos cárnicos***

<b>Especie</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Grasa (%)</b>	<b>Energía Digestible (Kcal)</b>
Cuy	20,30	7,80	960,00
Conejo	20,40	8,00	1590,00
Cabra	18,70	9,40	1650,00
Vacuno	18,70	18,20	2440,00
Ave	18,20	10,20	1700,00
Porcino	12,40	35,80	3760,00
Ovino	18,20	19,40	2530,00

*Fuente:* Sarria (2005) citado por Tapie (2013).

En relación a la alimentación y digestión, Ataucusi (2015) indica que el cuy por ser una especie herbívora monogástrica se puede alimentar de granos, harinas, así como de pastos y forrajes. En estos animales, la digestión enzimática se inicia en el estómago, en donde se produce la fermentación bacteriana. Asimismo, como parte de su fisiología, los cuyes realizan cecotofia que consiste en comer su primera digestión para reutilizar el nitrógeno que aún no fue asimilado por el organismo. La composición de la dieta alimenticia influirá en la actividad digestiva de los cuyes repercutiendo en las características de las excretas que generen.

### **2.3. Cuyinaza**

La cuyinaza o estiércol de cuy es el residuo orgánico recolectado de las granjas o unidades de crianza de estos animales. Está conformado, no solo por las excretas, sino también por alimentos sobrantes, pelos de los animales y otros materiales. La cuyinaza está compuesta por un significativo nivel de nitrógeno, fósforo y potasio (Montes, 2012).

Las excretas de los cuyes son recursos orgánicos aprovechables y sus características químicas dependerá del tipo de alimento que hayan recibido y del proceso digestivo que posea (Chauca, 1997). Por la forma y por el bajo peso, las excretas del cuy son fáciles de transportar, caracterizándose por ser porosas, no muy buenas para retener humedad y por tener mayor cantidad de proteínas en relación a las excretas de ganado vacuno o de gallina (Iparraguirre, 2007).

La cuyinaza o estiércol de cuy presenta alto contenido nutricional en comparación a los estiércoles de otros animales (Montes, 2012). Se observa en la Tabla 2 que el nivel de nitrógeno y fósforo de la cuyinaza es superior al registrado por el caballo, vacuno y cerdo. Situación no tan marcada para el macronutriente potasio en donde la diferencia es menor entre el cuy y los demás animales.

Tabla 2

*Contenido nutricional del estiércol de cuy y de otras especies (medido en gramos por cada 100 gramos de excretas)*

<b>Especie</b>	<b>Humedad</b>	<b>Nitrógeno</b>	<b>Fósforo</b>	<b>Potasio</b>
Cuy	30,00	1,90	0,80	0,90
Vacuno	79,00	0,73	0,23	0,62
Aves	55,00	1,00	0,80	0,39
Caballo	59,00	0,70	0,25	0,77
Cerdo	74,00	0,49	0,34	0,47

*Fuente:* Montes (2012).

La cuyinaza se aplica directamente como enmienda microbiana a los terrenos de cultivo con ayuda de arados o de manera manual. Esta práctica no es la más recomendada porque no todos los nutrientes que contiene la cuyinaza pueden ser asimilados por las plantas, requieren de un proceso adicional fermentativo (Terán, 2009).

Debido a su alto contenido nutricional, la cuyinaza podría ser un importante insumo en la producción de alimentos para diversos animales como ovinos, vacunos, camélidos, siempre que se realicen los procesos pertinentes. A su vez, este estiércol no debería ser desconocido para la preparación de biofertilizantes o fertilizantes orgánicos tales como humus, compost, biol y biosol (Montes, 2012).

## **2.4. Procesos Fermentativos Ácido Lácticos**

La fermentación es un proceso mediante el cual se transforma biológica y anaeróbicamente la materia orgánica en alcohol, ácido láctico y gases, con la participación enzimática de bacterias y levaduras (Sánchez, 2011). En tal sentido, los procesos fermentativos ácido lácticos son reacciones de oxidación anaerobia de carbohidratos realizados por bacterias ácido lácticas para obtener energía que necesitan en ausencia de oxígeno. Estos procesos estarán condicionados a la cantidad de azúcares y de las condiciones anaerobias (Jiménez y Moreno, 2003). La fermentación ácido láctica se inicia en la glucólisis, en donde se oxida una molécula de glucosa para formar dos moléculas de ácido pirúvico, generando energía en la forma de dos moléculas de ATP. Luego, el ácido pirúvico es reducido hacia ácido láctico por la acción del NADH (Tortora, Funke y Case, 2007). Esta transformación se efectúa inicialmente con los azúcares, luego alcoholes y finalmente ácidos. De esa manera, la glucosa se transforma en ácido pirúvico que luego genera alcohol etílico, ácido láctico, entre otros (Ramos, 1986).

## **2.5. Bacterias Ácido Lácticas (BAL)**

### **2.5.1. Características**

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son cocos o bacilos Gram positivos, anaerobios, microaerófilicos o aerotolerantes que producen, principalmente,

ácido láctico por la fermentación de carbohidratos (Ramírez, Rosas, Velázquez, Ulloa y Arce, 2011), encontrándose en la naturaleza, son aisladas desde alimentos, tierra, plantas, tracto digestivo, mucosas de animales, entre otros. No reducen nitratos y requieren de glucosa, aminoácidos, vitaminas y otros factores para su desarrollo (Leveau y Bouix, 2000 citado por Ortiz, 2006). Dentro de los metabolitos generados por la fermentación láctica se encuentran las bacteriocinas que son proteínas con la cualidad de ser bactericidas de patógenos. Asimismo, los ácidos orgánicos producidos por las BAL reducen el pH que inhibe a las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Cuando el pH es menor a 4,50, la presencia de microorganismos patógenos es mínima (Peña, 2008; Biosca, 2005 citado por Molina, 2012).

Las BAL se pueden clasificar de acuerdo a varios criterios, considerando la apariencia morfológica pueden ser cocos o bacilos, según la fermentación que realicen de los carbohidratos serían homofermentativas o heterofermentativas, tomando en cuenta la temperatura adecuada para su crecimiento se clasifican en mesófilas o termófilas, por su tolerancia a la sal serían halotolerantes o no halotolerantes y por su genética taxonómica podrían ser de los géneros *Lactobacillus*, *Tetragenococcus*, *Streptococcus*, *Alloicoccus*, *Lactococcus*, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Vagococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium* y *Weissella* (Fox et al., 2000; Eck, 1990; Axelsson, 1993; Mayra-Makmen et al., 1993 citados por Rodríguez, 2007).

### 2.5.2. Metabolismo

El metabolismo de las BAL se presenta a través del catabolismo de la glucosa para conseguir la energía que necesitan. Esta energía es conservada a través de fosforilaciones en el sustrato que conforman enlaces en el ATP (Garcés, Berrio, Ruiz, Serna y Builes, 2004). Las BAL pueden ser homofermentativas o heterofermentativas. Las primeras, solo producen ácido láctico fermentando la glucosa a través de la glucólisis o vía Embden-Meyerhof-Parnas, en donde

una molécula de glucosa produce lactato (ver Figura 1), entre estas bacterias se considera a *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pedicococcus*, *Vagococcus* y algunos *Lactobacillus*. Mientras que las heterofermentativas (ver Figura 2), convierten las hexosas en pentosas por la vía pentosa fosfato produciendo ácido láctico, ácido acético, etanol y dióxido de carbono, se consideran en este grupo a *Leuconostoc* y algunos *Lactobacillus* (Ramírez et al., 2011; Ortiz, 2006).

### 2.5.3. Aplicaciones de las BAL

Industrialmente, las BAL se aplican en alimentos como la leche, carne y vegetales para obtener yogurt, quesos, embutidos, debido a la cualidad fermentativa que poseen (Ramírez et al., 2011 citado por Meza, 2014). Por su capacidad como productor de ácido láctico, las BAL son seleccionados como inoculantes microbianos o cepas iniciadoras para dominar la fermentación por sobrepoblación, logrando que el pH baje rápidamente, lo cual favorece a la conservación de las materias nitrogenadas sin que se vean afectadas por la microbiota aerobia que las transforma en dióxido de carbono (Mier, 2009).

### 2.5.4. Género *Lactobacillus*

Las bacterias del género *Lactobacillus* son microorganismos bacilares, no forman esporas, son catalasa negativos y oxidasa negativos (Moreno, 2012). Este género está conformado por bacterias que por lo general son estáticos. Los *Lactobacillus*, en su mayoría, son mesófilos que entre 30 – 40 °C se desarrollan adecuadamente, para su crecimiento son exigentes de nutrientes complejos que permiten degradar la sacarosa y producir lactato. Se encuentran en los intestinos de animales y de aves, así como en diversos alimentos (Estela et al., 2007). Los *Lactobacillus* pueden desarrollarse en lugares con pH que esté por debajo de cuatro, mientras que otras BAL se

inhiben (Madigan, Martinko, Parker y Brock, 2004 citados por Moreno, 2012). Los BAL han ofrecido beneficios a través de varios usos desde hace mucho tiempo (Holzapfel, 2002 citado por Molina, 2008).

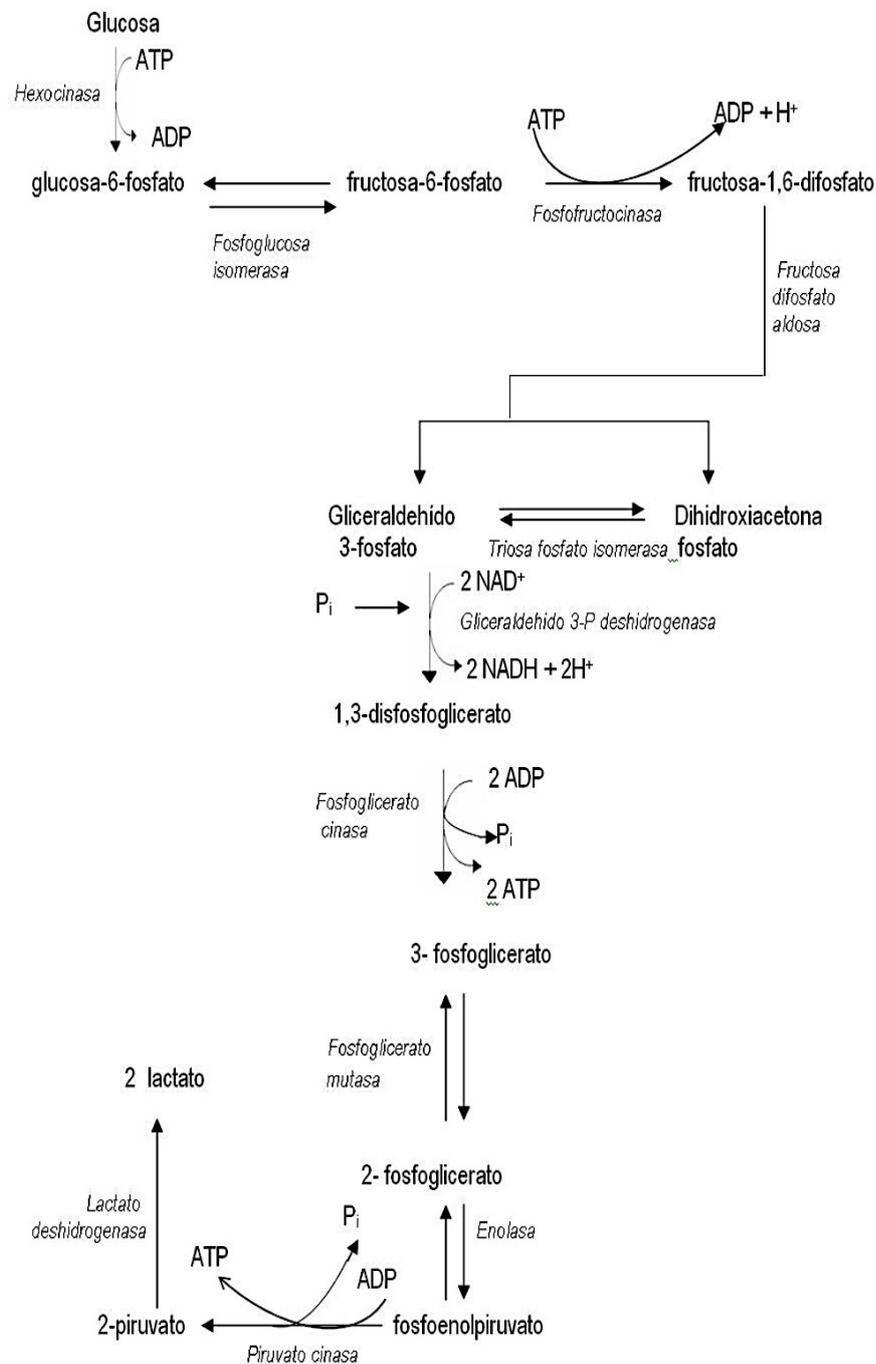


Figura 1. Metabolismo de las bacterias ácido lácticas homofermentativas (Nelson et al., 2000; Stryer, 1994 citados por Ortiz, 2006).

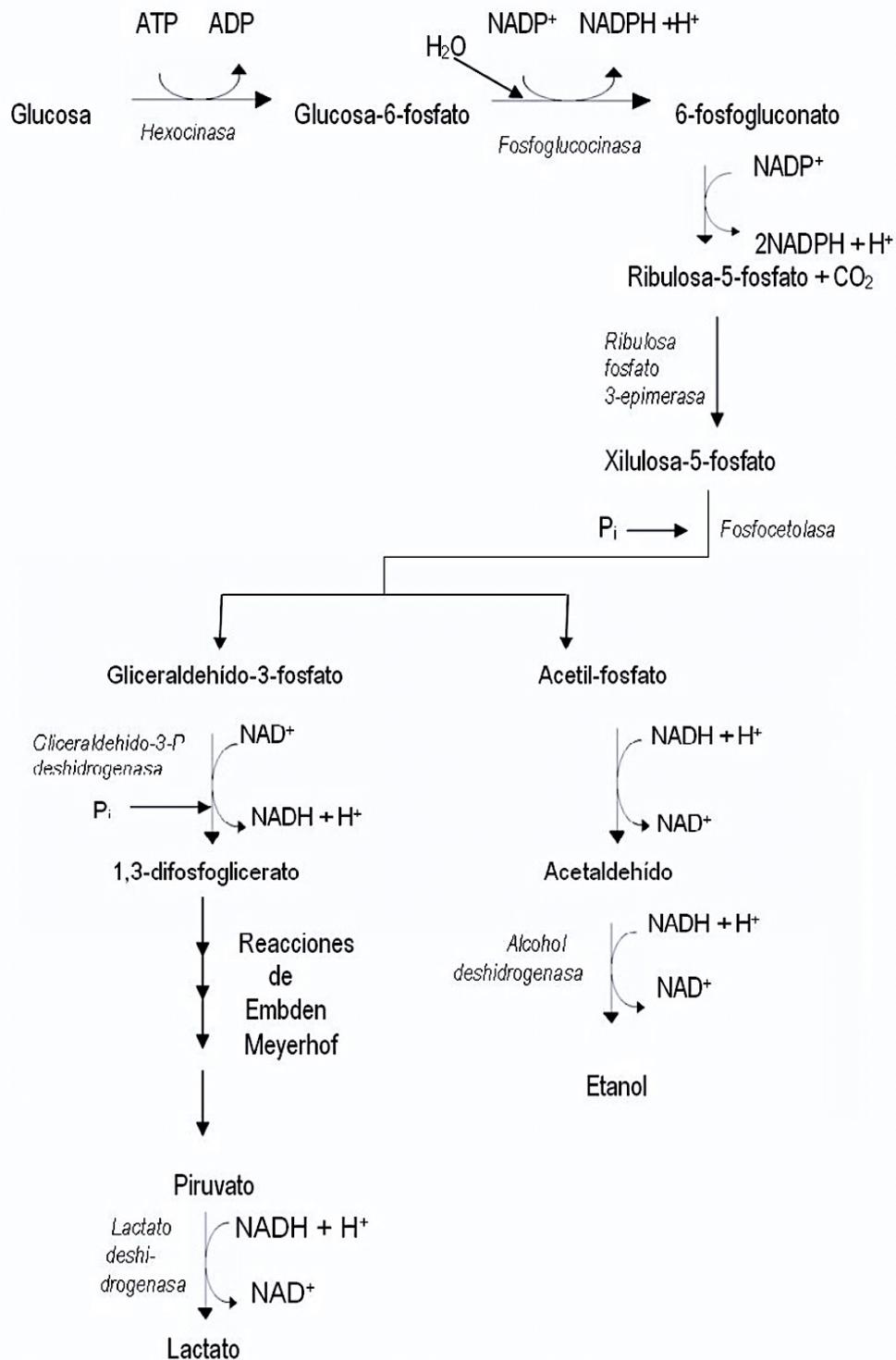


Figura 2. Metabolismo de las bacterias ácido lácticas heterofermentativas (Nelson et al., 2000; Stryer, 1994 citados por Ortiz, 2006).

## 2.6. Melaza

La melaza es un subproducto industrial de la elaboración del azúcar, en donde se utiliza a la caña como insumo. Este compuesto está constituido por sustancias solubles resultantes de las repetidas cristalizaciones realizadas en la fabricación del azúcar (Fajardo et al., 2007 citado por Meza, 2014). Su coloración es castaño oscuro por ser la parte no cristalizada y contienen un 5 por ciento de azúcar (Corrales y Molina, 2012).

Tabla 3

### *Composición de la melaza*

<b>Componentes</b>	<b>Constituyentes</b>	<b>Contenido p/p</b>
Componentes mayores	Materia seca	78,00%
	Proteínas	3,00%
	Sacarosa	60-63% p/p
	Azúcares reductores	3-5% p/p
	Sustancias disueltas (azúcares)	4-8% p/p
	Agua	16,00%
	Grasas	0,40%
	Cenizas	9,00%
Contenido de minerales	Calcio	0,74%
	Magnesio	0,35%
	Fósforo	0,08%
	Potasio	3,76%
Contenido de aminoácidos	Glicina	0,10%
	Lisina	0,01%
	Treonina	0,06%
	Valina	0,02%
Contenido de vitaminas	Colina	600,00 ppm
	Niacina	48,86 ppm
	Ácido pantoténico	42,90 ppm
	Piridoxina	44,00 ppm
	Riboflavina	4,40 ppm
	Tiamina	0,88 ppm

Fuente: Tellez (2004); Yopez (1995) citados por Meza (2014).

En la Tabla 3, se muestra la composición de la melaza, dividiéndose en componentes mayores, contenido de minerales, contenido de aminoácidos y contenido de vitaminas.

Dentro de los usos de la melaza y considerando su alto nivel energético y de minerales, se le utiliza en alimentos fermentados para animales. También, es un insumo importante en la industria de la producción de alcohol (Martínez, 2008 citado por Meza, 2014)

## **2.7. Requerimientos Nutricionales de las Plantas**

Las plantas requieren de elementos nutricionales minerales y no minerales para desarrollarse adecuadamente. Los minerales son proporcionados por la atmósfera y por el agua, mientras que los no minerales, denominados macronutrientes y micronutrientes, son suministrados por el suelo (ADES, 2006 citado por Carhuancho, 2012).

### **2.7.1. Nutrientes más Importantes**

El potasio (K), junto al nitrógeno (N) y al fósforo (P) son los tres nutrientes más importantes para las plantas. Cuando existe deficiencia de potasio, se reduce la acumulación de carbohidratos por la planta debido a la reducción de la fotosíntesis e incremento de la respiración, cuya consecuencia es una limitación para el crecimiento de las plantas (Vásquez, 2008).

### 2.7.2. Fertilizante Foliar

Un fertilizante foliar es aquella solución aplicada al follaje para incorporarles nutrientes a las plantas de manera más eficaz que la fertilización a las raíces a través del suelo. Esta nutrición o fertilización es más recomendada para proveer de micronutrientes a las plantas, más que para los macronutrientes debido a que estas últimas son necesarias para las plantas en mayor cantidad (Carhuancho, 2012).

La Asociación Especializada para el Desarrollo Sostenible (AEDES, 2006) citado por Carhuancho (2012), indica que la fertilización foliar es más ventajosa para las plantas al ofrecerle un crecimiento acelerado, además de aumentar su productividad. Asimismo, la presencia de hormonas vegetales en el biol regulan las funciones vitales que favorecen la elongación y división celular cuya consecuencia en la actividad de las plantas es el crecimiento (Suquilanda, 1996 citado por Guanopatín, 2012).

## 2.8. Biofertilizante

### 2.8.1. Definición e Importancia

Los biofertilizantes son productos preparados en donde la acción de los microorganismos con cualidades benéficas favorecen el crecimiento de las plantas, pudiéndoles proporcionar nutrientes (Sánchez, 2011). Asimismo, resultan de la fermentación de la materia orgánica en ausencia de oxígeno durante un tiempo determinado, cuya parte sólida es usada como abono orgánico del suelos y la parte líquida como fertilizante foliar que controlan enfermedades y plagas (Vairo dos Santos, 1992 citado por Tarigo, Repetto y Acosta, 2004). También se define a los biofertilizantes como

biopreparaciones debido a que están conformadas por células vivas o latentes de cepas microbianas benéficas que favorecen a las plantas nutricionalmente (Tarigo et al., 2004).

### 2.8.2. Biol

El biol es un abono foliar producido anaeróbicamente por la fermentación de materia orgánica conformada por estiércoles o restos vegetales. Está compuesto por fitohormonas que actúan como fitorreguladores que favorecen a la germinación de semillas, potencian a las raíces e inducen a la floración vegetal (Aparcana, 2008 citado por Guanopatín, 2012). Entre otras de las ventajas del biol, sirve como prevención ante enfermedades, plagas y condiciones climáticas adversas como sequías, heladas y granizadas. Además, su producción no requiere de profundos conocimientos ni mucha inversión económica. Sin embargo, la producción agrícola se ve muy beneficiada con su uso porque puede incrementarla hasta en un 30 por ciento (Verde, 2014).

La aplicación del biol es amplia, pudiendo ser implicada a plantas de ciclo corto, anuales, bianuales o perennes, así como a gramíneas, forrajeras, frutales, tubérculos, entre otros (Suasaca et al., 2009 citado por Meza, 2014).

## 2.9. Bioensayo de Toxicidad

Los bioensayos son pruebas de laboratorio con organismos para encontrar tóxicos en alguna sustancia, determinando el nivel de tolerancia y de afectación (Sánchez, 2011). Una de estas pruebas es la evaluación de los niveles tóxicos por la acción de compuestos sobre la germinación de semillas y la elongación radicular evaluado al cabo de cinco días (Carhuancho, 2012).

La recurrencia a estos métodos frente a los análisis químicos se realiza porque no representan mucha inversión económica, son simples y dan una respuesta rápida y confiable (Meza, 2014), puesto que los organismos utilizados son sensibles a la toxicidad, a la presencia de patógenos y a toda sustancia que haga peligrar la salud comunitaria. Generalmente, esta metodología ha sido aplicada para averiguar la calidad del agua (Navarro et al., 2006 citados por Meza, 2014).

Con este método, no solo se evalúa la germinación, sino también la elongación radicular y del hipocotilo. Puesto que si la sustancia no posee suficiente toxicidad para impedir la germinación, pero si puede afectar, en alguna medida, las elongaciones (Sobrero, 2004 citado por Meza, 2014). Cuando se utilizan las semillas de “lechuga” como organismo vivo en un ensayo de toxicidad, se debe considerar diversas concentraciones de la sustancia con la que se somete a las semillas permitiendo conocer los efectos nocivos. Por estas razones, este bioensayo es una prueba estática y aguda en donde se aprecia la interrupción del desarrollo normal de la planta cuando el tóxico afecta los procesos fisiológicos (Sobrero, 2004 citado por Meza, 2014).

Si un fertilizante presenta pH ácido y alto contenido de sales minerales (tener conductividad eléctrica alta) podría inhibir la germinación de semillas y al usarlo en las plantas podría afectarlas negativamente, más aún si es se aplica foliarmente. Y como muchos cultivos se desarrollan óptimamente cuando el pH se encuentra entre 5,5 y 6,5, es necesario diluir el fertilizante a estos niveles de pH (Quevedo, Valverde y Chang-Navarro, 1983).

## **CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS**

### **1. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **1.1. Lugar y Fecha**

La investigación se realizó en el laboratorio N°1 de Ciencias Básicas de la Universidad Católica Sedes Sapientiae (UCSS) y en el invernáculo de la Facultad de Ingeniería Agraria de la Sede Lima. El periodo de tiempo requerido fue desde el mes de Octubre 2016 hasta el mes de Marzo 2017.

#### **1.2. Descripción del Experimento**

La investigación se realizó en cuatro etapas experimentales. La primera referida al aislamiento y caracterización de una cepa bacteriana del género *Lactobacillus* presentes en el fermento de la chicha de cebada con la cual se obtuvo el inóculo bacteriano utilizado como iniciador del proceso fermentativo. La segunda etapa consistió en la producción del biofertilizante a través de la fermentación de la cuyinaza favorecida por la melaza y activada por el inóculo bacteriano obtenido de la primera etapa experimental. De los doce tratamientos aplicados, se preseleccionó tres fermentos al quinto día de iniciado el proceso, para lo cual se tomó en cuenta la medición del pH que fue menor a 4,50, la ausencia visible de cepas de microorganismos como mohos y levaduras, y que no presentaron olores

fétidos. En la tercera etapa, teniendo en cuenta los tratamientos preseleccionados, se efectuó un nuevo proceso fermentativo durante cinco días, en donde se midió diariamente el pH y el porcentaje de acidez titulable, cuyos resultados permitieron optar por el tratamiento más eficiente, del cual se le extrajo la parte líquida o biol y la parte sólida o biosol para realizar la caracterización físico-química y el análisis microbiológico en el laboratorio. La cuarta etapa experimental consistió en la realización del bioensayo de toxicidad con las semillas de “lechuga” que permitió calcular el Índice de Germinación y seleccionar la dilución más óptima del biol producido. Los diagramas de flujo de la Figuras 3 y Figura 4 muestran las secuencias realizadas en la presente investigación.

### 1.3. Tratamientos

La cuyinaza procedió de la granja de cuyes de la empresa Agroindustrial Inka Cuy S.A.C. ubicada en el distrito de Canta, Departamento de Lima, cuyo promedio poblacional es de 20000 cuyes. Se tamizó la cuyinaza para separar los restos mayores de pastos, así como de piedras u otros materiales diferentes al estiércol. Seguidamente, se homogenizó 12 kg de cuyinaza con 18 L de agua corriente para lograr la relación de 1:1,5 (p/v) entre ambos.

