RECICLANDO LOS RESIDUOS PARA MEJORAR LOS SUELOS Y EL MEDIOAMBIENTE

V JORNADAS DE LA RED ESPAÑOLA DE COMPOSTAJE

COMPOSTAJE RED ESPAÑOLA

CSIC Consejo Superior de Investigaciones Científicas

IRNAS Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla

Universidad de Sevilla

E.T.S. Ingeniería Agronómica

FCC Servicios Ciudadanos

Reciclando los residuos para mejorar los suelos y el medioambiente

V JORNADAS DE LA RED ESPAÑOLA DE COMPOSTAJE

Editores:
Rafael López Núñez
Francisco Cabrera Capitán

Editado por:
Red Española de Compostaje

Colabora:
FCC Servicios Ciudadanos

Edita: Red Española de Compostaje

R. López Núñez, F. Cabrera Capitán (eds.)
Reciclando los residuos para mejorar los suelos y el medioambiente.
V Jornadas de la Red Española de Compostaje.
Red Española de Compostaje, 2017. 408 pg

No se permite la reproducción total o parcial de este libro, ni el almacenamiento en un sistema informático, ni la transmisión de cualquier forma o cualquier medio, electrónico, mecánico, fotocopia, registro u otros medios sin el permiso previo y por escrito de los titulares de Copyright.

© 2017. Los autores.
© 2017. Red Española de Compostaje.

ISBN: 978-84-617-9214-6

Colabora en la edición: FCC Servicios Ambientales

Impreso en España – Printed in Spain

INDICE

COMUNICACIONES ORALES PLENARIAS:
COMPOSTAJE Y OTRAS TECNOLOGÍAS DE VALORIZACIÓN DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS EN EL ÁMBITO DE LA ECONOMÍA CIRCULAR.....11

FUNCIONES DEL SUELO Y SERVICIOS ECOSISTÉMICOS: IMPORTANCIA DE LA MATERIA ORGÁNICA.....13

Teodoro Marañón[1], Engracia Madejón[1].....13

CONTROL DE ENFERMEDADES DE LOS CULTIVOS MEDIANTE EMPLEO DE COMPOST....17

Manuel Avilés Guerrero.....17

LÍNEA TEMÁTICA I:
COMPOSTAJE Y OTRAS TECNOLOGÍAS DE VALORIZACIÓN DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS EN EL ÁMBITO DE LA ECONOMÍA CIRCULAR.....23

DESTRUCCIÓN TÉRMICA DE LA HIDROFOBICIDAD DEL ALPERUJO COMPOSTADO PARA SU APLICACIÓN COMO ENMIENDA ORGÁNICA. EVALUACIÓN MEDIANTE ESPECTROSCOPIA FTIR 25

Francisco Comino[1]*, Víctor Aranda[2], José Antonio Munuera[2], Ana Domínguez-Vidal[1], María José Ayora-Cañada[1] 25

TERMOLABILIDAD DE LA MATERIA ORGÁNICA RESIDUAL Y SU EVOLUCION EN FUNCION DE LA ESTABILIZACION MEDIANTE COMPOSTAJE 30

María Pilar Gomis[1], Encarnación Martinez-Sabater[1], Frutos Carlos Marhuenda-Egea[2], María Dolores Pérez-Murcia[1], María Ángeles Bustamante[1], Xavier Barber[3], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Concepción Paredes[1], Raúl Moral[1].....30

CALCULADORA DE PLANTAS DE COMPOSTAJE EN PILAS DINÁMICAS.....34

Pablo José González Provost[1]; Juan Jáuregui Arana.[2]; Manuel Jesús Ortiz Rodríguez[3]; Itziar Aguirre Jiménez[3] 34

UTILIZACIÓN DE LA DENSIDAD APARENTE EN LA DETERMINACIÓN DE LOS BALANCES DE MASA DE PLANTAS DE COMPOSTAJE.....38

Emma Cecilia Girón[1], Marta Martínez[1], F. Xavier Martínez[1], Alba Maench[2], Marga López[1]....38

ESTUDIO DE LA MINERALIZACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA EN EL PROCESO DE COMPOSTAJE DE SARMIENTOS DE VID MEDIANTE ESPECTROSCOPÍA IRTF-RTA Y UV/VIS 43

Petruta Mihaela Matei[(1,2)], Mercedes Sánchez Báscones[(1)], Juan Manuel Antolín[(1)], Carmen Teresa Bravo[(1)], Luis Fernando Sánchez Sastre[(1)], Iosody Silva Castro[(1)], Adriana Correa Guimaraes[(1)], Pablo Martín Ramos[(1,3)] y Jesús Martín Gil[(1)] 43

VIABILIDAD DE UTILIZAR LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE RESIDUOS MUNICIPALES EN LA PRODUCCIÓN DE BACILLUS THURINGIENSIS MEDIANTE FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO 48

Cindy Ballardo, Raquel Barrena, Adriana Artola, Antoni Sánchez 48

DESARROLLO DE UN FOTOBIORREACTOR PARA EL CULTIVO DE MICROALGAS Y SU APLICACIÓN COMO BIOFERTILIZANTE 53

Jorge Miñón[1], Gonzalo Ruiz[1], Blas Franco[1], Luis Manuel Navas[1], Gonzalo Salazar[2], Carlos Rad[2] 53

PRETRATAMIENTOS EN PROCESOS DE CODIGESTIÓN DE BIOSÓLIDOS: OZONIZACIÓN DE MEZCLAS CON RESIDUOS DE LA ACEITUNA DE MESA 58

José Ángel Rubio[1], Rocío Rodríguez-Barroso[1], Enrique Toro[2], Fernando Estevez[2], José L. García-Morales[1] 58

DEGRADACIÓN AEROBIA Y ANAEROBIA DE PLANTAS PROCEDENTES DE SUELOS CONTAMINADOS POR ELEMENTOS TRAZA 63

Maria Pilar Bernal[1], Ruixue Chang[2], Elena Arco-Lázaro[1], Rafael Clemente[1]. 63

EVALUACIÓN DEL ÁCIDO L-LÁCTICO OBTENIDO POR UN PROCESO DE BIORREFINERIA DE SUERO DE LECHE COMO BIOESTIMULANTE EDÁFICO: EFECTO EN LAS PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL SUELO 68

Bruno Rodríguez-Morgado[1], Pablo Caballero Jiménez[1], Manuel Tejada Moral[2], Juan Parrado Rubio[1] 68

VALORACIÓN DEL POTENCIAL ACIDOGÉNICO DE DIFERENTES RESIDUOS AGRO-INDUSTRIALES Y URBANOS 73

Garcia-Aguirre Jon[1], Aymerich Enrique[1], Esteban-Gutiérrez Myriam[1] 73

EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN DE COMPUESTOS EMITIDOS DURANTE EL PROCESO DE COMPOSTAJE CON DISTINTOS ABSORBENTES 78

Giraldez, I.[1], Ruiz-Montoya, M.[2], Delgado, M.[2], Morales, E.[1], López, F.[2] and Díaz, M.J.[2] * ..78

COMPOSTAJE DE LODOS DE EDAR CON RESTOS VEGETALES PARA SU POSTERIOR VALORIZACIÓN AGRÍCOLA 83

Remedios Albiach[1], Pedro Rojo[2], Tatiana Montoya[1], Vicente Fajardo[2] 83

BIOTRANSFORMACIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS DE DISTINTA NATURALEZA COMBINANDO COMPOSTAJE Y VERMICOMPOSTAJE 88

Aurelia Pérez-Espinosa[1], Justin Camiletti[1], Mª Dolores Pérez-Murcia[1], Enrique Agulló[1], Javier Andreu[2], Mª Angeles Bustamante[1], Concepción Paredes[1], Mauricio Fernández[3], Raúl Moral[1] 88

CONSORCIOS MICROALGAS-BACTERIAS PARA EL TRATAMIENTO DE EFLUENTES GANADEROS: INFLUENCIA DE LA CARGA ORGÁNICA EN LA PRODUCTIVIDAD Y CONTENIDO DE LÍPIDOS DE LA BIOMASA 93

Berta Riaño, D. Hernández, M. C. García-González 93

GESTIÓN DE LA BIOMASA DE *PHOENIX DACTYLIFERA*: I. COMPOSTAJE DE TRONCO DE PALMERA CON LODOS DE DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS Y AGROINDUSTRIALES 98

Maria Dolores Pérez-Murcia[1], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Xavier Barber[2], Enrique Agulló[1], Alberto Vico[1], Jose Antonio Saez-Tovar[1], Concepción Paredes[1], Maria Angeles Bustamante[1], Raul Moral[1] 98

USO DE *ARUNDO DONAX* COMO AGENTE ESTRUCTURANTE EN COMPOSTAJE DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS Y AGROINDUSTRIALES....103

Mariano Pelegrín[1], Javier Andreu[2], Enrique Agullo[1], Teresa Garcia-Ortuño[2], Maria Dolores Pérez-Murcia[1], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Concepción Paredes[1], Maria Angeles Bustamante[1], Raul Moral[1] 103

USO DE LA FLUORESCENCIA EN EL SEGUIMIENTO DE LA HUMIFICACION EN PROCESOS DE COMPOSTAJE....108

Maria Pilar Gomis[1], Encarnación Martinez-Sabater[1], Frutos Carlos Marhuenda-Egea[2], Maria Dolores Pérez-Murcia[1], Maria Angeles Bustamante[1], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Concepción Paredes[1], Raul Moral[1] 108

INFLUENCIA DE LA PROPORCION DE RESIDUO DE PALMERA EN EL PROCESO DE CO-COMPOSTAJE CON LODOS DE EDAR....113

José Antonio Sáez Tovar[1], Maria Dolores Pérez-Murcia[1], Alberto Vico[1], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Xavier Barber[2], Enrique Agulló[1], Concepción Paredes[1], Maria Angeles Bustamante[1], Raúl Moral[1] 113

MATER, UN PROYECTO PILOTO DE *AGROCOMPOSTAJE* DE RESIDUOS MUNICIPALES EN LA COMUNIDAD VALENCIANA 118

Marta Ribó[1], Alfons Domínguez[2], Josep Roselló[2], Rodolfo Canet[1] 118

ESTUDIO DE LOS PROCESOS DE COMPOSTAJE Y VERMICOMPOSTAJE MEDIANTE TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS (^{13}CPMAS RMN Y FT-IR)....122

Begoña Mayans[1], Consuelo Escolástico[1], Eduardo Fernández[2], Alberto Masaguer[2]....122

CARACTERIZACIÓN TÉRMICA DE AISLADOS MICROBIANOS PRESENTES EN COMPOSTAJE DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS 127

Joaquín Moreno, Juan Antonio López-González, Francisca Suárez-Estrella, María José López, María del Carmen Vargas-García, Macarena del Mar Jurado, Mª Ángeles Arcos-Nievas 127

EVOLUCION DE LAS PROPIEDADES DEL COMPOST MEDIANTE LA COMBINACION DEL VEMICOMPOSTAJE Y COMPOSTAJE RESPECTO AL SOLO COMPOSTAJE DE LOS RESIDUOS. 132

Nikola Teutscherová, Eduardo Vázquez, Eduardo Fernández, Marta Benito, Alberto Masaguer. 132

REVISIÓN Y ANÁLISIS DE LOS MANUALES DE COMPOSTAJE DOMÉSTICO....137

Gonzalo Pocoví*, Concepción Paredes[1], Marga López[2] 137

EVALUACION DEL VERMICOMPOSTAJE COMO ECOTECNOLOGIA DE BAJO COSTE PARA LA VALORIZACION DEL ALPERUJO REPASADO Y DESHUESADO 141

Rogelio Nogales, Laura Delgado-Moreno, Inés Aguilar, Esperanza Romero....141

BIOTRANSFORMACION, CON O SIN LOMBRICES, DE ESTIERCOLES DE CABRAS ALIMENTADAS CON DIFERENTES DIETAS 146

Rogelio Nogales, Julia Fernández-Yepes, Teresa Llopis, Eduarda Molina-Alcaide 146

INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES ESTACIONALES SOBRE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN EN EL COMPOSTAJE DE RESIDUOS URBANOS 151

Raúl Alberto Vanegas, Rosario Solera, Diego Sales, José Luis García-Morales 151

CONTROL DE LA MADURACIÓN DEL PROCESO DE COMPOSTAJE MEDIANTE MANEJO ESTÁTICO Y DINÁMICO 156

Iria Villar[1], David Alves[1], Salustiano Mato[1].....156

COMPOSTAJE DE RESIDUOS PROCEDENTES DE GRANJAS DE AVÍCOLAS. INFLUENCIA DE LA AIREACIÓN 161

Mercedes Sánchez Báscones[(1)], Juan B. López Sotelo[(1)], Luis M. Navas Gracia[(1)], Juan M. Antolín Rodríguez[(1)], Carmen T. Bravo Sánchez[(1)], Petruta Mihaela Matei[(1,2)].....161

APROVECHAMIENTO DE LODOS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS Y *PHRAGMITES AUSTRALIS*: COMPOSTAJE VS VERMICOMPOSTAJE. 166

Mª del Valle Palenzuela[1], Alejandro Arévalo[1], Arturo F. Chica[2], Antonio Rosal[1]. 166

LÍNEA TEMÁTICA II:
USOS DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS, COMPOSTS Y DIGESTATOS. 171

EFECTO DE LA GESTIÓN ECOLÓGICA Y DEL APORTE DE ENMIENDAS ORGÁNICAS DE ESTABILIDAD CONTRASTADA EN LA SUPRESIVIDAD DE *FUSARIUM GRAMINEARUM*.....173

Joan Romanyà[1], A. Cabús[2], G. Segarra[2], Mª I Trillas[2].....173

ESTUDIO DEL VALOR AGRONÓMICO DEL TÉ DE COMPOST DE RESIDUOS DE JARDINERÍA EN EL CULTIVO DE PATATA (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) Y SU EFECTO SUPRESOR SOBRE *RHIZOCTONIA SOLANI* KÜHN.....178

Gómez-Sánchez, M.A.[1], Morales-Corts, R.[1], Pérez-Sánchez, R[1], López-Martín, J.J.[1] 178

DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UNA HERRAMIENTA SENCILLA Y DE BAJO COSTE PARA LA DIVULGACIÓN DEL USO DEL COMPOST PROCEDENTE DE ÁREAS DE COMPOSTAJE COMUNITARIO EN JARDINERIA 183

Zuazagoitia, Iñigo[1]; Storino, Francesco[2]; Arizmendiarrieta, Joseba S.[1]; Usanos, Monika[3]; Meoki, Miren[4]; Muro, Julio[1]; Irigoyen, Ignacio[1] 183

VALORACIÓN DE TÉ DE COMPOST DE RESIDUOS DE JARDINERÍA COMO POTENCIADOR DEL CRECIMIENTO DE TOMATE Y LECHUGA 188

Morales-Corts, R.[1], Gómez-Sánchez, M.A.[1], Pérez-Sánchez, R.[1], González-Rodríguez, S.[1]188

PRODUCCIÓN DE ESPINACA EN AGRICULTURA INTENSIVISTA EN EL SURESTE ESPAÑOL: IMPLICACIONES MEDIOAMBIENTALES Y AGRONÓMICAS DE LAS PRÁCTICAS DE FERTILIZACIÓN ORGÁNICA.....193

Alberto Vico[1], Jose Antonio Sáez Tovar[1], Maria Dolores Pérez-Murcia[1], Juan Martinez-Tomé[2], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Javier Andreu[3], Enrique Agulló[1], Maria Angeles Bustamante[1], Raul Moral[1] 193

LODOS EDAR Y SU EMPLEO EN AGRICULTURA: UNA APROXIMACIÓN A LA REALIDAD...198

Carlos Garcia[1], Sara Ondoño[1], Francisco J. Murcia[2] y Teresa Hernandez[1] 198

INFLUENCIA DEL COMPOST DE “ALPERUJO” EN EL METABOLISMO OXIDATIVO DE PLANTAS DE PIMIENTO (*CAPSICUM ANNUUM* L.).....202

Germán Tortosa[1], Salvador González-Gordo[2], Carmelo Ruiz[2], Eulogio J. Bedmar[1] y José Manuel Palma[2] 202

VALORACIÓN DEL USO DE BIONUTRIENTES EN HIDROPONÍA.....207

Jose Luis Ruiz Zubiate[1], María del Carmen Salas Sanjuan[2] 207

CONTENIDO DE METALES PESADOS EN LEGUMBRES Y HORTALIZAS PROCEDENTES DE HUERTOS URBANOS 212

Juana Hallat Sánchez, Asunción Castro Pérez, Pilar Burgos Domenech, Rafael López Núñez 212

MEJORA DE LA SOSTENIBILIDAD EN LA RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS Y DEGRADADOS MEDIANTE EL USO DE COMPOST Y LA VALORIZACIÓN ENERGÉTICA DE PAULOWNIA FORTUNEI 217

Engracia Madejón[1], Manuel Jesús Díaz-Blanco[2], María Teresa Domínguez[1], Paula Madejón[1] y Francisco Cabrera[1] 217

ACTIVIDAD MICROBIANA Y DINÁMICA DE LIBERACIÓN DE P Y K EN UN SUELO ABONADO CON UN COMPOST DE ALGAS Y RESTOS DE PESCADO 222

Marta Illera-Vives[1], Adolfo López-Fabal[1], Socorro Seoane[2], María López de la Calle[1], Mª Elvira López-Mosquera[1] 222

DINÁMICA DE MINERALIZACIÓN DEL NITRÓGENO DE UN ABONO ÓRGANO-MINERAL 226

María López de la Calle[1]; Socorro Seoane[2]; Marta Illera-Vives[1]; Mª Elvira López-Mosquera[1] 226

ASEGURAMIENTO DE LA SUPERVIVENCIA NUTRICIONAL DE ESPECIES VEGETALES PARA REFORESTACIÓN EN ENTORNOS MEDITERRÁNEOS: ESTUDIO COMPARATIVO DE MEDIOS ORGÁNICOS DE TRANSICIÓN 231

Maria Pilar Gomis[1], Miguel Angel Domene[2], Maria Dolores Segura[2], Maria Dolores Pérez-Murcia, Maria Angeles Bustamante[1], Enrique Agullo[1], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Concepción Paredes[1], Raul Moral[1] 231

FITOINMOVILIZACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR ELEMENTOS TRAZA MEDIANTE LA COMBINACIÓN DE EMNIENDAS ORGÁNICAS E INORGÁNICAS 235

Rafael Clemente, Elena Arco-Lázaro, Ignacio Martín, Tania Pardo, Maria Pilar Bernal 235

MODIFICACIÓN DEL ESTADO SANITARIO DE UN SUELO EN RECONVERSIÓN A CULTIVO ECOLÓGICO POR APLICACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA 240

Ana Pérez-Piqueres[1], Remedios Albiach[1], Alfons Domínguez[2], Rodolfo Canet[1] 240

EVALUACIÓN DE LA ALTERACIÓN DE BIOCHARS UTILIZADOS COMO ENMIENDA DE UN CULTIVO DE GIRASOL BAJO CONDICIONES DE CLIMA MEDITERRÁNEO 245

Mario Rosado, José M. de la Rosa*, Marina Paneque, Ana. Z. Miller, Rafael López y Heike Knicker 245

ESTUDIO DE ESTRATEGIAS DE MANEJO AGRÍCOLA PARA LA MEJORA DE LA CALIDAD DEL SUELO Y DE LA PRODUCCIÓN DE LOS SISTEMAS VITIVINÍCOLAS MEDITERRÁNEOS 250

Concepción Paredes, Antonio José Marín-Martínez, Encarnación Martínez-Sabater, Enrique Agulló, Mª Angeles Bustamante, Aurelia Pérez-Espinosa, Mª Dolores Pérez-Murcia, Raúl Moral 250

COMUNIDADES DE HONGOS ENDOMICORRÍCICOS EN SUELOS DEGRADADOS: EFECTO DE DIFERENTES TIPOS DE COMPOST SOBRE LA DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD 254

María del Mar Montiel-Rozas, Engracia Madejón, Paula Madejón 254

GESTIÓN DE LA BIOMASA DE *PHOENIX DACTYLIFERA* II: COMPOSTAJE DE HOJA DE PALMERA CON LODOS DE DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS Y AGROINDUSTRIALES 259

Maria Dolores Pérez-Murcia[1], Enrique Agulló[1], Xavier Barber[2], Alberto Vico[1], Jose Antonio Saez-Tovar[1], Concepción Paredes[1], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Maria Angeles Bustamante[1], Raul Moral[1] 259

EFECTO DE LA MICROBIOTA DEL COMPOSTAJE SOBRE LA ELIMINACIÓN DEL OOMICETO FITOPATÓGENO *PHYTOPHTHORA CAPSICI*: POSIBLES MECANISMOS DE COMPETENCIA Y ANTIBIOSIS 263

Juan Antonio López-González, Francisca Suárez-Estrella, Macarena del Mar Jurado, María del Carmen Vargas-García, María José López y Joaquín Moreno 263

FACTORES BIÓTICOS IMPLICADOS EN LA ELIMINACIÓN DE *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* DURANTE EL PROCESO DE COMPOSTAJE: ANTIBIÓTICOS Y OTRAS SUSTANCIAS DE INTERÉS 268

N. Sánchez-San Fulgencio, F. Suárez-Estrella, M.C. Vargas-García, M.J. López y J. Moreno 268

PAPEL RELEVANTE DEL ORDEN ACTINOMYCETALES EN EL CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS DE AMPLIO ESPECTRO: MECANISMOS DE ANTIBIOSIS Y PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL 273

Francisca Suárez-Estrella, Macarena del Mar Jurado, Juan Antonio López-González, María del Carmen Vargas-García, María José López y Joaquín Moreno 273

LA COMBINACIÓN DEL VERMICOMPOSTAJE Y COMPOSTAJE MEJORA LAS PROPIEDADES AGRONÓMICAS DEL PRODUCTO FINAL RESPECTO AL SOLO COMPOSTAJE DE LOS RESÍDUOS. 277

Eduardo Vázquez, Nikola Teutscherová, Eduardo Fernández, Marta Benito, Alberto Masaguer. 277

ENSAYO DE SUSTRATOS PARA *LACTUCA SATIVA* Y *BRASSICA OLERACEA ITALICA* ORIENTADOS A AGRICULTURA ECOLOGICA 282

Gabriel García-Serna[1], María Dolores Pérez-Murcia[1], María Ángeles Bustamante[1], Javier Andreu[2], Xavier Barber[3], Enrique Agulló[1], Concepción Paredes[1], Raúl Moral[1] 282

ENSAYOS CON BIOCARBONES PROCEDENTES DE RESIDUOS DE ALMAZARA Y ORUJERA PARA LA ELIMINACIÓN DE CONTAMINANTES EN AGUAS 287

E. Durán, B. Gámiz, L. Cox, J. Cornejo, M.C. Hermosín 287

BIOFERTILIZANTES CON SABOR A ACEITE DE OLIVA: AISLAMIENTO DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL (PGPB) DE UN COMPOST DE "ALPERUJO" 292

Alba Díaz-Arco[1], María Molina-Muñoz[2], Elena Navarro-García[3], Carlos Ortega-Fernández[4], Laura Palma-Pérez[5], María Carmen Sarmiento-Vega[2], Antonio Castellano-Hinojosa[6], Eulogio J. Bedmar[6] y Germán Tortosa-Muñoz[6] 292

BIOMEZCLAS CON VERMICOMPOST DE ALPERUJO PARA LA DEGRADACION DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y DE CUIDADO PERSONAL 297

Laura Delgado-Moreno, Inés Aguilar, Rogelio Nogales, Esperanza Romero. 297

APLICACIÓN DE RESIDUOS DE ALMAZARAS PARA REDUCIR LA PERSISTENCIA DE LOS ENANTIÓMEROS DEL HERBICIDA IMAZAQUÍN EN SUELOS AGRÍCOLAS 302

Rocío López, Beatriz Gámiz, Juan Cornejo, Rafael Celis 302

UTILIZACIÓN DE LIGNOSULFONATOS PARA EL CONTROL DE *MELOIDOGINE* MEDIANTE PROCESOS DE BIOFUMIGACIÓN 307

Javier López Robles, Ana Pascual, Yolanda Arribas, Carlos Rad. 307

USO DE COMPOST QUE INCLUYEN CENIZAS DE BIOMASA PARA EL CULTIVO DE SANDÍA 311

Rafael López Núñez[1], Pilar Burgos Domenech[1], Ignacio F. Girón Moreno[1], Mireia Corell González[2]....311

SUSTRATOS ORGANICOS COMO FUENTE DE NUTRIENTES EN CULTIVO DE MELON....316

Pedro Mejia[1] y María del Carmen Salas[2]....316

EFECTO DE UN LODO DE DEPURADORA COMPOSTADO COMO ENMIENDA PARA LA PRODUCCIÓN DE *ARUNDO DONAX* L, CON FINES AGROENERGÉTICOS. 320

Cano-Ruiz J, Plaza A, Guerrero A.M, Diez-Pascual S, Pinilla P, Mauri P.V, Lobo M.C. 320

EFECTO DEL COMPOST DE LODO DE DEPURADORA EN LA FITORRECUPERACIÓN ASISTIDA DE UN SUELO CONTAMINADO POR ARSÉNICO. 325

Gil-Díaz M, Jian K, González H, Alonso J, Pinilla P, González A, Lobo M.C. 325

RESPUESTA FISIOLÓGICA DE LAS PLANTAS CUANDO BIOCHAR Y VERMICOMPOST SON UTILIZADOS COMO SUSTITUTO PARCIAL DE LA TURBA EN LA PRODUCCION DE PLANTA ORNAMENTAL 330

José M. Alvarez[1,2,3,*], Claudio Pasian[2], Rattan Lal[3], Rafael López[4], Manuel Fernández[1] 330

LÍNEA TEMÁTICA III:
INNOVACIONES BIOTECNOLÓGICAS BASADAS EN EL RECICLAJE DE RESIDUOS. 335

EVALUACIÓN DEL PROCESO DE COMPOSTAJE CON LA TECNOLOGÍA DE CUBIERTAS SEMIPERMEABLES A ESCALA INDUSTRIAL 337

Mª Carmen Gutiérrez, Manuel Toledo, José Ángel Siles, Arturo F. Chica, Mª Ángeles Martín 337

MICROORGANISMOS DEGRADADORES DE CONTAMINANTES AROMÁTICOS EN BIOMEZCLAS CONSTITUIDAS POR RESIDUOS ORGÁNICOS DE LA AGROINDUSTRIA DEL ACEITE DE OLIVA....342

Inés Mª Aguilar, Pieter van Dillewijn, Regina-Michaela Wittich, Rogelio Nogales, Esperanza Romero 342

BIOSÍNTESIS DE ÁCIDO INDOLACÉTICO EN UN VERMICOMPOST DE ALPERUJO. EFECTOS EN LA RIZOSFERA DE UN CULTIVO DE PIMIENTO 347

Emilio Benítez, Rogelio Nogales, Beatriz Moreno....347

BIOSURFACTANTES A PARTIR DE RESIDUOS DEL REFINADO DE ACEITES POR FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO....352

Pedro Jiménez, Xavier Font, Antoni Sánchez, Teresa Gea. 352

UTILIZACIÓN DEL TWISTER© PARA LA CARACTERIZACIÓN DE COV EMITIDOS POR EL COMPOSTAJE 357

Giraldez, I.[1], Ruiz-Montoya, M.[2], Delgado-Rodríguez, M.[2], Morales, E.[1], López, R.[3],Díaz, M J.[2*] 357

EVALUACIÓN DEL PRETRATAMIENTO CON MICROONDAS EN LODOS DE EDAR PARA SU DIGESTIÓN ANAEROBIA....362

Aida Gil, Mª Carmen Gutiérrez, José Ángel Siles, Arturo F. Chica y Mª Ángeles Martín....362

GESTIÓN SOSTENIBLE DE LODOS DE AGUAS RESIDUALES EN MUNICIPIOS DE TAMAÑO REDUCIDO: SAN AGUSTÍN (TERUEL) CASO DE ESTUDIO 367

Laura Lara[*], Concepción Paredes[1], Raquel Barrena[2], Antoni Sánchez[2] 367

CARACTERIZACIÓN DEL ENDOCARPIO DE *ACROCOMIA ACULEATA* COMO SUSTRATO DE CULTIVOS 372

Regina León Ovelar[1], M. Elena Fernández-Boy[2], Heike Knicker[3] 372

LOS BIOSÓLIDOS PIROLIZADOS COMO ENMIENDA ORGÁNICA: ¿QUÉ CONDICIONES DE PIRÓLISIS OBTIENEN MEJORES RESULTADOS AGRONÓMICOS? EL CASO DE ESTUDIO DE *LOLIUM PERENNE*.....377

Marina Paneque[1] José María de la Rosa[1], Carlos Aragón[2], Heike Knicker[1] 377

LA PILA DE COMPOSTAJE COMO FUENTE DE MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE CELULASAS 382

Enrique Mellado-Cubillas, Maria José López, Macarena del Mar Jurado, Juan Antonio López-González, Maria del Carmen Vargas-García, Francisca Suárez-Estrella, Joaquín Moreno ..382

COMPOSTAJE DE LODOS DE EDAR EN PRESENCIA DE ZEOLITAS SINTETIZADAS A PARTIR DE CENIZAS VOLANTES 387

Santiago López-Camacho, Christian Antequera, Emilia Otal, Constantino Fernández-Pereira 387

MICROORGANISMOS LIGNINOLÍTICOS DEL PROCESO DE COMPOSTAJE 392

María José López, Macarena del Mar Jurado, Juan Antonio López-González, María del Carmen Vargas-García, Francisca Suárez-Estrella, Joaquín Moreno.....392

ASPECTOS CLAVES EN LA PRODUCCIÓN BIOLÓGICA DE HIDRÓGENO: CO-DIGESTIÓN DE SUSTRATOS 397

Karen Andrea Díaz Espitia[1], Camila Andrea Ramírez Toloza[1], Adriana Marcela Castro Marroquín[1], Iván Orlando Cabeza Rojas[1] y Mario Andrés Hernández Pardo[2] 397

EVALUACIÓN DEL ÁCIDO L-LÁCTICO OBTENIDO POR UN PROCESO DE BIORREFINERIA DE SUERO DE LECHE COMO BIOESTIMULANTE EDÁFICO: EFECTO EN LAS PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL SUELO 402

Bruno Rodríguez-Morgado[1], Pablo Caballero Jiménez[1], Manuel Tejada Moral[2], Juan Parrado Rubio[1] 402

PRÓLOGO

Hemos celebrado en Sevilla las V Jornadas de la Red Española de Compostaje y el Comité Organizador de las Jornadas no quiere dejar de mostrar su pesar por el fallecimiento de Carlos Martínez Orgado, quien fuera presidente de honor de la Fundación para la Economía Circular. Por la trayectoria profesional de Carlos a favor de la sostenibilidad y el medio ambiente, cuando comenzamos con la preparación de estas jornadas, no tuvimos duda que sería el mejor ponente posible para la conferencia inaugural, y él aceptó el ofrecimiento con la mayor disponibilidad e interés. Aunque las desafortunadas circunstancias ocurridas han impedido que nos enriqueciera con su experiencia, la Red Española de Compostaje quiere expresar su agradecimiento.

La presente edición de las Jornadas ha mostrado el dinamismo de la investigación sobre residuos orgánicos a nivel español. El mundo de los residuos, su generación, diversidad y usos, es cambiante, y los investigadores españoles nos vamos adaptando constantemente a estos cambios. Las 85 comunicaciones presentadas son muestra del esfuerzo e interés con que afrontamos los nuevos retos que la sociedad nos plantea. Nuestras investigaciones en los variados campos y disciplinas científicas, abordados en estas jornadas, mantienen la tónica de las anteriores ediciones de una máxima calidad y rigor científico. Si alguna característica particular de estas jornadas se pudiera resaltar frente a las anteriores, sería quizás la presencia de un mayor número de trabajos con amplio grado de aplicabilidad.

En este sentido cabe destacar las nuevas aplicaciones que se han puesto de manifiesto en las comunicaciones de la línea temática III dedicada a las innovaciones biotecnológicas: el explotar el potencial de cada componente y/o uso de los residuos orgánicos, incluyendo las aplicaciones energéticas, es sin duda el camino para conseguir ese objetivo que es la “economía circular”. Además, en lo biotecnológico nos queda camino en el conocimiento de “la biología” de los procesos y de los usos. La creciente práctica de la agricultura integrada y ecológica requiere cada día más atención desde diversas disciplinas científicas. Desde nuestros estudios hay potencial para el desarrollo de productos y servicios que ofrezcan calidad contrastada para los usuarios finales de productos, sean ciudadanos, industrias o agricultores.

