

UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

Influencia del tiempo de activación del biol con microorganismos de montaña en la producción de estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) en condiciones de vivero en La Merced – Chanchamayo

Para optar el título profesional de:

Ingeniero Agrónomo

Autor:

Bach. Vilma Noemi ERAZO CHAVEZ

Bach. Yanesa Natali SEDANO VELASQUEZ

Asesor:

Ing. Iván SOTOMAYOR CORDOVA

La Merced – Perú - 2025

UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



T E S I S

Influencia del tiempo de activación del biol con microorganismos de montaña en la producción de estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) en condiciones de vivero en La Merced – Chanchamayo

Sustentada y aprobada ante los miembros del jurado:

Dr. Luis Antonio HUANES TOVAR
PRESIDENTE

Dr. Carlos Adolfo DE LA CRUZ MERA
MIEMBRO

Mg. José Hernán RODRIGUEZ HUATAY
MIEMBRO



Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Unidad de Investigación

INFORME DE ORIGINALIDAD N° 053-2025/UFCCA/V

La Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión ha realizado el análisis con exclusiones en el software antiplagio Turnitin Similarity, que a continuación se detalla:

Presentado por
ERAZO CHAVEZ, Vilma Noemi
SEDANO VELASQUEZ, Yanesa Natali

Escuela de Formación Profesional
Agronomía – La Merced

Tipo de trabajo
Tesis

Influencia del tiempo de activación del biol con microorganismos de montaña en la producción de estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) en condiciones de vivero en La Merced – Chanchamayo

Asesor
Ing. SOTOMAYOR CORDOVA, Iván

Índice de similitud
13 %

Calificativo
APROBADO

Se adjunta al presente el reporte de evaluación del software anti-plagio.

Cerro de Pasco, 19 de setiembre de 2025



Firmado digitalmente por HUANES
TOVAR Luis Antonio FAU
20154605046 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 19.09.2025 12:31:39 -05:00

Firma Digital
Director UIFCCA/V

c.c. Archivo
LHT/UFCCA/V

DEDICATORIA

A Dios quien me guía y me da fuerza
necesaria para poder hacer este sueño
realidad, con admiración y respeto a mis
padres por el esfuerzo, sacrificio,
confianza y persistencia depositada en
mí.

Noemy E.

A Dios por darme fuerza para culminar esta
etapa en mi vida. Agradezco también a mis
padres por enseñarme el valor del esfuerzo que
con su amor incondicional y el apoyo constante
han sido mi guía para seguir mis objetivos.

Yanesa S.

AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento a Dios, quien nos ha guiado y nos ha dado la fortaleza para seguir adelante, permitiéndonos sonreír ante todo nuestros logros, también a todas las personas e instituciones que han contribuido en el desarrollo de nuestro trabajo de investigación, particularmente:

1. A la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Formación Profesional de Agronomía – Filial La Merced; por habernos albergado y haber hecho posible nuestra formación académica a través de las enseñanzas impartidas por los docentes.
2. Al Dr. Luis Huanes Tovar, por habernos permitido realizar nuestra investigación en el vivero de Stevia a su cargo
3. A nuestro asesor Ing. Iván Sotomayor Córdova, por su dedicación y su motivación que nos otorgó día tras día.
4. Así mismo a nuestros familiares, amigos y esa persona especial que de alguna u otra manera nos han apoyado a lo largo de este camino y que hoy podemos decir a todos Meta Cumplida...

RESUMEN

La presente investigación, se realizó en el distrito y provincia de Chanchamayo, en los meses de agosto a diciembre del año 2024, evaluando la influencia del tiempo de activación del biol con microorganismos de montaña en la producción de estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) para optimizar la producción de Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) en la Selva Central del Perú. a nivel de vivero, evaluando el crecimiento aéreo, biomasa y producción. Con los siguientes tratamientos: T1: 7 días de activación (Testigo), T2: 14 días de activación, T3: 21 días de activación, T4: 28 días de activación y T5: 35 días de activación. Las evaluaciones se realizaron cada 15 días hasta los 60 días, se extrajo de la cama de cultivo 4 plantas por cada tratamiento evaluando los siguientes indicadores: Altura de plantas (cm), peso fresco de la planta (g), número de ramas (unidades), número de hojas/planta (unidades), peso fresco de las hojas (g), peso seco de las hojas (g) y rendimiento (kg/Ha). Obteniendo los mejores valores en el T2: 14 días de activación, para la altura de planta con 34.58 cm; el mejor número de ramas con 8.25 ramas promedio, el mejor valor para el número de hojas con 205.5 hojas promedio, el mejor peso fresco y seco de las hojas con 49.45 y 7.70 g. respectivamente; y para el peso fresco de la planta se logró en el T4 y T3: con 28 y 21 días de activación respectivamente con 25.50 g para ambos tratamientos. Por lo que podemos afirmar que se acepta la hipótesis de investigación que el tiempo de activación del biol elaborado con microorganismos de montaña influirá en la producción de estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) en condiciones de vivero en La Merced – Chanchamayo y que los microorganismos de montaña tienen un determinado tiempo de crecimiento y capacidad de actuar sobre los sustratos orgánicos para favorecen su absorción por las plantas.

Palabra clave: Stevia rebaudiana, Biol, tiempo de activación, microorganismos de montaña

ABSTRACT

This research was carried out in the district and province of Chanchamayo, from August to December 2024, evaluating the influence of the activation time of the biol with mountain microorganisms on the production of stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) to optimize the production of Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) in the Central Jungle of Peru. at the nursery level, evaluating aerial growth, biomass and production. With the following treatments: T1: 7 days of activation (Control), T2: 14 days of activation, T3: 21 days of activation, T4: 28 days of activation and T5: 35 days of activation. Evaluations were carried out every 15 days until 60 days, 4 plants were extracted from the cultivation bed for each treatment evaluating the following indicators: Plant height (cm), fresh weight of the plant (g), number of branches (units), number of leaves / plant (units), fresh weight of the leaves (g), dry weight of the leaves (g) and yield (kg / Ha). Obtaining the best values for plant height with 34.58 cm; the best number of branches with 8.25 average branches, the best value for the number of leaves with 205.5 average leaves, the best fresh and dry weight of the leaves with 49.45 and 7.70 g respectively; and for the fresh weight of the plant it was achieved in T4 and T3: with 28 and 21 days of activation respectively with 25.50 g for both treatments. Therefore, we can affirm that the research hypothesis that the activation time of the biol produced with mountain microorganisms will influence the production of stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) under nursery conditions in La Merced - Chanchamayo is accepted. Mountain microorganisms have a specific growth time and the ability to act on organic substrates to promote their absorption by plants.

Keywords: *Stevia rebaudiana*, Biol, activation time, mountain microorganisms

INTRODUCCIÓN

La creciente contaminación de cultivos tradicionales en la selva central, producto del cambio climático, impulsa el cultivo de stevia como alternativa socioeconómica clave. El aumento de la temperatura, radiación UV y humedad, ocasionado por el cambio climático, genera enfermedades y plagas en cultivos como el café y los cítricos. Dada la importancia global de la agricultura y los efectos nocivos del uso excesivo de agroquímicos, la stevia emerge como una opción sostenible. (FAO-UNESCO, 1996)

La stevia (*Stevia rebaudiana B.*) se presenta como una alternativa prometedora para la diversificación de cultivos. Sus hojas, un edulcorante natural con beneficios para la salud, prosperan en climas tropicales y subtropicales (0-1700 msnm). Su intenso dulzor (hasta 300 veces mayor al de la sacarosa), gracias a los esteviosidos, la hace útil en diversos sectores: salud humana, ganadería y agricultura (Callisaya, 2013). Si bien se necesitan más investigaciones para confirmar completamente todos sus beneficios, se atribuyen a la Stevia varios beneficios para la salud, principalmente relacionados con su capacidad de endulzar sin aportar calorías y su posible impacto en el control de la glucosa en sangre. Algunos estudios sugieren que la Stevia podría ayudar a regular los niveles de azúcar en sangre, lo que podría ser beneficioso para personas con diabetes o prediabetes. Sin embargo, es crucial destacar que no reemplaza la medicación ni una dieta adecuada en estos casos.

Para garantizar su inocuidad, la producción de Stevia debe ser orgánica, evitando los fertilizantes sintéticos y sus potenciales efectos adversos a largo plazo (Gatica, 2009). Los microorganismos desempeñan roles cruciales en el equilibrio ecológico, existiendo tanto patógenos (causantes de enfermedades y contaminación) como microorganismos benéficos (Castro et al., 2015).

La influencia de los microorganismos de montaña en la producción orgánica de Stevia es significativa y multifacética. Estos microorganismos juegan un papel crucial en la salud del suelo y, por ende, en el crecimiento y rendimiento de la planta. Su impacto se puede observar en varios aspectos; recomendando que su colección se debe de realizar de ecosistemas libres de agroquímicos (al menos tres años). Los microorganismos del suelo, como bacterias y hongos, descomponen la materia orgánica, liberando nutrientes esenciales (nitrógeno, fósforo, potasio, etc.) que la Stevia puede absorber. Esta función microbiana es especialmente importante para una producción orgánica exitosa. Una mayor diversidad microbiana suele traducirse en una mayor disponibilidad de nutrientes (Rodríguez, 2014).

Aunque el cultivo de stevia (*Stevia rebaudiana*) en Perú ha crecido, alcanzando aproximadamente 500 hectáreas (INCAGRO, 2008), la producción actual no satisface la demanda nacional e internacional. Además, se carece de información sobre la superficie dedicada al cultivo de stevia en la Selva Central.

La utilización de microorganismos de suelos de montaña en el cultivo de stevia se presenta como una opción de diversificación agrícola orgánica para los agricultores de la Selva Central. Se sugiere un estudio para determinar su impacto en el crecimiento y la salud de las plántulas de stevia en viveros, con el objetivo de acelerar su desarrollo y prevenir enfermedades.

Considerando que el tiempo de activación adecuado permite la multiplicación de los microorganismos de montaña en el biofertilizante. Un tiempo insuficiente resultará en una baja concentración de microorganismos, limitando su impacto en el crecimiento de la stevia. Por el contrario, un tiempo excesivo podría llevar a la disminución de la actividad microbiana o incluso a la muerte de algunos microorganismos por agotamiento de nutrientes o acumulación de metabolitos tóxicos. Asimismo, muchos

microorganismos de montaña producen metabolitos que promueven el crecimiento vegetal o inhiben patógenos. Un tiempo de activación óptimo asegura la producción suficiente de estos metabolitos, maximizando el beneficio para la stevia. Un tiempo inadecuado podría afectar negativamente la producción de estos compuestos.

Considerando que muchos microorganismos benéficos producen metabolitos que promueven el crecimiento vegetal o inhiben patógenos. Un tiempo de activación óptimo asegura la producción suficiente de estos metabolitos, maximizando el beneficio para la stevia. Un tiempo inadecuado podría afectar negativamente la producción de estos compuestos.

Por lo que es necesario determinar si el tiempo de activación del biol elaborado con microorganismos de montaña influye en la producción de estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) en condiciones de vivero en La Merced – Chanchamayo.

INDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN

INDICE

INDICE DE TABLAS

INDICE DE GRÁFICOS

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Identificación y determinación del problema.....	1
1.2. Delimitación de la investigación.....	4
1.3. Formulación del problema	5
1.3.1. Problema general.....	5
1.3.2. Problemas específicos	5
1.4. Formulación de objetivos.....	5
1.4.1. Objetivo general	5
1.4.2. Objetivos específicos	5
1.5. Justificación de la investigación	6
1.6. Limitaciones de la investigación.....	9

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio.....	10
2.2. Bases teóricas - científicas	12

2.2.1. Los microorganismos de montaña	12
2.2.2. El biol	16
2.2.3. Tiempo de activación del biol	17
2.2.4. Importancia del tiempo de activación del biol	18
2.2.5. Formas de aplicación del biol	20
2.2.6. El cultivo de la Stevia rebaudiana	21
2.3. Definición de términos básicos	27
2.4. Formulación de hipótesis	29
2.4.1. Hipótesis general	29
2.4.2. Hipótesis específicas	29
2.5. Identificación de variables	29
2.5.1. Variable independiente	29
2.5.2. Variable dependiente	29
2.6. Definición operacional de variables e indicadores	30

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA Y TÉCNICAS DE INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación	31
3.2. Nivel de investigación	31
3.3. Métodos de investigación	31
3.4. Diseño de investigación	32
3.5. Población y muestra	33
3.5.1. Población	33
3.5.2. Muestra	33
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	34
3.7. Selección, validación y confiabilidad de los instrumentos de investigación	34

3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	34
3.9. Tratamiento estadístico	34
3.10. Orientación ética filosófica y epistémica	35

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Descripción del trabajo de campo	36
4.1.1. Lugar de ejecución	36
4.1.2. Materiales y equipos	37
4.1.3. Materiales de escritorio	37
4.1.4. Equipos.....	37
4.1.5. Descripción de los tratamientos	38
4.1.6. Croquis de campo.....	38
4.1.7. Evaluación de las variables	38
4.1.8. Procedimiento y conducción del experimento	40
4.1.9. Manejo Agronómico	42
4.2. Presentación, análisis e interpretación de resultados	44
4.2.1. Altura de planta	44
4.2.2. Número de ramas	47
4.2.3. Peso fresco de la planta (g)	50
4.2.4. Número de hojas (unidades).....	52
4.2.5. Peso fresco de las hojas.....	55
4.2.6. Peso seco de las hojas (g).....	58
4.2.7. Producción de las plantas de Stevia	61
4.3. Prueba de hipótesis.....	64
4.4. Discusión de resultados.....	65

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Evolución del crecimiento de las plantas por tratamiento	45
Tabla 2. Análisis de Varianza para altura de planta a los 60 días	46
Tabla 3. Prueba de significación de Tukey al 5% para altura de planta a los sesenta días de cultivo.	47
Tabla 4. Número de ramas hasta los 60 días de cultivo	48
Tabla 5. ANVA para el número de ramas a los 60 días de cultivo	49
Tabla 6. Prueba estadística de Tukey al 5% para el número de ramas de Stevia a los 60 días de cultivo.....	49
Tabla 7. Peso fresco de las plantas en g. hasta los 60 días	50
Tabla 8. ANVA para el peso fresco de las plantas a los 60 días de cultivo	51
Tabla 9. Prueba de significación de Tukey al 5% para el peso fresco de las plantas a los sesenta días de cultivo.	52
Tabla 10. Número de hojas hasta los sesenta días de cultivo	52
Tabla 11. ANVA para el número de hojas de las plantas de Stevia a los 60 días de cultivo	53
Tabla 12. Prueba de significación de Tukey al 5% para el número de hojas de las plantas a los sesenta días de cultivo.....	54
Tabla 13. Peso fresco de las hojas en g. hasta los 60 días	55
Tabla 14. ANVA para el peso fresco de las hojas a los 60 días de cultivo	57
Tabla 15. Prueba de significación de Tukey al 5% para el peso fresco de las hojas a los sesenta días de cultivo.	57
Tabla 16. Peso (g) de las plantas de Stevia a los 60 días de cultivo.....	58
Tabla 17. ANVA para el peso seco de las hojas a los 60 días de cultivo.....	59

Tabla 18. Prueba estadística de Tukey al 5% para el peso seco de las hojas de Stevia a los 60 días de cultivo	60
Tabla 19. Producción (kg/Ha) de las plantas de Stevia a los 60 días de cultivo	61
Tabla 20. ANVA para la producción de las plantas de Estevia.....	62
Tabla 21. Prueba estadística de Tukey al 5% para la producción de las plantas de Stevia	63

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Evolución de la altura de las plantas hasta los 60 días de cultivo	45
Gráfico 2. Evolución del número de ramas hasta los 60 días de cultivo	48
Gráfico 3. Evolución del peso fresco de las plantas hasta los 60 días de cultivo	50
Gráfico 4. Evolución del número de hojas de planta de Stevia rebaudiana hasta los 60 días de cultivo	52
Gráfico 5. Evolución del peso fresco de las hojas de Stevia hasta los 60 días de cultivo	56
Gráfico 6. Peso (g) de las plantas de Stevia a los 60 días de cultivo.....	59
Gráfico 7. Producción de las plantas de Stevia a los 60 días de cultivo (kg/Ha)	61

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Identificación y determinación del problema

La selva peruana constituye uno de los espacios naturales más ricos en biodiversidad en nuestro planeta. Por tal motivo, resulta de importancia considerar las características de las actividades económicas en esta región para el sector agrícola con relación a las fortalezas que presenta, los problemas que afronta el productor y las oportunidades existentes.

Es pertinente afirmar que las actividades económicas más importantes desarrolladas en la selva peruana son agrícolas. Entre los aspectos más resaltantes se encuentran la elevada biodiversidad existente, las diferencias entre la diversidad biológica de la sierra andina y la amazónica, las limitaciones propias de la ecología de las áreas amazónicas y los potenciales problemas que podrían tener con un manejo que no llega a ser sostenible en el tiempo. (Canto & Garcia, 2020).

Astier, (1994). Manifiesta que la producción agrícola en la selva para diferentes cultivos, han logrado aumentos importantes en su rendimiento, pero

han ocasionado una dependencia tecnológica de insumos y de pesticidas sintéticos, lo que está causando un impacto negativo sobre el medio ambiente así como a la degradación de los recursos naturales y de nuestro ecosistema, lo que ha ocasionado la erosión del suelo y su contaminación; pero a pesar de ello, no ha sido capaz de solucionar el problema de la pobreza rural.

A consecuencia del empleo de estas prácticas de producción en forma intensiva desarrollada los últimos tiempos por la creciente demanda de alimentos y materias primas generadas por el aumento de nuestra población en el país en el mundo, ha ocasionado el deterioro de los recursos naturales. Al respecto, Gallopin, (1990); manifiesta: “*... que existe la necesidad de disminuir la tasa de degradación de los recursos naturales y mejorar o aumentar la productividad de los cultivos, lo que demanda desarrollar e implementar nuevas tecnologías para mejorar el manejo de los sistemas agrícolas...*” de igual manera propone, que para mejorar la calidad y fertilidad de los suelos es el necesario el uso de abonos orgánicos con la intención de disminuir el deterioro del medio ambiente y el recurso suelo. Los agricultores se enfrentan un doble reto: a) Conservar los recursos naturales usados y b) Aumentar la productividad.

