



Evaluación del nivel de crecimiento vegetal en plantas de *Zea mays* en condiciones *invitro* frente a la aplicación de biol obtenido en un reactor a escala piloto

Reyes Pareja, Ariel Alejandro

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología

PhD. Naranjo Gaybor, Sandra Judith

20 de febrero del 2023

Tesis Ariel Reye rev SA

4% Similitudes
 < 1% Texto entre comillas
 < 1% similitudes entre comillas
 2% Idioma no reconocido

Nombre del documento: Tesis Ariel Reye rev SA.pdf
 ID del documento: af76bcb14fd67c8467ba32eeb7e2e44e972a091b
 Tamaño del documento original: 1,95 Mo

Depositante: MILTON VINICIO UDAY PATIÑO
 Fecha de depósito: 24/2/2023
 Tipo de carga: interface
 fecha de fin de análisis: 24/2/2023

Número de palabras: 20.580
 Número de caracteres: 141.794

Ubicación de las similitudes en el documento:



Fuentes principales detectadas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	Andaluz Colala, Paola Alexandra.docx Andaluz Colala, Paola Alexandra #cb0073 El documento proviene de mi grupo 4 fuentes similares	< 1%	[Bar chart]	Palabras idénticas : < 1% (117 palabras)
2	CAICEDO_LOPEZ_TESIS.docx CAICEDO_LOPEZ_TESIS #cbc303 El documento proviene de mi grupo 2 fuentes similares	< 1%	[Bar chart]	Palabras idénticas : < 1% (92 palabras)
3	repositorio.espe.edu.ec Propagación y producción de esquejes de la variedad Over... http://repositorio.espe.edu.ec:8080/bitstream/21000/15732/5/T-IASA I-005478.pdf.txt	< 1%	[Bar chart]	Palabras idénticas : < 1% (76 palabras)
4	localhost Análisis experimental para la generación de metano mediante la biodegr... http://localhost:8080/xmliu/bitstream/redug/53802/3/TRABAJO DE TITULACIÓN.pdf.txt 1 fuente similar	< 1%	[Bar chart]	Palabras idénticas : < 1% (52 palabras)
5	oa.upm.es Estudio de la digestión anaerobia en dos fases para el tratamiento de la... https://oa.upm.es/14684/1/YANS_GUARDIA_PUEBLA.pdf	< 1%	[Bar chart]	Palabras idénticas : < 1% (37 palabras)

Fuentes con similitudes fortuitas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	repositorio.utn.edu.ec Análisis del reactor anaeróbico de flujo ascendente (uasb) p... http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/10360/6/03 IER 003 TRABAJO GRADO.pdf.txt	< 1%	[Bar chart]	Palabras idénticas : < 1% (37 palabras)
2	hdl.handle.net Implantación de la digestión anaerobia en el sector agropecuario http://hdl.handle.net/2117/116592	< 1%	[Bar chart]	Palabras idénticas : < 1% (30 palabras)
3	repositorio.usfq.edu.ec https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/5991/1/104813.pdf	< 1%	[Bar chart]	Palabras idénticas : < 1% (30 palabras)
4	www.scielo.org.mx Caracterización de bioles de la fermentación anaeróbica de ex... https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952016000400471	< 1%	[Bar chart]	Palabras idénticas : < 1% (32 palabras)
5	www.scielo.org.co Co-digestión anaerobia de la fracción orgánica de residuos sól... http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752020000200070	< 1%	[Bar chart]	Palabras idénticas : < 1% (22 palabras)

Fuentes mencionadas (sin similitudes detectadas) Estas fuentes han sido citadas en el documento sin encontrar similitudes. 1

- 1 <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120659006.pdf>
- 2 https://d1wqtxts1xze7.cloudfront.net/46526813/Diagnostico_de_la_situacion_del_manej
- 3 https://doi.org/10.1007/3-540-45839-5_1
- 4 <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/255/228>
- 5 <https://repositorio.una.edu.ni/3783/1/tnf04a472e.pdf>

A

Firma



Validado electrónicamente por:
SANDRA JUDITH
NARANJO GAYBOR

Naranjo Gaybor, Sandra Judith. PhD

CC. 1709384422

Directora del Proyecto de Investigación



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de integración curricular: **“Evaluación del nivel de crecimiento vegetal en plantas de *Zea mays* en condiciones *in vitro* frente a la aplicación de biol obtenido en un reactor a escala piloto”** fue realizado por el señor **Reyes Pareja Ariel Alejandro**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 20 de febrero de 2023

Firma:



Naranjo Gaybor, Sandra Judith. PhD.

C. C: 1709384422

Directora del Proyecto de Investigación



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Yo, **Reyes Pareja Ariel Alejandro**, con cédula de ciudadanía No. **1723946321** declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **“Evaluación del nivel de crecimiento vegetal en plantas de *Zea mays* en condiciones in vitro frente a la aplicación de biol obtenido en un reactor a escala piloto”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 20 de febrero de 2023.

Firma

Reyes Pareja, Ariel Alejandro

C.C.: 1723946321



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Yo, **Reyes Pareja Ariel Alejandro**, con cédula/cédulas de ciudadanía N° **1723946321**, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Evaluación del nivel de crecimiento vegetal en plantas de Zea mays en condiciones *in vitro* frente a la aplicación de biol obtenido en un reactor a escala piloto** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 20 de febrero de 2023.

Firma

Reyes Pareja, Ariel Alejandro

C.C.: 1723946321

Dedicatoria

Dedicada calurosamente a mi madre, Rita Esmeralda, por cuidar al niño permitiéndole volverse hombre. A mi familia por la fuerza de los lazos que nos une gracias a la cual soportan mi actitud y a Dios por el ser.

“Patria: tu superficie es el maíz

Tus minas el palacio del Rey de Oros

Tu cielo las garzas en desliz

Y el relámpago verde de los loros”

Ramón, López Velarde. La suave Patria.

Agradecimientos

Agradezco emotivamente a la Dra. Sandra Naranjo y Sandra Armijos por encabezar amablemente el grupo de trabajo que ha permitido la elaboración de esta tesis, así como por el tiempo y conocimientos compartidos.

Agradezco profundamente a profesionales como Pedro Puente y Natasha Baer por la confianza y los ánimos en las primeras etapas de desarrollo de la tesis; su actitud y predisposición fueron un factor determinante en el cumplimiento de los objetivos

Al Dr. Francisco Suasnavas, Analista en el laboratorio de Química de la ESPE-SD por el tiempo compartido durante la realización de los ensayos pertinentes, por el conocimiento, confianza y ayuda.

Agradezco a cada docente que ha permitido mi formación académica y personal ofreciendo siempre diferentes perspectivas y soluciones a problemas cotidianos.

Índice de contenidos

Caratula	1
Reporte de verificación de contenido	2
Certificación.....	3
Responsabilidad de autoría	4
Autorización de publicación.....	5
Dedicatoria	6
Agradecimientos	7
Índice de contenidos	8
Lista de figuras	13
Lista de tablas	16
Lista de abreviaturas	18
Resumen.....	19
Abstract.....	20
Capítulo I : Introducción.....	21
Antecedentes	22
Planteamiento del problema.....	22
Justificación.....	23
Hipótesis	24
Objetivos	25
Objetivo general	25
Objetivos específicos.....	25

Capítulo II: Marco teórico	25
Plátano maduro (<i>Musa paradisiaca</i>)	25
Digestión anaerobia.....	26
Codigestión	27
Proceso de digestión anaerobia	28
Biogás.....	32
Biol	34
Diseño de biodigestores anaerobios	37
Biodigestor taiwanés o tubular	38
Biodigestor de laguna cubierta.....	38
Biodigestor tipo chino o de domo fijo.....	39
Biodigestor tipo hindú.....	40
Parámetros de operación de digestores anaerobios	40
pH	41
Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	41
Sólidos Totales (ST)	41
Sólidos Totales Volátiles (STV).....	42
Ácidos Grasos Volátiles (AGV).....	42
Nitrógeno total	43
Oxígeno disuelto (OD).....	43
Conductividad	43
Sustratos.....	44

Materia orgánica animal	44
Materia orgánica vegetal	44
Cultivo vegetal <i>in vitro</i>	45
Medio MS	47
Cultivo en suelo.....	47
Suelos negros.....	48
Suelos rojizos.....	48
Suelos arcillosos	48
El maíz <i>Zea mays</i>	49
Historia	49
Domesticación	50
Actualidad.....	51
Taxonomía.....	51
Capítulo III: Materiales y métodos	53
Ubicación geográfica	53
Biodigestor a escala piloto	53
Materia prima	55
Operación del biodigestor	57
Caracterización de la materia prima, mezcla reactiva y productos.....	59
pH y conductividad.....	59
Oxígeno disuelto (OD).....	60
Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	60

Sólidos Totales	63
Sólidos Totales Volátiles	64
Ácidos Grasos Volátiles	64
Nitrógeno total.....	66
Tratamiento del biol	68
Evaluación del biol sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Zea mays L</i>	68
Preparación y modificaciones del medio de cultivo MS.....	69
Germinación aséptica de semillas	73
Siembra.....	74
Control del desarrollo vegetal.....	76
Cultivo en tierra	77
Recolección del sustrato.....	77
Ensayo de germinación	78
Control de crecimiento.....	79
Diseño de experimentos.....	80
Diseño experimental para cultivo <i>in vitro</i>	80
Diseño experimental para el crecimiento de <i>Zea mays</i> en diferentes tipos de suelo	81
Capítulo IV: Resultados y discusión	81
Caracterización de la materia prima.....	82
Caracterización del plátano maduro en descomposición.....	82
Caracterización del efluente piscícola	83

Caracterización del excremento de vaca	84
Operación del biodigestor	85
Caracterización de la Mezcla de Alimentación	86
Caracterización del biol.....	88
Análisis correlacional entre la mezcla de alimentación y el biol.....	91
Efectos del biol sobre el desarrollo in vitro de <i>Zea mays</i>	92
Relación fitohormonal.....	98
Efectos del biol sobre el desarrollo de <i>Zea mays</i> en diferentes tipos de suelo...	100
Capítulo V: Conclusiones	106
Capítulo VI: Recomendaciones.....	107
Capítulo VII: Bibliografía.....	108

Lista de figuras

Figura 1. Esquema del proceso de digestión anaerobia (Bermudez et al., 1988).....	20
Figura 2. Reacciones bioquímicas durante la acidogénesis.....	22
Figura 3 Reacciones bioquímicas durante la acetogénesis.....	22
Figura 4 Reacciones bioquímicas durante la metanogénesis.....	23
Figura5. Esquema del biodigestor taiwanés o tubular.....	28
Figura 6. Esquema del biodigestor de laguna cubierta.....	29
Figura 7. Esquema biodigestor tipo chino o de domo fijo.....	30
Figura 8. Esquema del biodigestor tipo hindú.....	30
Figura 9. Clasificación de sólidos totales dependiendo su naturaleza	32
Figura 10. Primer prototipo de biodigestor anaerobio	43
Figura 11. Fase II de construcción de biodigestor anaerobio.....	44
Figura 12. Puestos de venta de plátano vía a Quevedo.....	45
Figura 13 Efluente piscícola de tilapias rojas.....	45
Figura 14 Lugar de recolección de excremento de vaca.....	46
Figura 15 Analizador multiparámetro marca REX.....	48
Figura 16 Oxímetro marca REX.....	48
Figura 17 Preparación de las muestras para determinación de DQO.....	49
Figura 18 Digestor para DQO marca REX.....	50

<i>Figura 19 Muestras y Espectrofómetro empleados en la determinación de la DQO</i>	<i>50</i>
<i>Figura 20 Equipo de destilación por arrastre de vapor para determinación de AGV.....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 21 Equipo Kjeldahl para determinación de nitrógeno total.....</i>	<i>54</i>
<i>Figura 22 Soluciones stock I, II, III , IV para la preparación del medio de cultivo MS.....</i>	<i>56</i>
<i>Figura 23 Preparación y disposición de los medios de cultivo MS para el experimento.....</i>	<i>56</i>
<i>Figura 24 Autoclave del laboratorio de cultivos vegetales.....</i>	<i>58</i>
<i>Figura 25 Semillas de Zea mays ubicadas para germinación en cámara de crecimiento</i>	<i>61</i>
<i>Figura 26 Soluciones de desinfección usadas previo a la siembra.....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 27 Siembra y disposición de semillas en los tubos de crecimiento.....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 28. Crecimiento de Zea mays a través de cuatro semanas.....</i>	<i>63</i>
<i>Figura 29 Ensayo para cultivo en diferentes tipos de suelo.....</i>	<i>64</i>
<i>Figura 30 Primeros brotes de Zea mays</i>	<i>65</i>
<i>Figura 31. Cultivo sobre diferentes tipos de suelo.....</i>	<i>66</i>
<i>Figura 32 Análisis de correlación de Pearson para estudio de las variables involucradas en la digestión anaerobia</i>	<i>76</i>
<i>Figura 33 Gráfica de efectos principales.....</i>	<i>79</i>
<i>Figura 34 Separación por grupos según el índice de crecimiento.....</i>	<i>80</i>
<i>Figura 35 Análisis de normalidad para los valores obtenidos en el ensayo in vitro.....</i>	<i>80</i>
<i>Figura 36 Aproximación gráfica al contenido fitohormonal del biol.....</i>	<i>82</i>
<i>Figura 37 Diferentes tipos de crecimiento vegetal encontrado en el ensayo in vitro.....</i>	<i>84</i>

<i>Figura 38 Gráfica de efectos principales para cultivo en suelo.....</i>	<i>86</i>
<i>Figura 39 Gráfica de interacción entre las variables experimentales.....</i>	<i>87</i>
<i>Figura 40 Análisis de tukey para determinar grupos homogéneos.....</i>	<i>88</i>
<i>Figura 41 Gráfica de normalidad para la toma de datos en el análisis de crecimiento en suelo</i> <i>.....</i>	<i>88</i>

Lista de tablas

Tabla 1. Rangos de composición de biogás de varias fuentes	24
Tabla 2. Composición química de biol de cuatro fuentes	26
Tabla 3. Composición bioquímica del biol.....	27
Tabla 4. Medios usados en cultivo vegetal <i>in vitro</i>	36
Tabla 5 Composición química de suelos negros.....	38
Tabla 6 Características físico químicas del suelo arcilloso.....	38
Tabla 7 Clasificación taxonómica de <i>Zea mays</i> L.....	41
Tabla 8 Ecuaciones para calcular el volumen de alimentación del biodigestor	47
Tabla 9 Diluciones realizadas para determinar la DQO.....	49
Tabla 10 Ecuación para determinación de ST.....	51
Tabla 11 Ecuaciones para la determinación de STV.....	52
Tabla 12 Ecuación para determinación de AGV (López, 2002).....	52
Tabla 13 Ecuación para la determinación de nitrógeno total.....	54
Tabla 14 Detalles de los medios de cultivo usados en el experimento.....	57
Tabla 15 Composición de los medios Stocks I, II, III, IV para la preparación de medios MS estándar.....	59
Tabla 16 Tipos de suelos, composición principal y fertilidad.....	65
Tabla 17 Descripción de los factores y niveles del experimento para el cultivo <i>in vitro</i>	

Tabla 18 Descripción de los factores y niveles del experimento para el cultivo en suelo.....	67
Tabla 19 Caracterización físico química del plátano maduro.....	68
Tabla 20 Caracterización físico química del efluente piscícola de tilapia roja	68
Tabla 21 Caracterización físico química del estiércol bovino.....	69
Tabla 22 Volúmenes necesarios de cada componente para la mezcla de alimentació.....	71
Tabla 23 Caracterización físico química de la mezcla reactiva.....	71
Tabla 24 Caracterización físico química del biol	73
Tabla 25 Anova del cultivo in vitro de Zea mays.....	78
Tabla 26 Promedios de crecimiento vegetal obtenidos en el ensayo in vitro.....	81
Tabla 27 Datos recolectados por observación directa. Se indica la presencia de tallo, raíz o ambas en los medios de cultivo vegetales.....	83
Tabla 28. Promedio del crecimiento vegetal de Zea mays en diferentes tipos de suelos	85
Tabla 29 ANOVA para el crecimiento de Zea mays en suelo.....	85

Lista de abreviaturas

DQO: Demanda química de oxígeno

AGV: Ácidos grasos volátiles

OD: Oxígeno disuelto

CE: Conductividad eléctrica

ST: Sólidos totales

STV: Sólidos totales volátiles

g/L: gramos/litros

°C: grados centígrados

mS/cm: miliSiemens/centímetro

mg/L: miligramos/litro

MS: Medio Murashige y Skoog

PVC: Policloruro de vinilo

L: litros

KgDQO / m³día: kilogramos de demanda química de oxígeno/metros cúbicos al día

nm: nanometros

mL: mililitros

g: gramos

Resumen

Una de las problemáticas a nivel mundial y específicamente en Ecuador, constituye la generación de residuos agroindustriales, a los que no se les da un tratamiento adecuado y producen contaminación. Frente a esta realidad, es imprescindible la aplicación de técnicas innovadoras de tratamiento, que de manera adicional constituyan un beneficio para el productor y el ambiente. Un proceso utilizado para alcanzar este propósito es la digestión anaerobia, que es bioproceso mediante el cual se descompone la materia orgánica para la producción sustentable de biogás y biol. En este trabajo se investigó el proceso de digestión anaerobia en un biodigestor a nivel de escala, determinando los parámetros de alimentación al inicio y al final del tratamiento (25 días) evaluando diferentes parámetros físico químicos (ST, STV, DQO, AGV, nitrógeno total, pH, CE y OD) para asegurar la obtención de un biol de calidad. Con la finalidad de buscar una aplicación diferente a la tradicional, al biol obtenido se usó como suplemento fitonutricional para cultivos *in vitro* de maíz (*Zea mays*) valorando el contenido de macronutrientes, micronutrientes y compuestos orgánicos, evaluando el desarrollo vegetativo de la planta en comparación con el crecimiento del vegetal al usar medio de cultivo MS estándar. Los resultados obtenidos indican que los cultivos *in vitro* al aplicar biol en dosis de 0.1 mL en un medio de cultivo MS estándar se potencia el crecimiento vegetal y al usar 1 mL como suplemento a un medio de cultivo MS sin macronutrientes y micronutrientes los sustituye de manera adecuada, sin embargo, las concentraciones empleadas no son suficientes para satisfacer la demanda de todos los compuestos orgánicos y sacarosa del medio necesarios para el desarrollo vegetal óptimo. Por otro lado, cuando se usa biol al 5% y 1% como agua de riego sobre tierra negra se obtienen índices de crecimiento óptimos en plantas de *Zea mays*, pero no es capaz de mejorar la fertilidad en tierras arcillosas.

Palabras clave: Biol, Cultivo vegetal *in vitro*, digestión anaerobia, *Zea mays*, nutrientes.

Abstract

One of the problems worldwide and specifically in Ecuador, is the generation of agro-industrial waste, which is not given adequate treatment and produces pollution. Faced with this reality, it is essential to apply innovative treatment techniques, which additionally constitute a benefit for the producer and the environment. A process used to achieve this purpose is anaerobic digestion, which is a bioprocess by which organic matter is decomposed for the sustainable production of biogas and biol. In this work, the anaerobic digestion process in a biodigester at scale level was investigated, determining the feeding parameters at the beginning and at the end of the treatment (25 days) evaluating different physical-chemical parameters (ST, STV, COD, AGV, total nitrogen, pH, EC and OD) to ensure obtaining a quality biol. In order to find an application different from the traditional one, the biol obtained was used as a phytonutritional supplement for *in vitro* cultures of corn (*Zea mays*) testing the content of macronutrients, micronutrients and organic compounds, evaluating the vegetative development of the plant in comparison with plant growth when using standard MS culture medium. The results obtained indicate that *in vitro* cultures, when applying biol in doses of 0.1 mL in a standard MS culture medium, plant growth is enhanced and when using 1 mL as a supplement to a MS culture medium without macronutrients and micronutrients, it replaces them in a way adequate, however, the concentrations used are not sufficient to satisfy the demand for all the organic compounds and sucrose in the medium necessary for optimal plant development. On the other hand, when 5% and 1% biol is used as irrigation water on black earth, optimal growth rates are obtained in *Zea mays* plants, but it is not capable of improving fertility in clayey soils.

Keywords: Biol, In vitro plant culture, anaerobic digestion, *Zea mays*, nutrients.

Capítulo I : Introducción

El biol es un abono orgánico líquido producido por la degradación anaeróbica de la materia orgánica (Méndez et al., 2017), que se usa principalmente sobre cultivos vegetales tradicionales por su alto contenido nutritivo rico en macro y micronutrientes como nitrógeno, potasio y fósforo o magnesio y calcio (Ochoa & Rivera, 2016), de manera adicional, es importante considerar que el biol contiene un alto potencial bioactivo por la presencia de ácidos grasos volátiles (AGV) producidos durante el proceso de fermentación, estos presentan múltiples efectos sobre la biodiversidad del sustrato y su potencial depende en gran medida de la concentración utilizada, esta característica presenta una ventaja y una desventaja al momento de su aplicación ya por un lado puede ser usado como bactericida, fungicida y nematocida y por el otro lado, en concentraciones altas también inhibe el crecimiento vegetativo de las plantas (Quipuzco et al., 2011); los atributos bioquímicos que el biol presenta como el contenido fito-hormonal (ácido indol acético, giberelina, purina, etc.) (Aparcana & Jansen, 2008) o el contenido de materia orgánica, medido como sólidos totales volátiles (STV) están en función de los sustratos digeridos y varían según la cantidad y origen de estos (Cook et al., 2017)

El plátano maduro *Musa x paradisiaca* presenta varias características fisiológicas (contenido en azúcar y humedad) y socioeconómicas (alto índice de producción) favorables para su utilización dentro de la matriz productiva del Ecuador (Paz & Pezantes, 2013) y sus residuos agroindustriales tienen alto potencial para ser usados como sustrato principal en la digestión anaerobia (Zuma et al., 2018).