Las comunicaciones de la línea temática I sobre compostaje y otras tecnologías de valorización, han puesto de manifiesto como el uso de nuevas técnicas de análisis instrumental marcan un nuevo escenario para el seguimiento de los procesos de tratamiento y del comportamiento agronómico de las aplicaciones realizadas. Asimismo, el uso de nuevas vías de valorización como la fermentación en estado sólido o la obtención de distintos tipos de biofertilizantes, posibilitan un marco alternativo de nuevos usos dentro de la economía circular. Es necesario insistir de nuevo aquí en que cualquiera que sea la alternativa de tratamiento elegida es crucial la calidad y adecuada selección de los materiales de partida; especialmente en el caso de los residuos urbanos y desde aquí instamos a nuestras administraciones a la necesaria instalación del quinto contenedor dedicado a la recogida selectiva de la fracción orgánica de RSU. Ello evitaría las dificultades para la comercialización de compost bioestabilizado con que se encuentran actualmente las plantas de tratamiento de RSU. Igualmente se hace necesaria una legislación clara y aplicable para los biosólidos.

La línea temática II recogía los trabajos sobre usos de los residuos orgánicos. La agricultura y la horticultura, junto con la jardinería y los viveros, son el nicho natural de nuestros productos. La materia orgánica es y será la vida de nuestros suelos y el soporte de nuestra alimentación, a pesar de las continuas agresiones que nuestra sociedad impone continuamente al compartimento suelo. Hemos adquirido en las últimas décadas amplio conocimiento sobre como mantener y mejorar la calidad del suelo y los investigadores que tratamos con el suelo debemos seguir siendo referentes para aumentar la implantación de "buenas prácticas agrícolas". Sin embargo, se pone de manifiesto la dificultad de transferencia del conocimiento al sector agrícola, y particularmente al de la agricultura ecológica. En este año 2016, que de nuevo vuelve a ser el más cálido de la historia, hay que recordar la relevante aportación del correcto manejo de los residuos y de los suelos como sumideros de Carbono, y como mitigadores de la emisión de gases de efecto invernadero.

Estamos lejos de los objetivos de recuperación y reciclaje que como sociedad nos hemos marcado, y desde nuestra posición de científicos y tecnólogos en estas materias, manifestamos desde la Red Española de Compostaje nuestra voluntad de ayudar y hacer nuestro papel. Pero pedimos a nuestros gestores y políticos no sólo que nos dejen hacer, sino un apoyo creciente a la investigación en general y a este campo en particular, y una mayor valentía en la adopción de políticas activas de defensa del medio ambiente. Consideramos que existen dificultades a nivel normativo y legislativo, comprensibles si se tiene en cuenta la diversidad de procesos y productos involucrados, pero que es necesario superar mediante normas claras y homogéneas para el conjunto del Estado. Expresamos nuestra intención de ser oídos y tenidos en cuenta y solicitamos de la administración que ejecute una necesaria labor de coordinación entre los muchos agentes sociales involucrados.

Agradecemos desde la organización de las Jornadas y desde la REC la colaboración de las empresas patrocinadoras sin las cuales hay que decir que éstas no hubieran sido posibles. Pero también demandamos una participación empresarial y una colaboración de las administraciones públicas más activa que vaya más allá de la contribución económica. Sólo así se podrá conectar a las necesidades sociales y de mercado la investigación científica que se realiza desde la REC. Por último, no podemos dejar de reconocer y agradecer a la Universidad de Sevilla la cesión del Pabellón de México, sede de las Jornadas, y la sede del Rectorado en la que tuvo lugar el cóctel de bienvenida.

Los editores

COMUNICACIONES ORALES PLENARIAS:

COMPOSTAJE Y OTRAS TECNOLOGÍAS DE VALORIZACIÓN DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS EN EL ÁMBITO DE LA ECONOMÍA CIRCULAR

FUNCIONES DEL SUELO Y SERVICIOS ECOSISTÉMICOS: IMPORTANCIA DE LA MATERIA ORGÁNICA

Teodoro Marañón[1], Engracia Madejón[1]

[1] IRNAS, CSIC, Avenida Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla, teodoro@irnase.csic.es

Resumen: Se presenta el concepto de servicio ecosistémico y su aplicación en la valoración y gestión del capital natural. Se aplica el marco conceptual de los servicios ecosistémicos a la evaluación de los suelos y sus servicios de abastecimiento, regulación y culturales. La valoración económica de los servicios de regulación del suelo puede superar al valor de la producción de alimentos. Se destaca la importancia de la materia orgánica en el suelo y la aplicación de compost derivado de los residuos orgánicos, en un contexto de economía circular. La aportación de servicios ecosistémicos puede dar un valor añadido al compost y a sus derivados.

Palabras clave: Compost, ecoservicios, secuestro de carbono.

1. Introducción

Los servicios ecosistémicos son las contribuciones directas e indirectas de los ecosistemas al bienestar humano. A partir de la Evaluación de los Ecosistemas del Milenio (MEA, 2005), auspiciada por las Naciones Unidas, se ha extendido el uso de este concepto como una herramienta para concienciar a la sociedad sobre nuestra dependencia de los sistemas ecológicos y para gestionar de una forma optimizada el capital natural.

Se han sistematizado los servicios, agrupándolos en abastecimiento, regulación y culturales. Los servicios de abastecimiento (alimentos, materias primas) se pueden valorar económicamente, sin embargo los servicios de regulación (calidad del aire y del agua, mitigación del cambio climático, protección y formación de suelo) y los servicios culturales (recreativos, estéticos, espirituales), que son igualmente importantes para el bienestar humano, no siempre son valorados y considerados en la toma de decisiones.

En la primera auditoría del capital natural de la Tierra se identificaron los principales motores directos que afectan el estado de los ecosistemas (cambio del uso del suelo, cambio climático, contaminación, especies invasoras) y los generadores indirectos de estos cambios (económicos, demográficos, sociopolíticos). El informe llamó la atención sobre la presión ejercida por la actividad humana sobre las funciones naturales del Planeta y advirtió que si no se cambian las tendencias no será posible mantener la capacidad de sustentar a las generaciones futuras (MEA, 2005). Siguiendo la metodología y los planteamientos de la auditoría global se han evaluado los servicios ecosistémicos de España (EME, 2011) y de Andalucía (Montes y García Mora, 2012).

La publicación en 2005 de los Informes del Milenio (MEA, 2005) y su difusión por internet en varios idiomas supuso el inicio de un crecimiento exponencial en las publicaciones académicas sobre las técnicas para evaluar los servicios ecosistémicos, así como en los estudios de casos en sistemas muy diversos (una búsqueda en Scopus, el 11 noviembre 2016, resultó en 15.669 publicaciones con las palabras claves “ecosystem services”; ver también Vihervaara y col., 2010). Al mismo tiempo, el concepto de servicios ecosistémicos ha sido incorporado a la política y la gestión de los ecosistemas en Europa; la Estrategia Europea sobre Biodiversidad (en su objetivo 2, actuación 5) incluye el mandato de cartografiar y evaluar el estado de los ecosistemas y sus servicios por los Estados miembros, no más tarde de 2020 (Maes y col., 2016).

Un nuevo avance en esta aproximación ha sido la "Economía de los Ecosistemas y la Biodiversidad" auspiciada por las naciones Unidas y la Unión Europea (TEEB, 2010). La gestión del ecosistema se basa en el valor percibido y el uso de los servicios ecosistémicos. Este énfasis en la valoración económica de los ecoservicios tiene antecedentes en los trabajos de Costanza y col. (1997) que estimaron el valor económico total del Planeta, incluyendo los servicios ecosistémicos y el capital natural que los produce.

2. Evaluación de servicios ecosistémicos relacionados con el suelo

Los suelos son importantes para el bienestar humano, como ilustraba el cartel publicado por la FAO con motivo del Año Internacional del Suelo en 2015 (Figura 1). Sin embargo en los estudios globales de evaluación de servicios ecosistémicos no han sido considerados con suficiente atención. Existen trabajos recientes que se centran en el suelo como capital natural y evalúan en detalle sus servicios ecosistémicos (ver revisión en Baveye y col., 2016).

Figura 1. Cartel de la FAO sobre las funciones del suelo y los servicios ecosistémicos que contribuyen al bienestar humano.

Dentro del contexto del proyecto RECARE, que estudia la prevención y recuperación de suelos degradados en Europa, se ha propuesto un marco conceptual para evaluar los servicios ecosistémicos relacionados con el suelo (Scwilch y col., 2016). Las propiedades del suelo, que pueden ser inherentes o manejables, influyen sobre los procesos que representan la capacidad del sistema para proveer servicios. Los beneficios producidos por estos servicios son valorados por los individuos y la sociedad de una forma explícita o implícita. Estas valoraciones influyen en la toma de decisiones y la mejora de la gestión del suelo. Este marco conceptual se está aplicando en la evaluación de dos medidas de recuperación de suelos: adición de enmiendas (Xiong y col., 2015) y plantación de árboles (Marañón y col., 2015), en el Corredor Verde del Guadiamar (Sevilla, España), uno de los 17 sitios de estudio del proyecto.

El valor de los servicios de regulación del suelo puede ser bastante superior al valor de producción de alimento o materia prima (servicios de abastecimiento). En un estudio de una granja de vacas lecheras en Nueva Zelanda se estimó que el servicio de abastecimiento (producción de leche) solo representaba la tercera parte del valor económico total de los servicios aportados por el suelo. La mayor parte (58%) del valor económico correspondía a los servicios de regulación, en particular de filtrado de contaminantes y nutrientes (nitrógeno y fósforo) (Dominati y col., 2014).

3. Importancia de la materia orgánica del suelo

Dentro del suelo, la materia orgánica juega un papel esencial en las propiedades físicas, químicas y biológicas (Figura 2). Todas estas propiedades se encuentran interrelacionadas, por lo

que la importancia de la fracción orgánica del suelo, a pesar de suponer menos de un 5% de la fase sólida del suelo, es vital.

Uno de los problemas del suelo en los agroecosistemas mediterráneos es la pérdida de materia orgánica y el riesgo de desertificación, cuando se baja del umbral de 1,7%. Para superar este déficit de materia orgánica se utilizan técnicas de laboreo de conservación, que incorporan los residuos del cultivo al suelo. Otra solución es la aplicación de materia orgánica exógena, procedente de residuos orgánicos, que además contribuye al desarrollo de la deseada economía circular. Se trata de emplear como fuente de materia orgánica para los suelos, aquella contenida en determinados residuos orgánicos, consiguiendo de este modo, por una parte, mejorar la fertilidad de los suelos tratados, y por otra, eliminar racionalmente los residuos mediante su reciclado. Así los residuos se convierten en RECURSOS para mejorar la calidad de los suelos, constituyendo un aumento del capital natural.

El Catálogo Europeo de Residuos (CER) clasifica los residuos en veinte grupos principales con sus correspondientes subgrupos y códigos de identificación. De forma simplificada, los podemos clasificar por su origen en los siguientes tipos: agrarios y forestales, ganaderos, industriales y urbanos, considerando dentro de estos últimos a los residuos sólidos urbanos (basuras urbanas) y los lodos de depuradora. Sin embargo, la aplicación de algunos residuos orgánicos a los suelos agrícolas puede tener limitaciones, originando servicios negativos o disservicios. Algunos factores no deseados son la presencia de materiales inertes y de mal olor, la contaminación por compuestos orgánicos y metales pesados, y los microorganismos patógenos. Por ello, el compostaje óptimo de estos residuos y la obtención de un compost de calidad es la mejor solución para estas limitaciones y la eliminación de los disservicios.

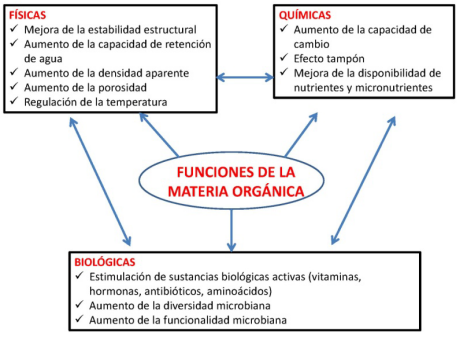


Figura 2. Esquema con las principales funciones de la materia orgánica sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.

Los suelos mejorados con compost de calidad aumentan la producción de alimentos (cosechas) y materias primas (madera), por tanto aportan servicios ecosistémicos de abastecimiento que son valorados por la sociedad. En un experimento sobre el efecto de compost de vinaza azucarera se comprobó que mejoraban la producción de maíz el primer año, triplicaban la producción de remolacha el segundo y proporcionaban un importante efecto residual en la producción de girasol en un tercero sin aplicación de fertilización (Madejón y col., 2001). El uso agrícola de otros compost urbanos como los procedentes de biosólidos o residuos sólidos urbanos ha sido también ampliamente discutido y valorado (Stephen, 2009). Otro servicio de regulación cada vez más apreciado por la sociedad, es la contribución a la mitigación del cambio climático, mediante el secuestro de carbono en el suelo. Se ha comprobado que en los suelos de olivar donde se aplicó compost de alperujo durante 17 años aumentó la estabilidad a largo plazo del carbono (Aranda y col., 2015).

La evaluación de los múltiples servicios ecosistémicos aportados por un suelo mejorado por compost, no solo en la producción de alimento, sino también en otros servicios intangibles relacionados con la calidad del aire y el agua, el reciclado de los residuos, la mitigación del cambio climático, o la mejora del paisaje, contribuyen a que la sociedad aprecie el valor del compost como pieza clave de la economía circular y fuente de bienestar. También desde el punto de vista

comercial, el concepto de servicio ecosistémico puede ser un valor añadido a la hora de publicitar un producto o actividad relacionada con el compost; por ejemplo, la construcción de paredes verdes usando productos derivados del compost por la empresa Filtrexx (2016).

4. Bibliografía

Aranda V., Macci C., Peruzzi E., Masciandaro G., 2015. Biochemical activity and chemical-structural properties of soil organic matter after 17 years of amendments with olive-mill pomace co-compost. *Journal of Environmental Management*, 147, 278-285.

Baveye P. C., Baveye J., Gowdy J., 2016. Soil "ecosystem" services and natural capital: critical appraisal of research on uncertain ground. *Frontiers in Environmental Science*, 4, article 41.

Costanza R., D'Arge R., de Groot R., Farber S., Grasso M., Hannon B., Limburg K., Naeem S., O´Neill R.V., Paruelo J., Raskin R.G., Sutton P., van den Belt M., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387, 253-260.

Dominati E., Mackay A., Green S., Patterson M., 2014. A soil change-based methodology for the quantification and valuation of ecosystem services from agro-ecosystems: A case study of pastoral agriculture in New Zealand. *Ecological Economics*, 100, 119-129.

EME, 2011. *La Evaluación de los Ecosistemas del Milenio de España. Síntesis de resultados*. Fundación Biodiversidad. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, Madrid. 305 pp.

Filtrexx, 2016. Ecosystem Service Benefits of Filtrexx® Compost-Based Sustainable Management Practices (SMPs). TechLink Research Summary #3335. http://www.filtrexx.com/en (fecha de consulta: 11/11/2016)

Maes J. y col. (39 coautores), 2016. An indicator framework for assessing ecosystem services in support of the EU Biodiversity Strategy to 2020. *Ecosystem Services*, 17, 14-23.

Madejón E., López R., Murillo J.M., Cabrera F., 2001. Agricultural use of three (sugar-beet) vinasse composts: effect on crops and chemical properties of a Cambisol soil in the Guadalquivir river valley (SW Spain). *Agriculture, ecosystems & environment*, 84(1), 55-65.

Marañón T., Navarro-Fernández C.M., Domínguez M.T., Madejón P., Murillo J.M., 2015. How the soil chemical composition is affected by seven tree species planted at a contaminated and remediated site. *Web Ecology*, 15, 45-48.

MEA (Millenium Ecosystem Assessment), 2005. *Ecosystems and human well-being: synthesis*. Island Press, Washington.

Montes C., García Mora M.R. (coordinadores), 2012. *La evaluación de los ecosistemas del milenio en Andalucía. Haciendo visibles los vínculos entre la naturaleza y el bienestar humano*. Junta de Andalucía.

Schwilch G., Bernet L., Fleskens L., Giannakis E., Leventon J., Marañón T., Mills J., Short C., Stolte J., van Delden H., Verzandvoort S., 2016. Operationalizing ecosystem services for the mitigation of soil threats: A proposed framework. *Ecological Indicators*, 67, 586-597.

Stephen R.S., 2009. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. *Environment International*, 35, 142–156.

Vihervaara P., Rönkä M., Walls M, 2010. Trends in ecosystem service research: early steps and current drivers. *AMBIO,* 39, 314-324.

Xiong J., Madejón P., Madejón E., Cabrera F., 2015. Assisted natural remediation of a trace element-contaminated acid soil: An eight-year field study. *Pedosphere*, 25(2), 250-262.

5. Agradecimientos

Agradecemos a los miembros del grupo SoilPlant del IRNAS por la colaboración en los diferentes trabajos que se citan en la revisión. A la financiación por el proyecto europeo RECARE (7º Programa Marco, contrato nº 603498) y los proyectos nacionales RESTECO (CGL2014-52858-R) y BIORESMED (AGL2014-55717-R).

CONTROL DE ENFERMEDADES DE LOS CULTIVOS MEDIANTE EMPLEO DE COMPOST

Manuel Avilés Guerrero

Dpto. Ciencias Agroforestales, E.T.S.I.A. Universidad de Sevilla. Ctra. Utrera km 1, 41013, Sevilla, España. aviles@us.es

Resumen: Una medida más a considerar en el manejo integrado de enfermedades es el uso de compost supresivos, bien formulados como sustratos o bien aplicados al suelo como enmienda orgánica. Los mecanismos asociados a los fenómenos de supresividad natural por el uso de compost pertenecen tanto a la denominada supresividad general como a la específica. La supresividad general está explicada por la capacidad de estos materiales de sostener en el tiempo una suficiente actividad microbiana, nutrida por la lenta degradación de los compuestos carbonados complejos que los constituye tras el compostaje. De tal manera, esta comunidad microbiana funciona sustrayendo los nutrientes del medio estableciéndose la microbiostasis sobre los propágulos de los hongos fitopatógenos y/o una elevada competencia por la colonización de la rizosfera. La supresividad específica, de presencia menos frecuente y mucho más variable en los compost, depende de la adecuada instalación tras el compostaje de microorganismos que operen como agentes de control biológico. Una mayor consistencia en la expresión de supresividad específica es posible si una vez detectada se mantienen las condiciones del compostaje o si se introducen adecuados agentes de control biológico. Ambos tipos de supresividad: general y específica, pueden coexistir. Otra expresión de supresividad, aún menos frecuente en compost, puede producirse vía planta mediante fenómenos de inducción de resistencia.
El empleo de los distintos compost en la agricultura puede promoverse si se caracteriza su supresividad. Además, el conocimiento de los mecanismos de acción en cada caso permitiría designar qué parámetros caracterizan este comportamiento.

Palabras clave: supresividad, sustratos hortícolas, enmienda.

Los cultivos son objeto de frecuentes mermas por parte de los hongos fitopatógenos. Éstos causan graves enfermedades en el aparato radical y aéreo de las plantas. Una alternativa al uso de fungicidas y fumigantes de suelo es el cultivo con sustratos supresivos formulados con composts o bien la enmienda del suelo con estos composts. Desde un punto de vista práctico los composts con buenas características físicas suelen emplearse para formular sustratos y los de propiedades físicas menos adecuadas para la enmienda de suelos.

En lo que afecta al comportamiento supresivo de los composts la mayor diferencia entre su aplicación como sustrato o su aplicación en enmienda es el factor de dilución en el resto de la matriz, como datos medios podemos estimar para sustratos: compost:componentes 1:2 (v/v), y para enmiendas: compost:suelo 1:40 (v/v).

Los mecanismos asociados a los fenómenos de supresividad natural en los **sustratos formulados con compost** pertenecen tanto a la denominada supresividad general como a la específica (Avilés et al., 2011; Hadar and Papadopoulou, 2012). La ***supresividad general*** está explicada por la capacidad de estos materiales de sostener en el tiempo una suficiente actividad microbiana, nutrida por la lenta degradación de los compuestos carbonados complejos que los constituye tras el compostaje. De tal manera, que esta comunidad microbiana, como un todo, funciona sustrayendo los nutrientes del medio lo que se traduce en el establecimiento de microbiostasis sobre los propágulos de los hongos fitopatógenos y/o en una elevada competencia por la colonización de la rizosfera, zonas abastecidas por los exudados y rizodepósitos radicales. La ***supresividad específica***, de presencia mucho más variable en estos composts, depende de la

adecuada instalación tras la fase termófila de microorganismos que operen como agentes de control biológico. Una mayor consistencia en la expresión de supresividad específica es posible si se introducen, durante el compostaje o durante el cultivo, adecuados agentes de control biológico (Hoitink y Boehm, 1999). Otra expresión de control biológico en estos sustratos puede producirse vía planta mediante la manifestación en ciertos casos de fenómenos de ***inducción de resistencia*** en la planta (Ntougias et al., 2008).

En el desarrollo de varios proyectos hemos identificado composts, que formulados como sustratos hortícolas, presentan diversos niveles de supresividad frente a varias enfermedades (Tabla 1). Las propiedades relacionadas con el comportamiento supresivo en estos composts supresivos, empleados como componentes de sustratos frente a distintas enfermedades son (Avilés et al., 2010):

- Caída de plántulas (*Pythium aphanidermatum*): actividad microbiana y la composición de la fracción orgánica.
- Caída de plántulas (*Rhizoctonia solani)*: grado de madurez de los composts.
- Verticilosis: actividad y diversidad microbiana, pH, CE.
- Fusariosis vasculares: pH, actividad microbiana, poblaciones de ciertos grupos eco-nutritivos de microorganismos y perfiles metabólicos del carbono de la comunidad microbiana.
- Podredumbre gris (*Botrytis cinerea)*: actividad microbiana, conductividad eléctrica de los composts, estado nutritivo de las plantas (Ca, Si, Mo), sin descartar una posible activación de los mecanismos de defensa de las plantas.

Tabla 1. Supresividad natural de los sustratos formulados con composts.

Compost	Caída de plántulas *Pytium* spp.	Caída de plántulas *R. solani*	Verticilosis	Fusariosis vasculares	Podredumbre gris
Compost de corcho	++[a]	++	+	++	+++
Compost de orujo de vid	+++	+	+/++	+++	++
Compost de alperujo	++	+	-/+++	+++	+++
Compost del residuo del cultivo del champiñón	++	+	nd[b]	++	+++
Compost de RSU y restos de poda	++	++	nd	++	++

[a]Supresividad: (+++) alta, (++) media, (+) baja, (-) nula respecto a turba y/o fibra de coco.
[b]nd: no determinada.

También las enmiendas orgánicas pueden contribuir a inducir supresividad general en el suelo al aumentar su biomasa y actividad microbiana, dado que aportan fuentes carbonadas. Así, la **enmienda con composts** implica que se aporta un material ampliamente colonizado por microorganismos impidiendo éstos, en gran parte, su disponibilidad para un posible fitopatógeno presente en el suelo (Hoitink y Boehm, 1999). En el caso, de que la enmienda orgánica contenga determinadas especies de microorganismos, de manera natural o introducida, puede proveer supresividad específica. La incorporación de agentes de control biológico con la enmienda puede favorecer la instalación de éste en el suelo respecto a la introducción del microorganismo sólo (Sant et al. 2010). Otra expresión de control biológico en los composts y por consiguiente potencialmente transmisible a sus enmiendas puede producirse vía planta, mediante la inducción de resistencia (Ntougias et al., 2008). En cualquiera de estas tres expresiones de la supresividad (general, específica e inducción de resistencia) es determinante la naturaleza y composición de la mezcla resultante de la enmienda del suelo, dado que es ésta la que va a seleccionar y mantener la comunidad microbiana implicada (Hoitink y Boehm, 1999).

De un total de 250 artículos analizados y con 2423 casos experimentales estudiados se ha visto que los composts son los materiales que más frecuentemente confieren supresividad (más del 50% de los casos mostraron un control efectivo de las enfermedades), mientras que los resíduos de los cultivos y los residuos orgánicos frescos muestran mayor variabilidad en sus efectos (Bonanomi et al., 2010). Los factores clave que se proponen como dependientes de la supresividad de la enmienda son:

El patosistema. Se ha comprobado que la mayoría de los composts aplicados al suelo o sustrato presentan supresividad natural frente a enfermedades inducidas por *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp, en contraste, sólo el 20% de composts evaluados presentan supresividad natural frente a *R. solani* (Hoitink y Boehm, 1999). La inconsistencia del control sobre *R. solani* se puede soslayar aumentando el periodo de maduración de los composts (Trillas et al., 2006), enmendando el suelo varios meses antes de plantar. Dentro de cada patosistema hay que subrayar la importancia de la densidad de inóculo en el suelo del fitopatógeno.

La proporción del aporte. Generalmente la cantidad aportada muestra una relación positiva con la reducción de enfermedad, aunque parecen existir niveles de saturación (Bonanomi et al., 2010). No siempre el efecto es reducción de la enfermedad, especialmente si la enmienda es rica en nitrógeno o amonio que suele incrementar las Fusariosis vasculares y las enmiendas muy salinas que suelen incrementar las enfermedades inducidas por *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp. y *V. dahliae*. Los aportes realizados al suelo o arena en los ensayos de supresividad en contenedor (microcosmos) más frecuentes suelen variar entre el 10 % y el 20 % v/v (Noble y Coventry, 2005).

La naturaleza del residuo. Son muchos los ejemplos donde a igualdad del resto de variables unos residuos reducen la severidad mientras otros la reducen menos o no tienen efecto (Borrero et al., 2004; Noble y Coventry, 2005).

El grado de madurez del compost. La madurez determina la extensión de la colonización microbiana del residuo orgánico, la comunidad microbiana albergada (poblaciones y sus actividades respectivas) y la capacidad de sostenimiento de la misma (Hoitink y Boehm, 1999). Así, los residuos frescos o composts inmaduros están poco colonizados y no sólo pueden servir de base nutritiva para los agentes asociados al biocontrol sino también a los fitopatógenos de suelo con cierta capacidad saprofítica, lo que puede traer consigo un incremento de la enfermedad. Los composts maduros, completamente colonizados por microorganismos son muy poco accesibles a los fitopatógenos y pueden sostener posibles fenómenos de competición, antibiosis, parasitismo e inducción de resistencia sistémica (Hoitink y Boehm, 1999). Los aportes muy humificados no soportan suficiente actividad microbiana y el biocontrol desaparece (Hoitink y Boehm, 1999). El proceso de compostaje e incluso el lugar donde éste se lleva acabo tiene repercusión en su comunidad microbiana residente y por consiguiente en su supresividad. Así, los compostajes a cielo abierto y cerca de bosques o campos (ambientes con alta diversidad microbiana) producen composts con supresividad más consistente que los producidos a partir del mismo residuo en instalaciones semicerradas (Hoitink y Boehm, 1999).

A estos factores habría que añadir el tipo de suelo a enmendar, dada su elevada proporción en la mezcla resultante tras la enmienda, su repercusión en la supresividad resultante puede ser notable. También se demuestra como las propiedades biológicas resultantes de la enmienda dependen del tipo de suelo y naturaleza de la enmienda, que tienen trascendencia en la supresividad resultante. A la supresividad inducida por una enmienda pueden estar asociados no sólo las actividades de los microorganismos que ésta porta, sino también las actividades estimuladas selectivamente de la microflora residente en el suelo. La concentración y disponibilidad de nutrientes carbonados en el suelo, resultante de la enmienda, juega un papel clave en la regulación de estas actividades (Hoitink y Boehm, 1999).

Como ejemplo de lo comentado en el apartado de enmiendas con composts hemos identificado ciertos composts que presentan diversos niveles de supresividad frente a algunas enfermedades (Tabla 2).

Tabla 2. Supresividad asociada a la enmienda del suelo con composts.

Compost	Pudrición de raíz y tallo *Pytium* spp.	Pudrición raíz y cuello *Sclerotium rolfssi*	Verticilosis
Compost de lanas celulósicas	nd[b]	++	nd
Compost de cortezas de pino	++	nd	nd
Compost de alperujo	-	nd	-/+++
Compost de lodos y restos de poda	-	nd	nd
Compost de RSU y restos de poda	nd	++	nd

[a]Supresividad: (+++) alta, (++) media, (+) baja, (-) nula respecto al suelo no enmendado.
[b]nd: no determinada.

No se debe olvidar que el grado de madurez, la naturaleza del residuo, la proporción del aporte y el tipo de suelo van a condicionar el estado nutritivo de la planta, que puede tener repercusión en su susceptibilidad y predisposición a la enfermedad.

Las estrategias de investigación en compost supresivos para determinar las bases microbiológicas de la supresividad e identificar la contribución de específicos grupos de microorganismos son las siguientes: i) El primer paso es determinar si la supresividad es destruida por pasteurización o biocidas selectivos, o si tratamientos más severos son necesarios (desinfección por vapor de agua, bromuro de metilo, autoclavado o radiación gamma). Tanto la supresividad general como la específica suelen ser eliminadas por autoclavado o radiación gamma. En cambio, la supresividad general puede ser reducida pero no eliminada por fumigación o calor húmedo a 70 ºC. En muchos casos la supresividad específica es eliminada por pasteurización, aunque no siempre. ii) El segundo paso es comprobar la posible transferencia de la supresividad a un medio conductivo mediante la adición de entre el 0.1 al 10 % (p/p) del compost supresivo (Weller et al., 2002). iii) Aislamiento de grupos microbianos y evaluar la supresividad inducida por esos grupos en medios conductivos. iv) Caracterización fenotípica de los grupos que confieren supresividad, mediante la determinación de perfiles enzimáticos, metabólicos, etc. v) Comparar la diversidad genética y/o metabólica de las comunidades de microorganismos presentes en medios conductivos vs. supresivos, con el empleo de técnicas como: DGGE, TGGE, metagenómicas (pirosecuenciación, microarray, ion Torrent, etc.), Biolog y metabolómicas (Blaya et al., 2016). vi) Elucidar los mecanismos de supresión empleando análisis de regresión de parámetros físicos, químicos y biológicos respecto a la supresividad en un conjunto de medios con gradiente de supresividad y conductividad.

Como conclusión podemos decir que la clave para la difusión y utilización a escala comercial de compost supresivos es el desarrollo de productos de escasa variabilidad entre lotes y de espectro supresivo definido y consistente en el tiempo. Para lo cual el proceso de compostaje es clave, éste debe manejarse y controlarse adecuadamente. La localizada disponibilidad de los residuos no debe ser un inconveniente para los sustratos hortícolas, si se consiguen sustratos de calidad agronómica aceptable y supresividad consistente.

Bibliografía:

Avilés M., Trillas M.I., Borrero C., 2010. Los composts como inductores de supresividad en los sustratos hortícolas. En: J. Labrador, J.L. Porcuna (Eds) *Conocimientos, técnicas y productos para el control de plagas y enfermedades en agricultura ecológica*. Ed. SEAE, Alboralla.

Avilés M., Borrero C., Trillas MI., 2011. Review on compost as an inducer of disease suppression in plants grown in soilless culture. In: A.S. Ferrer (Ed) *Compost III. Dynamic Soil, Dynamic Plant 5* (Special Issue 2), pp. 1-11.

Blaya J., Marhuenda F.C., Pascual J.A., Ros M., 2016. Microbiota characterization of compost using omics approaches opens new perspectives for Phytophthora root rot control. Plos One. Doi: 10.1371/journal.pone.0158048.

Bonanomi G., Antignani V., Capodilupo M., Scala F., 2010. Identifying the characteristics of organic soil amendments that suppress soilborne plant diseases. *Soil Biol. Biochem*. 42, 136-144.

Borrero C., Trillas M. I., Ordovás J., Tello J. C., Avilés M., 2004. Predictive factors for the suppression of Fusarium wilt of tomato in plant growth media. *Phytopathology* 94, 1094-1101.

Hadar Y., Papadopoulus K.K., 2012. Suppressive composts: microbial ecology links between abiotic environments and healthy plants. *Annu. Rev. Phytopathol*. 50, 133-153.

Hoitink H. A. J., Boehm M. J., 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Annu. Rev. Phytopathol*. 37, 427-446.