Tabla 4

#### *Factores y dosis considerados en la investigación*

<b>Factores</b>	<b>Dosis</b>		
A: Inóculo de bacterias <i>Lactobacillus</i> sp. (IBL)	a <sub>1</sub> : 0,15 L	a <sub>2</sub> : 0,25 L	
B: Melaza	b <sub>1</sub> : 0,15 kg	b <sub>2</sub> : 0,25 kg	
C: Cuyinaza	c <sub>1</sub> : 0,60 kg	c <sub>2</sub> : 0,70 kg	c <sub>3</sub> : 0,80 kg

*Fuente:* Elaboración propia.

En la Tabla 4 se muestran los tres factores de la investigación, los cuales fueron el inóculo de bacterias *Lactobacillus* sp. (A), la melaza (B) y la cuyinaza (C), que

tuvieron 2, 2 y 3 dosis respectivamente, y cuyas unidades de medida se muestran en la Tabla 4.

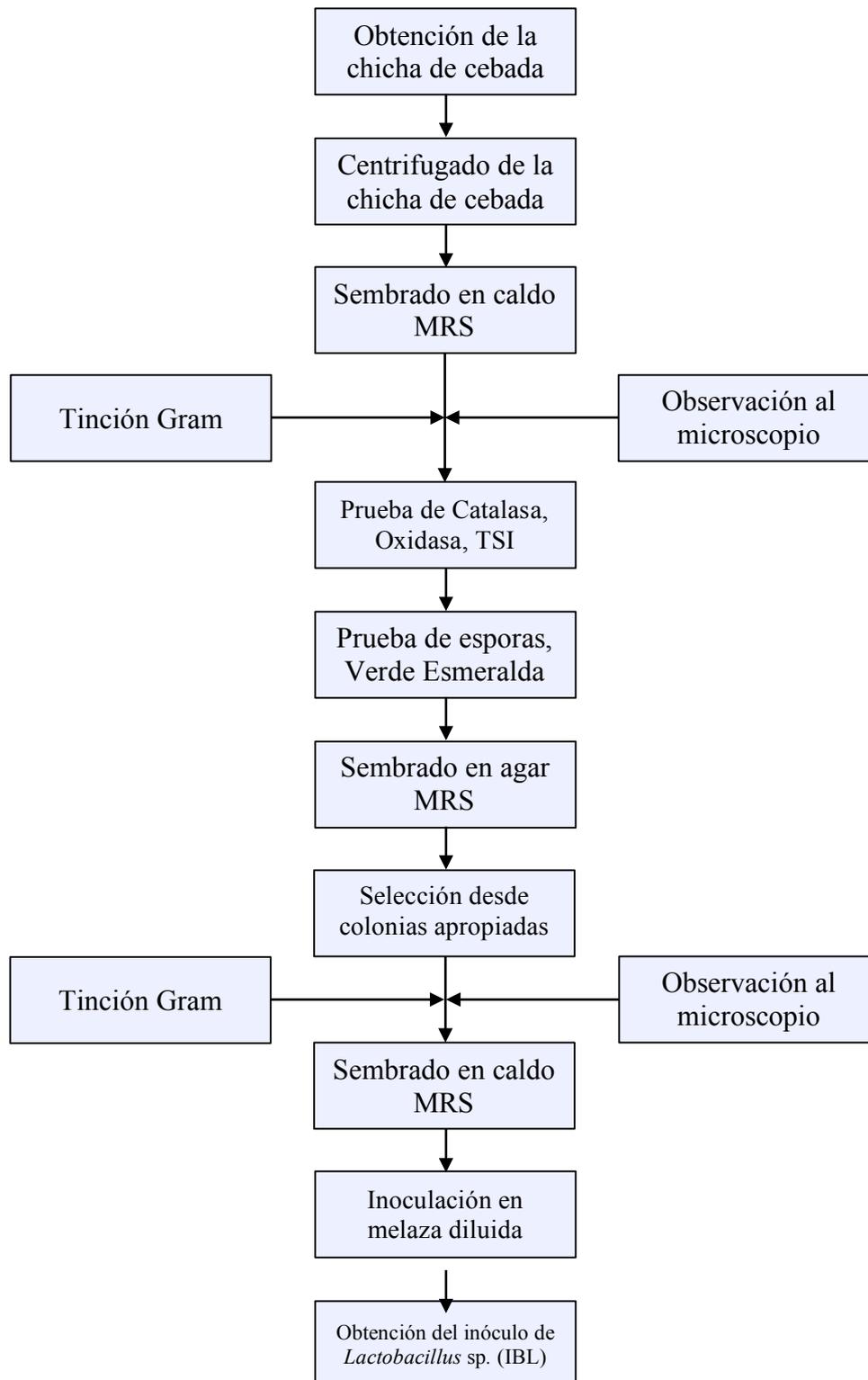


Figura 3. Diagrama de flujo para la obtención del inóculo *Lactobacillus* sp.

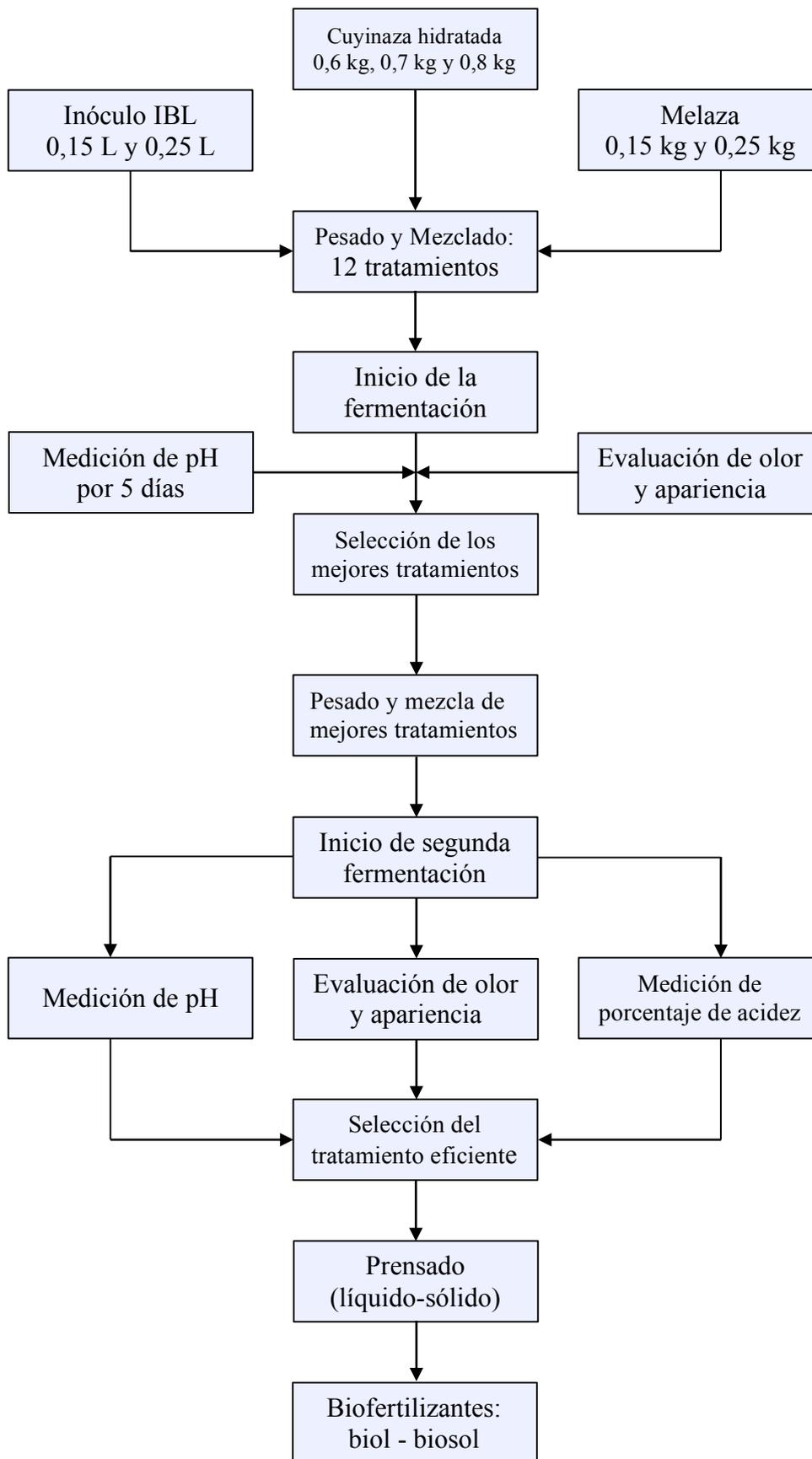


Figura 4. Diagrama de flujo para la producción del biofertilizante.

Los tratamientos experimentales considerados se indican en la Tabla 5, los cuales tuvieron tres réplicas cada uno. Tanto el inóculo IBL, la melaza, así como la cuyinaza, se colocaron en bolsas de polietileno de alta densidad, teniéndose en cuenta los pesos y volúmenes descritos por cada tratamiento. Luego, las bolsas se cerraron herméticamente empleando hilos de fibra sintética o rafia para generar condiciones anaerobias durante el proceso de fermentación. Posteriormente, se colocaron las bolsas dentro de una caja de tecnopor que permitió generar una temperatura aproximadamente uniforme para todas las unidades experimentales. Esta caja estuvo sin la incidencia de luz solar directa y a temperatura del ambiente. El control tuvo tres réplicas de 1 kg cada uno y cuyo contenido fue solo cuyinaza.

Tabla 5

***Composición de los tratamientos y del control en base a los factores inóculo de bacterias *Lactobacillus* sp. (IBL), melaza y cuyinaza***

Tratamiento	Combinación	Factores		
		Inóculo IBL (L)	Melaza (kg)	Cuyinaza (kg)
T0	Control	0,00	0,00	1,00
T1	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	0,15	0,15	0,60
T2	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	0,15	0,15	0,70
T3	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>3</sub>	0,15	0,15	0,80
T4	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	0,15	0,25	0,60
T5	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	0,15	0,25	0,70
T6	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>3</sub>	0,15	0,25	0,80
T7	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	0,25	0,15	0,60
T8	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	0,25	0,15	0,70
T9	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>3</sub>	0,25	0,15	0,80
T10	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	0,25	0,25	0,60
T11	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	0,25	0,25	0,70
T12	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>3</sub>	0,25	0,25	0,80

Fuente: Elaboración propia.

#### **1.4. Diseño Estadístico del Experimento**

Para la producción del biofertilizante, se utilizó un diseño completamente aleatorio (DCA) con arreglo factorial  $2^2 \times 3 + 1$  con tres réplicas por tratamiento, donde 1 representa al control. Mientras que en el porcentaje de germinación, elongación de la radícula y elongación del hipocotilo solo se usó un diseño completamente al azar (DCA) con tres réplicas más un control.

#### **1.5. Unidades Experimentales**

Las unidades experimentales en la investigación fueron bolsas de polietileno de alta densidad cuyo contenido fueron las mezclas descritas en la Tabla 5 referidas a cada tratamiento. Para la etapa de preselección se consideraron 39 unidades experimentales y nueve para la etapa de selección del tratamiento más eficiente. Siendo un total de 48 unidades experimentales utilizadas en toda la investigación.

#### **1.6. Desarrollo Experimental e Identificación de Variables y su Mensuración**

##### **1.6.1. Aislamiento de la Cepa de Bacterias del Género *Lactobacillus***

Las bacterias nativas del género *Lactobacillus* se aislaron de una muestra del fermento de chicha de cebada procedente de la ciudad del Cusco, Perú. Como medio de cultivo selectivo para *Lactobacillus* se utilizó Man Rogosa Sharpe (DeMAN et al., 1960 citado por Rodríguez, 2007) cuya descripción se muestra en el Apéndice 1. La muestra líquida utilizada fue de 0,50 mL del sobrenadante del fermento de chicha de cebada centrifugada a 5000 RPM durante 10 minutos, la cual se enriqueció en 4,50 mL de caldo Man Rogosa Sharpe (MRS), incubándose, luego, a 33 °C por un lapso de tiempo de 48

horas dentro de una jarra-vela que proporcionó condiciones de microanaerobiosis con presencia de dióxido de carbono. Tanto al sobrenadante, así como al pellet se les realizó tinción Gram, encontrándose mayor presencia de bacilos positivos en el sobrenadante, mientras que en el pellet se apreció presencia de levaduras, razón por la cual se utilizó el sobrenadante para el aislamiento. Posteriormente, se sembró por estrías en agar MRS en placas Petri, de las cuales se seleccionó colonias que se subcultivaron por separado en otras placas Petri con agar MRS considerándose las mismas condiciones que las anteriores. Finalmente, de estas últimas, se eligieron colonias que se cultivaron en caldo MRS con lo que se logró el aislamiento de la cepa que posteriormente permitió la obtención del inóculo de bacterias *Lactobacillus* sp. requerido.

#### 1.6.2. Caracterización Morfológica y Bioquímica de la Cepa Aislada

La cepa aislada se caracterizó morfológica y biológicamente. Para la primera, se efectuó mediante la observación de las características de forma y coloración de las colonias crecidas en la placa Petri, además de la coloración de Gram. En la segunda, se realizaron pruebas de catalasa y oxidasa (Alvarado, Chacón, Otoniel, Guerrero y López, 2007; Rodríguez, 2011; Ortiz, 2006). También, se realizó la prueba Triple Azúcar Hierro (TSI) para indicar si los microorganismos aislados realizaban, tanto fermentación de glucosa, lactosa y/o sacarosa, así como producción de sulfuro de hidrógeno o ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S). Asimismo, la prueba de tinción de esporas se aplicó a la cepa aislada siguiendo la metodología descrita por Vásquez, Martín, De Silóniz y Serrano (2010). Como prueba adicional, se evaluó la calidad sanitaria de la cepa a través de la siembra en el medio de cultivo caldo Verde Brillante, siendo la formación de gas en la cámara de Durham un indicativo de la presencia de microorganismos coliformes (Fernández-Rendón y Barrera-Escorcia, 2013).

### 1.6.3. Obtención del Inóculo de Bacterias *Lactobacillus* sp. (IBL)

El inóculo bacteriano para el proceso de fermentación de la cuyinaza se obtuvo a partir del cultivo de la cepa aislada del fermento de la chicha de cebada. Este inóculo se logró empleando melaza diluida al 20 por ciento como fuente de carbono (Ossa et al., 2010). Se procedió inoculando la cepa en el sustrato líquido en un porcentaje del 10 por ciento del volumen total. Posteriormente, se almacenó bajo sombra en envases cerrados herméticamente durante 24-48 horas antes de ser usado como inóculo de bacterias *Lactobacillus* sp. (IBL) para la fermentación de la cuyinaza.

### 1.6.4. Determinación de la Concentración Óptima del Inóculo de Bacterias *Lactobacillus* sp. en los Tratamientos para la Fermentación de la Cuyinaza

#### a. Medición del Potencial de Hidrogeno (pH) en los Tratamientos

Con la ayuda de un pH-metro digital, se midió diaria y directamente el pH en los tratamientos. Se diluyó homogéneamente 5 g de mezcla del tratamiento en agua destilada dentro de un recipiente, al cual se le introdujo el sensor del pH-metro. Se aceptó el valor indicado por el instrumento de medida de pH, si no varió por el lapso de 10 s. Se lavó el sensor con agua destilada entre cada medición de pH. La calibración del pH-metro se realizó con soluciones buffer de pH cuatro y de pH siete. Durante un periodo de cinco días consecutivos se midió el pH en todos los tratamientos incluyendo el control.

## b. Preselección de los Tratamientos

Como fueron varios los tratamientos que cumplieron los requisitos indicados para seleccionar al tratamiento más eficiente, se consideró pertinente preseleccionarlos y con ellos se realizó una nueva fermentación de la cuyinaza, cuyo resultado permitió seleccionar al tratamiento más eficiente.

Se tomó en cuenta los datos de pH al quinto día de la fermentación y se preseleccionó aquellos tratamientos que obtuvieron un pH menor a 4,50, que no presentaron películas de mohos o levaduras y sin olores fétidos o desagradables.

### 1.6.5. Selección del Tratamiento más Eficiente en la Producción de Biofertilizante entre los Tratamientos Preseleccionados

#### a. Aplicación de los Tratamientos Preseleccionados para la Fermentación de la Cuyinaza

Posterior a la fase de preselección de los tratamientos, se procedió a realizar una segunda fermentación de la cuyinaza, para lo cual se homogenizó y humedeció a la cuyinaza según lo realizado en la fase de preselección. Los tratamientos preseleccionados se volvieron a aplicar a la cuyinaza siguiendo el mismo procedimiento fermentativo consistente en el uso del inóculo IBL y la melaza, que fueron contenidas en bolsas de polietileno según las proporciones en pesos y volúmenes establecidos por cada tratamiento, pero esta vez se incrementó en tres veces la cantidad, puesto que se requería producir un mínimo de 1,50 L de biol y 2,00 kg de biosol para ser llevados a los análisis post prensado. En el nuevo proceso

fermentativo de la cuyinaza y bajo las mismas condiciones que la fase de preselección, los tratamientos preseleccionados, con sus tres replicas, se colocaron dentro de una caja de tecnopor para generar un ambiente con temperatura aproximadamente similar.

#### b. Medición del pH de los Tratamientos Preseleccionados

La medición del pH se realizó durante cinco días desde que se inició el segundo proceso fermentativo de la cuyinaza, siguiendo el mismo procedimiento indicado para la etapa de preselección, con los resultados se seleccionó el tratamiento más eficiente. Para esta nueva experimentación, también se utilizó cuyinaza sin hidratar procedente de la empresa Agroindustrial Inka Cuy S.A.C..

#### c. Medición del Porcentaje de Acidez Titulable de los Tratamientos Preseleccionados

La medición del porcentaje de la acidez titulable permitió cuantificar el porcentaje de ácido láctico producido en la fermentación. Se tituló con hidróxido de sodio (NaOH) al 0,10 N usando fenolftaleína como indicador y se midió el porcentaje de acidez siguiendo el procedimiento establecido por la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1998). Se tomó 10 g a titular de cada tratamiento y se diluyó en 50 mL de agua destilada al que se le agregó 0,30 mL de fenolftaleína. Como no se apreció el cambio de coloración de la dilución porque la turbidez era alta, se introdujo el electrodo del pH-metro en la dilución. Se detuvo la titulación cuando el valor de pH se encontró en  $8,10 \pm 0,20$  y se anotó el volumen de hidróxido de sodio gastado. Se utilizó la fórmula siguiente para el cálculo del porcentaje de ácido láctico titulable.

$$\% \text{Ácido láctico titulable} = \left( \frac{G * N * f}{m} \right) (100)$$

Donde:

G: Gasto de hidróxido de sodio (mL)

N: Normalidad de hidróxido de sodio

m: Masa de la muestra (g)

f: factor de conversión (0,09)

#### d. Selección del Tratamiento más Eficiente entre los Tratamientos Preseleccionados

El tratamiento considerado como el más eficiente en la segunda fermentación de la cuyinaza entre los tratamientos preseleccionados, no solo cumplió con tener pH menor a 4,50, sin la presencia de una película de mohos y levaduras, sin presentar olores fétidos, sino también logró un mayor porcentaje de ácido láctico titulable al final de los cinco días de iniciada la fermentación.

En el último día de la medición, se seleccionó el tratamiento más eficiente y se procedió a separar el producto de la fermentación en una parte líquida y otra sólida que posteriormente constituirán los biofertilizantes obtenidos a partir de la cuyinaza. El biol y biosol, parte líquida y sólida respectivamente del tratamiento más eficiente, fueron llevados a los laboratorios correspondientes para ser analizados microbiológica y químicamente.

#### 1.6.6. Análisis Microbiológico del Biofertilizante Producido por el Tratamiento más Eficiente

La parte líquida o biol y la parte sólida o biosol que se recolectaron del tratamiento seleccionado como el más eficiente, se les analizó microbiológicamente en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología Marino Tabusso de la Universidad Nacional Agraria La Molina con la metodología de la International Commission Microbiological Specifications for Food (ICMSF, 1983) y de la American Public Health Association (APHA, 1992). Estos análisis incluyeron el recuento de aerobios mesófilos viables, recuento de mohos, recuento de levaduras, enumeración de coliformes totales, enumeración de coliformes fecales, enumeración de *Staphylococcus aureus* y detección de *Salmonella*. De esta manera, se consiguió saber la calidad fitosanitaria del fertilizante producido.

#### 1.6.7. Análisis Químico de Interés Agronómico o Caracterización físico-química del Biofertilizante Producido por el Tratamiento más Eficiente

La caracterización físico-química se les realizó al biol y al biosol para determinar sus cualidades que representen interés agronómico. Este análisis consistió en evaluar pH, conductividad eléctrica, sólidos totales, materia orgánica en solución, nitrógeno total, fósforo total, potasio total, calcio, magnesio, hierro, sodio, cobre, zinc, manganeso y boro, cuyas unidades de medida y metodología empleada se muestran en la Tabla 6. Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF). Con los resultados de los análisis, se comprobó las bondades de interés agronómico que presentaron el biol y el biosol como biofertilizantes.

Tabla 6

**Metodologías empleadas para la caracterización del biol**

<b>Parámetro</b>	<b>Unidades</b>	<b>Metodología a emplear</b>
pH	Rangos de pH	Potenciometría
Conductividad eléctrica	uS.cm <sup>-1</sup>	Conductimetría
Sólidos totales	g.L <sup>-1</sup>	Gravimetría
Materia orgánica	g.L <sup>-1</sup>	Walkley y Black o dicromato de potasio
%Nitrógeno / N total	%	Kjeldahk
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> / P total	%	Amarillo de vanadio molibdato
K <sub>2</sub> O / K total, CaO / Ca total, MgO /Mg total, Na /Na total	%	Espectrometría de absorción atómica
Hierro, cobre, zinc, manganeso	ppm	Espectrometría de absorción atómica
Boro	ppm	Curmina

*Fuente:* Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

1.6.8. Cálculo del Índice de Calidad de la Materia Orgánica o Relación C/N

El Índice de Calidad de la Materia Orgánica, también conocido como la relación C/N, manifiesta la capacidad de equilibrio en la que se encuentre un fertilizante en relación a los macronutrientes carbono y nitrógeno (Meza, 2014). Esta relación expresa la cantidad de carbono por unidad de nitrógeno que está contenida en un material (Kimura, 2005 citado por Román, 2012).

Se calculó la relación C/N utilizando la información proporcionada por el laboratorio LASPAF que se aplicaron a las siguientes formulaciones (Thompson et al., 1 988 citado por Meza, 2014):

$$C/N = \frac{\%C}{\%N}$$

Donde:

$$\%C = \frac{\% \text{ Materia Orgánica (MO)}}{1,724}$$

La constante 1,724 es el factor de Van Bemmelen establecido porque la materia orgánica del suelo contiene un aproximado de 58 por ciento de carbono (Kimura, 2005 citado por Román, 2012).

#### 1.6.9. Estabilidad del Biol

Como los biofertilizantes están compuestos por microorganismos, el paso del tiempo les genera cambios en sus características porque la microbiota se va desactivando. Razón por la cual es muy importante averiguar la estabilidad del biol producido en relación al tiempo.

La estabilidad o poca capacidad de cambio del biol se evaluó tomando en cuenta el parámetro pH durante un lapso de 75 días. Se consideró la evaluación desde que fue extraído y recolectado el biol del tratamiento seleccionado como el más eficiente. Se realizaron 15 mediciones de pH cada cinco días.

#### 1.6.10. Bioensayos de Toxicidad en las Semillas de “Lechuga”

##### a. Efecto del Biofertilizante en la Germinación

Se evaluó si el biol producido genera efecto tóxico en las semillas de “lechuga”, para lo cual se realizaron diluciones de 100 por ciento, 10 por

ciento, 1 por ciento, 0,10 por ciento y 0,01 por ciento del biol producido (Sobrero y Ronco, 2004 citados por Peralta, 2010), y para el control o testigo se utilizó agua destilada (ver Tabla 7). Todos los tratamientos más el control se evaluaron con tres réplicas. Se emplearon semillas de “lechuga” (*Lactuca sativa* L.) de la variedad Duett, tipo mantecosa adquiridas de la empresa Enza Zaden de Holanda a través del Centro de Hidroponía de la Universidad Nacional Agraria La Molina. El uso de esta semilla se debió a su sensibilidad a las concentraciones de sales y a su significativa celeridad germinativa en este tipo de ensayo.

Tabla 7

***Descripción de los tratamientos y del control para el bioensayo en semillas de “lechuga”***

<b>Tratamiento</b>	<b>Diluciones</b>	
T0pg	Control (agua destilada)	0,00%
T1pg	100/100 (Biol T4 puro)	100,00%
T2pg	10/100	10,00%
T3pg	1/100	1,00%
T4pg	0,1/100	0,10%
T5pg	0,01/100	0,01%

Fuente: Elaboración propia.

Se procedió a colocar adecuadamente 10 semillas sobre papel toalla dentro de cada una de las 18 placas Petri utilizadas que fueron previamente saturadas con 5 mL de dilución según tratamiento. El tiempo establecido para evaluar el efecto inhibitor del biol en la elongación de la radícula y en la germinación fue de cinco días. Diariamente, se contabilizó el número de semillas germinadas por tratamiento y para que la germinación sea aceptable debió superar el 90 por ciento.

Varnero, Rojas y Orellana (2007) consideraron que el potencial fitotóxico de un material orgánico puede ser indicado a través del Índice

de Germinación (IG) porque relaciona el Porcentaje de Germinación Relativo con el Crecimiento Relativo de las Raíces. Es decir, el IG evalúa la toxicidad aguda que repercute en la germinación y la toxicidad leve que se manifiesta en el crecimiento de la radícula (Tiquia y Tam, 1998 citados por Sandoval, Zapata, Celis, Quezada, Capulín y Solís, 2013).

Después de un tiempo de cinco días, se midieron las elongaciones de las radículas de cada plántula de “lechuga” utilizando un vernier como instrumento de medida con el apoyo de un papel milimetrado. Se consideró la medida desde el nudo o parte de transición, entre el hipocotilo y la radícula, hasta el ápice radicular (Peralta, 2010). En la Figura 5, se muestra el esquema e imagen de la plántula de “lechuga” indicando las partes que se midieron.

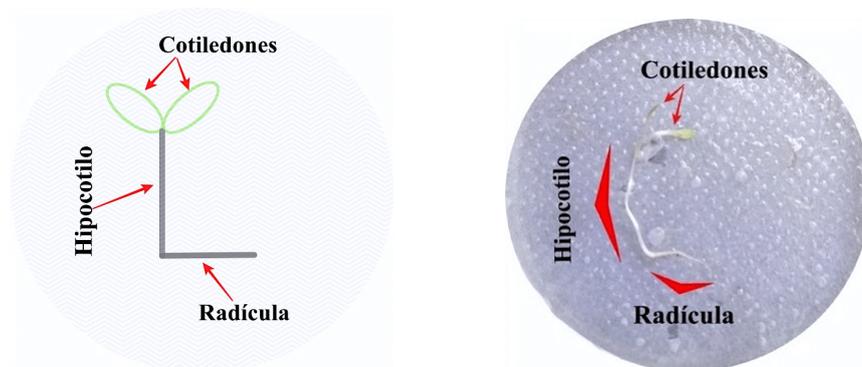


Figura 5. Esquemas de la plántula de “lechuga” con las partes medidas en la investigación.