En este trabajo se ha desarrollado una aproximación investigativa sobre los efectos que este abono líquido orgánico aplicado a diferentes concentraciones presenta sobre medios de cultivo Murashigue y Skoog (MS) usados para el cultivo *in vitro*, preparados a partir del modelo basal (Krikorian, 2006) , ya que ha sido reportado como un medio versátil y un buen soporte

fisiológico ya que está comprobada su efectividad sobre la micropropagación de varias variedades vegetales.

Antecedentes

El biol es la parte líquida que resulta de la co-digestión anaerobia de materia orgánica animal o vegetal; presenta diversas cualidades orgánicas y productivas, que pueden ser aprovechadas, en función de los sustratos digeridos (Cook, Skerlos, Raskin, & Love, 2017), es ampliamente utilizado como abono en cultivos vegetales tradicionales ya que entre sus características físico-químicas se cuentan la disponibilidad de diversos nutrientes fácilmente asimilables por las plantas (RAMIREZ OCHOA & CHIPANA RIVERA, 2016) entre los que destacan un alto contenido en nitrógeno, además de macronutrientes como Potasio (K) y fósforo (P) y micronutrientes como Magnesio (Mg) y Calcio (Ca) (CANO-HERNANDEZ, 2016).

Planteamiento del problema

Desde hace años existen varias problemáticas en Latinoamérica y el Caribe que entorpecen la disposición y manejo de los residuos sólidos afectando el desarrollo industrial, económico y medio ambiental de la región (Sáez & Urdaneta, 2014). En Ecuador la cantidad de desechos que se generan ronda las 59.000 toneladas y a pesar de que esta cifra se incrementa con los años solo se trata adecuadamente el 20% del total y se recicla el 14%, el resto termina en incineradores, vertederos o en el medio ambiente (Solíz, 2015).

Como una solución parcial al problema de desechos en Ecuador se ha propuesto modelos de tratamiento basados en digestión anaerobia en varios sectores del país como Manta (Muñoz et al., 2020). La importancia socioeconómica y medioambiental del biol se distingue claramente debido a la fuente de la que se obtiene la materia prima para llevar a cabo el proceso (Samaniego, 2022).

Por lo tanto ya que los procesos de generación de biofertilizantes utilizan diferentes tipos de microorganismos y, pertinentemente, la digestión anaerobia está enfocada en el tratamiento de desechos (Acosta & Obaya, 2005) es imprescindible realizar una evaluación de la calidad del mismo (Puente, 2012).

La calidad del biol depende de la eficiencia del proceso de digestión, según Orellana et al (2013) para asegurar la calidad y eficiencia del biol es necesario cumplir ciertos estándares físico químicos, relacionados principalmente con el pH, y microbiológicos relacionados con microorganismos provenientes de la materia prima (Puente, 2012).

Justificación

Los desechos orgánicos representan el 70% del total de desechos generados en el mundo, alrededor de 3,5 millones de toneladas, cuyo potencial como biomasa no es aprovechado adecuadamente en subprocesos que contribuyan al desarrollo del sector comercial (Konno, 2021). La digestión anaeróbica, enfocada en el tratamiento de material orgánico de desecho que mediante la producción de biogás y biol reduce los costos de operación y mantenimiento de una organización, es una alternativa rentable para el uso de estos desechos. (Robles & Jensen, 2008). La reutilización de la materia orgánica de desecho es una práctica emergente en la sociedad actual (Robles & Jensen, 2008); tomando en consideración que la materia prima empleada no presenta ninguna utilidad aparente y por el contrario se considera un desecho difícil de manejar (Weiland, 2010). Bajo esta premisa en este trabajo se usó como inóculo boñiga de vaca por su elevado potencial metanogénico (Camacho et al., 2017), como sustrato principal se utilizó plátano maduro (*Musa paradisiaca*) en un grado de maduración cercano a la descomposición por su alto contenido en humedad y carbohidratos (mono y disacáridos) (Paz & Pezantes, 2013), además se usó un efluente piscícola de tilapia roja como co-sustrato debido a la gran dilución que presenta para favorecer

la hidrólisis (Acosta & Obaya, 2005) y su contenido en bicarbonatos, cloruros, sulfatos, Ca, Mg y K (Campos et al., 2013).

El potencial del biol obtenido mediante co-digestión anaerobia se incrementa al usar dos sustratos para la mezcla lo que hace que se enriquezcan los subproductos con diferentes compuestos y la digestión sea más estable, además de los beneficios que implica el tratamiento conjunto de desechos de más de un origen antes mencionados (Cook et al., 2017). Así se espera obtener un biol rico en macronutrientes, micronutrientes, compuestos orgánicos y fitohormonas.

El biol por su potencial como abono ha sido usado para mejorar el desarrollo vegetal principalmente en cultivos tradicionales, como un fertilizante sobre el suelo (Ochoa & Rivera, 2016) sin embargo este producto versátil puede ser usado en otros campos aplicativos que deben ser investigados (Acosta, 2019).

El cultivo *in vitro* de especies vegetales como el maíz (*Zea mays*) permite evaluar el crecimiento vegetativo sobre un medio de cultivo vegetal MS y demuestra la importancia que tiene la elección de la composición nutricional, indispensable para la sustentabilidad de las especies vegetales (Gamborg, 1991), como una alternativa a estos componentes en este trabajo se aplicaron diferentes concentraciones de biol como suplemento fitológico y fitohormonal a variaciones en el medio de cultivo donde se excluyó los macronutrientes, micronutrientes y compuestos orgánicos según se detalla en el diseño experimental en el capítulo III.

Hipótesis

- Hipótesis nula (H_{01}): El proceso de digestión anaerobia es óptimo.
- Hipótesis alternativa (H_{a1}): el proceso de digestión anaerobia no es óptimo.

- Hipótesis nula (Ho₂): El biol producido es de calidad y en concentraciones adecuadas cumple los requerimientos mínimos de macronutrientes, micronutrientes y compuestos orgánicos necesarios para el desarrollo vegetal *in vitro* de *Zea mays*
- Hipótesis alternativa (Ha₂): El biol producido no es de calidad y no cumple los requerimientos mínimos de macronutrientes, micronutrientes y compuestos orgánicos necesarios para el desarrollo vegetal *in vitro* de *Zea mays*.
- Hipótesis nula (Ho₃): El biol mejora la calidad de la tierra negra, roja y arcillosa
- Hipótesis alternativa (Ha₃): El biol no mejora la calidad de la tierra negra, roja y arcillosa

Objetivos

Objetivo general

- Determinar los efectos de diferentes concentraciones de biol sobre el desarrollo vegetal de plantas de maíz (*Zea mays*) cultivadas *in vitro* en medios de cultivo MS con modificaciones.

Objetivos específicos

- Caracterización físico química (nitrógeno, AGV, pH, ST, STV, DQO, OD, y CE) de: inóculo, sustratos, mezcla de alimentación y biol obtenido.
- Determinación de la relación fitohormonal del biol.
- Determinación de los efectos del biol en diferentes tipos de tierra.

Capítulo II: Marco teórico

Plátano maduro (*Musa paradisiaca*)

En el Ecuador, desde el año 2008 se establecieron los fundamentos para llevar a cabo una nueva matriz productiva como modelo de desarrollo en Ecuador donde se fomenta

principalmente el uso de la materia prima producida en el país (Morales et al., 2015). Así, Paz & Pezantes (2013) proponen el uso del plátano verde dentro de la nueva matriz productiva debido a la gran producción de éste y el alto potencial para ser transformado y aprovechado en diferentes industrias, bajo el objetivo principal de “*Sumak Kawsay*” que hace alusión al bienestar de la población, especialmente dentro del sector más vulnerable económicamente; sin embargo no menciona el tratamiento de los residuos que se generan por la sobreproducción y/o utilización de los frutos debido a su amplio uso comercial e industrial, tampoco el uso del fruto maduro debido a su contenido bioquímico rico en azúcares (Thomas, 1997).

Se ha demostrado que los residuos agroindustriales de la cáscara de banano maduro tienen potencial para la generación de bioetanol (Romero Bonilla et al., 2019) de igual forma se conoce que se pueden aprovechar como sustrato en procesos de digestión y de co-digestión anaerobia para la generación de biogás (Zuma et al., 2018), biol y compost (Muñoz et al., 2020) principalmente por su alto contenido en agua y carbohidratos (Paz & Pezantes, 2013).

Digestión anaerobia

La aplicación de técnicas bioquímicas y microbiológicas ha dado lugar al desarrollo de nuevas tecnologías, entre las cuales destaca la digestión anaeróbica por su potencial para resolver los problemas como la búsqueda de nuevas fuentes de energía y el tratamiento de los desechos que se generan de origen agroindustrial y que constituyen un problema ambiental (Bermúdez et al., 1988). La digestión anaerobia es una fermentación dentro de un ambiente sin oxígeno donde se degrada toda la materia orgánica por la actividad biológica de microorganismos u., oxidantes fuertes excretados por los mismos que da lugar a una fase gaseosa o biogás, una fase semisólida o lodo activado (Acosta & Obaya, 2005) y una fase líquida o biol (Medina et al., 2015).

En un principio la digestión anaerobia se usó principalmente para el tratamiento de aguas residuales domésticas usando modelos primitivos, actualmente conocidos como pozos sépticos (Bermudez et al., 1988), con el transcurso del tiempo se han desarrollado modelos de co-digestión para el tratamiento conjunto de más de un sustrato en ambientes herméticos y controlados (Álvarez et al., 2014).

Actualmente el proceso de digestión anaerobia tiene varios desafíos por delante, dentro de una sociedad en constante crecimiento donde los residuos se generan en grandes cantidades, ésta técnica biotecnológica debe ser lo más segura posible, manteniendo un impacto medioambiental mínimo evitando la disposición de la basura dentro de vertederos, reduciendo también la energía que es necesaria para el tratamiento de la misma (Ahring, 2003).

La digestión anaerobia, es un proceso bioquímico que busca mantener un rendimiento ideal, si las condiciones en las que se desarrolla son propicias, los parámetros físicos químicos que están directamente relacionados con este proceso son la composición del residual, acidez, contenido de sólidos, la presencia de componentes tóxicos como surfactantes (Parra Huertas, 2015) amoníaco, sulfuro, iones metálicos ligeros, metales pesados y compuestos orgánicos (Chen et al.2008), además de los parámetros de operación como el tiempo de retención hidráulica, la disponibilidad de los nutrientes (Acosta & Obaya, 2005), la presión de hidrógeno y velocidad de carga orgánica, etc. (Parra Huertas, 2015).

Codigestión

El término co-digestión corresponde a que el sustrato de ingreso al reactor puede estar conformado por dos o más clases de materia orgánica lo cual añade valor comercial a los productos y subproductos obtenidos, debido a que entre la composición del sustrato habrá varios nutrientes que coadyuvarán para la producción óptima de biogás y biol, además su

rendimiento está delimitado por los mismos factores que la mono-digestión y principalmente son la producción masiva de productos que afectan principalmente el pH como: metano, hidrógeno, ácidos grasos volátiles, etc. Estas condiciones hacen que el modelo número uno propuesto por IWA (International Water Association) se acople satisfactoriamente a la co-digestión anaerobia de sustratos (Cook, Skerlos, Raskin, & Love, 2017) .

Proceso de digestión anaerobia

En el año 1997 durante el octavo congreso mundial sobre la digestión anaerobia en Japón se propuso un modelo general para describir las reacciones físico químicas y los procesos bioquímicos que se desarrollan durante ésta fermentación. Estas interacciones físico-químicas describen las asociaciones y disociaciones de los iones, la transferencia gas-líquido y los procesos bioquímicos describen los pasos de degradación por microorganismos que son (Bastone et al., 2002):

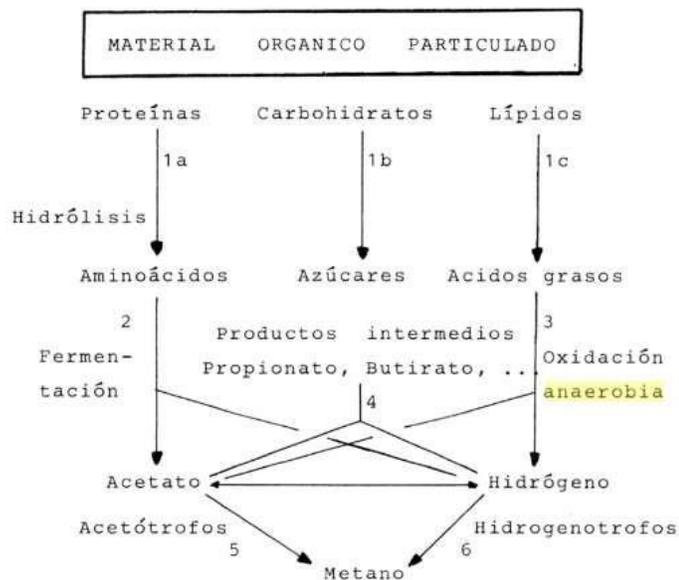
1. Desintegración de las partículas homogéneas en carbohidratos, proteínas y lípidos.
2. Hidrólisis extracelular de éstas partículas en azúcares, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga.
3. Acidogénesis de éstas partículas hidrolizadas para la generación de ácidos grasos volátiles e hidrógeno.
4. Acetogénesis de los ácidos grasos volátiles e hidrógeno en acetato.
5. Metanogénesis del acetato, hidrógeno y dióxido de carbono en metano

Sin embargo el modelo de IWA se mantiene en constante desarrollo, adaptándose a las nuevas tecnologías y sistemas de tratamiento (Lier et al., 2001); para Bermúdez et al (1988) el proceso de biodigestión anaerobia está conformado por seis pasos (gráfico 1), donde el quinto y sexto paso suceden de forma paralela (Acosta & Obaya, 2005). Estos pasos son:

1. Hidrólisis de biopolímeros
 - a. hidrólisis de proteínas
 - b. hidrólisis de carbohidratos
 - c. hidrólisis de lípidos
2. Fermentación de aminoácidos y azúcares
3. Oxidación anaerobia de alcoholes y ácidos grasos de cadena larga
4. Oxidación anaerobia de productos en ácidos grasos volátiles
5. Conversación de acetato a metano
6. Conversión de hidrógeno a metano

Figura 1

Esquema del proceso de digestión anaerobia (Bermudez et al., 1988).



Nota. Diagrama de flujo que indica las etapas de la digestión anaerobia así como los principales productos generados durante el proceso. Tomado de (Bermudez et al., 1988).

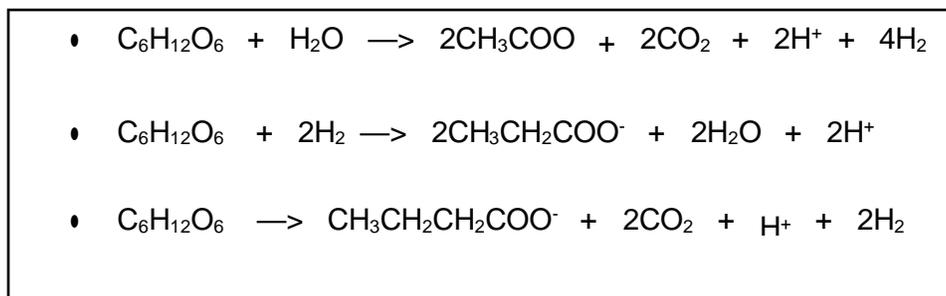
Posteriormente se simplificó el proceso de digestión anaerobia para que, de manera general, se entienda en cuatro pasos principales que son: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Parra Huertas, 2015).

La hidrólisis o licuefacción (Acosta & Obaya, 2005) es la primera etapa de la digestión anaerobia durante la cual se degradan los macro-compuestos de elevada masa molecular como lípidos, polisacáridos, proteínas, grasas y ácidos nucleicos (Parra Huertas, 2015) gracias a enzimas celulolíticas, proteolíticas y lipolíticas (Bermudez et al., 1988) que son secretadas por bacterias hidrolíticas al exterior celular donde, se degradarán los polímeros en monómeros convirtiendo a esta etapa en el limitante de la velocidad cinética ya que es más lenta que el crecimiento bacteriano (Acosta & Obaya, 2005).

La acidogénesis es el segundo paso de la digestión anaerobia donde los monómeros que han sido previamente hidrolizados son absorbidos por bacterias metanogénicas obligatorias y otras facultativas (Parra Huertas, 2015) para ser transformadas principalmente en ácido acético, propiónico y butírico (Bermudez et al., 1988). Para Parra Huertas (2015) las ecuaciones que rigen esta etapa son:

Figura 2

Reacciones bioquímicas durante la acidogénesis

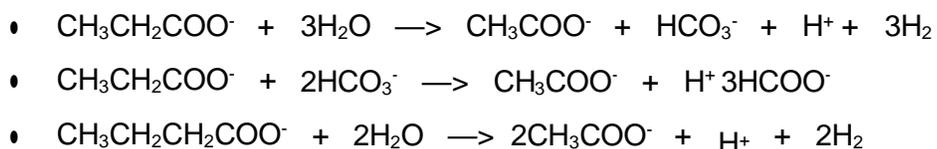


Nota. Estequiometría de las reacciones bioquímicas llevadas a cabo por bacterias acidogénicas. Tomado de (Parra Huertas, 2015).

En la tercera etapa, la acetogénesis o acidogénesis intermediaria (Acosta & Obaya, 2005), se consumen los productos transformados anteriormente y que no pueden ser transformados directamente a metano (Parra Huertas, 2015), es decir sucede la oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga, alcoholes y productos intermediarios como los ácidos grasos volátiles (Bermudez et al., 1988) para obtener ácido acético, hidrógeno y CO₂ (Acosta & Obaya, 2005). Según Parra Huertas (2015) las ecuaciones que rigen la acetogénesis son:

Figura 3

Reacciones bioquímicas durante la acetogénesis

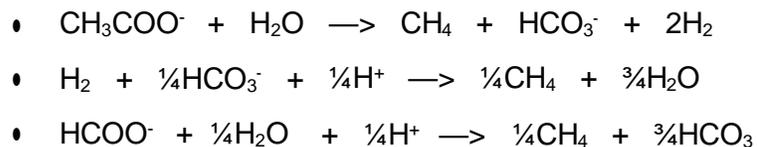


Nota. Estequiometría de las reacciones bioquímicas llevadas a cabo por bacterias acetogénicas tomado de (Parra Huertas, 2015).

Durante la etapa final, metanogénesis o fermentación de metano (Parra Huertas, 2015) sucede un proceso bioquímico en paralelo, simultáneamente se transforma el acetato y el hidrógeno a metano (Bermudez et al., 1988) este proceso lo realizan dos tipos de microorganismos: metanógenos acetotróficos utilizando acetato como sustrato y produciendo 70 % de metano en la digestión anaeróbica y metanógenos hidrogenotróficos utilizando CO₂ y H₂O como sustratos bajo condiciones anaeróbicas estrictas y las ecuaciones que rigen esta etapa son (Parra Huertas, 2015).

Figura 4

Reacciones bioquímicas durante la metanogénesis



Nota. Estequiometría de las reacciones bioquímicas llevadas a cabo por bacterias metanogénicas. Tomado de (Parra Huertas, 2015).

Biogás

Es una mezcla de gases inflamables (Cepero et al., 2012) que se genera en sistemas naturales y antropogénicos o mediante técnicas específicas de producción con fines industriales (Ortega et al., 2015) con un contenido energético de aproximadamente 6 Kwh/m³ (Cepero et al., 2012).

Este combustible considerado una fuente de energía renovable está principalmente compuesto por metano y dióxido de carbono pero tiene también elementos contaminantes como hidrógeno, siloxanos (Del Valle et al., 2011) y sulfuro de hidrógeno, que tiene un alto grado de toxicidad y capacidad corrosiva (Ortega et al., 2015).

Su composición es variable y depende de factores físico químicos, de las condiciones de operación del biodigestor (Acosta & Obaya, 2005) y de la naturaleza de los componentes de la mezcla usada para la digestión (Alexandra & Hugo, 2020). En la tabla 1, se muestran los rangos de concentraciones de biogás que se generan en rellenos sanitarios (Camargo & Vélez, 2020), y cuando se produce a partir de residuos agrícolas, lodos de depuradoras, residuos industriales y gases de vertedero (Acosta & Obaya, 2005).

Tabla 1

Rangos de composición de biogás de varias fuentes.