Noble R., Coventry E., 2005. Suppression of soil-borne plant disease with composts: A review. *Biocontrol Sci. Techn.* 15, 3-20.

Ntougias S., Papadopoulou K.K., Zervakis I., Kavroulakis N., Ehaliotis C., 2008. Suppression of soil-borne pathogens of tomato by composts derived from agro-industrial wastes abundant in Mediterranean regions. *Biol. Fertil. Soils.* 44, 1081-1090.

Sant D., Casanova E., Segarra G., Avilés M., Reis M., Trillas M.I., 2010. Effect of Trichoderma asperellum strain T34 on Fusarium wilt and water usage in carnation grown on compost-based growth medium. *Biol. Control*, 53, 291–296.

Trillas M.I., Casanova E., Cotxarrera L., Ordovás J., Borrero C., Avilés M., 2006. Composts from agricultural waste and the Trichoderma asperellum strain T-34 suppress Rhizoctonia solani in cucumber seedlings. *Biol. Control* 39, 32-38.

Weller D. M., Raaijmakers J. M., Gardener B. B. M., Thomashow L.S., 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol*. 40, 309–348.

LÍNEA TEMÁTICA I:

COMPOSTAJE Y OTRAS TECNOLOGÍAS DE VALORIZACIÓN DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS EN EL ÁMBITO DE LA ECONOMÍA CIRCULAR.

DESTRUCCIÓN TÉRMICA DE LA HIDROFOBICIDAD DEL ALPERUJO COMPOSTADO PARA SU APLICACIÓN COMO ENMIENDA ORGÁNICA. EVALUACIÓN MEDIANTE ESPECTROSCOPIA FTIR

Francisco Comino[1]*, Víctor Aranda[2], José Antonio Munuera[2], Ana Domínguez-Vidal[1], María José Ayora-Cañada[1]

1 Departamento de Química Física y Analítica; 2 Departamento de Geología. Universidad de Jaén, Campus Las Lagunillas s/n, 23071-Jaén, España.
** e-mail: fcr00011@red.ujaen.es*

Resumen: Las zonas agrícolas en la región Mediterránea están en peligro debido a la degradación del suelo como consecuencia de los bajos niveles de materia orgánica, así como la ausencia de cubiertas vegetales, lo que favorece la erosión del suelo. Una buena opción para restaurar la calidad del suelo son las enmiendas orgánicas, como el alperujo compostado. Sin embargo, esta enmienda orgánica tiene, especialmente en estados de baja madurez, valores muy altos de hidrofobicidad debido a la presencia de compuestos poco evolucionados y de fuerte carácter alifático, lo que podría alterar una vez aplicada al suelo, el agua disponible para la planta, así como las tasas de infiltración. En el presente estudio se eliminó la hidrofobicidad de diferentes compost de alperujo, mediante la aplicación de tratamiento térmico. Temperaturas cercanas a 275 ºC demostraron ser las ideales para eliminar la repelencia al agua, mientras que temperaturas por debajo de este incluso aumentaron la repelencia. La composición de las muestras y su evolución se analizó mediante espectroscopia de infrarrojo medio con transformada de Fourier (FTIR). Cuando se aplica tratamiento térmico, se produce una clara reducción de compuestos alifáticos, principales responsables del carácter hidrófobo, y un aumento de la concentración relativa de compuestos aromáticos, dando lugar a enmiendas orgánicas más evolucionadas y estables. Por lo tanto, someter a los compost de alperujo a temperaturas alrededor de 275 ºC podría ser una opción válida para eliminar la hidrofobicidad de este tipo de enmiendas orgánicas, mejorando así además la calidad de la materia orgánica incorporada al suelo.

Palabras clave: subproducto, materia orgánica, calidad del suelo.

1. Introducción.

El olivar es un cultivo de elevada importancia para los países de la cuenca del Mediterráneo, cuyo cultivo intensivo provoca una elevada degradación del suelo, problema que se acentúa en el sur de España (Lozano-García y Parras-Alcántara, 2013). Esto se debe a un manejo del suelo inadecuado, con eliminación de las cubiertas vegetales, lo que lleva a unas tasas de erosión inasumibles por el medio edáfico (Castro et al., 2008). La materia orgánica es uno de los componentes mas importantes para la fertilidad del suelo, por lo que se hace esencial recuperar niveles adecuados (Reeves, 1997). Una de las mejores opciones es el uso de enmiendas orgánicas, y entre ellas, la reutilización del alperujo, el principal subproducto obtenido de la extracción del aceite de oliva en las almazaras, se presenta como una opción viable. Sin embargo este material presenta alta humedad, así como compuestos con carácter fitotóxico y antimicrobiano (Serramiá et al., 2010), lo que obliga a un compostaje previo que reduzca estos problemas y lo convierta en un material aplicable al suelo (Fernández-Hernández et al., 2014). La aplicación de este material tiene amplios beneficios sobre la calidad del suelo (García-Ruiz et al., 2012), sin embargo también tiene efectos negativos, siendo el más importante que genera carácter hidrofóbico (Aranda et al., 2016), debido a la acumulación de compuestos muy alifáticos y poco evolucionados, lo que provoca una disminución de la infiltración, aumentando además el

riesgo de erosión. Diferentes investigaciones han demostrado que puede eliminarse la repelencia al agua de materiales orgánicos aplicando temperaturas superiores a 200 ºC (Mataix-Solera y Doerr, 2004), aunque en ninguna de ellas se trabajó con compost de alperujo.

Por tanto, el objetivo de nuestro trabajo es probar si puede eliminarse la repelencia al agua de diferentes muestras de compost de alperujo, mediante la aplicación de un tratamiento térmico, determinando que temperatura sería la ideal para conseguirlo, y estudiando la evolución de las muestras durante el proceso, utilizando espectroscopia de infrarrojo medio con transformada de Fourier (FTIR).

2. Material y Métodos.

2.1. Descripción de las muestras

Cinco muestras de compost de alperujo de diferente origen y composición fueron estudiadas. Cuatro de las muestras son alperujos procedentes de diferentes almazaras de la provincia de Jaén, Villanueva de la Reina (COMP1 y COMP2), Noguerones (COMP3) y Alcaudete (COMP4) a las que se añadió un 25% de hoja de limpia (hojín), para actuar como agente estructurante, y 25% de gallinaza como fuente de nitrógeno para estimular el proceso de compostaje. Estas muestras fueron preparadas mediante la elaboración de pilas de 3x6 m, volteadas cada 15 días, con un periodo de maduración de 7 meses. La otra muestra (COMP5) es alperujo producido y compostado en el Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera de Mengíbar (Jaén), al que se le añade un 70% de hoja de limpia, y que se prepara utilizando el sistema de pila móvil con volteos cada quince días durante los 4 primeros meses, dejándose posteriormente en reposo sin volteos durante un período de 2 meses.

2.2. Tratamiento térmico

60 gramos de cada muestra, colocados en capsulas de porcelana, se calentaron a 65, 175, 225 y 275 ºC durante cinco horas en un horno Binder GmbH EDF. Las muestras calentadas a 65 ºC se tomaron como iniciales, debido a que a esta temperatura tan solo eliminamos la humedad, sin cambios en la materia orgánica de la muestra. Con este tratamiento térmico se pretende comprobar si aplicando calor se consigue la desaparición del carácter hidrófobo de las muestras.

2.3. Estimación de la Repelencia al Agua

La persistencia de la repelencia al agua se midió utilizando el "water drop penetration time (WDPT) test" (Wessel, 1988). Este test mide cuanto tiempo persiste la repelencia en una determinada superficie, depositando sobre el material una gota de agua destilada, y midiendo el tiempo transcurrido hasta que esta penetra completamente. En nuestro caso se utilizaron 50 µl de agua destilada repartida en cinco gotas añadidas desde 5 mm de altura para evitar excesos de energía cinética. Se midió el tiempo hasta que las cinco gotas fueron completamente absorbidas.

2.4. Espectroscopia Infrarroja

Los espectros en el infrarrojo medio se midieron entre las longitudes de onda de 500 y 4000 cm^{-1} utilizando un espectrómetro Varian 660 FTIR con un accesorio de atenuación de la reflexión total (ATR) con cristal de diamante de 3 reflexiones y un aplicador de presión para la medida de sólidos, resolución de 4 cm^{-1} y 128 acumulaciones. Las muestras, finamente molidas en un

mortero de ágata, se colocan sobre la óptica, y se les aplica presión para asegurar el máximo contacto. El espectro del aire se utilizó como fondo (background). Se calculó el índice de hidrofobicidad, como la relación entre fracción hidrófoba/ fracción hidrófila (Matějková and Šimon, 2012) utilizando las áreas de los picos a 3000-2800 cm^{-1} para la fracción hidrófoba, y las 1740-1600 cm^{-1} para la fracción hidrófila. Además también se calculó el ratio 1606/1740 cm^{-1}, como indicador de la concentración relativa de compuestos aromáticos. Las áreas y valores de absorbancia se calcularon usando el software OPUS 7.0 spectroscopy software (Bruker Optics).

3. Resultados y Discusión

Una representación de los espectros FTIR más representativos del análisis se muestran en la Figura 1. En ella podemos ver, entre los espectros de las muestras iniciales (65 ºC) dos espectros muy diferentes; el del COMP3 (similar a las muestras COMP1, COMP2 y COMP4) con bandas de materiales inorgánicos muy marcadas, como carbonatos (1795 cm^{-1}, 1410 cm^{-1} y 870 cm^{-1}) y fosfatos (1020 cm^{-1}), debido a la adición de gallinaza durante su compostaje, ya que este tipo de estiércol es rico en estos compuestos inorgánicos. Estas bandas inorgánicos evitan una mejor interpretación de estas zonas del espectro, debido a la mayor señal analítica de los compuestos inorgánicos. Por otro lado, la muestra COMP5 presenta una elevada riqueza de grupos funcionales, en la que podemos destacar especialmente la banda a 3300 cm^{-1} asociada a grupos OH de polisacáridos y fenoles, y la banda de 2920-2850 cm^{-1}, mucho mayor en esta muestra, y que está asociada a los grupos CH de compuestos con fuerte carácter alifático, responsables en gran medida del carácter hidrófobo de las muestras orgánicas.

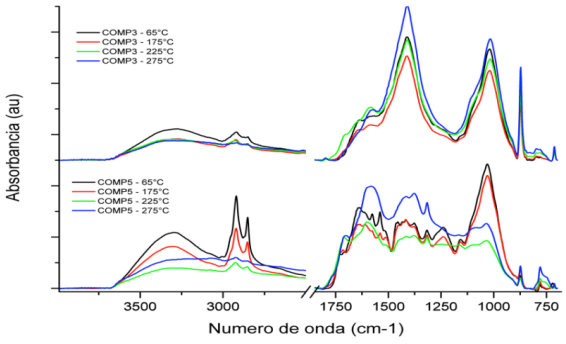


Figura 1. Representación de los espectros de las muestras a las diferentes temperaturas aplicadas. Se muestran solo las dos muestras mas representativas.

En estas muestras iniciales, podemos apreciar una repelencia al agua bastante importante, con una media de 408 segundos (tabla 1), pero que en el caso del COMP5, superaba los 900 segundos, lo que demuestra la elevada repelencia al agua de estos materiales.

Tabla 1. Valores medios de los diferentes parámetros medidos para las muestras.

Temperatura	Índice Hidrofobicidad	1606/1740 Ratio	WDPT (s)
65 ºC	0,182	1,19	408
175 ºC	0,162	1,17	2421
225 ºC	0,059	1,22	1563
275 ºC	0,026	1,32	<1

Para eliminar la repelencia al agua, se aplicaron los diferentes tratamientos térmicos. Observando los espectros (figura 1), podemos apreciar un suavizado progresivo con el aumento de temperatura. Los cambios espectrales más destacables para la muestra COMP5 son: el descenso en las bandas de 3300 cm^{-1} y 1030 cm^{-1} como consecuencia de la destrucción térmica de compuestos orgánicos lábiles, sobre todo polisacáridos de origen vegetal; los cambios producidos en la región de 1750-1200 cm^{-1}, que parece presentar un aumento en la concentración relativa de ciertos compuestos carboxílicos y lignina con el aumento de la temperatura.

En el caso de la muestra COMP3, las fuertes bandas de la fracción mineral complican la observación de la evolución del espectro. Dichas bandas además se intensifican debido a su acumulación al destruir algunos compuestos orgánicos con el tratamiento térmico.

Sin embargo, la principal diferencia, que se puede observar en ambos casos, es la disminución de los dos picos en 2920 y 2850 cm^{-1} con el aumento de la temperatura, indicando la destrucción de los compuestos alifáticos con el tratamiento térmico. Esto a su vez se observa claramente en el índice de hidrofobicidad (tabla 1), que disminuye con la temperatura, alcanzando su valor mínimo con el tratamiento de 275 ºC. Por otro lado, Observando el ratio 1606/1740 cm^{-1}, que mide la proporción de compuestos aromáticos, observamos un ligero aumento, especialmente notable con la mayor temperatura. Estos resultados parecen estar indicando que el tratamiento térmico consigue la eliminación de los compuestos alifáticos, con una concentración relativa de compuestos aromáticos, dando lugar a un material orgánico de mayor calidad.

El tratamiento térmico demuestra generar una mejora en la calidad de la materia orgánica, pero es importante traducir estos resultados respecto a la repelencia al agua. En la tabla 1 podemos ver un aumento muy importante de la repelencia al agua con el tratamiento de 175 ºC, que puede ser debido a la disminución de los grupos OH de la celulosa (3300 cm^{-1}) y ácidos carboxílicos (1710 cm^{-1}), que actúan como compuestos hidrófilos, aunque también a una movilización de los compuestos alifáticos a la parte superficial de la muestra, debido a una volatilización y solidificación posterior en superficie, efecto descrito por (Zavala et al., 2010). Este proceso daría un aumento del carácter hidrófobo incluso cuando la fracción alifática se ha reducido. El tratamiento a 225ºC reduce la repelencia al agua en comparación al tratamiento anterior, aunque sin llegar a los niveles iniciales, indicando en esta temperatura la destrucción de compuestos hidrófobos es mayor, pero insuficiente, produciéndose procesos similares a los descritos para el tratamiento a 175 ºC, produciendo finalmente un aumento de la repelencia al agua. Finalmente el tratamiento a 275 ºC tratamiento reduce la repelencia al agua a prácticamente 0, destruyendo casi en su totalidad los compuestos alifáticos, tal y como se observa en el espectro con picos ausentes en 2920 y 2850 cm^{-1}, lo que da lugar a la desaparición del carácter hidrófobo en las muestras.

4. Conclusiones.

El tratamiento térmico aplicado a las muestras de compost de alperujo ha demostrado mejorar la calidad de este tipo de material, disminuyendo la cantidad de compuestos alifáticos e incrementando los aromáticos. Sin embargo, solo el tratamiento de 275 ºC ha demostrado ser eficaz para eliminar la repelencia al agua, mientras temperaturas inferiores a esta incluso agravaban el problema. La espectroscopía FTIR ha demostrado ser una técnica válida para comprender los cambios composicionales producidos en las muestras de compost de alperujo con la aplicación de los diferentes tratamientos térmicos.

5. Bibliografía

Aranda, V., Calero, J., Plaza, I., Ontiveros-Ortega, A., 2016. Long-term effects of olive mill pomace co-compost on wettability and soil quality in olive groves. Geoderma 267, 185–195. doi:10.1016/j.geoderma.2015.12.027

Canet, R., Pomares, F., Cabot, B., Chaves, C., Ferrer, E., Ribó, M., Albiach, M.R., 2008. Composting olive mill pomace and other residues from rural southeastern Spain. Waste Manag. 28, 2585–2592. doi:10.1016/j.wasman.2007.11.015

Castro, J., Fernández-Ondoño, E., Rodríguez, C., Lallena, A.M., Sierra, M., Aguilar, J., 2008. Effects of different olive-grove management systems on the organic carbon and nitrogen content of the soil in Jaén (Spain). Soil Tillage Res. 98, 56–67. doi:10.1016/j.still.2007.10.002

Fernández-Hernández, A., Roig, A., Serramiá, N., Civantos, C.G.-O., Sánchez-Monedero, M.A., 2014. Application of compost of two-phase olive mill waste on olive grove: effects on soil, olive fruit and olive oil quality. Waste Manag. 34, 1139–47. doi:10.1016/j.wasman.2014.03.027

García-Ruiz, R., Ochoa, M.V., Hinojosa, M.B., Gómez Muñoz, B., 2012. Improved soil quality after 16 years of olive mill pomace application in olive oil groves. Agron. Sustain. Dev. 32, 803–810. doi:10.1007/s13593-011-0080-7

Lozano-García, B., Parras-Alcántara, L., 2013. Short-term effects of olive mill by-products on soil organic carbon, total N, C: N ratio and stratification ratios in a Mediterranean olive grove. Agric. Ecosyst. Environ. 165, 68–73. doi:10.1016/j.agee.2012.12.007

Mataix-Solera, J., Doerr, S.H., 2004. Hydrophobicity and aggregate stability in calcareous topsoils from fire-affected pine forests in southeastern Spain. Geoderma 118, 77–88. doi:10.1016/S0016-7061(03)00185-X

Matějková, Š., Šimon, T., 2012. Application of FTIR spectroscopy for evaluation of hydrophobic/hydrophilic organic components in arable soil. Plant, Soil Environ. 58, 192–195.

Reeves, D.W., 1997. The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. Soil Tillage Res. 43, 131–167. doi:10.1016/s0167-1987(97)00038-x

Serramiá, N., Sánchez-Monedero, M.A., Fernández-Hernández, A., Civantos, C.G.-O., Roig, A., 2010. Contribution of the lignocellulosic fraction of two-phase olive-mill wastes to the degradation and humification of the organic matter during composting. Waste Manag. 30, 1939–1947. doi:10.1016/j.wasman.2010.04.031

Wessel, A.T., 1988. On using the effective contact angle and the water drop penetration time for classification of water repellency in dune soils. Earth Surf. Process. Landforms 13, 555–561. doi:10.1002/esp.3290130609

Zavala, L.M., Granged, A.J.P., Jordán, A., Bárcenas-Moreno, G., 2010. Effect of burning temperature on water repellency and aggregate stability in forest soils under laboratory conditions. Geoderma 158, 366–374. doi:10.1016/j.geoderma.2010.06.004

6. Agradecimientos

Agradecer al Instituto de Estudios Giennenses (Diputación de Jaén) por la financiación.

TERMOLABILIDAD DE LA MATERIA ORGÁNICA RESIDUAL Y SU EVOLUCION EN FUNCION DE LA ESTABILIZACION MEDIANTE COMPOSTAJE

María Pilar Gomis[1], Encarnación Martinez-Sabater[1], Frutos Carlos Marhuenda-Egea[2], María Dolores Pérez-Murcia[1], María Ángeles Bustamante[1], Xavier Barber[3], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Concepción Paredes[1], Raúl Moral[1]

[1]Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[2]Departamento de Bioquímica y Agroquímica, Universidad de Alicante, Facultad de Ciencias, Ap. 99, 03080-San Vicente del Raspeig (Alicante)
[3]Centro de Investigación Operativa, CIO-UMH, Universidad Miguel Hernández, Avda Universidad sn, 03202-Elche (Alicante)
e-mail: frutos@ua.es

Resumen
En un estudio de 21 procesos de co-compostaje a escala comercial se han correlacionado parámetros ligados a la exotermia del proceso (ligada a la actividad microbiana y la biodegradabilidad de los insumos residuales) con la refractancia del material compostante, haciendo uso de técnicas gravimétricas, con el fin de poder predecir el potencial comportamiento de mezclas complejas a través de su termolabilidad inicial, una vez conocidos índices de interés termodinámico.

Palabras claves: co-compostaje, temperatura, índice EXI2, refractancia, TG, DTG, DTA

1. Introducción

La evolución de la materia orgánica durante los procesos de compostaje incluye multitud de reacciones químicas y bioquímicas de degradación, mineralización, neoformación, polimerización y policondensación. Todos estos procesos están mediados por la actividad microbiana y su resultado condiciona el comportamiento final de los compost. Adicionalmente, los propios ingredientes en el proceso y las condiciones térmicas que sufren dichos materiales influyen en dicha evolución que finalmente determinan la estabilidad estructural del compost final. En este punto conceptos como refractancia nos indican de forma indirecta la complejidad estructural de los componentes y estructuras orgánicas que permanecen en la pila en compostaje y en el producto final. La termolabilidad es un concepto que incluye la facilidad con la que un material o una mezcla de materiales en compostaje son degradados mediante combustión en condiciones controladas y por tanto es opuesto a la refractancia. Esta contribución pretende correlacionar la exotermia del proceso de compostaje y la refractancia del material compostante, haciendo uso de técnicas gravimétricas. En este trabajo se determinan diferentes índices de estabilidad-termolabilidad mediante técnicas TG (Termogravimetry), DTG (Differential Thermal Gravimetry) y DTA (Differential Thermal Analysis), con el objetivo de mejorar el conocimiento del proceso de co-compostaje, correlacionarlo con los insumos residuales utilizados y poder predecir el potencial comportamiento de mezclas complejas en procesos de co-compostaje comercial.

2. Material y métodos

En este estudio se han caracterizado 21 procesos distintos de compostaje industrial (10-30 m^3), así como los componentes iniciales de las mezclas que incluyen lodos de estaciones depuradoras

urbanas y agroindustriales, así como más de 8 residuos vegetales (tabla 1). Todos los procesos de co-compostaje se desarrollaron mediante volteo periódico haciendo uso del protocolo de manejo de la planta COMPOLAB de la Universidad Miguel Hernández de Elche. Para estudiar el comportamiento térmico de cada pila, se controló la temperatura ambiente y en la pila mediante sondas K y dataloggers estableciéndose la temperatura promedio diaria por pila. En cada pila se realizaron 4-5 muestreos (M0, start-up o mezcla inicial; MIFB, inicio fase bio-oxidativa; MFB, fase bio-oxidativa; MFFB, final fase bio-oxidativa; MM, madurez, establecida en a los 45 días después de MFFB). Se obtuvo el índice EXI2 (sumatorio cuadrático de la diferencia diaria entre la temperatura promedio de la pila y la temperatura ambiente) de forma asociada a cada muestreo para poder correlacionar el perfil térmico y la refractancia de la muestra. Para el estudio de la refractancia se determinaron los índices R1 procedentes del TG y el índice R2 procedente de DTA a partir del análisis termogravimétrico de las muestras por triplicado. El índice R1 es el cociente entre la pérdida de peso de la muestra entre 420 y 550ºC y la pérdida entre 200 y 420ºC. El índice R2 nos indica el cociente energético entre esos mismos tramos. Estos indicadores ponen en correlación el enriquecimiento en compuestos alifáticos (más refractarios) frente a los hidratos de carbono, lábiles a temperaturas más bajas (Torres-Climent y col., 2015).

Tabla 1. Características principales de los procesos de compostaje

Clave	Denominación Ingrediente			% ingrediente mezcla (s.m.f.)			C/N	Días	Días
	1	2	3	1	2	3		MFFB	>40ºC
CIG-02	EDAR-T	M	--	29,6	70,4	--	22,1	159	54
CIG-03	EDAR-A	TP	--	26,3	73,7	--	21,1	127	68
CIG-04	EDAR-O	HP	--	46,6	53,4	--	23,1	139	49
CIG-05	EDAR-O	HP	M	29,5	36,8	33,7	19,8	173	118
CIG-06	EDAR-T	AD	--	31,4	68,6	--	18,6	135	54
CIG-07	EDAR-O	HP	--	42,2	57,8	--	11,6	152	71
CIG-08	EDAR-C	HP	--	36,2	63,8	--	15,1	116	80
CIG-10	EDAR-A	AD	--	29,5	70,5	--	31,6	77	37
CIG-11	EDAR-A	ALG	--	38	62	--	14,9	80	56
CIG-12	EDAR-A	RPJ	--	53,9	46,1	--	13,1	80	44
CIG-13	EDARI 1	TP	--	27,5	72,5	--	20,3	84	56
CIG-14	EDARI 1	AD	--	19,6	80,4	--	21,7	77	39
CIG-15	EDARI 1	RPJ	--	40,9	59,1	--	13,0	100	44
CIG-16	EDAR-A	AD	--	60,8	39,2	--	12,7	80	12
CIG-17	EDAR-A	T	--	41,1	58,9	--	11,0	121	111
CIG-18	EDAR-A	M	--	54,9	45,1	--	17,7	118	99
CIG-19	EDAR-T	TP	--	29,8	70,2	--	16,5	90	78
CIG-20	EDAR-T	TP	--	21,9	78,1	--	17,4	78	73
CIG-21	EDAR-T	TP	--	17,5	82,5	--	15,4	92	83
CIG-22	EDAR-T	AD	--	38,7	61,3	--	11,4	84	70
CIG-23	EDAR-T	AD	--	32,2	67,8	--	12,3	72	63

* EDAR-T: lodo Torrevieja; M: morera; EDAR-A: lodo Algorós; EDAR-C: lodo Carrizales: EDAR-O: lodo Orihuela; TP: tronco palmera; HP: hoja palmera; AD: *Arundo donax* (caña rio); ALG: algodón; RPJ: residuos poda jardinería; EDARI 1: lodo EDAR industria agroalimentaria (pimiento); T: Tipuana; M: Poda morera.

3. Resultados y discusión

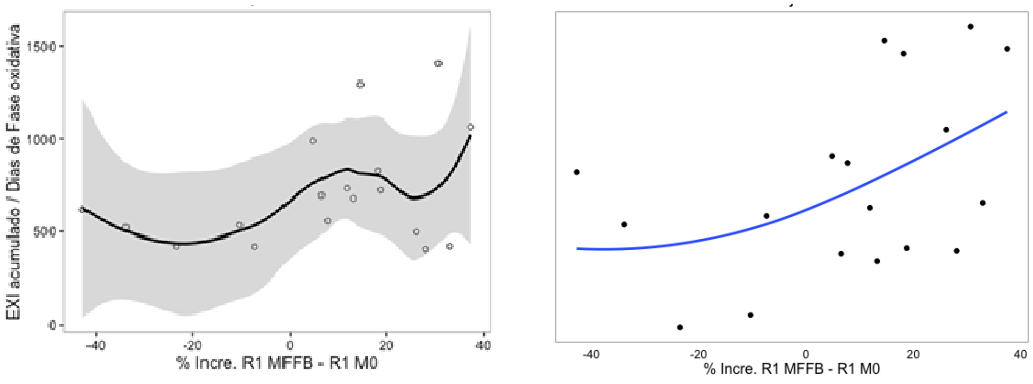
En la tabla 2, se muestran los valores del índice R1 para los materiales iniciales utilizados en los procesos de compostaje. Podemos observar que los agentes estructurantes poseen unos valores de R1 bajos en general, salvo la poda mixta y el tronco de palmera, que al ser más lignificados denotan presencia de mayor porcentaje de fracciones poco termolábiles. Las especies de crecimiento rápido como morera, tipuana y *Arundo donax* obtienen los R1 más bajos. Por el contrario, todos los fangos de estaciones depuradoras de aguas urbanas, independientemente de

su tecnología de tratamiento obtienen valores superiores a 0,7, en correlación con menores contenidos de MOT. Los fangos de industria agroalimentaria se situaron en valores intermedios.

Tabla 2. Materiales residuales usados: MOT, COT/NT y termolabilidad (R1 de TG).

Materiales iniciales	Clave	Rol compostaje	MOT	C/N	R1
Hoja Palmera *Phoenix dactilifera*	HP	Agente estructurante	91.9	18,0	0,286
Tronco palmera *Phoenix dactilifera*	TP	Agente estructurante	74,8	20,8	0,319
Poda de morera (*Morus alba*)	M	Agente estructurante	92,9	59,7	0,076
Poda de Tipuana (*Tipuana tipu*)	T	Agente estructurante	88,9	27,7	0,121
Resto de poda mixta jardinería urbana	RP	Agente estructurante	69,3	13,1	0,462
Caña Rio Segura (*Arundo donax*)	AD	Agente estructurante	78,1	38,4	0,180
Resto del desmotado de algodón	ALG	Agente estructurante	71,4	17,2	0,349
Lodo EDAR Elche-Carrizales	EDAR-C	Fuente de nutrientes	66,8	7,9	0,720
Lodo EDAR Elche-Algorós	EDAR-A	Fuente de nutrientes	54,6	6,9	0,819
Lodo EDAR-Orihuela	EDAR-O	Fuente de nutrientes	66,8	6,3	0,880
Lodo EDAR-Torrevieja	EDAR-T	Fuente de nutrientes	63,5	5,8	0,820
Lodo EDARI 1	EDARI1	Fuente de nutrientes	81,4	7,5	0,378

La variación entre el índice R1 al inicio del proceso de compostaje y al final de la fase bio-oxidativa nos indica cómo ha evolucionado el proceso. Estas variaciones se han mostrado porcentualmente respecto al valor final de R1, obteniéndose incrementos negativos (que implica una simplificación de la materia orgánica y por tanto un balance neto positivo hacia la mineralización de las muestras) o un incremento positivo que indica un aumento de las fracciones recalcitrantes y/o disminución de fracciones lábiles (figura 1a). Esta evolución está condicionada por la fracción inorgánica de las muestras (variable dependiendo de los materiales iniciales). Al representar este incremento de R1 en porcentaje frente al índice EXI2 (normalizado en cada proceso de compostaje por el número de días en fase bio-oxidativa) obtenemos que los datos se pueden ajustar a un modelo (figura 1b).



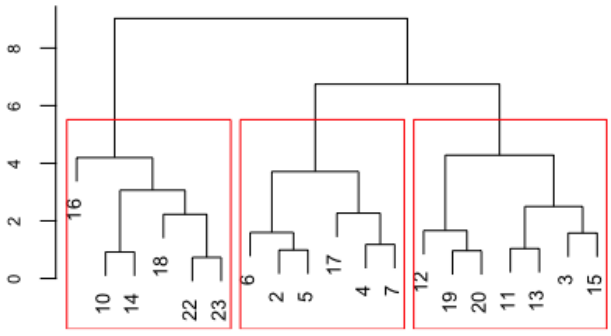
a. Resultados experimentales e incertidumbre b. Modelización obtenida

Figura 1. Correlación entre termolabilidad (índice R1, eje x) y exotermia (índice EXI, eje y)

Dado el carácter no lineal de estas relaciones, el hecho de utilizar una regresión lineal no nos valdría para modelizar estas relaciones, pues obtendríamos una línea recta muy alejada del comportamiento real. Para una correcta modelización vamos a recurrir a los modelos aditivos generalizados con cubic-splines (Wood, 2006). El modelo que se obtiene mediante estos modelos aditivos tiene la ventaja que se adapta a los datos cuando no existe linealidad, el inconveniente es que no se puede mostrar la ecuación a la que se está acostumbrado con los modelos lineales, es el propio modelo el que realiza la predicción al introducirle un dato nuevo. Una vez visto que nuestros indicadores están ciertamente relacionados, veamos ahora si se pueden agrupar los

compost realizados por valores similares de estos índices. Para ello utilizaremos un análisis cluster jerárquico utilizando la distancia de Ward modificada (Murtagh y Legendre, 2014) que nos clasifica los procesos de compostaje comercial en 3 grupos (figura 2):

Figura 2. Agrupamiento de los compost comerciales en un modelo cluster jerárquico



El cluster 1 incluye a los compost 10-14-16-18-22-23, que se agrupan en función de la presencia de *Arundo donax* como estructurante en su formulación; el cluster 2 agrupan a los compost 2-4-5-6-7-17 formulados con hoja de palmera HP y tipuana y EDAR-O, y el cluster 3 incluye a los compost 3-11-12-13-15-19 y 20 elaborados con poda mixta, tronco palmera y algodón (los materiales estructurantes con mayores índices R1). Podemos observar la dependencia en el comportamiento exotérmico y la termolabilidad de la pila del material estructurante no solo por su rol en la configuración en las propiedades físicas de la pila sino por su capacidad de favorecer una mayor actividad biótica que se trasluce a través de la mayor o menor refractancia-termolabilidad de estos materiales. Los residuos EDAR y EDARI no parecen condicionar estos agrupamientos, probablemente debido a su similitud en cuanto a termolabilidad.

4. Conclusiones

La consideración conjunta de los aspectos termodinámicos del proceso de compostaje a través de índices que incluyan una cuantificación de la emisión de calor de las pilas junto al conocimiento de la refractancia-termolabilidad de los materiales residuales y la evolución de dicha refractancia-termolabilidad durante el proceso permite obtener un modelo matemático que nos correlaciona ambos aspectos y que nos ha permitido agrupar 21 procesos comerciales de compostaje, obteniendo que la clave del proceso depende de la naturaleza del agente estructurante usado. Es necesario ampliar este tipo de estudios a un mayor número de procesos, materiales residuales y mezclas para poder obtener conclusiones más precisas.