- b. Cálculo del índice de Germinación, Índice del Porcentaje de Germinación Residual Normalizado e Índice de Elongación Radical Residual Normalizado

Considerando a Tiquia (2000) citado por Varnero et al. (2007), el Índice de Germinación (IG) resulta de relacionar los índices referidos al

Porcentaje de Germinación Relativo (PGR) con el Crecimiento de Radícula Relativo (CRR), ambos contrastados con el tratamiento control o testigo. Estas relaciones se muestran a continuación:

$$\text{PGR} = \left( \frac{\text{N}^\circ \text{ de semillas germinadas en el extracto}}{\text{N}^\circ \text{ de semillas germinadas en el testigo}} \right) (100)$$

$$\text{CRR} = \left( \frac{\text{Elongación de radícula en el extracto}}{\text{Elongación de radícula en el testigo}} \right) (100)$$

$$\text{IG} = \frac{(\text{PGR})(\text{CRR})}{100}$$

Los valores del IG que resulten iguales o superiores a 80 por ciento indican que existe baja o nula concentración de sustancias fitotóxicas. Y si logran ser iguales o menores a 50 por ciento, la presencia de sustancias fitotóxicas sería fuerte. Siendo de moderada presencia cuando los valores se ubiquen entre el 50 por ciento y 80 por ciento (Zucconi et al., 1981 citados por Varnero et al., 2007).

Adicionalmente al IG y de acuerdo a Bagur-González et al. (2011) citado por Rodríguez et al. (2014), se calcularon los Índices del Porcentaje de Germinación Residual Normalizado (IGN) y de Elongación Radical Residual Normalizado (IER) que proporcionan información de toxicidad o inhibición de un compuesto, cuya tabla de valor va desde -1 hasta valores mayores a cero. La estimación de estos índices se basa en las siguientes fórmulas:

$$\text{IGN} = \frac{\text{Germ}_x - \text{Germ}_{\text{Testigo}}}{\text{Germ}_{\text{Testigo}}}$$

Donde:

$\text{Germ}_x$ : Porcentaje promedio de semillas germinadas en el tratamiento.

$\text{Germ}_{\text{Testigo}}$ : Porcentaje de semillas germinadas en el testigo.

$$\text{IER} = \frac{\text{Elong}_x - \text{Elong}_{\text{Testigo}}}{\text{Elong}_{\text{Testigo}}}$$

Donde:

$\text{Elong}_x$ : Longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas por tratamiento.

$\text{Elong}_{\text{Testigo}}$ : Longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en el testigo.

La toxicidad o inhibición manifestada a través de estos índices se encuentran en el rango de -1 a >0, estableciéndose las siguientes categorías (Bagur-González et al., 2011 citados por Rodríguez et al., 2014):

- Índice de 0 a -0,25: Baja toxicidad
- Índice de -0,25 a -0,5: Toxicidad moderada
- Índice de -0,5 a -0,75: Muy tóxico
- Índice de -0,75 a -1: Toxicidad muy alta
- Índice >0: Indica hermesis o crecimiento de la radícula

## 1.7. Análisis Estadístico de los Datos

Se aplicó un análisis de varianza ( $p \leq 0,05$ ) a los efectos principales del inóculo IBL, melaza y cuyinaza, así como a los efectos de interacciones doble y triple de estos factores, considerándose al pH como variable respuesta. Adicionalmente, se complementó el análisis con gráficos de interacción y pruebas de Tukey para la comparación de medias.

Se realizó un análisis de varianza ( $p \leq 0,05$ ) para comparar los resultados de pH de los tratamientos en la producción del biofertilizante mediante dos dosis de inóculo IBL y dos dosis de melaza. Como las diferencias fueron significativas, se procedió con una prueba de Tukey para la comparación de medias por pares.

Se efectuó un análisis de varianza ( $p \leq 0,05$ ) para comparar, tanto al pH, así como al porcentaje de ácido láctico titulable de los tres tratamientos preseleccionados. Como el ANOVA no resultó significativo, no se aplicó ninguna prueba de comparación de medias.

Se determinó el coeficiente de correlación de Pearson entre el pH y el porcentaje de ácido láctico titulable producido en los tratamientos preseleccionados. Finalmente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) ( $p \leq 0,05$ ) al porcentaje de germinación, Índice de Germinación, elongación de la radícula y elongación del hipocotilo obtenidos en el bioensayo de toxicidad con las semillas de “lechuga” por acción de las diluciones del biol producido, para aquellos que resultó significativo, se aplicó la prueba de Tukey para comparar las medias.

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa IBM® SPSS® Statistics, Versión 21.

## **2. MATERIALES**

### **2.1. Material Biológico**

- Cuyinaza procedente de la empresa Agroindustrial Inka Cuy S.A.C., Canta.
- Melaza de caña obtenida de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Fermento de chicha de cebada procedente de la ciudad de Cusco.
- Semillas de “lechuga” *Lactuca sativa* L. adquiridas del Centro de Hidroponía de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

### **2.2. Medios de Cultivo y Reactivos**

- Medios de cultivo: Caldo Man Rogosa Sharpe (MRS) para *Lactobacillus*, Caldo lactosa bilis verde brillante.
- Reactivos: Cristal violeta, lugol Gram, alcohol acetona, safranina, peróxido de hidrógeno al 3 por ciento, Reactivo Kovacs, solución buffer de siete y cuatro de pH, hidróxido de sodio 0,10 N, fenoltaleína, agua destilada.

### **2.3. Equipos**

- Microscopio binocular marca Beltec Scientific, pH-metro digital, Balanza digital marca Electronic Compact Scale modelo SF-400 A, Centrifuga de tubos marca Greetmed modelo GT 119-300, Autoclave marca Greetmed modelo YX-280 D, Incubadora marca Digisysten, Baño maría marca Thermostatic, Selladora marca Samwin modelo SF-300S, Horno microondas marca LG.

## **2.4. Otros Materiales**

- Material de vidrio: Tubos de ensayo, pipetas graduadas 2,50 y 10 mL, matraces de 250 mL.
- Material desechable: Placas petri de 10 cm de diámetro, bolsas de polietileno de alta densidad, guantes de látex.
- Material propio de laboratorio: Piceta, gradilla, algodón, papel toalla.
- Materiales diversos: Hilo sintético (rafia), caja grande de tecnopor, papel milimetrado.

## **CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y BIOLÓGICA DE LAS BACTERIAS DEL GÉNERO *Lactobacillus* AISLADAS DEL FERMENTO DE LA CHICHA DE CEBADA**

La cepa aislada de la chicha de cebada se identificó como *Lactobacillus* sp., la cual presentó formación de colonias redondeadas con superficie convexa de color blanco cremoso y que presentaron morfología de bacilos Gram positivos al microscopio (Fernández, 1985 citado por Ortiz, 2006). Las pruebas bioquímicas aplicadas dieron como resultado que la cepa aislada fue catalasa negativa, oxidasa negativa, no esporulada, fermentadora de glucosa, lactosa y/o sacarosa, sin producción de sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) ni de gas. Además, se descartó la presencia de microorganismos coliformes en la cepa aislada al no presentarse la formación de gas en la cámara de Durham en la prueba del caldo verde brillante (Fernández-Rendón y Barrera-Escorcía, 2013).

### **2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN ÓPTIMA DEL INÓCULO *Lactobacillus* sp. EN LOS TRATAMIENTOS PARA LA FERMENTACIÓN DE LA CUYINAZA**

Para la evaluación de la concentración óptima del inóculo, se procedió con el acondicionando del sustrato en los tratamientos que permitieron fermentar a la cuyinaza.

## 2.1. Acondicionamiento del Sustrato

En la Tabla 8, se muestran los valores del pH inicial del inóculo IBL, la melaza y la cuyinaza, materiales utilizados en la investigación. La cuyinaza seca empleada en todos los tratamientos fue hidratada en la proporción de 1:1,50 (p/v), alcanzando una humedad aproximada de 60 por ciento.

Inicialmente, el inóculo IBL presentó un pH bajo con valor tres (ver Tabla 8), condición que García (2008) citado por Román (2012) lo sustenta como una consecuencia del metabolismo de las bacterias lácticas que generan ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico que influye disminuyendo el valor del pH. En cuanto al pH de 4,30 de la melaza, resultó cercano al valor reportado por Meza (2014) y muy próximo del rango de 4,80-5,40 indicado por Aldón (2008), quien manifiesta que este pH ácido se debe a los ácidos no volátiles generados en los procesos de la fabricación del azúcar de caña. Para el caso de la cuyinaza, el pH inicial fue de 10,47, cercano al valor de 9,30 indicado por Iparraguirre (2007), quien considera que este valor depende del tiempo de recolección y de las particularidades de cada granja, tales como la época del año, la raza y/o alimentación de los cuyes.

Tabla 8

### ***Condiciones iniciales de pH de los materiales utilizados para la fermentación láctica***

<b>Materia prima</b>	<b>pH</b>
Inóculo IBL	3,00
Melaza	4,30
Cuyinaza	10,47

*Fuente:* Elaboración propia.

La cuyinaza procedente de la empresa Agroindustrial Inka Cuy S.A.C., al ser caracterizada físico-químicamente, mostró los valores de la Tabla 9. Estos valores

de macronutrientes y micronutrientes ofrecen conocimientos significativos acerca de las cualidades que posee la cuyinaza como insumo para la producción de biofertilizantes debido a su contenido de micronutrientes y macronutrientes.

Tabla 9

***Caracterización físico-química de la cuyinaza utilizada en la investigación***

<b>Parámetros</b>	<b>Cuyinaza</b>
Humedad (%)	60,00
C.E. (dS.m <sup>-1</sup> )	14,10
Materia orgánica (%)	74,08
<b>Macronutrientes</b>	
Nitrógeno (%)	1,99
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	3,01
K <sub>2</sub> O (%)	5,63
CaO (%)	2,71
MgO (%)	1,23
<b>Micronutrientes</b>	
Sodio (%)	0,26
Hierro (ppm)	3323,00
Cobre (ppm)	38,00
Zinc (ppm)	237,00
Manganeso (ppm)	254,00
Boro (ppm)	64,00

*Fuente:* Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Román (2012) produjo biol, en donde la caracterización físico-química de la cuyinaza que utilizó difiere de lo observado en la presente investigación. Esta variación, manifiesta él, debe corresponder a factores diversos como la alimentación proporcionada a los cuyes, la zona geográfica en donde se ubiquen las granjas, raza de los cuyes, entre otros. Asimismo, un factor influyente a considerar es que la cuyinaza que se utilizó en presente investigación fue recolectada del total del estiércol producido en la granja, mientras que Román (2012) recolectó solo de los cuyes machos de recría.

## 2.2. Medición del Parámetro pH en los Tratamientos

En la Tabla 10, se muestran los valores promedios del pH medidos diariamente en los tratamientos y en el control durante cinco días. Para la presente investigación, se consideró los valores registrados en el quinto día de iniciada la fermentación de la cuyinaza. El registro total de los valores medidos del pH de cada tratamiento con sus réplicas se detallan en el Apéndice 2.

Se observó que el tratamiento control (T0) tuvo un valor de pH inicial igual a 10,47, el cual es el más elevado. Mientras que los tratamientos T1 y T10, que son tratamientos con menor cantidad de cuyinaza, resultaron con un valor de 6,70 de pH. Además, se debe precisar en la Tabla 10 que, antes de iniciarse la fermentación de la cuyinaza, todos los valores iniciales de pH fueron mayores al valor de seis.

Según Mier (2009), la presencia de *Lactobacillus* en condiciones anaerobias producen abundantes cantidades de ácido láctico que disminuyen el valor del pH, generando un medio inhabitable para muchos microorganismos aerobios debido a la acidez. Esto explicaría el porqué del alto valor de pH del tratamiento control (T0) que solo estuvo compuesto por cuyinaza hidratada y posiblemente por comunidades microbianas aeróbicas desarrolladas desde que se produjo el estiércol en la granja hasta que fue recolectada. Sucedió lo contrario con los tratamientos compuestos por el inóculo IBL que les proporcionó una significativa cantidad de bacterias lácticas quienes habrían posibilitado la disminución del valor de pH de los tratamientos diferentes al control T0.

Luego de un lapso de tiempo de 24 horas de iniciado el proceso fermentativo (Día 1), se observó que las unidades experimentales contenían gas que se había generado desde el día anterior y que al pasar los días dejó de producirse.

Tabla 10

**Registro diario promedio del pH (X) con las desviaciones estándar ( $\pm$ DE) de los tratamientos y del control**

Tratamiento	Día					
	0	1	2	3	4	5
T0	10,47 $\pm$ 0,45 <sup>g</sup>	9,90 $\pm$ 0,10	8,17 $\pm$ 0,31	8,03 $\pm$ 0,12	8,80 $\pm$ 0,10	9,87 $\pm$ 0,38 <sup>f</sup>
T1	6,70 $\pm$ 0,36 <sup>ab</sup>	5,80 $\pm$ 0,10	4,80 $\pm$ 0,00	4,20 $\pm$ 0,10	4,20 $\pm$ 0,17	4,17 $\pm$ 0,15 <sup>bcd</sup>
T2	8,20 $\pm$ 0,62 <sup>def</sup>	5,53 $\pm$ 0,06	4,73 $\pm$ 0,35	3,97 $\pm$ 0,40	4,13 $\pm$ 0,21	4,57 $\pm$ 0,15 <sup>bcd</sup>
T3	8,13 $\pm$ 0,15 <sup>cdef</sup>	6,10 $\pm$ 0,10	5,33 $\pm$ 0,25	5,00 $\pm$ 0,61	5,53 $\pm$ 0,15	4,90 $\pm$ 0,10 <sup>cd</sup>
T4	8,63 $\pm$ 0,20 <sup>f</sup>	5,40 $\pm$ 0,10	3,87 $\pm$ 0,12	2,87 $\pm$ 0,15	3,83 $\pm$ 0,15	3,10 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>
T5	7,70 $\pm$ 0,26 <sup>bcd</sup>	5,13 $\pm$ 0,15	4,07 $\pm$ 0,12	3,07 $\pm$ 0,23	4,63 $\pm$ 0,15	3,63 $\pm$ 0,15 <sup>ab</sup>
T6	8,50 $\pm$ 0,40 <sup>ef</sup>	5,57 $\pm$ 0,06	4,27 $\pm$ 0,29	3,37 $\pm$ 0,12	4,97 $\pm$ 0,29	4,07 $\pm$ 0,40 <sup>abc</sup>
T7	7,33 $\pm$ 0,15 <sup>abcd</sup>	5,37 $\pm$ 0,45	4,47 $\pm$ 0,38	3,57 $\pm$ 0,21	4,97 $\pm$ 0,06	4,30 $\pm$ 0,10 <sup>bcd</sup>
T8	7,13 $\pm$ 0,70 <sup>abc</sup>	6,07 $\pm$ 0,46	5,20 $\pm$ 0,87	4,57 $\pm$ 1,15	5,77 $\pm$ 0,91	6,07 $\pm$ 0,80 <sup>e</sup>
T9	7,57 $\pm$ 0,15 <sup>abcde</sup>	6,27 $\pm$ 0,35	4,87 $\pm$ 0,60	4,43 $\pm$ 0,42	5,83 $\pm$ 0,12	5,13 $\pm$ 0,45 <sup>de</sup>
T10	6,63 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	5,50 $\pm$ 0,36	3,73 $\pm$ 0,15	2,97 $\pm$ 0,12	4,63 $\pm$ 0,15	3,80 $\pm$ 0,26 <sup>ab</sup>
T11	8,13 $\pm$ 0,35 <sup>cdef</sup>	5,73 $\pm$ 0,71	4,10 $\pm$ 0,10	3,03 $\pm$ 0,12	4,87 $\pm$ 0,23	4,30 $\pm$ 0,26 <sup>bcd</sup>
T12	8,07 $\pm$ 0,15 <sup>cdef</sup>	5,20 $\pm$ 0,50	4,10 $\pm$ 0,10	3,13 $\pm$ 0,12	4,90 $\pm$ 0,10	4,37 $\pm$ 0,15 <sup>bcd</sup>

*Nota:* No existen diferencias estadísticamente significativas en superíndices con letras iguales según Prueba de Tukey.

*Fuente:* Elaboración propia.

El gas generado y observado en algunas unidades experimentales durante los primeros días de la fermentación se debe, según Mier (2009), a la actividad metabólica de algunos microorganismos aerobios, como la *Klebsiella* y el *Acetobacter*, quienes utilizan el oxígeno retenido en las bolsas para multiplicarse tomando como sustrato a los carbohidratos presentes y como resultado de ese proceso generan dióxido de carbono, ácido acético y olores desagradables.

Los tratamientos T3, T8 y T9 presentaron olores fétidos o desagradables y no lograron disminuir el pH a menos de 4,50, incumpliendo los requisitos de preselección. Estos tratamientos tuvieron menor cantidad de melaza, pero mayor cantidad de cuyinaza. El tratamiento T2 se descartó porque no logró bajar su pH a menos de 4,50, a pesar que no presentó olor fétido ni cepas de microorganismos en su superficie.

Según García (2008) citado por Peralta (2010), el desarrollo de la flora bacteriana en general es favorecida cuando el pH es cercano o mayor a cinco, pero si las bacterias lácticas están presentes inhibirán a muchos microorganismos por el ácido láctico que producen. Para el caso en el que exista poca cantidad de carbono fermentable, Mier (2009) manifiesta que las bacterias ácido lácticas no se desarrollan dificultando la disminución del pH, esto permite que se desarrollen microbios como los *Clostridium sacarolíticos* quienes consumen los carbohidratos y formando ácido butírico, el cual presenta olor desagradable y posee poca capacidad acidificante. Bajo estas condiciones, proliferan otros grupos bacterianos como los *Clostridium proteolíticos* cuyas cualidades putrefactivas afectan a las proteínas presentes y como consecuencia generan amoníaco (Mier, 2009). Posiblemente, estos procesos microbianos se habrían desarrollado en los tratamientos T3, T8 y T9, los cuales estaban compuestos de poca cantidad de melaza y de mayor cuinaza, que generaron olores fétidos. Por esta razón y porque no lograron bajar de 4,50 de pH, estos tratamientos se descartaron.

Los tratamientos T1 y T4 fueron los primeros en ser seleccionados porque lograron mantenerse debajo de un pH de 4,50 y, además, no presentaron olores fétidos o desagradables y visiblemente no se apreció cepas de otros microorganismos en su superficie.

A pesar que el tratamiento T2 tuvo olores agradables, su valor de pH no logró ser menor a 4,50 al quinto día de evaluación, incumpliendo con uno de los criterios de selección. Probablemente, este valor de pH se deba a que, también, este tratamiento no disponía de suficiente cantidad de melaza que es la fuente carbono que facilita la fermentación láctica (Mier, 2009).

El análisis de varianza ( $p \leq 0,05$ ), considerando como fuentes de variación a los efectos principales del inóculo IBL, melaza y cuinaza, y de los efectos de las

interacciones doble y triple de estos parámetros, resultó significativo para los efectos principales, la interacción doble inóculo IBL-cuyinaza y la interacción triple inóculo IBL-melaza-cuyinaza (ver Apéndice 4). En los efectos principales (ver Figura 6), la dosis de 0.15 mL del inóculo IBL logró un pH medio de 4,07, mientras que en la dosis de 0,25 mL fue de 4,66. En el factor melaza, el pH de la dosis 0,15 mL fue de 4,86, mientras que la dosis 0,25 mL presentó 3,88 de pH. La dosis 0,60 kg de la cuyinaza presentó diferencia significativa al lograr 3,84 de pH, respecto a las otras dos dosis 0,70 kg (con pH 4,64) y 0,80 kg (con pH 6,62), pero entre estas dos últimas dosis no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

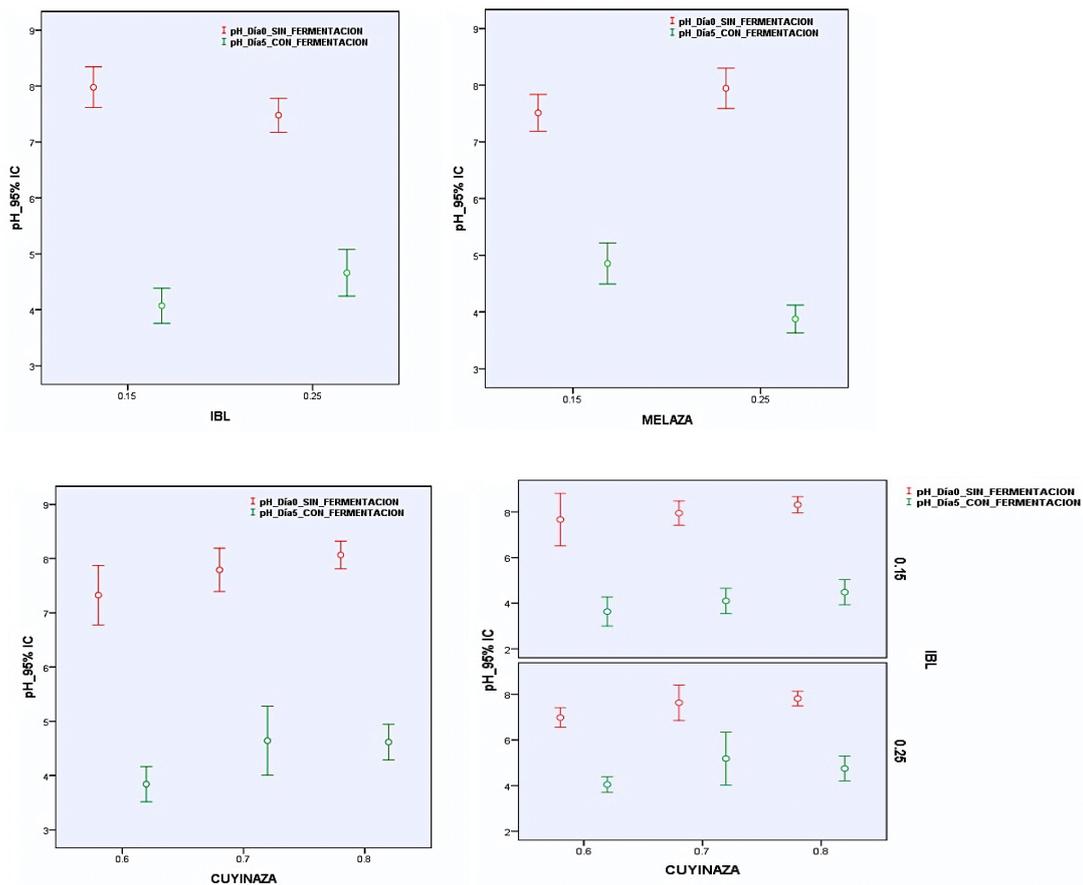
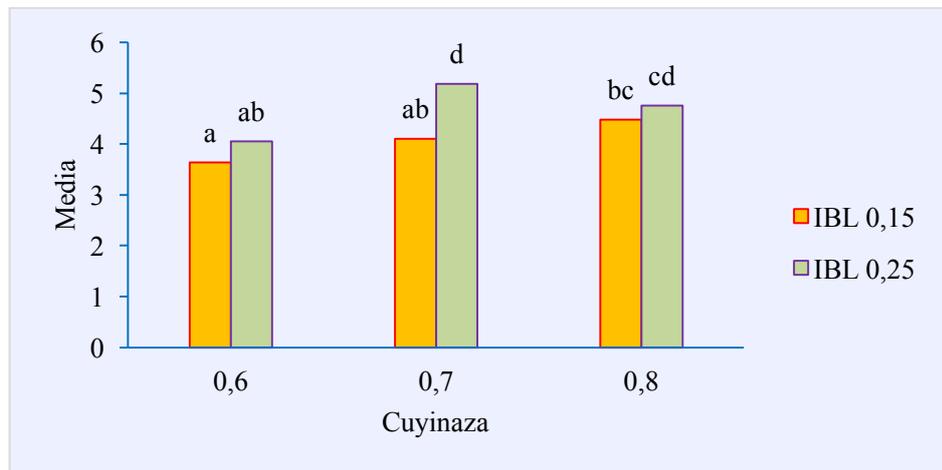


Figura 6. Diagrama de bigotes de los efectos principales de los parámetros inóculo IBL, melaza y cuyinaza, y de la interacción doble entre el inóculo IBL y cuyinaza sobre el pH.

En la Figura 6, se observa que a mayor cantidad de melaza, menor valor del pH, mientras que a mayor cantidad de cuyinaza, mayor valor de pH. Estas condiciones

se pueden explicar con lo manifestado por Mier (2009) en relación a cuán importante es una suficiente fuente de carbono para favorecer el incremento de la actividad microbiana láctica que repercute directamente en la disminución del pH. Al contrario, si esta fuente carbonada no se incrementa, pero si sucede el aumento de carbohidratos, el desarrollo de las bacterias ácido lácticas disminuirá significativamente, cuyo efecto es el incremento del pH.

En la Figura 6, se muestra la interacción doble del inóculo IBL con la cuyinaza (IBL-cuyinaza) sobre el pH al quinto día de iniciada la fermentación. Se observa que el valor del pH ha disminuido en ambas dosis del inóculo IBL respecto al día inicial de la fermentación, con un mayor efecto por parte de la dosis 0,15 mL. La dosis 0,60 kg de la cuyinaza es la que ha propiciado mayor disminución del pH. Sin embargo, no existen diferencias significativas entre las dos dosis del inóculo IBL respecto a la dosis 0,60 kg y a la dosis 0,80 kg de la cuyinaza (ver Figura 7), mientras que para la dosis 0,70 kg de cuyinaza si presentan diferencias significativas entre ambas dosis del inóculo IBL.



*Figura 7.* Gráfica de barras de las medias del efecto de la interacción doble entre el inóculo IBL y la cuyinaza sobre el pH. No existen diferencias estadísticamente significativas para letras iguales según la prueba de Tukey.

Los efectos de la interacción triple del inóculo IBL-melaza-cuyinaza, al quinto día de la fermentación comparado con el día inicial, se muestran en la Figura 8, en donde el tratamiento T4 logró bajar más el pH, mientras que el tratamiento T8 fue el que menos disminuyó. Para encontrar diferencias significativas entre los tratamientos respecto al pH, se aplicó un ANOVA (ver Tabla 11).