Componente	Rellenos sanitarios	Residuos agrícolas	Lodos de depuradoras	Residuos industriales	Gas vertedero
Metano	30-65 %	50-80%	50-80%	50-70%	45-65%
Dióxido de carbono	20-40 %	20-50%	20-50%	30-50%	34-55%
Nitrógeno	5-40 %	0-1%	0-3%	0-1%	0-20%
Hidrógeno	1-3 %	0-2%	0-5%	0-5%	0-1%
Oxígeno	0-5 %	0-1%	0-1%	0-1%	0-5%
Sulfuro de hidrógeno	0-0.01 %	100 - 70 ppm	0-1%	0-8%	0.5-100 ppm

Nota. Esta tabla indica las concentraciones de los compuestos que conforman el biogás que se ha obtenido de diferentes fuentes orgánicas e inorgánicas. Tomado de (Acosta & Obaya, 2005).

El biogás presenta un potencial en actividades industriales, principalmente relacionadas con la ganadería (Souza & Schaeffer, 2013), se puede utilizar además, como suplemento para uso doméstico como en la cocina, horno, refrigerador, motor, ducha a gas, incubadoras, campana de rayos infrarrojos, calentamiento de agua y generación de electricidad (Acosta & Obaya, 2005) reduciendo los costos de mantenimiento y producción. Este producto es quemado como antorcha por su toxicidad ambiental y se desperdicia su capacidad de saneamiento y su característica primordial como fuente de energía renovable (Acosta &

Pasqualino, 2014). Para mejorar la capacidad energética es necesario comprimirlo (Acosta & Pasqualino, 2014) y purificarlo (Ortega et al., 2015).

Biol

Es el efluente secundario, no gaseoso, formado generalmente por la mezcla del influente digerido y estable con la biomasa microbiana generada durante el proceso de digestión, tiene un contenido menor de materia orgánica, y más minerales que al inicio del proceso, así como también más nitrógeno amoniacal que orgánico y una relación carbono/nitrógeno ideal para ser usado como un bio fertilizante (Acosta & Obaya, 2005).

En la actualidad no existe un sistema de preparación de biol específico por lo que su contenido nutritivo varía considerablemente, más aún cuando es producido artesanalmente (Acosta, 2019). Se conoce que , cuando se sintetiza utilizando estiércol de vaca como inóculo presenta concentraciones altas de nitrógeno, fósforo y potasio y las concentraciones de calcio, magnesio y sodio, son similares a las concentraciones que existen en fertilizantes orgánicos (Quipuzco et al., 2011). También contiene fitoestimulantes, que en bajas concentraciones generan grandes cambios en el desarrollo vegetal (Pérez et al., 2018) y por su alto contenido en ácido grasos volátiles, resultado de la digestión anaerobia (Bermúdez et al., 1988) en concentraciones adecuadas promueve el crecimiento de cereales y plantas acuáticas, además de caracterizarse también por su acción contra los organismos fitopatógenos del suelo (Samaniego & Sandoval, 2013).

Para evaluar la calidad del biol se analizarán varios parámetros físico-químicas y microbiológicos (Malpica & Quispe, 2015) así como su potencial en actividades agronómicas (Acosta, 2019) para descartar la presencia de metales pesados y patógenos como *Salmonella* spp, coliformes totales, fecales, etc (Flores et al., 2018).

Por su contenido rico en macronutrientes, micronutrientes (Quipuzco et al., 2011) y fitoestimulantes (Pérez et al., 2018) este biofertilizante (Acosta & Obaya, 2005) es ampliamente utilizado en la agricultura tradicional (Acosta, 2019) y por su similitud a los fertilizantes orgánicos comerciales tiene usos potenciales en cultivos hidropónicos (Quipuzco et al., 2011).

En la tabla 2 se muestra la composición química de biol obtenido a partir de cuatro fuentes diferentes (Aparcana & Jansen, 2008):

Tabla 2

Composición química de biol de cuatro fuentes.

Componente	Estiércol vacuno	Estiércol vacuno y restos de comida casera	Hojas, tallos y frutos de banano	Estiércol vacuno (ITINTEC)
pH	7.96	8.1	-	6.7-7.9
Materia seca	4.18%	4.2%	-	1.4%
Nitrógeno total	2.63g/kg	2.4 g/Kg	0.2 g/kg	0.9 g/Kg
Nh4	1.27 g/Kg	1.08 g/Kg	-	-
Fósforo	0.43 g/Kg	1.01 g/Kg	0.076 g/kg	0.048 mg/Kg
Potasio	2.66 g/Kg.	2.94 g/Kg	4.2 g/kg	0.29 mg/Kg

Componente	Estiércol vacuno	Estiércol vacuno y restos de comida casera	Hojas, tallos y frutos de banano	Estiércol vacuno (ITINTEC)
Calcio	1.05 g/Kg	0.50 g/Kg	0.056 g/Kg	2.1 g/Kg
Magnesio	0.38 g/Kg	-	0.131 g/kg	0.135%
Sodio	0.404 g./Kg	-	2.1 g/kg	-
Azufre	-	-	6.4 mg/Kg	0.33 mg/l

Nota. Se detalla la caracterización físico química de bioles obtenidos a partir de 4 fuentes. Tomado de (Aparcana & Jansen, 2008).

En la tabla 3 se muestra la composición bioquímica del biol según Aparcana & Jansen (2008).

Tabla 3

Composición bioquímica del biol.

Componentes	Cantidad (ng/g)
Ácido indol acético	9.0
Giberelina	8.4

Componentes	Cantidad (ng/g)
Purinas	9,3
Tiamina (Vit B1)	259,0
Riboflavina (Vit B2)	56,4
Ácido fólico	6,7
Ácido pantoténico	142,0
Triptofano	26
Cianocobalamina	4,4
Piridoxina	8,6

Nota. Se detalla la cantidad en nanogramos/gramos de las principales fitohormonas involucradas en el desarrollo vegetal. Tomado de (Aparcana & Jansen, 2008).

Diseño de biodigestores anaerobios

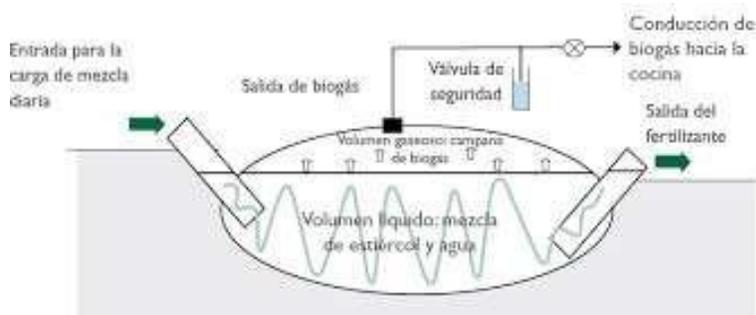
Existe una gran variedad de digestores anaeróbicos con enfocados en realizar el mismo tratamiento de diferentes formas según la necesidad de operación (Igoni et al., 2008) ya que la estabilización de la digestión dependerá de factores geográficos y medio ambientales (Laines et al., 2011) relacionados generalmente con la temperatura de digestión y la naturaleza de la mezcla de alimentación (Igoni et al., 2008) así como de factores socioeconómicos (Garfi et al., 2016). Según (Tovar et al., 2022) los biodigestores más comunes són:

Biodigestor taiwanés o tubular

Está dispuesto en forma de largos tubos creados a partir de membranas poliméricas de no menos de 0.8 mm y de materiales como el PVC y PDA. La fermentación sucede de forma horizontal ya que el influente empuja la materia hacia la salida y se usa comúnmente para sustratos de estiércol porcino y bovino por su alto contenido en sólidos.

Figura5.

Esquema del biodigestor taiwanés o tubular.



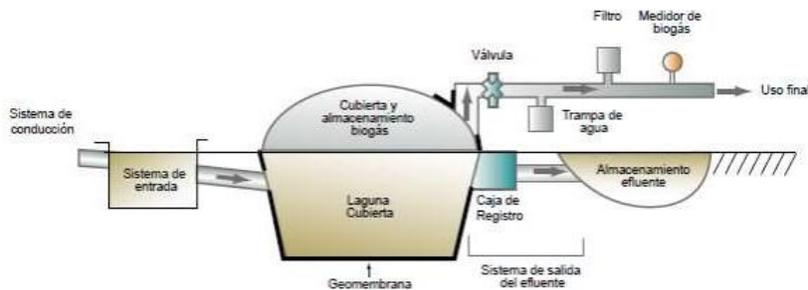
Nota. Detalles de la estructura de un biodigestor taiwanés donde es evidente la entrada de carga orgánica, el sistema de digestión y la salida del fertilizante y biogás. Tomado de (Tovar et al., 2022).

Biodigestor de laguna cubierta

Se trata de lagunas impermeables y herméticas creadas con diferentes membranas sin calefacción ni agitación por lo que depende de las características fisicoquímicas de la carga orgánica y ya que está destinada al tratamiento de cantidades masivas de materia es difícil aumentar su eficiencia; por sus características funciona idealmente en zonas tropicales.

Figura 6

Esquema del biodigestor de laguna cubierta



Nota. Se detalla las partes estructurales de un biodigestor de laguna cubierta tales como el sistema de entrada, la laguna en sí y la cubierta donde se almacena el biogás, así como la laguna de almacenamiento de efluentes. Tomado de (Tovar et al., 2022).

Biodigestor tipo chino o de domo fijo

Es una cámara de gas construida a partir de hormigón, piedras, cementos o ladrillos que habitualmente se entierra en el suelo y no está diseñado especialmente para la producción de biogás, sino para la generación de fertilizantes debido a los grandes tiempos de retención hidráulica que se necesita para digerir la muestra (Tovar et al., 2022).

Figura 7

Esquema biodigestor tipo chino o de domo fijo



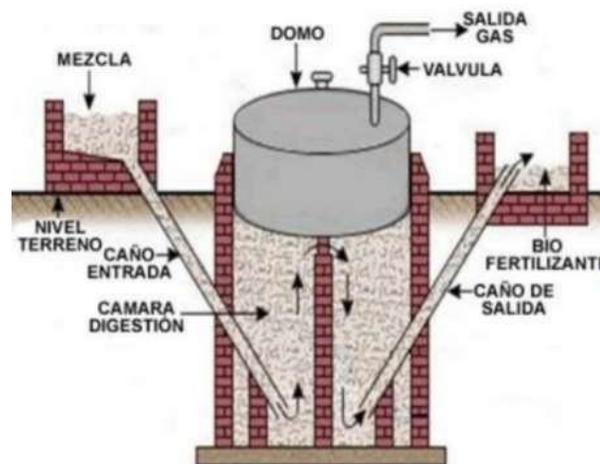
Nota. Estructura básica de un digestor de domo fijo con una caja de mezclas para alimentación, un recipiente para biol y gasómetro de campana donde se almacena el biogás. Tomado de (Tovar et al., 2022).

Biodigestor tipo hindú

Es un biodigestor dispuesto verticalmente con un dispositivo de colección para gas que yace sobre la mezcla de fermentación o sobre una chaqueta de agua donde se recolecta de acuerdo a la cantidad de gas que se genera, trabaja a presión constante y no necesita conocimientos técnicos para su operación. Generalmente están contruidos en acero lo que genera corrosión de este material, lo que es una gran desventaja de mantenimiento (Tovar et al., 2022).

Figura 8

Esquema del biodigestor tipo hindú



Nota. Detalles de la estructura de un biodigestor tipo hindú que indica las entradas a la cámara de digestión y las válvulas de colección de gas y biofertilizante (Tovar et al., 2022).

Parámetros de operación de digestores anaerobios

El control de los parámetros físico químicos es imprescindible para mejorar el rendimiento y estabilidad de los productos obtenidos con la digestión anaerobia (Acosta &

Obaya, 2005) por ejemplo la relación entre la concentración del sustrato y el inóculo influye directamente en la cinética del proceso (Córdoba et al., 2016)

pH

Dado el delicado equilibrio bioquímico que mantiene la digestión es necesario que el pH medido oscile entre 6,5 y 7,5 para mantener la vida microbiana interna y maximizar la producción de biogás. Las alteraciones de pH afectan directamente el crecimiento bacteriano. Además se debe tomar en cuenta que la fermentación produce una disminución de pH por la acumulación de ácidos grasos volátiles (Polo et al., 2018). para lo que se recomienda agregar hidróxido de calcio y neutralizar el pH. Sin embargo, al usar sustratos de origen animal y vegetal no se esperan problemas relacionados con la acidez (Rosas, 2009).

Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Generalmente se emplea este término, junto a los STV, como indicador de la toxicidad de aguas residuales, pero extrapolándolo al tema de digestión anaerobia la DQO adquiere nuevas funciones técnicas que no expresan necesariamente la cantidad de oxígeno necesaria para degradación de la materia orgánica sino la susceptibilidad del sustrato a oxidarse por enzimas bacteriolíticas. (Bermudez et al.1988) Tomando en cuenta que las bacterias no solo oxidaran el sustrato para la formación de los productos principales mencionados si no que usarán aproximadamente el 10% de DQO presente en la materia orgánica para generación de biomasa (FAO, 2011).

Sólidos Totales (ST)

Se ha definido como sólidos a los elementos o compuestos que forman parte de una muestra líquida pero que no son líquidos y son el residuo que se obtiene al evaporar la muestra bruta hasta peso constante (Sainz Sastre, 2005) Dentro de las evaluaciones necesarias la determinación de este parámetro es importante por la relación proporcional que mantiene con

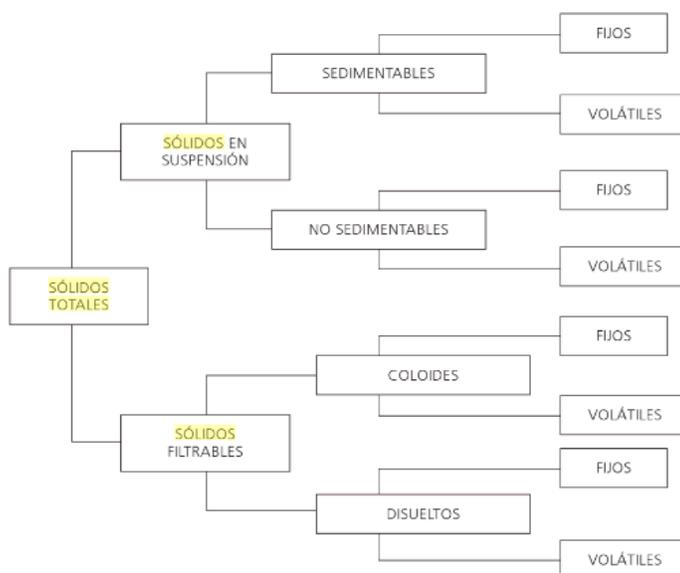
la materia orgánica que es capaz de degradarse y convertirse en gas. Los parámetros proporcionales a la cantidad de materia orgánica digerible también son la DQO y la cantidad de sólidos volátiles. (Claudian SÁNCHEZ-REYES, 2016).

Sólidos Totales Volátiles (STV)

Corresponden a los compuestos de naturaleza orgánica en una muestra líquida (Sainz Sastre, 2005) y son muy variados como muestra la figura 9.

Figura 9

Clasificación de sólidos totales dependiendo su naturaleza



Nota. Organigrama que indica la subdivisión en categorías de los Sólidos totales (Sainz Sastre, 2005).

Ácidos Grasos Volátiles (AGV)

Son el resultado del metabolismo acetogénico de las moléculas previamente hidrolizadas y acidificadas por bacterias en el biorreactor. La determinación de su concentración es imprescindible por la relación directa que mantiene con la producción de metano; es decir, si

cada paso de la digestión se realizase por separado mientras más ácidos grasos volátiles lleguen al dominio de las bacterias metanogénicas más metano se logrará producir (FAO, 2011). Además es importante para determinar la dilución que debe realizarse ya que en función de la concentración de AGV se encontrarán también otros compuestos de alto interés fitológico como nutrientes y compuestos orgánicos (Acosta & Obaya, 2005).

Nitrógeno total

Para establecer la concentración de nitrógeno usaremos el método Kjeldah (Polo & Torrecillas, 2003). Funciona en tres fases definidas: la primera se encarga de digerir los compuestos del sustrato con ácido sulfúrico concentrado, reduciéndolos a amoníaco, que se recoge por destilación en colector ácido. Para determinar la concentración de nitrógeno total desplazamos el equilibrio químico del destilado usando una base conocida, añadimos un indicador y valoramos los resultados por titulación. (Harris, 2003). El nitrógeno puede presentarse en varias formas a lo largo del tratamiento anaeróbico lo que sugiere que no se encontrará únicamente en el biol como amonio o nitratos; también se usará como materia prima para el crecimiento de la biomasa liberando una pequeña porción de nitrógeno como gas resultado de la cadena de transporte de electrones bacteriana. (FAO, 2011)

Oxígeno disuelto (OD)

Para Cano et al (2016) medir el oxígeno disuelto en los bioles es imprescindible para distinguir la naturaleza del biol. Además la presencia de oxígeno en la rizosfera es de vital importancia para el crecimiento adecuado de las plantas minimizando el efecto negativo de los microorganismos, así como de las condiciones medioambientales, sin embargo es necesario un estudio personalizado ya que los requerimientos de nutrientes y compuestos varios son diferentes entre especies vegetales (Moreno et al., 2020).

Conductividad

Para evaluar el potencial que el biol presenta sobre los sustratos también es necesario medir su conductividad eléctrica (Cano et al., 2016) ya que esta medida representa la movilidad de los iones dentro del sustrato y está relacionada principalmente con la presencia de sales minerales que complementan el mismo (Klein & Santamaria, 2003).

Sustratos

La naturaleza de la materia orgánica y el estiércol que se utiliza para alimentar el biodigestor juega un rol importante en la obtención de los productos por lo cual es necesario determinar su composición físico-química y su origen (Tovar et al., 2022).

Materia orgánica animal

Cuando se trata de sustratos de origen animal, sean estos humanos o animales, tienen composiciones diferentes por lo que afectan la fase hidrolítica de la digestión y su composición es variable ya que depende de la dieta que éstos hayan mantenido (Tovar et al., 2022). El origen de material animal soluciona un problema grande la industria pecuaria relacionado con los requerimientos de energía necesarios para la crianza de los animales por lo que son un sustrato potencial para la generación de energía y otros subproductos generados a partir de residuos agroindustriales (Parra et al., 2019).

Cuando se trata de excremento de animales de corral, principalmente vacas, aporta a la mezcla de digestión los microorganismos necesarios para cumplir con el proceso por lo que la naturaleza del microbioma depende totalmente de la alimentación de los animales (Acosta, 2019).

Materia orgánica vegetal

La materia de origen vegetal juega un papel crucial ya que confieren a la mezcla de digestión los nutrientes necesarios para que las bacterias puedan subsistir y generar los productos de digestión correspondientes (Parra et al., 2019). Por ejemplo los residuos de

plátano agroindustriales, así como domésticos son ideales como sustrato para la digestión anaerobia por su contenido rico en azúcares hidrolizables (Paz & Pezantes, 2013).

Cultivo vegetal *in vitro*

Esta técnica está destinada principalmente a la producción de metabolitos vegetales, el cultivo de células vegetales indiferenciadas, la micropropagación y la conservación de especies (Alonso, 2016) contribuye además para conservar características fisiológicas y morfológicas deseadas en un espacio de cultivo reducido (Cañal et al., 2016). Existen varios medios para el cultivo vegetal *in vitro* como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4.

Medios usados en cultivo vegetal in vitro

Medios de cultivo	1) MS	2) SH	3) B5	4) White
CONCENTRACIÓN				
Macronutrientes	mM	mM	mM	mM
NH ₄ NO ₃	20.6	25.0	-	-
KNO ₃	18.8	1.4	25.00	0.8
CaCl ₂	3.0	1.6	1.0	-
Ca(NO ₃) ₂	-	-	-	1.3
MgSO ₄	1.5	-	1.0	3.0
Na ₂ SO ₄	-	-	-	1.4
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	1	-

Medios de cultivo	1) MS	2) SH	3) B5	4) White
KH ₂ PO ₄	1.25	1.25	-	-
NaH ₂ PO ₄	-	-	1.1	0.1
NH ₄ H ₂ PO ₄	-	2.6	-	-
Micronutrientes	uM	uM	uM	uM
KI	5.0	6.0	4.5	4.5
KCl	-	-	-	871.9
H ₃ BO ₃	100.0	80.0	48.5	24.3
MnSO ₄	100.0	60	59.2	22.4
ZnSO ₄	30.0	3.5	7.0	10.4
NaMoO ₄	1.0	0.4	1.0	-
CuSO ₄	0.1	0.8	0.1	-
CoCl ₂	0.1	-	0.1	-
Na ₂ EDTA	100.0	55.0	-	-
Cptos. férricos	uM	uM	uM	uM
FeSO ₄	100.0	55.0	-	-
Fe ₂ (SO ₄) ₃	-	-	-	6.3
Cptos. orgánicos	uM	uM	uM	uM
Myo-Inositol	550.0	550.0	555.1	-

Medios de cultivo	1) MS	2) SH	3) B5	4) White
Ácido nicotínico	4.6	40.6	8.1	0.4
Piridoxina HCL	2.4	2.4	4.9	-
Tiamina HCl	0.3	14.8	29.6	-
Glicina	26.6	-	-	40.0

Nota. 1. Murashigue y skoog, 2. Shenk y Hildebrandt, 3. Gamborg Miller y Ojima 1969 y 4 White 1963. Tomado de (Huang & Murashigue, 1977).