5. Bibliografía

Murtagh F., Legendre P. 2014. Ward's hierarchical agglomerative clustering method: Which algorithms implement ward's criterion? Journal of Classification, 31(3), 274-295.

Torres-Climent P. Gomis J. Martín-Mata M.A. Bustamante, F.C. Marhuenda-Egea, M.D. Pérez-Murcia, A., Pérez-Espinosa, C. Paredes, R. Moral. 2015. Chemical, thermal and spectroscopic methods to assess biodegradation of winery-distillery wastes during composting. *PLoS ONE 10: e0138925. doi:10.1371/journal.pone.0138925.*

Wood S. 2006. Generalized additive models: an introduction with R. CRC press.

6. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado dentro del marco del proyecto "Desarrollo de nuevos recursos y bioproductos basados en residuos de especies palmáceas orientados al secuestro de carbono y estrategias de mitigación, Palmresource" (Proyecto AGL2013-41612-R), financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad de España y los Fondos europeos de Desarrollo Regional (FEDER, "Una manera de hacer Europa").

CALCULADORA DE PLANTAS DE COMPOSTAJE EN PILAS DINÁMICAS

Pablo José González Provost[1]; Juan Jáuregui Arana.[2]; Manuel Jesús Ortiz Rodríguez[3]; Itziar Aguirre Jiménez[3]

[1]Agencia de Gestión Agraria y Pesquera de Andalucía, Sevilla, España. Correo electrónico: pabloj.gonzalez@juntadeandalucia.es
[2] Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural de la Junta de Andalucía, Sevilla, España.
[2]Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica. Universidad de Sevilla. Sevilla. España.

Resumen

La Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural de la Junta de Andalucía, a través del II Plan Andaluz de Agricultura y Ecológica 2007-2013, dio apoyo financiero a almazaras andaluzas para la construcción y puesta en funcionamiento de plantas de compostaje, la mayor parte de las cuales ha utilizado el método de pilas dinámicas. A raíz de este impulso surgió la necesidad de crear una herramienta que permitiese realizar aproximaciones para futuros proyectos de este tipo, planteándose su elaboración en el III Plan Andaluz de la Producción Ecológica Horizonte 2020. La Calculadora de Plantas de Compostaje en Pilas Dinámicas se ha desarrollado como hoja de cálculo Excel, aprovechando tanto la potencia que ofrecen el conjunto de fórmulas de las que dispone como el entorno de programación Visual Basic asociado a esta. La herramienta permite el diseño de una mezcla adecuada de ingredientes para el compostaje, apoyándose, por un lado, en un método de cálculo adaptado a partir del establecido por la Universidad de Cornell (Richard, 1996) y, por otro, en valores predeterminados de carbono, nitrógeno, humedad y densidad de distintos ingredientes, procedentes de varios autores. Con el resultado obtenido, la aplicación permite dimensionar la superficie de una era de compostaje y un depósito para la recogida de lixiviados, utilizando, para este último, información sobre las máximas lluvias diarias del Ministerio de Fomento. Como proceso final de depuración y validación, la calculadora fue testada en la ETSIA de Sevilla.

Palabras clave: Andalucía, software, dimensionamiento.

1. Introducción

El abastecimiento de materia orgánica en agricultura ecológica, tanto en calidad como en cantidad, es uno de los principales limitantes de este sector productivo. Las explotaciones ganaderas ecológicas, de carácter extensivo o semiextensivo, suelen cerrar sus ciclos, por lo que no cuentan con disponibilidad de estiércoles para suministrar a las fincas agrícolas. La agroindustria, por su parte, genera residuos orgánicos derivados de su actividad. Estos, aunque difíciles de gestionar, son susceptibles de ser utilizados, tras una transformación, como fertilizantes para la producción ecológica.

El II Plan Andaluz de Agricultura Ecológica 2007-2013 (II PAAE), incluía la acción 3.1 destinada a facilitar el abastecimiento de materia orgánica para la fertilización de los sistemas ecológicos. A través de esta acción se publicó la Orden de 10 de julio de 2007 (BOJA nº 143 de 20/07/07) que estableció una línea de incentivos para la construcción de plantas de compostaje de residuos de la agricultura, teniendo como prioridad el compostaje de los residuos de la molturación de la aceituna. La Junta de Andalucía concedió en ese periodo ayudas a 23 proyectos por un importe total de 4.256.465,69 €. La mayor parte de ellos fueron plantas de compostaje de alpeorujos en pilas dinámicas.

El III Plan Andaluz de la Producción Ecológica Horizonte 2020, aprobado el 27 de julio de 2016, da continuidad a las actuaciones desarrolladas en el II PAAE. La acción A.3.7 establece el apoyo a la mejora del compostaje en la explotación y la agroindustria. Para el desarrollo de esta acción actualmente están en marcha dos líneas de trabajo:

1º El apoyo mediante subvenciones a la creación de plantas de compostaje agroindustriales, que se ha articulado a través de la Orden de 14 de junio de 2016 (BOJA nº 115 de 17/06/16).

2º El desarrollo de una calculadora para el diseño de plantas de compostaje en pilas dinámicas en hoja de cálculo Excel que facilite las primeras aproximaciones al dimensionamiento de este tipo de instalaciones.

El objetivo de la comunicación es la presentación de esta herramienta de cálculo.

2. Material y métodos

La calculadora se ha desarrollado utilizando como soporte la aplicación de hojas de cálculo Excel, aprovechando tanto la potencia que ofrecen el conjunto de fórmulas de las que dispone como el entorno de programación Visual Basic que tiene asociado, lo que mejora considerablemente las posibilidades de organización de los sucesivos cálculos.

El diseño algebraico para el cálculo de la humedad del producto y su relación C/N se basa en las propuestas de Traumann y Richard, (1996):

$$H = \frac{(Q1 \times M1) + (Q2 \times M2) + (Q3 \times M3)}{Q1 + Q2 + Q3}$$

donde: H es la humedad total del montón de compost (% en peso); Q_n es el peso del ingrediente (tm) y M_n es la humedad del ingrediente (% en peso).

$$R = \frac{Q1 \times C1 \times (100 - M1) + Q2 \times C2 \times (100 - M2) + Q3 \times C3 \times (100 - M3)}{Q1 \times N1 \times (100 - M1) + Q2 \times N2 \times (100 - M2) + Q3 \times N3 \times (100 - M3)}$$

donde: R es la relación C/N resultante del montón de compost; Q_n es el peso del ingrediente (tm); M_n es la humedad del ingrediente (% en peso); C_n, es el contenido de carbono (% en peso); N_n, es el contenido de nitrógeno (% en peso).

Para la realización de los cálculos, la aplicación utiliza principalmente valores predeterminados para distintos ingredientes, obtenidos de distintas fuentes (Tabla 1), aunque admite la introducción de valores alternativos.

Tabla 1. Valores predeterminados de algunos ingredientes en la calculadora

Ingredientes	Humedad %	Carbono %	Nitrógeno %	Densidad aparente tm/m^3	Fuente
Alpeorujo	*65,00*	*57,20*	*1,30*	*0,89*	*Martinez et al. 2004*
Hojín	*40,00*	*50,50*	*1,40*	*0,30*	*Martinez et al. 2004*
Paja	*12,00*	*56,00*	*0,70*	*0,10*	*Navarro, 1995*
Estiércol de ovino	*38,50*	*22,60*	*1,70*	*0,40*	*Cegarra, 2005*
Estiércol de vacuno	*45,00*	*28,10*	*2,30*	*0,70*	*Martinez et al. 2004*
Gallinaza	*20,10*	*40,00*	*3,20*	*0,40*	*Cegarra, 2005*
Restos hortícolas	*87,00*	*51,30*	*2,70*	*0,70*	*Rynk, 1992*

Con la herramienta muy avanzada en su fase de diseño, se testó con la participación de los estudiantes de cuarto (y último) curso de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Sevilla matriculados en la asignatura de Agricultura Ecológica. El trabajo formó parte de las actividades evaluables de la asignatura y consistió en la elaboración de 3 supuestos prácticos.

3. Resultados

La herramienta se divide en dos bloques. El primero está destinado a la realización de algunos cálculos básicos:

- Ajuste del peso de dos ingredientes a un porcentaje de humedad deseado.

- Ajuste del peso de dos ingredientes a una relación C/N deseada.
- Humedad de un ingrediente.
- Densidad aparente de un ingrediente.

El segundo bloque, que es el núcleo central de la calculadora, permite dimensionar una serie de procesos e instalaciones: una mezcla de materiales para compostar, una era de compostaje y un depósito de lixiviados asociado a la era.

La herramienta permite guardar hasta 10 proyectos distintos. Cada proyecto puede generarse desde el inicio o crear un duplicado a partir de uno previo, sobre el que realizar modificaciones. Esto ayuda a realizar comparaciones sobre la base de una misma idea de diseño.

Tras activar un proyecto concreto, se han de definir los parámetros iniciales que enmarcarán la realización de cálculos: porcentaje de humedad y relación C/N deseadas, densidad aparente máxima y la reducción del volumen de la mezcla. Se define también la tolerancia a la variación de estos parámetros, lo que permitirá realizar las recomendaciones para ajustar el peso de los distintos ingredientes.

Para el diseño de las mezclas más adecuadas a los parámetros definidos se pueden elegir hasta 9 ingredientes, 6 ya existentes en la herramienta y 3 que pueden ser introducidos por el usuario. Para cada uno de ellos se especifican los porcentajes de humedad, carbono, nitrógeno y la densidad aparente. Acabada la introducción de datos se reflejan las desviaciones de la mezcla respecto a la humedad, relación C/N y densidad aparente, realizando la aplicación una serie de observaciones y recomendaciones para aproximar los valores obtenidos a los diseñados como óptimos.

Estos cálculos permiten hacer un ajuste en las cantidades de ingredientes a incluir en la mezcla, que puede ser para todos ellos, de forma proporcional, a un peso global o al peso de un ingrediente concreto (Figura 1). Estas modificaciones no suponen ni la variación de la humedad ni de la relación C/N.

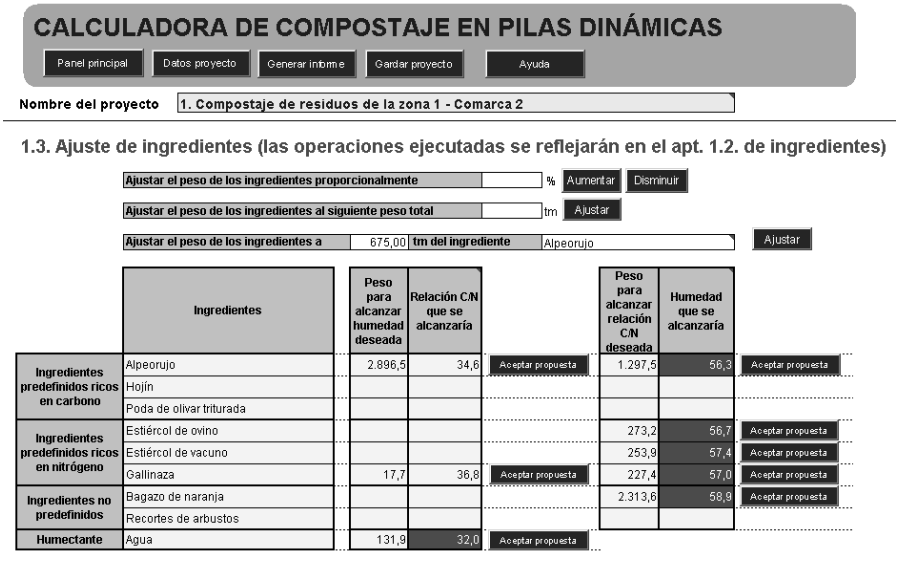


Figura 1. Ventana de ajuste de ingredientes

Existe otra modalidad de ajuste, más potente, consistente en la realización de recomendaciones de modificación del peso de ingredientes concretos. Con ella se permite mejorar el contenido de humedad y la relación C/N para alcanzar los objetivos globales preestablecidos.

En una nueva sección se procede al dimensionamiento de la era de compostaje, en el que se introduce el número de elaboraciones anuales y las dimensiones y separación de los montones. Esta información se modifica manualmente hasta conseguir una era con capacidad de compostar todo el volumen previamente calculado.

Como calculo final, se realiza el dimensionamiento del depósito que recogerá los lixiviados de la era de compostaje. Previo a ello, se han de calcular las máximas lluvias diarias en el municipio donde se prevé la construcción de la planta de compostaje. Aunque la aplicación realiza el cálculo, los datos necesarios para el mismo se obtienen del documento: Máximas lluvias diarias en la España Peninsular (Ministerio de Fomento, 1999), disponible en Internet en formato pdf.

La aplicación cuenta con varios menús de ayuda para facilitar la realización todo el proceso de dimensionamiento.

Una vez finalizados los cálculos se puede abrir un informe de resultados que se ofrece en un formato valido para la posterior impresión.

La participación de los estudiantes de la ETSIA ha servido para mejorar la herramienta y someterla al análisis crítico de técnicos a quienes va dirigida. Como actividad docente fue valorada con una puntuación de 9 (sobre 10) por quienes siguieron la actividad de forma voluntaria.

4. Conclusiones

La herramienta, desarrollada por la Agencia de Gestión Agraria y Pesquera de Andalucía, es de acceso libre y se encuentra disponible en la sección de producción ecológica de la página web de la Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural de la Junta de Andalucía (http://juntadeandalucia.es/organismos/agriculturapescaydesarrollorural.html).

Dicha herramienta está destinada a todos los agentes implicados en la gestión de residuos y subproductos orgánicos de las actividades agrícolas y agroindustriales (agricultores, ganaderos, agroindustrias, administraciones, ingenierías,etc.), tanto ecológicos como no ecológicos, que tengan intención de realizar compostaje en pilas dinámicas.

La utilización de la aplicación permite realizar una primera aproximación en la elaboración de proyectos de plantas de compostaje en pilas dinámicas. Aunque cuenta con parámetros preestablecidos para distintos ingredientes, es recomendable obtener mediante análisis los valores reales de los materiales que se prevea utilizar en cada proyecto.

5. Bibliografía

Cegarra, J., 2005. Informe final sobre fabricación de abonos orgánicos mediante compostaje de orujo de oliva de dos fases. Aceites Guadalentín S.L. Pozo

Martinez, G., Giraldez,J.V. y Ordóñez R., 2004. Evolución temporal del madurado de alpeorujo procedente de almazara.E.T.S.I.M.A. Universidad de Córdoba.

Navarro Pedreño, J., Moral Herrero, Gómez Lucas & Mataix Beneyto 1995. Residuos orgánicos y agricultura. Secretariado de Publicaciones, Universidad de Alicante. 108 pp

Rynk, R. et al., 1992. On-Farm Composting Handbook. Northeast Regional Agricultural Engineering Service. Ithaca.

Ministerio de Fomento, 1999. Máximas lluvias diarias en la España peninsular.

Trautmann N., Richard T., 1996. Moisture content. http://compost.css.cornell.edu/calc/moisture_content.html (fecha de consulta: 07/09/2016)

Trautmann N., Richard T., 1996. C/N ratio. http://compost.css.cornell.edu/calc/cn_ratio.html (fecha de consulta: 07/09/2016)

UTILIZACIÓN DE LA DENSIDAD APARENTE EN LA DETERMINACIÓN DE LOS BALANCES DE MASA DE PLANTAS DE COMPOSTAJE

Emma Cecilia Girón[1], Marta Martínez[1], F. Xavier Martínez[1], Alba Maench[2], Marga López[1]

[1]Universitat Politècnica de Catalunya, [2]Consorci del Bages per a la Gestió de Residus
Correo electrónico: marga.lopez@upc.edu

Resumen

La determinación de los balances de masa en las plantas de compostaje puede resultar una herramienta muy útil tanto para el seguimiento del proceso como para la evaluación general del funcionamiento de la planta. La determinación de la densidad aparente (húmeda y seca) es una metodología sencilla que puede ser realizada en planta de manera rutinaria y el seguimiento de su variación puede aportar información sobre el funcionamiento del proceso.

El estudio realizado contempla un balance de una planta de compostaje de FORM donde se sigue la evolución de la masa desde las materias primas incorporadas en la mezcla, la reducción durante cada una de las fases y la obtención de producto. Paralelamente, se cuantifican también los rechazos de medio proceso y de afino.

Para ello, se ha contado con los datos aportados por la propia instalación para un período de tiempo determinado y se ha utilizado la densidad aparente realizada en planta, de acuerdo con Huerta-Pujol y col. (2010), como herramienta para poder aproximar la evolución de la masa y cuantificar los rechazos generados. Los resultados experimentales se han comparados con los datos globales de seguimiento de la planta.

Los resultados indican que la determinación de la densidad aparente es una herramienta útil, sencilla y que puede ser llevada a cabo por los operarios de la instalación. Medidas auxiliares como identificación de puntos de medida para la altura de las pilas facilitan el cálculo del volumen. Todo ello permite estimar las reducciones de masa y volumen de manera más apropiada y por tanto prever la ocupación de espacio y mejorar la gestión.

Los resultados del balance de masas permiten ajustar los flujos de materia en especial en relación a la generación de rechazos y rendimiento en obtención de producto.

1. Introducción

Un proceso de compostaje bien llevado conduce a la estabilización del material, asociada a la reducción de masa y de volumen. En conjunto, se produce un aumento de la densidad aparente debido a la disminución del tamaño de partícula, y la consiguiente reducción de volumen por empaquetamiento, y a la mineralización de parte de la materia orgánica, que enriquece el material en proceso en materia mineral, cuya densidad aparente es superior a la de la materia orgánica.

Tener claro el sistema que se lleva en una instalación ayuda a conocer los flujos de materiales y a relacionar el rendimiento de proceso con la generación de rechazo (Gallardo y col., 2014), condicionando ambos aspectos la eficacia de la planta. No obstante hay que recordar que en el proceso de compostaje el concepto de rendimiento es inverso a lo que cabe esperar en una producción normal, ya que, debido a la reducción de masa y volumen, que implica estabilización del material, la masa obtenida ha de ser inferior a la masa entrada.

Por otro lado, en el caso de compostaje de Fracción Orgánica de Residuo Municipal (FORM), el contenido en impropios del material inicial menguará la eficiencia del rendimiento e incrementará el flujo de rechazo, con la consiguiente pérdida económica al tener que gestionarlo, además del espacio de la planta ocupado por este rechazo.

Por lo tanto, una planta que presente una buena eficacia debería tener un bajo rendimiento de compost (o de producto) debido a la degradación biológica y no a la retirada de materiales impropios y otros rechazos que ocasionan una pérdida física de masa.

El estudio de balances de plantas de compostaje puede ser complejo y a veces es necesario hacer ciertas simplificaciones para facilitar la aproximación (Fernández y col., 2016). Quizás es por ello que no existe un gran volumen de estudios al respecto y muchos se basan en aspectos de modelización. Otros también incluyen aspectos económicos (Zhang y Matsuto, 2011) y de nutrientes (Pognani y col., 2012).

En este trabajo se pretende utilizar la densidad aparente según el método descrito en Huerta y col. (2010) como herramienta para aproximar el balance de masa en una instalación de compostaje de fracción orgánica de residuo municipal.

2. Características de la planta de compostaje y del proceso

El estudio se centró en la planta de Compostaje de FORM de Manresa, que presenta una capacidad de 20.000 t/año, con un porcentaje de impropios del 12 %. El proceso se realiza mezclando la FORM con resto vegetal triturado (RVT) y recirculado vegetal (RCV) en una proporción 3FORM:1RVT:1RCV. La fase de descomposición se lleva a cabo en 4 trincheras de impulsión de 45 m de largo, 12 m ancho y 3m altura de llenado inicial durante 64 días, mientras que la maduración se realiza en 2 mesetas de 45 m de largo, 17 m ancho, 3 m de altura de llenado inicial, y dura 60 días. La tabla 1 muestra las características iniciales y finales de los elementos de la instalación, considerando las pérdidas de altura identificadas por los responsables de planta.

Tabla 1. Cálculo de los volúmenes de ocupación de la instalación

	Tipo unidad	Nº unidades	Área planta m^2	Altura m	Volumen unitario m^3	Volumen total m^3
ID	Trinchera	4	12x45	3	1620	6480
FD	Trinchera	4	12x45	2,5	1350	5400
IM	Meseta	2	17x45	3	2295	4590
FM	Meseta	2	17x45	2,7	2066	4131

ID: Inicio descomposición; FD: Final descomposición; IM: Inicio maduración; FM: Final Maduración

Al final de la descomposición el material pasa por un tromel de 80 mm (TRM 80), donde se genera un rechazo y el afino se realiza mediante un tromel de 10 mm (TRM 10), que retira principalmente el RVT no degradado y lo convierte en RCV que se reintroduce en el proceso, y una mesa densimétrica, que genera el rechazo conjunto de gravas y gruesos y separa en otra línea el compost y el polvo de aspiración.

3. Balance de masa y parámetros determinados

La determinación del balance de masas de una planta es un factor importante implicado en el rendimiento y funcionamiento de la instalación. Tener registros de la cantidad de material que entra a la instalación, dado que pasa control por báscula, puede resultar sencillo, así como el producto expedido y cualquier otro flujo que se registre por báscula. Sin embargo, la complicación aparece en el momento en que se quieren valorar las variaciones de masa entre fases, donde no hay paso por báscula. Estas variaciones de masa reflejan las pérdidas de materia, tanto de humedad como de materia seca, en forma de gases y vapor de agua. En cambio, la determinación de la densidad aparente del material y su relación con el volumen de pila sí que puede ayudar a aproximar la masa de la pila. De acuerdo con Huerta y col. (2010), se determinó la densidad aparente en planta en los diferentes puntos donde se aplicó el balance (mezcla inicial, final descomposición, inicio maduración, final maduración, compost y rechazo), utilizando recipientes de volumen conocido, tal y como se muestra en la Ecuación 1.

(Ecuación 1) $$DA(kg/L) = \frac{Pp - Pc}{Vc}$$

DA: densidad aparente (kg/L)
Pp: peso cubo lleno (kg)
Pc: Peso cubo vacío (kg)
Vc: volumen cubo (L)

La determinación se realizó por quintuplicado utilizando cubos troncocónicos de 14 L en diferentes puntos de cada uno de los materiales a muestrear para garantizar la homogeneidad de la determinación. A

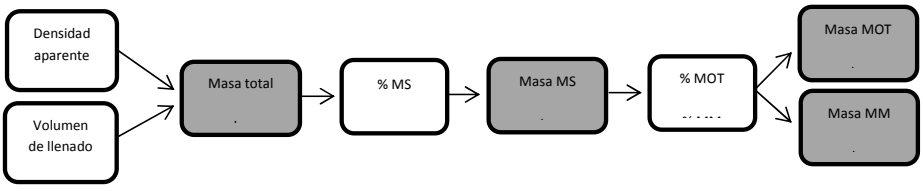
medida que se medía la densidad, los cubos se vaciaban hasta configurar el material de muestreo, que se cuarteó hasta obtener la muestra final que se analizó en el laboratorio para determinar humedad y materia orgánica total. A partir de la determinación de la humedad se puede calcular la densidad aparente seca (Ecuación 2).

(Ecuación 2) $$Densidad\ aparente\ seca = \frac{kg\ MH}{m^3} * \frac{\%\ MS}{100} = \frac{kg\ MS}{m^3}$$

MH: materia húmeda
MS: materia seca

El contenido en materia orgánica (y en materia mineral) se determinó por calcinación y sirvió para calcular la cantidad de materia orgánica en masa presente en cada una de las fases (figura 1).

Figura 1. Esquema de proceso para determinación de la masa a través de la densidad aparente



4. Resultados

4.1 Parámetros físicos y químicos

La densidad aparente se ve afectada por la distribución del tamaño de partículas, el contenido en materia orgánica y su grado de descomposición y la humedad de la muestra. Es de esperar que en un proceso bien llevado, la densidad aparente tenga tendencia a aumentar a medida que avanza el proceso. No obstante, es un parámetro que se ve fuertemente afectado por el contenido en humedad, donde a iguales características, un material más seco presentará un menor densidad aparente que uno más húmedo.

La tabla 2 presenta los valores medios para los parámetros de densidad aparente, humedad y materia orgánica de los principales materiales. La densidad aparente húmeda tiende a disminuir a lo largo del proceso, debido principalmente a la progresiva disminución de la humedad, siendo por tanto poco representativa del proceso. Al expresarla sobre muestra seca, se observa mantenimiento en descomposición, aumento en maduración y posterior disminución en el compost. La densidad seca entre el final de descomposición y el final de maduración incrementa como consecuencia de una mayor descomposición y una reducción del tamaño de partículas, así como, probablemente, a la eliminación de parte de rechazo en el cribado de 80 mm al final de la descomposición. La disminución entre final maduración y compost se debe a la retirada de materiales más densos en el afino: rechazo de mesa densimétrica (gruesos y gravas; DAseca de 485 kg/m^3) y RCV (DA seca de 375 kg/m^3).

Tabla 2. Caracterización de los diferentes materiales del proceso de compostaje (Misma letra en una misma fila indica que no hay diferencias significativas para α<0,05 (Prueba HSD de Tukey) para distintas repeticiones de los materiales de proceso).

MUESTRA	Mezcla	FD	IM	FM	RCV	COMP
Densidad húmeda kg/m^3	454 a	402 bc	423 ab	419 abc	455 a	383 c
Densidad seca kg/m^3	243 c	238 c	298 b	347 a	375 a	294 b
%H	46,90 a	40,20 b	28,36 c	19,23 e	19,51 e	23,31 d
%MOT sms	73,36 a	67,96 ab	66,97 ab	63,53 b	67,55 b	63,02 b

El contenido en humedad de algunas de las muestras, como sería la FORM, puede explicar el valor más elevado de densidad aparente que se observa en la mezcla inicial, aunque mantiene valores bajos a lo largo de todo el proceso que compromete el buen desarrollo del proceso. Dado que los procesos de compostaje industriales presentan una cierta tendencia a estar secos con objeto de ahorrar agua y a la vez facilitar las labores de cribado final, puede ser conveniente realizar la determinación de la densidad aparente pero con la muestra seca (Fernández y col., 2016). La materia orgánica total también tiene tendencia a disminuir a lo largo del proceso, de forma significativa entre la mezcla y el final de maduración que presenta un contenido similar al del compost. El valor observado para el compost se puede considerar elevado para un producto final de buena calidad.

4.2. Balance de masas

La evaluación del proceso básicamente se realiza entre la mezcla y el final de maduración, ya que hay que considerar que existen pérdidas físicas debido a la retirada de las fracciones de rechazo. Tal y como se ha explicado, a partir de los volúmenes iniciales y finales de las trincheras y mesetas, la determinación de la densidad aparente de cada uno de esos materiales permite estimar la masa contenida. Aplicando los contenidos en materia seca y materia orgánica, se puede determinar la masa de materia seca, orgánica y mineral que existe en los estadios importantes del proceso. La evolución del proceso viene reflejada no por la evolución de la masa total, que también es indicativa, sino especialmente por la materia seca y en concreto por la materia orgánica, la cual disminuye a medida que es transformada por los microorganismos con la consiguiente liberación de vapor de agua, dióxido de carbono y otros gases. Por su parte, la materia mineral permanece constante de acuerdo al principio de conservación de las cenizas (Haug, 1993), ya que no es degradada por los microorganismos. La tabla 3 presenta la evolución de estos tres parámetros durante el proceso; la diminución de masa de materia orgánica se observa principalmente durante la fase de descomposición, donde se pierden alrededor de 300 kg de materia seca, que están de acuerdo con los perdidos en materia orgánica total; por su parte, la materia mineral permanece prácticamente constante a lo largo del proceso.

Tabla 3. Balance de materia de la planta de compostaje de Manresa

	t totales	t MS	t MOT	t MM		% impr.	t impr.
Inicio descomposición	2942	1562	1141	416		8,9	261
Final descomposición	2171	1298	882	416		14,1	306
Inicio maduración	1942	1391	932	459		13,8	267
Final maduración	1731	1398	888	510		9.16	157

Durante la selección de medio proceso con tromel de 80 mm, un 9,1 % del material de final de descomposición se retira como rechazo, y supone 199 t, de las cuales, 145.5 t son impropios, mientras que 53.5 t corresponden a material orgánico. En el caso del afino, se observó que el compost constituía el 16 % (276 t), mientras que el resto eran rechazos, de los cuales el RCV que se recircula representaba el 63 % (1091 t) y el 21 % restante (364 t) verdaderos rechazos con destino vertedero. En total se retira como rechazo 199 t en medio proceso y 364 t en afino (563 t) de las 2942 t que entran a descomposición, prácticamente un 19 %.

5. Conclusiones

- La determinación de la densidad aparente se considera un parámetro de utilidad para poder aproximar la evolución de la masa a lo largo del proceso y la ocupación de espacio, pero requiere de un número elevado de muestras representativas del material para compensar su heterogeneidad así como disponer de unidades de trabajo (pilas, trincheras,…) que sean fáciles de controlar.
- Debido a las diferentes características que pueden tener los materiales de entrada entre plantas, las diferentes proporciones de material de mezcla y la forma en que se realiza la mezcla (especialmente respecto la tecnología utilizada), es conveniente que cada instalación realice su propio seguimiento y metodología.

- En el compostaje de residuo municipal, el contenido en impropios puede jugar un papel importante en la determinación de la densidad aparente; los sistemas de selección mecánica sólo permiten retirar una parte mientras el resto permanece entre la masa. En consecuencia, conlleva la necesidad de gestión de un rechazo voluminoso. Sería conveniente incidir en medidas de sensibilización así como otros tipos de actuaciones que permitan limitar la presencia de impropios en las plantas de compostaje de residuo municipal.
- En el caso de la instalación estudiada, se observa un bajo contenido en humedad en las muestras tomadas, incluso en durante la fase inicial, cuya consecuencia es la poca degradación de materia orgánica que se produce durante el proceso.

6. Bibliografía

Fernández, C., Mateu C., Moral, R., Sole-Mauri, F. 2016. A predictor model for the composting process on an industrial scale based on Markov processes. Environmental Modelling & Software, 79:156–166.

Gallardo, A., Edo N., Colomer, F.J., Sánchez, I. 2014. Estudio de la situación actual de las plantas de tratamiento mecánico-biológico en España. 12º Congreso Nacional del Medio Ambiente (CONAMA). 24 a 27 de noviembre. Madrid.

Haug, R. T. 1993. The practical handbook of compost engineering. Lewis Publishers, Boca Raton, USA.

Huerta-Pujol, O., Soliva, M., Martínez, F.X., Valero, J., López, M. 2010. Bulk density determination as a simple and complementary tool in composting process control. Bioresource Technology 101: 995–1001.

Pognani, M., Barrena, R., Font, X., Sánchez, A. 2012. A complete mass balance of a complex combined anaerobic/aerobic municipal source-separated waste treatment plant. Waste Management 32: 799–805.

Zhang, H., Matsuto, T. 2011. Comparison of mass balance, energy consumption and cost of composting facilities for different types of organic waste. Waste Management 31: 416–422.