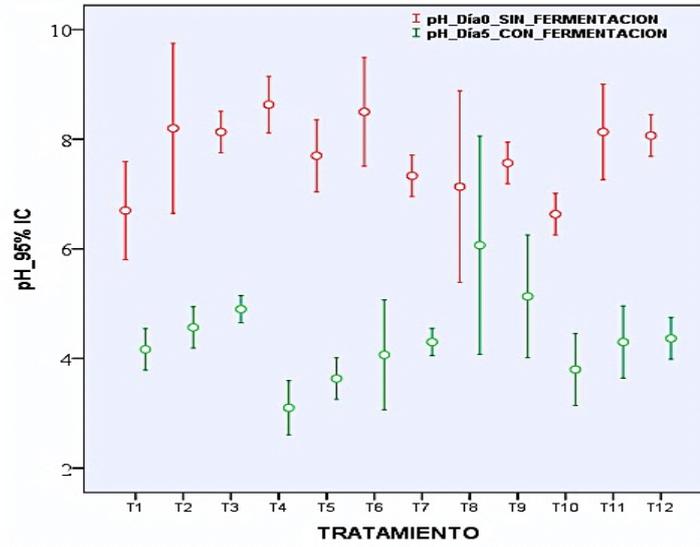


Figura 8. Diagrama de bigotes de los efectos de los parámetros inóculo IBL, melaza y cuyinaza sobre el pH en el Día 0 y en el Día 5 de la fermentación.

El análisis de varianza ( $p \leq 0,05$ ) de los datos del pH indicó la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos ( $p=0,000$ ) (ver Tabla 11). La prueba de Tukey mostró que los tratamientos T3, T4 y T8 presentaron diferencias significativas (ver Apéndice 5). Como se indicó, los tratamientos T3 y T8 se descartaron por no cumplir con los requisitos de selección. Como los tratamientos T4 y T5 no presentaron diferencias significativas, se descartó el tratamiento T5 porque, además, no presentó una consistencia homogénea en toda su masa fermentable, visualizándose separación entre fase sólida y líquida. Se consideró al tratamiento T6 porque, que a pesar de no presentar diferencias significativas con los tratamientos T1 y T4, implicó mayor cantidad de cuyinaza en su composición que ellos.

Tabla 11

*Análisis de varianza del pH en el Día5 según la variación entre tratamientos*

	pH_Día5				
	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado Medio	F valores	Sig.
Intergrupos	19,213	11	1,747	16,082	0,000
Intragrupos	2,607	24	0,109		
Total	21,820	35			

*Fuente:* Elaboración propia.

Los tratamientos T7, T10, T11 y T12 fueron descartados porque no presentaron diferencias significativas con los tratamientos T1, T4 y/o T6 ya seleccionados (ver Apéndice 5). Además, esos tratamientos contienen mayor cantidad de inóculo IBL que implica un mayor costo económica y mayor tiempo de preparación.

En la Figura 9, se observa que luego de 24 horas de fermentación, los tratamientos T3, T8, T9 y el control T0 mantuvieron un pH superior a seis, mientras que los demás tratamientos siguieron una tendencia de disminución del pH hasta el tercer día de iniciado el proceso. En el cuarto día, los valores de pH fueron semejantes al registrado en el segundo día que, luego, al quinto día volvieron a disminuir. Posteriormente, los valores de pH permanecieron con relativa variación hasta el décimo día que fue la última medición, en donde muchos tratamientos estuvieron cercano a 4,50 como valor de pH.

García (2008) refiere que el periodo de incubación de las bacterias ácido lácticas que precede al periodo de desarrollo tiene una duración de 48 horas. Quizás, esta fue la razón por la cual el pH no bajó de cinco en el lapso de tiempo de 24 horas de iniciada la fermentación. Después de este tiempo, los valores del pH disminuyeron en los tratamientos, incluso lograron ser menores o cercanos a cuatro en el Día 3.

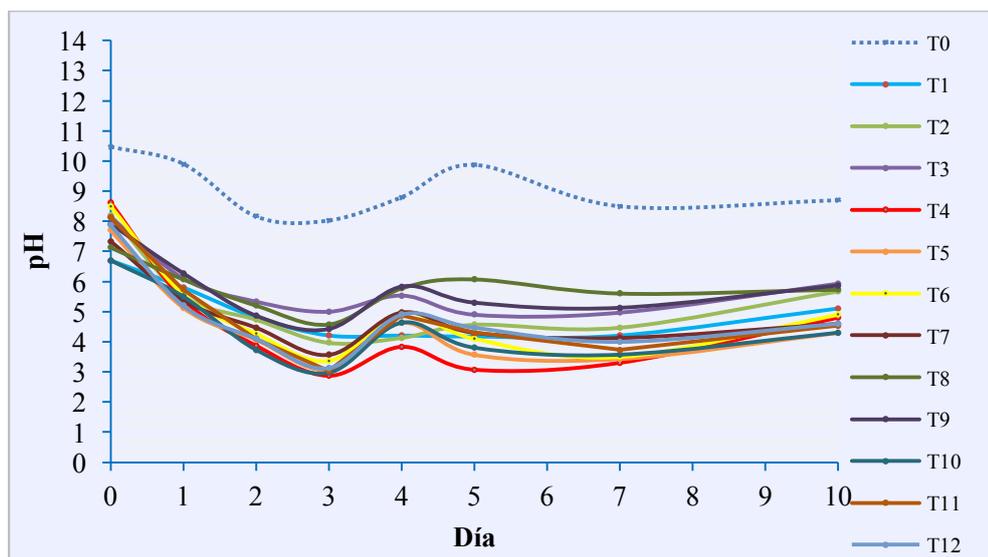


Figura 9. Variación diaria del pH promedio en los tratamientos incluido el control T0.

Para el caso del tratamiento control o testigo T0, se observó que durante los cinco días de evaluación tuvo un pH mayor de ocho, presentó olores fétidos. En el aspecto visible no se apreció uniformidad dentro de la bolsa de polietileno que la contenía, y además se observó colonias de mohos superficialmente.

### 2.3. Preselección de los Tratamientos

Se preseleccionó a los tratamientos T1, T4 y T6, los dos primeros porque cumplieron los requisitos de lograr un valor de pH menor a 4,50, no emanar olores fétidos y no presentar visiblemente cepas de microorganismos como mohos y levaduras en su superficie. Mientras que el tratamiento T6 fue preseleccionado porque, además de cumplir con los requisitos anteriores, genera menos costos en insumos al incluir en su composición menor volumen de inóculo IBL que los tratamientos T7, T10, T11 y T12 que según la prueba de Tukey (ver Apéndice 5), estos tratamientos no se diferencian significativamente del tratamiento T6, a pesar que no presentaron olores fétidos o desagradables.

### **3. SELECCIÓN DEL TRATAMIENTO MÁS EFICIENTE EN LA PRODUCCIÓN DE BIOFERTILIZANTE ENTRE LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS**

La selección del tratamiento más eficiente se realizó entre los tratamientos preseleccionados T1, T4 y T6, en donde se consideró el valor de pH, ausencia de mohos y levaduras sobre su superficie, inexistencia de olor fétido y mayor porcentaje de ácido láctico titulable producido al quinto día de iniciada la fermentación de la cuyinaza.

#### **3.1. Medición del pH de los Tratamientos Preseleccionados**

Se midió diariamente el pH de los tratamientos preseleccionados durante cinco días, cuyos valores promedio se indican en la Tabla 12. El registro de la medición diaria del pH de estos tratamientos y de sus réplicas se encuentran en el Apéndice 6. Estos valores, frente a los registrados en la etapa de preselección, son menores, tanto en el día cero así como en el día cinco. Posiblemente, el menor valor de pH de la cuyinaza sea un factor influyente en esta segunda fermentación. La cuyinaza usada en ambos procesos fermentativos ha sido de la misma procedencia y recolectada el mismo día. Sin embargo, el tiempo entre el inicio de cada experimentación fermentativa ha diferido en un lapso de 10 días, quizás la cuyinaza almacenada hasta el inicio de la segunda fermentación habría tenido algún proceso interno que implicó la disminución del pH.

Después de un tiempo de 48 horas de iniciada la fermentación (Día 2), los tres tratamientos tuvieron valores de pH cercanos o menores a cuatro. Para el quinto día de evaluación, se observó que los tres tratamientos no presentaron olores fétidos, ni cepas visibles de microorganismos en su superficie. Sin embargo, existió diferencia en la consistencia, puesto que el tratamiento T4 se apreció mejor cohesionado y más humedecido que los otros dos.

Tabla 12

**Registro diario del pH promedio de los tratamientos preseleccionados con las desviaciones estándar ( $X \pm DE$ )**

Tratamiento	Día					
	0	1	2	3	4	5
T0	9,50±0,10	8,77±0,15	8,50±0,00	7,57±0,15	7,60±0,35	7,80±0,17 <sup>a</sup>
T1	6,23±0,15	5,13±0,21	4,23±0,51	3,03±0,42	3,33±0,61	3,47±0,60 <sup>b</sup>
T4	6,13±0,15	4,87±0,35	3,57±0,06	2,10±0,26	2,67±0,21	2,83±0,15 <sup>b</sup>
T6	6,40±0,10	5,00±0,44	3,60±0,26	2,27±0,31	2,90±0,40	3,17±0,35 <sup>b</sup>

*Nota:* No existen diferencias estadísticamente significativas en superíndices con letras iguales según Prueba de Tukey.

*Fuente:* Elaboración propia.

A simple vista, el tratamiento T4 presentó mayor cohesión y humedad en toda su masa fermentable en comparación a los tratamientos T1 y T6. Una posible explicación a esta consistencia másica es que el tratamiento T4 estaba compuesto por mayor cantidad de melaza que el tratamiento T1 y menor cantidad de cuyinaza que el tratamiento T6. Implicando, además, que logró un menor valor de pH, puesto que si existe mayor cantidad de melaza como fuente carbonada, las bacterias ácido lácticas se desarrollan más y produzcan mayor cantidad de ácido láctico que disminuye el pH (García, 2008).

Tabla 13

**Análisis de varianza del pH en los tratamientos preseleccionados**

	pH_Día5_Sel			F valores	Sig.
	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado Medio		
Intergrupos	0,602	2	0,301	1,771	0,249
Intragrupos	1,020	6	0,170		
Total	1,622	8			

*Fuente:* Elaboración propia.

En la Tabla 13, se observa que el análisis de varianza ( $p \leq 0,05$ ) indica la no existencia de diferencias significativas ( $p=0,249$ ) entre los tratamientos T1, T4 y T6 (ver Apéndice 8), a pesar que el tratamiento T4 presentó menor valor de pH (ver Figura 10).

En la Figura 10, se muestra la variación diaria del pH de los tratamientos T1, T4 y T6, así como del tratamiento control o testigo T0. Se observó que los tres tratamientos preseleccionados tuvieron similar tendencia gráfica. En donde, el tratamiento T1 tuvo mayor valor de pH, mientras que el menor fue del tratamiento T4.

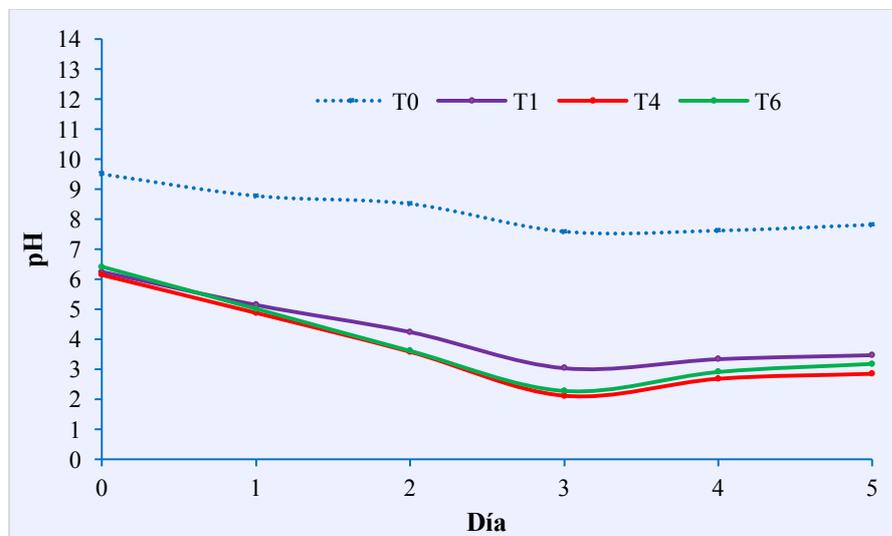


Figura 10. Variación diaria del pH promedio de los tratamientos preseleccionados y del control T0.

El tratamiento control T0 no disminuyó su pH por debajo de siete durante los cinco días de evaluación, pero si presentó olores fétidos o desagradables y película de colonias de mohos y levaduras en su superficie debido a que en esa condición se favorece el desarrollo de bacterias putrefactivas.

### 3.2. Medición del Porcentaje de Acidez Titulable de los Tratamientos Preseleccionados

Diariamente se midió los porcentajes de acidez titulable en los tres tratamientos preseleccionados T1, T4 y T6, expresándolos en porcentaje de ácido láctico titulable. Los valores promedios de estos porcentajes se muestran en la Tabla 16, mientras que en el Apéndice 9 se observan los valores del porcentaje de ácido láctico titulable de los tres tratamientos y de sus respectivas réplicas evaluados durante cinco días.

Tabla 14

*Registro del porcentaje de ácido láctico titulable promedio producido por los tratamientos preseleccionados con las desviaciones estándar ( $X \pm DE$ )*

Tratamiento	Día					
	0	1	2	3	4	5
T1	0,51±0,07 <sup>a</sup>	1,14±0,15	2,04±0,82	2,71±0,98	1,99±0,14	2,42±0,79 <sup>a</sup>
T4	1,01±0,10 <sup>b</sup>	1,30±0,21	2,67±0,11	3,72±0,26	3,29±0,19	3,60±0,12 <sup>a</sup>
T6	1,50±0,23 <sup>c</sup>	1,37±0,34	2,50±0,42	3,23±0,60	2,65±0,21	3,08±0,69 <sup>a</sup>

*Nota:* No existen diferencias estadísticamente significativas en superíndices con letras iguales según Prueba de Tukey.

*Fuente:* Elaboración propia.

Se observa en la Tabla 14 que el tratamiento T4 es el que más porcentaje de ácido láctico ha producido. Sin embargo, el análisis de varianza ( $p \leq 0,05$ ) mostrado en la Tabla 15 indica que no existen diferencias significativas ( $p = 0,137$ ) entre los tres tratamientos (ver Apéndice 11). Un posible causal para que el tratamiento T4 haya generado más ácido láctico sería que tuvo mayor cantidad de melaza en su composición y que, además, fue aplicada a la menor cantidad de cuyinaza.

Tabla 15

***Análisis de varianza del porcentaje de ácido láctico titulable en los tratamientos preseleccionados***

	%AcLact_Día5				
	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado Medio	F valores	Sig.
Intergrupos	2,097	2	1,048	2,825	0,137
Intragrupos	2,226	6	0,371		
Total	4,323	8			

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 11, se muestran las tendencias diarias de los tratamientos T1, T4 y T6 en el incremento del porcentaje de acidez titulable expresado en porcentaje de ácido láctico titulable. Se observa que hubo incremento hasta el tercer día, luego disminuyó en el cuarto día, volviéndose a incrementar en el quinto día de medición.

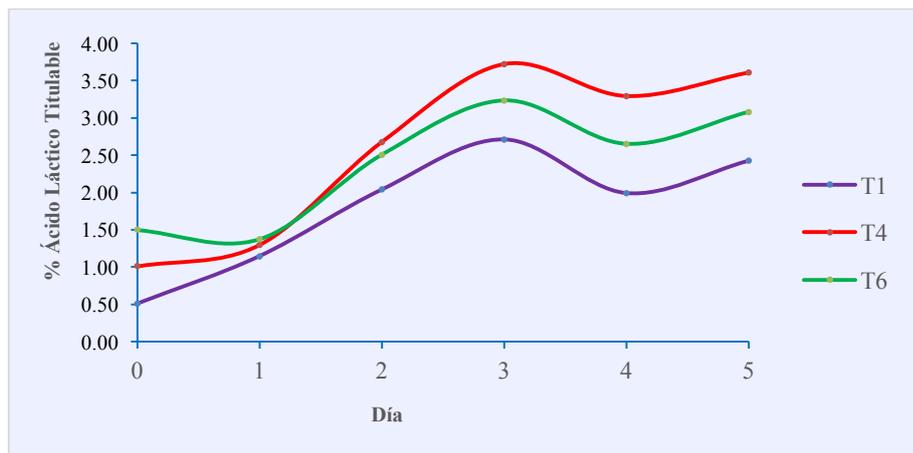


Figura 11. Variación diaria del porcentaje de ácido láctico titulable promedio producido en los tratamientos preseleccionados.

Se observó que a las 72 horas (Día 3), el incremento del porcentaje de ácido láctico titulable fue considerable cuando el valor de pH disminuyó en ese mismo lapso de tiempo (ver Figura 12). A menor valor del pH, mayor porcentaje de ácido láctico

titulable producido en el tratamiento. En otras palabras, el valor del pH presenta un comportamiento inversamente proporcional al porcentaje de ácido láctico titulable producido en la fermentación de la cuyinaza como se observa en la Figura 12.

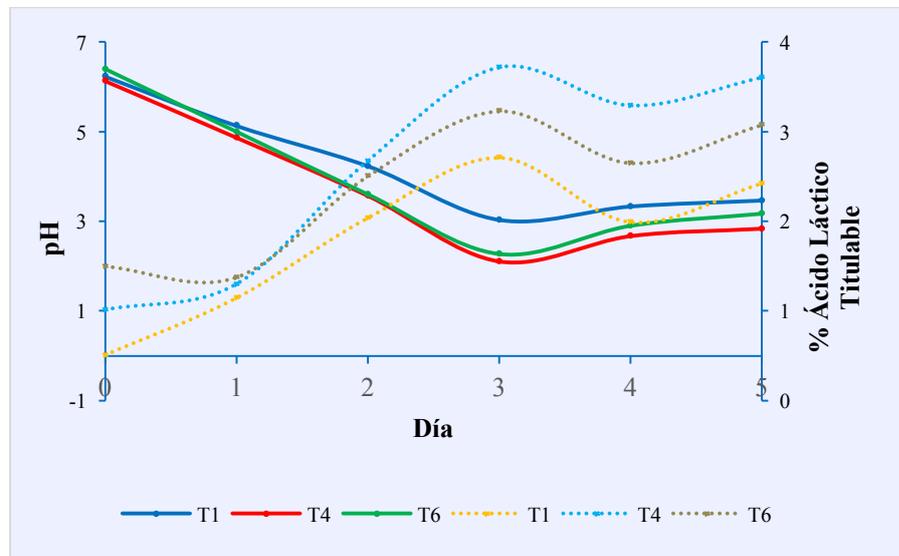


Figura 12. Relación del pH promedio con el porcentaje de ácido láctico titulable promedio de los tratamientos preseleccionados.

El pH mostró un alto grado de correlación indirecta con el porcentaje de ácido láctico producido por los tratamientos preseleccionados al quinto día de la segunda fermentación de la cuyinaza (ver Figura 13). En donde, el coeficiente de determinación  $R^2$  cuyo valor indica que el 95,30 por ciento de los cambios del porcentaje de ácido láctico titulable está explicada o se deben a los cambios del pH, mientras que el 4,70 por ciento restante se debe a otros factores como la temperatura, humedad atmosférica, entre otros. El coeficiente de Pearson o coeficiente de correlación  $r$  resultó ser igual a  $-0,976$ , el cual indica que existe un alto grado de correlación lineal negativa entre el pH y el porcentaje de ácido láctico titulable (ver Apéndice 12). El coeficiente de la regresión resultó con un valor igual a  $-1,594$ , lo cual indica que por cada unidad de pH, el porcentaje de ácido láctico titulable disminuye en 1,594 unidades porcentuales.

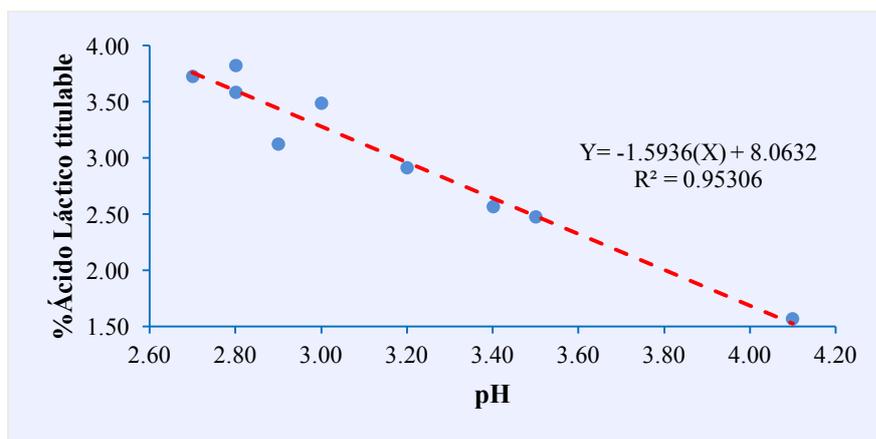


Figura 13. Diagrama de dispersión y recta de regresión entre el pH y el porcentaje de ácido láctico titulable producido por los tratamientos preseleccionados ( $r=-0,976$ ).

### 3.3. Selección del Tratamiento más Eficiente

Se seleccionó al tratamiento T4 como el más eficiente frente a los tratamientos T1 y T6 porque logró un menor pH, presentó mejor olor, a pesar que los otros dos no presentaron olores fétidos o desagradables, además, porque generó mayor porcentaje de ácido láctico. Ninguno de los tres tratamientos presentaron, a simple vista, película de microorganismos en su superficie. En referencia a la producción de biol, el tratamiento T4 fue el que más volumen produjo (ver Tabla 16). Por estas razones, el Biol T4 y el Biosol T4 extraídos del tratamiento T4 fueron analizados microbiológicamente y se les caracterizó físico-químicamente al considerarlos como productos del tratamiento más eficiente.

Tabla 16

#### *Volumen de biol producido por los tratamientos preseleccionados*

<b>Tratamiento</b>	<b>Volumen de Biol producido (L)</b>
T1	1,36
T4	1,70
T6	1,52

Fuente: Elaboración propia.

#### 4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL BIOFERTILIZANTE PRODUCIDO POR EL TRATAMIENTO MÁS EFICIENTE

El Biol T4, el Biosol T4 producidos por el tratamiento T4 y la cuyinaza se analizaron microbiológicamente en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología Marino Tabusso de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Los resultados del análisis se muestran en la Tabla 17 y los informes del laboratorio se detallan en el Apéndice 13.

Se observa ausencia de coliformes totales, coliformes fecales y *Salmonella* en el Biol T4 y en el Biosol T4 (ver Tabla 20). Sin embargo, presentan recuentos de mohos y levaduras tanto en el Biol T4 como en el Biosol T4. La cuyinaza, Biol T4 y Biosol T4 no reportaron la presencia de *Staphylococcus aureus* en el análisis, pero si recuento de aerobios mesófilos viables.

La ausencia de coliformes totales, coliformes fecales y *Salmonella* en el Biol T4 y Biosol T4 se puede explicar por la cualidad que presentan las bacterias ácido lácticas que al fermentar carbohidratos producen ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico, que propician la reducción del pH, inhibiendo o eliminando a los coliformes totales quienes prefieren un pH cercano a la neutralidad o ligeramente ácidos (Isea et al, 2004 citado por Román, 2012). Otro factor antimicrobiano que influye significativamente es la producción de metabolitos por parte de las bacterias lácticas, tales como el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el superóxido ( $O_2^-$ ), compuestos aromáticos, benzoato, enzimas bacteriológicas, bacteriocinas, entre otros. Además, ecosistémicamente en todo microhábitat se genera competencia entre las comunidades microbianas presentes porque buscan tener acceso a los sustratos esenciales para sobrevivir, lo cual condiciona la sobrevivencia de algunas comunidades que se encuentren con menor población (Martínez, 1996 citado por Román, 2012). En tal sentido, la inoculación de bacterias lácticas realizada en la presente investigación hacia los tratamientos a través del inóculo IBL generó que estos microorganismos se encontraran en mayor número poblacional que los demás generando, a lo mejor, inhibición por dominancia numérica.

Tabla 17

**Resultados del análisis microbiológico de la cuyinaza, Biol T4 y Biosol T4**

<b>Análisis microbiológico</b>	<b>Cuyinaza</b>	<b>Biol T4</b>	<b>Biosol T4</b>
Enumeración de coliformes totales (NMP.g <sup>-1</sup> )	>11x10 <sup>2</sup>	ND	<3
Enumeración de coliformes totales (NMP.ml <sup>-1</sup> )	ND	<3	ND
Enumeración de coliformes fecales (NMP.g <sup>-1</sup> )	>11x10 <sup>2</sup>	ND	<3
Enumeración de coliformes fecales (NMP.ml <sup>-1</sup> )	ND	<3	ND
Recuento de mohos (UFC.g <sup>-1</sup> )	34x10 <sup>4</sup>	ND	29x10 <sup>2</sup>
Recuento de mohos (UFC.ml <sup>-1</sup> )	ND	25x10 <sup>4</sup>	ND
Recuento de levaduras (UFC.g <sup>-1</sup> )	---	ND	72x10 <sup>2</sup>
Recuento de levaduras (UFC.ml <sup>-1</sup> )	ND	61x10 <sup>4</sup>	ND
Enumeración de <i>Staphylococcus aureus</i> (NMP.g <sup>-1</sup> )	<3	ND	<3
Enumeración de <i>Staphylococcus aureus</i> (NMP.ml <sup>-1</sup> )	ND	<3	ND
Detección de <i>Salmonella</i> sp. en 25 g	Presencia	ND	Ausencia
Detección de <i>Salmonella</i> sp. en 25 ml	ND	Ausencia	ND
Recuento de aerobios mesófilos viables (UFC.g <sup>-1</sup> )	60x10 <sup>7</sup>	ND	65x10 <sup>4</sup>
Recuento de aerobios mesófilos viables (UFC.ml <sup>-1</sup> )	ND	95x10 <sup>5</sup>	ND

*Nota:* <3 significa ausencia del microorganismo. ND significa no determinado o no detectado.

*Fuente:* Laboratorio Marino Tabusso de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

El Biol T4 y el Biosol T4 presentaron levaduras en el análisis microbiológico. Contreras et al. (2009) citado por Mier (2009) manifestaron que el ácido láctico es más fuerte que el ácido acético para bajar más rápidamente el pH, no obstante, el ácido acético funciona mejor como inhibidor de levaduras. Posiblemente, al incrementarse la fermentación y generarse mayor porcentaje de ácido láctico, el porcentaje de ácido acético producido haya sido muy bajo que no logró inhibir totalmente a las levaduras presentes al momento del análisis del Biol T4 y Biosol T4.