Medio MS

Es necesario que la composición nutritiva que tienen los medios de cultivo empleados para cultivar tejidos vegetales sea una representación muy aproximada de los medios naturales en los que las plantas crecen normalmente, por eso es necesario añadir diversas fuentes de nutrientes que sustentan las necesidades básicas del desarrollo vegetal, entre los cuales se encuentran las sales nutritivas que para el medio MS incluyen macronutrientes y micronutrientes como NH_4NO_3 y KNO_3 o KI y H_3BO_3 , (ii) compuestos férricos como el $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, (iii) compuestos orgánicos: como el Inositol y la piridoxina HCl, (iv) una fuente de carbono como la sacarosa y opcionalmente una fuente de hormonas como citoquininas y auxinas (Huang & Murashigue, 1977).

Cultivo en suelo

El biol se usa tradicionalmente como abono líquido sobre suelos debido a la presencia de macronutrientes, micronutrientes y otros compuestos de interés fitológico por su capacidad para potenciar el crecimiento vegetal. Ochoa & Rivera, 2016),

Suelos negros

Suelos caracterizados por ser especialmente fértiles ya que su composición es rica en compuestos orgánicos y nutrientes como el calcio, magnesio, potasio y sodio (Tabla 5), además de caracterizarse por una retención de agua ideal lo que permite el crecimiento óptimo de las plantas (Rubio et al., 2019).

Tabla 5

Composición química de suelos negros.

Nombre	Fórmula química	mol / Kg³
Calcio	Ca	11
Magnesio	Mg	2.12
Potasio	K	0.64
Sodio	Na	0.33

Nota. Concentración en moles/kilogramo al cubo de suelo. Recuperada de (Rubio et al., 2019).

Suelos rojizos

Su color se debe a la presencia de óxidos generalmente conocidos como sesquióxidos de hierro como el (Fe_3O_3) lo que hace que tenga una gran filtración del agua, la composición físico química de suelos rojizos es muy variada lo que dificulta su estandarización, sin embargo la abundancia de óxidos sigue una escala decreciente así: $\text{SiO}_2 > \text{CaO} > \text{Al}_2\text{O}_3 > \text{Fe}_2\text{O}_3$ (Domínguez et al., 2012)

Suelos arcillosos

La tierra arcillosa está conformada principalmente por partículas de silicato de aluminio hidratado que se genera por la descomposición de minerales de aluminio, si está limpia es

blanca pero su color difiere dependiendo de las propiedades de sus contaminantes; en la siguiente tabla se muestra sus características físico químicas lo que dificulta la permeabilidad y estabilidad del suelo (Sandoval et al., 2012).

Tabla 6

Características físico químicas del suelo arcilloso

Nombre	Fórmula química	% Peso
Dióxido de Sílice	SiO ₂	18.2
Kaolinita-1A	AL ₂ (Si ₂ O ₅)	3.0
Maghemita-C,syn	Fe ₂ O ₃	59.6
Augita	(CaMg _{0.74} Fe _{0.25})	19.2

Nota. Porcentaje en peso de los principales compuestos químicos que conforman el suelo arcilloso. Recuperada de (Sandoval et al., 2012).

El maíz *Zea mays*

Historia

Debido a la destrucción de gran parte de los reportes, principalmente narrativos y descriptivos, durante la inquisición española en el siglo XIV con el objetivo de erradicar la idolatría pagana (Staller, 2009) no existe un registro fehaciente sobre el origen histórico y geográfico del maíz (Weatherwax, 1950), sin embargo, según García-Lara & Serna-Saldivar (2019) el grano de maíz apareció por primera vez en en las sociedades mesoamericanas primitivas hace 10.000 años aproximadamente como el precursor definitivo de la agricultura ya que ésta planta fue domesticada mediante técnicas de cultivo ancestrales dando paso a las primeras razas de maíz pre-Colombino.

Es por estos vacíos históricos que hubo épocas donde incluso se le atribuyó un origen europeo o en algunos casos africano, no sin desconocer que el maíz ha cumplido también un papel importante en el desarrollo de estas culturas (Cann, 2001) este grano fue originario de varias regiones de América (Staller, 2009, #).

Domesticación

Esta transformación fisiológica del Teocintle (*Zea mays ssp. parviglumis*) hacia el maíz domesticado sucedió gracias a la gran capacidad de mutación genética y amplio rango de adaptabilidad medioambiental que estas plantas poseen (Staller, 2009). Sin embargo, para resolver el problema central de la especiación y romper los límites de las barreras reproductivas entre poblaciones simpátricas de especies que se polinizan por corrientes de viento se desarrollaron varias teorías (Yongxian Lu et al., 2019).

Según Iltis (2000), en su época se hablaba principalmente de dos hipótesis que explican el controversial origen del maíz, por un lado se tenía la hipótesis ortodoxa del Teocintle y por el otro la teoría de la transmutación sexual catastrófica. En la primera se sugiere que cinco mutaciones clave cambiaron las hojas dísticas del teocintle en hojas polísticas con varias filas de granos y la segunda sugiere que las ramas del teocintle macho cambiaron por la influencia hormonal de las plantas hembra generando un especie de maíz con una proto-mazorca que daría paso al maíz actual.

Sin embargo estudios recientes han demostrado que a pesar de que el teocintle y el maíz florecen en sincronía raramente producen híbridos, y cuando esto ha ocurrido se han generado debido a la expresión de un haplotipo simple llamado *Teosinte crossing barrier1-s* que rige la expresión de un pistilo, codificando una enzima, la pectinmetilesterasa homóloga. Esta expresión de un pistilo modifica la pared celular del tubo de polinización, lo cuál representa una llave frente al rechazo del polen entre plantas del género *Zea* y posiblemente representa un mecanismo general en el aislamiento reproductivo de los pastos (Lu et al., 2019).

Actualidad

A través de la historia el maíz ha desempeñado un papel crucial en la economía de las culturas prehispánicas por lo que es imprescindible estudiarlo para comprender su influencia sobre el desarrollo del nuevo mundo (Staller, 2010) el papel dentro de estas culturas no fue netamente económico sino además cultural, formando parte de la cosmovisión de varias culturas, atribuyéndole un origen divino (Staller, 2009).

En la actualidad el maíz es uno de los cultivos vegetales más importantes, junto al sorgo, trigo, cebada representan ganancias anuales de billones de dólares y por siglos se ha considerado un organismo clave para la investigación biológica y genética (Strable & Scanlon, 2009). El maíz pertenece a la familia de las Poaceas (gramíneas), con un cromosoma diploide de número $2n=2x=20$ (Genovesi, 1990, #).

Su importancia biológica está determinada por su historia como planta domesticada por el humano, además de investigaciones posteriores sobre desarrollo fisiológico vegetal, epigenética, resistencia a los pesticidas, heterosis y herencia cuantitativa. Por otro lado, su importancia genética es debido a: una amplia variedad de mutaciones, una gran cantidad de cromosomas heterocromáticos, diversidad nucleotídica extensiva y colinealidad genética con los pastos (Strable & Scanlon, 2009).

Taxonomía

La clasificación taxonómica del maíz *Zea mays* se mantiene en constante desarrollo debido a la gran variedad de razas que presenta, siendo centro y suramérica las zonas geográficas donde más se ha diversificado este cereal (Sánchez et al., 1993).

En un principio el maíz fue catalogado según Sturtevant (1989) dentro de cinco grupos principales que estaban basados únicamente en la composición del grano (*Zea everta*, *Zea*

indurata, *Zea indentata*, *Zea amyloacea*, *Zea saccharata*), sin embargo esta forma de clasificación estaba falta de rigurosidad científica (Anderson & Cutler, 1942)

Posteriormente, según Iltis & Doebley (1980), basándose en las diferencias que presenta el maíz y el teocintle (imagen 1) postuló que el género *Zea* contiene seis taxones diferentes clasificados en cuatro especies también diferentes: *Z. mays* L., *Z. mays* ssp (the cultivated maize) *Z. mays* ssp. *mexicana*, and *Z. mays* ssp. *parviglumis*.

En la actualidad para realizar una clasificación taxonómica adecuada es necesario evaluar más características que permitan diferencias entre las diferentes razas de maíz en el mundo, que tienen que ver principalmente con la fisiología de las hojas, tallo y frutos (Sánchez et al., 1993) sin embargo éstas diferencias se puede analizar desde una perspectiva más amplia, donde se usaría el término raza para definir un grupo de individuos con suficientes características en común para reconocerlos como iguales (Anderson & Cutler, 1942). Es así que el maíz se ha catalogado taxonómicamente como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 7

Clasificación taxonómica de Zea mays L.

División Taxonómica	Clasificación
Nombre común	Maíz
Nombre científico	<i>Zea mays</i> L.
Reino	Vegetal
Subreino	Embryobionta
División	Angiospermae
Clase	Monocotyledoneae

División Taxonómica	Clasificación
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Género	Zea
Especie	Mays

Nota. Detalles de la clasificación taxonómica de *Zea mays* desde el Reino hasta la especie. Tomado de (Anderson & Cutler, 1942).

Capítulo III: Materiales y métodos

Ubicación geográfica

El desarrollo del experimento se realiza en la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE-SD ubicada en la parroquia Luz de América, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador. Esta zona se caracteriza por ser un bosque húmedo tropical, con una temperatura promedio de 25 °C, 80% de humedad relativa, altura de 325 msnm y pluviosidad de 2800 mm/año (Toala et al., 2018).

Biodigestor a escala piloto

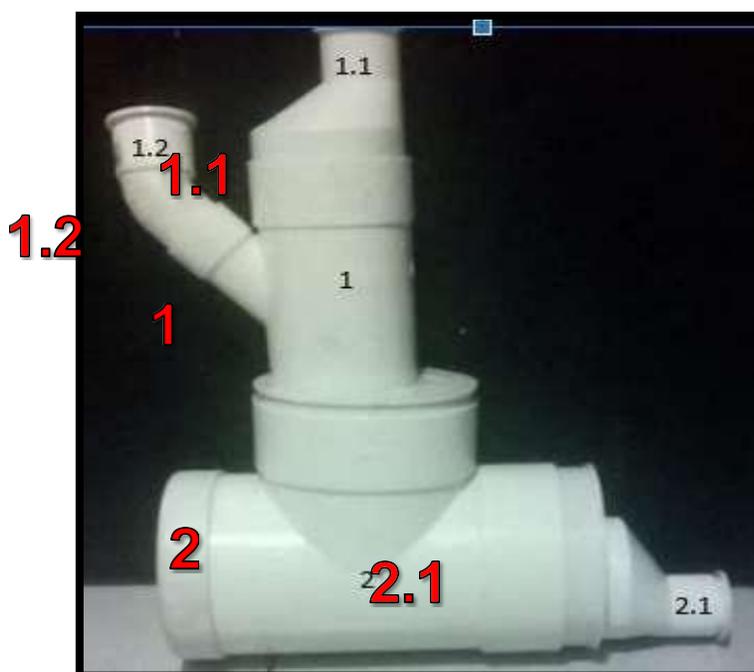
Para la producción del biogás y biol se construyó un biodigestor hermético a escala piloto que cumple con los requisitos mínimos para llevar a cabo un proceso de digestión anaerobia. Con la finalidad de caracterizar el sustrato tomó datos de varios parámetros previos al iniciar el proceso de la digestión que fueron de igual forma evaluados al finalizar el proceso de digestión anaerobia, entre los principales están los sólidos totales ST, sólidos totales volátiles STV, demanda química de oxígeno DQO, ácidos grasos volátiles AGV y pH.

El biodigestor hermético se fabricó de un tubo policloruro de vinilo (PVC) como se indica en la figura 10 con una capacidad de 12 litros. El equipo está dividido en dos partes principales:

la parte superior está conformada por un cilindro de cuatro litros por donde se alimenta el biorreactor (1) y una extensión para accesorios (1.1) y la parte inferior es un cilindro de 8 litros (2) donde se produce la digestión y se ubica la salida para la colección de subproductos (2.2).

Figura 10

Primer prototipo de biodigestor anaerobio



Nota. 1. Cilindro superior, 1.1 Conducto de alimentación, 1.2 Extensión para accesorios, 2. Cilindro inferior, 2.1. Conducto para colección de biol.

Como se muestra en la figura 11 en la segunda fase de construcción la tapa del biodigestor es removible y cuenta con una manguera para desfogues de emergencia (1), en la sección de accesorios cuenta con una manguera para extracción de biogás (2) seguida de un recipiente para purificación (3) y un cilindro de recolección con una adaptación para manómetro (4), en la parte inferior una válvula unidireccional (5) para colección de biol y otros subproductos.

Figura 11.

Fase II de construcción de biodigestor anaerobio.



Nota. 1. Ducto de alimentación, 2. Tanque de digestión, 3. Válvula de recolección de biol, 4. Ducto de colección para gas, 5. sistema de filtración para biogás, 6. Tanque de colección de biogás.

Materia prima

Se caracterizó individualmente los componentes de la mezcla de alimentación (sustrato inicial) midiendo los ST, STV y DQO para obtener una mezcla de alimentación estable y prepararla siguiendo una proporción de 2:2:1 como se indica:

- a) Dos partes de plátano maduro *Musa paradisiaca*.- recolectada de puestos de venta ubicados en el km 24 vía a Quevedo (figura 12).

Figura 12

Puestos de venta de plátano vía a Quevedo.



Nota. Puesto de comercio de plátanos y demás ubicados en Luz de América.

- b) Dos partes de efluentes piscícolas.- recolectado de las piscinas de desfogue de cría de tilapia roja de la ESPE-SD alimentados con balanceado de engorde (figura 13).

Figura 13

Efluente piscícola de tilapias rojas



Nota. Lugar de recolección de la muestra de efluentes piscícolas

- c) Una parte de estiércol de vacas.- recolectada de la ganadería de la ESPE-SD, ganado alimentado con pastos naturales (Figura 14).

Previo a la alimentación del digester también se caracterizó la mezcla de alimentación midiendo los ST, STV, AGV, DQO, OD, nitrógeno total, pH y conductividad eléctrica para estudiar el proceso de co-digestión anaerobia.

Figura 14

Lugar de recolección de excremento de vaca



Nota. Lugar de recolección de muestras frescas de estiércol bovino.

Operación del biodigestor

Con la finalidad de producir biol es necesario realizar un análisis previo de la materia prima para lo que se procedió a medir la DQO y definir la carga orgánica en $0.001 \text{ KgDQO} / \text{m}^3\text{día}$, considerando que el tiempo de retención hidráulico es de 25 días, trabajando en rango mesofílico a 22°C de temperatura ambiente.

Para determinar el volumen específico de cada sustrato, así como del inóculo y la fracción de agua necesarios para la alimentación del biodigestor (Chiriboga, 2010), se aplicó las ecuaciones de la tabla 8

Tabla 8

Ecuaciones para calcular el volumen de alimentación del biodigestor .

ECUACIONES		
$V_{total} = V_{reactor} / t$		
$m_{DQO} = CO * V_{reactor}$		
$V_{MO} = m_{DQO} / C_{DQO MO}$		
$V_{agua} = V_{total} - V_{MO}$		
donde:		
V_{total}	Caudal de alimentación	[m ³ / día]
$V_{reactor}$	Volumen del reactor	[m ³]
t	Tiempo de retención hidráulico	[días]
m_{DQO}	Flujo másico de DQO	[Kg DQO /día]
CO	Carga orgánica definida	[Kg DQO / m ³ día]
V_{MO}	Caudal de alimentación de la materia orgánica	[m ³ / día]
$C_{DQO MO}$	DQO de la materia orgánica	[Kg DQO / m ³]
V_{agua}	Caudal adicional de agua	[m ³ / día]

Nota. Se detalla las ecuaciones necesarias para determinar el volumen de las partes que conformaran la mezcla de alimentación basados en la DQO.

Caracterización de la materia prima, mezcla reactiva y productos

Las muestras se recolectaron una vez a la semana desde el 25 de octubre durante cuatro semanas y se realizaron los respectivos análisis físico químicos para la operación del biodigestor.

Se midió el pH, conductividad, DQO, ST, STV, AGV, OD, nitrógeno total tanto al inicio como al final de la digestión y se evaluó la presencia de bioestimuladores y contaminantes microbiológicos utilizando un cultivo *in vitro*.

pH y conductividad

Se midió por triplicado usando un analizador multiparámetro de la marca REX, modelo M310F-A a una temperatura de 25.3°C (Figura 15).

Figura 15

Analizador multiparámetro marca REX



Nota. Modelo M310F-A con accesorios.

Oxígeno disuelto (OD)

Se midió utilizando un oxímetro de la marca REX modelo DO 210 E como se muestra en la Figura 16.

Figura 16

Oxímetro marca REX



Nota. Modelo D 210 E con accesorios

Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Se determinó la DQO por duplicado mediante digestión ácida y colorimetría (Córdoba & Siñeriz, 2010). Antes de iniciar con la determinación se diluyeron las muestras como indica la Figura 17 debido al alto contenido de materia orgánica esperado (Puente, 2012), como se indica en la siguiente tabla

Tabla 9

Diluciones realizadas para determinar la DQO.

Sustrato	Dilución
Estiércol de bovino	0,5 g / 1000 mL
Plátano maduro	1 g / 1000 mL
Efluentes piscícolas	2 g / 100 mL

Nota. Las diluciones se miden en gramos/mililitro y se realizaron debido al contenido de materia orgánica esperado.

Figura 17

Preparación de las muestras para determinación de DQO.



Nota. De izquierda a derecha se muestran las diluciones del plátano maduro, el estiércol de bovino y el efluente piscícola.

Para determinar el DQO se usó un digestor marca Rex modelo COD 100R (gráfico#), siguiendo la metodología: se tomó una alícuota de 2,5 mL de cada muestra, se añade 0,7 mL de $K_2Cr_2O_7$ y 4,8 mL de H_2SO_4 (gráfico #) y se llevó a digestar a $165^\circ C$ por 15 minutos.

Figura 18

Digestor para DQO marca REX



Nota. Modelo COD 100R con muestras.

Una vez que la muestra está fría se mezcla cuidadosamente con 2,5 mL de agua destilada en un vaso de precipitación diferente para cada muestra obteniendo una serie de líquidos coloreados en función de la reducción del cromo, donde la materia orgánica ha sido completamente oxidada y cuyo DQO se puede medir por colorimetría a una absorbancia de 620 nm en un espectrofotómetro Shimadzu, modelo UV-1280 (figura 19) usando una curva de calibración para DQO previamente estandarizada.

Figura 19

Muestras y Espectrofómeto empleados en la determinación de la DQO



Nota. Izquierda: muestras coloreadas para determinación de DQO; derecha: Espectrofotómetro Modelo Shimadzu UV-1280.

Sólidos Totales

Se determinó los sólidos totales por gravimetría (Yaneth, 2016) para lo cual se sometió a los crisoles a 105°C en la estufa, antes de realizar los ensayos hasta que mantengan un peso constante. A continuación se pesó el crisol previamente seco y se dispensó 25 mg de cada muestra por duplicado, se calentó en la estufa a 105°C por una hora, se retiró y se enfrió dentro de un desecador a temperatura ambiente y se procedió a pesar. El valor de los sólidos totales se obtiene mediante la fórmula indicada en la siguiente tabla.

Tabla 10

Ecuación para determinación de ST.

ECUACIÓN	
$ST \text{ mg / L} = (W2 - W1 / 25 \text{ mg}) * 10^6$	
donde:	
W1	Peso del crisol vacío puesto a peso constante

ECUACIÓN

W2	Peso del crisol con la muestra luego de que se ha puesto en la estufa y se ha enfriado
----	--

Nota. Los pesos se tabulan cuando se enfrían y dejan de variar. Tomado de (Yaneth, 2016).

Sólidos Totales Volátiles

Se determinó por gravimetría una vez que la muestra ha sido secada a 105°C en una estufa por una hora y se ha enfriado (Yaneth, 2016), a continuación se lleva las muestras a una mufla donde se incinera la materia orgánica de la muestra a 550°C por 20 minutos, luego se pesa el crisol. La siguiente ecuación muestra la forma en la que se determina los STV.

Tabla 11

Ecuaciones para la determinación de STV.

ECUACIONES

$$\text{STV mg / L} = (W2 - W3 / 25 \text{ mg}) * 10^6$$

donde:

W2	Peso del crisol con la muestra luego de que se ha puesto en la estufa y se ha enfriado
W3	Peso del crisol luego de que se ha calcinado en la mufla y se ha enfriado.

Nota. Los pesos se tabulan cuando se enfrían y dejan de variar. Tomado de (Yaneth, 2016).