Ante este problema, surge la necesidad de disminuir la tasa de degradación de los recursos naturales y aumentar la productividad, implementando nuevas tecnologías que sirvan para cumplir con este objetivo. Por eso, se busca que estas tecnologías incluyan la sostenibilidad “*...una agricultura sustentable es aquella que en el largo plazo, promueve la calidad del medio ambiente y los recursos base de los cuales depende la agricultura; provee las fibras y alimentos necesarios para el ser humano; es*

económicamente viable y mejora la calidad de vida de los agricultores y la sociedad en su conjunto..." (American Society of Agronomy, 2024).

Los principales cultivos en la Selva Central son el café, los cítricos, el kiwi y bananos, pero últimamente, se han vuelto poco rentables y es necesario encontrar otras alternativas agrícolas para satisfacer las necesidades económicas de los agricultores de esta zona. Estos cultivos serían plantas no cultivadas anteriormente para esta zona y que tengan buen rendimiento con la aplicación de técnicas modernas, los que también puedan ser vendidos en los mercados externos. Uno de estos cultivos es la Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni). Que es una planta una herbácea de aproximadamente 70 cm de alto, en cuyas hojas se encuentra un gran poder edulcorante, 300 veces más fuerte que el azúcar de caña. Es una planta selvática subtropical del alto Paraná en Uruguay, (Bendezu y Oseas, 2015).

En nuestro país, tiene buena acogida este cultivo, debido a los poderes curativos (Hipoglucemiante, Antibacteriano, Digestivo, Dietético, Cardiovascular, etc.), por lo que ha generado un alto precio y tiene una demanda aun insatisfecha, en el mercado nacional e internacional. Actualmente algunos agricultores se dedican a este cultivo, pero lo realizan en pequeñas parcelas; y los lugares de producción se encuentran en la Amazonía de nuestro país (Satipo, Pichanaki, Mazamari, San Martín, Bagua y Jaén). Según Infoagro. (2010), con mayor producción en Perú, esta planta se cultiva en diversas regiones, especialmente en el Valle del Alto Mayo, ubicado en la región de San Martín. Stevia One Peru SAC, es una empresa que se dedica al cultivo de estevia en el Valle del Alto Mayo. La empresa tiene experiencia de más de ocho años en la gestión del cultivo de estevia en la región, abarcando áreas de investigación y

desarrollo, así como producción agrícola pero son pocas las empresas y agricultores que se dedican al manejo y producción de Stevia. En forma general son pocos los que se dedican a esta actividad.

Las plantaciones de Stevia se viene incrementando en forma creciente por la mejora en los precios y mayor demanda de la producción y por lo tanto se necesita producir plantones de calidad; por lo que, con el presente trabajo de investigación se pretende determinar la dosis de biol a base de microorganismos de montaña como biofertilizante en la producción de Stevia en el vivero, con el fin de producir plantones de rápido crecimiento y hojas libres de enfermedades protegidos contra microorganismos patógenos, (Bendezu y Oseas, 2015).

La búsqueda de prácticas agrícolas sostenibles y eficientes ha llevado a la exploración de biopreparados, como el "biol," que se obtienen a partir de microorganismos beneficiosos, para mejorar el crecimiento y la producción de cultivos. En particular, los microorganismos de montaña tienen características únicas que pueden influir positivamente en la producción de cultivos como la Stevia. Con esta investigación se propone evaluar la influencia del tiempo de activación del biol con microorganismos de montaña en la producción de estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni). López & Torres, (2019).

La presente investigación, se realizará en el distrito y provincia de Chanchamayo, en los meses de agosto a diciembre del año 2024.

1.2. Delimitación de la investigación

La presente investigación tiene como objetivo determinar la importancia de los tiempos de activación del biol con microorganismos de montaña para mejorar la producción del cultivo de Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) en la

selva Central de nuestro país, con la intención de brindar una alternativa a los agricultores de nuestra zona y mejorar su sistema de producción de este cultivo.

1.3. Formulación del problema

1.3.1. Problema general

¿El tiempo de activación del biol elaborado con microorganismos de montaña influirá en la producción de estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) en condiciones de vivero en La Merced – Chanchamayo?

1.3.2. Problemas específicos

- a. ¿El tiempo de activación del Biol con MM, tendrá influencia para incrementar el crecimiento aéreo de la planta?
- b. ¿El tiempo de activación del Biol con MM, tendrá influencia para incrementar la biomasa de Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni)
- c. ¿El tiempo de activación del Biol con MM, tendrá influencia en la producción de Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni)?

1.4. Formulación de objetivos

1.4.1. Objetivo general

Determinar la influencia del tiempo de activación del biol elaborado con microorganismos de montaña en la producción de estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) en condiciones de vivero en La Merced – Chanchamayo

1.4.2. Objetivos específicos

- a. Evaluar la influencia del tiempo de activación del Biol con MM, para incrementar el crecimiento aéreo Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni)
- b. Determinar la influencia del tiempo de activación del Biol con MM, para incrementar la biomasa de Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni)

- c. Evaluar la influencia del tiempo de activación del Biol con MM, para incrementar la producción de Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni)

1.5. Justificación de la investigación

Castro y Gonzales (2020) destacan la importancia creciente de los microorganismos de montaña, tanto en su forma sólida como en biofertilizantes líquidos, para mejorar diversos procesos. Estos microorganismos actúan como un inóculo que promueve la salud del suelo, controla enfermedades, facilita la absorción de nutrientes, descompone materia orgánica y optimiza la producción animal, entre otras aplicaciones. Por otro lado, González et al. (1990) proponen dos estrategias para mejorar la calidad del suelo: la fertilización química o la incorporación de materia orgánica para reponer nutrientes, y la reactivación y uso de microorganismos simbióticos que favorecen la nutrición vegetal, como las bacterias *Rhizobium* (fijación de nitrógeno) y los hongos micorrízicos (absorción de fósforo).

González et al, (1990), manifiesta que la calidad del suelo se puede recuperar aportando al suelo los principios químicos extraídos por las cosechas, con el uso de fertilizantes químicos sintéticos o bien mediante la reincorporación de materia orgánica. Otra alternativa para mejorar la calidad del suelo y obtener altos rendimientos, es mediante la reactivación y el uso de microorganismos simbióticos, los cuales se asocian con las raíces de las plantas propiciando a que la planta realice una alimentación adecuada, ejemplo puede ser, incrementando la disponibilidad de nitrógeno por las bacterias *Rhizobium*, añadir los hongos micorrízicos para mejorar la absorción de fósforo.

Los mismos autores manifiestan que para impulsar el incremento de la productividad en los cultivos agrícolas y conservar los recursos naturales, se

debe incentivar el uso de microorganismos simbióticos benéficos para la agricultura como son los microorganismos de montaña (MM), los cuales pueden ser suministrados en forma sólida o líquida (bioles). Estos microorganismos, son considerados como buenos fertilizantes para incrementar la productividad agrícola, y representan un potencial para generar una agricultura sostenible porque mejora la fertilidad del suelo, manteniendo en equilibrio el ecosistema agrícola sostenible.

Campos et al (2014), manifiestan que en investigaciones se reporta que la aplicación de biol obtenido en un tiempo de activación óptimo mejora el crecimiento, la biomasa y la concentración de glucósidos en Stevia rebaudiana. En contraste, tiempos de activación muy cortos o muy largos pueden resultar en una menor eficacia del biol.

Los mismos autores sostienen que los microorganismos de montaña (MM), están constituidos por colonias de hongos, bacterias y levaduras benéficas que se encuentran de manera natural en diferentes ecosistemas, los cuales generan descomposición de la materia orgánica, que se convierte en los nutrientes necesarios para el desarrollo de la vegetación (por ejemplo, bosques mixtos y latifoliados, plantaciones de diversos cultivos, plantaciones de bambú, entre otros) y que el biol puede ser aplicado en riego o como fertilizante foliar. La frecuencia y las dosis deben ajustarse según el desarrollo de la planta y las necesidades nutricionales.

Las reacciones biológicas del suelo-plantas-microorganismos, se realiza preferentemente en el suelo, denominada rizósfera y entre los efectos más importantes de estas reacciones es la influencia recíproca que se genera entre ellos. (Cardona, 2002).

Esta investigación propone explorar la relación entre los tiempos de activación de un biol con microorganismos de montaña (MM) y la producción de Stevia rebaudiana. Se busca determinar cómo la duración del proceso de activación del biol impacta en el rendimiento y la calidad de la stevia, considerando aspectos como el crecimiento vegetativo y la producción de hojas. (Bendezu y Oseas, 2015).

Se examinará cómo la interacción entre el biol activado y los microorganismos de montaña influye en la disponibilidad de nutrientes, en particular, y cómo puede favorecer el crecimiento saludable de la planta de stevia. Además, se investigará cómo esta técnica puede contribuir a la sostenibilidad ambiental, al fomentar prácticas agrícolas más respetuosas con el medio ambiente.

La efectividad de los biofertilizantes depende de varios factores, incluida la selección de cepas efectivas, la formulación y los métodos de aplicación. El material portador también influye en la vida útil y la persistencia de los microorganismos. Si bien el tiempo de activación específico para los biofertilizadores de microorganismo de montaña no se detalla en investigaciones disponible, los principios generales de la eficacia de biofertilizantes siguen siendo relevantes; por lo que es necesario investigar sobre el tiempo de activación del biol para determinar la efectividad del biofertilizante.

A través de esta tesis, se busca determinar cómo influye el tiempo de fermentación en la activación del biol con microorganismos de montaña para mejorar la producción de stevia, tanto en términos de cantidad como en calidad.

Chavez Díaz (2021), reporta que el tiempo de activación es el período requerido para que los microorganismos en el biofertilizante se vuelvan

completamente activos y capaces de colonizar las raíces de las plantas y ejercer sus efectos beneficiosos. Este período podría estar influenciado por factores como la temperatura, la humedad y la disponibilidad de nutrientes. Un tiempo de activación más largo podría indicar un establecimiento más lento de la comunidad microbiana, lo que podría retrasar los impactos positivos en el crecimiento de la stevia. Por el contrario, un tiempo de activación más corto podría sugerir un inicio más rápido de los efectos beneficiosos.

Por lo que se justifica investigar para determinar el tiempo óptimo de activación de los biofertilizantes basados en microorganismos de montaña en el cultivo de stevia. Estos estudios deben de determinar los efectos de los diferentes tiempos de activación sobre el crecimiento y el rendimiento. Esto proporcionaría información valiosa para optimizar la aplicación de biofertilizantes y maximizar los beneficios para los productores de stevia.

1.6. Limitaciones de la investigación

Para ejecutar nuestra investigación, se considera como limitante el acopio de los microorganismos de montaña, el que debe ser colectado del bosque virgen, es decir de lugares que no haya contaminado el hombre; aunque actualmente cada vez están ingresando a los bosques, para ampliar sus tierras de cultivo, lo que dificulta conseguir estos microorganismos de montaña, el cual se encuentra en los árboles en estado de descomposición. Pero se debe de ingresar a las zonas que no han sido invadidas por los agricultores, para conseguir estos hongos. Luego de colectar esos microorganismos otra limitación es la metodología para la preparación de los microorganismos sólidos para luego, preparar los bioles, los cuales serán usados en esta investigación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio

Andino (2011) investigó los factores que influyen en la activación líquida de microorganismos de montaña (MM), determinando que estos son esenciales para la agricultura orgánica. El estudio evaluó el tiempo de activación, la aireación, la dosis de MM sólido y melaza, y la adición de nutrientes (potasio y fósforo). Se observó que las poblaciones microbianas (bacterias, hongos, bacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadores de fósforo, lactobacilos y levaduras), el pH y el fósforo en solución variaron con el tiempo. Una mayor aireación acortó el tiempo de fermentación e incrementó las poblaciones microbianas, pero también elevó el pH, reduciendo lactobacilos y levaduras, mientras que aumentaba las bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fósforo. Altas concentraciones de melaza disminuyeron los lactobacilos; reducir la cantidad de MM sólido incrementó los microorganismos solubilizadores de fósforo. La adición de potasio orgánico aumentó las poblaciones microbianas, sugiriendo que los MM activados pueden servir como fuente de nutrientes.

Finalmente, la roca fosfórica no alteró las poblaciones, pero el fósforo solubilizado parece ser retenido por la biomasa. Concluyendo que el uso de biofertilizantes en el cultivo de Stevia que contienen microorganismos de montaña incluye a las bacterias y hongos que promueven el desarrollo de las raíces, aumentan el vigor de las plantas y mejoran el rendimiento general. Esto conduce a un mayor rendimiento de hojas secas, un factor crucial en la producción de stevia para su uso como edulcorante natural

Orbe (2017) evaluó la eficacia de diferentes dosis de biofertilizante a base de Microorganismos de Montaña (MM) en el cultivo de rábano. En la Finca Agroecológica Zamorano, se compararon cuatro dosis (27.20, 20.41, 13.61 y 0 ml/m²), encontrando que la dosis más alta (27.20 ml/m²) produjo el mayor crecimiento foliar y radicular, así como el mayor peso de los bulbos. Este resultado, extrapolado a una superficie mayor (20 m²), demostró la viabilidad económica de utilizar esta dosis de biofertilizante en el cultivo de rábano. Si bien se observaron cambios mínimos en las características químicas del suelo (pH y nutrientes), el estudio indica que las dosis de MM influyen en el crecimiento del cultivo y en la modificación del suelo. Se recomienda el uso combinado de MM con otros abonos orgánicos y la realización de estudios adicionales en diferentes tipos de suelo.

Umaña (2017) investigó el efecto de los microorganismos de montaña (MM), aplicados en forma líquida (biol) y mediante fertirriego, en el crecimiento del culantro y la espinaca. Los resultados mostraron un aumento en la producción (tamaño de hojas y biomasa seca) en los tratamientos con MM en comparación con el grupo control. Además, se observó una mejora en las propiedades físico-

químicas y biológicas del suelo, directamente relacionada con la cantidad de MM aplicada.

Cassaica (2008) sugiere que futuras investigaciones sobre el cultivo de stevia deberían utilizar niveles de fertilización específicos, ya que en su estudio, la combinación de fertilizantes con promotores de crecimiento no mostró diferencias significativas en las variables analizadas.

2.2. Bases teóricas - científicas

2.2.1. Los microorganismos de montaña

Los MM es una agrupación de diversas especies microorganismos benéficos que se encuentran en suelos de ecosistemas naturales no intervenidos por el hombre. Su aplicación en la agricultura ha ganado popularidad debido a su capacidad para mejorar la salud del suelo, la disponibilidad de nutrientes y la resistencia de las plantas a enfermedades. Se encuentran en todas partes en la naturaleza cumpliendo funciones importantes para mantener el equilibrio ecológico, (Paredes, 2021).

Un grupo de estos microorganismos son considerados como microorganismos patógenos quienes son capaces de producir enfermedades a las plantas, animales, y contaminan el ambiente. Otro grupo son los microorganismos que desempeñan funciones amigables con el ambiente, llamándoles microorganismos benéficos o eficientes (Flores, 2016).

Mora, (2010) reporta que dentro de los microorganismos benéficos existe un grupo de microorganismos denominados microorganismos de montaña que se encuentran en forma natural en distintos ecosistemas donde el hombre, nunca o al menos por un período de tres años no ha utilizado ningún tipo de agroquímicos. Se ha investigado los efectos benéficos de estos microorganismos de montaña (MM) que

ayudan en la descomposición biológica de la materia orgánica, su mineralización, la nitrificación, generando un antagonismo con los microorganismos patógenos y favorecen la fermentación (Garden City Composting, 2002).

Estos MM, generan procesos para mejorar las características físicas, químicas y biológicas de los suelos en los cultivos. Optimizando la asimilación de nutrientes, favorecen el crecimiento y protección de las plantas (Martinez , (2015).

Los microorganismos de montaña (MM) comprenden un promedio de 80 especies agrupadas en diez géneros y pertenecen taxonómicamente a cinco grupos de microorganismos: Bacterias fotosintéticas, actinomicetos, bacterias productoras de ácido láctico, hongos y levaduras (Paredes, 2021).

El biofertilizante a base de MM, contiene una alta carga microbiana contribuyendo a que los procesos biológicos y químicos del suelo sean más eficientes. Estos microorganismos, mediante sus procesos fisiológicos agilizan la degradación de materia orgánica en compuestos simples asimilables para el cultivo. Otras bacterias como *Azotobacter*, se adhieren a la zona radicular de la planta lo que permite una mayor eficiencia en la fijación de nitrógeno atmosférico (N2) al suelo (García, 2016).

Las bacterias fotosintéticas conforman un grupo de microorganismos que sintetizan aminoácidos, ácidos nucleicos y azúcares que provienen de los exudados que producen las raíces; estas bacterias promueven el desarrollo y crecimiento de la planta.

Las bacterias lácticas producen el ácido láctico a partir de azúcares de las secreciones de las plantas, así mismo, este ácido actúa como compuesto esterilizante ayudando a prevenir el crecimiento de microorganismos dañinos en las raíces de las plantas (Paredes, 2021).

Los hongos fermentativos y las levaduras como la *Saccharomyces spp* se encargan de sintetizar sustancias antimicrobianas, algunos aminoácidos, y azúcares, elaboran enzimas y hormonas que ayudan a la mitosis en los tejidos de la raíz en las plantas. Los actinomicetos, se benefician de los productos que elaboran las levaduras para desarrollar sus funciones como biofertilizantes (Higa & Wididana, 2004).

Los géneros de bacterias *Azotobacter* sp, *Azospirillum* sp, y *Rizobium* sp, interactúan con los hongos *Micorrizicos*, los cuales ayudan a aumentar la superficie de absorción de las raíces para captar sus nutrientes (Garden City Composting, 2002) También se ha reportado que los biofertilizantes a base de MM se encuentran microrganismos del género *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, y *Streptomyces* sp; son bacterias capaces de fijar el nitrógeno al suelo y estimular el crecimiento de las plantas (Armenta- Bojórquez, et al., 2010).

La descomposición de la materia orgánica en el suelo es un proceso fundamental para el crecimiento de las plantas. Barea y Azcón-Aguilar (1984) señalan que esta descomposición proporciona energía a la microflora del suelo y carbono para la formación de nuevas células vegetales. Colque et al, (2005) complementa esta idea al afirmar que los microorganismos son los principales responsables de la descomposición de la materia orgánica, un proceso crucial para la regeneración de nutrientes esenciales para el desarrollo de las plantas. La importancia de los microorganismos de montaña radica en su capacidad para proporcionar nitrógeno y fósforo, dos elementos que suelen ser limitantes para el crecimiento de las plantas.