## **5. ANÁLISIS QUÍMICO DE INTERÉS AGRONÓMICO O CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL BIOFERTILIZANTE PRODUCIDO POR EL TRATAMIENTO MÁS EFICIENTE**

El biol y biosol producido por el tratamiento más eficiente se analizó físico-químicamente en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de

la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF), cuyos resultados muestran las características agronómicas del biofertilizante producido.

### **5.1. Caracterización Físico-química del Biol T4**

Los resultados del análisis físico-químico del Biol T4 y de otros bioles se muestran en la Tabla 21. En el Apéndice 13, se encuentran los informes del laboratorio LASPAF con los resultados de los análisis.

La materia orgánica reportada para el Biol T4 se encuentra muy cercana a la lograda por el Fast biol 20, pero ambas superan a los demás bioles mostrados en la Tabla 18. En relación a los macronutrientes, el nitrógeno total y el fósforo total encontrados en el Biol T4 son elevados al igual que del Fast Biol 20, mientras que el potasio total del Biol T4 triplica al reportado para el Fast biol 20, superando ampliamente a los demás bioles.

Considerando a los macronutrientes, el Biol T4 obtuvo mayores valores que los bioles de Ventanilla, Casa Blanca, de alfalfa, de chicha de jora y Fast biol 20 (ver Tabla 18). Mientras que solo en potasio y en magnesio superó a lo reportado por el Biol T13 que también fue producido mediante la fermentación de cuyinaza. Comparando al Biol T4, producido por acción del inóculo de *Lactobacillus* sp. extraído de la chicha de cebada, con el biol de chicha de jora, el Biol T4 lo supera en la mayoría de los parámetros analizados.

Según Suarez (2009) citado por Meza (2014) y sustentándose en las investigaciones efectuadas por Corpoica y la Corporacion PBA, los valores mínimos nutricionales que deben presentar los bioles son: Nitrógeno (>700 mg/L), Fósforo (>170 mg/L), Potasio (>1300 mg/L), Calcio (>1800 mg/L), Boro (>7 mg/L). El Biol T4 supera estos límites, poseyendo, por estas razones, un buen potencial como fertilizante.

Tabla 18

**Caracterización físico-química del Biol T4 y otros bioles**

Parámetros	Biol Ventanilla <sup>1</sup>	Biol Casa Blanca <sup>2</sup>	Biol con alfalfa <sup>3</sup>	Biol con chicha de jora <sup>3</sup>	Fast biol 20 <sup>4</sup>	Biol T13 <sup>5</sup>	Biol T4
pH	7,89	8,2	6,8	6,8	3,75	4,54	<b>4,15</b>
C.E. (dS.m <sup>-1</sup> )	19,28	15,3	11,2	10,2	25,7	41	<b>34,7</b>
Sólidos en suspensión (g.L <sup>-1</sup> )	19,52	23,6	8,85	9,78	---	---	---
Sólidos totales (g.L <sup>-1</sup> )	---	---	---	---	232,98	248	<b>249,12</b>
M.O. en solución(g.L <sup>-1</sup> )	5,28	5,4	2,86	3,75	181,1	162,4	<b>173,1</b>
<b>Macronutrientes</b>							
N total (mg.L <sup>-1</sup> )	1 876	980	1064	1015	4200	7308	<b>6 020</b>
P total (mg.L <sup>-1</sup> )	71,2	121	53,3	66,5	744,2	3517,6	<b>3349,75</b>
K total (mg.L <sup>-1</sup> )	19,4	6 760	1143	1045	17200	5880	<b>18 900</b>
Ca total (mg.L <sup>-1</sup> )	104,8	220,4	755	707	5200	6400	<b>5 670</b>
Mg total (mg.L <sup>-1</sup> )	27,6	53,4	348	353	1740	2940	<b>3 050</b>
<b>Micronutrientes</b>							
Na total (mg.L <sup>-1</sup> )	3 400	542	463	500	1040	2220	<b>975</b>
Fe total (mg.L <sup>-1</sup> )	0,16	---	5	12,5	516	140,4	<b>365,95</b>
Cu total (mg.L <sup>-1</sup> )	2,28	---	0,3	0,4	14	3,7	<b>4,9</b>
Zn total (mg.L <sup>-1</sup> )	1,36	---	1,9	2,9	60	26,8	<b>27,5</b>
Mn total (mg.L <sup>-1</sup> )	14,08	---	1,8	2,7	28	35,8	<b>57,55</b>
B total (mg.L <sup>-1</sup> )	5,2	---	124	93	19	11,4	<b>15,74</b>

*Nota:* (1) Biol Ventanilla, (2008) citado por Román (2012), (2) Biol Casablanca citado por Román (2012), (3) LASPAF 2001 citado por Román (2012), (4) Peralta (2010), (5) Román (2012).

*Fuente:* Laboratorio LASPAF de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

El Biol T4 presentó elevada cantidad de materia orgánica en comparación a otros bioles, esta condición constituye, según Román (2012), una característica muy importante para un fertilizante porque todo tipo de suelo se beneficia con la materia orgánica porque le proporciona nutrientes, lo activa biológicamente, evita la compactación favoreciendo la infiltración y retención del agua, aumenta la capacidad de intercambio catiónico, ayuda a la aireación y oxigenación.

Peralta (2000) citado por Román (2012) y Guerrero (1993) citado por Peralta (2010), manifiestan que cuando las condiciones son alcalinas, el nitrógeno en los estiércoles se gasifica y emana fuerte olor amoniacal, que incluso puede generar

pérdidas de nitrógeno hasta de un 60 por ciento. Posiblemente por esta razón, el nitrógeno total presente en el Biol T4 resultó con un valor elevado, tal vez se deba a la acidez que posee el Biol T4, el cual limita la volatilización del nitrógeno. Como el Biol T4 no es alcalino, conserva este macronutriente y se le podría considerar como un buen fertilizante rico en nitrógeno. Según Aldón (2008), el poco contenido de potasio en las plantas las hace más débiles frente a los patógenos radiculares, cuyos efectos vuelven frágiles a los tallos, haciéndolas más vulnerables ante los vientos y lluvias. Frente a ello, el Biol T4 es una alternativa que permitiría fortalecer, potenciar y desarrollar a los sembríos agrícolas por su elevado contenido potásico.

## 5.2. Caracterización Físico-química del Biosol T4

Los resultados del análisis físico-químico del Biosol T4 se muestran en la Tabla 19, en donde también se observan los análisis de otros biosoles. En el Apéndice 13, se muestra el informe del laboratorio LASPAF.

El porcentaje de materia orgánica (%M.O.) presente en el Biosol T4 (78,34 por ciento), es muy cercana a las reportadas para el Biol T13 (81,24 por ciento), Fast biol 20 (80,40 por ciento), así como para la cuyinaza (74,08 por ciento) usada en la presente investigación. En el porcentaje de nitrógeno, potasio, calcio y magnesio, el Biosol T4 supera al Fast biosol 20 y al Biosol T13.

Tabla 19

### *Caracterización físico-química de la cuyinaza, Biosol T4 y otros biosoles*

<b>Parámetros</b>	<b>Fast biosol 20<sup>1</sup></b>	<b>Biosol T13<sup>2</sup></b>	<b>Cuyinaza</b>	<b>Biosol T4</b>
Humedad (%)	3,19	3,17	60,00	----
pH	4,48	4,73	7,16	4,26
C.E. (dS.m <sup>-1</sup> )	10,64	21,00	14,10	21,30
M.O. (%)	80,40	81,24	74,08	78,34

**Caracterización físico-química de la cuyinaza, Biosol T4 y otros biosoles**  
(Continuación)

Parámetros	Fast biosol 20 <sup>1</sup>	Biosol T13 <sup>2</sup>	Cuyinaza	Biosol T4
<b>Macronutrientes</b>				
Nitrógeno (%)	1,43	2,12	1,99	2,16
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	0,62	2,38	3,01	0,90
K <sub>2</sub> O (%)	3,03	4,00	5,63	5,15
CaO (%)	2,04	2,34	2,71	2,38
MgO (%)	0,50	0,87	1,23	1,47
<b>Micronutrientes</b>				
Sodio (%)	0,18	0,27	0,26	0,20
Hierro (ppm)	---	760,00	3323,00	2809,00
Cobre (ppm)	45,00	26,00	38,00	27,00
Zinc (ppm)	75,00	148,00	237,00	118,00
Manganeso (ppm)	70,00	152,00	254,00	150,00
Boro (ppm)	35,00	42,00	64,00	57,00

*Nota:* (1) Peralta (2010) (Biosol de origen vacuno), (2) Román (2012).  
*Fuente:* Laboratorio LASPAF de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

## 6. CÁLCULO DEL ÍNDICE DE CALIDAD DE LA MATERIA ORGÁNICA O RELACIÓN C/N DEL BIOFERTILIZANTE

Considerando la información proporcionada por el laboratorio LASPAF y con las fórmulas correspondientes, se calculó la relación C/N del Biol T4 y del Biosol T4 (ver Tabla 23). El cálculo realizado para obtener la relación C/N se presenta en el Apéndice 14.

En la Tabla 20, se observa que la relación C/N del Biosol T4 resultó con un valor de 21,04, siendo mayor al 16,04 que obtuvo el Biol T4. Asimismo, el porcentaje de materia orgánica, porcentaje de carbono y porcentaje de nitrógeno son superiores del Biosol T4 frente al Biol T4.

Considerando lo indicado por el Consejo Canadiense de Ministros del Ambiente (Kimura, 2005 citado por Meza, 2014), un compost logra la condición de madurez cuando la relación C/N es  $\leq 25$  (Peralta, 2010), condición que el Biol T4 y Biosol T4 satisfacen, puesto que resultaron con 16,68 y 21,04 de relación C/N respectivamente, pudiendo ser considerados como fertilizantes maduros.

Tabla 20

***Índice de calidad de la materia orgánica o relación C/N***

<b>Biofertilizante</b>	<b>%MO</b>	<b>%C</b>	<b>%N</b>	<b>C/N</b>
Biol T4	17,31	10,04	0,60	16,68
Biosol T4	78,34	45,44	2,16	21,04

*Fuente:* Elaboración propia.

**7. ESTABILIDAD DE BIOL T4 PRODUCIDO**

Se evaluó el Biol T4 durante un lapso de tiempo de 75 días en función de la variación del pH. Las mediciones se realizaron cada cinco días contabilizados desde la fecha de extracción del biol. La Tabla 21 muestra la variación del pH en función del tiempo.

El pH con un valor de 2,90 se mantuvo constante durante los primeros 35 días, posteriormente fue incrementándose hasta llegar a 4,03 cuando se cumplió los 75 días de evaluación (ver Figura 14).

Tabla 21

***Registro de la variación del pH del Biol T4 durante 75 días***

<b>Biofertilizante</b>	<b>Día</b>									
	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>25</b>	<b>35</b>	<b>45</b>	<b>55</b>	<b>65</b>	<b>75</b>
Biol T4	2,90	2,90	2,90	2,90	2,90	2,90	3,00	3,30	3,70	4,03

*Fuente:* Elaboración propia.

El Biol T4 mantuvo un valor de 2,90 de pH por más de 30 días, valor que fue menor al conseguido por el Biol T13 de Román (2012) durante el mismo lapso de tiempo. En base a este resultado, se podría indicar que el Biol T4 se mantuvo estable durante el tiempo evaluado.

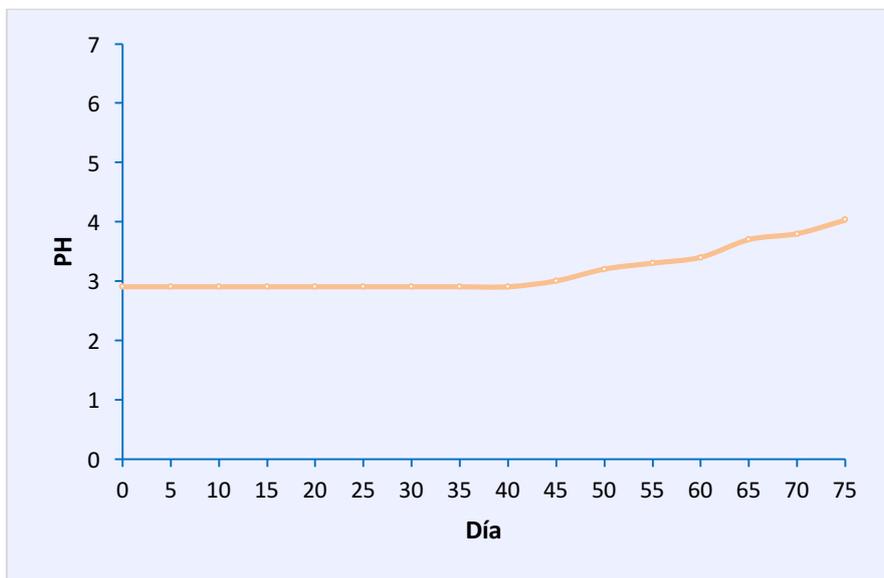


Figura 14. Variación del pH del Biol T4 en función del tiempo.

## 8. BIOENSAYO DE TOXICIDAD DEL BIOL T4 EN LAS SEMILLAS DE “LECHUGA”

### 8.1. Efecto del Biol T4 en la Germinación de las Semillas de “Lechuga”

En la Tabla 22, se muestran los diversos valores del pH para cada dilución del Biol T4 correspondientes a los tratamientos aplicados a las semillas de “lechuga”. Se observa que el pH se incrementa al diluir más el Biol T4. Si se comparan los valores de pH del tratamiento T1pg con el tratamiento T5pg, existen 2,4 unidades

de pH de diferencia, este incremento es de significativa importancia porque al elevar el pH se logra una mejor germinación (ver Tabla 23). Estos resultados muestran que la germinación de las semillas de “lechuga” es inhibida cuando es sometida a un medio con pH ácido.

Tabla 22

***Evaluación del pH de los tratamientos aplicados a la semilla de “lechuga”***

<b>Tratamiento</b>	<b>Diluciones</b>		<b>pH</b>
T0pg	Control (agua destilada)	0%	6,80
T1pg	100/100 (Biol T4 puro)	100%	2,90
T2pg	10/100	10%	3,10
T3pg	1/100	1%	3,30
T4pg	0,1/100	0,1%	3,60
T5pg	0,01/100	0,01%	5,30

*Fuente:* Elaboración propia.

En la Tabla 23, se muestran los porcentajes promedio de germinación de las semillas de “lechuga”. Los porcentajes de cada tratamiento con sus respectivas réplicas se muestran en el Apéndice 15.

Tabla 23

***Registro de los Porcentajes promedio de germinación por acción de los tratamientos en las semillas de “lechuga”***

<b>Tratamiento</b>	<b>Porcentaje de Germinación (%)</b>				
	<b>Día1</b>	<b>Día2</b>	<b>Día3</b>	<b>Día4</b>	<b>Día5</b>
T0pg	96,67±5,77	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00 <sup>a</sup>
T1pg	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 <sup>b</sup>
T2pg	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	20,00±10,00	23,33±15,28 <sup>c</sup>
T3pg	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00 <sup>a</sup>
T4pg	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00 <sup>a</sup>
T5pg	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00 <sup>a</sup>

*Nota:* No existen diferencias estadísticamente significativas en superíndices con letras iguales según Prueba de Tukey.

*Fuente:* Elaboración propia.

Se observa que el tratamiento T1pg correspondiente al Biol T4 puro tiene  $0,00\pm 0,00$  por ciento de germinación (ver Tabla 23), condición semejante en el tratamiento T2pg (10 por ciento) que solo logró un  $23,33\pm 15,28$  por ciento de germinación. Los tratamientos que fueron iguales o mayores al 90 por ciento de germinación fueron T0pg (0 por ciento), T3pg (1 por ciento), T4pg (0,1 por ciento) y T5pg (0,01 por ciento).

Según el análisis de varianza ( $p\leq 0,05$ ) mostrado en la Tabla 24, en el quinto día de iniciada la germinación si hubo diferencias significativas ( $p=0,000$ ) entre los tratamientos. Al aplicar la prueba de Tukey, los tratamientos T0pg (0 por ciento, control), T3pg (1 por ciento), T4pg (0,1 por ciento) y T5pg (0,01 por ciento) no presentan diferencias significativas entre sí porque lograron 100 por ciento de germinación, pero sí con los tratamientos T1pg (100 por ciento) y T2pg (10 por ciento) en los cuales la germinación fue de  $0,00\pm 0,00$  por ciento para el primero y de  $23,33\pm 15,28$  por ciento para el segundo (ver Apéndice 16). Estos resultados indican que quizás implicaría lo mismo usar o no el Biol T4 como potenciador de la germinación de las semillas de “lechuga”. Sin embargo, aun debemos contrastar lo que nos expresa el Índice de Germinación, el Índice del Porcentaje de Germinación Residual Normalizado (IGN) y el índice de Elongación Radical Residual Normalizado (IER) cuyos valores se muestran en la Tabla 26.

Tabla 24

***Análisis de varianza de la germinación por acción de las diluciones del BiolT4***

	<b>Día5pg</b>				
	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado Medio	F valores	Sig.
Intergrupos	32027,778	5	6405,556	164,714	0,000
Intragrupos	466,667	12	38,889		
Total	32494,444	17			

Fuente: Elaboración propia.

## **8.2. Efecto del Biol T4 en el Índice de Germinación, Índice del Porcentaje de Germinación Residual Normalizado e Índice de Elongación Radical Residual Normalizado Calculados para las Semillas de “Lechuga”**

Los Índices de Germinación calculados, las medidas de las elongaciones de las radículas y de los hipocotilos de los tratamientos con sus correspondientes réplicas se muestran en los Apéndices 17, 20 y 21 respectivamente.

En la Tabla 25, se muestra el número de semillas germinadas, la elongación radicular, elongación del hipocotilo, Índice de Germinación (IG), Índice del Porcentaje de Germinación Residual Normalizado (IGN) e Índice de Elongación Radical Residual Normalizado (IER) correspondiente a los tratamientos conformados por diluciones del Biol T4. El tratamiento T1pg no germinó ninguna semilla, posiblemente porque el Biol T4 se encontró puro, mientras que el tratamiento T2pg logró muy baja germinación, razones por las cuales estos tratamientos no fueron incluidos en los análisis de varianza de IG, elongación de la radícula y elongación del hipocotilo.

Para el caso del valor de PGR, no existe mucha variación entre los tratamientos T0pg, T3pg, T4pg y T5pg debido a que obtuvieron germinación del 100 por ciento, mientras que los tratamientos T1 y T2 lograron  $0,00 \pm 0,00$  por ciento y  $23,33 \pm 15,28$  por ciento de germinación respectivamente. Sin embargo, para el CRR si se observan valores desde el cero por ciento hasta cerca al 100 por ciento (ver Apéndice19).

Tomando en cuenta los rangos porcentuales valorativos de toxicidad (Zucconi et al., 1981 citados por Varnero et al., 2007), los tratamientos T4pg (0,1 por ciento) y T5pg (0,01 por ciento) poseen ausencia o muy baja toxicidad porque los IG fueron muy superiores al 80 por ciento, mientras que los tratamientos T1pg (100 por ciento) y T2pg (10 por ciento) tuvieron alto efecto de toxicidad en la germinación

de las semillas de “lechuga” porque obtuvieron IG menores al 50 por ciento. El tratamiento T3pg (1 por ciento) con IG entre el rango de 50 por ciento a 80 por ciento presentó moderada toxicidad, siendo un posible causal la acidez de 3,30 de pH que tuvo.

Tabla 25

***Efecto del Biol T4 sobre el Índice de germinación (IG), Índice del Porcentaje de Germinación Residual Normalizado (IGN) y el Índice de Elongación Radical Residual Normalizado (IER) en las semillas de “lechuga”***

Tratamiento	Número de Semillas germinadas	Elongación radicular (mm)	Elongación del hipocotilo (mm)	IG (%)	IGN	IER
T0pg	10,00	34,87±5,83 <sup>a</sup>	24,67±2,88 <sup>a</sup>	---	---	---
T1pg	0,00	0,00±0,00 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	-1,00	-1,00
T2pg	2,33	0,53±1,01 <sup>b</sup>	1,07±2,12 <sup>b</sup>	0,36±0,24 <sup>a</sup>	-0,77	-0,98
T3pg	10,00	18,87±5,03 <sup>c</sup>	26,03±3,09 <sup>a</sup>	54,11±8,03 <sup>b</sup>	0,00	-0,46
T4pg	10,00	31,00±4,39 <sup>d</sup>	26,10±3,01 <sup>a</sup>	88,91±6,97 <sup>c</sup>	0,00	-0,11
T5pg	10,00	34,70±6,39 <sup>a</sup>	25,60±2,42 <sup>a</sup>	99,56±9,99 <sup>c</sup>	0,00	0,00

*Nota:* No existen diferencias estadísticamente significativas en superíndices con letras iguales según Prueba de Tukey.

*Fuente:* Elaboración propia.

El análisis de varianza del Índice de Germinación y de la elongación de la radícula resultaron significativos, mientras que la elongación del hipocotilo no presentó diferencias significativas para los tratamientos T3pg, T4pg y T5pg (ver Apéndices 19 y 23). En la Figura 15, se muestra los gráficos de las elongaciones de la radícula y del hipocotilo, en donde se aprecia que la elongación radicular del tratamiento T3pg se diferencia de los tratamientos T0pg, T4pg y T5pg. Mientras que en la elongación del hipocotilo, todos los tratamientos se traslapan indicando la no existencia de diferencias significativas, pese a que la elongación promedio del hipocotilo desarrollada por el tratamiento T0pg resultó menor. El tratamiento T5pg favoreció una mayor elongación de la radícula frente al tratamiento T4pg, logrando aproximarse al conseguido por el tratamiento control T0pg.

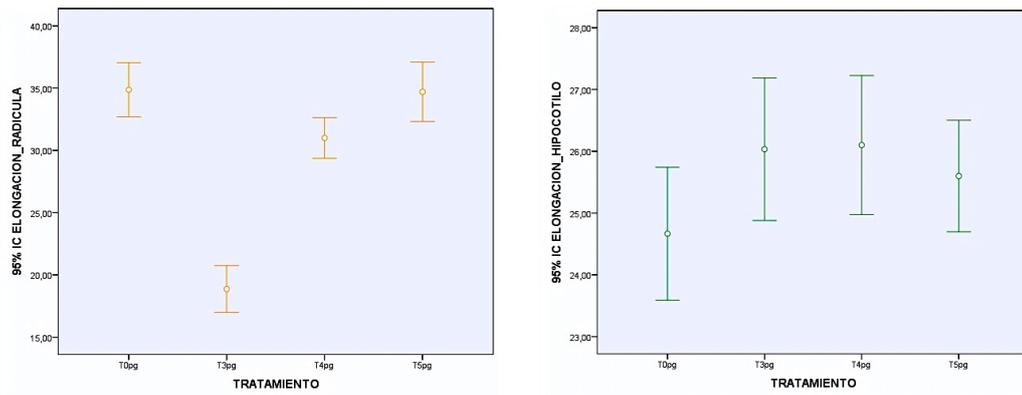


Figura 15. Variaciones de las elongaciones de la radícula y del hipocotilo.

En la Figura 16, se muestran las variaciones del IGN y del IER, los cuales se orientan desde el tratamiento más tóxico hasta el menos tóxico, es decir desde T1pg hasta T5pg. Estos dos índices se sustentan en la germinación y en la elongación radicular del tratamiento control o testigo T0pg. En el Tratamiento T1pg, se observa que los gradientes de germinación (IGN) y de elongación (IER), asumen el valor máximo de toxicidad (-1), posiblemente, esto se debió al 100 por ciento de pureza del Biol T4, que proporcionó un pH ácido y alto contenido de sales minerales, los cuales inhibieron la germinación de las semillas de “lechuga”.

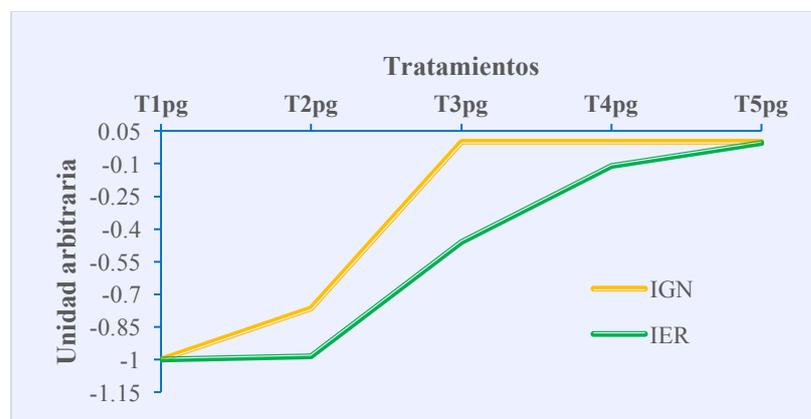


Figura 16. Índice de germinación normalizada (IGN) e Índice de elongación de la radícula (IER) en el bioensayo de la “lechuga” por acción de diversas diluciones del Biol T4.

El tratamiento T2pg (10 por ciento), a pesar que obtuvo porcentaje de germinación, no favoreció al crecimiento radicular que resultó muy cercano a -1, interpretándose como un crecimiento radicular casi nulo. Esto se apreció mejor en el tratamiento T3pg (1 por ciento), que habiendo logrado la germinación de la totalidad de las semillas, no favoreció un crecimiento radicular adecuado de las semillas de “lechuga” (ver Figura 16).

Para el caso del tratamiento T4pg (0,1 por ciento), tanto el IGN, así como el IER están muy próximos entre sí y ambos muy cercanos al eje de la abscisas, condición que indica la existencia de una correspondencia positiva entre la germinación lograda con la elongación radicular desarrollada, con lo cual se corrobora que la concentración del Biol T4 representa baja toxicidad para las semillas de “lechuga”.

En la Figura 17, se muestran los Índices de Germinación en donde no existe diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos T4pg y T5pg, pero si de estos con el tratamiento T3pg. Los tratamientos T1pg y T2pg no han sido considerados en el análisis porque sus IG fueron muy bajos.

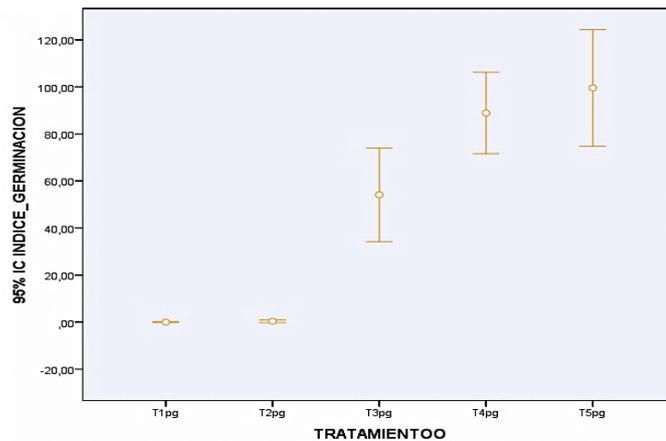


Figura 17. Gráfica de bigotes de las variaciones del Índice de Germinación de los tratamientos del bioensayo en las semillas de “lechuga”.