Ácidos Grasos Volátiles

Se determinó según el método estandarizado por destilación directa (López, 2002) para la cual se centrifugó en una centrifuga marca HETICH modelo EBA200 con 200 mL de muestra a una velocidad de 3500 rpm por tres minutos, a continuación en un matraz de destilación se

combinó los líquidos sobrenadantes para obtener 100 mL de muestra y se mezcló con 100 mL de agua destilada, 5 mL de H₂SO₄ y perlas de ebullición. Una vez que ha empezado a destilarse se descartan los primeros 15 mL y posteriormente se recolectan 150 mL (Figura 20) Finalmente se tituló la fracción destilada con NaOH [0.1 N] con fenolftaleína como indicador. En la siguiente tabla se muestra la ecuación para el cálculo de los AGV.

Tabla 12

Ecuación para determinación de AGV (López, 2002).

ECUACIONES		
$AGV_{Ac. Acético} = V * N * 60\ 000 / M$		
donde:		
$AGV_{Ac. Acético}$	Concentración de ácidos grasos volátiles	[mg / L]
N	Normalidad NaOH	[eq / L]
f	Factor de recobro	[adimensional]
V	Volumen de titulante (NaOH)	[mL]
M	Volumen de muestra	[mL]

Nota. mg/L : miligramo/litro; eq/L: equivalentes químicos/litro; mL: mililitros

Figura 20

Equipo de destilación por arrastre de vapor para determinación de AGV



Nota. Izquierda: enfriador industrial de agua; derecha: equipo de destilación por arrastre de vapor

Nitrógeno total

Se determinó por el método Kjeldahl para cuantificación de nitrógeno total (Espinoza et al., 2013). Se dispensaron 0,3 g de muestra y una tableta catalizadora dentro de los tubos para digestión, para luego colocarlos en el block-digest con la unidad colectora de humos. La digestión se realizó a 420 °C por 30 minutos. Una vez que la muestra se ha enfriado a 200°C se añadió 10 mL de agua destilada a cada tubo para proceder a destilarlo en NaOH al 40% y receptor 200 mL aproximadamente en un matraz donde se ha colocado previamente 50 mL de H_3BO_3 . Para la valoración del nitrógeno total se tituló la solución destilada con HCl [0.1 N] y dos gotas de una solución indicadora sintetizada usando 1 mL rojo de metilo y 1 mL de verde de bromocresol. La fórmula para calcular el nitrógeno total se encuentra a continuación (tabla 13) .

Figura 21

Equipo Kjeldahl para determinación de nitrógeno total



Nota. Izquierda: Unidad de digestión Kjeldahl; derecha: unidad de destilación kjeldahl

Tabla 13

Ecuación para la determinación de nitrógeno total.

ECUACIÓN		
$\%N = \{ (V_{HCl} - V_b) * 1.401 * N_{HCl} \} / g_{muestra}$		
donde:		
1.401	Peso atómico del nitrógeno	[uma]
N_{HCl}	Normalidad del HCl	[0.1 N]
V_{HCl}	Volúmen del HCL consumido en la titulación	[mL]
V_b	Volúmen del blanco	[mL]

Nota. Se obtiene el porcentaje de nitrógeno total.

Tratamiento del biol

El biofertilizante (biol) se preparó en el biorreactor anaerobio a escala piloto que se operó usando una carga orgánica definida y un tiempo de retención hidráulico de 25 días, el digester se ubicó detrás del laboratorio de suelos dentro de las instalaciones de la ESPE-SD.

El producto final se almacenó en frascos boeco, de color ambar de 500mL, se esterilizó en un autoclave marca Tuttnauer modelo 2540MK y se mantuvo en refrigeración a 10°C dentro de un refrigerador hasta realizar los ensayos posteriores.

Evaluación del biol sobre el crecimiento *in vitro* de *Zea mays L.*

Para determinar la influencia del biol sobre los cultivos *in vitro* de *Zea mays* se realizó un diseño experimental para evaluar diferentes concentraciones del biofertilizante como suplemento nutritivo adicionado al medio de cultivo MS con modificaciones.

Para obtener una aproximación al contenido nutritivo y fitohormonal del biol se ha diseñado una serie de experimentos donde se evalúan tres diferentes concentraciones de éste biofertilizante, utilizado como suplemento a medios de cultivos MS que se han modificado excluyendo diferentes soluciones stock y sacarosa (Figura 22). Por otro lado se evalúa la relación fitohormonal por observación directa del cultivo vegetal donde se identifica la presencia de raíces, tallos o ambas.

Figura 22

Soluciones stock I, II, III, IV para la preparación del medio de cultivo MS



Nota. Stock I: macronutrientes; stock II: micronutrientes; stock III: compuestos férricos; stock IV: compuestos orgánicos.

Preparación y modificaciones del medio de cultivo MS.

Se preparó los medios de cultivo MS (Figura 23 siguiendo el procedimiento establecido por Murashigue & Skoog (1962) con la composición que se describe en la tabla #. Se sintetizó por duplicado, una serie de trece tratamientos según la tabla a continuación con el objetivo de determinar los efectos que el biol presenta sobre el crecimiento vegetativo de *Zea mays*.

Figura 23

Preparación y disposición de los medios de cultivo MS para el experimento.



Nota. Izquierda: dispensación de medios; derecha: medios ubicados en cámara de crecimiento.

Tabla 14

Detalles de los medios de cultivo usados en el experimento.

Tratamientos	Modificaciones	Biol [mL]
Testigo	Ninguna	Sin biol
Tratamiento 1		1 mL
Tratamiento 2	Ninguna	0.1 mL
Tratamiento 3		0.001 mL
Tratamiento 4		1 mL
Tratamiento 5	Sin Stock I y II (macronutrientes y micronutrientes)	0.1 mL
Tratamiento 6		0.001 mL
Tratamiento 7		1 mL
Tratamiento 8	Sin stock IV (Sin compuestos orgánicos)	0.1 mL
Tratamiento 9		0.001 mL
Tratamiento 10	Sin sacarosa	1 mL
Tratamiento 11		0.1 mL
Tratamiento 12		0.001 mL

Nota. Se detalla la composición de los 13 tratamientos, incluyendo el testigo, así como las modificaciones realizadas sobre cada medio y el contenido de biol administrado en mililitros.

Es importante considerar que al hervir el medio de cultivo para que el agar se disuelva transcurre un tiempo considerable por lo que se evapora una parte del medio de cultivo, para resolver este problema se prepararon 5 mL extra de medio por cada línea experimental.

Además se conoce que el valor del pH es muy bajo por la presencia de ácidos grasos volátiles por lo que se debe ajustar el pH continuamente con NaOH [0.1%] hasta llegar al rango establecido en el protocolo para la síntesis del medio MS estándar.

Finalmente se esterilizó los medios de cultivo mediante calor húmedo dentro del autoclave a 15 libras de presión y 121°C durante 35 minutos para eliminar microorganismos que podrían contaminar y que son parte del proceso de la fermentación del biol u otros agentes externos (Figura 24)

Figura 24

Autoclave del laboratorio de cultivos vegetales



Nota. Model Tuttnauer 2540 MK

Tabla 15

Composición de los medios Stocks I, II, III, IV para la preparación de medios MS estándar

Constituyentes	mg/L
Solución Stock I (Macronutrientes 20x)	
NH_4NO_3	33,000
KNO_3	38,000
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8,800
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	7,400
KH_2PO_4	3,400
Solución Stock II (Micronutriente 200X)	
KI	1,66
H_3BO_3	1,240
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	4,460
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,720
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	50
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5

Constituyentes	mg/L
CoCl ₂ * 6H ₂ O	5
Solución Stock III (Hierro 200x)	
FeSO ₄ * 7H ₂ O	5,560
Na ₂ EDTA * 2H ₂ O	7,460
Solución Stock IV (Compuestos orgánicos 200x)	
Inositol	20,000
Ácido nicotínico	100
Piridoxina HCl	100
Tiamina HCl	20
Glicina	400
Sacarosa	0,03

Nota: Las soluciones se preparan por separado, el azúcar se añade antes de ajustar el pH y finalmente se dispensa el agar.

Germinación aséptica de semillas

Se procedió a esterilizar el material que se requería para el ensayo de germinación en autoclave (2 pinzas, 6 cajas petri, 14 recortes de papel absorbente, 2 L agua destilada y 4

vasos de precipitación de 100 mL); paralelamente se sometió a luz UV la cámara de flujo laminar por 30 minutos. .

Se realizó un lavado previo de 60 semillas de *Zea mays* en agua jabonosa, se lavó con agua destilada y se sumergió en una solución de Vitavax [1g/L] durante 20 minutos en constante agitación, se lavó nuevamente en agua destilada y se sumergieron ahora en una solución de NaClO al 10% durante 15 minutos en constante agitación.

Luego del tratamiento de desinfección se llevó las semillas a la cámara de flujo laminar y se realizó tres lavados de diez minutos en agua estéril. Se colocó cuidadosamente en la base de cada caja petri una capa de papel absorbente y sobre ésta se repartió 10 semillas, se tapó con otra capa de papel absorbente y se humedeció hasta saturar el papel con agua destilada estéril; se cerró las cajas petri con parafilm y se colocaron en la vitrina de crecimiento durante 3 días para obtener brotes asépticos como se muestra en la siguiente figura:

Figura 25

Semillas de Zea mays ubicadas para germinación en cámara de crecimiento.



Nota. Se disponen de 6 cajas petri que contienen 10 semillas cada una

Siembra

Previo a la siembra se realizó nuevamente una desinfección de los explantes germinados de *Zea mays* (Figura 26) para lo cual se sumergió en una solución de vitavax [1g/L] por 15 minutos agitando manualmente para evitar dañar la radícula, luego se lavó en agua destilada estéril y se sumergió en alcohol el cual se vertió fuera inmediatamente para

evitar necrosis del explante, a continuación se realizó un lavado en una solución de NaClO [10%] durante 3 minutos y se traslada a la cámara de flujo laminar donde se realizó 3 lavados en agua destilada estéril.

Figura 26

Soluciones de desinfección usadas previo a la siembra



Nota. De izquierda a derecha: Vitavax, alcohol y NaClO.

A continuación se tomó una semilla y se sembró en los tubos que contenían el medio de cultivo MS previamente esterilizado. Se cubrió los tubos con parafilm y se colocaron en la vitrina de crecimiento para evaluación (Figura 27).

Figura 27

Siembra y disposición de semillas en los tubos de crecimiento.



Nota. Izquierda: Siembra de semillas en cámara de flujo laminar; derecha: semillas sembradas en tubos según el diseño experimental.

Control del desarrollo vegetal

Para determinar los efectos del biol sobre el nivel de crecimiento de plantas de *Zea mays in vitro* se realizó un experimento del tipo AxB+1. Para la aplicación de este ensayo se varió la cantidad de macronutrientes, micronutrientes, compuestos orgánicos y azúcares del medio de cultivo vegetal estándar (tabla 15) y se suplementó con diferentes concentraciones de biol que serán comparadas estadísticamente con un medio de cultivo vegetal MS estándar. Se evalúa el crecimiento vegetal en centímetros al final del experimento que dura 4 semanas

Figura 28.

Crecimiento de Zea mays a través de cuatro semanas





Nota. Superior Izquierda: primera semana de crecimiento; superior derecha: segunda semana crecimiento; Inferior izquierda: tercera semana crecimiento; inferior derecha: cuarta semana crecimiento.

Cultivo en tierra

Como un proceso adicional, de forma paralela, se realizó un ensayo con la finalidad de determinar los efectos del biol sobre plantas de *Zea mays* sembradas en diferentes tipos de suelo para evaluar los efectos que genera la aplicación del bio-fertilizante en cultivos tradicionales.

Recolección del sustrato

Se recolectó tres tipos de tierras diferentes dentro de las instalaciones de la ESPE-SD que son: tierra negra, tierra roja y tierra arcillosa para comparar los beneficios que ofrece en diferentes sustratos (Figura 29).

Figura 29

Ensayo para cultivo en diferentes tipos de suelo



Nota. Desde arriba hacia abajo se pueden distinguir por su color el suelo negro, rojizo y arcilloso.

Ensayo de germinación

Se sembró las semillas en vasos de poliestireno expandido de 8 onzas de volumen llenos totalmente usando tres diluciones de biol; se regó estas soluciones una vez a la semana.

Se llenó los vasos con tierra negra, roja y arcillosa y se separó en tres partes a los cuales se regó con 100 mL de solución de biol al 5%, 1% y 0.1% por grupo respectivamente (Figura 30).

Figura 30

Primeros brotes de Zea mays



Nota. Primero brotes obtenidos en el ensayo de tierra.

Control de crecimiento

Para determinar los efectos del biol en cultivos tradicionales de *Zea mays* usando diferentes sustratos se realizó un experimento del tipo AxB. Para lo cual se utilizó tres tipos diferentes de suelos debido a su composición y fertilidad como se muestra en la tabla 16. a los cuales se suplementó con tres soluciones de biol a diferentes concentraciones como se detalla en la tabla 18. Con la finalidad de determinar si el biol es capaz de aumentar la fertilidad de suelos con problemas edafológicos.

Tabla 16

Tipos de suelos, composición principal y fertilidad

Suelo	Composición principal	Fertilidad
Suelos negros	Materia orgánica	Alta
Suelos rojizos	Sesquióxidos de hierro	Media
Suelos arcillosos	Silicato de aluminio hidratado	Baja

Nota. Se detalla la composición química principal y fertilidad de suelos negros, rojizos y arcillosos.

Las semillas fueron sembradas el 15 de enero del 2023, y la información final se tomó el 10 de febrero del 2023. Los datos se tomaron midiendo en centímetros la altura de la planta, desde la base del tallo hasta el ápice del mismo (Figura 31).

Figura 31.

Cultivo sobre diferentes tipos de suelo



Nota. Vista superior sobre el cultivo de *Zea mays* en diferentes tipos de suelo.

Diseño de experimentos

Diseño experimental para cultivo in vitro

Para cumplir con el objetivo principal se decidió aplicar un modelo de análisis estadístico de la forma A x B +1, el factor A corresponde a las concentraciones de biol y el factor B a las variaciones del medio Murashige y Skoog (tabla 17); se realizaron dos repeticiones por cada línea experimental resultando en un total de doce tratamientos más una línea experimental de comparación o testigo resultando en un total de 26 unidades experimentales.

Tabla 17

Descripción de los factores y niveles del experimento para el cultivo in vitro

Factor A: concentración de biol.		Factor B: variación del medio.	
a0	1mL	b0	Basal
a1	0,1 mL	b1	Sin macro y micro nutrientes

Factor A: concentración de biol.		Factor B: variación del medio.	
a2	0,001mL	b2	Sin compuestos orgánicos
-	-	b3	Sin Sacarosa

Nota. Cantidad de biol en mililitros y detalles sobre la composición de los medios de cultivo.

Diseño experimental para el crecimiento de Zea mays en diferentes tipos de suelo

Paralelamente al cultivo *in vitro* se realiza un cultivo usando diferentes tipos de suelo como sustrato, el modelo estadístico corresponde a la forma A x B, como factor A se tienen los tipos de sustrato y como factor B las concentraciones de biol usadas en la germinación de semillas de *Zea mays*. Se realizaron tres repeticiones por cada línea experimental resultando en un total de nueve tratamientos, es decir 30 unidades experimentales.

Tabla 18

Descripción de los factores y niveles del experimento para el cultivo en suelo.

Factor A: tipos de sustrato		Factor B: variación del medio.	
a0	Tierra negra	b0	5 %
a1	Tierra roja	b1	1 %
a2	Tierra arcillosa	b2	0.1 %

Nota.

Capítulo IV: Resultados y discusión

Las muestras de materia orgánica se recolectaron semanalmente durante cuatro semanas: los días 6, 17, 24 y 31 de febrero del 2022 con el objetivo de tener una mezcla de alimentación estable, los valores obtenidos se analizaron con la consola de “R” vinculado a

“RStudio” y el programa de análisis estadístico “Infostat” para determinar su promedio (media), desviación estándar (SD), análisis de varianza (ANOVA), análisis de contrastes, pruebas de homogeneidad (test de tukey), test de correlación de Pearson y pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk).

Caracterización de la materia prima

Caracterización del plátano maduro en descomposición.

Se colectó una muestra semanal durante un mes, a las que se les realizó análisis por duplicado. Los resultados se presentan en la tabla 19.

Tabla 19

Caracterización físico química del plátano maduro

Parámetro	Media	SD	Media teórica (CIESIQA, 2017)
ST (g/L)	28.8	7.77	226.0
STV (g/L)	24.56	8.17	169.0
DQO(g/L)	79.03	7.16	139.0

Nota. ST: sólidos totales; STV: sólidos totales volátiles; DQO: demanda química de oxígeno; SD: desviación estándar

Los valores de ST, STV y DQO indican que el plátano maduro presenta una cantidad de materia orgánica significativamente menor a la obtenida en estudios relacionados debido posiblemente al estado de maduración del fruto ya que de éste depende totalmente la cantidad de materia orgánica disponible (CIESIQA, 2017), sin embargo al tratarse de desechos estos valores son ideales para mantener el proceso de digestión activo durante 25 días con una carga orgánica de 0.0001 KgDQO/m³día sin aditivos que controlen la acidez (Puente, 2012)

mientras que la desviación estándar (SD) indica que las muestras de plátano maduro mantienen su concentración de materia orgánica estable en el tiempo.

Caracterización del efluente piscícola

Los resultados obtenidos del efluente piscícola se muestran en la tabla 20.

Tabla 20

Caracterización físico química del efluente piscícola de tilapia roja

Parámetro	Media	SD	Media teórica (Luna, 2011)
ST (g/L)	3.92	2.74	30.0
STV (g/L)	2.72	1.42	10.0
DQO(g/L)	14.97	3.00	25.0

Nota. ST: sólidos totales; STV: sólidos totales volátiles; DQO: demanda química de oxígeno; SD: desviación estándar

Según Chaux et al (2013) los efluentes piscícolas de tilapia roja presentan un alto contenido de agua, fósforo y nitrógeno, además debido a su calidad se consideran aguas residuales débiles y no pueden ser reutilizadas dentro de las piscinas de cría (Chaux et al., 2013) por estas condiciones es ideal para aumentar la velocidad de hidrólisis de los compuestos hidrosolubles presentes en la mezcla reactiva (Acosta & Obaya, 2005) Los valores de ST y STV son muy bajos comparados con estudios previos lo que puede ser causado por la época de lluvias, mientras que la DQO indica que se necesita un monto menor para degradar la materia conformada por desechos piscícolas (Luna, 2011) . Por otro lado, la desviación estándar indica que los valores medidos son estables y se pueden usar para preparar la mezcla de alimentación.

Caracterización del excremento de vaca.

Los resultados del análisis químico del excremento de vaca se muestran en la tabla 21.

Tabla 21

Caracterización físico química del estiércol bovino.

Parámetro	Media	SD	Promedio teórico (Pereyra, 2022)
ST (g/L)	11,73	2,31	3.2
STV (g/L)	9,33	1,53	2.2
DQO(g/L)	16,26	2,01	21.2

Nota. ST: sólidos totales; STV: sólidos totales volátiles; DQO: demanda química de oxígeno; SD: desviación estándar

La cantidad de ST y STV indican que existe una mayor cantidad de materia orgánica en excretas de vaca que el valor reportado en estudios relacionados (Pereyra, 2022) mientras que la DQO indica que se requiere una menor cantidad de oxígeno para que sean digeridas (Pereyra, 2022).

En base a la información obtenida se puede prever que el contenido en agua que proviene de la muestra de desechos piscícolas es un co-sustrato adecuado para mezclar con el estiércol de vaca y diluir a cierto nivel su contenido de materia orgánica. De manera adicional se considera que las características medidas en el excremento de vaca se mantienen estables durante el proceso de caracterización debido a los valores de la desviación estándar y se pueden usar para preparar la mezcla de alimentación.

Operación del biodigestor

En base a los cálculos realizados previamente se determinó que la carga orgánica para alimentar el biodigestor debe ser de 0,0001 KgDQO / m³ día, y el tiempo de retención hidráulico de 25 días.

Debido a que se utiliza un modelo de co-digestión anaerobia es necesario repartir proporcionalmente la materia orgánica que entrará al digestor en función de la DQO; es decir que el total de la carga orgánica definida se repartirá equitativamente entre plátano maduro en descomposición, efluentes piscícolas de tilapia roja y excremento de vaca respectivamente, en una proporción 2:2:1.

Para obtener el volumen necesario de cada componente de la mezcla de alimentación se aplican las ecuaciones de la tabla 8 con los valores predeterminados y se dividen en proporciones basadas en la cantidad de materia orgánica (DQO), Como resultado se determinó que es necesario suministrar 0.40 litros de plátano maduro en descomposición, 2.14 litros de desechos piscícolas de tilapia roja, 0.98 L de excremento de vaca y 5.34 litros de agua destilada, hasta completar un total de ocho litros de mezcla reactiva para la alimentación del biodigestor anaerobio (Tabla 22)

Tabla 22

Volúmenes necesarios de cada componente para la mezcla de alimentación.

Materia prima	Promedio DQO (g/L)	Volumen (L)
Plátano maduro en descomposición	79.03	0.40
Efluentes piscícolas	14.92	2.14
Excremento de vaca	16,26	0.98
Agua destilada	0	4.47
Total	40.83	8

Nota. El volumen de cada componente se tabula en litros y está en función del contenido de materia orgánica medido como DQO.