Castro y Gonzales (2020) enfatizan la importancia creciente de los microorganismos de montaña, tanto en la forma sólida como en las activaciones

líquidas (biolos MM), debido a sus funciones atribuidas como inoculantes microbianos. Estos microorganismos sirven como potenciadores de biología del suelo, supresores de enfermedades, facilitadores de la disponibilidad de elementos esenciales en el suelo, descomponedores de materia orgánica, optimizadores de producción de ganado, controladores de olores, entre otros roles. Las poblaciones microbianas beneficiosas en las activaciones de líquido MM se clasifican principalmente en cuatro grupos funcionales: fijadores de nitrógeno (FN), solubilizadores de fósforo (SP), lactobacilos (LAC) y levaduras (LEV) (Castro et al., 2015): Fijadores de Nitrógeno (FN), estos microorganismos convierten el nitrógeno atmosférico (N₂), que las plantas no pueden utilizar directamente, en formas asimilables como amoníaco (NH₃) o nitratos (NO₃⁻). Esto incrementa la disponibilidad de nitrógeno, un nutriente esencial para el crecimiento vegetal, reduciendo la necesidad de fertilizantes nitrogenados sintéticos.

Solubilizadores de Fósforo (SP): El fósforo en el suelo a menudo se encuentra en formas insolubles que las plantas no pueden absorber. Los SP disuelven estas formas de fósforo, haciéndolo disponible para la absorción radicular. Esto mejora la nutrición fosfórica de las plantas, crucial para el desarrollo de raíces y la floración. Lactobacilos (Lac): Estos microorganismos producen sustancias antimicrobianas que suprimen el crecimiento de patógenos de plantas, protegiendo las raíces y los tejidos vegetales de enfermedades. Además, contribuyen a la descomposición de la materia orgánica, liberando nutrientes adicionales para las plantas y las Levaduras (Lev): que participan en la descomposición de la materia orgánica, contribuyendo a la liberación de nutrientes. También pueden producir fitohormonas, sustancias que regulan el

crecimiento y desarrollo de las plantas, promoviendo un mayor vigor y rendimiento.

2.2.2. El biol

El biol es un fertilizante líquido que se obtiene a partir de la fermentación anaeróbica de materia orgánica, enriquecida con microorganismos específicos. Este producto es conocido por sus propiedades bioestimulantes, contribuyendo al aumento de la actividad biológica en el suelo y mejorando la disponibilidad de nutrientes. (Umaña, 2017). Se destaca como un fertilizante altamente efectivo gracias a su elevada concentración de nutrientes que las plantas pueden asimilar fácilmente. En contraste con el estiércol convencional, el biol suministra nutrientes, en especial nitrógeno, en una forma más accesible para los cultivos. Esto resulta en un impacto fertilizante más rápido y potente a corto plazo, convirtiéndolo en un recurso de gran valor para la agricultura (Bonten et al, 2014).

Los mismos autores consideran que el biol es un recurso valioso para la agricultura debido a su alta concentración de nutrientes fácilmente asimilables por las plantas, lo que se traduce en un fertilizante más rápido y potente a corto plazo. Esto lo convierte en una opción eficiente para mejorar el crecimiento y la producción de los cultivos, especialmente en comparación con el estiércol tradicional, ya que proporciona nutrientes, como el nitrógeno, de forma más accesible.

El biol es un fertilizante orgánico rico en fitoreguladores, tiene efectos positivos significativos en el desarrollo de las plantas, incluso en pequeñas cantidades. Sus beneficios incluyen:

1. Mejora del sistema radicular: Fortalece y expande las raíces.
2. Desarrollo foliar: Promueve el crecimiento de hojas.

3. Optimización de la floración.
4. Aumento del vigor y la capacidad germinativa de las semillas.

Estos efectos resultan en un aumento considerable de la biomasa vegetal (Andino, 2011).

Se cree que el impresionante desarrollo del sistema de raíces se debe, en parte, a la presencia de tiamina en el biol. Además de este componente, este fertilizante contiene varios precursores hormonales beneficiosos, aunque también contiene sustancias represoras como la metionina (Medina, et al 2015).

Además de incrementar la producción y mejorar la calidad de los cultivos, el biol contribuye a equilibrar la nutrición de la planta. Esto la hace más resistente a plagas y enfermedades causadas por desequilibrios ambientales (Miranda, 2018); además indican que el biol, además de ser una gran fuente de nutrientes, tiene muchos efectos positivos y puede ser utilizada para las siguientes aplicaciones:

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

2.2.3. Tiempo de activación del biol

El tiempo de activación adecuado puede permitir el crecimiento óptimo de microorganismos benéficos. Estudios han mostrado que un tiempo de

activación de 7 a 14 días puede ser ideal para maximizar la población microbiana deseada.

El tiempo de activación es un factor crucial en la producción de Biol con microorganismos de montaña. Este proceso de activación busca estimular la proliferación y actividad de los microorganismos beneficiosos presentes en el suelo de montaña, creando un biofertilizante efectivo para mejorar la salud del suelo y el crecimiento de las plantas. (Amani et al, 2010).

2.2.4. Importancia del tiempo de activación del biol

Determina la cantidad de microorganismos que se multiplican y la capacidad del Biol para promover el crecimiento vegetal. Un tiempo de activación adecuado permite que los microorganismos se adapten al medio de cultivo, se multipliquen y desarrollen su potencial para la fijación de nitrógeno, la solubilización de fósforo y la producción de hormonas de crecimiento. (Isam, et al, 2015).

Considerando que el tiempo de activación influye en la capacidad que tiene el biol para descomponer la materia orgánica utilizada en la digestión anaeróbica, como el estiércol animal y las plantas la cual es químicamente compleja, ya que estos materiales contienen mezclas de almidones, fibras, grasas y proteínas, así como pequeñas cantidades de metales y sales, como potasio (K), magnesio (Mg), calcio (Ca) y hierro (Fe). En los fermentos líquidos, los microorganismos producen enzimas que descomponen esta mezcla, de forma similar a como se descomponen los alimentos en el estómago. Una vez que las enzimas descomponen las moléculas complejas, las unidades más pequeñas pueden ser consumidas por los microbios para obtener energía. A medida que la

materia orgánica se descompone, también libera nutrientes como N, P y azufre (S) en el fermento líquido. (Isam, et al, 2015).

Nuestra alimentación se basa en la energía química contenida en los enlaces de carbono de los alimentos que consumimos. Esta energía se libera principalmente en presencia de oxígeno, a través de un proceso llamado respiración aeróbica. El oxígeno que inhalamos facilita la transferencia de la energía de los alimentos a nuestro cuerpo. Como resultado de este proceso, exhalamos dióxido de carbono (CO₂).

Los microorganismos también utilizan este mismo proceso para obtener energía al descomponer la materia orgánica. Sin embargo, en ausencia de oxígeno (condiciones anaeróbicas), los microbios solo pueden acceder a una parte de la energía almacenada en los enlaces de carbono. En este caso, utilizan un proceso llamado fermentación, que produce moléculas orgánicas más pequeñas, parcialmente degradadas, y CO₂ como subproductos. (Li, 2013).

El mismo autor, manifiesta que los microorganismos pueden continuar fermentando las moléculas orgánicas más pequeñas, obteniendo energía y liberando más CO₂ en el proceso. Cuando estas moléculas se descomponen lo suficiente, otros microorganismos especializados las consumen, liberando gas metano (CH₄) como subproducto. A medida que se extrae más energía del material original, se pierde una mayor cantidad de carbono en forma de CO₂ y CH₄, lo que reduce la actividad microbiana.

Al final del proceso de fermentación, queda una parte de la materia orgánica sin digerir, tanto sólida como disuelta en el fermento. Además, minerales y nutrientes como calcio, hierro, potasio, fósforo y nitrógeno se concentran en el fermento líquido durante el proceso. (Li, 2013).

2.2.5. Formas de aplicación del biol

Vásquez et al, (2014), manifiesta que el biol como fertilizante orgánico versátil que puede aplicarse de diversas formas:

1. El biol puede ser aplicado directa al suelo, obteniendo los siguientes resultados:

- Es recomendada para obtener resultados duraderos y para la recuperación de la fertilidad del suelo.
- Se puede usar en el agua de riego o alrededor del tallo de las plantas.
- Dilución recomendada: 10-30%
- Es importante incorporar rápidamente al suelo para reducir la pérdida de nitrógeno por volatilización

2. Aplicación foliar:

- No se recomienda usar biol puro debido al efecto negativo de la metionina.
- Dilución recomendada: 1-10%.
- Se puede aplicar 3-4 veces durante el ciclo del cultivo
- Miranda, (2018), sugiere no superar el 50% de concentración para aplicación foliar.

3. Tratamiento de semillas:

- Para alfalfa y leguminosas: remojo en solución al 25% durante 12 horas.
- Para cereales y algodón: remojo en solución al 20% la noche anterior a la siembra.
- Miranda, 2018); recomienda no superar el 25% de concentración para imbibición de semillas.

El tiempo de remojo varía según el tipo de semilla:

- Alfalfa: 12 horas óptimas.
- Maíz: 24 horas para variedades amiláceas, 48-72 horas para variedades cristalinas duras.
- Cebolla: 5-6 horas debido a su tegumento poroso. (Medina, 2015).

2.2.6. El cultivo de la Stevia rebaudiana

Ramirez, (2011), manifiestan que el poder de edulcoración de la Stevia es 30 veces mayor que el azúcar y el extracto alcanza de 200 a 300 veces más. Las hojas tienen el mayor contenido de esteviosido y rebaudiosido A, que son sus principales principios activos.

La stevia (*Stevia rebaudiana*), una planta originaria de Sudamérica, es nativa de la región tropical de Sudamérica, se ha cultivado por décadas debido a sus propiedades edulcorantes y bajo contenido calórico. (Infoagro, 2010).

El cultivo comercial de la stevia se inició en Paraguay en 1964 y desde entonces se ha extendido a diversos países como Brasil, Corea, México y Estados Unidos. Actualmente, China es el principal productor y Japón el principal mercado de la stevia. (Ramirez, 2011).

Además de su uso como edulcorante, la stevia se considera una planta medicinal. Estudios han demostrado que puede ser beneficiosa para la diabetes tipo II debido a sus glicósidos con propiedades edulcorantes sin calorías.

La stevia es entre 30 y 300 veces más dulce que el azúcar, y sus hojas contienen los principales principios activos, esteviosido y rebaudiosido A. (Doussang, 2011).

La stevia, o Stevia rebaudiana, es un edulcorante popular en Japón, representando el 41% del consumo total de edulcorantes. Además de su dulzura

natural, la stevia ofrece beneficios para la salud, como la reducción de la absorción de grasa y la regulación de la presión arterial. (Ramírez, 2011).

Es una alternativa segura para las personas con diabetes, ya que no aumenta los niveles de azúcar en sangre, e incluso puede mejorar la tolerancia a la glucosa.

La stevia también posee propiedades antibióticas y antifúngicas, siendo efectiva contra bacterias como *Entamoeba coli*, *Staphylococcus aureus* y *Corynebacterium diphtheriae*, así como contra el hongo *Candida albicans*, causante de vaginitis. (Taiariol, 2006).

Sus usos se extienden al ámbito cosmético, donde se utiliza para tratar manchas y granos en la piel. (Ramirez, 2011)

Botánica de la Stevia (Stevia rebaudiana, Bertoni)

La *Stevia rebaudiana*, miembro de la familia Asteraceae, es una planta herbácea perenne con un tallo erguido, algo leñoso y pubescente. Inicialmente sin ramificaciones durante su desarrollo, se vuelve de múltiples tallos después del primer ciclo vegetativo, llegando a producir hasta 20 tallos en tres a cuatro años. En su hábitat natural, puede alcanzar alturas de hasta 90 cm, superando los 100 cm en climas tropicales. Su raíz es pivotante, filiforme y de distribución superficial, (Grin. 2011).

Las hojas de la *S. rebaudiana* son elípticas, ovales o lanceoladas, ligeramente pubescentes, con disposición opuesta en etapas juveniles y alternas en la madurez fisiológica antes de la floración. Las flores son hermafroditas, pequeñas y blancas, con una corola tubular de cinco lóbulos, agrupadas en capítulos terminales o axilares en panículas corimbosas.

La planta es autoincompatible (protándrica) y se poliniza mediante insectos, clasificada como apomíctica obligatoria. El fruto es un aquenio que puede ser claro (estéril) u oscuro (fértil), dispersado por el viento. Se considera una planta de día corto, con un fotoperíodo crítico de 12 a 13 horas según el ecotipo. Otras especies relacionadas incluyen *Stevia eupatorium*, *S. obata*, *S. plummerae*, *S. salicifolia* y *S. serrata*. (Grin. 2011).

Taxonomía de la Stevia (Stevia rebaudiana, Bertoni)

La *Stevia rebaudiana*, presenta la siguiente clasificación taxonómica:

- Reino Plantae, División Magnoliophyta, Clase Magnoliopsida, Orden Asterales, Familia Asteraceae, Género Stevia, Especie *Stevia rebaudiana*, Bertoni. (Grin. 2011).

Origen y distribución de la Stevia (Stevia rebaudiana, Bertoni)

Curco, (2012), manifiesta que la *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni es una planta originaria de la región selvática subtropical de Alto Paraná, en el sureste de Paraguay, donde ha sido utilizada ancestralmente por las tribus aborígenes como edulcorante y medicina. A pesar de esto, el género Stevia abarca más de 240 especies de plantas nativas de Sudamérica, Centroamérica y México, con algunas especies encontradas incluso en lugares tan lejanos como Arizona, Nuevo México y Texas. Las tribus Guaraníes de Paraguay y Brasil han utilizado diversas especies de Stevia, en especial la *Stevia rebaudiana*, a la que llamaban ka'a he'ê o yerba dulce.

El botánico suizo Moisés Santiago Bertoni fue el primero en describir la Stevia en 1887, resaltando su sabor dulce del otro de sabor amargo. En 1900, el químico paraguayo Ovidio Rebaudi logró aislar dos compuestos activos: el esteviósido y el rebaudiosido, los cuales son de 200 a 300 veces más dulces que

la sacarosa, estables al calor y no fermentables. La Stevia rebaudiana cuenta con más de 144 variedades a nivel mundial, siendo la variedad Morita 2 una de las más destacadas debido a su mayor edulcoración. (Incagro, 2008).

La variedad Morita 2, desarrollada en Japón por Toyosigue Morita, sobresale por sus altos rendimientos de hojas secas y su contenido químico superior. En estudios realizados en 1975, se identificaron 28 ecotipos diferentes basados principalmente en características morfológicas, y se encontró que el contenido de esteviósido en las hojas variaba significativamente. Experimentos posteriores en 1980 demostraron la relación entre diversas características de la planta y su heredabilidad en 22 variedades de Stevia rebaudiana, resaltando la importancia de las características morfológicas y del contenido de principios activos en el proceso de selección. (Incagro, 2008).

Japón, China, Corea, Taiwán, Tailandia, Indonesia, Laos, Malasia y Filipinas son los principales productores de Stevia a nivel global, representando conjuntamente el 95% de la producción mundial. En particular, Japón destaca por contar con un gran número de fábricas especializadas en el procesamiento y extracción de esteviósido. (Taiariol, 2006).

En América, los principales países productores son Paraguay, Brasil, Argentina, Colombia y Perú, con algunos cultivos más pequeños en Ecuador. Actualmente, Paraguay se destaca como uno de los principales productores mundiales de Stevia, con alrededor de 1,500 hectáreas dedicadas a este cultivo. La industria de la Stevia en Paraguay proporciona empleo directo a unas 10,000 personas a lo largo de toda la cadena productiva. El país tiene como objetivo aumentar sus ventas a 10 millones de dólares al año, lo que representaría el 10%

de la facturación en comparación con los países del sudeste asiático, que alcanzan los 100 millones de dólares, (Jimenez, et al, 2010).

Propagación de la Stevia (Stevia rebaudiana, Bertoni)

Propagación sexual

La reproducción sexual de la Stevia se lleva a cabo mediante aquenios, lo que resulta en una alta variabilidad en las poblaciones debido principalmente a la polinización cruzada. La mayoría de los aquenios son estériles, ligeros y fáciles de dispersar por el viento. La recolección de semillas es un proceso lento y complicado debido a la falta de uniformidad en la floración, lo que impacta en la maduración de las semillas. Estas deben almacenarse en condiciones de baja temperatura y humedad relativa, preferiblemente en la oscuridad y en recipientes herméticos. A pesar de estas precauciones, el porcentaje de germinación es reducido, oscilando entre el 10% y el 38%. Vásquez et al (2014).

La producción de plántulas a partir de semillas se realiza en almácigos convencionales, similares a los utilizados para otras hortalizas, con algunas recomendaciones y prácticas especiales, como cubrir las semillas inmediatamente después de sembrar con una malla fina para prevenir su dispersión por el viento. A pesar de las dificultades mencionadas, la propagación mediante aquenios es útil para el mejoramiento genético, pero no es adecuada para cultivos comerciales.

Asexual

Debido a la notable variabilidad de las plantas obtenidas a través de semillas, la reproducción agámica se considera la mejor opción, ya que preserva las características de la planta madre. Este método puede llevarse a cabo mediante retoños, estacas o cultivo de tejidos. (Marcavillaca, 1984).

La reproducción por retoños es adecuada para plantaciones de menor escala, ya que el número de retoños generados es limitado. Estos brotes suelen emerger en la base del tallo o bajo tierra, mostrando pequeños vástagos, muchos de los cuales ya cuentan con raíces individuales que pueden separarse y trasplantarse al lugar definitivo. (Marcavillaca, 1984).

Por otro lado, la propagación por estacas es el método más conveniente para su uso a nivel comercial, requiriendo una plantación madre que suministre el material vegetativo inicial. Es crucial seleccionar plantas con características deseables como vigor, resistencia y productividad para establecer la plantación madre. El manejo de esta plantación es similar al de una plantación comercial, manteniendo un buen estado nutricional y fitosanitario para prevenir enfermedades fúngicas que podrían afectar negativamente a la plantación.