De todos los tratamientos en el bioensayo de los efectos de toxicidad en las semillas de “lechuga”, el tratamiento T5pg (0,01 por ciento) logró 100 por ciento de germinación, valor cero del IGN, cero en IER que expresa estar libre de toxicidad y a pesar de no tener diferencias significativas con el tratamiento T4pg, resultó ser el más adecuado o el más óptimo porque favoreció más el crecimiento radicular de las plántulas de “lechuga” (ver fotografías del Apéndice 24).

Considerando los valores de IG obtenidos por Román (2012) y comparándolos con los resultados de la presente investigación, el tratamiento T5pg (0,01 por ciento) fue mayor al registrar un porcentaje de  $99,56 \pm 9,99$  por ciento de IG. Como el bioensayo realizado en esta investigación no busca la toxicidad del biol, sino una concentración óptima que permita y/o potencie el desarrollo de las semillas de “lechuga”, el biofertilizante que logre un valor muy cercano al 100 por ciento de IG debe ser interpretado como un buen nutriente, estimulador de las plantas y que favorece a la germinación (García-Gallegos, Luna-Zendejas y Zamora-Campos, 2015). En ese sentido, el Biol T4 diluido al 0,01 por ciento puede asumirse como un fitonutriente o fitoestimulador porque logró un IG de  $99,56 \pm 9,99$  por ciento (Zucconi, 1998 citado por Carhuancho, 2012).

## CONCLUSIONES

1. La cepa aislada del fermento de la chicha de cebada, proveniente de Cusco, corresponde al género *Lactobacillus*, la cual pudo adaptarse bien a la melaza de caña como fuente de carbono.
2. El tratamiento T4 conformado por 150 mL de inóculo de bacterias *Lactobacillus* sp. (IBL), 250 g de melaza de caña y 600 g de cuyinaza hidratada al 60 por ciento fue seleccionado como el tratamiento más eficiente porque logró menor valor de pH, no presentó olor fétido y generó mayor porcentaje de acidez titulable en el quinto día de iniciada la fermentación de la cuyinaza.
3. La melaza de caña incrementa la producción de biofertilizante porque favorece a la fermentación de la cuyinaza cuyo efecto se aprecia en mayor porcentaje de ácido láctico producido.
4. El Biol T4 y el Biosol T4 extraídos del tratamiento T4 presentaron buenas condiciones fitosanitarias porque resultaron libres de coliformes totales, coliformes fecales y *Salmonella*. Además, reportaron buenas características de interés agronómico al poseer 6020 mg.L<sup>-1</sup> y 2,16 por ciento de nitrógeno, 3349,75 mg.L<sup>-1</sup> y 0,90 por ciento de fósforo, 18900 mg.L<sup>-1</sup> y 5,15 por ciento de potasio, 173,1 g.L<sup>-1</sup> y 78,34 por ciento de materia orgánica respectivamente, además de alto contenido de micronutrientes.
5. El Biol T4 y Biosol T4 resultaron con 16,68 y 21,04 de relación C/N respectivamente, razón para ser considerados como fertilizantes maduros.
6. El Biol T4, extraído del tratamiento T4, mostró estabilidad por un lapso de 75 días al no superar el valor de 4,03 de pH.
7. EL Biol T4 diluido al 0,01 por ciento posee ausencia o muy bajo contenido de fitotoxinas y una acidez que no inhibe la germinación porque logró un Índice de Germinación (IG) de 99,56±9,99 por ciento.

## RECOMENDACIONES

- Analizar a nivel molecular la cepa obtenida en la presente investigación para identificar la especie a la cual pertenece.
- Efectuar un análisis de fitohormonas al biol producido para determinar su capacidad como fitoregulador en el desarrollo vegetal.
- Realizar investigaciones considerando diferentes tipos de crianza de cuyes cuyas cuyinazas permitan producir mayor cantidad y/o mejor calidad de biofertilizantes.
- Investigar otras fuentes de carbono alternativas a la melaza para evaluar la producción de inóculo y la fermentación con la cuyinaza
- Aplicar el Biol T4 en pregerminación de diversas semillas para determinar en cual ofrece mayor eficiencia como estimulador germinativo.
- Aplicar foliarmente el Biol T4 en diversos cultivos para averiguar en cuál de ellos es más eficiente, tomando en cuenta el tipo de suelo, clima, altitud de los sembríos, dentro o fuera de fitotoldos o invernaderos.
- Implementar los resultados de la presente investigación a mayor escala, pudiendo ser a nivel de la empresa Agroindustrial Inka Cuy S.A.C., y de esta manera proporcionar otra alternativa de aprovechamiento del estiércol de los cuyes, que posibilitaría la disminución de impactos ambientales que pudieran estar generándose por la cuyinaza.
- Investigar si los bioles y biosoles producibles de la mezcla de la cuyinaza con otros estiércoles resulten más convenientes en el contenido nutricional como biofertilizantes.

## REFERENCIAS

- Aldón, D. (2008). *Estrategia ambiental de aprovechamiento de la macroalga Ulva lactuca (lechuga de mar) a través del proceso de ensilaje*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- Alvarado, C., Chacón, Z., Otoniel, J., Guerrero, B. y López, G. (2007). Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas de un queso venezolano ahumado andino artesanal. Su uso como cultivo iniciador. *Revista Científica*, 17 (3), 301-308. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95917314>
- American Public Health Association. (1992). *Metodología de análisis microbiológico*. Washington DC, USA: APHA.
- Association of Official Analytical Chemists. (1988). *Agricultural liming materials*. Maryland, USA: AOAC.
- Ataucusi, S. (2015). *Manejo técnico de la crianza de cuyes en la sierra del Perú*. Recuperado de [http://gaviotareps.com/bitportal/Cms\\_Data/Contents/BuenaventuraDataBase/Folders/Publicaciones/~contents/6PHJ9NAUWNP6WHLV/MANUAL-CUY-f.pdf](http://gaviotareps.com/bitportal/Cms_Data/Contents/BuenaventuraDataBase/Folders/Publicaciones/~contents/6PHJ9NAUWNP6WHLV/MANUAL-CUY-f.pdf)
- Carhuancho, F. (2012). *Aprovechamiento del estiércol de gallina para la elaboración de biol en biodigestores tipo batch como propuesta al manejo de residuo avícola*. (Trabajo de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- Chauca, L. (1997). *Producción de cuyes (Cavia porcellus)*. Recuperado de <http://www.zoetecnocampo.com/jump/jump.cgi?www.fao.org/DOCREP/W6562s/w6562s00.htm>
- Corrales, V. y Molina, H. (2012). *Proyecto para la producción y comercialización de panela molida procedente de la provincia de Cotopaxi, Cantón Sigchos, Parroquia Las Palmas hacia la ciudad de Quito*. (Trabajo de grado). Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador.
- Danzos, H. (2007). *La agricultura orgánica como alternativa al uso de plaguicidas: El caso de Huatusco. Veracruz*. (Tesis para Maestría). Universidad Iberoamericana. México D.F., México.

- Del Pino, A., Perdomo, C., Repetto, C. y Mori, C., (2008). Patrones de descomposición de estiércoles en el suelo. *Revista Terra Latinoamericana*, 26(1), 43-52. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57311561006>
- Enríquez, M., y Rojas, F. (2004). *Normas generales para crianza de cuyes*. Recuperado de <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/50000201.pdf>
- Estela W., Rychtera M., Melzoch K., Quillama E. y Egoavil E. (2007). Producción de ácido láctico por *Lactobacillus plantarum* L10 en cultivos batch y continuo. *Revista Peruana de Biología*, 14(2), 271-275. Recuperado de <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/1797/1570>
- Fernández-Rendón, C. y Barrera-Escorcia, G. (2013). Comparación de técnicas para la extracción de bacterias coliformes del sedimento del lago de Xochimilco, México. *Revista Argentina de Microbiología*, 45(3), 180-184.
- Garcés, A., Berrio, L., Ruiz, S., Serna, J. y Builes, A. (2004). Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación*, 1 (1), 66-71. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/695/69511010.pdf>
- García-Gallegos, E., Luna-Zendejas, H. y Zamora-Campos, E. (2015). Indicadores físicos, químicos y viológicos de la vermiestabilización de residuos orgánicos. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 2 (5), 1-13.
- García, L. (2008). *Uso de bacterias probióticas en el ensilado de residuos de pescado*. (Trabajo de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- González, B., Gómez, M. y Jiménez, Z. (2003). Bacteriocinas de probióticos. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 4(2), 42-50. Recuperado de <http://www.respyn.uanl.mx/iv/2/index.html>
- Grageda-Cabrera, O., Díaz-Franco, A., Peña-Cabriales, J. y Vera-Núñez, J. (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6), 1261-1274. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/2631/263123222015.pdf>
- Guanopatín, M. (2012). *Aplicación de boil en el cultivo establecido de alfalfa (Medicago sativa)*. (Trabajo de grado). Universidad Técnica de Ambato, Cevallos, Ecuador.

- International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (1983). Metodología para análisis microbiológico. ICMSF.
- International Federation of organic Agriculture Movements. (2017). Federación Internacional de Movimientos de Agricultura Orgánica. Bonn, Alemania: IFOAM.
- Iparraguirre, R. (2007). *Tipos de excretas y degradación aeróbica del estiércol en el compostaje*. (Trabajo de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Jiménez, A., Moreno, J. (2003). Ensilaje de forrajeras en bolsas plásticas. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Corpo ICA, El ensilaje una alternativa para la conservación de forrajes. Ecoregión Caribe, Colombia.
- Julca, P. (2000). *Uso de probióticos como una alternativa para reducir la producción de amoníaco en heces de cerdos en recría*. (Trabajo de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Meza, L. (2014). *Elaboración de abono líquido mediante fermentación hemolítica de papas de descarte utilizando el consorcio microbiano ácido láctico B-lac*. (Trabajo de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- Mier, M. (2009). *Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero*. (Tesis para maestría). Universidad De Córdoba. Córdoba.
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2016). Sector agropecuario. Lima: MINAGRI. Recuperado de <http://www.minagri.gob.pe/portal/>
- Molina, J. (2012). *Microorganismos eficientes autóctonos (EMAs) en la productividad del cuy*. (Trabajo de grado). Universidad Técnica de Ambato. Cevallos, Ecuador.
- Molina, M. (2008). *Efecto probiótico de Lactobacillus acidophilus y Bacillus subtilis en cuyes (Cavia porcellus) de engorde*. (Trabajo de grado). Escuela Politécnica del Ejército. Sangolqui, Ecuador.
- Montes, T. (2012). *Asistencia técnica dirigida en crianza tecnificada de cuyes*. Trabajo presentado en Cajabamba por parte de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Oficina Académica de Extensión y Proyección Social. Cajabamba, Cajamarca.

Recuperado de <http://www.agrobanco.com.pe/data/uploads/ctecnica/015-a-crianza-tecnificada.pdf>

- Moreno, L. (2012). *Aislamiento y selección de Lactobacillus sp con potencial probiótico a partir de pan de abejas*. (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Oliveira, C. (2010). *Efectos de tres fuentes de materia orgánica (vacaza, gallinaza y cuyaza), enriquecidos con microorganismos benéficos (EM) en el cultivo de lechuga (Lactuca sativa L.) Lamas*. (Trabajo de grado). Universidad Nacional de San Martín. Tarapoto, Perú.
- Ordoñez, R. (2003). *Plan de introducción de la carne de cuy en Lima Metropolitana: Estudio de mercado y propuesta empresarial*. (Tesis de maestría). Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima, Perú.
- Ortiz, M. (2006). *Identificación bioquímica de bacterias ácido lácticas aisladas a partir de productos lácteos en el Estado de Hidalgo*. (Trabajo de grado). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca de Soto, México.
- Ossa, J., Vanegas, M. y Badillo, A. (2010). Evaluación de la melaza de caña como sustrato para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 13(1), pp. 97-104. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n1/v13n1a11.pdf>
- Peralta, L., Juscamaita, J. y Meza, V. (2016). Obtención y caracterización de abono orgánico líquido a través del tratamiento de excretas del ganado vacuno de un establo lechero usando un consorcio microbiano ácido láctico. *Ecología Aplicada*, 15(1), 1-10. Doi: <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v15i1.577>
- Peralta, R. (2010). *Determinación de parámetros óptimos en la producción de fast biol usando las excretas del ganado lechero del establo de la UNALM*. (Trabajo de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Quevedo, F., Valverde, C. y Chang-Navarro, L. (1983). Suelos, sus propiedades y manejo. *Boletín técnico de la Oficina técnica de información agraria del Ministerio de agricultura de Perú*, 62, 60-86.

- Ramos, A. (1986). *Fermentación láctica de vegetales*. (Trabajo de grado). Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.
- Ramírez, J., Rosas, P., Velázquez, M., Ulloa, J. y Arce, F. (2011). Bacterias lácticas: importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente*, 2 (7), 1-16. Recuperado de <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-07/1.pdf>
- Rodríguez, A., Robles, C., Ruiz, R., López, E., Sedeño, J. y Rodríguez, A. (2014). Índices de germinación y elongación radical de *Lactuca sativa* en el biomonitorio de la calidad del agua del río Chalma. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 30 (2), 307-316.
- Rodríguez, G. (2007). *Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas a partir de leche cruda y queso Paipa elaborado en los Municipios de Pacho (Cundinamarca) y Belén (Boyaca)*. (Trabajo de grado). Universidad De la Salle, Bogotá, Colombia.
- Rodríguez, J. (2011). *Aislamiento e identificación de microorganismos con presuntivo potencial probiótico a partir de heces de animales de producción industrial*. (Trabajo de grado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Román, C. (2012). *Tratamiento biológico de la cuyinaza a través de un proceso de fermentación homoláctica*. (Trabajo de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Sandoval, M., Zapata, M., Celis, J., Quezada, C., Capulín, J. y Solís, A. (2013). Efecto de la aplicación de fibra de coco (*Cocos nucifera* L.) en el almacenamiento y eficiencia del uso del agua en un Alfisol, sembrado con ballica (*Lolium multiflorum* L.) y en la toxicidad en lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Agro Sur*, 41 (3), 1-11. DOI: 10.4206/AGROSUR.2013.V41N3-01
- Sánchez, A. (2011). *Conceptos básicos de gestión ambiental y desarrollo sustentable*. México D.F., México: S y G editores.
- Tapie, X. (2013). *Evaluación del efecto de EMs (Lactobacillus spp., y Saccharomyces spp.) como aditivos nutricionales en la alimentación de cuyes*. (Tesis de grado). Universidad Politécnica Estatal Del Carchi. Tulcan, Ecuador.

- Tarigo, A., Repetto, C. y Acosta, D. (2004). *Evaluación agronómica de biofertilizantes en la producción de lechuga (Lactuca sativa) a campo*. (Tesis de grado). Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.
- Terán, G. (2009). *Efecto de la aplicación de cuatro dosis de curinaza y gallinaza en el cultivo de acelga (Beta Vulgaris L.)*. (Tesis de grado). Universidad Técnica del Norte. Ibarra, Ecuador.
- Tobía, C., Uribe, L., Villalobos, E., Soto, H. y Ferris, I. (2003). Aislamiento, selección y caracterización de bacterias ácido lácticas en ensilajes de soya. *Agronomía Costarricense*, 27(2), 21-27. Recuperado de [http://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v27n02\\_021.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_agr/v27n02_021.pdf)
- Tortora, G., Funke, B. y Case, C. (2007). *Introducción de la Microbiología*. [Traducido al español de Microbiology: an introduction]. 9ª ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana S.A..
- Vásquez, C., Martín, A., De Silóniz, M. y Serrano, S. (2010). Técnicas básicas de Microbiología. Observación de bacterias. *Reduca (Biología)*. *Serie Microbiología*, 3(5), 15-38. Recuperado de <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/819/834>
- Vásquez, D. (2008). *Producción y evaluación de cuatro tipos de bioabonos como alternativa biotecnológica de uso de residuos orgánicos para la fertilización de pastos*. (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.
- Varnero, M., Rojas, C. y Orellana, R. (2007). Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje (en línea). *R.C.Suelo Nutr. Veg.*, 7 (1), 28-37. Recuperado de <http://www.scielo.cl/pdf/rcsuelo/v7n1/art03.pdf>
- Verde, R. (2014). Producción de biol a partir de residuos sólidos orgánicos en la Empresa Prestadora de Servicios Lima CILSA S.A.. (Práctica pre Profesional). Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú.
- Zamudio, K. (2005). *Lactobacilos nativos productores de exopolisacáridos de interés biotecnológico*. (Trabajo de grado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

## TERMINOLOGÍA

Los conceptos de los términos indicados a continuación se han tomado del libro *Conceptos básicos de gestión ambiental y desarrollo sustentable* perteneciente a Sánchez (2011).

**Agroquímicos.** Término genérico para designar al conjunto de sustancias químicas usadas en la agricultura para el control de plagas, se presentan como herbicidas, defoliantes, fertilizantes y otras formas.

**Coliformes.** Grupo de bacterias que viven en el intestino de muchos vertebrados, las cuales pueden ser de origen fecal o ambiental; si proceden de heces se les llaman coliformes fecales y pueden estar presentes algunas otras bacterias patógenas como *Salmonella*, *Shigella* y *Vibro parahemolítico*, entre otras.

**Fertilizante o abono.** Cualquier sustancia orgánica o inorgánica, natural o sintética que aporte a las plantas uno o varios de los elementos nutritivos indispensables para su desarrollo vegetativo normal.

**Hidratos de carbono o carbohidratos.** Biomoléculas orgánicas conformadas por polialcoholes y poseen un grupo aldehído o cetona. Llamados, también como glúcidos, glicidos, glicoles y azúcares. Dentro de sus funciones, son energéticas, plásticas o estructurales dentro de las celulares y almacenan información celular.

**Impacto ambiental.** Modificaciones al ambiente ocasionadas por actividades antropogénicas (realizadas por el hombre) o por fenómenos naturales

**Insumos directos.** Aquellos materiales o sustancias que intervienen en el proceso

productivo o de tratamiento. Incluyen materias primas.

**Lactato.** Forma ionizada del ácido láctico, intermediario en el metabolismo de la glucosa. Se genera a partir del ácido pirúvico en el músculo esquelético, cerebro y eritrocitos.

**Materia orgánica.** Material que se forma por los procesos de desintegración de los seres vivos, está formado principalmente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno.

**Materia prima.** Recursos que a través de un proceso de transformación se convierten en un producto final.

**Microorganismos.** Organismos microscópicos que pueden ser: virus, bacterias, algas, hongos o protozoos. Se consideran dentro de este grupo tanto a las bacterias y protozoarios como a las algas y hongos microscópicos.

**Morfológico(a).** Relativo a la morfología. Características de las formas físicas de ciertas categorías de individuos.

**Partes por millón (ppm).** Medida que se utiliza para determinar la concentración de una sustancia química en un volumen específico, se determina dividiendo el volumen en un millón de partes iguales; cada millonésima parte de este volumen que corresponde a la sustancia de nuestro interés, se considera una parte por millón de la sustancia.

**Patógenos.** Microorganismos (bacterias, virus o parásitos) que pueden causar enfermedades en otros organismos o en humanos, animales o plantas; se encuentran en aguas negras, descargas provenientes de granjas o áreas rurales pobladas con animales domésticos y silvestres, y en agua utilizada para natación. Los alimentos y el agua

contaminados por patógenos pueden causar enfermedades.

**pH.** Medida de acidez o de alcalinidad de una sustancia líquida o sólida. Cuando una sustancia tiene un valor pH de 0 a 7 significa que es ácida, si el pH es de 7 a 14 indica alcalinidad, mientras que un valor de pH de 7 indica neutralidad. El valor del pH influye en el comportamiento y en los componentes de las sustancias.

**Proceso anaeróbico.** Ocurre en ausencia de oxígeno libre. La forma de respiración sin oxígeno libre se presenta en algunas bacterias, levaduras y protozoarios, estos organismos descomponen materia orgánica con producción de metano.

**Regresión lineal.** Técnica estadística que busca las posibles relaciones funcionales de proporción directa entre dos variables cuantitativas que cambian juntas y simultáneamente.

**Sulfuro de hidrógeno.** Gas maloliente formado por hidrógeno y azufre, tiene el olor característico de huevos podridos. Es emitido durante la descomposición natural de la materia orgánica y en las etapas avanzadas de eutrofización de los lagos. El sulfuro de hidrógeno es un subproducto de las actividades en refinería y con frecuencia de la combustión de algunos productos del petróleo. En concentraciones altas puede causar malestar y daños serios a la salud.

# APÉNDICES

## APÉNDICE 1

### FICHA TÉCNICA DEL MEDIO DE CULTIVO MAN ROGOSA SHARE (MRS)

 **pronadisa**  
Micro & Molecular Biology

**QUALITY CONTROL CERTIFICATE**

**PRODUCT:** MRS BROTH  
**CAT Nº:** 1215  
**BATCH:** 211081  
**RE-TEST DATE:** 2020/02  
**QC Date:** 2016/02/08  
**pH:** 6.20

We hereby certify that the above mentioned culture medium has been approved by the Quality Control Laboratory.

**FORMULA IN g/l:**

Bacteriological peptone:.....	10.0	Beef extract:.....	8.0
Yeast extract:.....	4.0	Dextrose:.....	20.0
Tween-80:.....	1.0	Dipotassium phosphate:.....	2.0
Sodium acetate:.....	5.0	Ammonium citrate:.....	2.0
Magnesium sulfate:.....	0.2	Manganese sulfate:.....	0.05

The pH after preparing the medium and at room temperature: 6.2 ± 0.2

**PHYSICAL AND CHEMICAL TEST**

Appearance: ..... fine powder  
Solubility: ..... w/o rests  
Color: ..... beige  
Color of the prepared medium: clear amber

**MICROBIOLOGICAL TEST**

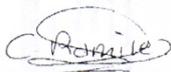
The following results were obtained in the performance of the medium from type cultures after incubation at a temperature of 35°C during 3 days or at 30°C during 5 days in a CO<sub>2</sub> enriched atmosphere.

Microorganisms	Growth
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Good
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	Good
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	Moderate-Good
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Moderate-Good
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Inhibited

**NOTE:** the growth of some lactobacillus strain is inhibited a higher pH of 6.0 and it is necessary to acidify the media to promote the growth. To acidify the media you can add some drops of acetic acid.

**Laboratory result:** *Satisfactory*

Carmen Ramirez, QC Manager



1

**LABORATORIOS CONDA, S.A.**  
C/ La Forja, 9 · 28850 Torrejón de Ardoz (Madrid)  
Phone +34 91 761 02 00 · Fax +34 91 656 82 28

[www.condalab.com](http://www.condalab.com)

## APÉNDICE 2

### REGISTRO DE LOS VALORES DE pH DE LOS TRATAMIENTOS Y SUS RÉPLICAS

		Evaluación diaria del pH					
Tratamientos		Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
T0	Réplica 1	10,9	10,00	8,5	8,1	8,7	9,7
	Réplica 2	10,0	9,8	8,1	8,1	8,9	10,3
	Réplica 3	10,5	9,9	7,9	7,9	8,8	9,6
	X ±DE	10,47±0,45	9,90±0,10	8,17±0,31	8,03±0,12	8,80±0,10	9,87±0,38
T1	Réplica 1	6,3	5,8	4,8	4,3	4,4	4,3
	Réplica 2	6,8	5,9	4,8	4,1	4,1	4,2
	Réplica 3	7,00	5,7	4,8	4,2	4,1	4,0
	X ±DE	6,70±0,36	5,80±0,10	4,80±0,00	4,20±0,10	4,20±0,17	4,17±0,15
T2	Réplica 1	7,7	5,6	4,4	3,9	4,2	4,6
	Réplica 2	8,0	5,5	4,7	4,4	3,9	4,4
	Réplica 3	8,9	5,5	5,1	3,6	4,3	4,7
	X ±DE	8,20±0,62	5,53±0,06	4,73±0,35	3,97±0,40	4,13±0,21	4,57±0,15
T3	Réplica 1	8,1	6,0	5,1	4,6	5,4	4,8
	Réplica 2	8,0	6,2	5,6	5,7	5,7	5,0
	Réplica 3	8,3	6,1	5,3	4,7	5,5	4,9
	X ±DE	8,13±0,15	6,10±0,10	5,33±0,25	5,00±0,61	5,53±0,15	4,90±0,10
T4	Réplica 1	8,4	5,3	4,0	3,0	3,8	3,1
	Réplica 2	8,8	5,4	3,8	2,9	3,7	2,9
	Réplica 3	8,7	5,5	3,8	2,7	4,0	3,3
	X ±DE	8,63±0,21	5,40±0,10	3,87±0,12	2,87±0,15	3,83±0,15	3,10±0,20
T5	Réplica 1	8,0	5,3	4,2	3,2	4,8	3,6
	Réplica 2	7,6	5,1	4,0	2,8	4,5	3,5
	Réplica 3	7,5	5,0	4,0	3,2	4,6	3,8
	X ±DE	7,70±0,26	5,13±0,15	4,07±0,12	3,07±0,23	4,63±0,15	3,63±0,15
T6	Réplica 1	8,1	5,6	4,1	3,5	4,8	3,7
	Réplica 2	8,9	5,5	4,1	3,3	4,8	4,0
	Réplica 3	8,5	5,6	4,6	3,3	5,3	4,5
	X ±DE	8,50±0,40	5,57±0,06	4,27±0,29	3,37±0,12	4,97±0,29	4,07±0,40
T7	Réplica 1	7,5	5,8	4,9	3,4	5,0	4,3
	Réplica 2	7,2	4,9	4,3	3,8	5,0	4,4
	Réplica 3	7,3	5,4	4,2	3,5	4,9	4,2
	X ±DE	7,33±0,15	5,37±0,45	4,47±0,38	3,57±0,21	4,97±0,06	4,30±0,10
T8	Réplica 1	7,2	6,6	6,2	5,9	6,8	6,9
	Réplica 2	6,4	5,8	4,7	3,9	5,1	6,0

	Réplica 3	7,8	5,8	4,7	3,9	5,4	5,3
	X ±DE	7,13±0,70	6,07±0,46	5,20±0,87	4,57±1,15	5,77±0,91	6,07±0,80
T9	Réplica 1	7,6	6,3	4,3	4,3	5,9	5,6
	Réplica 2	7,7	6,6	4,8	4,9	5,9	5,1
	Réplica 3	7,4	5,9	5,5	4,1	5,7	4,7
	X ±DE	7,57±0,15	6,27±0,35	4,87±0,60	4,43±0,42	5,83±0,12	5,13±0,45
T10	Réplica 1	6,6	5,2	3,7	2,9	4,8	3,5
	Réplica 2	6,5	5,9	3,9	3,1	4,5	3,9
	Réplica 3	6,8	5,4	3,6	2,9	4,6	4,0
	X ±DE	6,63±0,15	5,50±0,36	3,73±0,15	2,97±0,12	4,63±0,15	3,80±0,26
T11	Réplica 1	7,8	6,5	4,1	2,9	4,6	4,0
	Réplica 2	8,5	5,6	4,00	3,1	5,0	4,4
	Réplica 3	8,1	5,1	4,2	3,1	5,0	4,5
	X ±DE	8,13±0,35	5,73±0,71	4,10±0,10	3,03±0,12	4,87±0,23	4,30±0,26
T12	Réplica 1	8,2	5,2	4,1	3,2	5,0	4,5
	Réplica 2	7,9	5,7	4,0	3,0	4,8	4,2
	Réplica 3	8,1	4,7	4,2	3,2	4,9	4,4
	X ±DE	8,07±0,15	5,20±0,50	4,10±0,10	3,13±0,12	4,90±0,10	4,37±0,15

Fuente: Elaboración propia.