Caracterización de la Mezcla de Alimentación

Para entender el proceso de digestión y evaluar la calidad del biol producido es necesario caracterizar la mezcla reactiva (Tabla 23). Los valores obtenidos reflejan la calidad de la materia orgánica previa a la digestión.

Tabla 23

Caracterización físico química de la mezcla reactiva.

Parámetros	valor
ST (g/L)	803.0
STV (g/L)	401.0
DQO (g/L)	11.94
AGV (mg/L)	210
Nitrógeno(mg/L)	186.8

Parámetros	valor
OD (mg/L)	3.9
CE(mS/cm)	3.7
pH	6.9

Nota. g/L: gramos/litro; mg/L: miligramos/litro; mS/cm: miliSiemens/centímetro

La mezcla reactiva presenta un contenido relativamente alto en ST, STV y DQO comparado con sistemas de tratamiento anaerobio donde se trabaja con inóculos bovinos con un contenido de los mismos que ronda los 64.942 g/L, 47, 408 g/L (Manrique et al., 2012) y 3588 mg/L (Pérez & Torres, 2008) respectivamente; el aumento en la cantidad de materia orgánica disponible para la digestión es más alto al analizar la mezcla de alimentación que al analizar componentes individualmente posiblemente por la interacción entre las fracciones de agua y azúcares de los sustratos y la cantidad de materia orgánica del inóculo, lo cual es propicio para llevar a cabo un proceso de codigestión óptimo (Cook et al., 2017).

Por otro lado se tienen concentraciones altas de AGV y nitrógeno total en la mezcla de alimentación comparados con valores teóricos que están en el rango de 1.3 g/L y 17.9 g/L (Camacho et al., 2017), valores que se espera aumenten su concentración con el transcurso de la digestión anaerobia, debido a que las bacterias metabolizan las moléculas de lípidos y los degradan hasta formar ácidos grasos, como el ácido acético o propiónico y las proteínas en aminoácidos (Bermudez et al., 1988).

En un estudio llevado a cabo por Cano et al (2016) se obtuvo una concentración de oxígeno disuelto y conductividad eléctrica igual a 0.30 mg/L y 11.09 mS/cm respectivamente lo que indica una concentración más alta de oxígeno disuelto y una menor capacidad de conductividad eléctrica en comparación con bioles de excretas bovinas sin digestión previa

posiblemente debido a la variedad de los sustratos empleados para la formulación en este ensayo (Cook et al., 2017).

El valor del pH ideal para las mezclas de alimentación está entre 6.5 y 7.5 (Puente, 2012), es así que el valor de pH igual a 6.9 obtenido para este experimento está dentro del rango de pH y por lo tanto no debe realizarse un tratamiento previo sobre la materia prima antes de ingresarla al digestor.

Caracterización del biol

El biol es el residuo líquido producto de la digestión anaerobia que en su composición química presenta diferentes tipos de nutrientes vegetales como nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre, fitohormonas como la giberelina, tiamina, ácido indol acético, purinas (Aparcana & Jansen, 2008) y AGV como el ácido acético y ácido propiónico y ácido butírico (Bermudez et al., 1988), que en conjunto confieren diferentes propiedades fitológicas de alto interés que involucran principalmente la regulación del crecimiento vegetal y el control de patógenos en el sustrato (Samaniego & Sandoval, 2013).

Además, por el tipo de proceso empleado y para asegurar la calidad del biol es imprescindible caracterizar fisicoquímicamente el mismo (Tabla#), además la determinación de estos parámetros permite estudiar el proceso de transformación de la materia orgánica de manera adecuada y entender las características del producto final (Puente, 2012).

Tabla 24

Caracterización físico química del biol.

Parámetros	Media
ST (g/L)	323.2

Parámetros	Media
STV (g/L)	162.7
DQO (g/L)	3.10
AGV (mg/L)	1660
Nitrógeno(mg/L)	653.8
OD (mg/L)	3.4
CE(ms/cm)	3.5
pH	3.5

Nota. g/L: gramos/litro; mg/L: miligramos/litro; mS/cm: miliSiemens/centímetro

La reducción en los valores de los ST, STV y DQO son un indicador de que el proceso de biodegradación anaerobia al interior del biodigestor ha sucedido satisfactoriamente, en teoría el proceso de digestión anaerobia transforma cerca del 90% de la materia orgánica medida como DQO en gas y el resto en biol (Acosta & Obaya, 2005). Al analizar los valores de la DQO se tiene que ha disminuido cerca del 75% lo que sugiere, que al no ser un proceso destinado a la producción de biogas una parte del mismo se disuelve en el biol mientras transcurre el tiempo de retención hidráulico.

La concentración de AGV determinada en el biol aumentó considerablemente, lo que es directamente proporcional al descenso en el pH; esto significa que durante el proceso de digestión anaerobia se acumularon los AGV como ácido acético, propiónico y butírico en la parte líquida del efluente provocando la caída en el pH del biol (Bermudez et al., 1988). Es importante tener en consideración los altos niveles de AGV al momento de realizar las diluciones del biol para su aplicación sobre las plantas. Según Samaniego & Sandoval (2013) el control de fitopatógenos depende de la concentración a la que se ha diluido

Además se incrementó la concentración de nitrógeno total en el biol, debido a la degradación bacteriana anaeróbica de las proteínas (Bermudez et al., 1988) que son los precursores principales del amonio (NH_4), el cual es consecuentemente transformado a nitratos de fácil asimilación (Bolsa, 2001) que, debido al pH se encuentran disueltos en la fracción líquida del biol (Orellana et al., 2013).

En un estudio realizado por Cano et al (2016) se determinó que los valores de OD y CE no disminuyen significativamente su monto con el pasar de la digestión. Por lo tanto al finalizar el proceso de digestión el OD en el biol obtenido se ha disminuido en pequeñas cantidades posiblemente por la asimilación de éste durante el metabolismo celular, sin embargo mantiene una concentración de 3.4 mg/L por lo que aportaría con suficiente oxígeno a la zona radical lo cual es imprescindible para el correcto desarrollo de las plantas (Moreno et al., 2020). En otro aspecto se observa que el valor de la CE disminuyó debido a la asimilación metabólica de los compuestos solubles por los microorganismos durante la digestión y corresponde principalmente a las bases intercambiables del suelo conformadas por calcio, sodio, potasio y magnesio (Cano et al., 2016).

En una aplicación real en suelo la asimilación de los nutrientes está predeterminada por el pH del mismo, por lo que al usar un fertilizante ácido es necesario evaluar tres parámetros; (i) perfil acidificante, que está en función de su composición química, (ii) carácter descalcificante y (iii) capacidad buffer del suelo (Irantzu, 2002). Los fertilizantes ácidos están basados principalmente en amonio y derivados del nitrógeno por lo que el biol, en diluciones adecuadas, es excelente para ser usada en suelos (Cenipalma, 1998) pero también existe la posibilidad de usarse en cultivos *in vitro* ya que durante la preparación del medio de cultivo los valores de pH se corrigen, asegurando el desarrollo vegetal adecuado (Cook et al., 2017). Finalmente en un estudio realizado por Medina et al(2015) se determinó que los bioles con actividad biológica y

de calidad sanitaria están dentro del rango de pH de 6.8 a 7.8 por lo que se determina que el biol producido con pH de 6.9 es de buena calidad fitológica.

Análisis correlacional entre la mezcla de alimentación y el biol.

La transformación de la materia orgánica en biol se detalla gráficamente en la figura #, lo que permite analizar el proceso de digestión usando una correlación múltiple según el método de Pearson; la relación directa (azul) o indirecta, o (roja), que sucede entre los parámetros de estudio para la mezcla de alimentación y el biol permite entender la generación de los subproductos de interés como los AGV y nitrógeno total en función de otros parámetros como el TRH o el pH.

De esta forma se sabe que mientras más avanza el tiempo de retención hidráulica (TRH), disminuye la cantidad de ST, STV, DQO, pH, CE y OD aumentando la cantidad de AGV y nitrógeno total datos que corroboran que se efectuó el proceso biológico de degradación de la materia orgánica en subproductos de interés fitológico como AGV y nitrógeno total.

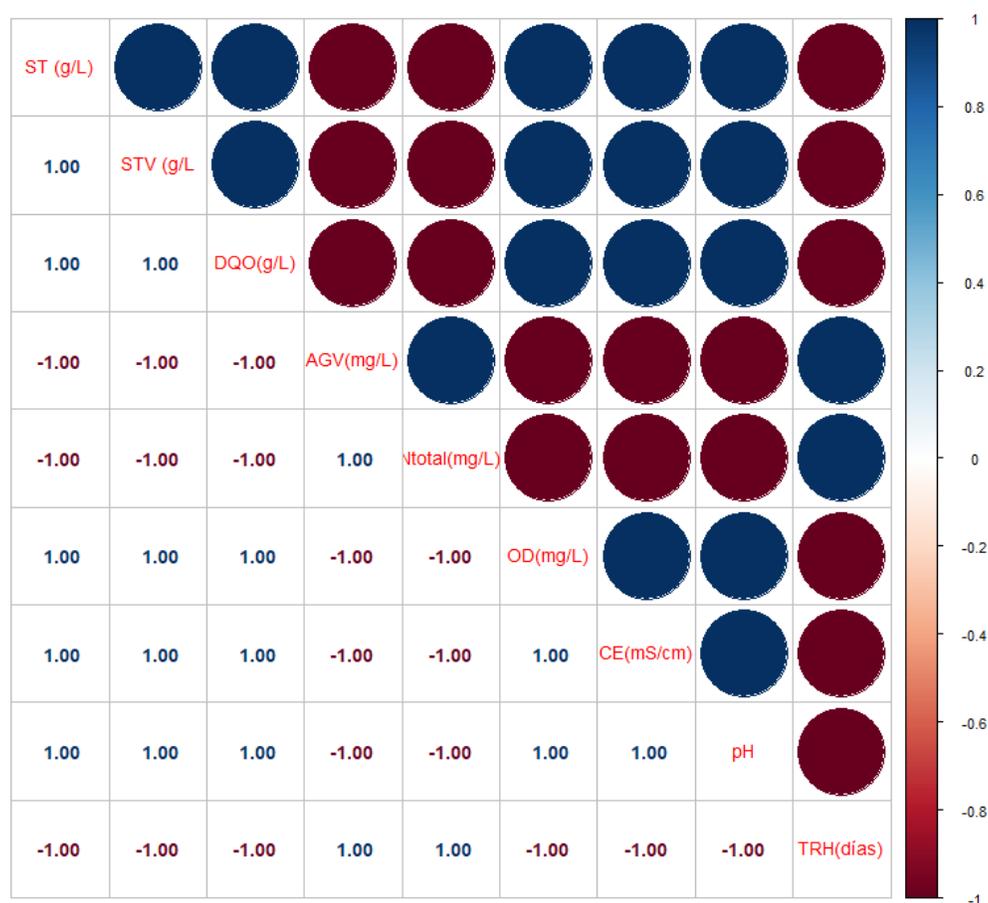
También es importante analizar el proceso en función del pH que mantiene una relación inversamente proporcional al TRH, a la concentración de AGV y al contenido de nitrógeno total lo que revela que mientras más transcurre el tiempo más ácido se vuelve el biol, aumentando la concentración de AGV y nitrógeno total en su composición; por otro lado los ST, STV, DQO, OD y CE son directamente proporcionales y disminuyen su cantidad, mientras disminuye el pH lo que demuestra la importancia del pH como parámetro de control en los procesos de digestión anaerobios.

Al analizar el proceso de digestión basados en la DQO, se corrobora que mantiene una relación inversamente proporcional con la concentración de AGV y nitrógeno total lo que sugiere que la materia orgánica es transformada en los compuestos de interés fitológico que conforman el biol. Es importante también, aunque las fluctuaciones durante la digestión sean

mínimas, indicar que la CE y el OD disminuyen conjuntamente con la DQO, y el pH lo que podría suponer un problema en la asimilación de los nutrientes y enriquecimiento del sustrato, sin embargo el pH del biol se mantiene dentro de los parámetros de calidad establecidos.

Figura 32

Análisis de correlación de Pearson para estudio de las variables involucradas en la digestión anaerobia.



Nota. Variables directamente proporcionales en azul e inversamente proporcionales en rojo.

Efectos del biol sobre el desarrollo in vitro de Zea mays

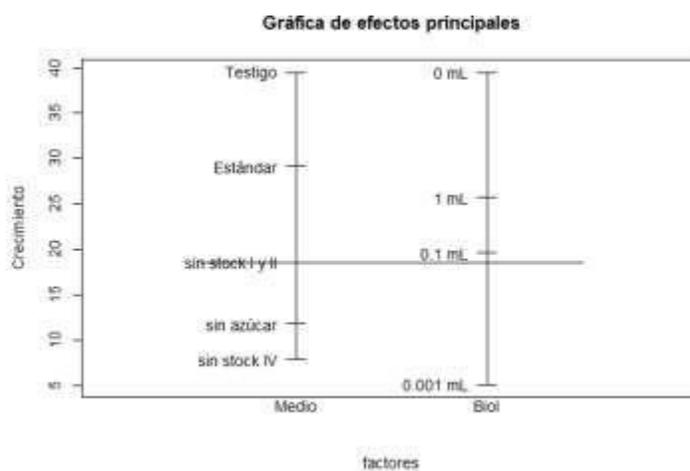
Los promedios del crecimiento *in vitro* de las plantas de *Zea mays* se presentan en la tabla 26. A estos datos se les aplicó un análisis de ANOVA y de contrastes (Tabla 25),

revelando que existe diferencia estadísticamente significativa cuando se analizan las variaciones en el medio, las concentraciones de biol (Figura 33) y la relación que estos mantienen durante el experimento (figura 34), así como también existe una diferencia estadísticamente significativa entre el testigo y los tratamientos analizados en contraste por bloques.

Al analizar estadísticamente los efectos individuales (Figura 32) que genera el medio de cultivo se revela que el medio MS estándar es donde las plantas crecen de mejor manera, sin embargo los tratamientos sintetizados sin macronutrientes y micronutrientes también se mantienen por encima del promedio general de crecimiento vegetal, sin embargo al quitar la sacarosa y los compuestos orgánicos se obtienen crecimientos por debajo de la media. Por otro lado es evidente que las concentraciones de biol mantienen una tendencia decreciente en función de la dilución que se ha realizado, donde las concentraciones más altas generan un mejor resultado.

Figura 33

Gráfica de efectos principales



Nota. Se muestra la diferencia entre las medias de crecimiento generadas por el medio de cultivo y el biol.

Tabla 25

Anova del cultivo in vitro de Zea mays

Fuente de variación	Suma cuadrados	grados de libertad	cuadrados medios	Valor-F	Valor P
Modelo	7888.88	13	606.84	339.31	<0.0001
Tratamiento	3579.92	6	596,65	333,61	<0.0001
Medio	2513.85	4	628.46	351.40	<0.0001
Biol	1795.08	2	897.54	501.85	<0.0001
Bloque	0.04	1	0.04	0.02	0.8858
Contraste (0: 1,2,3)	160.17	1	160.17	89.56	<0.0001
Contraste (0: 456)	420.76	1	420.76	235.26	<0.0001
Contraste (0: 789)	21.00	1	793.80	443.85	<0.0001
Contraste (0:10,11,12)	22.67	1	948.51	530.35	<0.001
Error	21.46	12	1.79		
Total	10 424,2	29			

Nota. Análisis de la varianza realizado a un nivel de significancia del 5%

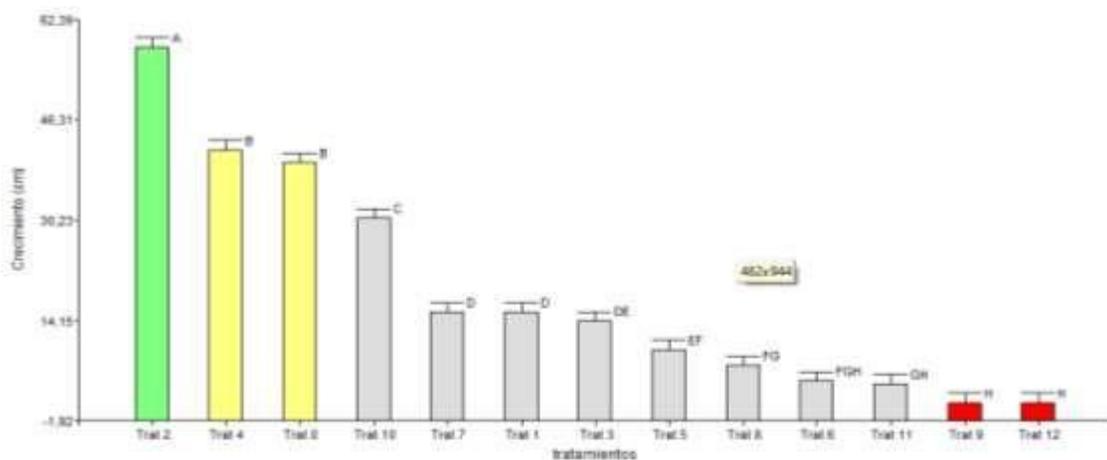
Para entender las interrelaciones entre el medio de cultivo empleado y las concentraciones de biol con el tratamiento testigo se realizó un test de tukey, obteniendo un

total de 10 grupos homogéneos (Figura 33). El mejor tratamiento es el número dos (Grupo A) que supera al tratamiento testigo con un promedio de 58 cm, y corresponde a la aplicación de 0.1 mL de biol en un medio de cultivo MS estándar ya que de acuerdo a Quipuzco, *et al* (2011) el biol es rico compuestos fitológicos que potencian el crecimiento vegetal en diferentes sustratos, consecuentemente durante el análisis se demostró que el tratamiento 4 genera un crecimiento vegetal similar al testigo (grupo B) con un promedio de 41.50 cm y corresponde a la aplicación de 1 mL de biol en un medio de cultivo sin macronutrientes y micronutrientes lo que corrobora la presencia de estos compuestos en la formulación del biol (CANO-HERNANDEZ, 2016). Todos los tratamientos restantes estadísticamente generan un crecimiento inferior al tratamiento testigo, pero se presenta un grupo (Grupo H) cuyos promedios son los más bajos del experimento y corresponden al tratamiento 9 y 12 donde se aplicó 0.001mL en un medio de cultivo sin compuestos orgánicos y en un medio sin sacarosa demostrando que las concentraciones de biol mantienen diversas asociaciones con los sustratos empleados (Samaniego & Sandoval, 2013) generando cambios significativos en el crecimiento vegetal que tampoco son directamente proporcionales a la concentración de biol empleada.

Finalmente al analizar el estudio de contrastes se determinó que la composición de los medios de cultivo cumple un rol importante en el desarrollo de las plantas y cada uno genera un crecimiento vegetal distinto; es decir que al analizar el experimento por bloques se reveló que los medios de cultivo estándar suplementados con biol difieren estadísticamente de los medios de los medios de cultivo sin macro y micronutrientes, así como de los medios sin compuestos orgánicos y los medios sin sacarosa y que todos a su vez difieren del tratamiento testigo.

Figura 34

Separación por grupos según el índice de crecimiento.

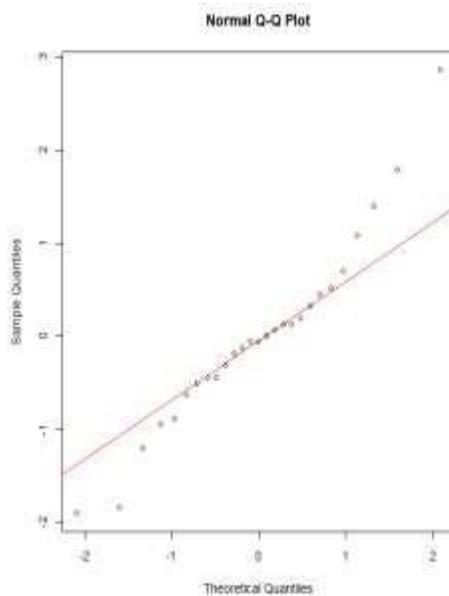


Nota. Se generan 10 grupos homogéneos A, B, C, D, DE, EF, FG, FGH, GH, H del mejor tratamiento al peor.

En la siguiente figura se presenta un análisis de la dispersión de los datos que indica que no se presentan valores atípicos, lo que se ha corroborado con una prueba de Shapiro-Wilk que dió un valor de p igual a 0.2588.

Figura 35

Análisis de normalidad para los valores obtenidos en el ensayo in vitro.



Nota. Los valores observados no exceden el número 3 de dispersión e indican normalidad

Tabla 26

Promedios de crecimiento vegetal obtenidos en el ensayo in vitro.