Una vez establecida la plantación madre para la propagación comercial, se deben cortar esquejes con cinco hojas abiertas y opuestas, de 8 a 18 cm de longitud. Es fundamental evitar el uso de esquejes con hojas alternas, ya que indican que la planta está cerca de entrar en floración, lo que reduce las posibilidades de enraizamiento y de obtener plantas jóvenes. Los esquejes cortados deben ser plantados en camas de enraizamiento de un metro de ancho y entre 30 y 50 cm de altura inmediatamente para prevenir la desecación de las futuras plántulas. Antes de la plantación, se debe retirar la parte apical de los esquejes, que tiende a oxidarse rápidamente. El riego es una de las labores culturales más importantes después de la plantación, ya que asegura un alto porcentaje de prendimiento y un adecuado enraizamiento de los esquejes. (Marcavillaca, 1984).

Por cultivo de tejidos

El cultivo de tejidos es otra técnica de propagación vegetativa que permite obtener plantaciones más homogéneas y una multiplicación clonal rápida. La propagación in vitro, también conocida como micropagación, se refiere a cualquier procedimiento aséptico que implica la manipulación de órganos, tejidos o células de las plantas para producir poblaciones de plántulas "limpias", en contraste con la propagación vegetativa no aséptica o convencional. (Vásquez, et al. 2014).

Las ventajas de la micropagación, en comparación con los sistemas convencionales, incluyen el aumento rápido en el número de plantas, la reducción del tiempo de multiplicación, una mayor densidad de plantas por unidad de superficie, un mayor control de la sanidad, facilidad de transporte para intercambios internacionales de material vegetal y la capacidad de multiplicar rápidamente especies en peligro de extinción. El proceso de micropagación consta de cinco etapas: la etapa 0 inicial para la selección de la planta madre, la etapa I de iniciación o establecimiento para el cultivo primario, la etapa II de multiplicación de brotes, la etapa III de enraizamiento o pre-trasplante para desarrollar una planta autótrofa capaz de sobrevivir en las condiciones del suelo tras el trasplante, y la etapa IV de transferencia final al entorno natural. Shuping & Shizhen, (1995)

2.3. Definición de términos básicos

- **Stevia.** es un arbusto tupido originario del noreste de Paraguay, Brasil y Argentina. Es mejor conocido como un edulcorante natural.
- **Digestión anaeróbica** - Proceso de conversión de residuos -residuos domésticos, estiércol, biomasa de cultivos u otras fuentes orgánicas-

mediante el aprovechamiento de una serie de procesos microbianos que convierten la materia orgánica compleja en biogás, como el metano. El lodo líquido (biol) y los sólidos (biosol) restantes suelen utilizarse como fertilizante

- **Biol.** Los bioles son abonos de tipo foliar orgánico, resultado de un proceso de digestión anaeróbica de restos orgánicos de animales y vegetales. Son ricos en fitohormonas, un componente que mejora la germinación de las semillas, fortalece las raíces y la floración de las plantas
- **Biofertilizante.** Preparaciones de microorganismos, ya sean cepas individuales o consorcios, que se aplican a las semillas, a las plantas o al suelo y que tienen por objeto estimular el crecimiento del cultivo
- **Microorganismos de Montaña.** Se trata de un enriquecimiento microbiano derivado de la colecta y fermentación de suelos, a menudo de suelos menos alterados (por ejemplo, de bosques), con la idea de que éstos contienen microorganismos con propiedades singularmente beneficiosas para los cultivos y/o por su actividad en las fermentaciones.
- **Fermentación.** En términos generales, la fermentación describe la descomposición de la materia orgánica, llevada a cabo por enzimas generalmente derivadas de microorganismos, normalmente en ausencia de oxígeno. La fermentación también se refiere a un proceso metabólico específico que libera energía a las células a partir de la descomposición parcial de los azúcares en ácidos orgánicos, en ausencia de oxígeno y con la liberación de gas CO₂.

2.4. Formulación de hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

El tiempo de activación del biol elaborado con microorganismos de montaña influye en la producción de estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) en condiciones de vivero en La Merced – Chanchamayo

2.4.2. Hipótesis específicas

- a. El tiempo de activación del Biol con MM influye en el crecimiento aéreo de la planta Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni)
- b. El tiempo de activación del Biol con MM influye en el incremento de la biomasa de Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni).
- c. El tiempo de activación del Biol con MM influye en el incremento de la producción de Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni)

2.5. Identificación de variables

2.5.1. Variable independiente

- Tiempo de activación del biol

Indicadores:

Tratamientos	Días/activación
T1 (Testigo)	7
T2	14
T3	21
T4	28
T5	35

2.5.2. Variable dependiente

- Crecimiento aéreo de la planta
- Biomasa de la planta.

- Producción de Stevia (Stevia rebaudiana, Bertoni)

Indicadores

- Altura de plantas
- Número de ramas
- Número de hojas
- Peso fresco de la planta
- Peso fresco de las hojas
- Peso seco de las hojas
- Rendimiento de Stevia en (Stevia rebaudiana, Bertoni) kg/Ha

2.6. Definición operacional de variables e indicadores

Variable	Definición	Indicador	Dimensión
Independiente			
Tiempo de activación del Biol	Es el tiempo de fermentación del biol que afecta la calidad y el rendimiento de los bioles con MM.	Tiempo de activación del Biol.	<ul style="list-style-type: none"> - 7 días - 14 días - 21 días - 28 días - 35 días
Dependiente			
Crecimiento aéreo de la planta	Es un proceso que abarca desde la germinación de la semilla hasta la floración y fructificación	Altura de plantas Número de ramas	centímetros milímetros
Biomasa de la planta	Representa la cantidad total de materia orgánica viva presente en la planta. Es un indicador de la salud, crecimiento	Peso fresco de la planta Número de hojas Peso fresco de las hojas	Gramos Unidades cm.
Producción de la planta	Se refiere a la cantidad de biomasa, frutos, semillas o cualquier otro producto útil que genera a lo largo de su ciclo de vida	Peso seco de las hojas Producción hojas secas	Kilos/Ha

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA Y TÉCNICAS DE INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación

Aplicada, Por la manipulación de las variables. Nuestro estudio se centra en la aplicación práctica de los bioles para optimizar la producción de hojas de Stevia rebaudiana en la selva central del Perú. Nos basamos en los principios de la fisiología vegetal para analizar cómo los bioles, con microorganismos de montaña, influyen en el crecimiento de la Stevia en un vivero. El objetivo es que los resultados de nuestra investigación experimental contribuyan a la mejora del conocimiento de los agricultores locales y a la innovación en las prácticas agrícolas.

3.2. Nivel de investigación

El nivel de investigación es aplicada

3.3. Métodos de investigación

Para llevar a cabo nuestra investigación, aplicamos el método experimental, siguiendo la definición de Barreto & Raun (1990). Esto implica manipular intencionalmente una variable independiente (el tiempo de activación

del biol) para observar su efecto en la variable dependiente (el crecimiento y la producción de la *Stevia rebaudiana*). Se utilizará la observación como herramienta de recolección de datos y se registrarán las observaciones en fichas.

Para analizar los datos, se aplicará el análisis de varianza y la prueba de Tukey, debido a que se trabaja a nivel de vivero. La muestra estará compuesta por 20 plantas en total, divididas en cinco tratamientos, con cuatro plantas por tratamiento. Las plantas serán seleccionadas aleatoriamente de la población de Stevia del vivero.

3.4. Diseño de investigación

Se usará el diseño estadístico DCA, con 5 tratamientos y 4 repeticiones, presentando el siguiente modelo aditivo lineal:

a. Modelo Aditivo Lineal

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = valor observado

μ = Media poblacional.

τ_i = Efecto del tratamiento (parámetro) en la unidad experimental.

e_{ij} = Error, valor de la variable aleatoria Error experimental.

$i=1,2,\dots, t$

$j=1,2,\dots, r_i$

b. Análisis de varianza

ANVA

F. de V.	G. L.	S. C.	C. M.	fc			Sign
					5%	1%	
Tratamientos	4						
Error	12						
Total	19						

C.V. SD

Los tratamientos se instalaron en parcelas de 5 líneas con 30 plantas por línea, teniendo un área bruta de 12 m². Los tratamientos estarán ubicados perpendicularmente a la dirección del viento. La parcela neta comprenderá 5 líneas.

Repeticiones/Tratamientos

R1	T3	T1	T5	T4	T2
R2	T5	T3	T4	T2	T1
R3	T2	T3	T1	T5	T4
R4	T2	T1	T3	T4	T2

3.5. Población y muestra

3.5.1. Población

La población en estudio lo conforma 120 plantas de (*stevia rebaudiana*). (4 repeticiones x 5 Tratamientos x 4 evaluaciones = 80 plantas) y 40 plantas para evitar el error de los bordes

3.5.2. Muestra

La muestra será de 4 plantas por unidad experimental haciendo un total de 20 plantas por muestra del experimento.

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica utilizada en nuestra investigación fue la observación y el instrumento de recolección de datos fueron las fichas de colección de datos.

3.7. Selección, validación y confiabilidad de los instrumentos de investigación

Nuestra investigación es a nivel de pre grado con la intención de optar el título profesional de ingeniero agrónomo, por lo que, la validación y confiabilidad de los instrumentos de investigación se realizaron con la consulta bibliográfica para la elaboración de los instrumentos de evaluación usados en nuestra investigación en relación a las variables a ser evaluadas, con la intención de obtener los datos y dar respuesta al efecto de los tratamientos de la variable independiente sobre la variable dependiente.

3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

El análisis de los datos se realizó mediante el análisis de varianza con la prueba estadística de Tukey al 5%; y el procesamiento de los datos se realizó en el SPSS, ver 20.

3.9. Tratamiento estadístico

Para analizar los datos recopilados en el trabajo de investigación, se usó el análisis de varianza para comparar las medias de los cinco tratamientos y sus repeticiones. El objetivo es determinar si existen disparidades significativas entre los tratamientos, lo que permitirá validar o rechazar la hipótesis nula que postula que todos los tratamientos son iguales. En contraposición, la hipótesis alternativa sugiere que al menos uno de los tratamientos es diferente a los demás.

En el procesamiento de los datos, se usó estadísticos como el análisis de varianza, que se utilizan para procesar los datos, principalmente enfocados en la descripción de la variabilidad de los datos y la prueba de hipótesis. Estos

estadísticos incluyen la media: que representa el valor promedio de un conjunto de datos. En el análisis de varianza, se calcula la media para cada tratamiento y para el conjunto total de datos; la varianza: La varianza mide la dispersión de los datos alrededor de la media. En el análisis de varianza, se calcula la varianza dentro de cada tratamiento y la varianza entre los tratamientos; la desviación estándar: que es la raíz cuadrada de la varianza. Mide la dispersión de los datos en las mismas unidades que los datos originales; el coeficiente de variación que es la variación de la desviación estándar dividida por la media y se expresa como un porcentaje y el F estadístico, que es la razón de las varianzas entre los tratamientos. Se utiliza para probar la hipótesis nula de que no hay diferencias entre las medias de los tratamientos.

3.10. Orientación ética filosófica y epistémica

La investigación se llevó a cabo en el vivero experimental de stevia de la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión – Filial La Merced, bajo la supervisión del jurado evaluador. Los anexos y resultados obtenidos, que se basan en un trabajo de campo ético, servirán como referencia para futuras investigaciones y contribuirán al conocimiento del manejo y producción de stevia para los agricultores de la región.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Descripción del trabajo de campo

4.1.1. Lugar de ejecución

Nuestra investigación se desarrolló en el vivero experimental de Stevia, de la Filial La Merced, de la Escuela de Formación Profesional de Agronomía, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión – Filial La Merced, ubicada en el distrito de Chanchamayo, Provincia de Chanchamayo y departamento de Junín.

A. Ubicación política

- Región : Junín
- Provincia : Chanchamayo
- Distrito : Chanchamayo

B. Ubicación geográfica

- Longitud Oeste : 075°20.148'
- Latitud Sur : 11°04.588'
- Altitud : 835 m.s.n.m
- Zona de Vida : bh-PT

4.1.2. Materiales y equipos

Materiales de campo

- Hojas de papel con las fichas de datos
- Tijera de podar
- Bisturí
- Chafle
- Flexómetro
- Baldes
- Jarra de plástico de 1 litro capacidad
- Balde con tapa de 20 litros

4.1.3. Materiales de escritorio

- cuaderno de campo
- Lapiceros
- Reglas de metal
- Plumones indelebles
- Papel bond 75 gr.
- Resaltador
- Memoria digital USB
- Etiquetas

4.1.4. Equipos

- Laptop
- Impresora
- Cámara digital
- Horno de secado
- Termómetro

- Balanza con 0.01 g de error

C. Material biológico

- Plantas de *Stevia rebaudiana*

4.1.5. Descripción de los tratamientos

Tratamientos	Días/activación del Biol	biol/ml/planta	biol/litros/Ha
T1	7	10	650.0
T2	14	10	650.0
T3	21	10	650.0
T4	28	10	650.0
T5	35	10	650.0

4.1.6. Croquis de campo

Distribución de las unidades experimentales

REPET.	TRATAMIENTOS					
	T3	T1	T5	T4	T2	
1	T3	T1	T5	T4	T2	
2	T5	T3	T4	T2	T1	
3	T2	T3	T1	T5	T4	
4	T2	T1	T3	T4	T2	

4.1.7. Evaluación de las variables

Los indicadores de la variable dependiente se realizaron cada 15 días hasta los 60 días, se extrajo 4 plantas por cada tratamiento para evaluar los siguientes indicadores:

- Altura de plantas (cm)
- Número de ramas (Unidades)
- Peso fresco de la planta (g)
- Número de hojas (Unidades)
- Peso fresco de las hojas
- Peso seco de las hojas
- Rendimiento hojas secas (kg/Ha)

- **Altura de planta (m)**

Se evaluó desde el cuello de la planta hasta el ápice de la planta, usando una regla metálica.

- **Número de ramas**

Se contó la cantidad de ramas que tienen las plantas luego de realizar la poda de formación.

- **Peso fresco de la planta (g)**

Se colectó la planta de la posa de cultivo y lavando las raíces para realizar el pesaje de cada planta con la ayuda de una balanza digital con 0.01 g de error.

- **Número de hojas**

Se contó el número de hojas por cada planta (repetición) y para los cinco tratamientos.

- **Peso fresco de las hojas**

Se procedió a embolsar y marcar las hojas extraídas a cada planta por tratamiento y repetición, para luego con la ayuda de una balanza digital con 0.01 g de error, se realizó el pesaje de las hojas en fresco por cada planta.

- **Peso seco de las hojas**

Luego de haber realizado el pesado de las hojas en fresco, se procedió a llevarlas al laboratorio de Biología de la UNDAC – Filial La Merced, las bolsas con las hojas para su deshidratación con la ayuda del horno eléctrico a 60°C por 24 horas, para luego realizar el pesado de las hojas por tratamiento y repetición, con la ayuda de una balanza digital con 0.01 g de error.

- **Producción**

Después de haber evaluado el peso seco de las hojas se realizó el cálculo del rendimiento considerando el número de plantas por hectárea y el peso seco de las hojas. Expresado en kg/Ha.

4.1.8. Procedimiento y conducción del experimento

Se realizó los siguientes procedimientos:

A. Preparación de los MM sólidos

Para obtener los microorganismos necesarios, se recolectó troncos podridos y hojarasca de un bosque virgen en las montañas de Chanchamayo. Se seleccionó un área que no haya sido intervenida por el hombre en al menos tres años, para garantizar la presencia de estos microorganismos.

Para la preparación de los MM sólidos, se usó los siguientes insumos:

- Medio saco de hojarasca y palos podridos (con presencia de microorganismos)
- 10 kg de afrecho de arroz
- 1 litro de melaza
- Agua de lluvia (cantidad suficiente para mantener la mezcla húmeda)

Se trituraron los palos podridos y la hojarasca hasta obtener una mezcla homogénea con los demás insumos. Se agregó agua de lluvia sin cloro hasta que la mezcla tenga una consistencia húmeda, sin desmoronarse al tomar un puñado.

La mezcla se almacenó en un cilindro de plástico con tapa, apisonando bien y cubriendo con un plástico para evitar la presencia de aire. Se deja fermentar durante 30 días sin abrir el cilindro.

Después de 30 días, se destapó el cilindro y se observa la descomposición de la mezcla. Se esperó que emitiera un aroma agrícola, lo que indica que la preparación de los MM sólidos ha sido exitosa.

B. Preparación del Biol con MM

Para preparar el biol líquido, se utilizó 5 kg de la mezcla de microorganismos sólidos ya preparada. Esta mezcla se colocó en una bolsa de tela y se introducirá en un cilindro de 50 litros que contiene:

- 20 litros de agua
- 5 kg de microorganismos sólidos
- 1 litro de melaza

Esta mezcla dentro del cilindro se denomina biorreactor. El tiempo de maceración en el biorreactor varía según estudios realizados, que indican que entre los 5 y 10 días hay predominancia de hongos, entre los 11 y 15 días hay mayor presencia de bacterias, y a partir de los 16 días se incrementa la presencia de levaduras. Para obtener una mayor cantidad de levaduras y otros principios orgánicos que favorezcan la fertilización de la planta, se usó 5 tratamientos para determinar con cuál de ellos se obtiene mejor resultado.

Se elaboró cinco lotes de biol, según los tratamientos: se aplicó al inicio de la instalación, a los 15 días, a los 30 días y a los 45 días (total 4 veces).

Cada lote de biol se preparó de acuerdo con nuestra investigación, ampliando el tiempo de activación como sigue:

- 7 días
- 14 días
- 21 días
- 28 días

- 35 días

Es importante destacar que estos tiempos pueden variar ligeramente dependiendo de las condiciones específicas del biorreactor, la temperatura ambiente y la composición de la mezcla de microorganismos sólidos. (Mirnda, 2018).

En resumen, el tiempo de maceración se determina mediante la observación de la evolución de la población microbiana, buscando un punto óptimo donde la concentración de levaduras sea mayor.

4.1.9. Manejo Agronómico

a. Instalación de los esquejes de Stevia en las camas de cultivo.

Para comenzar con la instalación de los esquejes de Stevia en las camas de cultivo, se inició con la selección de esquejes de plantas madre que tengan un buen diámetro de tallo y no estén en fase de floración. Estos esquejes se colocaron en cubetas de propagación después de ser recolectados de plantas maduras. Se realizó un corte en los esquejes, dejando 5 pares de hojas, y se eliminaron 4 pares de hojas inferiores, dejando solo un par de hojas superiores para prevenir la deshidratación de la planta.