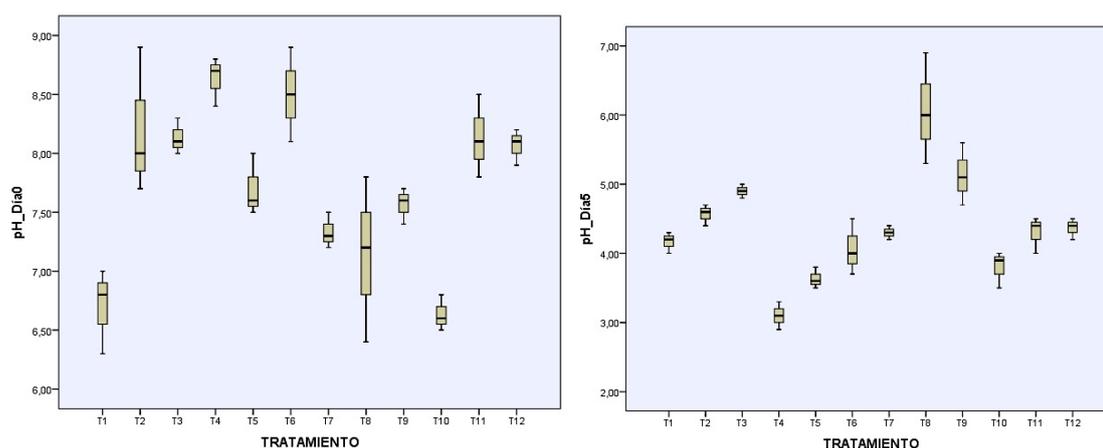
### APÉNDICE 3

#### PRUEBA DE NORMALIDAD DE LOS VALORES DE pH DEL DÍA0 Y DEL DÍA5 DE LOS TRATAMIENTOS

Día	TRATAMIENTO	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	grados de libertad	Sig.
pH_Día0	T1	0.942	3	0,537
	T2	0.923	3	0,463
	T3	0.964	3	0,637
	T4	0.923	3	0,463
	T5	0.893	3	0,363
	T6	1 000.0	3	1000,0
	T7	0,964	3	0,637
	T8	0,993	3	0,843
	T9	0,964	3	0,637
	T10	0,964	3	0,637
	T11	0,993	3	0,843
	T12	0,964	3	0,637
pH_Día5	T1	0,964	3	0,637
	T2	0,964	3	0,637

T3	1000,0	3	1000,0
T4	1000,0	3	1000,0
T5	0,964	3	0,637
T6	0,980	3	0,726
T7	1000,0	3	1000 0
T8	0,995	3	0,862
T9	0,996	3	0,878
T10	0,893	3	0,363
T11	0,893	3	0,363
T12	0,964	3	0,637

Fuente: Elaboración propia.



## APÉNDICE 4

### ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS EFECTOS PRINCIPALES Y DE LAS INTERACCIONES DOBLE Y TRIPLE DE LOS FACTORES

#### 4.1. Factores: Inóculo IBL, melaza y cuyinaza

Factor		Dosis	N
<b>IBL</b>	1	0,15	18
	2	0,25	18
<b>MELAZA</b>	1	0,15	18
	2	0,25	18
<b>CUYINAZA</b>	1	0,6	12

2	0,7	12
3	0,8	12

Fuente: Elaboración propia.

#### 4.2. Análisis de varianza de los efectos principales e interacciones doble y triple

Variable dependiente: pH_Día5					
Origen	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F valores	Sig.
Modelo corregido	19,213	11	1,747	16,082	0,000
Intersección	686,440	1	686,440	6320,164	0,000
IBL	3,121	1	3,121	28,737	0,000
MELAZA	8,604	1	8,604	79,223	0,000
CUYINAZA	4,965	2	2,483	22,857	0,000
IBL * MELAZA	0,010	1	0,010	0,092	0,764
IBL * CUYINAZA	1,134	2	0,567	5,220	0,013
MELAZA * CUYINAZA	0,624	2	0,312	2,872	0,076
IBL * MELAZA * CUYINAZA	0,755	2	0,378	3,476	0,047
Error	2,607	24	0,109		
Total	708,260	36			
Total corregida	21,820	35			

Fuente: Elaboración propia.

#### 4.3. Prueba de significación del efecto de la interacción doble inóculo IBL-CUYINAZA

Variable dependiente: pH_Día5					
IBL	CUYINAZA	Media	Error típico	N	
0,15	0,6	3,633	0,135	6	A
	0,7	4,100	0,135	6	A B
	0,8	4,483	0,135	6	B C
0,25	0,6	4,050	0,135	6	A B
	0,7	5,183	0,135	6	D
	0,8	4,750	0,135	6	C D

Nota: No existe diferencia significativa para letras iguales.

Fuente: Elaboración propia.

#### 4.4. Prueba de significación del efecto de la interacción triple inóculo IBL-MELAZA-CUYINAZA

Variable dependiente: pH_Día5							
IBL	MELAZA	CUYINAZA	Media	Error típico	N		
0,15	0,15	0,6	4,167	0,190	3	B C D	
		0,7	4,567	0,190	3	B C D	
		0,8	4,900	0,190	3	C D	
	0,25	0,6	3,100	0,190	3	A	
		0,7	3,633	0,190	3	A B	
		0,8	4,067	0,190	3	A B C	
	0,25	0,15	0,6	4,300	0,190	3	B C D
			0,7	6,067	0,190	3	E
			0,8	5,133	0,190	3	D E
0,25		0,6	3,800	0,190	3	A B	
		0,7	4,300	0,190	3	B C D	
		0,8	4,367	0,190	3	B C D	

*Nota:* No existe diferencias estadísticamente significativas para letras iguales.

*Fuente:* Elaboración propia.

## APÉNDICE 5

### ANÁLISIS DE VARIANZA DEL pH DE LOS TRATAMIENTOS

#### 5.1. Prueba de homogeneidad de pH\_Día5

pH_Día5			
Estadístico Levene	Grados de libertad 1	Grados de libertad 2	Sig.
2,112	11	24	0,061

*Fuente:* Elaboración propia.

#### 5.2. ANOVA de pH correspondiente al Día5 considerando a los tratamientos como fuente de variación

	<b>pH_Día5</b>				
	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado Medio	F valores	Sig.
Intergrupos	19,213	11	1,747	16,082	0,000
Intragrupos	2,607	24	0,109		
Total	21,820	35			

Fuente: Elaboración propia.

### 5.3. Prueba de Tukey de pH correspondiente al Día5 considerando a los tratamientos como fuente de variación

		<b>pH_Día5</b>				
		alfa = 0,05				
Tratamiento	N	1(A)	2 (B)	3 (C)	4 (D)	5 (E)
T4	3	3,1000 <sup>a</sup>				
T5	3	3,6333 <sup>a</sup>	3,6333 <sup>b</sup>			
T10	3	3,8000 <sup>a</sup>	3,8000 <sup>b</sup>			
T6	3	4,0667 <sup>a</sup>	4,0667 <sup>b</sup>	4,0667 <sup>c</sup>		
T1	3		4,1667 <sup>b</sup>	4,1667 <sup>c</sup>	4,1667 <sup>d</sup>	
T7	3		4,3000 <sup>b</sup>	4,3000 <sup>c</sup>	4,3000 <sup>d</sup>	
T11	3		4,3000 <sup>b</sup>	4,3000 <sup>c</sup>	4,3000 <sup>d</sup>	
T12	3		4,3667 <sup>b</sup>	4,3667 <sup>c</sup>	4,3667 <sup>d</sup>	
T2	3		4,5667 <sup>b</sup>	4,5667 <sup>c</sup>	4,5667 <sup>d</sup>	
T3	3			4,9000 <sup>c</sup>	4,9000 <sup>d</sup>	
T9	3				5,1333 <sup>d</sup>	5,1333 <sup>e</sup>
T8	3					6,0667 <sup>e</sup>
Sig.		0,051	0,067	0,141	0,051	0,067

Nota: No existe diferencias estadísticamente significativas para letras iguales.

Fuente: Elaboración propia.

## APÉNDICE 6

### REGISTRO DE LOS VALORES DE pH DE LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS Y DE SUS RÉPLICAS.

<b>Evaluación diaria del pH</b>						
Tratamientos	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5

<b>T0</b>	Réplica 1	9,50	8,90	8,50	7,70	7,80	8,00
	Réplica 2	9,40	8,80	8,50	7,60	7,20	7,70
	Réplica 3	9,60	8,60	8,50	7,40	7,80	7,70
	<b>X ±DE</b>	<b>9,50±0,10</b>	<b>8,77±0,15</b>	<b>8,50±0,00</b>	<b>7,57±0,15</b>	<b>7,60±0,35</b>	<b>7,80±0,17</b>
<b>T1</b>	Réplica 1	6,20	5,30	4,10	2,90	2,80	2,90
	Réplica 2	6,10	5,20	4,80	3,50	4,00	4,10
	Réplica 3	6,40	4,90	3,80	2,70	3,20	3,40
	<b>X ±DE</b>	<b>6,23±0,15</b>	<b>5,13±0,21</b>	<b>4,23±0,51</b>	<b>3,03±0,42</b>	<b>3,33±0,61</b>	<b>3,47±0,60</b>
<b>T4</b>	Réplica 1	6,10	4,90	3,60	2,40	2,90	3,00
	Réplica 2	6,00	4,50	3,50	1,90	2,50	2,70
	Réplica 3	6,30	5,20	3,60	2,00	2,60	2,80
	<b>X ±DE</b>	<b>6,13±0,15</b>	<b>4,87±0,35</b>	<b>3,57±0,06</b>	<b>2,10±0,26</b>	<b>2,67±0,21</b>	<b>2,83±0,15</b>
<b>T6</b>	Réplica 1	6,50	5,50	3,40	2,00	2,50	2,80
	Réplica 2	6,30	4,80	3,90	2,60	3,30	3,50
	Réplica 3	6,40	4,70	3,50	2,20	2,90	3,20
	<b>X ±DE</b>	<b>6,40±0,10</b>	<b>5,00±0,44</b>	<b>3,60±0,26</b>	<b>2,27±0,31</b>	<b>2,90±0,40</b>	<b>3,17±0,35</b>

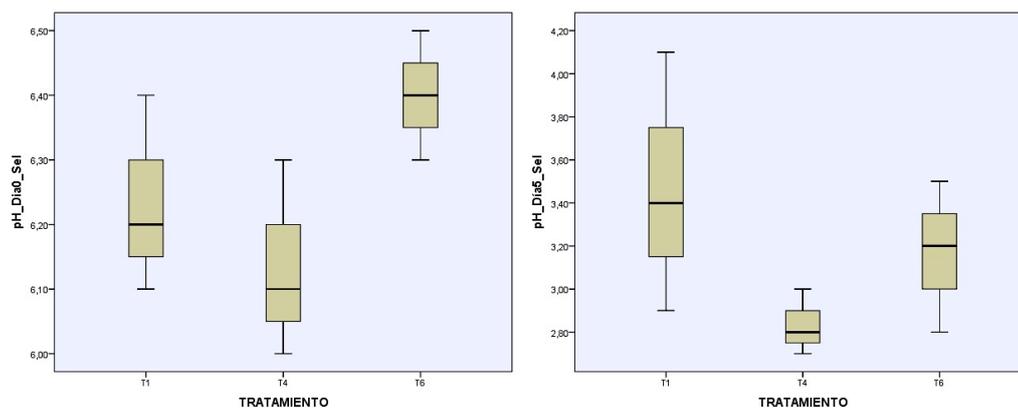
Fuente: Elaboración propia.

## APÉNDICE 7

### PRUEBA DE NORMALIDAD DE LOS VALORES DE pH DEL DÍA0 Y DEL DÍA5 DE LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS

Día	TRATAMIENTO	Estadístico	Shapiro-Wilk	
			Grados de libertad	Sig.
pH_Día0	T1	0,964	3	0,637
	T4	0,964	3	0,637
	T6	1,000	3	1,000
pH_Día5	T1	0,991	3	0,817
	T4	0,964	3	0,637
	T6	0,993	3	0,843

Fuente: Elaboración propia.



## APÉNDICE 8

### ANÁLISIS DE VARIANZA DEL pH DE LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS

#### 8.1. Prueba de homogeneidad de varianza de pH\_Día5

pH_Día5				
Estadístico Levene	Grados de libertad 1	Grados de libertad 2	Sig.	
1,631	2	6	0,272	

Fuente: Elaboración propia.

#### 8.2. ANOVA de pH correspondiente al Día5 tomando como fuente de variación a los tratamientos preseleccionados

pH_Día5					
	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado Medio	F valores	Sig.
Intergrupos	0,602	2	0,301	1,771	0,249
Intragrupos	1,020	6	0,170		
Total	1,622	8			

Fuente: Elaboración propia.

## APÉNDICE 9

### REGISTRO DE LOS VALORES DEL PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO TITULABLE DE LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS Y DE SUS RÉPLICAS

**Evaluación diaria del porcentaje de ácido láctico titulable de los tratamientos  
preseleccionados**

Tratamientos	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	
<b>T1</b>	Réplica 1	0,51	1,08	2,81	3,74	1,85	3,13
	Réplica 2	0,44	1,04	1,18	1,78	1,99	1,57
	Réplica 3	0,57	1,31	2,12	2,61	2,12	2,57
	<b>X ±DE</b>	<b>0,51±0,07</b>	<b>1,14±0,15</b>	<b>2,04±0,82</b>	<b>2,71±0,98</b>	<b>1,99±0,14</b>	<b>2,42±0,79</b>
<b>T4</b>	Réplica 1	1,00	1,14	2,61	3,42	3,11	3,49
	Réplica 2	0,92	1,53	2,80	3,92	3,48	3,73
	Réplica 3	1,11	1,22	2,61	3,81	3,29	3,59
	<b>X ±DE</b>	<b>1,01±0,10</b>	<b>1,30±0,21</b>	<b>2,67±0,11</b>	<b>3,72±0,26</b>	<b>3,29±0,19</b>	<b>3,60±0,12</b>
<b>T6</b>	Réplica 1	1,58	1,00	2,90	3,85	2,65	3,83
	Réplica 2	1,24	1,44	2,06	2,66	2,45	2,48
	Réplica 3	1,67	1,68	2,55	3,18	2,86	2,92
	<b>X ±DE</b>	<b>1,50±0,23</b>	<b>1,37±0,34</b>	<b>2,50±0,42</b>	<b>3,23±0,60</b>	<b>2,65±0,21</b>	<b>3,08±0,69</b>

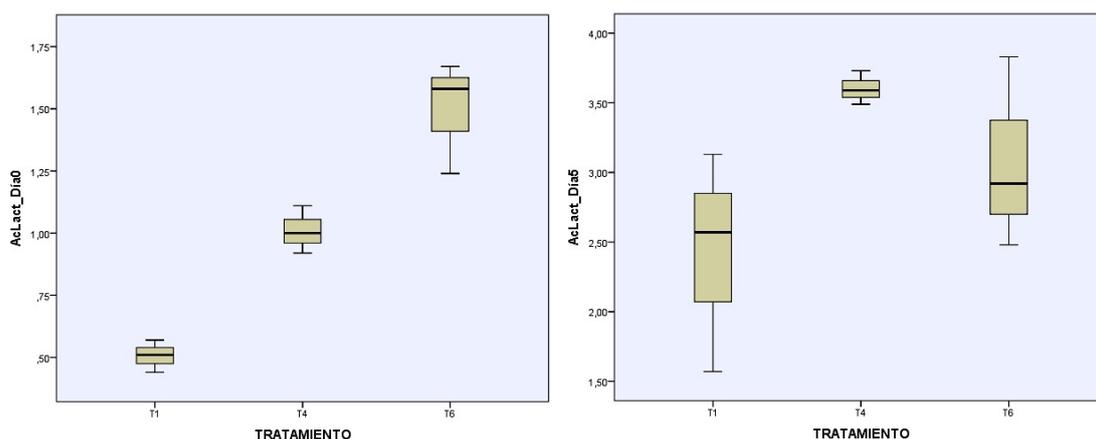
*Fuente:* Elaboración propia.

## APÉNDICE 10

### PRUEBA DE NORMALIDAD DE LOS VALORES DEL PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO TITULABLE PRODUCIDO DE LOS DÍAS 0 Y 5 DE LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS

Día	TRATAMIENTO	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Grados libertad	Sig.
AcLact_Día0	T1	0,998	3	0,915
	T4	0,992	3	0,826
	T6	0,899	3	0,381
AcLact_Día5	T1	0,974	3	0,692
	T4	0,991	3	0,817
	T6	0,961	3	0,621

*Fuente:* Elaboración propia.



## APÉNDICE 11

### ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO TITULABLE PRODUCIDO EN LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS

#### 11.1. Prueba de homogeneidad del porcentaje de ácido láctico titulable producido

AcLact_Día5			
Estadístico Levene	Grado libertad 1	Grado libertad 2	Sig.
2,600	2	6	0,154

*Fuente:* Elaboración propia.

#### 11.2. ANOVA del porcentaje del ácido láctico titulable correspondiente al Día5 tomando como fuente de variación a los tratamientos preseleccionados

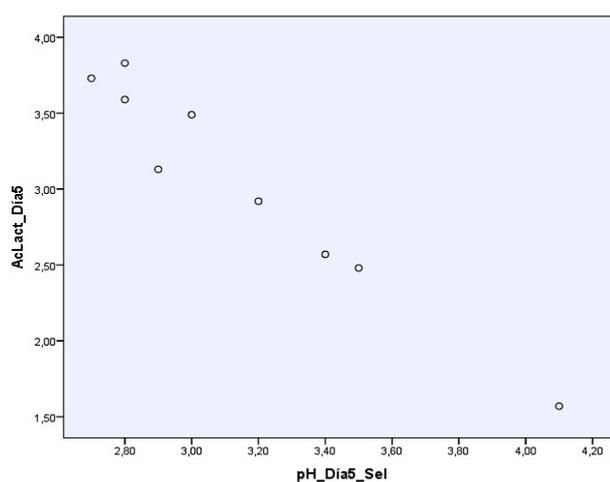
AcLact_Día5					
	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado Medio	F valores	Sig.
Intergrupos	2,097	2	1,048	2,825	0,137
Intragrupos	2,226	6	0,371		
Total	4,323	8			

*Fuente:* Elaboración propia.

## APÉNDICE 12

### CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL ENTRE EL pH Y EL PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO TITULABLE PRODUCIDO POR LOS TRATAMIENTOS PRESELECCIONADOS

#### 12.1. Gráfica de dispersión del pH y el porcentaje de ácido láctico titulable



#### 12.2. Coeficiente de determinación y de correlación entre el pH y el porcentaje de ácido láctico titulable del Día5 de los tratamientos preseleccionados

r	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> corregida	Error típico	Cambio en F	grados libertad1	grados libertad 2
0,976	0,953	0,946	0,17027	142,111	1	7

*Fuente:* Elaboración propia.

#### 12.3. Coeficientes de la regresión lineal entre el pH y porcentaje de ácido láctico titulable

Variable dependiente (Y): %AcLact_Día5		Y= a + mX		
Variable independiente (X): pH				
	Coeficientes	Error típico	Sig.	
a	8,063	0,426	0,000	
m	-1,594	0,134	0,000	

*Fuente:* Elaboración propia.

**APÉNDICE 13**  
**INFORMES DE LOS ANÁLISIS EN LOS LABORATORIOS**

**13.1. Análisis de materia orgánica de la cuyinaza**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
 FACULTAD DE AGRONOMIA  
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



**INFORME DE ANALISIS DE MATERIA ORGANICA**

SOLICITANTE : EDWIN AGUIRRE LÓPEZ  
 PROCEDENCIA : LIMA/ CANTA  
 MUESTRA DE : CUYINAZA  
 REFERENCIA : H.R. 57032  
 BOLETA : 13850  
 FECHA : 28/12/16

N° LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	M.O. %	N %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> %	K <sub>2</sub> O %
1059		7.16	14.10	74.08	1.99	3.01	5.63

N° LAB	CLAVES	CaO %	MgO %	Hd %	Na %
1059		2.71	1.23	66.31	0.26

N° LAB	CLAVES	Fe ppm	Cu ppm	Zn ppm	Mn ppm	B ppm
1059		3323	38	237	254	64



Dr. Sady García Bendezu  
 Jefe de Laboratorio

---

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
 Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622  
 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

## 13.2. Análisis de materia orgánica del biol



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
**FACULTAD DE AGRONOMIA**  
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



### INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : EDWIN AGUIRRE LÓPEZ  
 PROCEDENCIA : LIMA/ CANTA  
 MUESTRA DE : BIOL  
 REFERENCIA : H.R. 57077  
 BOLETA : 13858  
 FECHA : 30/12/16

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	Sólidos Totales g/L	M.O. en Solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L
1081		4.15	34.70	249.12	173.10	6020.00	3349.75	18900.00

Nº LAB	CLAVES	Ca Total mg/L	Mg Total mg/L	Na Total mg/L
1081		5670.00	3050.00	975.00

LAB	CLAVES	Fe Total mg/L	Cu Total mg/L	Zn Total mg/L	Mn Total mg/L	B Total mg/L
1081		365.95	4.90	27.50	57.55	15.74

 *Sady García Bendezi*  
 Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
 Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622  
 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

### 13.3. Análisis de materia orgánica del biosol



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
**FACULTAD DE AGRONOMIA**  
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



#### INFORME DE ANALISIS DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : EDWIN AGUIRRE LÓPEZ  
 PROCEDENCIA : LIMA/ CANTA  
 MUESTRA DE : BIOSOL  
 REFERENCIA : H.R. 57078  
 BOLETA : 13858  
 FECHA : 28/12/16

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	M.O. %	N %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> %	K <sub>2</sub> O %
1082		4.26	21.30	78.34	2.16	0.90	5.15

Nº LAB	CLAVES	CaO %	MgO %	Hd %	Na %
1082		2.38	1.47	51.74	0.20

Nº LAB	CLAVES	Fe ppm	Cu ppm	Zn ppm	Mn ppm	B ppm
1082		2809	27	118	150	57

  
 Dr. Sachy García Bendejé  
 Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
 Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622  
 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

## 13.4. Análisis microbiológico de la cuyinaza



### UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Av. La Molina s/n La Molina - Lima - Perú  
Teléfono: 6147800 anexo 274



#### INFORME DE ENSAYO N° 1612707 - LMT

SOLICITANTE : EDWIN AGUIRRE LÓPEZ

DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO

MUESTRA : CUYINAZA  
1612707)

PROCEDENCIA : Inka Cuy  
TIPO DE ENVASE : Botella de plástico  
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra x 01 und. x 1 000 g. aprox.  
ESTADO Y CONDICIÓN : En buen estado y cerrado  
FECHA DE MUESTREO : 2016 - 12 - 15  
FECHA DE RECEPCIÓN : 2016 - 12 - 16  
FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 2016 - 12 - 16  
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 2017 - 01 - 11

#### RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Análisis Microbiológico	Límite de detección	Muestra 1612707
<sup>1</sup> Recuento de aerobios mesófilos viables (UFC/g)	< 10	60 x 10 <sup>7</sup>
<sup>1</sup> Recuento de mohos (UFC/g)	< 10	34 x 10 <sup>4</sup>
<sup>1</sup> Enumeración de coliformes totales (NMP/g)	< 3; 11 x 10 <sup>2</sup> >	> 11 x 10 <sup>2</sup>
<sup>1</sup> Enumeración de coliformes fecales (NMP/g)	< 3; 11 x 10 <sup>2</sup> >	> 11 x 10 <sup>2</sup>
<sup>2</sup> Enumeración de Staphylococcus aureus. (NMP/g)	< 3; 11 x 10 <sup>3</sup> >	< 3
<sup>1</sup> Detección de Salmonella sp. en 25 g.	Ausencia/Presencia	Presencia

**Nota:** El valor < 3 indica ausencia de microorganismos en ensayo

#### Métodos:

<sup>1</sup>International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.

<sup>2</sup>American Public Health Association. 1992. Compendium of methods for the Microbiological Examination of foods. 3<sup>rd</sup> Ed. Chapter 13.

#### Observaciones:

Informe de ensayo emitido sobre la base de resultados de nuestro laboratorio en muestras proporcionadas por el solicitante.

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin nuestra autorización escrita.

Validez del documento:

Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 16 de enero del 2017



*Doris Zuñiga Dávila*

DRA. DORIS ZUÑIGA DÁVILA

Jefe del Laboratorio de Ecología Microbiana  
y Biotecnología "Marino Tabusso"  
Universidad Nacional Agraria La Molina

Teléfono: 6147800 anexo 274

E-mail: [lmt@lamolina.edu.pe](mailto:lmt@lamolina.edu.pe)

LABORATORIO DE ECOLOGÍA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGÍA "MARINO TABUSSO"

□ (511) 614-7800 anexo 274 - E-mail: [lmt@lamolina.edu.pe](mailto:lmt@lamolina.edu.pe)

## 13.5. Análisis microbiológico del biol



### UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Av. La Molina s/n La Molina - Lima - Perú  
Teléfono: 6147800 anexo 274



#### INFORME DE ENSAYO N° 1612712 - LMT

SOLICITANTE : EDWIN AGUIRRE LÓPEZ

DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO

MUESTRA : BIOL  
1612712)

PROCEDENCIA : Los Olivos  
TIPO DE ENVASE : Botella de plástico  
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra x 01 und. x 500 mL. aprox.  
ESTADO Y CONDICIÓN : En buen estado y cerrado  
FECHA DE MUESTREO : 2016 - 12 - 15  
FECHA DE RECEPCIÓN : 2016 - 12 - 16  
FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 2016 - 12 - 16  
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 2016 - 12 - 20

#### RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Análisis Microbiológico	Límite de detección	Muestra 1612712
<sup>1</sup> Recuento de aerobios mesófilos viables (UFC/mL)	< 10	95 x 10 <sup>5</sup>
<sup>1</sup> Recuento de mohos (UFC/mL)	< 10	25 x 10 <sup>4</sup>
<sup>1</sup> Recuento de levaduras (UFC/mL)	< 10	61 x 10 <sup>4</sup>
<sup>1</sup> Enumeración de coliformes totales (NMP/mL)	< 3; 11 x 10 <sup>2</sup> >	< 3
<sup>1</sup> Enumeración de coliformes fecales (NMP/mL)	< 3; 11 x 10 <sup>2</sup> >	< 3
<sup>2</sup> Enumeración de Staphylococcus aureus. (NMP/ ml)	< 3; 11 x 10 <sup>3</sup> >	< 3
<sup>1</sup> Detección de Salmonella sp. en 25 ml.	Ausencia/Presencia	Ausencia

Nota: El valor < 3 indica ausencia de microorganismos en ensayo

#### Métodos:

<sup>1</sup>International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.