ESTUDIO DE LA MINERALIZACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA EN EL PROCESO DE COMPOSTAJE DE SARMIENTOS DE VID MEDIANTE ESPECTROSCOPÍA IRTF-RTA Y UV/VIS

Petruta Mihaela Matei[1,2], Mercedes Sánchez Báscones[1], Juan Manuel Antolín[1], Carmen Teresa Bravo[1], Luis Fernando Sánchez Sastre[1], Iosody Silva Castro[1], Adriana Correa Guimaraes[1], Pablo Martín Ramos[1,3] y Jesús Martín Gil[1]

[1]E.T.S.I.I.A.A. Universidad de Valladolid, Av. Madrid, 44, Palencia, 34004, Spain
[2]Universidad de Ciencias Agronómicas, B-dul Marasti, 59, Bucarest, Romania
[3]Universidad de Zaragoza, C. Pedro Cerbuna, 12, 50009, Zaragoza, Aragón, Spain
msanchez@agro.uva.es

Resumen

La espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (IRTF) junto con la espectroscopía UV-VIS son técnicas que permiten la identificación de grupos funcionales y el seguimiento de la mineralización de la materia orgánica en procesos de compostaje [Chefetz et al., 1996]. En el presente trabajo se compara el proceso de compostaje de sarmientos de la vid con gallinaza en un biodigestor cerrado discontinuo frente a una pila abierta y llevado a cabo en diferentes estaciones del año (primavera, verano e invierno). Se estudia la reactividad y el proceso de mineralización entre la lignina y los polímeros de la celulosa con la materia orgánica. Mediante espectroscopia UV-VIS se analiza el carbono orgánico soluble y el grado de humificación (E4/E6), y por IRTF-RTA el grado de policondensación y aromaticidad de los ácidos húmicos y fúlvicos presentes en las muestras sólidas de compost. Se observan dos fases bien diferenciadas: (i) una primera fase de compostaje (aprox. 60 días) o de incremento del grado de humificación y (ii) una segunda fase o de mineralización hasta 250 días con un descenso del ratio (E4/E6) a medida que se incrementa el peso molecular y disminuye la proporción de ácidos carboxílicos. Al final de la maduración (250 días), el mayor grado de mineralización (valores bajos de la relación (E4/E6)) se presenta en primavera, tanto en pila abierta como en biodigestor, seguido de las estaciones de invierno y verano. Por último, utilizando el compost mineralizado de primavera como sustrato y en combinación con turba se obtienen los mejores resultados del índice de calidad (Qi) del crecimiento de lechuga (Lactuca sativa L. var. Teresa) para una proporción de compost/turba (3:1).

Palabras claves: pila abierta, biodigestor cerrado discontinuo, policondensación, aromaticidad.

1. Introducción

La transformación de la materia orgánica en el proceso de compostaje y su adecuada estabilidad y mineralización depende principalmente de un agent bulking, en nuestro caso sarmientos de la poda de la vid (Bustamante et al., 2012). La reutilización de este residuo como abono o como sustituyente de turba, cuando se asocia con varios estiércoles (por ej. gallinaza) permite la transformación de residuos orgánicos en compuestos húmicos, y productos altamente mineralizados y de elevado valor añadido. La espectrometría UV-VIS e IR permite el seguimiento y evolución de los principales grupos funcionales presentes (ácidos carboxílicos, fenólicos, aminas, hidrocarburos) y de los productos o especies condensadas o aromáticas a través del proceso de compostaje y/o mineralización (Chefetz et al., 1996).

El objetivo de este trabajo es presentar el seguimiento del proceso de compostaje y mineralización de mezcla de sarmientos de la vid con gallinaza (mediante UV-VIS y IRTF-RTA), tanto en pila abierta como en biodigestor cerrado discontínuo y en diferentes estaciones del año (primavera, verano e invierno).

2. Materiales y métodos

2.1 Elaboración del compost (mezcla sarmientos/gallinaza)

En el proceso de elaboración de compost mediante dos técnicas de compostaje: (i) pila abierta (aprox. 1200kg) y (ii) biodigestor cerrado discontinuo (aprox. 600kg), de mezcla de sarmientos de la poda de la vid y gallinaza en una proporción de 1:2 (w/w) y en capas alternas y un valor de humedad de aprox. 50% y volteo (después de 28 días en pila) y un dispositivo de control automático en el biodigestor (Matei et al., 2014). Las muestras de compost (1kg) se recogieron de diferentes puntos de la parte superior, media e inferior de los reactores (y se homogenizaron) después de 1, 20, 40 y 60 días (final del proceso de compostaje) y tras la fase de maduración después de 250 días. Las muestras se almacenaron inmediatamente a (-18ºC) hasta su análisis. Ambos experimentos se han llevado a cabo en el Centro de Capacitación Agraria "Viñalta" en Palencia (España), y en tres periodos estacionales diferentes: (i) primavera (03/05 al 19/07, 2013); (ii) verano (26/07 al 12/10, 2013) e (iii) invierno (12/11 al 02/02, 2013) (Droussia et al., 2009).

2.2 Caracterización de las muestras de compost, mediante UV-VIS y IRTF-RTA.

Para el seguimiento del proceso de mineralización mediante UV-VIS y IRTF-RTA determinamos las variaciones del contenido de carbono orgánico soluble en agua y el grado de policondensación y aromaticidad de los grupos funcionales presentes. Se preparan diferentes muestras de compost a 100°C durante 48 horas en estufa (Thermo Scientific Heraeus Series 6000) y molidas en un molino ultracentrífugo (Retsch ZM-100) a un tamaño de partícula <0.08 mm.

2.2.1 Espectrofotometría ultravioleta visible (UV-VIS)

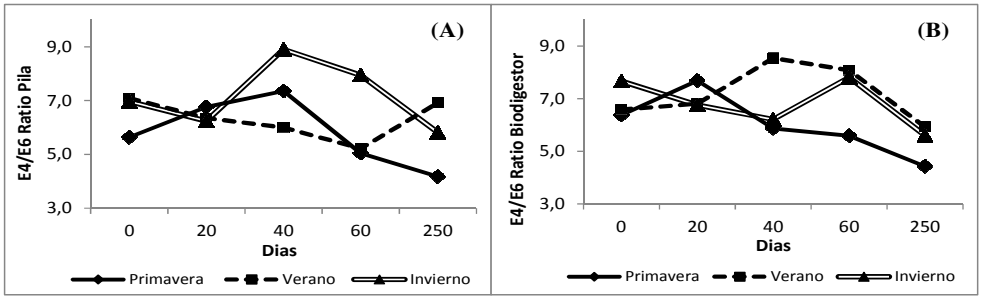
Para la determinación del carbono orgánico soluble en agua (Chen e Inbar, 1993; Hsu and Lo, 1999) se parte de 2 g de una muestra homogénea de compost en 20 ml de agua desionizada y se agita durante 30 minutos (Thermo Scientific HP130915QAM 2) y se centrifuga durante 15 min a 3500 rpm (Hettich, EBA200) y se filtra (papel Whatman, nº3) y se almacena 24 horas a 4ºC. La lectura del carbono orgánico soluble en agua se lleva a cabo en un espectrofotómetro Shimazdu UV-2450 a 465 nm y 665 nm y seguidamente de calcula la relación de absorbancias (E4/E6).

2.2.2 Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier-Reflectancia total atenuada (IRTF-RTA)

El análisis espectroscópico de muestras sólidas molidas se llevó a cabo por RTA en Thermo Scientific Nicolet™ iS™50 spectrometer, en un rango espectral de 400-4000 cm-1 y 32 barridos.

2.3 Ensayo de crecimiento de Lactuca sativa L. (var. Teresa) (índice de calidad Qi) en sustrato de compost mineralizado con turba.

Se elaboraron nueve medios de cultivo formados por compost maduro (250 días) y turba rubia (Pindstrup), en diferentes proporciones (25%, 50%, 75% y 100% v/v) siendo el control 100 % turba. Como cultivo se ha utilizado Lactuca sativa L. (var. Teresa). Cuando las plantas tuvieron un tamaño adecuado para su trasplantación se recogieron 20 plántulas al azar de cada bandeja, evitando aquellas próximas a los extremos. Antes de lavar y secar para determinar el peso seco (a 65ºC en una estufa de aire forzado durante 72 h), se determinó el peso fresco. Para el estudio de



las variables morfológicas se tomaron medidas de: altura, diámetro del cuello de la raíz y pesos secos, tanto aéreos, como radiculares y se determinó el índice de calidad (Qi) (Dickson et al.,

1960), a mayor valor de índice resultará una mejor calidad de planta y se calculó con la fórmula (1):

$$\mathrm{Qi} = \frac{\text{peso seco total (g)}}{\frac{\text{altura tallo(cm)}}{\text{diametro tallo (mm)}} + \frac{\text{peso seco tallo(g)}}{\text{peso seco raiz (g)}}} \quad (1)$$

3. Resultados y discusión

3.1 Caracterización por espectroscopia UV-VIS

A la vista de los resultados de la Figura 1, se observa los cambios de absorción a 465 y 665 nm, (E4/E6), de los extractos acuosos de las mezclas de sarmientos y gallinaza a lo largo del proceso de compostaje y en diferentes estaciones (primavera, verano e invierno).

A medida que avanza el proceso de compostaje, se distinguen dos etapas: (i) una primera fase de compostaje con incremento del grado de humificación (E4/E6) hasta 60 días, y (ii) una segunda fase de maduración (250 días) con un descenso del ratio (E4/E6) a medida que se incrementa el peso molecular y disminuye la proporción de ácidos carboxílicos (Chen et al., 1977).

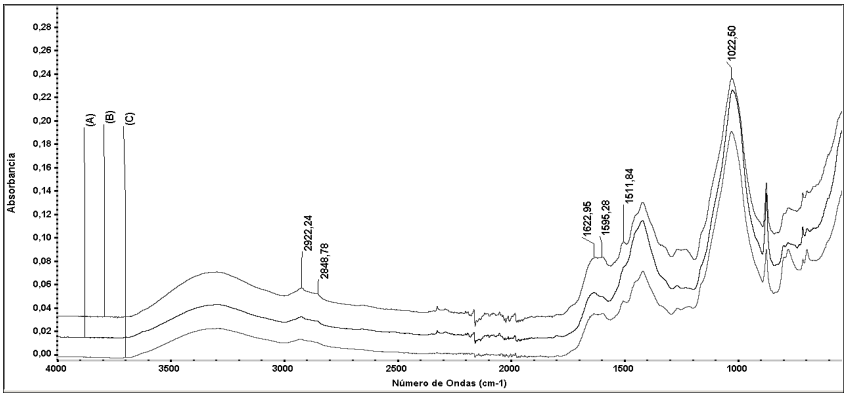
Figura 1. Variación estacional de la relación de absorbancias (E4/E6) correspondientes a 465 y 665 nm frente a días del proceso de compostaje, de mezclas de sarmientos de la vid con gallinaza, en (A) pila abierta y (B) en biodigestor cerrado discontínuo.

Se observa que al final de la maduración (250 días) los mayores valores (E4/E6) corresponden a la mezcla sarmientos/gallinaza en la pila abierta y estación de verano, seguidos de invierno y primavera, mientras que en un biodigestor, los ratios (E4/E6) son algo inferiores a los de la pila. Por consiguiente y al final del proceso de maduración se consigue una mayor mineralización en la estación de primavera y en los dos reactores. No obstante, la anterior afirmación precisa de un mayor número de experiencias y de más análisis químicos para su verificación.

3.2 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo IRTF-RTA.

A la vista de los resultados, se observa el incremento de la absorbancia con la longitud de onda para muestras sólidas de mezclas de sarmientos con gallinaza a lo largo del proceso de compostaje tanto en la pila como en el biodigestor y para las tres estaciones estudiadas (primavera, verano e invierno). En la Figura 2 se muestra las variaciones de absorbancia en el inicio del proceso de compostaje (A); al cabo de 60 días (B) y en la fase de maduración a 250 días (C).

Figura 2. Espectros IRTF-RTA de absorbancia (A.U.) del proceso de compostaje de sarmientos/gallinaza en pila abierta y en la estación de primavera a (A) 1 día, (B) 60 días y (C) 250 días.



Claramente se observa un incremento de la intensidad de las bandas de absorción (1595 y 1511 cm-1) a medida que se incrementa el tiempo de compostaje (60 días) debido al mayor enriquecimiento en grupos aromáticos (Figura 2 (B)) (Kononova, 1961). Finalmente, si se deja madurar la pila durante 250 días se observa una disminución en la intensidad de las bandas de absorción debido a los procesos de condensación y al incremento de las cadenas moleculares o peso molecular del polímero (Figura 2 (C)) (Amir et al., 2003, Izquierdo et al 2004 y Matei et al., 2016).

3.3 Valores del índice de calidad (Qi) Lactuca sativa L. en sustrato de compost mineralizado con turba

El valor promedio más alto (Qi 1,8) del índice de calidad de Dickson et al. (1960) tanto para la pila abierta como para el biodigestor cerrado, se presentó en plantas de Lactuca sativa L. que se desarrollaron en mezcla formada por 75% compost de primavera mineralizado + 25% turbas y el valor más bajo (Qi 0,8) en plantas desarrolladas en sustrato con solo turba (100%). El valor de este índice expresa la potencialidad de la planta tanto para sobrevivir y representa las fracciones aérea y radical equilibradas (Oliet, 2000), y de este modo se evita que la transpiración exceda la absorción (May, 1984).

4. Resumen de resultados

La espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y la espectroscopía UV-VIS son técnicas que permiten el seguimiento de la mineralización de la materia orgánica en procesos de compostaje de sarmientos de la vid con gallinaza en un biodigestor cerrado discontinuo frente a una pila abierta y en diferentes estaciones. Se concluye que existe una primera fase de compostaje (aprox. 60 días) o de incremento del grado de humificación y una segunda fase o de mineralización hasta 250 días con un descenso del ratio (E4/E6). El mayor grado de mineralización al cabo de 250 días se presenta en la estación de primavera en pila abierta y en biodigestor, seguido de las estaciones de invierno y verano en pila abierta. El valor del índice de calidad (Qi) de las plantas de Lactuca sativa L. (var.Teresa) incrementa el doble en un sustrato con la mezcla de compost de primavera mineralizado/turba de (3/1) en comparación con solo turba.

5. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Castilla y León con cargo al proyecto VA233A12-1 "Higinienización de restos de vid afectados por enfermedades fúngicas mediante procesos de compostaje"

6. Bibliografia

Amir S., Hafidi M., Bailly J., R. Revel, J.C. 2003. Characterization of humic acids extracted from sewage sludge during composting and of their Sephadex® gel fractions. Agronomie 23, p 269–275.

Bustamante M.A., Alburquerque J.A., Restrepo A.P., De la Fuente C., Paredes C., Moral R., Bernal M.P. 2012. Co-composting of the solid fraction of anaerobic digestates, to obtain added-value materials for use in agriculture. Biomass Bioenergy, 43, 26-35.

Chefetz B., Hatcher P. G., Hadar Y., Chen Y. 1996. Chemical and biological characterization of organic matter during composting of municipal solid waste. J. Environ. Qual. 25: 776-785.

Chen Y., Senesi N., Schnitzer M. 1977. Information provided on humic substances by E4/B6 ratios. Soil. Sci. Soc. Am. J. 41, p352.

Dickson A., Leaf A.L., Hosner I.E. 1960. Quality appraisal of white spruce and white pine seedlings stock in nurseries. Forest Chronicle 36: 10-13.

Droussia Z., D'oraziob V., Provenzanob M. R., Hafidic M., Ouatmanea A. 2009. Study of the biodegradation and transformation of olive-mill residues during composting using FTIR spectroscopy and differential scanning calorimetry. Journal of Hazardous Materials 164, pp 1281–1285.

Hsu J.H., Lo S.L. 1999. Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformations during composting of pig manure. Environmental Pollution 104, p. 189-196.

Izquierdo M., Antelo J., Fio S., Gondar D., Iglesias A., López R., Arce F. 2004. Caracterización de ácidos orgánicos de ácidos fúlvicos y húmicos extraídos de una turbera mineratrófica. Edafología 11 (3), pp. 329-339.

Kononova M. M. 1961. Soil Organic Metter. Pergamon Press London, 450 pp.

Matei P.M., Sánchez Báscones M., Martín-Villullas M.T., Diez-Gutiérrez M.A., García-González M.C. 2014. Eficiencia del compostaje de sarmientos de vid mediante pilas abiertas como método de higienización. IV Jornadas de la Red Española de Compostaje. De Residuo a Recurso: Estrategias de gestión tratamiento y valorización en el Horizonte 2020, 12-14 November 2014, Murcia, Spain. Red Española de Compostaje. pp. 156-160.

Matei P.M., Martín-Ramos P., Silva Castro I., Martín-Gil J., Hernández-Navarro S., Sánchez-Báscones M., Stoian M. 2016. Alternativas metodológicas para el seguimiento de la calidad de un compost mediante técnicas analíticas multirespuestas. 13 Congreso Nacional de Medio Ambiente (CONAMA): La respuesta es verde, 28 noviembre-1 diciembre 2016, Madrid, España, ISBN: 978-84-617-7390-9.

May J.T. 1984. Lifting and field packing. In: May, J.T., Belcher, E.W.Jr., Cordell, C.E., Filer, T.H., South, D. and Lantz, C.W. Southern Pine Nursery Handbook. USDA Forest Service. Sourthen Region.pp: 81-82.

Oliet J. 2000. La calidad de la postura forestall en vivero. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes de Cordoba. España.

VIABILIDAD DE UTILIZAR LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE RESIDUOS MUNICIPALES EN LA PRODUCCIÓN DE Bacillus thuringiensis MEDIANTE FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO

Cindy Ballardo, Raquel Barrena, Adriana Artola, Antoni Sánchez

Departamento de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental, Universitat Autònoma de Barcelona. Escola d'Enginyeria, 08193-Bellaterra (Barcelona)
Correo electrónico: adriana.artola@uab.cat

Resumen: El objetivo de este trabajo es evaluar la viabilidad de utilizar FORM como substrato de *Bacillus thuringiensis* (Bt), productor de una endotoxina utilizada comercialmente como biopesticida. Se ha evaluado el crecimiento de Bt en FORM por fermentación líquida y sólida, en condiciones de residuo estéril y no estéril, escalando el proceso de fermentación en estado sólido (FES) de un reactor de 0.5 L a reactor de 10 L y a compostador doméstico de 400 L. Los resultados obtenidos muestran la viabilidad de utilizar FORM como sustrato para el crecimiento de Bt en FES sin esterilización previa de este residuo. Sin embargo, se observan limitaciones relacionadas con la temperatura de proceso y la elevada carga microbiana de la FORM. Con el objetivo de mejorar el crecimiento de Bt, se han utilizado diferentes estrategias de proceso. Finalmente, la producción del biopesticida se ha realizado a través de compostaje doméstico, obteniendo un compost de calidad, higienizado, conteniendo Bt y sin efectos tóxicos para el suelo.

Palabras clave: Biopesticida, compost enriquecido, endotoxina, valorización FORM,

1. Introducción

El enfoque del residuo como recurso, considerándose materia prima para conseguir nuevos productos, gana importancia en el camino hacia la economía circular. La fracción orgánica de residuos municipales (FORM) es un residuo de alta generación, rico en nutrientes y valorizado básicamente para la producción de compost y biogás. En este sentido, la fermentación en estado sólido (FES) se presenta como una tecnología prometedora para la obtención de productos de interés industrial como enzimas hidrolíticas, biosurfactantes, biopesticidas, etc., utilizando residuos como materia prima (Sánchez y col., 2015).

Por otra parte, es conocido que algunas especies del género *Bacillus* son productoras de una gran variedad de metabolitos, entre ellos algunos insecticidas. En concreto, *Bacillus thuringiensis* (Bt) produce una proteína paraesporal en forma de cristal romboidal conocida como δ-endotoxina. Esta toxina es efectiva para diferentes dípteros, coleópteros y lepidópteros, insectos responsables de la destrucción de numerosas cosechas, mientras que es inocua para plantas, animales y humanos. La producción de Bt se realiza a partir de fermentación sumergida y su uso como biopesticida está aceptado legalmente. Su producción por procesos de FES, aunque estudiado de forma preliminar, no se aplica a nivel industrial. Además, la mayoría de trabajos que utilizan residuos orgánicos (unos pocos sólo con FORM), se han realizado a escala de laboratorio, utilizando pocos gramos de muestra, y en la mayoría de casos con los residuos pretratados, es decir, esterilizados o sometidos a algún tratamiento térmico que elimine su carga bacteriana nativa y reduzca la competencia a la hora de inocular un microorganismo específico.

El objetivo de este trabajo es evaluar la viabilidad de utilizar FORM como substrato de crecimiento de Bt. Pensando en una aplicación industrial, se utilizará el residuo en las mismas condiciones que se obtiene, sin esterilizar, y se realizarán las FES en volúmenes que van desde 100 gramos hasta 20 kg de FORM. Se estudiarán las mejores condiciones de operación a partir

de diferentes estrategias con el objetivo final de producir un compost de calidad con efecto biopesticida, que pueda ser aplicado al suelo de forma segura.

2. Material y Métodos

2.1 Materiales

La FORM utilizada, procedente de recogida selectiva, se obtuvo ya estructurada con restos de poda y palé (1:1 v/v) de la planta de Compostaje de Manresa (Barcelona). Se empleó la cepa de *Bacillus thuringiensis*, variedad *kurstaki*, CECT 4497 de la Colección Española de Cultivos tipo CECT. La preparación del inóculo se realizó a partir de una crioperla de Bt incubada a 30°C y a 130 rpm en 100 mL de medio comercial OXOID® durante 20h.

2.2. Reactores y parámetros de seguimiento

La fermentación sumergida se realizó en reactores de 1800 mL de capacidad con agitación continua, y temperatura (30ºC) y caudal de aire (2 Nl/h) constantes. Se utilizó una cantidad de FORM calculada en base a la materia seca del medio comercial, y se inoculó con un 10% (v:v) de Bt crecido en medio comercial. La FES se realizó en diferentes tipos de reactores. Se trabajó a temperatura (30ºC) y caudal constante (30 mL/min) en reactores de 500 mL En los reactores de 10 L, aislados térmicamente, se trabajó con un perfil dinámico de temperatura y un caudal variable utilizando una estrategia de optimización de la OUR (Puyuelo y col., 2010). Por último, se utilizó un compostador casero de 400 L (modelo Thermo star) que se alimentó en 4 ocasiones con cantidades equivalentes a las generadas por una familia de 4 miembros. En función de la fermentación, se realizó el seguimiento del perfil de temperatura, concentración de oxígeno, velocidad específica de consumo de oxígeno (sOUR), y el porcentaje de humedad, materia orgánica y pH según procedimientos estándar (U.S. Composting Council, 2001). El seguimiento de Bt se realizó mediante el contaje de células viables y esporas (Zhuang y col., 2011) y la identificación de Bt y el cristal paraesporal mediante tinción de Gram (células) y verde Malaquita (espora) e imágenes SEM.

2.3 Calidad del compost final

La estabilidad y madurez del compost se determinaron mediante un ensayo de respirometría dinámica y un test de germinación (Barrena y col., 2009). El ensayo ecotoxicológico, utilizando el colémbolo *F. candida,* y el análisis de patógenos se realizaron mediante analítica externa. El resto de parámetros se determinó mediante procedimientos estándar (U.S. Composting Council, 2001).

3. Resultados y Discusión

Como pruebas previas a las de FES, se realizaron una serie de experimentos en fermentación sumergida utilizando FORM como fuente de nutrientes, esterilizando previamente el medio y sin esterilizar, trabajando siempre en condiciones de temperatura constante (30ºC). El objetivo de los test en condiciones estériles era establecer la idoneidad de la FORM como medio de cultivo para Bt, comparando con un medio comercial. Como se puede observar en la Figura 1, el crecimiento en FORM estéril en estas condiciones fue posible (la población inicial se multiplica por 16 a las 24 h y por 20 a las 48 h), aunque a menor velocidad que la registrada en medio comercial. En la Figura 1 se presentan también los resultados obtenidos en condiciones de no esterilidad. En este caso, el crecimiento registrado fue menor, la población de Bt se multiplicó por 6.5 después de 48

h. La comparación entre la población máxima obtenida en las distintas pruebas se hace difícil pues conseguir las mismas condiciones de inóculo inicial resultó complicado. Otros autores, siempre trabajando en condiciones de esterilidad, comprobaron el crecimiento de Bt en fermentación sumergida utilizando distintos residuos como medio de cultivo: es el caso de Yezza y col. (2006) quienes trabajando con lodo secundario registraron valores de población de Bt a las 48 h de $7 \cdot 10^8$ UFC/mL (con concentraciones de sólidos en suspensión de 25 g/l y partiendo de $1 \cdot 10^6$ UFC/mL) o el de Zou y col. (2016) quienes trabajando con residuos de cocina consiguieron alcanzar una población de Bt del orden de 10^7 UFC/mL partiendo de un valor inicial de 10^4 (a concentración de sólidos totales de 10 g/L).

El crecimiento en FES de Bt se investigó primero en reactores de 500 mL de capacidad, trabajando a 30ºC y aireación constante y en condiciones estériles, constatando la viabilidad del proceso ya referida por otros autores como Zhang y col. (2013), trabajando con residuos de cocina, o Zhuang y col. (2011), utilizando lodos de depuración de aguas urbanas como sustrato.

El paso a condiciones de no esterilidad y mayores volúmenes de proceso (reactores de 10L) requirió el estudio de diferentes estrategias de operación para conseguir el crecimiento de Bt. Los obstáculos a superar fueron el incremento de temperatura que se registraba en los reactores casi adiabáticos utilizados (que se alejaba de los valores óptimos de este parámetro descritos para Bt) y la presencia de la población microbiana propia de la FORM (con la que Bt establecería competencia por el sustrato).

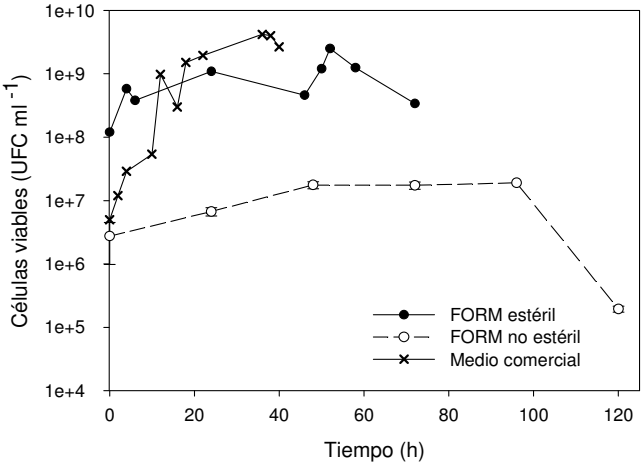


Figura 1. Crecimiento de Bt en FORM líquida (condiciones estériles y no estériles) y en medio comercial (OXOID). Concentración de sólidos totales en el medio, 25 g/L.

Las estrategias de operación seguidas en reactores de 10 L fueron:

- Estrategia 1: Inoculación de Bt en FORM desde el inicio del proceso. Se observó un claro descenso de la población de Bt respecto a la inicial, tanto en células viables, como en esporas, coincidiendo con la etapa termófila del proceso. Las condiciones termófilas se mantuvieron durante 6 días, alcanzando temperaturas por encima de los 60ºC. Posteriormente, ya a temperaturas por debajo de 40ºC se registró un ligero crecimiento de la población de Bt (células viables y esporas) lejos de los valores iniciales.
- Estrategia 2: Inoculación de Bt en FORM después de la etapa termófila del proceso. Se pretendía higienizar la FORM durante la etapa termófila y conseguir condiciones favorables de temperatura y competencia microbiana para el crecimiento de Bt. La inoculación se

realizó a temperatura de 33ºC, después de 15 días de proceso. La población de Bt se dobló a los 13 días respecto a la inicial.

- Estrategia 3: Se estudió la posibilidad de realizar el proceso de FES con crecimiento de Bt en semicontinuo mediante inoculación de Bt en FORM después de la etapa termófila, crecimiento y propagación del reactor con una relación 1:1 entre FORM con Bt y FORM higienizada procedente de otro reactor sin inocular: la mezcla resultaba en dos reactores idénticos conteniendo FORM con Bt. La estrategia se demostró viable, obteniendo los mejores resultados de crecimiento de Bt realizando homogeneizaciones periódicas del contenido del reactor. En la Figura 2 se muestra el perfil de temperatura, tasa de consumo de O_2 y evolución de la población de Bt para una de las réplicas.

Por último, se estudió la posibilidad de incorporación de Bt a un compostador doméstico al que se alimentaron residuos de FORM verde (restos de fruta y verdura procedentes de mercados y tiendas) estructurados con restos de poda. El objetivo final era la obtención de un compost con efecto biopesticida que se pudiera aplicar al jardín o huerto propio o comunitario. Se puso en marcha también otro compostador idéntico, sin inocular Bt, que actuó como control del proceso.

El compost obtenido en ambos casos cumplía con los estándares de calidad establecidos en el R.D. 506/2013 sobre productos fertilizantes, presentando humedad entre el 33-38%, contenido de materia orgánica del 60% y relación C/N de 13 (3% en peso de nitrógeno en base seca). El material era estable (IRD máx, 0.9-0.5 g O_2 kg^{-1}MO h^{-1}), libre de patógenos (ausencia de *E. coli, S. aureus*, *Salmonella sp.* y *Listeria sp.*), con un Índice de germinación superior a 200% (255-214%) indicando efectos no fitotóxicos y beneficiosos para su aplicación al suelo. El ensayo ecotoxicológico con el colémbolo *F. candida* indicó que su aplicación al suelo no tendría efectos perjudiciales en las dosis y condiciones de ensayo.

El material final procedente del compostador inoculado con Bt, presentaba una población de células viables de este microorganismo del orden de 10^6 UFC/g MS. Se observó la presencia del cristal paraesporal tóxico mediante microscopia electrónica de barrido, aunque no se pudo cuantificar ni realizar ensayos para comprobar su efecto biopesticida.

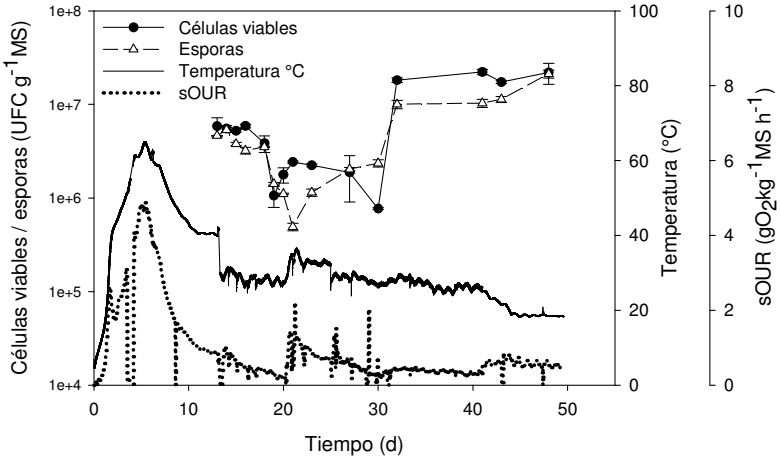


Figura 2. Evolución de temperatura, sOUR y población de Bt durante el proceso de FES según Estrategia 3: Higienización de la FORM, incorporación de Bt, mezcla y separación en dos reactores (se representa la evolución de uno de ellos)

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos a diferentes escalas, principalmente en reactores de 10 L, confirman la posibilidad de valorizar la FORM por medio FES a través de un producto que puede ser aplicado como enmienda orgánica para el suelo conteniendo *Bacillus thuringiensis* (bacteria con poder biopesticida).

5. Bibliografía

Barrena R., Casals E., Colón J., Font X., Sánchez A., Puntes V., 2009. Evaluation of the ecotoxicity of model nanoparticles. Chemosphere, 75, 850-857.

Puyuelo B., Gea T., Sánchez A., 2010. A new control strategy for the composting process based on the oxygen uptake rate. *Chem. Eng. J.*, 165, 161-169.

Sánchez A., Artola A., Gea T., Barrena R. y Font X., 2015. A new paradigm for waste management of organic materials. *Waste Manag.*, 42, 1-2.

Yezza A., Tyagi R.D., Valéro J.R., Surampalli R.Y., 2006. Bioconversion of industrial wastewater and wastewater sludge into *Bacillus thuringiensis* based biopesticides in pilot fermentor. *Biores Technol*, 97, 1850–1857.

Zhang W., Qiu L., Gong A., Cao Y., Wang B., 2013. Solid-state Fermentation of Kitchen Waste for Production of *Bacillus thuringiensis*-based Bio-pesticide. *BioResources*, 8, 1124-1135.

Zhuang L., Zhou S., Wang Y., Liu Z., 2011. Cost-effective production of *Bacillus thuringiensis* biopesticides by solid-state fermentation using wastewater sludge: Effects of heavy metals. *Biores Technol*, 102, 4820-4826.

Zou H., Ding S., Zhang W., Yao J., Jiang L., Liang J., 2016. Study on influence factors in Bacillus thuringiensis production by semi-solid state fermentation using food waste. Procedia Environmental Sciences, 31, 127-135.

6. Agradecimientos

Los autores agradecen al Ministerio de Economía y Competitividad la financiación de esta investigación mediante los proyectos CTM 2012-33663 y CTM2015-69513-R. C. Ballardo agradece al Ministerio de Educación de Perú la concesión de una beca en el Programa Nacional de Becas y crédito Educativo (PRONABEC) para la realización del doctorado.