Las cubetas de germinación se llenaron con una mezcla de tierra negra de cultivo y arena en proporción 3:1, y se colocará un esqueje en cada una. Posteriormente, se regó y se cubrió cada cubeta con plástico transparente para conservar la humedad y favorecer la germinación. Después de 20 días, se verificó la aparición de nuevas hojas y el enraizamiento de los esquejes en las cubetas. Se dejaron otros 15 días

para asegurar que los esquejes estén correctamente enraizados y hayan desarrollado nuevas hojas.

A los 30 días de haber colocado las plántulas en las cubetas de germinación, se procedió al trasplante de estas a las camas de cultivo en el vivero, siguiendo los protocolos establecidos para los tratamientos y repeticiones de la investigación en curso.

b. Poda de formación

Las podas son muy importantes para el desarrollo y cuidado de la Stevia, se deben hacer en las primeras horas de la mañana o ultimas de la tarde, evitando horas o días de alta radiación solar, de esta manera se evitará la deshidratación y el secamiento de las ramas secundarias y terciarias. La poda de formación en la Stevia rebaudiana es una técnica esencial para promover un crecimiento vigoroso y una producción abundante de ramas y hojas. Se realizó a los catorce días después de estar instalada y estabilizada las plantas en las camas de cultivo. Consiste en cortar el ápice o yema terminal de la plántula, lo que estimula el desarrollo de ramas laterales y un crecimiento más compacto y frondoso, se realizará cortando el tallo a unos 15 a 20 cm de altura, se cortará el ápice o yema terminal de la plántula dejando 3 a 4 pares de hojas para estimular el brote de las ramificaciones (Illanes, 2018), Después de cada poda aplicó un fungicida y un fertilizante foliar. El fungicida, con el fin de proteger la herida causada, de la entrada de patógenos y el fertilizante foliar, para estimular el brote de las yemas o rebrotes (Ramírez, 2011). Veinte días después de la primera poda, se realizó la segunda poda,

que consiste en la poda de las ramas secundarias, de la misma forma en que se realizó la primera (Ramírez, 2011), quedando la planta con una altura de 15 cm de alto aproximadamente, siendo esta la altura inicial para el desarrollo de la presente investigación, luego cada 15 días se procedió a realizar las evaluaciones de los indicadores a evaluar.

c. De las camas de cultivo experimentales

Las camas de cultivo tendrán la cantidad de plantas suficientes para realizar los muestreos cada 15 días hasta los 60 días, distribuyendo las camas de cultivo para cada tratamiento. Para las evaluaciones se colectará 4 plantas por cada tratamiento (repetición) $5 \times 4 \times 4 = 80$ plantas serán usadas hasta los 60 días para las evaluaciones (tratamientos x repeticiones x muestreos = total plantas), considerando una mortalidad e imprevistos se adicionó el 15% de plantas al cultivo que constituyen 12 plantas más; conformando una población total de 92 plantas

4.2. Presentación, análisis e interpretación de resultados

4.2.1. Altura de planta

La evaluación del análisis estadístico para la altura de planta se realizó cada 15 días después de la segunda poda de formación, en el gráfico 01, y la tabla 4.1. observamos que todos los tratamientos tienen un crecimiento casi similar hasta los 30 días de cultivo, pero a partir de los 45 días vemos que el tratamiento Testigo disminuye la velocidad de crecimiento con relación a los otros tratamientos hasta el final de la investigación, siendo el T2 (14 días de activación del biol con MM) el que tiene mayor altura de planta.

Por lo que se puede deducir que la concentración de 14 días de activación del biol con MM otorga mayor incremento de altura en las plantas de Stevia.

Gráfico 1. *Evolución de la altura de las plantas hasta los 60 días de cultivo*

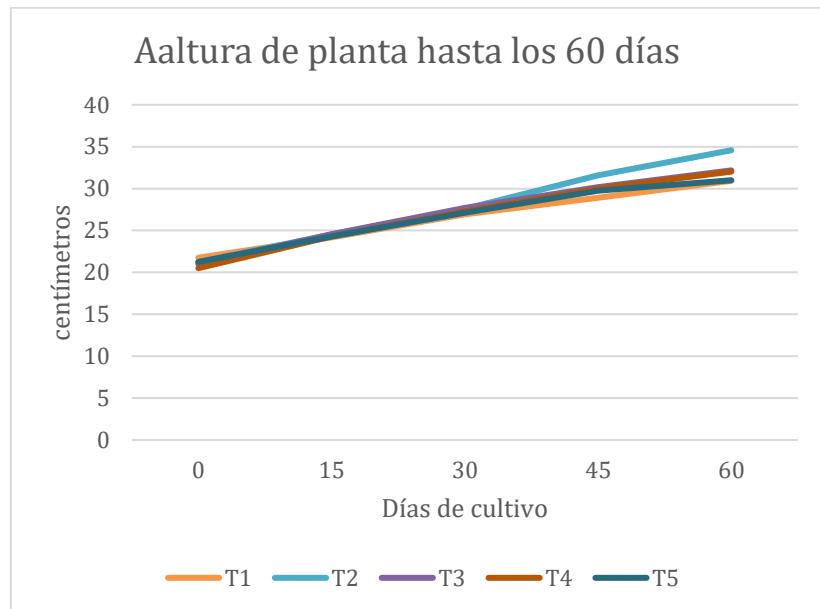


Tabla 1. *Evolución del crecimiento de las plantas por tratamiento*

Trat	Dias				
	0	15	30	45	60
T1	21.75	24.175	26.925	28.925	30.93
T2	21.25	24.525	27.575	31.575	34.58
T3	21	24.55	27.675	30.175	32.18
T4	20.5	24.275	27.275	30.025	32.03
T5	21.25	24.275	27.1	29.75	31
Promedio	21.15	24.36	27.31	30.09	32.14

En esta tabla podemos observar que la mayor altura de planta se consiguió con el T2 (14 días activación) logrando 34.58 cm y la menor altura de planta lo presenta el tratamiento testigo T1 (7 días activación) con 30.93 cm.

Tabla 2. Análisis de Varianza para altura de planta a los 60 días

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft 0.05%	Ft 0.01%	Sgn
Tratamientos	4	34.88	8.72	17.142	3.056	4.893	**
Error	15	7.63	0.51				
Total	19	42.51					
		%					
		CV	2.22	\bar{X}	32.14		

En la tabla 4.2, se presenta el análisis de varianza para los 60 días de cultivo. Aquí podemos observar que se muestra un coeficiente de variación de 2.22% valor muy bueno de acuerdo con Calzada (1982), quien manifiesta que el distanciamiento de los tiempos de activación del Biol con MM con para cada tratamiento no tienen mucha variabilidad y lo comprobamos por la similitud de los datos entre las repeticiones para cada tratamiento.

El ANVA presenta una diferencia altamente significativa indicándonos que existe alta variación entre los tratamientos, por lo que podemos afirmar que alguno de los tratamientos tiene influencia significativa para incrementar la altura de la planta de Stevia a los 60 días de cultivo.

Al tener un resultado del ANVA altamente significativo se realizó la prueba estadística de Tukey al 5%, y lo presentamos en la tabla 4.3; aquí observamos que se forman 2 subgrupos, agrupando en el sub grupo (a) solo el tratamiento T2; lo que nos indica que con 14 días activación al biol se incrementa el efecto para conseguir mayor altura de en las plantas de Stevia; de igual manera podemos interpretar que mayor o menor tiempo de activación no influye en el incremento de la altura de las plantas. En el subgrupo (b) se encuentran los otros tratamientos, pero con una significación estadística de 0.148, lo que no indica que existe una probabilidad del 14% de tener los mismos resultados usando cualquiera de los tiempos de activación del biol; siendo esta una probabilidad muy baja,

Tabla 3. Prueba de significación de Tukey al 5% para altura de planta a los sesenta días de cultivo.

HSD Tukey ^a			
Tratamientos	Subconjunto para alfa = 0.05		
	N	a	b
T2: 14 días activación	4	34.575	
T3= 21 días activación	4		32.175
T4= 28 días activación	4		32.025
T5= 35 días activación	4		31.000
T1: 7 días activación (Testigo)	4		30.925
Sig.		1.000	.148

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4.000.

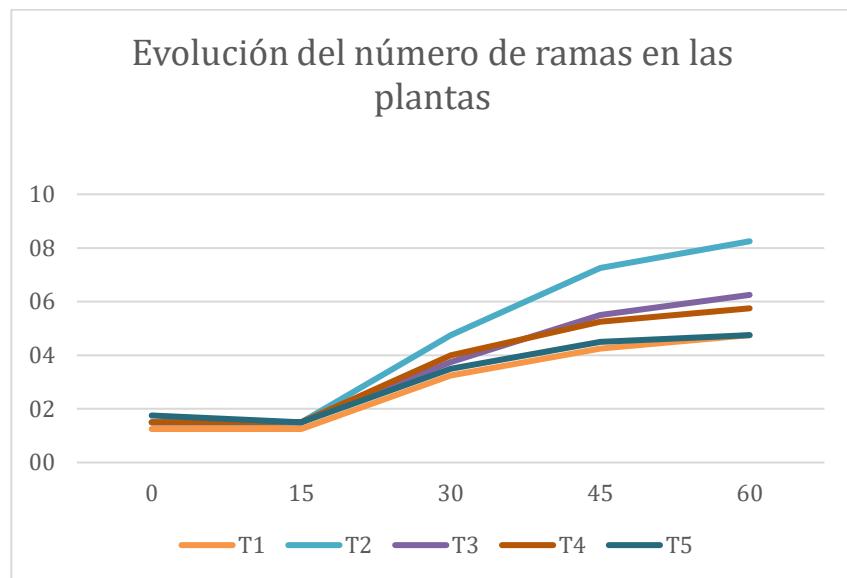
4.2.2. Número de ramas

La evaluación del número de ramas se realizó cada 15 hasta los 60 días de cultivo luego de la poda de formación, estos datos se presentan en la tabla 4.4 y se presenta en el gráfico 02. Aquí podemos observar que, a partir de los 30 días de cultivo, se incrementa el número de ramas para el T2 (14 días activación) con 8.25 ramas promedio y este tratamiento mantiene su liderazgo hasta el final de la investigación; seguido por el T3 con 21 días de activación con 8.25 ramas promedio, y en el subgrupo (b) se encuentra el resto de los tratamientos, pero con una significación estadística de 0.064, lo que nos indica que existe una probabilidad del 6% para tener los resultados mas elevados de ese subgrupo usando cualquiera de las días de activación de ese subgrupo. Con estos resultados podemos afirmar que el T2 (14 días activación) es el mejor tiempo de activación para lograr la mayor cantidad de ramas en las plantas de Stevia. Y, que usar más o menos días de activación no se obtiene mejores resultados.

Tabla 4. Número de ramas hasta los 60 días de cultivo

Trat	Dias				
	0	15	30	45	60
T1	01	01	03	04	05
T2	1.5	1.5	4.75	7.25	8.25
T3	1.5	1.5	3.75	5.5	6.25
T4	1.5	1.5	4	5.25	5.75
T5	1.75	1.5	3.5	4.5	4.75

Gráfico 2. Evolución del número de ramas hasta los 60 días de cultivo



En la tabla 4.5, se presenta el ANVA para el número de ramas a los 60 días de cultivo; aquí podemos ver que el F calculado es de 16.065 valor superior al F teórico al 5 y 1% (3.056 y 4.893), por lo que afirmamos que existe una diferencia altamente significativa entre los tratamientos para los 60 días de cultivo. Esta significación estadística, nos indica que hay diferencia entre los resultados de los tratamientos por lo tanto los tiempos de activación del Biol influyen en el incremento de las ramas de Stevia a los 60 días de cultivo; así mismo el coeficiente de variabilidad es de 12.08%, que de acuerdo a Calzada (1982), es un valor bueno por encontrarse dentro del rango de 30% que es máximo porcentaje aceptable, lo que nos indica que la formulación de tiempos de

activación del Biol con microorganismos de montaña para cada tratamiento generan respuestas diferentes para cada tratamiento.

Tabla 5. ANVA para el número de ramas a los 60 días de cultivo

F de V	GL	SC	CM	Fc	Ft 5%	Ft 1%	Sgn
Tratamientos	4	33.20	8.30	16.065	3.056	4.893	* *
Error	15	7.75	0.52				
Total	19	40.95					
	% CV	12.08	\bar{X}		5.95		

En la tabla 4.6, se presenta la prueba estadística de Tukey al 5%, para el número de ramas en la Stevia a los 60 días de cultivo. Esta prueba se realizó para determinar que tratamientos muestran mayor y menor valor entre los tratamientos empleados en esta investigación, resaltando el T2 con 14 días de activación del biol de microorganismos de montaña como el mejor tratamiento porque muestra la mayor cantidad de rama; en el subgrupo (b) se encuentra el resto de los tratamientos observando que el mayor número de ramas para ese subgrupo se encuentran en relación inversa al número de días de activación del Biol; es decir, conforme se incrementa los días de activación, decrece el incremento del número de ramas. Indicandonos que el mejor tiempo de activación del Biol es hasta los 14 días porque favorece el incremento del número de ramas.

Tabla 6. Prueba estadística de Tukey al 5% para el número de ramas de Stevia a los 60 días de cultivo

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		a	b
T2: 14 días activación	4	8.25	
T3= 21 días activación	4		6.25
T4= 28 días activación	4		5.75
T5= 35 días activación	4		4.75
T1: 7 días activación (Testigo)	4		4.75
Sig.		1.000	.064

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica
= 4,000.

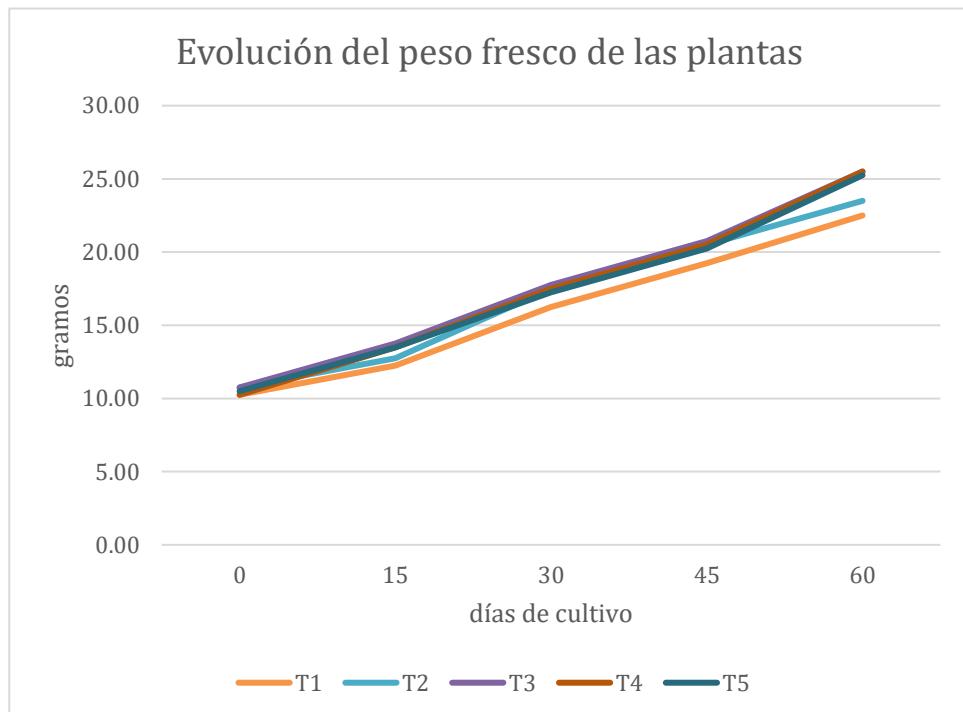
4.2.3. Peso fresco de la planta (g)

La evaluación del peso fresco de las plantas se realizó igualmente cada 15 días hasta los 60 días de cultivo, los datos de la evolución del peso fresco de las plantas se presentan en la tabla 4.7. y se observa en el gráfico 03. Aquí podemos observar que el incremento del peso fresco de las plantas se realiza casi paralelamente para todos los tratamientos hasta los 15 días de cultivo, pero desde los 15 días a los 45 días todos los tratamientos tienen un distanciamiento del tratamiento testigo (7 días de activación) y finalmente a los 60 días de cultivo

Tabla 7. Peso fresco de las plantas en g. hasta los 60 días

Trat.	Días				
	0	15	30	45	60
T1	10.25	12.25	16.25	19.25	22.5
T2	10.75	12.75	17.50	20.50	23.50
T3	10.75	13.75	17.75	20.75	25.50
T4	10.25	13.50	17.50	20.50	25.50
T5	10.50	13.50	17.25	20.25	25.25

Gráfico 3. Evolución del peso fresco de las plantas hasta los 60 días de cultivo



En la tabla 4.8. presentamos el ANVA para el peso fresco de las plantas a los 60 días de cultivo, aquí podemos observar que el F calculado es de 15.621 valor mayor al F teórico al 5% (3.056) y al 1% (4.893) por lo que afirmamos que existe una diferencia estadística altamente significativa Lo que nos indica que los tratamientos son estadísticamente diferentes porque existe diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos. De igual manera el coeficiente de variabilidad es de 2.84%, según Calzada (1982), es un valor muy bueno, lo que nos indica que la distribución de cada tratamiento no tiene mucha variabilidad con relación al gran promedio que es de 24.45 g. y se corrobora por la similitud de los datos entre los tratamientos y sus repeticiones.

Tabla 8. ANVA para el peso fresco de las plantas a los 60 días de cultivo

F de V	GL	SC	CM	Fc	Ft 5%	Ft 1%	Sgn
Tratamientos	4	30.20	7.55	15.621	3.056	4.893	* *
Error	15	7.25	0.48				
Total	19	37.45					
	% CV	2.84	\bar{X}	24.45			

Al tener una diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos, se realizó la prueba estadística de Tukey al 5%, que lo presentamos en la tabla 4.9, donde se observa que los tratamientos se reagrupan en dos subgrupos (a y b), en el subgrupo (a) se encuentran los tratamientos T4, T3 y T5 con 28, 21 y 35 días de activación respectivamente y con peso fresco de 25.50, 25.50 y 25.25 g. respectivamente y en el subgrupo (b) se encuentran los tratamientos T2 y T1 con 14 y 7 días de activación del Biol respectivamente con 23.50 y 22.50 g. de peso fresco.

