

INDICE

1.INTRODUCCION	1
1.1 Hipótesis de trabajo.	3
1.2 Objetivo general.	3
1.2.1 Objetivos específicos.....	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	4
2.1 Fertilizantes	4
2.1.1 Fertilizantes fosfatados	4
2.1.2 Efecto de fertilizantes fosfatados minerales sobre el medio ambiente.....	5
2.1.3 Fertilizantes de entrega lenta o controlada.	7
2.2 Abonos orgánicos.	8
2.3 Biofertilizantes.	9
2.3.1 Clasificación de los biofertilizantes	9
2.3.2 Ventajas de los Biofertilizantes.....	11
2.3.3 Ventajas económicas de los biofertilizantes	12
2.4 Fosforo	13
2.4.1 Ciclo del Fósforo	13
2.4.2 Absorción del fósforo.....	14
2.4.3 Mineralización del Po.....	15
2.5 Andisoles	16
2.5.1 Distribución de los Andisoles.....	16
2.5.2 Propiedades de los Andisoles.	16
2.5.3 Características de las arcillas provenientes de Andisoles	17
2.6 Fosfatasa acida	18
2.6.1 Aspectos generales de las enzimas inmovilizadas	18
2.6.2 Efecto de la inmovilización sobre las propiedades de las enzimas.....	19
2.6.3 Técnicas de inmovilización	20
2.6.4 Complejos enzima- arcilla.....	21
2.6.5 Biofertilizante en base a fosfatasa acida inmovilizada en nanoparticulas de alofán.	22
2.7 <i>Lolium perenne</i>.	23
2.7.1 Requerimientos de nutriente	24
3. MATERIALES Y METODOS	25
3.1 Materiales	25
3.1.1 Localidad de la investigación	25
3.1.2 Material Vegetal	25
3.1.3 Enzima.....	25
3.1.4 Suelo utilizado en ensayo invernadero	25
3.1.5 Arcillas	25
3.2 Método	26
3.2.1. Extracción de arcillas.....	26
3.2.2 Preparación de los complejos	26
3.2.3 Determinación de la actividad enzimática	27
3.2.4 Determinación de la relación peso: peso para formación de los complejos alofán:fosfatasa acida	28

3.2.5 Evaluación de las distintas etapas del proceso de inmovilización de la enzima para optimizar la producción del biofertilizante .	30
3.2.6 Determinación de la estabilidad proteolítica de la enzima inmovilizada	31
3.2.7 Evaluación de la formulación mas adecuada para la aplicación del biofertilizante a nivel de campo	31
3.2.8 Ensayo para evaluar el biofertilizantes anteriormente elaborado.	33
3.2.8.1 Diseño experimental y Tratamientos	33
3.3 Análisis estadístico	35
4. RESULTADO Y DISCUSIONES.	36
4.1 Formulacion del biofertilizante	36
4.1.1 Determinación de la relación peso: peso para formación de los complejos alofán:fosfatasa ácida	36
4.1.2 Evaluación de las distintas etapas del proceso de inmovilización de la enzima para optimizar la producción del biofertilizante	38
4.1.3 Estabilidad proteolítica de la enzima inmovilizada	40
4.1.4 Evaluación de la formulación mas adecuada para la aplicación del biofertilizante a nivel de campo	41
4.2 Evaluación del efecto de los complejos enzima arcilla sobre la biodisponibilidad de de P en presencia de plantas	43
5. CONCLUSIONES	45
6. BIBLIOGRAFIA	46

INDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Esquema del patrón nutricional del comportamiento de los fertilizantes de liberación lenta y la demanda de nutrientes por el cultivo (Frenkel, 1997).	8
Figura 2.2. Ciclo de fósforo, adaptado de Stevenson y Cole (1999).	14
Figura 2.3. Liberación de fosfato a través de la hidrólisis del éster fosfato por acción de la enzima fosfatasa: Adaptado de (Stevenson y Cole, 2001).	15
Figura 2.4. Inmovilización de enzimas por técnicas químicas, Gianfreda y Bollag (2002)	20
Figura 2.5. Inmovilización de enzimas por técnicas de retención física, Gianfreda y Bollag (2002)	21
Figura 4.1. Determinación de la relación peso:peso para los complejos enzima:arcilla	37
Figura 4.2. Actividad fosfatasa ácida en las fracciones de complejo insoluble (CI) y sobrenadante (SN) del proceso de inmovilización de la enzima en alofán, en relación a adiciones crecientes de proteína.	38
Figura 4.3. Actividad fosfatasa ácida (F) libre, durante el proceso de inmovilización e inmovilizada en arcillas alofánicas.	40
Figura 4.4. Estabilidad proteolítica de la enzima libre e inmovilizada en alofán.	41

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Esquema preparación de los complejos Arcilla-Fosfatasa ácida-----	28
Cuadro 2: Esquema con los tratamientos para determinar la relación peso:peso entre arcilla:enzima -----	31
Cuadro 3: Esquema de los tratamientos para determinar la metodología más eficiente para realizar las formulaciones del fertilizante enzimático-----	32
Cuadro 4: Esquema de los tratamientos para evaluar la peletización de las semillas -----	34
Cuadro 5: Tratamientos del ensayo con <i>Lolium perenne</i> para evaluar el efecto del biofertilizante -----	37

INDICE DE TABLAS

Tabla 4.1. Pruebas para formulación del fertilizante enzimático.-----	46
Tabla 4.2. Efecto de la adición de distintas dosis de fosfatasa ácida inmovilizada sobre la producción de materia seca y el contenido de P foliar de <i>Lolium perenne</i> sembrado en un Andisol. -----	47