DESARROLLO DE UN FOTOBIORREACTOR PARA EL CULTIVO DE MICROALGAS Y SU APLICACIÓN COMO BIOFERTILIZANTE

Jorge Miñón[1], Gonzalo Ruiz[1], Blas Franco[1], Luis Manuel Navas[1], Gonzalo Salazar[2], Carlos Rad[2]

[1]Departamento de Ingeniería Agrícola y Forestal. Universidad de Valladolid. Avda. Madrid, 44. 34004 Palencia. E-mail: jorge.minon.martinez@gmail.com
[2]Grupo de Investigación en Compostaje (UBUCOMP), Universidad de Burgos, Facultad de Ciencias, Pl. Misael Bañuelos s/n, 09001 Burgos.

Resumen: El proyecto LIFE+ Integral Carbon tiene como objetivo la mitigación de las emisiones de Gases de Efecto Invernadero (GEI) de los procesos agroindustriales. Su desarrollo ha supuesto la construcción de un fotobiorreactor en que se cultivan microalgas edáficas, logrando el aprovechamiento de nutrientes residuales y la fijación del CO_2 emitido por la agroindustria, en biomasa algal, que será posteriormente aplicada como biomejorador del suelo. El fotobiorreactor tiene 30 m^3 de capacidad, se alimenta con digestato clarificado por electrofloculación y se introduce en una relación 1:10 (v/v) y con los gases de combustión del biogás. La energía necesaria proviene de cuatro placas fotovoltaicas con una potencia de 580 W que alimentan además el sistema de medida de gases en continuo y el registro de los parámetros operacionales: pH, CE, temperatura interior y exterior y radiación PAR. El sistema ha estado funcionando durante cinco meses en una bodega de la D.O. Vinos de Uclés (Cuenca), con una producción de 120 m^3 de biomejorador que han sido aplicados en los viñedos con dosis de 0, 5 y 10 m^3/ha, comparándose su eficacia con la de un fertilizante líquido comercial. La substitución de la fertilización mineral en el viñedo y la fijación de GEI en biomasa algal son herramientas que pueden mejorar la huella de C del sector vitivinícola.

Palabras clave: gases de efecto invernadero, digestato, viñedo, biomejorador, Proyecto LIFE+ Integral Carbon

1. Introducción.

En su desarrollo global, la utilización de la tecnología de microalgas en bioprocesos industriales ha tenido muy diferentes propósitos. Uno de los primeros bioprocesos de aplicación ha sido la obtención de biodiesel debido a su alto contenido lipídico, la no utilización de terrenos agrícolas y la eficaz fijación del CO_2 atmosférico (Zhao y col. 2013). Sin embargo, un análisis de su ciclo de vida (ACV) frente a otros potenciales cultivos bioenergéticos muestra que los cultivos de microalgas tienen mayor impacto que cultivos tradicionales como el maíz, la colza o las gramíneas en términos de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), consumo de agua y uso de energía, siendo sus necesidades de nutrientes y CO_2 los principales factores limitantes para su aprovechamiento energético (Clarens y col., 2010). Sin embargo, la elevada composición en ácidos grasos insaturados, pigmentos y otros biocompuestos que presentan las algas, están permitiendo su aplicación como suplemento nutricional en preparados destinados a la alimentación humana o animal (Brennan y Owende, 2010).

Una alternativa al uso de fertilizantes químicos en la producción de microalgas es el uso de efluentes residuales, ya sea de origen urbano o industrial. El agua residual satisface de forma simultánea las necesidades de agua y nutrientes del cultivo de microalgas (Min y col., 2011). El empleo de estanques aireados permite que parte del oxígeno generado por la actividad fotosintética de las algas sea utilizado por la flora bacteriana heterótrofa, y que el CO_2 producido en el proceso de depuración del agua residual sea fijado en biomasa algal (García y col., 2006).

El proyecto LIFE+ Integral Carbon plantea utilizar la tecnología de microalgas en conjunción con la digestión anaerobia para el tratamiento de los residuos orgánicos generados por actividades agroindustriales del sector vitivinícola y lácteo. En su primera fase de desarrollo, un prototipo industrial con dos módulos: uno de digestión anaerobia en dos etapas y un fotobiorreactor, se instalaron en Bodegas Fontana, perteneciente a la D.O. Vinos de Uclés (Cuenca). El digestato producido en el primero de los módulos ha alimentado el proceso de producción de biomasa algal, que también ha aprovechado el CO_2 generado en el proceso de combustión del biogás. La biomasa algal se aplicó posteriormente en parcelas de viñedo como fertilizante orgánico con capacidad de suplir a la fertilización tradicional que en ellos se realiza.

2. Material y Métodos.

2.1 Diseño del fotobiorreactor.

Para realizar el diseño del fotobiorreactor se partió de dos prerrequisitos importantes: el sistema debiera ser móvil, lo que permitiría su desplazamiento e instalación en diferentes tipologías de agroindustrias y en distintas localizaciones, y que debiera ser autónomo desde el punto de vista energético. En la Fig. 1 aparece el diseño inicial del módulo realizado en Autodesk Inventor.

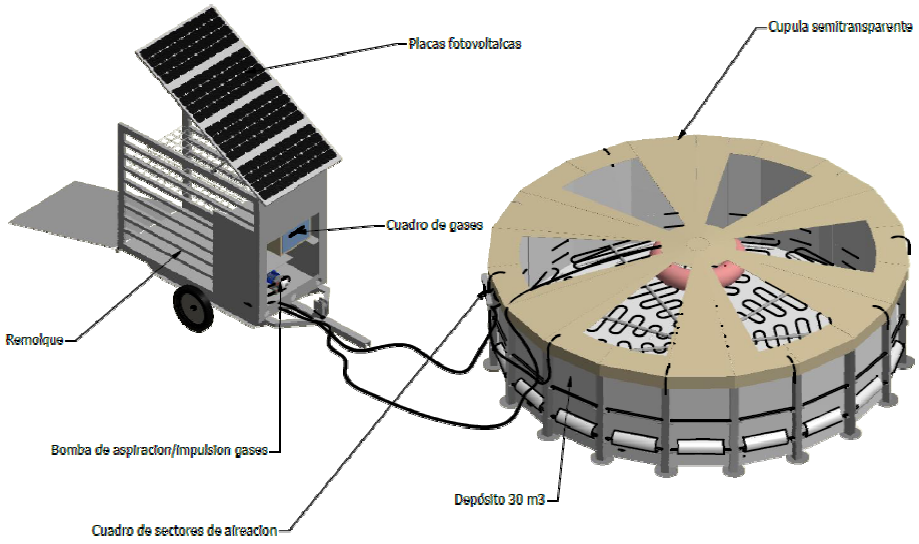


Figura 1. Infografía del módulo de producción de algas con su elemento de control.

Los elementos que componen dicho módulo son:

- *Balsa flexible* de 30 m^3 de capacidad, fabricada en elastómero por la empresa PRONAL. Lleva una estructura de soporte y una cubierta con ventanas de plástico transparente, que actúa también como elemento de retención de gases.
- *Remolque de transporte* con un peso inferior a 750 kg lo que permite su movilidad sin necesidad de matriculación ni permiso de circulación.
- *Placas fotovoltaicas*. Seis unidades de 145 W nominales cada una, con una potencia total de 870 W, instaladas en el techo del remolque y orientables.

- *Baterías de plomo ácido*. Cuatro unidades de 6 Vdc, conectadas en serie, que alimentan el sistema de control y monitorización. A través de un inversor se suministra corriente alterna al sistema de aireación, estando conectadas a un regulador de carga que suministra diferentes ciclos de carga y mantenimiento para optimizar la capacidad de las baterías.
- *Sistema de aireación*. Se consigue con 10 brazos dispuestos de forma radial en el fondo de la balsa; tienen trenzado 15 m de tubo poroso (Ø 7 mm) conectados en red mallada. La aireación la proporcionan 3 bombas de aspiración-impulsión de una potencia total de 74 W, que suministran un caudal medio de 11 L min^{-1} y 2,2 bar a un borboteador al que se conectan los diferentes tubos porosos lo que proporciona un caudal homogéneo en toda la base de la balsa. El sistema de aireación sólo está en funcionamiento en periodo diurno.

2.2 Conexión con el módulo de digestión anaerobia.

La conexión entre ambos módulos se realiza con el objetivo de aportar el digestato clarificado como fuente de nutrientes y de los gases de combustión para enriquecer la aireación en CO_2.

- *Sistema de alimentación*. El digestato es bombeado desde el depósito de almacenaje a la salida del módulo de digestión, hacia el dispositivo de electro-floculación donde se aplica una intensidad de carga de 190 $A \cdot m^{-2}$, con un tiempo de retención aproximado de 30 s, para posteriormente, separar a contracorriente las dos fases floculadas mediante un panel de celulosa hidrófoba, para obtener una fase líquida clarificada. Este digestato clarificado se inyecta en la base de la balsa mediante dos bombas centrifugas de 58 W, con una toma Venturi para introducir el gas contenido en la cúpula y homogeneizar el medio de cultivo. La carga media de digestato introducida fue de 50 $L \cdot día^{-1}$.
- *Inyección de gases de combustión*, que se realiza desde la caldera de biogás, lo que permite su introducción en el medio de cultivo a través de la línea de aireación, a razón de 5,4 $Nm^3 \cdot día^{-1}$ de media.

2.3 Elementos de control y monitorización.

El sistema se complementa con una unidad de control instalada en el elemento de transporte y que consta de los siguientes elementos:

- *Sistema de control energético*. Al alimentarse el sistema con placas fotovoltaicas y baterías, se han definido dos umbrales de habilitación de potencia:
  - *Umbral de consumo prioritario*, es el de menor valor de carga de las baterías, desactiva todos los componentes de consumo energético salvo los de monitorización de variables.
  - *Umbral de consumo de potencia*, es el que activa los elementos de mayor consumo del módulo: entrada progresiva de las 3 bombas de aireación y la bomba de inyección de digestato clarificado.
- *Monitorización de gases*. Se realiza mediante toma de muestra del contenido gaseoso de la cúpula cada 10 min y su introducción en un sistema de medida de gases SENSOCOMP, el cual tras la eliminación de partículas y humedad realiza la medida simultánea de CO_2, O_2, NH_3 y CH_4, que son almacenados en una unidad de control de datos PCE-KD9: MultiCon.
- *Monitorización del funcionamiento de la balsa*. La realizan los siguientes elementos con trasmisión de datos en continuo a la unidad de control:
  - *Dos sensores de radiación PAR*, situados en el exterior y en el interior de la balsa, controlan los elementos de aireación y alimentación para su funcionamiento diurno.
  - Temperatura y humedad relativa en el exterior.
  - Temperatura en la cúpula y en el medio de cultivo de la balsa.
  - Sensores de pH y Conductividad Eléctrica del medio de cultivo
  - Presión del sistema de aireación

En la **Figura 2** se muestra el prototipo industrial con sus dos módulos operando en las instalaciones de Bodegas Fontana de la D.O. Vinos de Uclés (Cuenca).

2.4 Toma de muestras y determinaciones analíticas.

Semanalmente se tomaron muestras en 5 puntos de la balsa para los diferentes ciclos productivos y se analizaron en laboratorio los siguientes parámetros según normativa APHA (1992): pH y conductividad eléctrica (CE), sólidos totales (ST), sólidos volátiles totales (STV), nitrógeno Kjeldahl, carbono orgánico disuelto (COT) mediante analizador de combustión, biomasa algal a partir de la medida de clorofila en extracto de metanol y nutrientes (nitrato, amonio y fosfato) mediante analizador de flujo segmentado SKALAR.

Los resultados de funcionamiento del fotobiorreactor (Fig. 3) muestran una respuesta efectiva en la producción de biomasa algal con respecto a la adición de un digestato agroalimentario que tenía un contenido de KTN 1,76±0,32 g/L, un valor de pH 7,51y una elevada conductividad eléctrica (16,74±2,94 dS/m). Tras una fase inicial de producción lenta, fruto de la adecuación del inóculo de algas (*Chlorella sorokiniana*), se alcanza el máximo crecimiento a los 42 días (22 días tras la fase inicial de adaptación); a partir de ahí sufre un proceso de inhibición por acumulación de digestato, que se manifiesta en una acumulación de sólidos totales, que dificultan la transmisión de luz en el seno del fotobiorreactor, y un incremento excesivo de sales. Los valores de producción de biomasa algal alcanzados son bajos (0,06±0,01 g/L), lo cual implica la necesidad de introducir un elemento de concentración de la biomasa algal previo a su aplicación a campo.

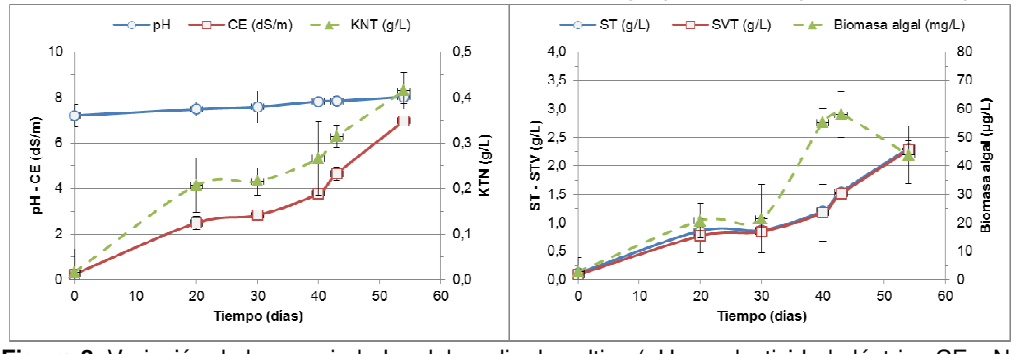


Figura 3. Variación de las propiedades del medio de cultivo (pH, conductividad eléctrica CE y N-total KTN), sólidos totales (ST), volátiles (STV) y biomasa algal.

4. Conclusiones.

- La utilización de fotobiorreactores con microalgas es una tecnología que permite el aprovechamiento de nutrientes residuales presentes en un digestato agroalimentario para la obtención de biomasa algal utilizable como elemento biofertilizante.
- Se ha demostrado que la autonomía energética del módulo es suficiente para producir microalgas. Por otro lado la autonomía del proceso de cultivo ha redundado en la reducción de costes, convirtiéndose en un sistema de cultivo de bajo costo.
- Se deberá desarrollar un proceso de concentración mediante floculación para mejorar el rendimiento del proceso.

5. Bibliografía.

Brennan L, Owende P., 2010. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sus. Ener. Rev*. 14, 557-557.

Clarens A.F., Resurreccion E.P., White M.A., Colosi, L.M., 2010. Environmental life cycle comparison of algae to other bioenergy feedstocks. *Environ. Sci. Technol*. 44, 1813-1819.

García J., Green B.F., Lundquist T., Mujeriego R., Hernández-Mariné M., Oswald W.J. 2006. Long term diurnal variations in contaminant removal in high rate ponds treating urban wastewater. *Bioresource Technol*. 97, 1709-1715.

Min M., Wang L., Li Y., Mohr M.J., Hu B., Zhou W., Chen P., Ruan R., 2011. Cultivating *Chlorella* sp. in a pilot-scale photobioreactor using centrate wastewater for microalgae biomass production and wastewater nutrient removal. *Appl. Biochem. Biotechnol*. 165,123-137.

Zhao G., Chen X., Wang L., Zhou S., Feng H., Chen W.N., Lau R., 2013. Ultrasound assisted extraction of carbohydrates from microalgae as feedstock for yeast fermentation. *Bioresource Technol*. 128, 337-344.

6. Agradecimientos.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto LIFE13 ENV/ES/001251 correspondiente a la convocatoria LIFE+ de la Comisión Europea. Jorge Miñón es becario del Programa de Becas UVa-Banco de Santander de iniciación a la investigación en departamentos e institutos LOU de la UVa.

PRETRATAMIENTOS EN PROCESOS DE CODIGESTIÓN DE BIOSÓLIDOS: OZONIZACIÓN DE MEZCLAS CON RESIDUOS DE LA ACEITUNA DE MESA

José Ángel Rubio[1], Rocío Rodríguez-Barroso[1], Enrique Toro[2], Fernando Estevez[2], José L. García-Morales[1]

[1]Dep. de Tecnologías del Medio Ambiente. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Instituto de Investigación Vitivinícola y Agroalimentaria (IVAGRO). Universidad de Cádiz. Campus de Puerto Real. 11510. Puerto Real (Cádiz) Spain.

[2] Empresa Metropolitana de Abastecimiento y Saneamiento de Aguas de Sevilla S.A. (EMASESA). C/ Escuelas Pías, 1. 41003 (Sevilla). Spain.

joseluis.garcia@uca.es

Resumen:

En el presente trabajo se evalúa la influencia de un pretratamiento de ozonización sobre el proceso de codigestión en rango mesofílico (35ºC) de subproductos orgánicos del procesado de aceituna de mesa (SOPAM) y fangos de EDAR urbana a escala de laboratorio. El efecto que la ozonización tiene sobre la mezcla a codigerir se evaluó a partir del incremento observado en el carbono orgánico disuelto y en el potencial de producción de metano obtenido. Se ozonizaron por separado los SOPAM, los fangos y una mezcla de ambos, una vez optimizada la mezcla de ambos sustratos. Las dosis de ozono aplicadas oscilaron en el intervalo de 0,006-0,150 gO_3/gST. El máximo incremento de COD en el SOPAM fue de un 12,3% y en la mezcla el resultado obtenido estuvo por encima de un 70%. Sin embargo, cuando se realizó un ensayo comparativo de la solubilización con una misma dosis de ozono en lodos mixtos (fangos de EDAR) y en la mezcla fangos y SOPAM, se observaron incrementos por encima del 200% en el COD registrado en la comparativa entre ambos sustratos a favor de los lodos mixtos. No obstante, este efecto no se vio ratificado con un incremento similar en la producción de metano ($LCH_4/kgSV_{iniciales}$) en la que se observó, en el caso de la ozonización de mezclas, una tendencia decreciente lineal con la dosis aplicada, salvo en la dosis más baja empleada, de 0,018 gO_3/gST, donde se registró un incremento aproximado de un 20-21%. En el caso de la ozonización con una dosis similar sólo de los fangos, con respecto a éstos sin ozonizar, el efecto observado fue un incremento en la producción de metano en torno a un 25-30%, según el parámetro considerado. Los resultados obtenidos muestran que una optimización del pretratamiento con ozono de los lodos mixtos y su posterior mezcla con el cosustrato (SOPAM) parece ser la más adecuada para una mejora global en su codigestión.

Palabras clave: Ozono, Biodegradabilidad, SOPAM, Aceituna de mesa, Digestión Anaerobia, Lodos EDAR

1. Introducción.

La industria agroalimentaria es uno de los principales sectores industriales de la economía mundial, siendo uno de sus principales problemas la generación de importantes volúmenes de residuos, principalmente de origen orgánico. Una de las posibles alternativas de gestión de éstos es su valorización energética mediante un proceso de digestión anaerobia, permitiendo con ello obtener una fuente de energía renovable en forma de biogás y un digerido apto para ser utilizado como abono.

España es el primer país productor mundial de aceitunas de mesa. Según el Consejo Oleícola Internacional (2016), la producción mundial media de las últimas cinco campañas (2010-15) alcanzó una cifra de 2.501.300 t, de las cuales 538.800 se produjeron en España, 399.400 en Egipto y 395.000 en Turquía, generándose en nuestro país un 21,5% del total mundial y un 64,9% del de la Unión Europea. Ésta se concentra en un 80% en la Comunidad Autónoma de Andalucía,

un 59% en la provincia de Sevilla (MAGRAMA, 2016 Los Subproductos Orgánicos del Procesado de Aceituna de Mesa (SOPAM) proceden, principalmente, del hueso de la aceituna, en la operación de deshuesado, acompañado de mayor o menor proporción de pulpa de la aceituna ya procesada; restos de distintos destríos de aceitunas fuera de especificaciones generados a lo largo del procesado de la misma y otra serie de subproductos de carácter orgánico derivados de su producción. Se calcula que alrededor del 12% de la aceituna procesada finalmente se transforma en este tipo de subproductos. Es ligeramente ácido, con un elevado contenido en materia orgánica y una relación C/N elevada, en torno a 48,4 (García-Morales, y col., 2010).

En el caso de los lodos de EDAR, según datos del PEMAR 2016-2022 (Plan Estratégico Marco de Residuos), su producción nacional en 2012 fue de un total de 1.082.669 t ms, cuyo tratamiento en planta suele ser en un 50% la digestión anaerobia, y siendo aplicados en un 80% con fines agrícolas. Éstos se caracterizan por una elevada proporción de nitrógeno orgánico, lo que le otorga unas bajas relaciones C/N.

Estas diferencias en las características de ambos sustratos las hacen idóneas para su mezcla y tratamiento conjunto mediante un proceso de co-digestión, aprovechando las sinergias en la composición de cada material, balanceado la relación de nutrientes (ratio C/N) y de esta forma alcanzar condiciones óptimas para el desarrollo de la microbiota anaerobia (Yadvika y col., 2004).

En el tratamiento de aguas residuales el ozono puede utilizarse para diversos fines. En efluentes tratados permite eliminar microorganismos patógenos o compuestos orgánicos recalcitrantes a los tratamientos previos. Éste también puede ser utilizado como pretratamiento para la eliminación de compuestos tóxicos o inhibidores en procesos de tratamiento biológico o para favorecer la biodegradabilidad de algunos residuos o efluentes (Gottschalk, y col., 2010). como es el caso de los biosólidos (Tyagi y Lo, 2011).

El principal objetivo del presente trabajo ha sido evaluar el efecto de los posibles escenarios de pretratamiento con ozono en un proceso de codigestión de lodos mixtos y SOPAM de cara a maximizar su productividad de metano.

2. Material y Métodos

2.1. Equipamiento y sustratos utilizados.

El trabajo experimental fue desarrollado en dos tipos de reactores de laboratorio. En reactores de vidrio de 2L de volumen útil con agitación individual, con un sistema de calefacción mediante resistencia eléctrica que con un termopar mantenía la temperatura en rango mesofílico (35ºC). Éstos ensayos se realizaron por duplicado. Para la recogida y almacenamiento del biogás producido se utilizaron bolsas Tedlar de 5 L. El segundo sistema estaba formado por pequeños viales de 250mL, por triplicado, con un volumen útil de 200 mL, calefactados en un baño termostático y donde el biogás se almacenaba en el espacio en cabeza.

Los SOPAM utilizados procedían del Grupo Ángel Camacho Alimentación en Morón de la Frontera (Sevilla), los lodos mixtos y el inóculo empleado de la EDAR Copero de EMASESA en Sevilla. El inóculo provenía de los reactores de digestión anaerobia mesofílica de la instalación y fueron mantenidos en los laboratorios de la Universidad de Cádiz para tal fin. Las principales características físico-químicas de los sustratos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características físico-químicas de los sustratos utilizados.

Parámetro	Unidad	SOPAM	Lodos mixtos
pH	-	5,1	5,8
ST	g/kg	284,92	28,28
SV	g/kg	273,90	21,17
DQO_s	gO_2/kg	11,13	3,15
COD	gC/L	3,25	1,15
C/N		48,4	6,9

El generador de ozono utilizado modelo GZO2L7.V1, de la empresa *ZonoSistem. Ingeniería del Ozono S.L.*, consta de dos lámparas para la generación del ozono, un concentrador de oxígeno y un sistema de detección del ozono generado que permite la producción de corrientes con una concentración de hasta 50gO_3/h. El contacto fue realizado en probetas de 2L con un difusor y con un caudal optimizado en la corriente del gas de 0,5 L/min.

2.2. Diseño experimental.

Las dosis de ozono aplicadas oscilaron en el intervalo de 0,006-0,150 gO_3/gST. El conjunto de ensayos partía de suspensiones en torno a un 3% de ST. Los ensayos de ozonización fueron realizados con SOPAM, lodos mixtos y una mezcla previamente optimizada de un 60:40 (p/p) de lodos mixtos/SOPAM. El efecto que la ozonización tiene sobre la mezcla a codigerir se evaluó a partir del incremento observado en el carbono orgánico disuelto expresado en porcentaje (ΔCOD (%)), en el conjunto de ensayos, y en el potencial de producción de metano obtenido (en el caso de la mezcla y los lodos mixtos) y un porcentaje de inoculación del 25% del volumen útil.

Los parámetros para el seguimiento de los distintos ensayos fueron: pH, alcalinidad, sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), demanda química de oxígeno soluble (DQO), carbono orgánico disuelto (COD), ácidos grasos volátiles (AGV), y producción y composición del biogás. Las determinaciones analíticas se realizaron de acuerdo con los métodos estandarizados (APHA, AWWA, WPCF, 1992).

3. Resultados y discusión

El principal objetivo del presente trabajo ha sido establecer una estrategia de pretratamiento con ozono de posibles mezclas a codigerir de cara a maximizar el rendimiento de la generación de metano. Para ello los principales resultados se han agrupado en dos subapartados.

3.1. Solubilización de la materia particulada

Para evaluar el grado de solubilización de la materia particulada inicialmente se procedió a ozonizar el residuo, a priori, más difícilmente biodegradable, el SOPAM. Para ello se utilizó como parámetro de referencia el posible incremento de COD (ΔCOD (%)) tras el pretratamiento.

El máximo ΔCOD del SOPAM para el conjunto de ensayos fue de un 12,3 % para una dosis de 0,026 gO_3/gST, con una corriente de ozono de 20 gO_3/m^3 y un tiempo de contacto de 90 minutos, no mejorándose el proceso aplicando dosis superiores. En el caso de la ozonización de su mezcla (60:40 (p/p) lodos:SOPAM) los resultados obtenidos se presentan en la Figura 1.

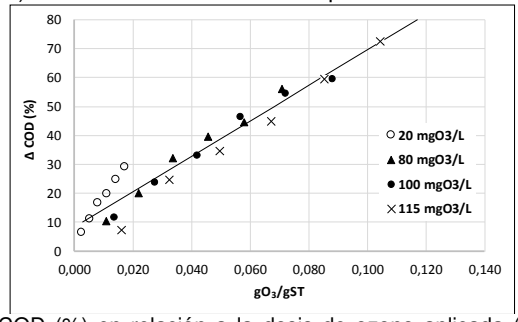


Figura 1. Evolución del ΔCOD (%) en relación a la dosis de ozono aplicada (gO_3/gST) en función de la concentración de ozono utilizada para el pretratamiento de la mezcla.

Los resultados obtenidos estuvieron dentro del rango de mejora marcado por otros autores (Chu y col., 2009), con resultados incluso por encima de un 70%. Un análisis global del conjunto

de ensayos marcó una cierta dependencia con la concentración de ozono del generador (mgO_3/L). Cabe destacar que cuando se realiza un ajuste lineal del conjunto de los resultados se obtiene una buena correlación entre el ΔCOD (%) y la dosis aplicada en función de los sólidos totales iniciales, R^2=0,94, y una ecuación de ajuste de expresión: ΔCOD (%)= 613,75·gO_3/gST+8,2542.

Sin embargo, cuando se realizó un ensayo comparativo de solubilización con una misma dosis de ozono (0,018 y 0,069 gO_3/gST) en lodos mixtos y la mezcla (60:40 (p/p)), se observaron incrementos por encima del 200% en el COD medido en la comparativa entre ambos sustratos a favor de los lodos mixtos. Este hecho pone de manifiesto la gran influencia que tiene la matriz a hidrolizar y las condiciones del proceso sobre el efecto que el ozono tiene sobre ella, aspecto ya destacado por Gottschalk y colaboradores (2010).

3.2. Producción de metano

Sin embargo, este incremento en la materia soluble en el medio con la dosis de ozono no se vio correspondido con un aumento similar en la producción de metano ($LCH_4/kgSV$). En la Figura 2 se presenta una comparativa la productividad de metano entre los ensayos de mezclas tratadas con las mayores dosis aplicadas (0,069-0,127 gO_3/gST) y sin pretratar. En ella se observa un decremento lineal entre la dosis aplicada (gO_3/gST) y la productividad, expresada como $LCH_4/kgSV_{iniciales}$, con un elevado índice de correlación, R^2=0,98, y una ecuación de ajuste según la expresión: gO_3/gST=-0,0029·$LCH_4/kgSV_{iniciales}$+0,3194. Un descenso similar fue descrito por Silvestre y colaboradores (2015) para el caso de la ozonización de lodos activos.

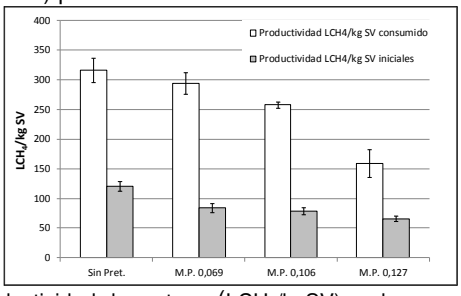


Figura 2. Evolución de la productividad de metano ($LCH_4/kgSV$) en las mezclas pretratadas con las dosis más elevadas de ozono (gO_3/gST).

En cambio, cuando se empleó una dosis de ozono baja (0,018 gO_3/gST), casi un 75% por debajo de la menor evaluada, se registró un incremento aproximado de un 20-21% en la productividad de metano con respecto a la mezcla sin pretratar. Finalmente, en el caso de la ozonización con la misma dosis sólo de los fangos con respecto a éstos sin ozonizar el efecto observado fue un incremento en la producción de metano en torno a un 25-30%, según el parámetro considerado, similar al descrito por otros autores (Silvestre y col,. 2015; Tiagi y Lo, 2011).

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos muestran la gran importancia que tiene la selección de unas adecuadas condiciones de ozonización de cara al desarrollo de la codigestión de residuos para incrementar su biodegradabilidad y productividad de metano. La estrategia de una optimización del pretratamiento con ozono de los lodos mixtos y su posterior mezcla con el cosustrato (SOPAM) parece ser la más adecuada para una mejora global en su codigestión.

5. Agradecimientos.

El presente trabajo fue financiado por la Empresa Metropolitana de Abastecimiento y Saneamiento de Aguas de Sevilla S.A. (EMASESA) con la financiación parcial de la Corporación Tecnológica de Andalucía.

6. Bibliografía

American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Ed. Díaz de Santos, Madrid.

COI, 2016. Web del Consejo Oleícola Internacional. URL: http://www.internationaloliveoil.org/?lang=es_ES (fecha de consulta septiembre 2016)

Chu, L., Yan, S., Xing, X.; Sun, X., Jurcikc, B. 2009. Progress and perspectives of sludge ozonation as a powerful pretreatment method for minimization of excess sludge production. Water Research 43: 1811-1822.

García-Morales, J.L.; Angeriz, R.; Gómez, J.; Suffo, M., 2010. Composting of organic solid by-products from table olive processing (OSBTOP) 14th Ramiran International Conference "Treatment and use of organic residues in agriculture: Challenges and opportunities towars sustainable management" Lisboa-Portugal, www.ramiran.net/ramiran2010/docs/Ramiran2010_0051_final.pdf

Gottschalk, C., Libra, J.A., Saupe, A. 2010. Ozonation of water and wastewater. A practical guide to understanding ozone and its applications. 2nd Edition. Willey-VCN. Weinheim.

MAGRAMA, 2016. Diagnóstico sobre el sector de la aceituna de mesa en España. Dirección General de Producciones y Mercados Agrarios Subdirección General de Frutas y Hortalizas, Aceite de Oliva y Vitivinicultura. URL: http://www.magrama.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/160427diagnosticoaceitunademesadefinitivo_tcm7-419526.pdf. (fecha de consulta septiembre 2016)

Silvestre G., Ruiz, B., Fiter, M., Ferrer, C., Berlanga, J.G., Alonso, S. Canut, A. 2015 Ozonation as a Pre-treatment for Anaerobic Digestion of Waste-Activated Sludge: Effect of the Ozone Doses, Ozone: Science & Engineering, 37:4, 316-322.

Tyagi, V., Lo, S., 2011. Application of physico-chemical pretreatment methods to enhance the sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: an up to date review. Rev Environ Sci Biotechnol. 10:215–242.

YADVIKA, S., SREEKRISHNAN, T.R., KOHLI, S., RANA, V., 2004. ENHANCEMENT OF BIOGAS PRODUCTION FROM SOLID SUBSTRATES USING DIFFERENT TECHNIQUES–A REVIEW. BIORESOURCE TECHNOLOGY 95, 1–10.

DEGRADACIÓN AEROBIA Y ANAEROBIA DE PLANTAS PROCEDENTES DE SUELOS CONTAMINADOS POR ELEMENTOS TRAZA

Maria Pilar Bernal[1], Ruixue Chang[2], Elena Arco-Lázaro[1], Rafael Clemente[1].