Tratamiento	Crecimiento vegetal (cm)
Testigo	38,00
Tratamiento 1	16,00
Tratamiento 2	55,33
Tratamiento 3	15,67
Tratamiento 4	40,67
Tratamiento 5	8,67
Tratamiento 6	3,33
Tratamiento 7	16,33
Tratamiento 8	7,67
Tratamiento 9	1,00
Tratamiento 10	29,33
Tratamiento 11	5,00
Tratamiento 12	1,00

Nota. Se tomaron los mejores ensayos y se promediaron sus valores de crecimiento vegetal, los resultados se muestran en centímetros

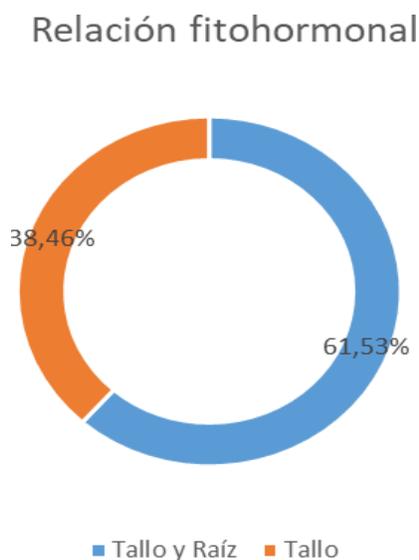
Relación fitohormonal

En la figura 35 se muestra un estudio aproximativo a la relación fitohormonal que mantiene el Biol, los datos se recogen por observación directa y se indexan en una hoja de datos (Tabla 27) para ser analizados mediante un gráfico circular que revela que existe una predominancia del 61.53% destinada a la producción de tallos y raíces y un 38.46% que únicamente genera raíces.

Según Villanueva *et al* (2013) las auxinas y citoquininas tienen el potencial para impulsar el desarrollo de segmentos apicales y porciones medias de tallo; sin embargo la concentración relativa entre éstas hormonas vegetales presenta efectos variados que involucran la generación de raíces y tallos adventicios (Figura 36) cuando la concentración de las dos hormonas es la misma, sin embargo, cuando la concentración de auxinas es relativamente superior a la de citoquininas los explantes tienden al desarrollo únicamente de raíces (Figura 36) (Lleida, 2000).

Figura 36

Aproximación gráfica al contenido fitohormonal del biol



Nota. Porcentajes de aparición de segmentos vegetales como tallo, raíz o ambos

Tabla 27

Datos recolectados por observación directa. Se indica la presencia de tallo, raíz o ambas en los medios de cultivo vegetales

Tratamiento	Tallo	Raíz	Tallo y Raíz
Testigo			✓
Tratamiento 1			✓
Tratamiento 2			✓
Tratamiento 3			✓
Tratamiento 4			✓
Tratamiento 5	✓		
Tratamiento 6	✓		
Tratamiento 7	✓		
Tratamiento 8	✓		
Tratamiento 9	✓		
Tratamiento 10			✓
Tratamiento 11			✓

Tratamiento	Tallo	Raíz	Tallo y Raíz
Tratamiento 12			✓

Nota. El visto indica la presencia de ese segmento vegetal

Figura 37

Diferentes tipos de crecimiento vegetal encontrado en el ensayo in vitro.



Nota. Izquierda: Tallo con raíces adventicias y tallo. Derecha: contraste entre el crecimiento de una planta sana y otra que no.

Efectos del biol sobre el desarrollo de *Zea mays* en diferentes tipos de suelo

En los ensayos realizados sobre el suelo, los datos obtenidos se promediaron y los resultados obtenidos se muestran en la tabla 28. Se evaluaron mediante un análisis de la varianza (tabla 29) y se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre los tipos de suelo ya que de su composición depende totalmente el crecimiento de las plantas (Splittstoesser, 1990) y al analizar la interacción entre el tipo de suelo y biol, ya que se ha

determinado que el biol es capaz de potenciar los diferentes tipos de sustratos promoviendo el crecimiento vegetal (Acosta, 2019).

Tabla 28.

Promedio del crecimiento vegetal de Zea mays en diferentes tipos de suelos

Tratamiento	Crecimiento vegetal (promedio en cm)
1	51,33
2	47,67
3	40,00
4	32,33
5	34,67
6	34,33
7	29,67
8	31,33
9	24,00

Tabla 29

ANOVA para el crecimiento de *Zea mays* en suelo.

Fuente de variación	Suma cuadrados	grados de libertad	cuadrados medios	Valor-F	Valor P
Modelo	1833.70	10	183.7	3.96	0.0072

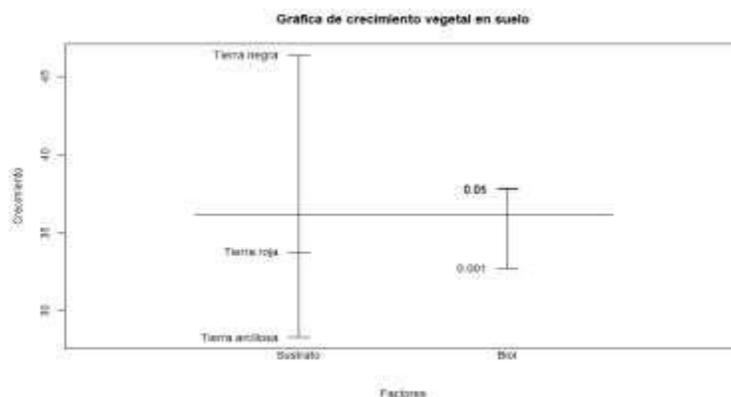
Fuente de variación	Suma cuadrados	grados de libertad	cuadrados medios	Valor-F	Valor P
Tratamiento	145.48	4	36.37	0.78	0,0032
Suelo	1533.85	2	766.93	16.54	0.0001
Biol	153.41	2	76.70	1.65	0.2222
Bloque	0.96	2	0.48	0.01	0.9897
Error	741.70	16	46.36		
Total	2575.41	26			

Nota. Análisis de la varianza realizado a un nivel de significancia del 5%

En suelos con buen pH, alto contenido de materia orgánica y buen drenaje del agua de riego las plantas encuentran un hábitat propicio y crecen idealmente, a diferencia de los suelos arcillosos (Splittstoesser, 1990) como indica la figura 37, así cuando se usa tierra negra el promedio de crecimiento es más alto que cuando se usa tierra roja o arcillosa y supera los 45 cm, lo cual está por encima de la media general que es de 35 cm por lo que se revela que la tierra negra es mejor para el cultivo de *Zea mays*.

Figura 38

Gráfica de efectos principales para cultivo en suelo

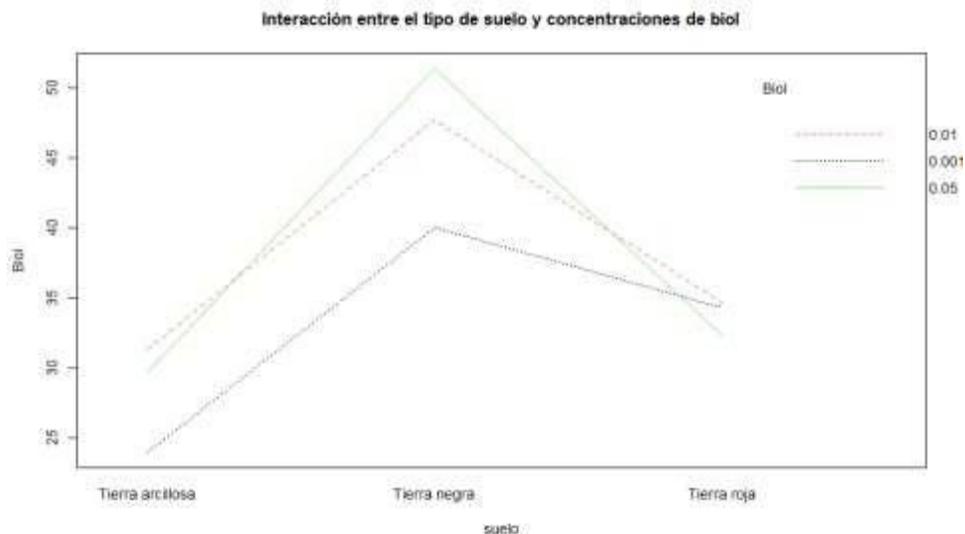


Nota. Se detallan las medias de cada variable en comparación con la media general de crecimiento.

Por otro lado no existe una diferencia significativa entre los efectos individuales que el biol produce, pero sí en la interacción que éste mantiene con el suelo posiblemente a que las concentraciones del biofertilizante usadas son demasiado bajas para generar un efecto sensible sobre el desarrollo vegetal de las plantas de *Zea mays* (Alvarado & Medal, 2018). La figura 37 indica que no existe casi ninguna diferencia entre usar biol al 5% y al 1%. Por otro lado en la figura 38 se muestran los resultados de las interacciones individuales entre el suelo y las concentraciones de biol utilizadas, donde es evidente que el mejor índice de crecimiento se obtiene al usar tierra negra suplementada con biol al 5%, mientras que se obtiene un crecimiento intermedio al usar tierra negra con biol al 1% y se obtiene un crecimiento menor al usar tierra arcillosa con biol al 0.1%.

Figura 39

Gráfica de interacción entre las variables experimentales.

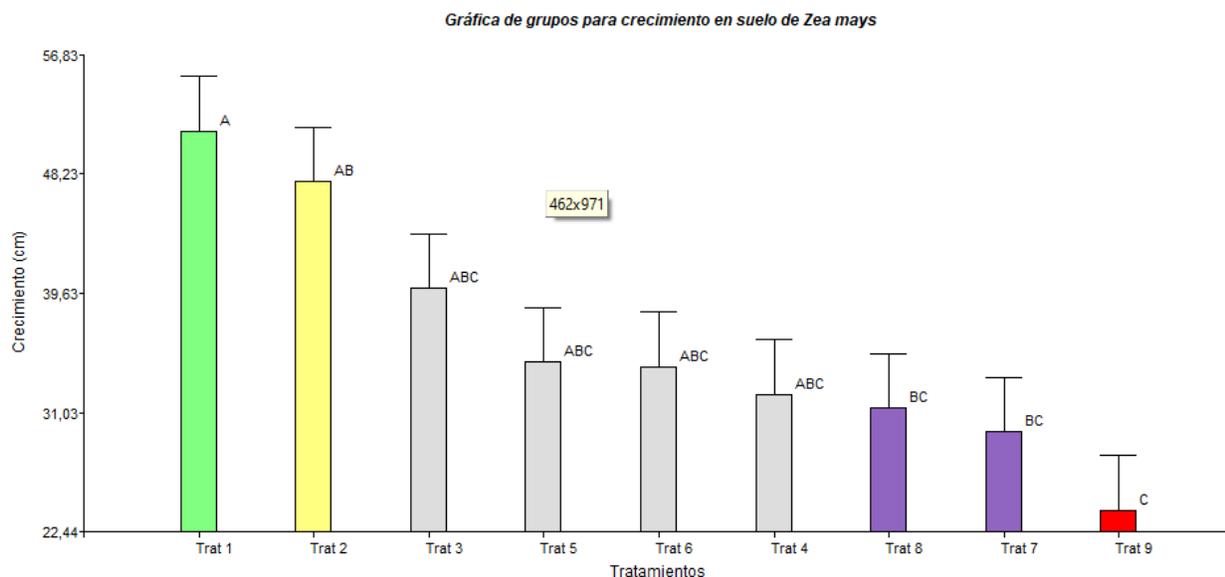


Nota. Eje y: tipos de suelo; eje x: promedio de crecimiento en centímetros; Biol: líneas de colores según concentración.

Se realizó un test de Tukey para organizar los datos en grupos en función del índice de crecimiento obteniendo. Los resultados (figura #) muestran que el tratamiento con biol al 5% en tierra negra cuyo promedio de crecimiento es 51.33 cm (Grupo A) supera a los otros tratamientos del experimento, seguido del grupo AB al que corresponde al tratamiento 2 aplicación de biol al 1% en tierra negra. Dentro del grupo ABC se encuentran los índices de crecimiento moderado que corresponden a los tratamientos 3,4,5 y 6, en el tratamiento 3 se revela que una concentración baja de biol no enriquece el suelo de manera óptima dejándolo al nivel de la tierra roja, la cual no se enriquece con ninguna concentración de biol. Finalmente tenemos los grupos BC y C, correspondientes a los ensayos realizados sobre tierra arcillosa con el promedio de crecimiento más bajo, sin embargo en el grupo BC están enlistados los tratamientos 7 y 8 lo que sugiere que el biol potencia de forma mínima la actividad biológica del suelo arcilloso.

Figura 40

Análisis de tukey para determinar grupos homogéneos

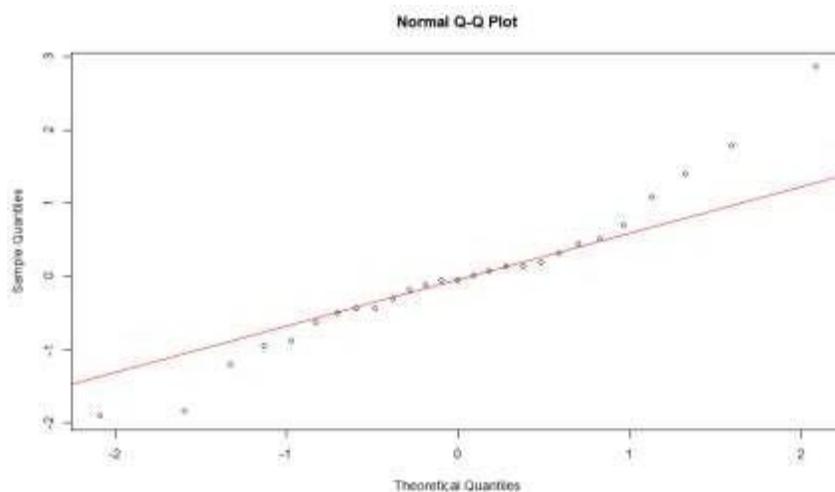


Nota. Se obtuvieron 5 grupos homogéneos: A, AB, ABC, BC, C de mejor tratamiento a peor tratamiento.

La siguiente gráfica avala el análisis de los datos obtenidos ya que indica la normalidad estadística existente durante la toma de muestras; es decir que no hay datos atípicos y los mismos están dentro del rango establecido lo que se comprobó con un test de Shapiro-Wilk que arrojó un valor de p igual a 0.7726.

Figura 41

Gráfica de normalidad para la toma de datos en el análisis de crecimiento en suelo.



Nota. Los valores no exceden el número 3 de dispersión e indican normalidad sobre la toma de datos.

Capítulo V: Conclusiones

- El muestreo semanal de la materia prima permitió usar una mezcla de alimentación homogénea para la producción de biol dentro del biorreactor, ya que estadísticamente los valores para los parámetros evaluados (ST, STV, DQO) no presentaron una desviación estándar mayor a 9 lo que permite empezar el proceso de digestión con una mezcla de alimentación de calidad asegurando la calidad de los productos.
- El biol producido es de buena calidad y actividad biológica debido a su pH (6.5), además contendrá una gran cantidad de nitrógeno en forma de amonio disuelto y una alta concentración de AGV, compuestos determinantes en la actividad fitológica del biofertilizante.
- El biol puede emplearse para potenciar el crecimiento vegetal *in vitro* de *Zea mays* cuando se aplican dosis de 0.1 mL del biofertilizante en un medio de cultivo MS estándar (tratamiento 2), por otro lado sustituye adecuadamente los macronutrientes y

micronutrientes ausentes en el medio cuando se usa 1 mL como suplemento a un medio de cultivo sin estos compuestos (Tratamiento 4).

- El biol no satisface adecuadamente la demanda de compuestos orgánicos y sacarosa *in vitro* necesarios para el crecimiento adecuado de *Zea mays*, sin embargo cuando se encuentra en concentraciones bajas tampoco ocluye completamente el crecimiento vegetal.
- La relación fitohormonal del biol está principalmente equilibrada lo que permite concluir que la relación entre auxinas y citoquininas, o compuestos análogos, es de 1 a 1 por esto promueve principalmente el desarrollo de tallo y raíces.
- En suelos el biol interactúa con la tierra negra mejorando significativamente sus propiedades e interactúa con tierra roja y arcillosa pero no potencia el crecimiento vegetal.
- La recopilación de los datos es uniforme y no hay datos atípicos durante el desarrollo del experimento lo que permite concluir que hubo normalidad

Capítulo VI: Recomendaciones

- La caracterización de la materia es imprescindible y debe realizarse hasta obtener datos confiables y uniformes
- El material vegetal obtenido del campo necesita un protocolo estricto de desinfección que debe realizarse antes del proceso de germinación y antes de la siembra.
- El biol, debido a sus características, debe ser esterilizado y guardado adecuadamente en frascos de plástico alejados de la luz y a temperatura ambiente.
- Durante la siembra *in vitro* es recomendable esterilizar el material que no se puede autoclavar bajo la luz UV de la cámara de flujo laminar.

- Durante la siembra en suelo usar la misma cantidad de agua para no aumentar el error experimental.

Capítulo VII: Bibliografía

Acosta, M., & Pasqualino, J. (2014). Potencial de uso de biogás en Colombia. *Encuentro Institucional de Semilleros de Investigación del Tecnológico Comfenalco*. Teknos.

<https://doi.org/10.25044/25392190.468>

Acosta, R. (2019). *Características físicas, químicas, microbiológicas y efectividad agronómica del abono líquido Biol obtenido por digestión anaerobia de estiércol de animales con rastrojo*. Repositorio Institucional UNPRG.

<https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/6031>

Acosta, Y. L., & Obaya, C. M. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. *Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 39(1), 35-38. Redalyc.

<https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120659006.pdf>

Acurio, G., Rossin, A., Teixeira, P. F., & Zepeda, F. (1997). DIAGNÓSTICO DE LA SITUACIÓN DEL MANEJO DE RESIDUOS SÓLIDOS MUNICIPALES EN AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE. *Publicación conjunta del Banco Interamericano de Desarrollo y la Organización Panamericana*.

https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/46526813/Diagnostico_de_la_situacion_del_manejo_de_residuos_solidos_municipales_en_America_Latina_y_el_Caribe-libre.pdf?1466053649=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DDIAGNOSTICO_DE_LA_SITUACION_DEL_MANE

Ahring, B. (2003). Perspectives for Anaerobic Digestion. *Biomethanation I*, 81.

SpringerLink. https://doi.org/10.1007/3-540-45839-5_1

Alexandra, M., & Hugo, F. (2020). *Producción de biogás utilizando tres tipos de estiércol (ovino, equino y vacuno) en sustrato de silo de maíz en la zona de Sama Inclán, Tacna.*

Universidad Privada de Tacna. <https://repositorio.upt.edu.pe/handle/20.500.12969/1579>

Alonso, N. (2016). Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. *IBP*. IBP. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/255/228>

Alvarado, W. E., & Medal, R. A. (2018). *Efecto del Biol como fertilizante orgánico en tres cultivares de Pennisetum purpureum Juigalpa, Chontales, Nicaragua, 2015 –.*

Repositorio Institucional de la Universidad Nacional Agraria.

<https://repositorio.una.edu.ni/3783/1/tnf04a472e.pdf>

Alvarez, M., Dosta, J., Romero, M. S., Fonoll, X., Peces, M., & Astals, S. (2014). A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013.

Renewable and Sustainable Energy Reviews, 36, 412-427. Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.039>

Anderson, E., & Cutler, H. (1942). Races of Zea Mays: I. Their Recognition and Classification. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 29(2), 69-88.

<https://doi.org/10.2307/2394331>

Aparcana, S., & Jansen, A. (2008, December 1). *Estudio sobre el Valor Fertilizante de los Productos del Proceso Fermentación Anaeróbica para Producción de Biogas.*

German ProfEC GmbH. [http://www.german-](http://www.german-profec.com/cms/upload/Reports/Estudio%20sobre%20el%20Valor%20Fertilizante%20de%20los%20Productos%20del%20Proceso%20Fermentacion%20Anaerobica%20para%20Produccion%20de%20Biogas_ntz.pdf)

[profec.com/cms/upload/Reports/Estudio%20sobre%20el%20Valor%20Fertilizante%20de%20los%20Productos%20del%20Proceso%20Fermentacion%20Anaerobica%20para%20Produccion%20de%20Biogas_ntz.pdf](http://www.german-profec.com/cms/upload/Reports/Estudio%20sobre%20el%20Valor%20Fertilizante%20de%20los%20Productos%20del%20Proceso%20Fermentacion%20Anaerobica%20para%20Produccion%20de%20Biogas_ntz.pdf)

Bastone, D. J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S. V., Pavlostathis, S. G., Rozzi, A., Sanders, W. T., Siegrist, H., & Vavilin, V. A. (2002). The IWA Anaerobic Digestion Model

No 1 (ADM1). *Water Science And technology*, 45(2), 65-73. IWA.

<https://doi.org/10.2166/wst.2002.0292>

Bermudez, J. J., Canovas, M., Iborra, J. L., & Howel, J. A. (1988). *La digestión anaerobia*. Universidad de Murcia. Secretariado de Publicaciones.