Tabla 9. Prueba de significación de Tukey al 5% para el peso fresco de las plantas a los sesenta días de cultivo.

HSD Tukey ^a		Subconjunto para alfa = 0.05	
Tratamientos	N	a	b
T4= 28 días de activación	4	25.50	
T3= 21 días de activación	4	25.50	
T5= 35 días de activación	4	25.25	
T2: 14 días de activación	4		23.50
T1: 7 días (Testigo) de activación	4		22.50
Sig.		.985	.297

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

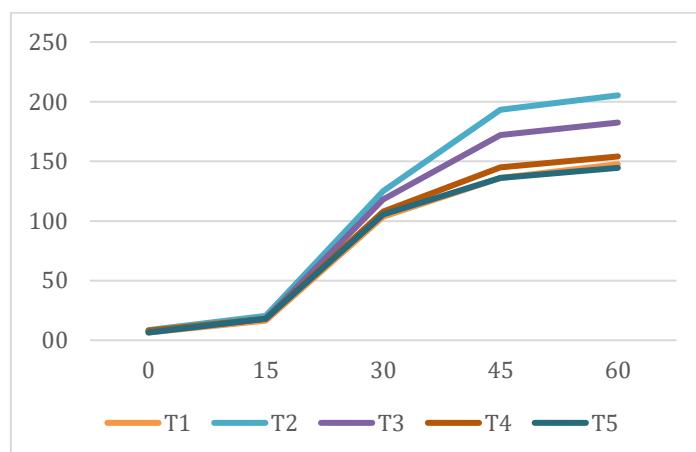
4.2.4. Número de hojas (unidades)

La evaluación del número de hojas de las plantas de Stevia se realizó cada 15 días y se presenta en la tabla 4.10 y gráfico 04.

Tabla 10. Número de hojas hasta los sesenta días de cultivo

Tratamientos	Días				
	0	15	30	45	60
T1	07	17	104	136	148
T2	8.5	20.5	125	193.3	205.3
T3	7	18	118	172	182.5
T4	8	18	108	145.06	154.06
T5	6.5	18	105.5	136.04	144.54

Gráfico 4. Evolución del número de hojas de planta de Stevia rebaudiana hasta los 60 días de cultivo



El gráfico 4, se muestra el incremento del número de hojas de plantas de Stevia hasta 60 días de cultivo bajo cinco tratamientos variando los días de activación del Biol de microorganismos de montaña. Se puede observar que, a partir de los 30 días de cultivo los tratamientos T2 y T3 son los que incrementan el mayor número de hojas superando al resto de los tratamientos.

En la tabla 4.11, se presenta el análisis de varianza para el número de hojas para los 60 días de cultivo, aquí observamos que el F calculado es de 5.373, con un valor superior al F teórico al 5% (3.056), y al F teórico al 1% (4.893), lo que nos indica que existe diferencia estadística altamente significativa para los tratamientos. Esta significación estadística nos indica que la acción del tiempo de activación del biol influye en el incremento del número de hojas de las plantas. Teniendo la probabilidad de aceptar la hipótesis alterna al nivel de significación de 5% y 1% y rechazar la hipótesis nula.

El coeficiente de variabilidad es de 13.60% según Calzada (1982), manifiesta que es un valor bueno ya que se encuentra dentro del porcentaje reportado como máximo aceptable del 30%. Lo que nos indica que no existe mucha variación entre los datos evaluados en las repeticiones y sus tratamientos.

Tabla 11. ANVA para el número de hojas de las plantas de Stevia a los 60 días de cultivo

F de V	GL	SC	CM	Fc	Ft 5%	Ft 1%	Sgn
Tratamientos	4	11066.80	2766.70	5.373	3.056	4.893	**
Error	15	7723.75	514.92				
Total	19	18790.55					
	%CV	13.60	\bar{X}	166.85			

Al tener una diferencia altamente significativa en el ANVA, se procedió a aplicar la prueba estadística de Tukey al 5%, que lo presentamos en la tabla 4.12. Esta tabla reporta los resultados la comparación del número de hojas de plantas

de Stevia rebaudiana a los 60 días de cultivo bajo diferentes tratamientos. La prueba se realizó al nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

Esta tabla nos indica que los tratamientos T2 y T3 con 14 y 21 días de activación del biol respectivamente obtuvieron los mejores resultados, con un nivel de significación de 0.617, lo que nos indica que existe una probabilidad del 61.7% de tener el mismo resultado usando cualquiera de los tiempos de activación del biol; mientras que en el subgrupo (b) se encuentran los tratamientos T3, T4, T1 y T5 con 21, 28, 7 y 35 días de activación del biol y con un nivel de significación grupal de 0.182, lo que nos indica que existe un baja probabilidad del 1.87% de tener mis mismos resultados usando cualquiera de esos tiempos de activación del biol.

Afirmando que La prueba de Tukey sugiere que los tratamientos T2 y T3 (con 14 y 21 días de activación) produjeron el mayor número de hojas en las plantas de Stevia a los 60 días. Guardando una relación inversa del número de días de activación con el incremento del número de hojas a excepción del tratamiento testigo (T1) con 7 días de activación que nos indicaría que 7 días es poco tiempo para activar al biol.

Tabla 12. Prueba de significación de Tukey al 5% para el número de hojas de las plantas a los sesenta días de cultivo.

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		a	b
T2: 14 días de activación	4	205.50	
T3= 21 días de activación	4	182.50	182.50
T4= 28 días de activación	4		154.00
T1: 7 días de activación	4		147.50
T5= 35 días de activación	4		144.75
Sig.		.617	.182

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

4.2.5. Peso fresco de las hojas

La evaluación del peso fresco de las hojas en las plantas de Stevia se realizó cada 15 días y su evolución lo podemos observar en la tabla 4.13 y el gráfico 05.

Tabla 13. *Peso fresco de las hojas en g. hasta los 60 días*

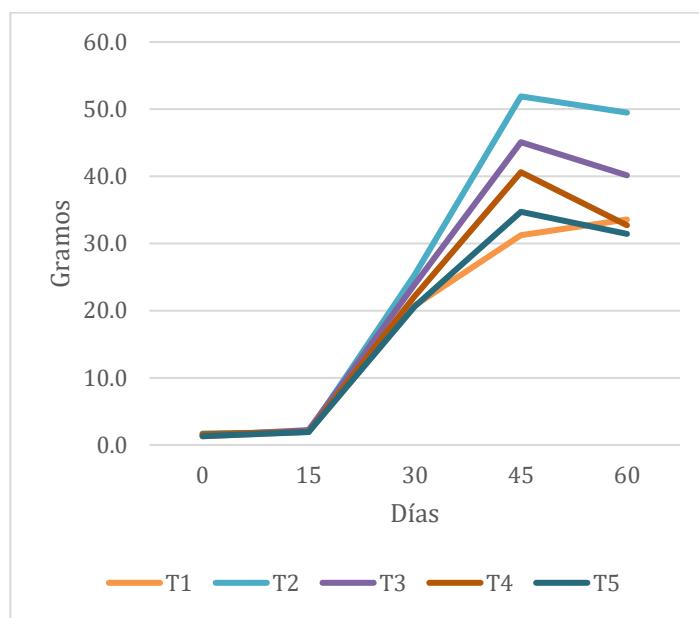
Tratamientos	Dias				
	0	15	30	45	60
T1	1.3	2.0	20.8	31.2	33.6
T2	1.7	1.9	25.3	51.9	49.5
T3	1.4	2.2	23.9	45.1	40.2
T4	1.6	2.0	22.2	40.6	32.7
T5	1.3	1.9	20.6	34.7	31.4

En la presente tabla podemos observar que el peso fresco aumenta significativamente desde el día 0 hasta el día 15, y luego continúa aumentando, aunque a un ritmo potencialmente más lento, hasta el día 60. Existe una clara diferencia entre el peso inicial (día 0) y los pesos posteriores. El tratamiento T2 muestra el peso más alto en el día 45 y día 60, mientras que T5 (con 35 días de activación) muestra el peso más bajo en el día 60. El grupo de control (T1) muestra un aumento constante de peso, lo que sugiere un patrón de crecimiento de referencia. Los otros tratamientos muestran fluctuaciones, lo que indica que los tiempos de activación más largos del Biol no necesariamente conducen a rendimientos consistentemente más altos.

Estos datos se presentan en el gráfico 05. Donde se visualiza con más detalle la evolución del peso fresco de las hojas de Stevia hasta los 60 días de cultivo, donde observamos que los tratamientos T2 y T3 lideran el peso fresco de las hojas a partir de los 45 días de cultivo hasta el final de la investigación y el T5 y T4 tienen valores más bajos en esta investigación.

Estos resultados sugieren un efecto positivo del Biol en el peso fresco de las hojas de *Stevia rebaudiana*, pero el tiempo de activación óptimo no está inmediatamente claro a partir de una simple inspección visual. Es necesario un análisis estadístico adicional, por lo que se debe de realizar al análisis de varianza y la prueba estadística de Tukey para determinar que tratamiento a base de los tiempos de activación del biol es el mejor y así poder sacar conclusiones firmes sobre la relación entre el tiempo de activación del Biol y el crecimiento de la hoja de *Stevia*. Los resultados de este análisis ayudarán a determinar la estrategia de activación del Biol más eficaz

Gráfico 5. Evolución del peso fresco de las hojas de *Stevia* hasta los 60 días de cultivo



El análisis estadístico, se realizó al final de la investigación a los 60 días de cultivo ya que el objetivo de esta investigación fue evaluar la influencia de diferentes tiempos de activación del biol a base de microorganismos de montaña para determinar su influencia en la producción de hojas de *Stevia rebaudiana*, y en la tabla 4.14. presentamos el ANVA para el peso fresco de las hojas de *Stevia* a los 60 días de cultivo.

Tabla 14. ANVA para el peso fresco de las hojas a los 60 días de cultivo

F de v	GL	SC	CM	Fc	Ft 0.05%	Ft 0.01%	Sgn
Tratamientos	4	902.78	225.69	6.053	3.056	4.893	* *
Error	15	559.33	37.29				
Total	19	1462.109					
	CV	16.30		X		37.47	

En esta tabla, podemos ver que el F calculado es de 6.053, valor mayor al F teórico al 5% (3.056), y al F teórico al 1% (4.893), por lo que se afirma, que existe diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos. Esta significación estadística permite rechazar la probabilidad de aceptar la hipótesis nula a un nivel de significación del 5% y 1% y aceptar la hipótesis alterna. El coeficiente de variabilidad es de 16.30% porcentaje según Calzada (1982) interpretado como un valor bueno ya que se encuentra dentro del rango del 30% como valor máximo aceptado para el coeficiente de variación.

Al tener una alta significación estadística, se aplicó la prueba estadística de Tukey al 5%, que lo presentamos en la tabla 4.15.

Tabla 15. Prueba de significación de Tukey al 5% para el peso fresco de las hojas a los sesenta días de cultivo.

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		a	b
T2: 14 días de activacion	4	49.45	
T3= 21 días de activacion	4	40.15	40.15
T1: 7 días de activacion(Testigo)	4		33.58
T4= 28 días de activacion	4		32.75
T5= 35 días de activación	4		31.4250
Sig.		.249	.303

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

Esta prueba estadística, reagrupa a los tratamientos en dos subgrupos de acuerdo a la mayor cantidad de peso fresco que tienen las hojas en cada

tratamientos, estando en el subgrupo (a) los tratamientos con el mayor peso fresco y se encuentran los tratamientos T2 con 14 días de activación del Biol, con 49.45 g, seguido por el T3 con 21 días de activación del Biol con 40.15 g, y con una significación estadística para ese subgrupo de 0.249, lo que indica que existe una probabilidad del 24.9% de tener los mismos peso usando cualquiera de los tiempos de activación del Biol. En el subgrupo (b) se encuentran los tratamientos T3, T1, T4 y T5 con 21, 7, 28 y 35 días de activación respectivamente y con peso fresco de las hojas de 40.15, 33.58, 32.75 y 31.43 g. respectivamente para cada tratamiento de ese subgrupo. Y con una significación estadística de 0.303, lo que indica que existe una probabilidad del 30.3% de tener los mismos posos usando cualquiera de los tiempos de activación de ese subgrupo.

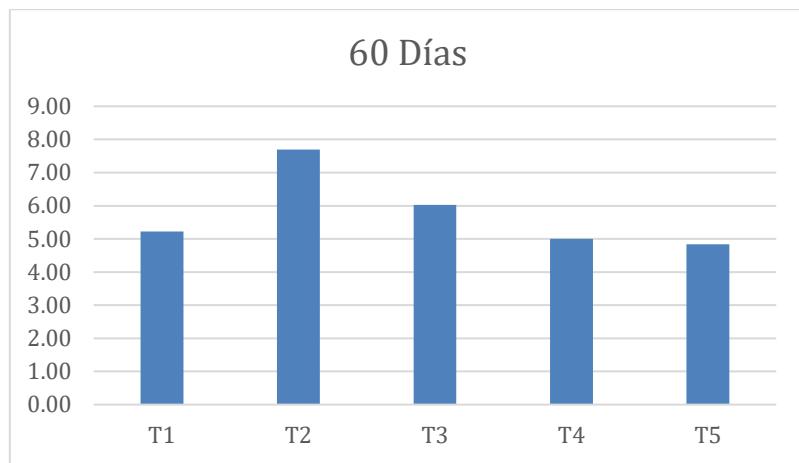
4.2.6. Peso seco de las hojas (g)

Esta evaluación se realizó al final de la investigación es decir a los 60 días de cultivo. Se presenta en la tabla 4.16 y en el gráfico 06.

Tabla 16. *Peso (g) de las plantas de Stevia a los 60 días de cultivo*

Tratamientos	60 Días
T1	5.23
T2	7.70
T3	6.02
T4	5.01
T5	4.84

Gráfico 6. Peso (g) de las plantas de Stevia a los 60 días de cultivo



En la esta tabla y su gráfico podemos observar que el T2 (con 14 días de activación del Biol de MM, es el tratamiento con el mayor peso seco promedio de las hojas con 7.70 g, seguido por el T3 con 21 días de activación con 6.02 g, le sigue el T1 con 7 días de activación logrando 5.23 g. luego le sigue el T4 con 28 días de activación con 5.01 g, finalmente le sigue el T5 con 35 días de activación con 4.84 g.

En este gráfico podemos observar que el mejor tiempo de activación es 14 días; pero mayor cantidad de días o menor disminuye el valor del peso seco de las hojas. Estos resultados conllevan a realizar el análisis de varianza para los tratamientos y sus repeticiones que lo presentamos en la tabla 4.17.

Tabla 17. ANVA para el peso seco de las hojas a los 60 días de cultivo

F de V	GL	SC	CM	Fc	Ft 5%	Ft 1%	Sgn
Tratamientos	4	22.14	5.53	4.746	3.056	4.893	*
Error	15	17.49	1.17				
Total	19	39.630					
%CV		18.75	\bar{X}		5.76		

En la tabla 4.17, se presenta el análisis de varianza del peso seco de hojas para los 60 días de cultivo, aquí podemos observar que el F calculado es de 4.746, con un valor mayor al F teórico al 5% (3.056) pero no para el F teórico al 1%

(4.893), por lo que afirmamos que existe diferencia estadística significativa solo al 5% entre los tratamientos. Estos resultados nos indican la probabilidad de rechazar la hipótesis nula al nivel de significación solo al 5%. El coeficiente de variabilidad es de 18.75% que de acuerdo a lo reportado por Calzada (1982), nos manifiesta que es un valor bueno ya que se encuentra dentro del rango de porcentaje aceptable inferior al 30%.

En base a estos resultados se aplicó la prueba estadística de Tukey al 5%, la cual lo presentamos en la tabla 4.18.

Tabla 18. *Prueba estadística de Tukey al 5% para el peso seco de las hojas de Stevia a los 60 días de cultivo*

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		a	b
T2: 14 días de activación	4	7.70	
T3= 21 días de activación	4	6.03	6.03
T1: 7 días de activación (Testigo)	4		5.23
T4= 28 días de activación	4		5.01
T5= 35 días de activación	4		4.84
Sig.		.232	.545

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

Aquí vemos que los tratamientos se agrupan en dos subgrupos (a y b) conformando el subgrupo (a) se encuentran los tratamientos T2 y T3, pero con una significación de 0.232, lo que nos indica que los tratamientos que están en este subgrupo tienen resultados diferentes a pesar de encontrarse en un mismo subgrupo y que existe una probabilidad del 23.2% de obtener resultados similares usando cualquiera de los tiempos de activación de los tratamientos que se encuentran en este subgrupo.

En el subgrupo (b) se encuentran los tratamientos T3, T1, T4 y T5 con una significancia de 0.545, lo que indica que existe una probabilidad del 54.5%

de tener valores similares usando cualquiera de los tiempos de activación usados en esos tratamientos que se encuentran en ese subgrupo.

4.2.7. Producción de las plantas de Stevia

El cálculo de la producción de las plantas de Stevia se realizó a los 60 días de cultivo, tomando como referente el peso seco de las hojas y expresado en kg/Ha, para lo cual se aplicó el cálculo de la cantidad de plantas que podrían ser cultivadas en un hectárea y sus resultados se expresaron en kg/Ha.

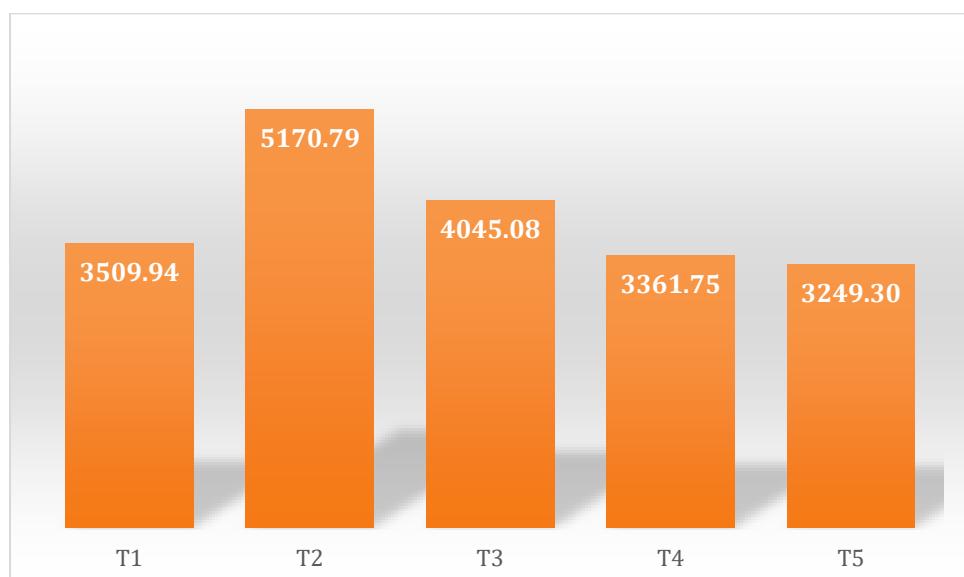
Estos resultados se presentan en la tabla 4.19 y en el gráfico 07

Tabla 19. Producción (kg/Ha) de las plantas de Stevia a los 60 días de cultivo

Tratamientos	60
T1	3509.94
T2	5170.79
T3	4045.08
T4	3361.75
T5	3249.30

Esta tabla muestra el rendimiento de las plantas de *Stevia rebaudiana* a los 60 días de cultivo, bajo cinco tratamientos diferentes que combinan la aplicación de diferentes tiempos de activación del Biol a base de microorganismos de montaña con cuatro repeticiones para cada tratamiento.