[1]Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, CSIC. Campus Universitario de Espinardo, 30100 Murcia, [2]College of Resources and Environmental Science, China Agricultural University, Beijing, China, pbernal@cebas.csic.es

Resumen: La recuperación de suelos contaminados por elementos traza mediante la combinación de plantas y enmiendas ha demostrado ser eficaz para favorecer la inmovilización de contaminantes y reducir su toxicidad. Sin embargo, para asegurar su sostenibilidad es necesario añadir valor a esta fitotecnología, proporcionando utilidad a la biomasa generada. El objeto de este estudio es definir la influencia de la presencia de elementos traza en las opciones de transformación biológica de la biomasa de planta mediante procesos aerobios de compostaje y anaerobios para la producción de biogás. Dos especies silvestres *Silybum marianum* y *Piptatherum miliaceum* se sembraron en un suelo contaminado por elementos traza procedente de Portmán (Sierra Minera de La Unión-Cartagena, Murcia). El suelo se trató conjuntamente con fracción sólida de purín de cerdo un material inorgánico para aumentar el pH: lodo de industria papelera o ViroBind™ (un producto comercial derivado del lodo rojo). Las plantas cosechadas se sometieron a estudios de degradación aerobia y anaerobia, mediante la determinación del CO_2 producido durante su incubación aeróbica a 25 ºC o del gas generado en ausencia de oxígeno y posterior cálculo del potencial de generación de biogás respectivamente.

Palabras clave: Compostaje; digestión anaerobia; cultivos energéticos; potencial de generación de biogás.

1. Introducción.

La fitorremediación de suelos contaminados se basa en el uso de plantas, enmiendas del suelo y prácticas agronómicas para eliminar, retener, o reducir la toxicidad de los contaminantes del suelo. En el caso de la fitoestabilización, el uso de enmiendas, junto con la revegetación del suelo, puede garantizar la inmovilización de los contaminantes, evitando la acumulación de los elementos traza en la parte aérea de las plantas. Sin embargo, para que el proceso sea económicamente viable, es preciso generar un valor añadido a la biomasa vegetal obtenida. La biomasa procedente de los procesos de fitoestabilización, debido a la baja transferencia de los elementos traza a la parte aérea, podría valorizarse en forma de bioenergía (Gomes, 2012). El uso de cultivos energéticos en la fitorrecuperación de suelos contaminados es un campo en desarrollo (Rowe y col., 2009), ya que esta biomasa puede contribuir al suministro de energía procedente de fuentes renovables. Además, el uso de suelos contaminados para la producción de cultivos energéticos se plantea como una alternativa viable, evitando la competencia con la producción de alimentos (Rowe y col., 2009). El potencial de especies autóctonas como cultivos bioenergéticos resulta de gran interés, pues evitaría las limitaciones de introducir ciertas especies en el ecosistema del suelo a recuperar. El objeto de este estudio fue definir la influencia de la presencia de elementos traza en las opciones de transformación biológica de la biomasa vegetal mediante procesos aerobios de compostaje y anaerobios para la producción de biogás.

2. Material y Métodos.

Se realizó un experimento en macetas bajo condiciones de invernadero utilizando un suelo procede del margen de la rambla de Portmán, en la Sierra Minera de La Unión-Cartagena, que conecta directamente con antiguas cortas y balsas de acumulación de estériles. El suelo, sin desarrollo edáfico, carecía de vegetación, con textura arenosa, pH ácido (4,16), escaso contenido de materia orgánica (0,47 %), carbono orgánico total (2,7 g kg^{-1}) y N total (1,0 g kg^{-1}), con altas concentraciones totales de elementos traza (mg kg^{-1}): Cu 230; Pb 19129, Zn 2257 y As 1976.

El suelo se trató con diferentes combinaciones de enmiendas orgánicas e inorgánicas para incrementar el pH y mejorar su fertilidad: FS+LP - fracción sólida de purín de cerdo junto a lodo de industria papelera; FS+VB - fracción sólida de purín de cerdo combinada con ViroBind^{TM}; y control sin ninguna enmienda. El ViroBind^{TM} es un producto comercial derivado del lodo rojo, un subproducto generado durante el proceso industrial de producción de aluminio. Las proporciones de las enmiendas empleadas fueron: 67 g kg^{-1} de FS (peso fresco), 4,1 g kg^{-1} de LP y 2,2 g kg^{-1} de VB, para aumentar la MO del suelo en el 1% y el pH hasta 5.5 que permita el crecimiento vegetal. En las macetas se cultivaron las especies *Silybum marianum* (L.) Gaertner y *Piptatherum miliaceum* (L.) Coss, utilizando 4 repeticiones por tratamiento. Tras 102 días de crecimiento, se cosecharon las plantas (parte aérea), se pesaron, lavaron con agua y agua destilada, se secaron a 60 ºC durante 48 h y se molieron para su análisis. Se utilizaron dos de las 4 repeticiones de cada tratamiento para los experimentos de degradación aerobia y anaerobia descritos a continuación. Ninguna de las dos especies fue capaz de crecer en el suelo control sin enmienda.

2.1 Degradación aeróbica y anaeróbica

La degradación en condiciones aeróbicas de las plantas obtenidas se realizó bajo condiciones controladas en un incubador a 26 ºC, determinando el CO_2 desprendido por las muestras durante 35 días. Para ello 1,0 g de muestra se introdujo en un recipiente hermético de 500 ml de capacidad, se añadió 1,0 ml de agua destilada y se introdujo un vial con una disolución de NaOH 0,5 M (10 ml), utilizando un blanco sin muestra (Santos et al., 2016). Tras 1, 3, 5, 7, 10, 14 días y semanalmente hasta 35 días, el CO_2 atrapado en la disolución se determinó mediante valoración con HCl en presencia de un exceso de $BaCl_2$. Se realizaron 3 repeticiones por muestra. La degradación anaerobia se determinó mediante la presión del gas generado en ausencia de oxígeno, utilizando el sistema ANKOM de 310 ml de capacidad y con un inóculo anaerobio procedente de un reactor anaerobio de una depuradora de aguas residuales. Para ello, se pre-incubaron 75 ml de inóculo durante 24 h, posteriormente se añadieron 0,2 g de plantas en 75 ml de agua destilada y se incubaron bajo condiciones anaerobias a 37 ºC durante 4 días en un incubador. El sistema Ankom registró automáticamente la presión existente en los botes. Los resultados se expresaron en volumen de biogás por peso de planta.

2.2 Métodos estadísticos.

Los resultados de producción de CO_2 y de biogás se ajustaron al modelo de primer orden cinético: $C_m=C_0(1-e^{-kt})$; donde C_m corresponde a la producción de CO_2 (mg g^{-1}) o de biogás (ml g^{-1}) a tiempo t, C_0 indica el COT potencialmente mineralizable en condiciones aeróbicas o el potencial de generación de biogás en condiciones anaeróbicas, *k* es la constante de degradación y t el tiempo. El ajuste no lineal se realizó por mínimos cuadrados (algoritmo Marquardt–Levenberg) mediante el programa SigmaPlot versión 11.0. La significación estadística del ajuste se evaluó mediante el cuadrado de la media de los residuales (RMS) y el valor F del ANOVA. El efecto de

los tratamientos en la degradación aerobia y anaerobia se determinó mediante ANOVA de un factor y la influencia de los elementos traza se determinó mediante correlaciones entre los parámetros de degradación y las concentraciones de los elementos traza en el material vegetal.

3. Resultados y Discusión.

La degradación aeróbica fue diferente para cada especie, así el carbono mineralizado en 35 días (C_m) fue significativamente superior para *P. miliaceum* que para *S. marianum* (Tabla 1), mientras que las diferencias entre tratamientos no resultaron estadísticamente significativas. Así, una media del 37±3,6 % del COT de *P. miliaceum* se degradó durante el experimento, mientras que para *S. marianum* la proporción fue menor (27,5±2,24 %). El proceso de degradación siguió el modelo de primer orden cinético en todas las muestras (Fig. 1A), pero en el caso de *S. marianum* sucedió un periodo de latencia de 4 días en el que la degradación fue despreciable. Los ajustes al modelo indicaron que tanto la planta como las enmiendas del suelo tuvieron un efecto significativo sobre el C potencialmente mineralizable (C_0), principalmente en el caso de la planta, con C_0 superior en *P. miliaceum* que en *S. marianum*, pero para ambas especies el tratamiento del suelo con la mezcla FS+LP llevaron a los mayores valores.

Estas diferencias pueden asociarse a la diferente composición orgánica de las plantas respecto a sus componentes escasamente mineralizables (lignina) o las fracciones más lábiles (C soluble en agua, C_H). Sin embargo, la concentración de C_H fue similar en las dos especies (10,8±1,03 y 14,6±1,63 mg g^{-1} en *P. miliaceum* y *S. marianum*, respectivamente); mientras que el contenido en lignina fue más alto en la primera (26,7±2,90) que en la segunda (9,3±3.31). Según esto cabría esperar que *S. marianum* se degradara en una proporción superior, pero en cambio esta especie mostró menor degradación aeróbica (Tabla 1, Fig. 1A), con un coeficiente de correlación positiva entre la concentración de lignina con C_m y C_0 (r=0,817 y 0,882; ambos P<0,01). Las concentraciones de elementos traza pudieron ser responsables de tal comportamiento (Tabla 2), ya que se encontraron correlaciones negativas entre C_m y C_0 con Cd, Zn y Mn (todas P<0,01); mientras que resultaron positivas con la concentración de As (P<0,01).

Tabla 1. Resultados de la degradación aerobia de las plantas según los tratamientos aplicados a los suelos. Valores medios y desviación estándar de 3 repeticiones (dígitos entre paréntesis indican el número de la repetición del tratamiento en maceta). Los datos de *S. marianum* se ajustaron al modelo con t-4 días.

Planta	Tratamiento	C_m mg kg^{-1}	C_m %	C_0 mg kg^{-1}	k día^{-1}	RMS	F
P. miliaceum	*FS+VB(1)*	137±4,12	33,4±0,89	146±10,3	0,092±0,0160	101,6	217***
	FS+VB(2)	142±0,37	34,7±0,30	150±7,43	0,103±0,0135	68,6	336***
	FS+LP(1)	159±4,49	38,8±0,82	176±11,7	0,075±0,0113	81,3	361***
	FS+LP(2)	171±1,73	41,3±0,59	201±9,14	0,061±0,0056	26,8	1186***
S. marianum	*FS+VB(1)*	88±0,53	24,7±0,10	91±4,78	0,101±0,0138	18,2	174***
	FS+VB(2)	100±0,71	26,7±0,06	97±4,71	0,149±0,0231	37,7	63***
	FS+LP(1)	107±6,65	29,7±2,60	121±7,20	0,071±0,0091	16,1	339***
	FS+LP(2)	105±0,47	28,8±0,27	104±6,09	0,116±0,0191	40,5	81***
ANOVA	Planta	***	***	***	n.s.	n.a.	n.a.
	Tratamiento	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.a.	n.a.
	PxT	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.a.	n.a.

***, *: significativo a P<0,001 y 0,05, respectivamente; n.s.: no significativo; n.a.: no aplicable.

Tabla 2. Concentración de elementos traza (mg kg^{-1}) en las plantas según los tratamientos aplicados a los suelos (dígitos entre paréntesis indican el número de la repetición del tratamiento en maceta).

Planta	Tratamiento	As	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn	Fe	Mn
P. miliaceum	*FS+VB(1)*	8,5	0,04	55	19	94	126	647	203
	FS+VB(2)	6,1	0,06	72	21	88	121	684	219
	FS+LP(1)	5,9	0,01	28	18	89	99	474	178
	FS+LP(2)	10,8	0,04	22	20	138	99	733	158
S. marianum[1]	*FS+VB(1)*	3,1	2,1	66	21	136	310	429	636
	FS+VB(2)	1,9	1,8	81	22	99	276	491	642
	FS+LP(1)	2,3	2,0	152	28	172	394	762	571
	FS+LP(2)	4,1	3,0	161	27	193	419	2300	582
ANOVA	Planta	n.s.	n.s.	*	*	n.s.	*	n.s.	**
	Tratamiento	n.s.	***	***	***	*	***	n.s.	***
	PxT	n.s.	n.s.	***	*	n.s.	**	n.s.	n.s.

***,**, *: significativo a *P*<0,001, 0,01 y 0,05, respectivamente; n.s.: no significativo.

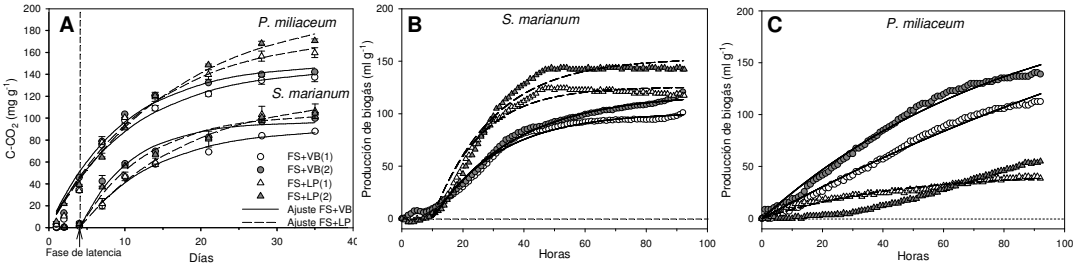


Figura 1. Degradación aeróbica (A) y anaeróbica (B y C) de las plantas en los diversos tratamientos del suelo y ajuste al modelo de primer orden cinético.

Una situación similar sucedió en la degradación anaeróbica, ya que *S. marianum* mostró una fase inactiva en la generación de biogás de unas 10 h (Fig. 1B,C), mientras que la producción de biogás sucedió rápidamente en *P. miliaceum* con el tratamiento FS+VB. Inicialmente los diversos tratamientos en *S. marianum* provocaron una producción de biogás más rápida en el tratamiento FS+LP, pero el potencial de generación de biogás fue variable en función de la planta (Tabla 3). La composición de la planta en lignina, C_H y elementos traza no parece ser responsable de la variabilidad en el comportamiento. En este sentido, la concentración de silimarina (complejo silimarino) podría tener un efecto importante en los procesos de degradación, y en las fases de latencia encontradas en ambos procesos (aeróbico y anaeróbico). La silimarina es una mezcla de flavonolignandos (silibina, isosilibina, silicristina, silidianina y taxifolina, principalmente), que se encuentran en los frutos, brotes tiernos y hojas jóvenes (Vaknin et al., 2008). La complejidad química de los compuestos fenólicos que integran el complejo silimarino puede ser la causa de su difícil degradación.

El potencial de generación de biogás de *P. miliaceum* fue muy variable en función del tratamiento del suelo (Fig. 1C; Tabla 3), con los menores valores en las plantas que recibieron purín de cerdo y lodo de industria papelera. Sin embargo no se encontraron correlaciones significativas entre las características de las plantas y la producción de biogás.

Tabla 3. Resultados de la degradación anaeróbica de las plantas según los tratamientos aplicados a los suelos. B_m biogás producido tras 92 h; B_0: Potencial de generación de biogás. *S. marianum* se ajustó al modelo con t-10 horas; *P. miliaceum* en FS+LP(2) no se ajustó al modelo.

Planta	Tratamiento	B_m ml g^{-1}	B_0 ml g^{-1}	k hora^{-1}	RMS	F
P. miliaceum	*FS+VB(1)*	112±0,79	345±41,9	0,005±0,0007	15,2	8157***
	FS+VB(2)	139±0,80	222±8,50	0,012±0,0007	22,3	8105***
	FS+LP(1)	40,4±0,88	44,2±1,27	0,022±0,0013	4,62	1978***
	FS+LP(2)	54,2±1,02	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
S. marianum	*FS+VB(1)*	101±0,02	101±0,97	0,046±0,0013	13,1	4489***
	FS+VB(2)	121±0,02	119±1,00	0,037±0,0008	8,35	9466***
	FS+LP(1)	114±0,01	126±1,13	0,064±0,0023	34,9	2676***
	FS+LP(2)	139±0,01	153±2,13	0,050±0,0023	78,1	1976***
ANOVA	Planta	*			n.a.	n.a.
	Tratamiento	*	*[1]	n.s.[1]	n.a.	n.a.
	PxT	*			n.a.	n.a.

*: significativo a $P< 0,05$, n.s.: no significativo; n.a.: no aplicable. [1]Solo para *S. marianum.*

4. Conclusiones.

La especie *P. miliaceum* puede ser fácilmente reutilizada mediante compostaje, mientras que su utilización en digestión anaerobia no queda claramente demostrada. La presencia de Zn y Mn en las plantas puede condicionar ambos procesos de degradación. La especie *S. marianum* puede ser una buena candidata para la producción de biogás mediante digestión anaerobia, sin embargo, requiere un periodo de activación para el desarrollo del proceso. La implicación del complejo silimarino en su degradación merece ser estudiada.

5. Bibliografía.

Santos, A., Bustamante, M.A., Moral, R., Bernal, M.P. 2016. Carbon conservation strategy for the management of pig slurry by composting: Initial study of the bulking agent influence. *Mitig. Adapt. Strateg. Glob. Chang.* 21, 1093–1105.

Gomes, H.I. 2012. Phytoremediation for bioenergy: challenges and opportunities. *Environ. Technol. Rev.* 1, 59-66.

Rowe, R.L., Street, N.R., Taylor, G. 2009. Identifying potential environmental impacts of large-scale deployment of dedicated bioenergy crops in the UK. *Renew. Sust. Energy Rev.* 13, 271–290.

Vaknin, Y., Hadas, R., Schafferman, D., Murkhovsky, L., Bashan, N., 2008. The potential of milk thistle (*Silybum marianum* L.), an Israeli native, as a source of edible sprouts rich in antioxidants. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 59, 339–346.

6. Agradecimientos.

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto CTM2013-48697-C2-1-R financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, Subdirección General de Proyectos de Investigación.

EVALUACIÓN DEL ÁCIDO L-LÁCTICO OBTENIDO POR UN PROCESO DE BIORREFINERIA DE SUERO DE LECHE COMO BIOESTIMULANTE EDÁFICO: EFECTO EN LAS PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL SUELO

Bruno Rodríguez-Morgado[1], Pablo Caballero Jiménez[1], Manuel Tejada Moral[2], Juan Parrado Rubio[1]

[1]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, c/ Profesor García González, 2. Universidad de Sevilla, España.
[2]Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola, E.T.S.I.A., Crta. de Utrera km.1, 41013,Sevilla, Universidad de Sevilla, España
bromo@us.es

Resumen
Se ha realizado un estudio para evaluar el efecto del ácido L-láctico sobre las propiedades biológicas del suelo. Este ácido láctico se ha obtenido mediante un proceso de biorrefinería del suero de leche, subproducto de la industria alimentaria. Su aplicación conduce a una solubilización de fosfato, siendo este comportamiento reversible tras la completa degradación del ácido láctico, que es utilizado por los microorganismos del suelo como fuente de carbono y energía, dando lugar a una fuerte estimulación biológica del suelo. La calidad del suelo vinculada a actividades enzimáticas tales como las actividades deshidrogenasa (ADH) y fosfatasa (APA) se estimularon positivamente. También se produjo un ligero cambio en la biodiversidad bacteriana del suelo hacia microorganismos capaces de utilizar el ácido láctico como fuente de carbono (*Rhizobium*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, etc.). Estas bacterias han demostrado tener interés agronómico ya que pertenecen al grupo de las denominadas bacterias PGPb, ya que tienen la capacidad de fijar nitrógeno, solubilizar fósforo o reducir el estrés. Estos resultados muestran el potencial papel del uso del ácido láctico tanto en términos agronómicos como ecológicos, aumentando la biodisponibilidad del fósforo, induciendo la actividad biológica o enriqueciendo selectivamente las bacterias implicadas en la fertilidad del suelo.

Palabras clave: fósforo, enzimas, bacterias PGPb,

1. Introducción

Muchos organismos del suelo, principalmente las plantas, producen grandes cantidades de exudados como parte de sus mecanismos para la adquisición de nutrientes, estos consisten principalmente en hidratos de carbono, ácidos carboxílicos y aminoácidos. Estos compuestos se asimilan fácilmente y representan una fuente de carbono y energía que favorece el rápido crecimiento de microorganismos en la rizosfera (Baudoin et al. 2003).

Estos exudados de las raíces de las plantas se componen principalmente de Ácidos Orgánicos de Bajo Peso Molecular o LMWOAs (siglas en inglés). Estos LMWOAS comprenden ácidos mono, di y tricarboxílicos (Strobel, 2001) y juegan un papel importante en la liberación de cationes a partir de minerales, aumentando su disponibilidad en la rizosfera. Además, son conocidos por su capacidad de aumentar la solubilidad del fósforo y servir como fuente de carbono para los microorganismos de la rizosfera (Haoliang et al. 2007).

Varios autores han sugerido que la producción de LMWOAs por rizobacterias es uno de los mecanismos más conocidos para la solubilización de fosfato del suelo. Esto es debido a la acidificación de la rizosfera, así como a su capacidad para formar complejos con algunos metales, como Al y Fe (Paredes-Mendoza et al. 2010).

En este caso, el ácido L-láctico, uno de los LMWOAs que componen los exudados radiculares, se obtuvo por vía fermentativa con altos rendimientos a partir de un subproducto, como es el suero de leche, producidos durante la fabricación del queso. Este subproducto tiene un alto impacto ambiental debido a su alta DQO y la recalcitrancia de algunos de sus componentes.

Es necesario indicar que no existen casos documentados de aplicación directa de ácido láctico al suelo por lo que el objetivo de este trabajo será evaluar la evolución de la biodisponibilidad de fósforo, así como el comportamiento de la comunidad microbiana del suelo y su actividad bioquímica.

2. Materiales y métodos

2.1. Producción de ácido L-láctico

El suero de leche se fermentó bajo condiciones controladas usando *Lactobacillus rhamnosus* y se sometió a varias etapas de filtración y esterificación-destilación, hasta obtener un ácido L-láctico química y ópticamente puro.

2.1.1 Análisis ácido Láctico

La pureza del ácido L-láctico y la concentración en el suelo se determinó mediante cromatografía de fase reversa y las propiedades ópticas por un kit enzimático comercial.

2.2. Procedimiento de incubación

El suelo utilizado en este experimento es un Antrosol Plágico. Doscientos gramos de suelo se incubaron a 25 ºC durante 28 días al 60% de su capacidad de retención de agua. Las muestras de suelo se mezclaron con ácido L-láctico a tres concentraciones diferentes: L1 (0,1% p/p), L2 (0,5% p/p) y L3 (1% p/p). Se utilizó como control (L0) un suelo sin ácido L-láctico.

2.3. Análisis de suelos

2.3.1. Análisis químicos de suelos

El pH del suelo se determinó según los Métodos Oficiales de Análisis (1986). El ácido L-láctico se extrajo con una solución de extracción compuesta por H_2SO_4 0,001 N, determinándose a continuación por HPLC (Buglass y Lee (2001). El fósforo disponible se determinó según el método de Olsen y col, 1954.

2.3.2. Actividades enzimáticas del suelo

La actividad deshidrogenasa se determinó mediante una modificación del ensayo INT (Tabatabai, 1994). Las actividades fosfatasa y β-glucosidasa del suelo se midieron usando p-nitrofenil fosfato y p-nitrofenil-β-D-glucopiranósido como sustratos respectivamente (Tabatabai, 1994).

2.3.3. Análisis microbiológico del suelo: extracción del DNA y análisis por electroforésis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE)

El ADN del suelo se extrajo usando un kit comercial (UltraCleanTM, MoBio Laboratories). Se amplificaron mediante PCR las regiones variables V3-V5 del ADNr 16S. Los productos de PCR se cargaron en un gel de poliacrilamida con un gradiente desnaturalizante desde el 40 al 60%.

Para cada tratamiento, las bandas dominantes del DGGE se extrajeron de los geles y se secuenciaron usando el software ABI PRISM-377 DNA Sequencer (PerkinElmer). Las secuencias obtenidas se compararon con las secuencias del rRNA 16S disponibles en la base de datos del NCBI, utilizando el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

3. Resultados y Discusión

3.1. Caracterización del ácido L-láctico.

El ácido L-láctico utilizado se obtuvo por un proceso de biorrefinería del suero de leche que permite obtener ácido láctico puro (35-40 g por litro de suero). Además de su pureza, es altamente biodisponible al estar compuesto sólo por el isómero L de dicho ácido, el cual es el único isómero producido por *L. rhamnosus*.

3.2. Evolución de las propiedades químicas del suelo

Después de la aplicación de ácido L-láctico al suelo, hubo una disminución significativa en los valores de pH (Figura 1), estando esta disminución directamente relacionada con la dosis de ácido láctico aplicada. Durante el período de incubación, los valores de pH del suelo tienden a alcanzar el valor control (aproximadamente 7,9 a 8,0), alcanzándolo el tratamiento al 0,1% tras 12 días, mientras que el tratamiento al 0,5% lo hizo en el día 21. El tratamiento al 1% no alcanzó el valor control al final del experimento.

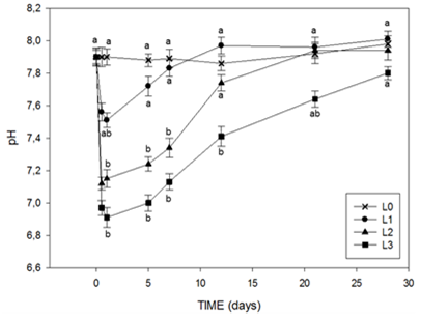


Figura 1. Evolución del pH del suelo.

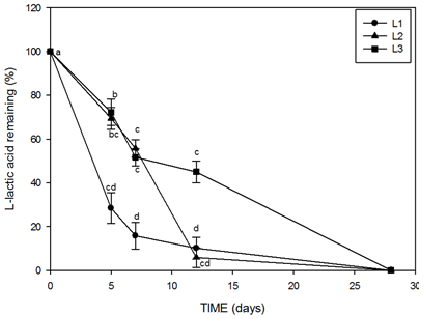


Figura 2. Evolución del ácido L-láctico.

El contenido de ácido L-láctico comienza a desaparecer inmediatamente después de su aplicación al suelo (Figura 2). Al día 7 de incubación, la concentración de ácido L-láctico en L1 había disminuido en aproximadamente un 85%, mientras que los valores de L2 y L3 permanecieron por encima del 50%. Tras 12 días, el ácido L - láctico en L2 había disminuido hasta el 10%. Finalmente, no se detectó ácido L-láctico en ninguna muestra tras el día 28.

Esta disminución puede atribuirse a su degradación por los microorganismos del suelo, similar a lo descrito por Siotto (2012), desapareciendo completamente en 25-30 días. Esto sugiere que el ácido láctico se metaboliza rápidamente en el suelo, de forma similar a la de la glucosa. Esta hipótesis se refuerza por nuestros resultados de DGGE, que muestran un cambio en las poblaciones microbianas en favor de aquellos microorganismos que pueden utilizar el ácido láctico como fuente de carbono.

Los valores de fósforo Olsen determinados en el suelo muestran un incremento en su biodisponibildad, obteniéndose los valores más altos el día 5 y a la dosis más alta de ácido láctico. Al final del mismo, los valores fueron similares al tratamiento L0. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Chen et al., 2006; Hwangbo et al., 2003; y Strobel, 2001, quienes concluyeron que esta acidificación del medio facilita la solubilización del fósforo.

3.3. Actividades enzimáticas del suelo

Desde el punto de vista de las propiedades bioquímicas del suelo, la aplicación de ácido L-láctico provocó un aumento de la actividad microbiana, donde la actividad deshidrogenasa, indicadora de la actividad global del suelo (Nannipieri et al. 1990) se estimuló por la adición de ácido láctico (Figura 4a), siendo este aumento dependiente de la concentración aplicada. Comparada con el tratamiento control, la actividad deshidrogenasa aumentó significativamente en un factor de 6,8, 65,4 y 66,6 para L1, L2 y L3 respectivamente. A partir del día 12 en adelante, la actividad deshidrogenasa comenzó a disminuir progresivamente.

De manera similar, la aplicación de ácido L-láctico también provocó una estimulación de la actividad fosfatasa (Figura 4b). Comparado con el tratamiento control, la actividad fosfatasa aumentó significativamente 1,4, 1,4 y 2,1 veces para los tratamientos L1, L2 y L3 y los días 7, 5 y 12, respectivamente. A partir del día 12 en adelante, la actividad fosfatasa comenzó a disminuir. Esta estimulación de la fosfatasa se debe a una mayor demanda de fósforo para apoyar el crecimiento microbiano observado.

Por el contrario, la Figura 4c muestra que el ácido L-láctico no afecta de ninguna manera a la actividad β-glucosidasa. Una posible hipótesis de esta falta de expresión de dicha enzima es que el ácido L-láctico proporciona una fuente de carbono en el suelo, por lo que no se inducen hidrolasas de hidratos de carbono.

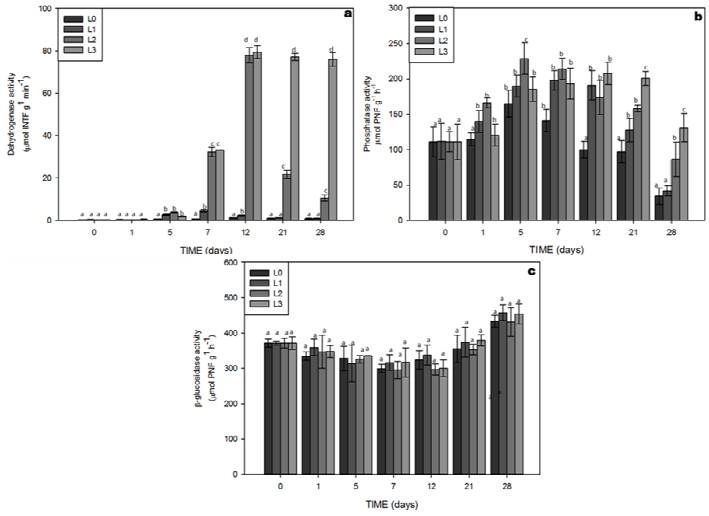


Figura 4. Actividades deshidrogenasa, fosfatasa y β-glucosidasa (figuras a, b y c respectivamente) en suelos.

3.4. Evolución de la comunidad bacteriana del suelo

El estudio de la biodiversidad microbiana muestra un gran cambio tras la aplicación del L-láctico, incrementándose especies que pertenecen a géneros para los que se ha descrito ampliamente el uso del lactato como fuente de carbono para crecer: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacter* y *Rhizobium* (Gao y col, 2012; Chai y col., 2009; Iswaran y col, 1973). Estos resultados indican la posible importancia del ácido láctico añadido al suelo para influir en la dinámica de las comunidades microbianas.

Por otra parte, muchas de las especies favorecidas por la adición de ácido láctico se consideran bacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPb) por su capacidad para estimular el crecimiento de las plantas, aumentar su rendimiento, reducir las infecciones patogénicas, así como reducir el estrés biótico y abiótico de las plantas (Lugtenberg y col 2009). Esto, junto con el hecho de que *Rhizobium* y *Azotobacter* son géneros implicados en la fijación biológica de nitrógeno nos lleva a pensar que el ácido láctico aplicado al suelo podría tener un importante rol en el mismo.

4. Conclusiones

El ácido L-láctico obtenido a partir de residuos de suero de leche conduce a una fuerte estimulación biológica del suelo y a la liberación de fosfato biodisponible. Además, está implicado en la conformación de la estructura de las comunidades microbianas en el suelo, estimulando las bacterias PGPB.

Estos resultados podrían tener gran importancia tanto en términos agronómicos como ecológicos, ya que la aplicación de ácido láctico al suelo podría ayudar a minimizar la aplicación de fertilizantes, reducir la contaminación ambiental y promover una agricultura sostenible.

5. Bibliografía

Baudoin E, Benizri E, Guckert A (2003). Impact of artificial root exudates on the bacterial community structure in bulk soil and maize rhizosphere. Soil Biol. Biochem. 35:1183-1192.

Buglass AJ, Lee SH (2001).Sequential analysis of malic acid and both enantiomers of lactic acid in wine using a high-performance liquid chromatographic column-switching procedure. J. Chromatogr. Sci. 39:453-458.

Chai Y, Kolter R, Losick R (2009). A widely conserved gene cluster required for lactate utilization in *Bacillus subtilis* and its involvement in biofilm formation. J. Bacteriol. 191:2423-2430.