Bolsa, S. B. (2001). *Manual de BIOL*. SSWM.info.

https://sswm.info/sites/default/files/reference_attachments/SISTEMA%20BIOBOLSA%20s.f.%20Manual%20del%20BIOL.pdf

Cabrerizo. (2012). El maíz en la alimentación humana. <http://www.infoagro.com>

Camacho, R., Villada, H., & Hoyos, J. (2017). Evaluación del Estiércol de Vaca como Inóculo en la Digestión Anaerobia Termófila de Residuos Sólidos Urbanos. *Información tecnológica*, 28(3). Scielo. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642017000300004>

Camacho, R., Villada, H., & Hoyos, J. (2017). Evaluación del Estiércol de Vaca como Inóculo en la Digestión Anaerobia Termófila de Residuos Sólidos Urbanos. *Información tecnológica*, 28(3). Scielo. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642017000300004>

Camargo, Y., & Vélez, A. (2020). *EMISIONES DE BIOGAS PRODUCIDAS EN RELLENOS SANITARIOS*. REDISA. https://www.researchgate.net/profile/Andres-Velez-Pereira/publication/276062721_EMISIONES_DE_BIOGAS_PRODUCIDAS_EN_RELLENOS_SANITARIOS/links/5606714a08aeb5718ff2a9a2/EMISIONES-DE-BIOGAS-PRODUCIDAS-EN-RELLENOS-SANITARIOS.pdf

Campos, R., Alonso, A., Avalos, D., Asiain, A., & Lorenzo, J. (2013). Caracterización fisicoquímica de un efluente salobre de tilapia en acuaponia*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(5). Scielo. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342013000900007&script=sci_arttext

Cañal, M. J., Rodríguez, R., Fernández, B., Sánchez, R., & Majada, J. (2016). *Fisiología del cultivo in vitro*, 1(1). IBP. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/59/47>

Cann, J. M. (2001). Maize and Grace: History, Corn, and Africa's New Landscapes, 1500–1999. *Maize and Grace: History, Corn, and Africa's New Landscapes*, 43(2). 10.1017/S0010417501003486

Cano, M., Bennet, A., Silva, E., Robles, S., Sainos, U., & García, C. (2016). *Caracterización de bioles de la fermentación anaeróbica de excretas bovinas y porcinas*. Dialnet. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6352642>

Cenipalma. (1998). *CICLO DE CURSOS DE ACTUAL"1'2A ON DE CONOCIMIENTOS SOBRE SUELOS CON APLICACION EN EL CULTIVO DE PALMA DE ACEITE*.

Cenipalma.

https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/13672/59581_51848.pdf?sequence=1&isAllowed=y#page=72

Cepero, L., Savran, V., Blanco, D., Díaz, M. R., Suárez, J., & Palacios, A. (2012). Producción de biogás y bioabonos a partir de efluentes de biodigestores. *Pastos y Forrajes*. Scielo. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942012000200009

Chaux, G., Caicedo, J. R., & Fernández, J. E. (2013). TRATAMIENTO DE EFLUENTES PISCÍCOLAS (TILAPIA ROJA) EN LAGUNAS CON *Azolla pinnata*. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(2), 2013.

<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n2/v11n2a06.pdf>

Chen, Y., Cheng, J., & Creamer, K. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99(10), 4044-4064. ELSEVIER.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>

Chiriboga, O. (2010). DESARROLLO DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIOGÁS Y FERTILIZANTE ORGÁNICO A PARTIR DE MEZCLAS DE DESECHOS DE PROCESADORAS DE FRUTAS. *Residuos Orgánicos*.

<http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/741>

CIESIQA. (2017). *Primer Congreso de Ingeniería Ambiental e Ingeniería Química del Sureste de México*.

https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/56292795/Memorias_del_I_congreso_de_IA_e_IQ_del_Sureste_de_Mexico-libre.pdf?1523437609=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DMemorias_del_I_congreso_de_IA_e_IQ_del_S.pdf&Expires=1676908002&Signature=QBEZqJ

Cook, S., Skerlos, S., Raskin, L., & Love, N. (2017). A stability assessment tool for anaerobic codigestion. *Water Research*. ELSEVIER.

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.027>

Córdoba, E., Gomez, D., & Santalla, E. (2016). Estudio de la cinética de la digestión anaeróbica de residuos orgánicos y agroindustriales. *Otras Ingeniería del Medio Ambiente*. CONICET. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/84167>

Córdoba, P. R., & Siñeriz, F. (2010). *Determinación de la demanda química de oxígeno de aguas residuales de agroindustrias por colorimetría con reactivo concentrado*.

SEDICI. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/15613>

Deloya, A. (2003). Evaluación del sistema de tratamiento de aguas. *Tratamiento de aguas residuales*, 12. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5678831.pdf>

Del Valle, M., Gropelli, E., & Campanella, E. A. (2011). Revisión de las principales tecnologías de purificación de biogás. *Ingeniería del Petróleo, Energía y Combustibles*.

CONICET. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/12932>

Domínguez, J. M., Román, A. D., García, F. P., & Sandoval, O. A. (2012). Sistema de Notación Munsell y CIELab como herramienta para evaluación de color en suelos.

Revista mexicana de ciencias agrícolas, 3(1).

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-

09342012000100010

Espinoza, M., León, Y., & Rodríguez, X. (2013). Problemática de la determinación de especies nitrogenadas (nitrógeno total y amoniacal) en aguas residuales. *CENIC*, 44.

<https://revista.cnic.cu/index.php/RevQuim/article/download/390/322>

FAO. (2011). *Manual del biogás*. Manual de biogás.

<https://www.fao.org/3/as400s/as400s.pdf>

Flores, E., Juscamaita, J., & Quipuzco, L. (2018). EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE BIOL DE SEGUNDA GENERACIÓN PRODUCIDO MEDIANTE FERMENTACIÓN HOMOLÁCTICA DEL BIOL DE PRIMERA GENERACION DE ESTIERCOL VACUNO.

VII Congreso de Residuos Sólidos en el Perú: Minimización, Valorización, Logística, Tratamiento y Disposición Final. VII Congreso de Residuos Sólidos en el Perú.

<http://ueupsfc.com.pe/wp-content/uploads/2019/08/libro-de-resumenes-1.pdf#page=28>

Gamborg, O. (1991). generalidades composición y preparación.. *Plant Tissue Culture Manual*, 1-24. SpringerLink. https://doi.org/10.1007/978-94-009-0103-2_1

García, O., Pedroza, A., Chávez, J., & Trejo, R. (2015). Evaluación de fuentes de materia orgánica fecal como inóculo en la producción de metano. *Tecnología y ciencias del agua*, 6(2). Scielo.

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-

24222015000200003

García-Lara, S., & Serna-Saldivar, S. (2019). Chapter 1 - Corn History and Culture. *Chemistry and Technology*, 1-18. ScienceDirect. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00001-2>

Garfi, M., Herrero, J., Garwood, A., & Ferrer, I. (2016). Household anaerobic digesters for biogas production in Latin America: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 60, 599-614. ELSEVIER. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.01.071>

Genovesi, A. D. (1990). Maize (*Zea mays* L.): In Vitro Production of Haploids. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, 12, 176-203. SpringerLink. https://doi.org/10.1007/978-3-642-61499-6_7

González, R. (2020). Digestores de Domo Fijo (DDF). Principios de Funcionamiento. *Digestión Anaerobia de Sustratos Orgánicos Complejos para la producción de biogás y utilización energética integral del biogás producido*. DOI:10.13140/RG.2.2.23792.81923

Huang, L., & Murashigue, T. (1977). Plant tissue culture media: Major constituents, their preparation and some applications. *Tca Manual*, 3, 539–548. <https://doi.org/10.1007/BF00918758>

Igoni, H., Ayotamuno, M., Eze, C. L., Ogaji, S. O., & Probert, S. D. (2008). Designs of anaerobic digesters for producing biogas from municipal solid-waste. *Applied Energy*, 85(6). ELSEVIER. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2007.07.013>

Illis, H. (2000). Homeotic Sexual Translocations and the Origin of Maize (*Zea Mays*, Poaceae): A New look at an old problem. *Economic Botany*, 54. Springer Link. <https://doi.org/10.1007/BF02866598>

Illis, H., & Doebley, J. (1980). TAXONOMY OF ZEA (GRAMINEAE). II. SUBSPECIFIC CATEGORIES IN THE ZEA MAYS COMPLEX AND A GENERIC SYNOPSIS. *American*

López, G. (2002). Metodo Estandarizado Determinacion de AGV. *MÉTODO ESTANDARIZADO DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES (AGV's) POR DESTILACIÓN*, (1).

https://www.academia.edu/19675335/Metodo_Estandarizado_Determinacion_de_AGV

Lu, Y., Hokin, S., Kermicle, J., Hartwig, T., & Evans, M. (2019). A pistil-expressed pectin methylesterase confers cross-incompatibility between strains of *Zea mays*. *Nature communications*, 10(2304). Nature. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10259-0>

Luna, M. (2011). Efluente Piscícolas: Características Contaminantes, Impactos y Perspectivas de Tratamient. *Journal de ciencia e ingeniería*, 3(1). Uniautonoma.

Malpica, P., & Quispe, M. (2015). *Producción y evaluación de la calidad del biogas y biol en un biodigestor usando estiércol de codorniz de la granja V.A. Velebit S.A.C. ubicada en el distrito de Lurigancho - Chosica*. Repositorio BAN.

<http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/2153>

Manrique, L., Barragán, M. V., & Peláez, M. (2012). Evaluación de inóculos para la digestión anaerobia de aguas residuales domésticas en condiciones del Piedemonte Amazónico. *Momentos de ciencia*, 9(2). Universidad de la amazonia.

<https://www.uniamazonia.edu.co/documentos/docs/Vicerectoria%20de%20Investigacion%20y%20Posgrados/Publicaciones/Revistas/Momentos%20de%20Ciencia/2012/Volumen%209%20No.%202/97-101.pdf>

Medina, A., Quipuzco, L., & Juscamaita, J. (2015). Evaluación de la calidad de biol de segunda generación de estiércol de ovino producido a través de biodigestores. *Ciencias agrícolas y biológicas*, 76(1). La molina. <https://doi.org/10.21704/ac.v76i1.772>

- Medina, A., Quipuzco, L., & Juscamaita, J. (2015). Evaluación de la calidad de biol de segunda generación de estiércol de ovino producido a través de biodigestores. *Anales Científicos*, 76(1). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6171095>
- Méndez, M., Peña, E., Lago, S., Batista, Y., & Hernández, A. (2017). Producción de biol y determinación de sus características físico-químicas. *Ojeando la Agenda*. ISSN 1989-6794
- Morales, R. P., Cedeño, Z. P., & Armijos, J. S. (2015). El plátano verde en la matriz productiva de la zona 8 de Ecuador. *Memorias del congreso*. <https://doi.org/10.1234/y.ch.v0i0.148>
- Moreno, M., Pineda, J., Colinas, M., & Sahagún, J. (2020). El oxígeno en la zona radical y su efecto en las plantas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(4).
- Muñoz, D., Cuenca, C., Banchón, C., & Galeas, G. (2020). Valoración de desechos de banano (*Musa Acuminata Cavendish Subgroup*) y cacao (*Theobroma cacao*) mediante producción de compost y biol. *3c Tecnología: glosas de innovación aplicadas a la pyme*, 9(1). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7288109#>
- Muñoz, M. B., Contreras, A. M., Santos, R. F., Regla, E. R., & Cárdenas, T. M. (2020). Resultados del procedimiento de digestión anaeróbica para el tratamiento de residuos sólidos urbanos en Ecuador. *Revista Científica INGENIAR: Ingeniería, Tecnología e Investigación*, 3(6). Jorunalin Ingeniar. <https://doi.org/10.46296/ig.v3i6.0017>
- Murashigue, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

Ochoa, R., & Rivera, C. (2016). Aplicación de Biol y riego por goteo en diferentes cultivares de cañahua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) en la Estación Experimental Choquenaira. *RIIARn*, 3. Scielo.

http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2409-16182016000100005&lng=es&nrm=iso

Orellana, T., Manzano, P., Chávez, E., Ruiz, O., León, R., Manzano, A., & Peralta, E. (2013). Estándares de fermentación y maduración artesanal de Bioles. *Yachana*, 2(1). Yachana. <https://doi.org/10.1234/yach.v2i1.186>

Ortega, L., Rodríguez, S., Muñoz, E., & Bárcenas, L. (2015). Principales métodos para la desulfuración del biogás. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 36(1). Scielo.

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1680-03382015000100004&script=sci_arttext&tlng=pt

Parra, D., Botero, M., & Botero, J. (2019). Biomasa residual pecuaria: revisión sobre la digestión anaerobia como método de producción de energía y otros subproductos. *Revista UIS Ingenierías*, 18(1). <https://doi.org/10.18273/revuin.v18n1-2019013>

Parra Huertas, R. A. (2015). Digestión anaeróbica: mecanismos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria. *Producción + Limpia*, 10(2). Scielo. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552015000200014

Paz, R., & Pezantes, Z. (2013). POTENCIALIDAD DEL PLÁTANO VERDE EN LA NUEVA MATRIZ PRODUCTIVA DEL ECUADOR. *Artículos de revisión*, 2(2). Yachana. <https://doi.org/10.1234/yach.v2i2.47>

Pereyra, C. G. (2022). *Biofertilizante a partir de residuos bovinos y porcinos para su uso en la producción agrícola*. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS FACULTAD DE

CIENCIAS AGRONÓMICAS CAMPUS V.

<http://148.222.11.200/jspui/bitstream/123456789/3803/1/L140076%20Cecilia%20Guadalupe%20Pereyra%20Tamayo%20-%20CECILIA%20GUADALUPE%20PEREYRA%20TAMAYO.pdf>

Pérez, A. (2008). *Indices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables*. Redalyc.

<https://www.redalyc.org/pdf/2913/291323482002.pdf>

Pérez, A., & Torres, P. (2008). Indices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. *Ingeniería y Competitividad*, 10(2). Universidad del Valle. <https://www.redalyc.org/pdf/2913/291323482002.pdf>

Pérez, M., Peña, E., Amado, S., & Hechemendía, L. (2018). Título: Producción de biol y determinación de sus características físico-químicas. *Micronutrients*.

https://www.researchgate.net/publication/326841755_Titulo_Produccion_de_biol_y_determinacion_de_sus_caracteristicas_fisico-quimicas

Polo, J., Torrecillas, A., & Robles, A. (2018). *Tratamientos biológicos de aguas residuales 3ª edición*. TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS DE AGUAS RESIDUALES.

https://gdocu.upv.es/alfresco/service/api/node/content/workspace/SpacesStore/935a8d7c-2081-4d74-9f7c-bf3ad9e69bb4/TOC_0358_03_03.pdf?guest=true

Puente, P. D. (2012). Estudio de la Digestión Anaeróbica de Desechos de Fruta en la Planta Piloto del Laboratorio de Desarrollo de Energías Alternativas. *UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO*.

<https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/5991/1/104813.pdf>

Quipuzco, L., Baldeón, W., & Tang, O. (2011). Evaluación de la calidad de biogas y biol a partir de dos mezclas de estiércol de vaca en biodigestores tubulares de PVC.

Artículos científicos, 14(27). <https://doi.org/10.15381/iigeo.v14i27.690>

Romero Bonilla, H., Macías Balón, C., Palacios Morenos, A., & Pezantes, F. R. (2019). Estudio cinético de la producción de bioetanol a partir de residuos agroindustriales de la cáscara de banano maduro. *Industrial Data*, 22(1). :

<http://dx.doi.org/10.15381/idata.v22i1.16534>

Rosas, A. (2009). *Koha online catalog › Details for: Agricultura orgánica práctica - Alternativas tecnológicas para una agricultura sostenible y sustentable*. Koha online catalog. <http://koha.ideam.gov.co/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=4454424>

Rubio, V., Pérez, M., Beretta, A., Barolin, E., & Quincke, A. (2019). Impacto de propiedades físico-químicas en la estabilidad estructural de molisoles. *Ciencia del suelo*, 37(2). Scielo.

Sáez, A., & Urdaneta, J. (2014). *Manejo de residuos sólidos en América Latina y el Caribe*. Redalyc. <https://www.redalyc.org/pdf/737/73737091009.pdf>

Sainz Sastre, J. A. (2005). *Tecnologías para la sostenibilidad : procesos y operaciones unitarias en depuración de aguas residuales*. Fundación Escuela de Organización Industrial. <https://www.eoi.es/es/savia/publicaciones/76626/tecnologias-para-la-sostenibilidad-procesos-y-operaciones-unitarias-en-depuracion-de-aguas-residuales>

Samaniego, J. (2022). Preparación de biol a partir de residuos orgánicos.

REDBIOLACK, 6(1).

<http://www.revistaredbiolac.org/index.php/revistaredbiolac/article/view/28>

Samaniego, J., & Sandoval, A. (2013). Potential uses of volatile fatty acids in soil, water and air. *Usos potenciales de los ácidos grasos volátiles en suelo, agua y aire*, 31(2).

Scielo. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792013000300155

Sánchez, J. J., Goodman, M. M., & Rawlings, J. O. (1993). Appropriate characters for racial classification in maize. *Economic Botany*, 47, 44-59. SpringerLink.

<https://doi.org/10.1007/BF02862205>

Sandoval, H., Gómez, J., & Pardo, O. (2012). *Caracterización de un suelo arcilloso tratado con hidróxido de calcio*. Redalyc.

<https://www.redalyc.org/pdf/4139/413940771003.pdf>

Solíz, M. F. (2015). Ecología política y geografía crítica de la basura en el Ecuador.

Letras Verdes, (17). Letras Verdes. Ecología política y geografía crítica de la basura en el Ecuador

Souza, J., & Schaeffer, L. (2013). SISTEMA DE COMPRESIÓN DE BIOGÁS Y BIOMETANO. *Información tecnológica*, 24(6). Scielo.

https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642013000600002&script=sci_arttext&tlng=en

Splittstoesser, W.E. (1990). *Vegetable Growing Handbook*. Springer US.

Staller, J. (2009). Ethnohistory: Impressions and Perceptions of Maize. *Maize Cobs and Cultures: History of Zea mays L.*, 7-83. Springer Link. https://doi.org/10.1007/978-3-642-04506-6_2

Staller, J. (2010). An Introduction to Maize Cobs and Cultures. *Maize Cobs and Cultures: History of Zea mays L.* https://doi.org/10.1007/978-3-642-04506-6_1

Strable, J., & Scanlon, M. (2009). Maize (*Zea mays*): A Model Organism for Basic and Applied Research in Plant Biology. *Emerging Model Organism*. 10.1101/pdb.emo132 Cold Spring Harb Protoc 2009.

Sturtevant, E. L. (1989). *Varieties of Corn*. U.S. Government Printing Office.
https://books.google.com.ec/books/about/Varieties_of_Corn.html?id=FcYstQEACAAJ&redir_esc=y

Thomas, S. (1997). El cultivo de Plátano. <https://bdigital.zamorano.edu/items/200301c1-faf9-4c37-acbf-98d2d294f84d>

Toala, V. A., Ventura, R. B., Castro, V., & Julca, A. (2018). Caracterización de fincas productoras de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Santo Domingo de Los Tsáchilas, Ecuador. *Bosques Latitud Cero*, 8(2).

<https://revistas.unl.edu.ec/index.php/bosques/article/view/493/388>

Tovar, L. X., Florez, L., & Gaitan, L. (2022). *Diseño de biodigestores para la optimización de procesos de producción de biogás a partir de residuos orgánicos en granjas porcícolas*. Diseño de biodigestores para la optimización de procesos de producción de biogás a partir de residuos orgánicos en granjas.

<https://repository.universidadean.edu.co/bitstream/handle/10882/11826/FlorezLiliana2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Villanueva, F., Ávila, M., Mansilla, A., Abades, S., & Cáceres, J. (2013). EFECTO DE AUXINAS Y CITOQUININAS EN EL CULTIVO DE TEJIDO DE *AHNfeltia plicata* (HUDSON) FRIES, 1836 (AHNFELTIALES, RHODOPHYTA) DE LA REGIÓN DE MAGALLANES. *Anales del Instituto de la Patagonia*, 41(1). Scielo.

<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-686X2013000100009>

Weatherwax, P. (1950, Julio). The History of Corn. *The Scientific Monthly*, 71(1), 50-60.

JSTOR. <http://www.jstor.org/stable/20077>

Weiland, P. (2010). Biogas production: current state and perspectives. *Applied*

Microbiology and Biotechnology, 85, 849-860. SpringerLink.

<https://doi.org/10.1007/s00253-009-2246-7>

Yaneth, M. (2016). *Capítulo 2: Análisis gravimétrico en aguas*. Repositorio Institucional.

<https://repository.usta.edu.co/handle/11634/33952>

Yongxian Lu, Hokin, S., Kermicle, J., Hartwig, T., & Evans, M. (2019). A pistil-expressed

pectin methylesterase confers cross-incompatibility between strains of *Zea mays*. *Nature*

communications, 10(2304). Nature. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10259-0>

Zuma, J., Camacho, A., Acaro, J., & Romero, H. (2018). Aprovechamiento de residuos

sólidos urbanos mediante su co-digestión anaerobia con cáscara de banano maduro.

Conference Proceedings UTMACH, 2(1).

[https://www.researchgate.net/publication/328266038_Aprovechamiento_de_residuos_so](https://www.researchgate.net/publication/328266038_Aprovechamiento_de_residuos_solidos_urbanos_mediante_su_co-digestion_anaerobia_con_cascara_de_banano_maduro)

[lidos_urbanos_mediante_su_co-digestion_anaerobia_con_cascara_de_banano_maduro](https://www.researchgate.net/publication/328266038_Aprovechamiento_de_residuos_solidos_urbanos_mediante_su_co-digestion_anaerobia_con_cascara_de_banano_maduro)