Gráfico 7. Producción de las plantas de Stevia a los 60 días de cultivo (kg/Ha)



En la esta tabla y su gráfico podemos observar que el T1 (con 7 días de activación: Testigo) es el tratamiento sirve como punto de referencia para comparar el efecto de los demás tratamientos. Así el T2 (14 días de activación) es la producción con el más alto valor de producción con 5.170 kg/Ha de hojas secas de Stevia; le sigue el T3 (con 21 días de activación con 4.045 kg/Ha de hojas secas, seguido por el tratamiento Testigo T1 (7 días de activación) con 3509.94 kg/Ha de hojas secas; luego sigue el T4 (28 días de activación) con 3361.75 kg/Ha de hojas secas y finalmente se encuentra el T5 (35 días de activación) con 3249.30 kg/Ha de hojas secas.

Realizando el análisis de estos datos se observa que el T2 tiene el mejor tiempo de activación del Biol de microorganismos de montaña y que mayor o menor tiempo de activación del Biol, no incrementa el rendimiento de la producción de las hojas secas de Stevia.

Para determinar si existe diferencia significativa en los resultados de los tratamientos, se realizó el análisis de varianza, que lo presentamos en la tabla 4.20

Tabla 20. ANVA para la producción de las plantas de Estevia

F de V	GL	SC	CM	Fc	Ft 5%	Ft 1%	Sgn
Tratamientos	4	9983645.65	2495911.41	4.746	3.056	4.893	*
Error	15	7887910.82	525860.72				
Total	19	17871556.47					
	CV	18.75			\bar{X}	3867.37	

Los resultados del ANVA, reportan el Fc. de 4.746, valor superior al Ft al 5 pero no para el 1% (3.056 y 4.893) lo que nos indica que existe una diferencia solamente significativa entre los tratamientos y que el efecto de las formulaciones de los tiempos para activar el biol de microorganismos de montaña solo difieren en un análisis estadístico para el 5%.

Asimismo, podemos observar que el CV es de 18.75% valor que se encuentra dentro del rango aceptable según Calzada (1982), lo que nos indica que no existe mucha dispersión de los resultados entre los tratamientos y sus repeticiones.

Al tener una diferencia significativa entre los tratamientos se aplicó la prueba estadística de Tukey al 5%, para determinar que tratamientos tienen mejor resultado para obtener mejor producción. Estos resultados los presentamos en la tabla 4.21.

Tabla 21. *Prueba estadística de Tukey al 5% para la producción de las plantas de Stevia*

HSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		a	b
T2: 14 días de activación	4	5170.80	
T3= 21 días de activación	4	4045.08	4045.08
T1: 7 días de activación (Testigo)	4		3509.94
T4= 28 días de activación	4		3361.76
T5= 35 días de activación	4		3249.30
Sig.		.234	.547

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

Esta prueba nos muestra que se forman 2 subgrupos (a y b) conformando el subgrupo (a) se encuentran los tratamientos T2 y T3, pero con una significación de 0.234, lo que nos indica que los tratamientos que están en este subgrupo tienen resultados diferentes a pesar de encontrarse en un mismo subgrupo y que existe una probabilidad del 23.4% de obtener resultados similares usando cualquiera de los tiempos de activación de los tratamientos que se encuentran en este subgrupo.

En el subgrupo (b) se encuentran los tratamientos T3, T1, T4 y T5 con una significancia de 0.547, lo que indica que existe una probabilidad del 54.7%

de tener valores similares usando cualquiera de los tiempos de activación usados en esos tratamientos que se encuentran en ese subgrupo.

Por lo que podemos afirmar que el mejor tratamiento es el T2 con 14 días para activar el Biol de MM y poder obtener el mejor producción en las plantas de Stevia.

4.3. Prueba de hipótesis

La prueba de hipótesis del presente trabajo de investigación, la realizamos a partir de la hipótesis planteada.

Es así que tenemos:

Ho: El tiempo de activación del biol elaborado con microorganismos de montaña no influye en la producción de estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) en condiciones de vivero en La Merced – Chanchamayo

Hg: El tiempo de activación del biol elaborado con microorganismos de montaña influye en la producción de estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) en condiciones de vivero en La Merced – Chanchamayo

Regla de decisión

Si $f_c \leq f_t$, se acepta la H_0 , y se rechaza la H_a

Si $f_c > f_t$, se rechaza la H_0 , y se acepta la H_a

	C	V	f cal	f 0.5	f 0.1	Decisión
Altura de planta	2.22	17.142	3.056	4.893	Se rechaza la H_0	
Número de ramas	12.08	16.065	3.056	4.893	Se rechaza la H_0	
Peso fresco de la planta	2.84	15.621	3.056	4.893	Se rechaza la H_0	
Número de hojas	13.60	9.097	5.373	4.893	Se rechaza la H_0	
Peso fresco de las hojas	16.30	6.053	3.056	4.893	Se rechaza la H_0	
Peso seco de las hojas	18.75	4.746	3.056	4.893	Se acepta la H_a al 5%	
Producción	18.75	6.623	3.056	4.893	Se acepta la H_a al 5%	

4.4. Discusión de resultados

Caycedo et al (2021), manifiestan que la efectividad de un Biol depende de la actividad metabólica de los microorganismos. La melaza proporciona nutrientes (azúcares) que impulsan el crecimiento microbiano. Sin embargo, un tiempo de activación demasiado corto puede resultar en una biomasa insuficiente y una baja producción de metabolitos beneficiosos para las plantas. Por otro lado, un tiempo de activación excesivamente largo podría llevar a la depleción de nutrientes, la acumulación de metabolitos tóxicos, o incluso a la disminución de la viabilidad microbiana debido a la competencia o a la limitación de recursos.

Corrales, et al (2015), sostienen que el crecimiento microbiano sigue una curva sigmoidea: una fase lag inicial, una fase exponencial de rápido crecimiento, una fase estacionaria donde el crecimiento se estabiliza, y una fase de muerte. El tiempo óptimo de activación se encontraría dentro de la fase exponencial o al inicio de la fase estacionaria, donde la biomasa y la actividad metabólica son máximas. Asimismo, las bacterias también realizan biosíntesis de nuevos compuestos celulares, que demandan energía procedente del medio ambiente.

De acuerdo con la forma como las bacterias obtienen la energía, se clasifican en: Quimiótrofas, cuando la obtienen de sustancias orgánicas y Fotótrofas, cuando la obtienen de la luz. (5), mientras que, dependiendo de la ganancia energética, se clasifican en: Litótrofas (del griego lithos = piedra), cuando requieren sustancias inorgánicas como ácido sulfídrico (H_2S), azufre elemental (S), amoniaco (NH_3), ion nitrito (NO_2^-), Hierro (Fe), entre otros y Organótrofas, las que requieren compuestos orgánicos como carbohidratos, hidrocarburos, lípidos y proteínas, entre otros. Lagier, et al (2015); por lo que

bajo estos sustentos, manifestamos que las bacterias tienen un rol importante en la descomposición de los diferentes tipos de materia orgánica.

Por las propiedades que tienen las bacterias de metabolizar elementos y compuestos les han conferido la función de ser inoculantes biológicos en sistemas agrícolas, en los cuales favorece el desarrollo a las plantas, mediante diferentes mecanismos, tales como la fijación de nitrógeno, inducción de resistencia frente a patógenos, promoción de rizogénesis y síntesis de fitohormonas estimuladoras del crecimiento vegetal, como el ácido indol acético (AIA); dentro de los géneros reportados como promotores del crecimiento vegetal (PGPR) se encuentran *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium* sp. y *Bradyrhizobium* sp., entre otros (Angulo et al, 2012). Otros tipos de actividades promotoras del crecimiento vegetal, asociadas a la disponibilidad de P en el suelo, son la solubilización ácida del P inorgánico y la mineralización del P orgánico. La solubilización de los compuestos inorgánicos insolubles como los fosfatos de calcio, se lleva a cabo por la producción de ácidos orgánicos (ácido glucónico, ácido 2-cetoglucónico, ácido glicólico, oxálico, malónico y succínico), productos del catabolismo microbiano, y la consecuente sustitución del Ca++. (Corrales, et al, 2017).

La *Stevia rebaudiana* responde a la aplicación de Biol a través de la mejora de la disponibilidad de nutrientes, la supresión de patógenos, y la promoción del crecimiento radicular. La cantidad y calidad de estos beneficios dependen de la composición y actividad del Biol. Un Biol con una mayor concentración de microorganismos beneficiosos y una mayor producción de metabolitos promotores del crecimiento debería resultar en una mayor producción de hojas de *Stevia*. (Duncan et al, 2002).

Bajo estos fundamentos, se puede manifestar que los microorganismos tienen un determinado tiempo de crecimiento y capacidad de actuar sobre determinados sustratos orgánicos que favorecen su absorción por las plantas.

CONCLUSIONES

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la influencia del tiempo de activación del biol elaborado con microorganismos de montaña en la producción de *Stevia rebaudiana*, Bertoni en condiciones de vivero en La Merced – Chanchamayo; por lo que en base a los resultados obtenidos determinamos:

- Para determinar la influencia del tiempo de activación del Biol con MM, en relación al crecimiento aéreo Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) se realizó el ANVA para la altura de las plantas y para el número de ramas, determinando en ambos indicadores que existe una diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos y según la prueba de Tukey al 5%, se determinó que el mayor crecimiento de las plantas y número de ramas se obtuvo con 14 días de activación del Biol; por los que aceptamos la hipótesis específica que el tiempo de activación del Biol con MM influye en el crecimiento aéreo de la planta Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni).
- Para determinar la influencia del tiempo de activación del Biol con MM, para incrementar la biomasa de Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) se evaluó el peso fresco de las plantas, número de hojas y peso fresco de las hojas; y, según el ANVA para esos indicadores, existe una diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos; y, según la prueba de Tukey al 5%, se determinó que el mayor crecimiento de las plantas y número de ramas se obtuvo con 14 días de activación del Biol; por los que aceptamos la hipótesis específica que el tiempo de activación del Biol con MM influye en el incremento de la biomasa de la planta Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni); pero mayor o menor tiempo de activación disminuye la biomasa de las plantas.
- Para determinar la influencia del tiempo de activación del Biol con MM, para incrementar la producción de Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) se evaluó el peso

seco de las hojas y la producción de hojas secas en kg/Ha el ANVA para esos indicadores, reporta que existe una diferencia estadística significativa solo al 5% entre los tratamientos; y, según la prueba de Tukey al 5%, se determinó que el mayor peso seco de las hojas y la mayor producción de las plantas se obtuvo con 14 días de activación del Biol; por los que aceptamos la hipótesis específica que el tiempo de activación del Biol con MM influye en el incremento de la producción de la planta Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni); pero mayor o menor tiempo de activación disminuye la biomasa de las plantas.

- Que los microorganismos de montaña tienen un determinado tiempo de crecimiento y capacidad de actuar sobre los sustratos orgánicos para favorecen su absorción por las plantas.

RECOMENDACIONES

- Realizar otras investigaciones considerando un mayor número de repeticiones para cada tratamiento para tener resultados más precisos
- Se recomienda utilizar otros sustratos como activadores de los microorganismos de montaña, usando insumos locales
- Se recomienda analizar la composición del Biol al inicio de la investigación para identificar los tipos de microorganismos presentes y otra evaluación al término de cada tiempo de activación para determinar la población microbiana.
- Realizar análisis del suelo al inicio y final de la investigación para determinar el NPK remanente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amani, T., M. Nosrati, and T. R. Sreekrishnan. (2010). Anaerobic digestion from the viewpoint of microbiological, chemical, and operational aspects — a review. *Environmental Reviews* 18:255–278.
- Andino Villafuerte, W. A. (2011). Evaluación de tres tipos de bioles en la producción de frejol (*Phaseolus vulgaris* L. Var. Calima), en verde. Presentado como requisito parcial para obtener el título de ingeniero agrónomo, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Recursos Naturales. Escuela de Ingeniería Agronómica, Riobamba - Ecuador
- Astier C. M. (1994). *Hacia una agricultura ecológica en México: El problema de la transición para el productor campesino*. Grupo Interdisciplinario de Tecnología Rural Apropriada, Documento de Trabajo Num. 11. Pátzcuaro, Michoacán, UAM. México.
- Barea, J.; Azcon-Aguilar, C.; Roldán-Fajardo, B. (1984). Avances recientes en el estudio de las micorrizas VA I. Formación, funcionamiento y efectos en nutrición vegetal. *Anales de Edafología y Agrobiología* Tomo XLIII N° 3-4: 659-677
- Barreto, H., y W.R. Raun. (1990). *La precisión experimental de los ensayos regionales con maíz (*Zea mays*) a través de Centroamérica*. En: T.J. Smyth, W.R. Raun y F. Bertsch, editores, Segundo Taller Latinoamericano de manejo de suelos tropicales, San José, Costa Rica 9-13 julio. Soil Science Department, North Carolina State University, NC, USA. p. 99-105.
- Bendezu C, Oseas R. (2015). Propagación vegetativa de *Stevia rebaudiana*, Bertoni con aplicación de ácido indol-acético – Satipo. Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo en la UNCP

- Bonten, L. T. C., K. Zwart, R. P. J. J. Rietra, R. Postma, H. de, and S. L. Nysingh. (2014). Bio-slurry as fertilizer: is bio-slurry from household digesters a better fertilizer than manure? a literature review.
- Calzada, B.J. (1982); *Métodos estadísticos para la investigación*. 5ta ed. Editorial “Milagros”. Lima Perú p. 644.
- Callisaya M. Alfredo. (2013). Efecto de niveles de abono orgánico en la concentración de esteviosido de la eStevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) en dos zonas agroecológicas de norte de la Paz.. Tesis para ing. Agrónomo
- Campo Martinez A del pilar, Acosta Sanchez RL, Morales Velasco S, Prado FA. (2014). Evaluacion de Microorganismos de Montana (MM) en la produccion de acelga en la Meseta de Popayan. Biotecnol Sect Agropecu Agroind.
- Canto, M., & García, J. (2020). *Microorganismos en la agricultura sostenible*. Editorial Agrícola.
- Cardona, F; Morales, F.J.; Pastor Corrales, N.A. (2002). *Problemas de campo en los cultivos de frijol en América Latina*. Lima – Perú. INIA. P. 17 – 21.
- Castro Barquero L, Murillo Roos M, Uribe Lorío L, Mata Chinchilla R. (2015). Inoculación al suelo con *Pseudomonas Fluorescens*, *Azospirillum Oryzae*, *Bacillus Subtilis* y Microorganismos de Montaña (MM) y su efecto sobre un sistema de rotación soyatom ate bajo condiciones de invernadero. Agron Costarric.; pp: 21-36.
- FAO-UNESCO. (1996). Guía de fertilizantes y nutrición vegetal. Boletín N° p 56.30.
- Flores, L. (2016). Caracterización físico-química del biofertilizante Microorganismos de Montaña (MM) para la Finca Agroecológica Santa Inés. Zamorano, Honduras

Gallopin, Gilberto C. (1990) Prioridades ecológicas para el desarrollo sostenible en América Latina, Latinoamérica, Medio Ambiente y Desarrollo. Instituto de Estudios e investigaciones Sobre el medio ambiente (IEIMA)

Garden City Composting. (2002). A Guide to Effective Micro-organisms (EM).

González Ch., C., R. Ferrera-Cerrato, R. García y A. Martínez (1990). La fijación biológica de nitrógeno en un agroecosistema de bajo ingreso externo de energía en Tamulté de las Sabanas, Tabasco. Agrociencia Serie Agua-Suelo-Clima.

Higa, T., & Wididana, G. (2004). *The concept and theories of effective microorganisms*. Centro Internacional de Investigación de la Agricultura de la Naturaleza. Japón: Okinawa University of Rykyus.

Holdridge, Leslie. R. (1967). Life Zone Ecology. Tropical Science Center. San José de Costa Rica.

Insam, H., M. Gómez-Brandón, and J. Ascher. (2015). Manure-based biogas fermentation residues – Friend or foe of soil fertility? *Soil Biology and Biochemistry* 84:1–14.

Jiménez, T.; Cabrera, G.; Álvarez, E. y Gómez, F. (2010). “Evaluación del contenido de esteviósido y rebaudiósido A en una población de *Stevia rebaudiana* Bertoni (kaâ heê) cultivada comercialmente. Estudio preliminar”. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, vol. 8, no. 1, junio de 2010, pp. 47-53, ISSN 1812-9528.

Li, Y.F. (2013). An integrated study on microbial community in anaerobic digestion systems. Ph.D., The Ohio State University, United States - Ohio.

López, R., & Torres, A. (2019). *Beneficios de la Stevia rebaudiana en la salud humana*. Revista de Fitoterapia, 15(2), 45-52.

Marcavillaca, M. C. (1984.) Micropropagación *in vitro* de *Stevia rebaudiana* Bertoni por medio de segmentos nodales y meristemas. vol. 9, edit. Sociedad Argentina para la Investigación de Productos Aromáticos, Argentina, 241-243 p.

Medina, A., L. Quipuzco, and J. Juscamaita. (2015). Evaluación de la calidad de biol de segunda generación de estiércol de ovino producido a través de biodigestores. Universidad Nacional Agraria La Molina.