<sup>2</sup>American Public Health Association. 1992. Compendium of methods for the Microbiological Examination of foods. 3<sup>rd</sup> Ed. Chapter 13.

#### Observaciones:

Informe de ensayo emitido sobre la base de resultados de nuestro laboratorio en muestras proporcionadas por el solicitante.

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin nuestra autorización escrita.

Validez del documento:

Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 09 de enero del 2017



*Dra. Doris Zúñiga Dávila*

DRA. DORIS ZÚÑIGA DÁVILA

Jefe del Laboratorio de Ecología Microbiana  
y Biotecnología "Marino Tabusso"  
Universidad Nacional Agraria La Molina

Teléfono: 6147800 anexo 274

E-mail: [imt@lamolina.edu.pe](mailto:imt@lamolina.edu.pe)

LABORATORIO DE ECOLOGIA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGIA "MARINO TABUSSO"

□ (511) 614-7800 anexo 274 - E-mail: [imt@lamolina.edu.pe](mailto:imt@lamolina.edu.pe)

## 13.6. Análisis microbiológico del biosol



### UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Av. La Molina s/n La Molina - Lima - Perú  
Teléfono: 6147800 anexo 274



#### INFORME DE ENSAYO N° 1612713 - LMT

SOLICITANTE : EDWIN AGUIRRE LÓPEZ

DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO

MUESTRA : BIOSOL  
1612713)

PROCEDENCIA : Los Olivos  
TIPO DE ENVASE : Bolsa de plástico  
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra x 01 und. x 500 g. aprox.  
ESTADO Y CONDICIÓN : En buen estado y cerrado  
FECHA DE MUESTREO : 2016 - 12 - 15  
FECHA DE RECEPCIÓN : 2016 - 12 - 16  
FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 2016 - 12 - 16  
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 2016 - 12 - 20

#### RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Análisis Microbiológico	Límite de detección	Muestra 1612713
<sup>1</sup> Recuento de aerobios mesófilos viables (UFC/g)	< 10	65 x 10 <sup>4</sup>
<sup>1</sup> Recuento de mohos (UFC/g)	< 10	29 x 10 <sup>2</sup>
<sup>1</sup> Recuento de levaduras (UFC/g)	< 10	72 x 10 <sup>2</sup>
<sup>1</sup> Enumeración de coliformes totales (NMP/g)	< 3; 11 x 10 <sup>2</sup> >	< 3
<sup>1</sup> Enumeración de coliformes fecales (NMP/g)	< 3; 11 x 10 <sup>2</sup> >	< 3
<sup>2</sup> Enumeración de Staphylococcus aureus. (NMP/g)	< 3; 11 x 10 <sup>3</sup> >	< 3
<sup>1</sup> Detección de Salmonella sp. en 25 g.	Ausencia/Presencia	Ausencia

Nota: El valor < 3 indica ausencia de microorganismos en ensayo

#### Métodos:

<sup>1</sup>International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.

<sup>2</sup>American Public Health Association. 1992. Compendium of methods for the Microbiological Examination of foods. 3<sup>rd</sup> Ed. Chapter 13.

#### Observaciones:

Informe de ensayo emitido sobre la base de resultados de nuestro laboratorio en muestras proporcionadas por el solicitante.

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin nuestra autorización escrita.

Validez del documento:

Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 09 de enero del 2017



*Doris Zúñiga Dávila*

DRA. DORIS ZÚÑIGA DÁVILA

Jefe del Laboratorio de Ecología Microbiana  
y Biotecnología "Marino Tabusso"  
Universidad Nacional Agraria La Molina

Teléfono: 6147800 anexo 274  
E-mail: [lmt@lamolina.edu.pe](mailto:lmt@lamolina.edu.pe)

LABORATORIO DE ECOLOGIA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGIA "MARINO TABUSSO"

□ (511) 614-7800 anexo 274 - E-mail: [lmt@lamolina.edu.pe](mailto:lmt@lamolina.edu.pe)

## APÉNDICE 14

### CÁLCULO DEL ÍNDICE DE CALIDAD DE LA MATERIA ORGÁNICA (C/N) DEL BIOL T4 Y BIOSOL T4

$$\%C_{\text{Biol T4}} = \frac{\% \text{ Materia Orgánica (MO)}}{1.724} = \frac{17.31}{1.724} = 10.04 \quad C/N_{\text{Biol T4}} = \frac{\%C}{\%N} = \frac{10.04}{0.602} = 16.68$$

$$\%C_{\text{Biosol T4}} = \frac{\% \text{ Materia Orgánica (MO)}}{1.724} = \frac{78.34}{1.724} = 45.44 \quad C/N_{\text{Biosol T4}} = \frac{\%C}{\%N} = \frac{45.44}{2.16} = 21.04$$

## APÉNDICE 15

### REGISTRO DE LOS VALORES DEL PORCENTAJE DE LA GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS DE "LECHUGA"

		<b>Porcentaje diario de Germinación (%)</b>				
<b>Tratamientos / Réplicas</b>		<b>Día 1</b>	<b>Día 2</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 4</b>	<b>Día 5</b>
<b>T0pg (control)</b>	Réplica 1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	Réplica 2	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	Réplica 3	90,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	<b>Promedio</b>	<b>96.67±5,77</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>
<b>T1pg (100%)</b>	Réplica 1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Réplica 2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Réplica 3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	<b>Promedio</b>	<b>0,00±0,00</b>	<b>0,00±0,00</b>	<b>0,00±0,00</b>	<b>0,00±0,00</b>	<b>0,00±0,00</b>
<b>T2pg (10%)</b>	Réplica 1	0,00	0,00	0,00	10,00	10,00
	Réplica 2	0,00	0,00	0,00	30,00	40,00
	Réplica 3	0,00	0,00	0,00	20,00	20,00
	<b>Promedio</b>	<b>0,00±0</b>	<b>0,00±0</b>	<b>0,00±0</b>	<b>20±10,00</b>	<b>23,33±15,28</b>
<b>T3pg (1%)</b>	Réplica 1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	Réplica 2	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	Réplica 3	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	<b>Promedio</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>
<b>T4pg (0.1%)</b>	Réplica 1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	Réplica 2	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	Réplica 3	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	<b>Promedio</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>

<b>T5pg (0.01%)</b>	Réplica 1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	Réplica 2	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	Réplica 3	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	<b>Promedio</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>	<b>100±0,00</b>

Fuente: Elaboración propia.

## APÉNDICE 16

### ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN

**16.1. ANOVA del porcentaje de germinación correspondiente al Día5 tomando como fuente de variación a los tratamientos.**

<b>Día5_pg</b>					
	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado Medio	F valores	Sig.
Intergrupos	32027,778	5	6405,556	164,714	0,000
Intragrupos	466,667	12	38,889		
Total	32494,444	17			

Fuente: Elaboración propia.

**16.2. Prueba de Tukey del porcentaje de germinación correspondiente al Día5 tomando como fuente de variación a los tratamientos.**

<b>Día5_pg</b>				
TRATAMIENTO	N	1(A)	2(B)	3(C)
T1pg	3	0,000		
T2pg	3		23,333	
T0pg	3			100,000
T3pg	3			100,000
T4pg	3			100,000
T5pg	3			100,000
Sig.		1,000	1,000	1,000

Fuente: Elaboración propia.

## APÉNDICE 17

### REGISTRO DE LOS ÍNDICE DE GERMINACIÓN (IG) DE CADA TRATAMIENTO Y SUS RÉPLICAS

		Índice de Germinación (%)			
Tratamientos		PRG parcial	CRR parcial	IG parcial	IG
T1pg (100%)	Réplica 1	0,00	0,00	0,00	<b>0,00±0,00</b>
	Réplica 2	0,00	0,00	0,00	
	Réplica 3	0,00	0,00	0,00	
T2pg (10%)	Réplica 1	23,33	0,58	0,13	<b>0,36±0,24</b>
	Réplica 2	23,33	2,56	0,60	
	Réplica 3	23,33	1,43	0,33	
T3pg (1%)	Réplica 1	100,00	57,23	57,23	<b>54,11±8,03</b>
	Réplica 2	100,00	60,11	60,11	
	Réplica 3	100,00	44,99	44,99	
T4pg (0,1%)	Réplica 1	100,00	86,13	86,13	<b>88,91±6,97</b>
	Réplica 2	100,00	83,76	83,76	
	Réplica 3	100,00	96,85	96,85	
T5pg (0,01%)	Réplica 1	100,00	110,12	110,12	<b>99,56±9,99</b>
	Réplica 2	100,00	98,29	98,29	
	Réplica 3	100,00	90,26	90,26	

*Fuente:* Elaboración propia.

## APÉNDICE 18

### PRUEBA DE NORMALIDAD DE LOS ÍNDICES DE GERMINACIÓN

TRATAMIENTO		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Grados libertad	Sig.
INDICE_GERMINACION	T3pg	0,887	3	0,344
	T4pg	0,881	3	0,326
	T5pg	0,988	3	0,790

*Fuente:* Elaboración propia.

## APÉNDICE 19

### ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ÍNDICE DE GERMINACIÓN

#### 19.1. Prueba de homogeneidad del Índice de Germinación

INDICE_GERMINACION			
Estadístico de Levene	Grado libertad 1	Grado libertad 2	Sig.
0,169	2	6	0,849

Fuente: Elaboración propia.

#### 19.2. ANOVA del Índice de Germinación

INDICE_GERMINACION					
	Suma de cuadrados	Grado libertad	Cuadrado medio	F valores	Sig.
Intergrupos	3389,952	2	1 694,976	23,883	0,001
Intragrupos	425,820	6	70,970		
Total	3815,772	8			

Fuente: Elaboración propia.

#### 19.3. Prueba de Tukey del Índice de Germinación

INDICE_GERMINACION			
TRATAMIENTO	N	1(A)	2(B)
T3pg	3	54,1100	
T4pg	3		88,9133
T5pg	3		99,5567
Sig.		1,000	0,336

Fuente: Elaboración propia.

#### 19.4. Porcentajes de PRG, CRR y del IG promedio

Tratamiento	Semillas germinadas	PGR (%)	CRR (%)	IG (%)
T0pg	10,00	...	...	...

T1pg	0,00	0,00	0,00	0,00±0,00
T2pg	2,33	23,33	1,52	0,36±0,24
T3pg	10,00	100,00	54,11	54,11±8,03
T4pg	10,00	100,00	88,91	88,91±6,97
T5pg	10,00	100,00	99,55	99,55±9,99

Fuente: Elaboración propia.

## APÉNDICE 20

### REGISTRO DE LOS VALORES DE LA ELONGACIÓN DE LA RADÍCULA DE LAS SEMILLAS DE “LECHUGA” DE LOS TRATAMIENTOS Y RÉPLICAS

Tratamiento	Elongación de la radícula (mm)			
	Semilla	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
T0pg (Control)	1	40,00	38,00	36,00
	2	30,00	40,00	33,00
	3	45,00	35,00	35,00
	4	30,00	41,00	45,00
	5	35,00	37,00	35,00
	6	28,00	35,00	45,00
	7	35,00	36,00	30,00
	8	28,00	26,00	23,00
	9	30,00	28,00	35,00
	10	45,00	35,00	32,00
		<b>TOTAL (X ±DE): 34,87±0,25</b>	<b>34,60±6,64</b>	<b>35,10±4,77</b>
T1pg (100%)	1	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00
	6	0,00	0,00	0,00
	7	0,00	0,00	0,00
	8	0,00	0,00	0,00
	9	0,00	0,00	0,00
	10	0,00	0,00	0,00
		<b>TOTAL (X ±DE): 0,00±0,00</b>	<b>00,00±0,00</b>	<b>00,00±0,00</b>
T2pg (10%)	1	2,00	3,00	3,00
	2	0,00	2,00	2,00
	3	0,00	2,00	0,00
	4	0,00	2,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00
	6	0,00	0,00	0,00

	7	0,00	0,00	0,00
	8	0,00	0,00	0,00
	9	0,00	0,00	0,00
	10	0,00	0,00	0,00
	<b>TOTAL (X ±DE): 0,53±1.01</b>	<b>0,20±0,63</b>	<b>0,90±1,20</b>	<b>0,50±1,08</b>
T3pg (1%)	1	30,00	19,00	11,00
	2	18,00	26,00	16,00
	3	20,00	21,00	15,00
	4	15,00	17,00	18,00
	5	21,00	17,00	12,00
	6	17,00	30,00	10,00
	7	18,00	25,00	20,00
	8	18,00	16,00	25,00
	9	26,00	21,00	15,00
	10	15,00	19,00	15,00
	<b>TOTAL (X ±DE): 18,87±5.03</b>	<b>19,80±4,80</b>	<b>21,10±4,56</b>	<b>15,70±4,47</b>
T4pg (0.1%)	1	28,00	35,00	34,00
	2	28,00	28,00	32,00
	3	32,00	28,00	40,00
	4	23,00	26,00	32,00
	5	32,00	31,00	43,00
	6	28,00	35,00	30,00
	7	35,00	23,00	30,00
	8	28,00	30,00	33,00
	9	34,00	25,00	30,00
	10	30,00	33,00	34,00
	<b>TOTAL (X ±DE): 31,00±4.39</b>	<b>29,80±3,55</b>	<b>29,40±4,14</b>	<b>33,80±4,39</b>
T5pg (0.01%)	1	33,00	35,00	29,00
	2	37,00	35,00	22,00
	3	40,00	43,00	32,00
	4	43,00	32,00	36,00
	5	45,00	24,00	39,00
	6	23,00	40,00	24,00
	7	40,00	30,00	36,00
	8	45,00	36,00	29,00
	9	40,00	30,00	32,00
	10	35,00	40,00	36,00
	<b>TOTAL (X ±DE): 34,70±6,39</b>	<b>38,10±6,62</b>	<b>34,50±5,70</b>	<b>31,50±5,54</b>

Fuente: Elaboración propia.

APÉNDICE 21

**REGISTRO DE LOS VALORES DE LA ELONGACIÓN DEL HIPOCOTILO DE LAS SEMILLAS DE “LECHUGA” DE LOS TRATAMIENTOS Y RÉPLICAS**

Elongación del hipocotilo (mm)				
Tratamiento	Semilla	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
T0pg (Control)	1	27,00	30,00	22,00
	2	22,00	26,00	23,00
	3	26,00	25,00	30,00
	4	28,00	30,00	26,00
	5	25,00	26,00	26,00
	6	25,00	24,00	18,00
	7	22,00	27,00	21,00
	8	26,00	23,00	20,00
	9	26,00	24,00	23,00
	10	22,00	24,00	23,00
	<b>TOTAL (X ±DE): 24,67±2.88</b>	<b>24,90±2,18</b>	<b>25,90±2,47</b>	<b>23,20±3,43</b>
T1pg (100%)	1	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00
	6	0,00	0,00	0,00
	7	0,00	0,00	0,00
	8	0,00	0,00	0,00
	9	0,00	0,00	0,00
	10	0,00	0,00	0,00
	<b>TOTAL (X ±DE): 0,00±0.00</b>	<b>0,00±0,00</b>	<b>0,00±0,00</b>	<b>0,00±0,00</b>
T2pg (10%)	1	5,00	6,00	7,00
	2	0,00	4,00	5,00
	3	0,00	3,00	0,00
	4	0,00	2,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00
	6	0,00	0,00	0,00
	7	0,00	0,00	0,00
	8	0,00	0,00	0,00
	9	0,00	0,00	0,00
	10	0,00	0,00	0,00
	<b>TOTAL (X ±DE): 1,07±2.12</b>	<b>0,50±1,58</b>	<b>1,50±2,17</b>	<b>1,20±2,57</b>
T3pg (1%)	1	33,00	29,00	20,00
	2	26,00	31,00	25,00
	3	23,00	20,00	25,00

	4	26,00	28,00	30,00
	5	27,00	27,00	25,00
	6	27,00	29,00	28,00
	7	28,00	27,00	23,00
	8	22,00	26,00	21,00
	9	25,00	28,00	26,00
	10	23,00	25,00	28,00
	<b>TOTAL (X ±DE): 26,03±3.09</b>	<b>26,00±3,16</b>	<b>27,00±2,98</b>	<b>25,10±3,14</b>
T4pg (0.1%)	1	24,00	28,00	25,00
	2	29,00	26,00	26,00
	3	27,00	30,00	21,00
	4	20,00	22,00	27,00
	5	26,00	30,00	30,00
	6	25,00	26,00	26,00
	7	26,00	28,00	29,00
	8	26,00	33,00	27,00
	9	20,00	23,00	26,00
	10	24,00	25,00	28,00
	<b>TOTAL (X ±DE): 26,10±3.01</b>	<b>24,70±2,87</b>	<b>27,10±3,38</b>	<b>26,50±2,46</b>
T5pg (0.01%)	1	25,00	30,00	27,00
	2	27,00	28,00	28,00
	3	25,00	30,00	27,00
	4	27,00	20,00	27,00
	5	26,00	23,00	28,00
	6	21,00	24,00	21,00
	7	26,00	25,00	27,00
	8	27,00	26,00	26,00
	9	25,00	25,00	23,00
	10	23,00	25,00	26,00
	<b>TOTAL (X ±DE): 25,60±2.42</b>	<b>25,20±1,93</b>	<b>25,60±3,10</b>	<b>26,00±2,26</b>

Fuente: Elaboración propia.

## APÉNDICE 22

### PRUEBA DE NORMALIDAD DE LOS VALORES DE LAS ELONGACIONES DE LA RADÍCULA Y DEL HIPOCOTILO

	TRATAMIENTO	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Grado libertad	Sig.
ELONGACION_RADICULA	T0pg	0,951	30	0,178
	T3pg	0,944	30	0,120
	T4pg	0,955	30	0,236

	T5pg	0,957	30	0,256
ELONGACION_HIPOCOTILO	T0pg	0,967	30	0,463
	T3pg	0,973	30	0,610
	T4pg	0,964	30	0,387
	T5pg	0,946	30	0,132

Fuente: Elaboración propia.

## APÉNDICE 23

### ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ELONGACIÓN DE LA RADÍCULA Y DEL HIPOCOTILO

#### 23.1. Prueba de homogeneidad

	Estadístico de Levene	Grados de libertad 1	Grados de libertad 2	Sig.
ELONGACION_RADICULA	1,475	3	116	0,225
ELONGACION_HIPOCOTILO	0,474	3	116	0,701

Fuente: Elaboración propia.

#### 23.2. ANOVA de la elongación de la radícula y del hipocotilo

		Suma de cuadrados	Grados libertad	Cuadrado medio	F valores	Sig.
ELONGACION_RADICULA	Intergrupos	5119,358	3	1706,453	57,190	0,000
	Intragrupos	3461,233	116	29,838		
	Total	8580,592	119			
ELONGACION_HIPOCOTILO	Intergrupos	39,267	3	13,089	1,599	0,193
	Intragrupos	949,533	116	8,186		
	Total	988,800	119			

Fuente: Elaboración propia.

#### 23.3. Prueba de Tukey de la elongación de la radícula

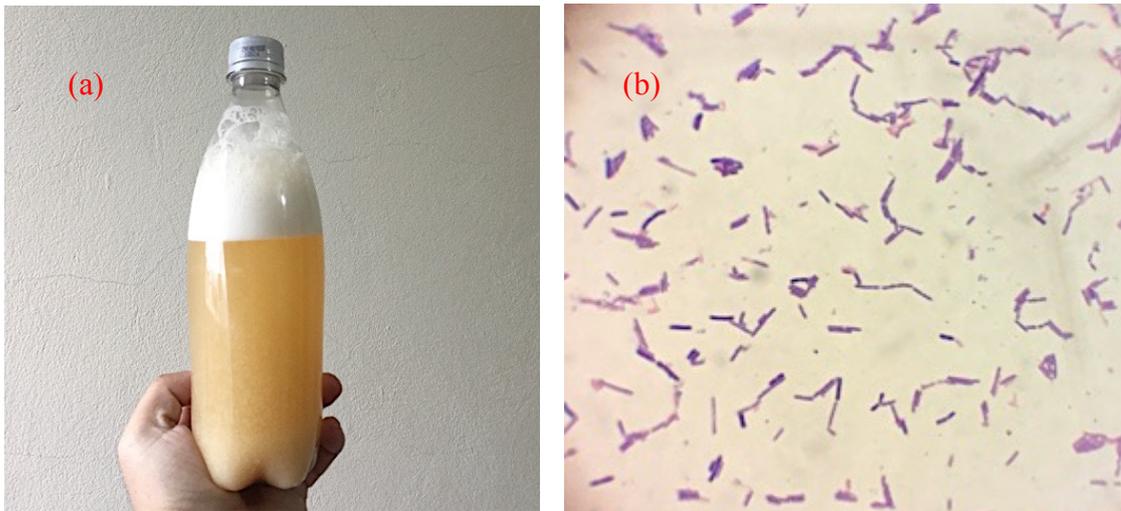
ELONGACIÓN_RADÍCULA				
TRATAMIENTO	N	alfa = 0.05		
		1(A)	2(B)	3(C)
T3pg	30	18,8667		
T4pg	30		31,000	
T5pg	30			34,7000
T0pg	30			34,8667
Sig.		1,000	1,000	0,9990

Fuente: Elaboración propia

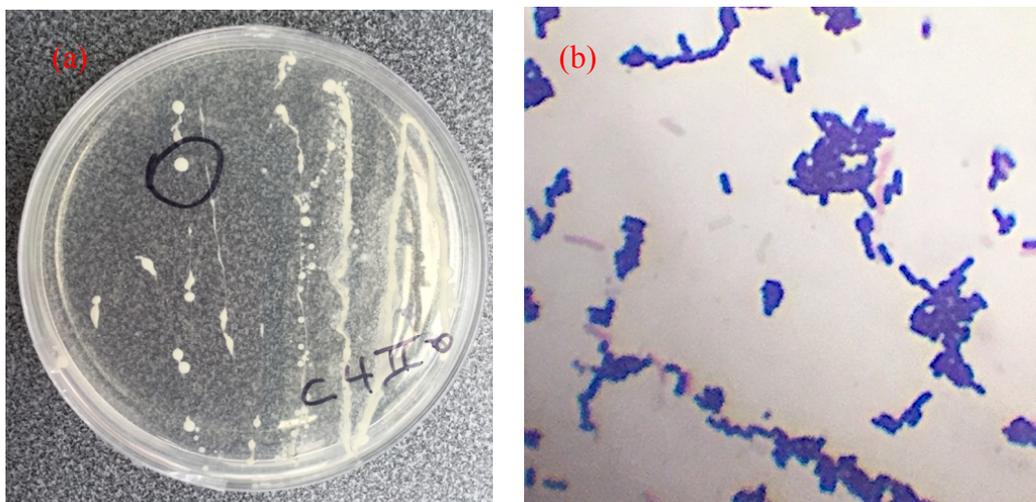
## APÉNDICE 24

### REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA INVESTIGACIÓN

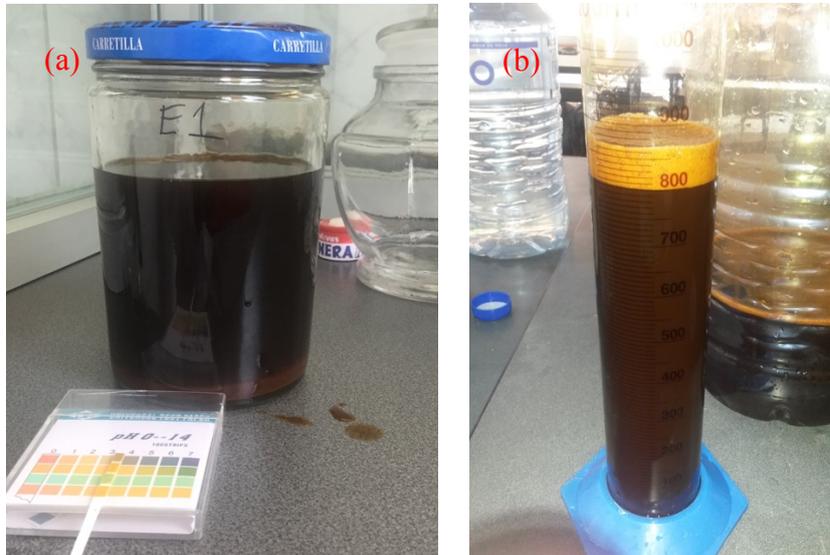
**Fotografía 24.1.** (a) Fermento de chicha de cebada proveniente de Cusco. (b) Observación microscópica de los microorganismos presentes en el fermento de la chicha de cebada.



**Fotografía 24.2.** (a) Observación macroscópica de la colonia redondeada y de superficie cremosa convexa característica del género *Lactobacillus*. (b) Observación microscópica de los bacilos Gram positivos provenientes del fermento de la chicha de cebada.



**Fotografía 24.3.** (a) Escalamiento desde la cepa de bacterias *Lactobacillus* sp. hasta una dilución al 20 por ciento de melaza de caña. (b) Inóculo de bacterias *Lactobacillus* sp. (IBL).



**Fotografía 24.4.** (a) Bolsas con los tratamientos para la fermentación de la cuyinaza aplicando el inóculo IBL y la melaza. (b) Ubicación de los tratamientos dentro de la caja de tecnopor.



**Fotografía 24.5.** (a) Detalle del Biol T4 extraído por prensado. (b) Biol T4 y Biosol T4 producidos por la fermentación de la cuyinaza.



**Fotografía 24.6.** (a) Tratamientos en el bioensayo de toxicidad del Biol T4 con semillas de “lechuga”. (b) Tratamiento T5pg (0,01 por ciento) con la germinación de las semillas de “lechuga”.