Miranda Ruiz, E. (2018). Efecto de tres tipos de abono orgánico liquido (biol) en la etapa de desarrollo en vivero de bolaina blanca (*Guazuma crinita* C.Martius) en Pucallpa Perú.

Mora, N. (2010). Aprovechamiento y manejo de desechos orgánicos de cocina utilizando Microorganismos de Montaña (MM) aislados de dos bosques secundarios de Costa Rica. Instituto tecnológico de Costa Rica, Escuela de Biología.

Orbe Panchana, José Adrián. (2017). Evaluación de la eficiencia de Microorganismos de Montaña (MM) en la Finca Agroecológica Zamorano. Tesis para optar título de Ing. Del ambiente. Honduras.

Paredes, C. (2021). *El biol y su aplicación en la agricultura moderna*. EcoAgricultura, 34(1), 12-20.

Ramírez, J.G. (2011) Paquete Tecnológico Estevia (*Stevia rebaudiana*) Establecimiento y mantenimiento. Paquete Tecnológico. Publicación Especial Núm. 1. Campo Experimental Mocochá. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México.

Rodríguez, C. y Tafur T, (2014). Producción de Microorganismos de Montaña para el Desarrollo de una Agricultura Orgánica. San Martin, Perú: IV Congreso Nacional de Investigación (CONACIN) "Producción y visibilidad científica." p. 2. Rudolph A, Franco C, Becerra J, Barros A, Ahumada R. (2002). Evaluación de materia

orgánica e hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos superficiales, Bahía Concepción-Chile. Boletín la Soc Chil Química. Dec; p:12.

Umaña Cardona, Steven (2017). Ingeniería Ecológica: efecto del uso de microorganismos de montaña sobre el suelo con base en dos cultivos agrícolas. Universidad de Costa Rica. Proyecto final de graduación para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agrícola

Vázquez, B. L.; Robledo, P. A.; Muratalla, L. A. y Conde, M. V. (2014) “Micropropagación de *Stevia rebaudiana* Bertoni y detección de steviósidos”. *Bioagro*, vol. 26, no. 1, pp. 49-56, ISSN 1316-3361

Referencias Bibliográficas electrónicas

American Society of Agronomy. (ASA), (2024). Crops & Soils. Extraído de internet el 14 de agosto de 2024, de: <https://www.agronomy.org/publications/books>.

Angulo-Cortés Jimena P, García-Díaz Anamaría, Pedroza Aura Marina, María Mercedes Martínez-Salgado, Viviana Gutiérrez-Romero, (2012) Diseño de un medio para la producción de un co-cultivo de bacterias fosfato solubilizadoras con actividad fosfatasa. SICI: Vol. 17 N° 1: 43-52. [[Links](#)]

Armenta-Bojórquez, Adolfo Dagoberto; García-Gutiérrez, Cipriano; Camacho-Báez, J. Ricardo; Apodaca-Sánchez, Miguel Ángel; Gerardo-Montoya, Leobardo; Nava-Pérez, Eusebio. (2010). Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. Ra Ximhai, vol. 6, núm. 1. Disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/461/46112896007.pdf>.

Cassaica Javier, Álvarez Edgar. (2008). Recomendaciones técnicas para la producción sustentable del KA”A HE”E (*Stevia rebaudiana*Bertoni) en el Paraguay. Manual Técnico N° 8. (doc. en línea). Asunción, Paraguay. Disponible en http://3.bp.blogspot.com/_Kn3TIUKsFnk/SUbewSHFkn

Castro B. Leida, González A. José. (2020). Factores relacionados con la activación líquida de microorganismos de montaña (MM). Extraído de: Agronomía Costarricense 45(1): 81-92. ISSN:0377-9424 / 2024 www.mag.go.cr/rev agr/index.html

Caycedo Lozano, Liliana; Corrales Ramírez, Lucía Constanza; Trujillo Suárez, Diana Marcela. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. Universidad de Cundinamarca – Colombia. Extraído de la Rev. Científica Cielo, el 25 de junio de 2025, de:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702021000100049#:~:text=Luc%C3%ADa%20Constanza%20Corrales%C2%A0Ram%C3%ADrez

Colque, T; Rodriguez, D; Mujuca, A; Canahua, A; Apaza, V; y Jacopsen, S. (2005). Producción de biol abono líquido natural y ecológico. Estación Experimental ILLPA – Puno, PE. (en línea) Consultado el 14 de feb 2024. Disponible en: www.quinoa.life.ku.dk.

Corrales LC, Antolinez DM, Bohórquez JA, Corredor AM. (2015). Anaerobic bacteria: processes they perform and their contribution to life sustainability on the planet. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá, Colombia. [[Links](#)]

Corrales Ramírez Lucía Constanza, Liliana Caycedo Lozano, María Angélica Gómez Méndez, Sonia Julieth Ramos Rojas, Jessica Natalia Rodríguez Torres.(2017). *Bacillus spp: una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos.* NOVA. 15 (27): 45-65. [[Links](#)]

Curco L. (2012). “*Propagación vegetativa de la stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) Aplicando hormonas ANA y AIB*”; de Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Unidad de estudios a distancia modalidad semipresencial. Ingeniería

Agropecuaria. Acceso 15 de diciembre de 2024. Sitio web:
<http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/578/1/T-UTEQ-0129.pdf>.

Chávez-Díaz, Ismael Fernando; Zelaya Molina, Lily X.; Cruz Cárdenas, Carlos Iván; Rojas Anaya, Edith; Ruíz Ramírez, Santiago ; De los Santos Villalobos, Sergio. (2021). Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro-biotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México. revista mexicana de Ciencias Agrícolas. Extraído de internet de:
<https://doi.org/10.29312/remexca.v11i6.2492>

Doussang, Roberto. (2011). *Extracto de Stevia y su color*. (en línea). Chile. Disponible en <http://Stevianaturalchile.com/index.php/blog-Stevia/item/8-extracto-de-Stevia-y-su-color.html>. Acceso 22 de agosto de 2024.

Duncan SH, Hold GL, Harmsen HJ, Stewart CS, Flint HJ. (2002). Requisitos de crecimiento y productos de fermentación de *Fusobacterium prausnitzii*, y una propuesta para reclasificarlo como *Faecalibacterium prausnitzii* gen. nov., peine. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 52: 2141-2146. [[Links](#)].

García, J. (2016). Biofertilizantes: Una alternativa sostenible para la agricultura. [Tesis doctoral, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Colombia. <https://repository.unal.edu.co/handle/10454/39211>

Grin. (2011). Germoplasm Resources Information Network. Estados Unidos. Germoplasma de la red de recursos de información. En línea. Maryland, Estados Unidos de Norte América. Disponible en <http://translate.google.com.ec/translate?hl=es&langpair=r=es%7Ces&u=http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl%3F16332>. Acceso el 12 de diciembre de 2024.

Illanes, Joel (2018). Nutraestevia. *El crecimiento en el consumo de la Stevia en el Perú*.

Extraído de internet el 29 de julio de 2024, de

[https://www.nutrastevia.pe/nutrablog/el-crecimiento-en-el-consumo-de-la-stevia-en-el-peru.](https://www.nutrastevia.pe/nutrablog/el-crecimiento-en-el-consumo-de-la-stevia-en-el-peru)

Infoagro, (2010). STEVIA. TIPOS DE SUSTRTO DE CULTIVO. (en línea). Disponible en http://www.infoagro.com/industria_auxiliar/tipo_sustratos.htm. Acceso 9 de agosto de 2024.

Incagro, (2008). *Manual Técnico de producción de Stevia*. (en línea). Cajamarca, Perú. Disponible en http://www.incagro.gob.pe/apc-aa-files/e457b3346514303468089b655b420d50/Manual_Tecnico_de_Stevia.pdf. Acceso 25 de marzo de 2024.

Lagier JC, Edouard S, Pagnier I, Mediannikov O, Drancourt M, Raoult D. (2015). Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev* . 2015;28(1):208-236. doi:10.1128/CMR.00110-14. [[Links](#)]

Martinez Cruz, Michael (2015) *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. Una revisión. Ministerio de Educación Superior. Cuba Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Extraído de internet el 17 agosto de 2024, de: <https://ediciones.inca.edu.cu>.

Taiariol. D. (2006). Caracterización de la Stevia rebaudiana Bert. Acceso 5 de julio de 2024, de monografias.com Sitio web: <http://www.monografias.com/trabajos13/stevia/stevia.shtml>

ANEXOS

Instrumentos de Recolección de Datos

EVALUACIÓN DE LA ALTURA DE LA PLANTA HASTA LOS 60 DÍAS DE CULTIVO

Trat	Rep.	Dias				
		INICIO	15 D	30 D.	45 D	60 D.
T1	01	22	24	26.5	28.5	30.50
T1	02	22	24.5	28	30	32.00
T1	03	21	24.2	26.7	28.7	30.70
T1	04	22	24	26.5	28.5	30.50
T2	01	21	24.4	27.4	31.4	34.40
T2	02	22	24.8	27.8	31.8	34.80
T2	03	21	24.7	27.8	31.8	34.80
T2	04	21	24.2	27.3	31.3	34.30
T3	01	21	24.7	27.7	29.7	31.70
T3	02	22	24.5	28	31	33.00
T3	03	20	24.8	27.8	30.8	32.80
T3	04	21	24.2	27.2	29.2	31.20
T4	01	20	23.8	26.8	28.8	30.80
T4	02	21	24.9	27.9	30.9	32.90
T4	03	21	24.5	27.5	30.5	32.50
T4	04	20	23.9	26.9	29.9	31.90
T5	01	21	24.3	27.3	29.8	30.80
T5	02	21	24.3	26.9	29.6	30.60
T5	03	22	24.2	26.9	29.7	30.70
T5	04	21	24.3	27.3	29.9	31.90

**EVALUACIÓN DEL NÚMERO DE TALLOS DE LAS PLANTAS HASTA
LOS 60 DÍAS DE CULTIVO**

Trat	Rep.	Dias				
		INICIO	15 D	30 D.	45 D	60 D.
T1	01	1	1	3	4	5
T1	02	1	1	3	4	4
T1	03	2	2	4	5	5
T1	04	1	1	3	4	5
T2	01	2	2	4	7	7
T2	02	1	1	5	7	9
T2	03	2	2	5	7	8
T2	04	1	1	5	8	9
T3	01	2	2	4	6	7
T3	02	1	1	4	6	7
T3	03	1	1	3	4	5
T3	04	2	2	4	6	6
T4	01	2	2	5	6	6
T4	02	1	1	4	5	5
T4	03	2	2	4	5	6
T4	04	1	1	3	5	6
T5	01	2	2	4	5	5
T5	02	1	1	3	4	5
T5	03	2	1	3	4	4
T5	04	2	2	4	5	5

EVALUACION DEL PESO FRESCO DE PLANTA

Trat	Rep.	Dias				
		INICIO	15 D	30 D.	45 D	60 D.
T1	01	10	12	16	19	23
T1	02	10	12	16	19	22
T1	03	11	13	17	20	23
T1	04	10	12	16	19	22
T2	01	10	12	16.5	19.5	22.5
T2	02	11	13	18	21	24
T2	03	11	13	18	21	24
T2	04	11	13	17.5	20.5	23.5
T3	01	11	14	18	21	25
T3	02	10	13	17	20	25
T3	03	11	14	18	21	26
T3	04	11	14	18	21	26
T4	01	9	13	17	20	25
T4	02	10	13	17	20	25
T4	03	11	14	18	21	26
T4	04	11	14	18	21	26
T5	01	10	13	16	19	24
T5	02	11	14	18	21	26
T5	03	11	14	18	21	26
T5	04	10	13	17	20	25

EVALUACIÓN DEL NUMERO DE HOJAS

Trat	Rep.	Dias				
		INICIO	15 D	30 D.	45 D	60 D.
T1	01	6	14	112	149	159
T1	02	6	14	110	147	159
T1	03	8	24	108	135	145
T1	04	6	14	85	113	127
T2	01	8	28	134	235	245
T2	02	8	14	104	146	156
T2	03	10	28	130	182	196
T2	04	8	12	132	211	225
T3	01	8	24	116	174	186
T3	02	6	12	110	165	173
T3	03	8	12	120	160	170
T3	04	6	24	126	189	201
T4	01	8	24	112	134	144
T4	02	8	12	110	138	146
T4	03	8	24	100	125	135
T4	04	8	12	110	183	191
T5	01	8	24	108	135	143
T5	02	6	12	102	136	144
T5	03	6	12	98	131	141
T5	04	6	24	114	143	151

EVALUACIÓN DEL PESO FRESCO DE HOJAS						
Trat	Rep.	Dias				
		INICIO	15 D	30 D.	45 D	60 D.
T1	01	1.2	2.15	22.40	35.8	38.2
T1	02	1.2	2.14	22.00	36.7	36.5
T1	03	1.6	1.75	21.60	29.7	29.0
T1	04	1.2	1.85	17.00	22.7	30.6
T2	01	1.6	2.15	26.80	61.0	61.1
T2	02	1.6	2.13	20.80	40.8	37.3
T2	03	2	1.75	26.00	51.0	43.1
T2	04	1.6	1.68	27.72	54.9	56.3
T3	01	1.6	3.36	24.36	43.5	40.9
T3	02	1.2	1.80	22.00	42.9	39.8
T3	03	1.6	1.85	24.00	44.8	35.7
T3	04	1.2	1.84	25.20	49.1	44.2
T4	01	1.6	2.05	22.40	37.6	31.8
T4	02	1.6	2.03	24.20	38.5	30.6
T4	03	1.6	1.79	20.00	35.0	28.4
T4	04	1.6	2.04	22.00	51.3	40.2
T5	01	1.6	2.02	21.60	27.0	28.6
T5	02	1.2	2.03	20.40	35.4	33.1
T5	03	1.2	1.86	17.64	36.6	32.4
T5	04	1.2	1.84	22.80	39.9	31.6

EVALUACION DEL PESO SECO DE HOJAS

Trat	Rep.	Dias				
		INICIO	15 D	30 D.	45 D	60 D.
T1	01	0.24	0.22	3.36	3.58	6.12
T1	02	0.24	0.21	3.30	3.67	5.84
T1	03	0.32	0.18	2.16	2.97	4.06
T1	04	0.24	0.19	2.55	2.27	4.89
T2	01	0.32	0.32	2.68	6.10	9.78
T2	02	0.32	0.21	2.50	4.08	5.98
T2	03	0.40	0.18	3.64	5.10	6.04
T2	04	0.32	0.17	4.16	5.49	9.01
T3	01	0.32	0.34	2.44	4.35	6.14
T3	02	0.24	0.18	2.20	4.29	5.97
T3	03	0.32	0.19	2.40	4.48	5.36
T3	04	0.24	0.18	2.52	4.91	6.63
T4	01	0.32	0.21	2.24	3.76	4.77
T4	02	0.32	0.20	2.42	3.85	4.71
T4	03	0.32	0.18	2.00	3.50	4.37
T4	04	0.32	0.20	2.20	5.13	6.19
T5	01	0.32	0.20	2.16	2.70	4.40
T5	02	0.24	0.20	2.04	3.54	5.10
T5	03	0.24	0.19	1.76	3.66	4.98
T5	04	0.24	0.18	2.28	3.99	4.87

Panel Fotográfico



Foto N° 01, 02. Preparación de Microrganismos de montaña fase sólida



Foto N° 3, 4. Preparación de Microrganismos de montaña fase sólida



Foto N° 05, 06. Elaboración del Biol de MM

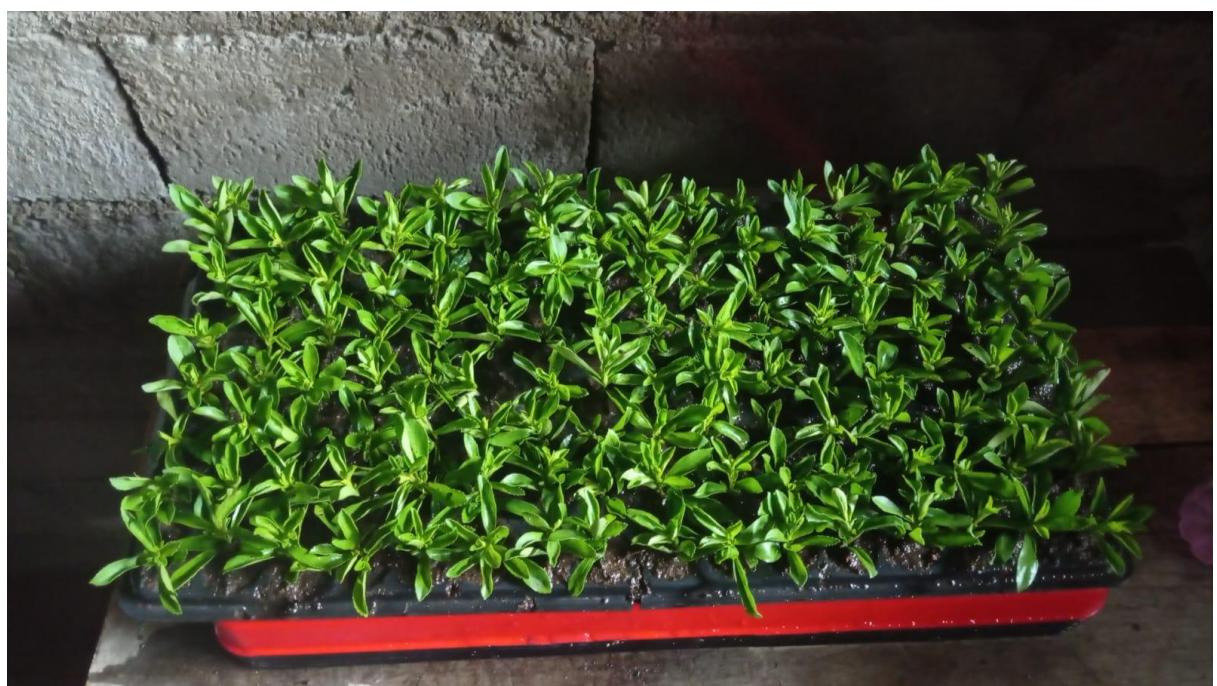


Foto 07: Propagación de esquejes de Stevia



Foto 08: Realizando deshierbe en cubetas de germinación



Foto 9: Preparación de las camas de cultivo



Foto 10: Poda de formación a las plantas



Foto 11: Limpieza de camas de cultivo



Foto 12, 13 y 14: Evaluando el número de hojas