Chen YP, Rekha PD, Arun AB, Shen FT, Lai W, Young CC (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. Appl. Soil Ecol. 34:33–41.

Drouillon M, Merckx R (2003). The role of citric acid as a phosphorus mobilization mechanism in highly P-fixing soils. Gayana Bot. 60:55–62.

Gao C, Hu C, Ma C, Su F, Yu H, Jiang T, Dou P, Wang Y, Qin T, Lv M, Xu P (2012). Genome sequence of the lactate-utilizing *Pseudomonas aeruginosa* strain XMG. J. Bacteriol. 194:4751-4752.

Haoliang L, Chongling Y, Jingchun L (2007). Low-molecular-weight organic acids exuded by Mangrove (*Kandelia candel* (L.) Druce) roots and their effect on cadmium species change in the rhizosphere. Environ. Exp. Bot. 61:159–166.

Hwangbo H, Park RD, Kim YW, Rim YS, Park KH, Kim TH, Kim KY (2003). 2-ketogluconic acid production and phosphate solubilization by *Enterobacter intermedium*. Curr. Microbiol. 47:87–92.

Iswaran V, Apte R, Sen A (1973). Use of sodium lactate for culture of *Rhizobium spp*. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. 128:240-242.

Lugtenberg B, Kamilova F (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. Annu. Rev. Microbiol. 63:541-556.

Métodos Oficiales de Análisis (1986). Secretaria General Técnica del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Nannipieri P, Grego S, Ceccanti C (1990). Ecological significance of the biological avtivity in soil. En: Bollag, J.M., Stotzky, G. (Eds.). Soil Biochemistry, 6. marcel Dekker, NY, 293-355.

Olsen SR, Cole CV, Watanabe FS, Dean LA (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circular 939:1–19.

Paredes-Mendoza M, Espinosa-Victoria D (2010). Organic acids produced by phosphate solubilizing rhizobacteria : A critical review. Terra Latinoamericana 28:61–70.

Siotto M, Sezenna E, Saponaro S, Degli Innocenti F, Tosin M, Bonomo L, Mezzanotte V (2012). Kinetics of monomer biodegradation in soil. J. Environ. Manage. 93:31-37.

Tabatabai MA (1994). Soil Enzymes. In Methods of soil analysis. Part 2: microbial and biochemical properties. Soil Science Society of America, pp. 775–833

6. Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (España), Plan Nacional I+D CTM2007-60210 / TECNO y la Consejería de Economía, Innovación, Ciencia y Empleo de la Junta de Andalucía (RNM-2011-7887).

VALORACIÓN DEL POTENCIAL ACIDOGÉNICO DE DIFERENTES RESIDUOS AGRO-INDUSTRIALES Y URBANOS

Garcia-Aguirre Jon[1], **Aymerich Enrique**[1], **Esteban-Gutiérrez Myriam**[1]

[1] *Ceit-IK4 and Tecnun (Universidad de Navarra), 15 Paseo Manuel de Lardizábal, San Sebastián 20018, España (e-mail: jgaguirre@ceit.es; eaymerich@ceit.es; mesteban@ceit.es)*

Resumen

En este estudio, se determinó el potencial acidogénico o de producción de ácidos grasos volátiles (AGVs) de residuos agro-industriales y urbanos en condiciones ácidas (pH 5,5) y alcalinas (pH 10,5) y bajo temperatura mesófila y termófila. El rendimiento de producción de AGVs varió para cada tipo de residuo y estuvo comprendido entre 127 – 611 mg AGVs g^{-1} $DQO_{sustrato}$. En general, se observó una mayor producción neta de AGVs en condiciones alcalinas, lo cual sugiere que la hidrólisis y la solubilización de la materia orgánica se ven favorecidas. Los resultados obtenidos evidencian que además del pH y la temperatura, la composición del residuo ejerce un efecto significativo en la distribución de los AGV en el producto de fermentación. Este estudio aporta información de utilidad para valorar la posibilidad de valorizar residuos agro-industriales mediante la producción de AGVs a mayor escala.

Palabras clave: AGVs, potencial acidogénico, valorización de residuos, residuos agro-industriales.

1. Introducción

Los ácidos grasos volátiles (AGVs) son compuestos intermedios de la digestión anaerobia, producidos como consecuencia de la hidrólisis y acidificación de la materia orgánica. Actualmente, presentan un amplio abanico de aplicaciones industriales en la industria cosmética, la industria petroquímica, la industria farmacéutica o en el sector alimenticio (Zacharof y Lovitt, 2013).

Las síntesis de AGVs mediante la fermentación anaerobia de residuos orgánicos agro-industriales o urbanos está resultando un tema de gran interés frente a la producción tradicional a partir de derivados del petróleo. Esto ha dado lugar a aplicaciones innovadoras como la producción de bioplásticos, la eliminación de nutrientes en estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) o la producción de ácidos grasos de cadena media, entre otros (Lee y col. 2014).

Actualmente, la producción de AGVs por fermentación anaerobia se encuentra en fase de investigación (Lee y col. 2014) y, aunque se ha probado con éxito a escala de laboratorio para diferentes tipos de residuos y sustratos, de cara a una aplicación real, su implementación dependerá de la disponibilidad local del residuo y de la aplicación final deseada. Por ello, estudiar el potencial de cada residuo y optimizar los parámetros del proceso resulta necesario para valorar la viabilidad de una posible aplicación del proceso en diferentes sectores.

El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial acidogénico de residuos agro-industriales y urbanos en condiciones de pH ácido y alcalino, a temperatura mesófila y termófila. Para ello, se analizó la evolución de AGVs individualmente, la composición de la mezcla final, así como el rendimiento global del proceso de fermentación.

2. Material y métodos

2.1 Residuos orgánicos

En el marco de este trabajo se analizó el potencial acidogénico de los siguientes residuos: restos de comida de un campus universitario asimilables a la fracción orgánica de residuos sólidos

urbanos (FORSU), harinas cárnicas de una planta de tratamiento de residuos animales (HC), lodo lácteo de una planta de producción de leche (LL) y lodo biológico de una EDAR (LB). Las características principales de los residuos bajo estudio se presentan en la Tabla 1.

La fuente de biomasa (o inóculo) utilizada fue lodo digerido de un digestor anaerobio de la EDAR de San Sebastián en Gipuzkoa. Todos los residuos se almacenaron en frío a 5 ºC antes de ser empleados.

Tabla 1: Propiedades de los residuos analizados.

	Residuos sólidos		Lodos	
	FORSU	**HC**	**LB**	**LL**
ST (%)	30,4	99,2	5,7	6,4
SV (%)	28,7	68,1	4,5	5,5
DQO total (mg O_2 L^{-1})	1370*	1016*	66280	143612

* mg g^{-1} ST

2.2 Ensayos Batch

Los ensayos batch de potencial acidogénico se realizaron por duplicado en botellas de 500 mL. Se analizó la producción de AGVs para cada sustrato en condiciones ácidas (pH 5,5) y alcalinas (pH 10,5), y diferentes condiciones de temperatura, mesófila (35 ºC) y termófila (55 ºC) para cada pH. Se emplearon botellas con inóculo a modo de control. Los ensayos de fermentación se prolongaron durante 10 días. La concentración inicial de los sustratos se ajustó a 10000 mg DQO L^{-1} y se añadió inóculo suficiente para obtener 5000 mg SSV L^{-1}. El pH inicial se ajustó empleando HCl o NaOH para evitar la actividad metanogénica de los microorganismos. Se empleó nitrógeno gas para eliminar el oxígeno en los reactores.

2.1 Métodos analíticos

Los AGVs (ácido acético (HAc), propiónico (HPr), iso-butírico (iso-But), butírico (HBut), isovalérico (iso-Val) y valérico (HVal)) se determinaron individualmente con una medida diaria mediante cromatografía de gases (Agilent GC-6890) con una columna capilar (Agilent J&W: ref. 122-3232E) y detector de llama (FID). La muestra para la determinación de AGVs se obtuvo mediante centrifugación (12000 rpm, 10 min), seguido de una filtración a vacío (Whatman 1,5 µm) y una extracción líquido-líquido con un disolvente orgánico (Ter-Butil-Metil-Eter). Se empleó ácido piválico como solución estándar interna.

3. Resultados y Discusión

3.1 Producción total de AGVs

La Figura 1 representa la producción de AGVs expresada como equivalentes de DQO L^{-1} de los residuos en ambas condiciones de pH y temperatura. En todos los casos, la producción total de AGVs fue mayor en condiciones alcalinas. En el caso del FORSU, el mejor resultado se obtuvo a temperatura mesófila, con una concentración final de 8319 mg DQO L^{-1}, mientras que en el caso de las HC se registró un mejor rendimiento a temperatura termófila, con 4922 mg DQO L^{-1}.

La mayor acidificación del lodo biológico se obtuvo a pH alcalino y temperatura termófila, con una concentración final de 4014 mg DQO L^{-1}, siendo la producción de AGVs a pH ácido prácticamente nula, lo cual sugiere que el cambio de condiciones favoreció la solubilización de la estructura polimérica compleja del lodo, con la liberación de polisacáridos y proteínas (Ma y col.

2016). Durante los ensayos con lodo lácteo, se apreció un consumo de AGVs, por lo que se descartó su posterior análisis.

3.1 Rendimiento de la producción de AGVs

En este apartado se presenta el rendimiento global del proceso, el incremento del rendimiento a la hora de aumentar la temperatura y el grado de acidificación final para cada sustrato analizado. En la Tabla 2 se observa que el rendimiento varió entre 306 – 611 mg AGVs g^{-1} $DQO_{sustrato}$ en el caso de los residuos sólidos y entre 127 – 332 mg AGVs g^{-1} $DQO_{sustrato}$ para el LB. Estos valores concuerdan con valores previos referenciados por Lee y col. (2014).

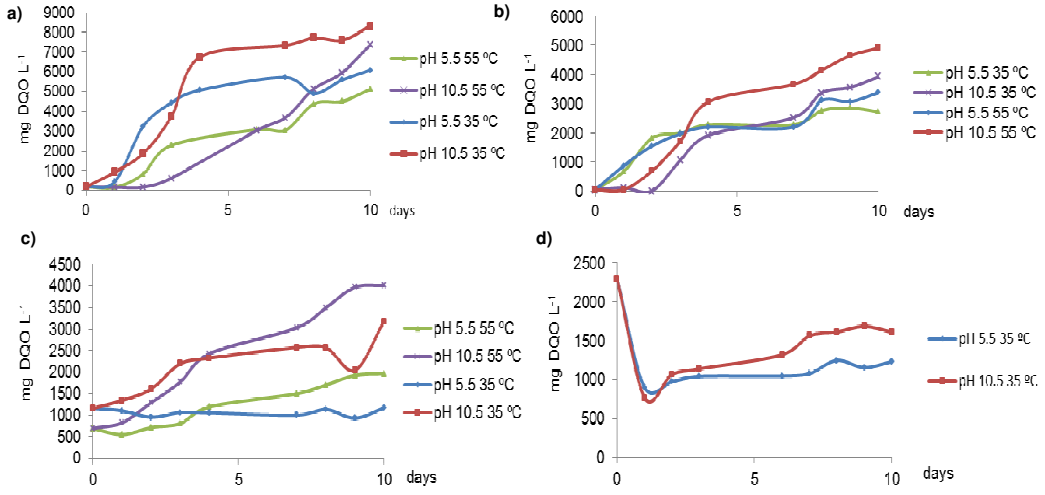


Figura 1. Evolución de los AGVs durante los 10 días de fermentación: **a)** FORSU, **b)** HC, **c)** LB y **d)** LL.

Tabla 2. Rendimiento del proceso, mejora de la producción al incrementar la temperatura (55ºC) y el grado de acidificación.

		mg AGVs g^{-1} $DQO_{sustrato}$		Incremento	AGVs/DQO (%)	
		35 º C	55 ºC	%	35 ºC	55 ºC
LB	pH 5,5	1	127	13922	0	13
	pH 10,5	190	332	75	20	33
FORSU	pH 5,5	437	364	-17	59	49
	pH 10,5	611	541	-11	81	72
HC	pH 5,5	306	319	4	27	33
	pH 10,5	443	464	5	39	49

El aumento de temperatura en condiciones alcalinas resultó en un incremento del rendimiento del 75% en el LB, con una acidificación final del 33%, lo que sugiere que se incrementó la solubilización y, en consecuencia, la hidrólisis y el rendimiento de producción de AGVs (Ma y col. 2016). No obstante, el aumento de la temperatura provocó un cambio insignificante en el caso de las HC, con mejoras en el rendimiento del 4 – 5%. En el caso de FORSU, una mayor temperatura perjudicó la producción de AGVs en ambas condiciones de pH, donde el mayor grado de

acidificación (81%) se obtuvo en temperatura mesófila y pH alcalino, tal y como indican Jiang y col. (2013) o Dahiya y col. (2015). Esto evidencia que las propiedades intrínsecas del residuo afectan a la producción de AGVs, como afirman Yin y col. (2016).

3.1 Composición final de la mezcla

En la Figura 2 se aprecia la composición final de la mezcla de fermentación de los sustratos analizados. En el caso de la FORSU, incrementar la temperatura en condiciones ácidas, se tradujo en un cambio de composición, de ácido acético/propiónico (Wang y Col. 2016) a una mezcla con predominio del ácido butírico. A su vez, en condiciones alcalinas, el ácido predominante fue el ácido acético, el cual es un producto predominante en fermentaciones primarias (Agler y col. 2011).

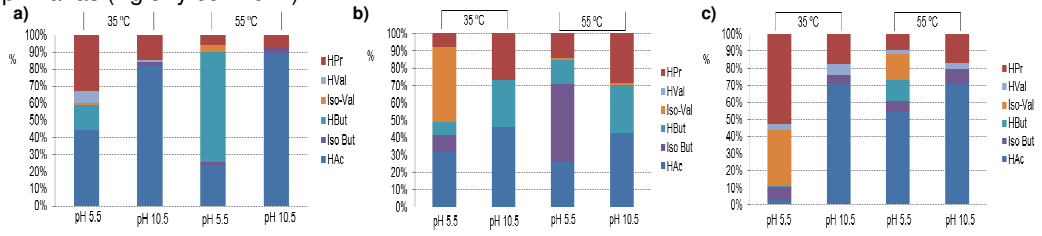


Figura 2. Composición de la mezcla fermentada, tras 10 días de incubación: **a)** FORSU, **b)** HC y **c)** LB.

El incremento de temperatura en condiciones ácidas también modificó la composición final para las HC, de una situación con predominancia de ácido iso-valérico, a una mezcla con predominio de iso-butírico. En condiciones alcalinas, la composición final se mantuvo prácticamente constante y distribuida en 40%,30% y 30% de ácido acético, propiónico y butírico, respectivamente.

El ácido acético fue el AGV predominante en los ensayos con LB, en los que se detectó presencia de ácido iso-valérico, butírico y propiónico en condiciones ácidas (Ma y col. 2016).

Cada sustrato, con su composición específica de carbohidratos, lípidos y proteínas, condujo a un producto de fermentación diferente como recogen Yin y col. (2016), pero su composición se vio afectada a su vez por el pH y la temperatura (Jiang y col. 2013). Los resultados obtenidos desvelan la posibilidad de control de los parámetros del proceso para producir ácidos de manera selectiva y realizar un salto de escala en la producción de AGVs.

4. Conclusiones

El seguimiento de la producción diaria de AGVs permitió evaluar y comparar el potencial acidogénico de residuos agro-industriales y urbanos. Es destacable el hecho de que los resultados muestran que un pH alcalino favorece una mayor producción de AGVs y que la temperatura ejerce un efecto notable en el proceso de fermentación. Dependiendo del tipo de aplicación del producto de la fermentación, el pH y la temperatura podrían ser parámetros susceptibles de manipulación para tratar de direccionar la producción de AGVs hacia los productos deseados.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen su colaboración a las empresas que aportaron muestras de residuos, así como a Jaime González, por la ayuda brindada durante la realización de los ensayos.

6. Bibliografía

Agler, M.T., Wrenn, B.A., Zinder, S.H., Angenent, L.T. (2011). Waste to bioproduct conversion with undefined mixed cultures: the carboxylate platform. Trends in Biotechnology 29, 2.

Dahiya, S., Sarkar, O., Swamy, Y.V., Mohan, S.V., (2015). Acidogenic fermentation of food waste for volatile fatty acid production with co-generation of biohydrogen. Bioresource Technology 182, 103-113.

Jiang,J., Zhang, Y., Li, Kl., Wang, Q., Gong, C., Li, M. (2013). Volatile fatty acids production from food waste: effects of pH, T and OLR. Bioresource Technology 143:525-530

Lee, W.S., Chua, A.S.M., Yeoh, H, K., Ngoh, G.C. (2014). A review of the production and applications of waste – derived volatile fatty acids. Chemical Engineering Journal 235:83-99.

Ma, H., Chen, X., Liu, H, Liu, H. Fu, B. (2016). Improved volatile fatty acids anaerobic production from waste activated sludge by pH regulation: alkaline or neutral pH? Waste Management 48, 397-403.

Tyagi, V.K., Lo, S-L. (2013). Sludge: a waste or renewable source for energy and resources recovery? Renewable and Sustainable Energy Reviews 25:708-728.

Wang, Y., Zang, B., Li, G., Liu, Y. (2016). Evaluation the anaerobic hydrolysis acidification stage of kitchen waste by pH regulation. Waste Management 53, 62-67.

Yin, J., Yu, X., Wang, K., Shen, D. (2016). Acidogenic fermentation of the main substrates of food waste to produce volatile fatty acids. International Journal of Hydrogen Energy, http//dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.07.094.

Zacharof, M.P., Lovitt, R.W. (2013). Complex effluent streams as a potential source of volatile fatty acids. Waste Biomass Valor. 4:557-581.

EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN DE COMPUESTOS EMITIDOS DURANTE EL PROCESO DE COMPOSTAJE CON DISTINTOS ABSORBENTES

Giraldez, I.[1], Ruiz-Montoya, M.[2], Delgado, M. [2], Morales, E. [1], López, F. [2] and Díaz, M.J. [2] *

[1]Departamento de Química. Facultad de Ciencias Experimentales. Campus de "El Carmen". Universidad de Huelva. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, CeiA3. 21071. Huelva. Spain

[2]PRO2TEC. Departamento de Ingeniería Química, Química Física y Ciencias de los Materiales. Facultad de Ciencias Experimentales. Campus de "El Carmen". Universidad de Huelva. 21071. Huelva. Spain

Resumen La correcta identificación de los compuestos gaseosos emitidos durante el proceso de compostaje es un paso esencial hacia una correcta evaluación del problema que genera con objeto de ofrecer la solución idónea para su eliminación/minimización dependiendo de las características de los compuestos. En este sentido, la microextracción en fase sólida (SPME) es una técnica preparativa que permite concentrar y aislar los compuestos presentes en una muestra. En el presente estudio se compararon los compuestos obtenidos, en la fase termófila del compostaje de residuo sólido urbano, mediante distintas técnicas: muestreo directo con bolsas Tedlar; microextracción en fase sólida con fibra de Polidimetilsiloxano (PDMS); Carboxen-polidimetilsiloxano (CAR/PDMS); Carbowax-divinilbenceno CWD/DVB; y Twister. Bajo similares condiciones de desorción y análisis, el método de muestreo afecta muy significativamente a la identificación y sensibilidad de los compuestos orgánicos volátiles emitidos durante el proceso de compostaje de residuos sólidos urbanos. Entre los compuestos más significativos encontrados en la mayoría de los absorbentes se encuentran terpenos (α-pineno, 3-careno, β-pineno, limoneno), alifáticos (undecano, dodecano, tridecano), aromáticos (benceno, fenol, tolueno) ésteres (butanoato, pentanoato, hexanoato de etilo), ácidos carboxílicos (ácido dodecanoico, tetradecanoico, hexadecanoico, octadecanoico) y 2-butanona entre otros. Por último, los compuestos sulfurados fueron emitidos durante la etapa termófila, mientras que otros compuestos como terpenos o ésteres son emitidos durante la fase termófila del proceso de compostaje.

Palabras clave: COV, SPME, PMDS, TWISTER.

1. Introducción.

Existe un problema en la identificación de este tipo de emisiones, ya que en las plantas de compostaje se han llegado a identificar mediante el uso de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) cientos de compuestos (Defoer, y col., 2002, Müller, y col., 2004). Realizando un estudio bibliográfico previo con objeto de comparar los resultados obtenidos con los encontrados por otros autores, se encontró que Schlegelmilch y col. (2005), en un estudio llevado a cabo en plantas de compostaje observaron que los principales COV emitidos son principalmente alcoholes, ésteres, cetonas y aldehídos, así como terpenos. La mayoría de ellos son productos de la degradación biológica, como alcoholes, ésteres, cetonas y limoneno. Por otro lado, Eitzer (1995) ya había realizado medidas de concentraciones en el aire ambiente de diferentes COV en instalaciones de compostaje, que demostraron que los hidrocarburos aromáticos, en particular el etilbenceno y tolueno, se encontraban en concentraciones muy altas. Encontraron también en menor proporción compuestos orgánicos clorofluorosustituidos y limoneno. También Tolvanen y col. (1998) llegaron a identificar 110 COVs en el aire ambiente de pilas de compost de la fracción orgánica separada, de los que sólo tres de ellos eran compuestos orgánicos volátiles clorados, y el D-limoneno fue el que se encontró a más alta concentración.

De acuerdo con Homans y Fischer (1992), en condiciones anaeróbicas en las pilas de compostaje, debido a la incompleta o insuficiente aireación, se producen compuestos de azufre con olor intenso; en cambio, procesos incompletos de degradación aeróbica dan como resultado la emisión de alcoholes, cetonas, ésteres y ácidos. Desde otro punto de vista, pero con el mismo fin, existe una investigación llevada a cabo por Turan y col. (2007) cuyo objetivo fue identificar y cuantificar los COV producidos durante el compostaje de gallinaza. En este caso centraron su investigación en 25 COV de los que dedujeron que los alcanos y derivados del benceno fueron los que se emitieron en mayor cantidad, mientras que los aldehídos, terpenos y cetonas se emitieron en mucha menor cuantía.

Es importante tener en cuenta que hasta ahora, las investigaciones que se han llevado a cabo se han basado en la utilización de cromatógrafos de gases acoplados a espectrofotómetros de masas en los que la identificación de compuestos es muy buena pero de difícil cuantificación debido a la alta necesidad de valores de referencias y flujos. Por lo tanto, aún se desconoce en muchos casos la dinámica de los compuestos durante el proceso de compostaje. Por lo cual se hace necesario llevar a cabo una labor de selección para clasificar dicha cantidad de compuestos según un criterio específico de importancia y abundancia y con ello, elegir los compuestos que en nuestro caso resultan ser los más representativos para el presente ensayo. Para ofrecer la mayor fiabilidad tanto en la identificación de compuestos como en la posterior cuantificación, se hace necesario un óptimo protocolo de muestreo y análisis. Bajo esta perspectiva, este trabajo tiene como objetivo encontrar el adsorbente y parámetros de análisis que ofrezcan la mayor señal para la mayoría de los compuestos encontrados.

2. Materiales y Métodos.

Los residuos sólidos urbanos se tomaron de la planta de tratamiento de residuos sólidos urbanos de Villarrasa (Huelva-España). Los residuos se cribaron y eliminaron los metales, previamente al proceso de compostaje.

Los compuestos orgánicos volátiles se muestrearon en un reactor los días 1, 7, 22 y 27 del proceso de compostaje usando tanto bolsas tedlar (Supelco, Bellefonte, PA, USA) con una bomba de vacío como barras agitadoras absorbidas con PDMS (twisters) (Gerstel, Mülheim and Ruhr, Germany) colocadas en el espacio de cabeza del reactor durante 30 min.

Los compuestos orgánicos volátiles de las bolsas tedlar se extrajeron y preconcentraron utilizando la microextracción en fase sólida (SPME) introduciendo distintas fibras (PDMS, CAR/PDMS, CWD/DVB) en las bolsas durante 30 min.

Los compuestos volátiles se determinaron utilizando un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) equipado con un Agilent HP-5MS columna capilar de sílice fundida (30 m x 0,25 mm ID, 0,25 micras de espesor de película). El espectrómetro de masas fue operado en el modo scan (35-550 uma). La identificación de compuestos volátiles se llevó a cabo comparando los tiempos de retención del GC y los espectros de masas con los correspondientes a los compuestos estándares puros y también se compararon todos los espectros de masas con la biblioteca de sistema de datos (NIST).

3. Resultados y Discusión.

Los olores durante el proceso de compostaje son causados principalmente por compuestos orgánicos volátiles dentro de la familia de los alcoholes, ésteres, cetonas, ácidos y terpenos como se muestra en la Tabla 1. Muchos de estos compuestos son productos de los procesos de la degradación biológica.

Tabla 1. Compuestos orgánicos volátiles en el aire emitidos durante el proceso de compostaje mediante GC-MS

Sulfurados	Alcoholes	Hidrocar-buros aromáticos	Terpenos	Cetonas	Ésteres	Ácidos Carboxílicos	Hidrocar-buros alifáticos
Sulfuro de dimetilo	Ciclohexa-nol	Tolueno	A-pineno	2-buta-nona	Butanoato de etilo	Dodecanoico	Undecano
Disulfuro de dimetilo	Cedrol	Fenol	Limoneno		Pentanoato de etilo	Tetradecanoico	Dodecano
		Benceno (con grupos metilo)	B-pineno		Hexanoato de etilo	Hexadecanoico	Tridecano
		Naftaleno	3-careno		Heptanoato de etilo	Octadecanoico	Trietraecano
		Hidroxitolue-no butilado			Hexanonato de metilo		Pentadecano

La identificación y sensibilidad en la detección de los compuestos orgánicos volátiles emitidos durante el proceso de compostaje depende tanto de la toma de muestra como del método de preconcentración de los analitos usado en la caracterización de los mismos.

En la tabla 2 se muestran los compuestos orgánicos vólatiles identificados usando distintos métodos de recogida y precocentración de los analitos en el aire. Pineno, limoneno y sulfuro de metileno son los compuestos que se han detectado en las muestras cuando se analiza directamente el aire mediante GC-MS. Al preconcentrar mediante microextracción en fase sólida, los compuestos observados difieren dependiendo de la fibra empleada (PDMS, CAR/PDMS o CWD/DVB). La fibra CWD/DVB es la fibra con la que se visualizan menos compuestos volátiles, como son el limoneno, fenol y el etil éster del ácido heptanoico, mientras que con la fibra CAR/PDMS se detectan más especies entre las que se encuentran compuestos sulfurados, terpenos, cetonas como la 2-butanona, hidrocarburos aromáticos como fenol e hidrocarburos alifáticos. Los compuestos que se observan con la fibra PDMS son de la familia de los terpenos, hidrocarburos alifáticos y ésteres. En cambio cuando el muestreo se hace in situ con “twisters” (un imán recubierto de PDMS como sólido absorbente), además de los compuestos identificados con la fibra de PDMS se detectan otros compuestos dentro de la familia de los alcoholes y ácidos carboxílicos. Esta sensibilidad mejor conseguida con los twisters es debida a la mayor cantidad de fase abosrbente que contiene.

Tabla 2. Principales compuestos orgánicos volátiles en el aire emitido mediante con distintos métodos de muestreo y preconcentración.

		Tedlar sin preconcentrar	Tedlar-SPME			
			PDMS	CAR/PDMS	CWD/DVB	Twister
Sulfurados	Sulfuro de dimetilo	X		X		
	Ciclohexanol					X
Alcoholes	Cedrol					X
	Tolueno			X		
	Fenol			X	X	
Hidrocarburos aromáticos	Naftaleno					X
	Hidroxitolueno butilado					X
	□-Pineno	X	X	X		
	D-Limoneno	X	X	X	X	X
	β-pineno		X	X		X
Terpenos	3-careno		X	X		X
Cetonas	2-butanona			X		
	Ciclohexanona					X
Ésteres	Butanoato de etilo		X	X		
	Pentanoato de etilo		X			
	Heptanoato de etilo		X		X	
Hidrocarburos alifáticos	Undecano			X		
	Dodecano		X	X		
	Tridecano		X	X		
	Tetradecano			X		
Ácidos carboxílicos	Dodecanoico					X
	Tetradecanoico,					X
	Hexadecanoico					X
	Octadecanoico					X

En la figura 1 se compara la eficiencia de extracción para 11 compuestos usando distintos métodos de toma y preconcentración de los analitos en el aire emitido durante el proceso de compostaje. Los resultados muestran que para α-pineno, β-pineno, limoneno y undecano el twister es más eficiente que los otros métodos, mientras que para DMS, 2-butanona, DMDS, tolueno, ciclohexanona y 3-careno la mayor eficiencia se obtiene con el método Tedlar-CAR/PDMS, y en el caso del fenol el método más eficiente es CWD/DVB.

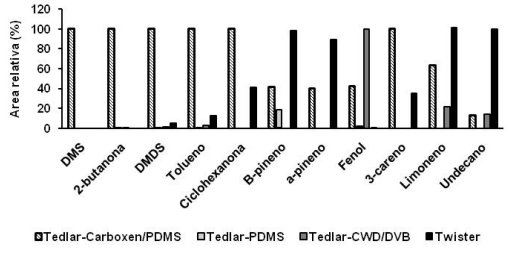


Figura 1. Eficiencia de diversos métodos de toma y preconcentración para compuestos orgánicos volátiles en el aire emitido durante proceso de compostaje

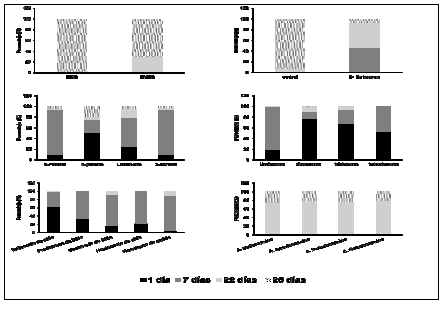


Figura 2. Evolución de los compuestos orgánicos volátiles en el aire emitido durante proceso de compostaje

Por último, cuando se estudia la evolución de los compuestos a lo largo del proceso compostaje como se muestra en la figura 2, la presencia de los compuestos sulfurados incrementa con el tiempo de compostaje debido a que se producen a partir de condiciones anaeróbicas debidas a la incompleta o insuficiente aireación, siendo emitidos durante la etapa termófila, mientras que la presencia de hidrocarburos disminuye con el tiempo del proceso de compostaje. En el caso de los terpenos, 2-butanona y ésteres se observa un máximo a los 7 días del comienzo del proceso del compostaje.

Por último, solamente se dispone de datos de los ácidos y cedrol en los últimos dos muestreos y la presencia de los ácidos carboxílicos decrece mientras que para el cedrol incrementa con el tiempo del durante el proceso de compostaje.
Estos resultados son similares a los obtenidos por otros autores como Zou y col. (2003), Komilis y col. (2004), Bruno y col. (2007) y Zarra y col. (2008).

4. Conclusiones.

En este trabajo se concluye que el método de muestreo y preconcentración que se utilice afecta significativamente a la identificación y sensibilidad de los compuestos orgánicos volátiles emitidos durante el proceso de compostaje. Entre los compuestos más significativos encontrados en la mayoría de los absorbentes se encuentran terpenos (α-pineno, 3-careno, β-pineno, limoneno), alifáticos (undecano, dodecano, tridecano), aromáticos (benceno, fenol, tolueno) ésteres (butanoato, pentanoato, hexanoato de etilo), ácidos carboxílicos (ácido dodecanoico, tetradecanoico, hexadecanoico, octadecanoico) y 2-butanona entre otros. Los compuestos sulfurados fueron emitidos durante la etapa termófila, mientras que otros compuestos como terpenos o ésteres son emitidos durante la etapa termófila del proceso de compostaje.

5. Bibliografía.

Bruno, P., Caselli, M., de Gennaro, G., Solito, M., y Tutino, M. 2007. Monitoring of odor compounds produced by solid waste treatment plants with diffusive samplers. *Waste Managemen*t 27, 539-544.

Homans, W.J. y Fischer, K. 1992. A composting plant as an odour source, compost as an odour killer. *Acta Horticulturae*, 302, 37-44.

Komilis, D., Ham, R., y Park, J. 2004. Emission of volatile organic compounds during composting of municipal solid wastes. *Water Research*, 38 (7), 1707-1714.

Tolvanen, O., Nykänen, J., Nivukoski, U., Himanen, M., Veijanen, A., Hänninen, K., 2005. Occupational hygiene in a Finnish drum composting plant. Waste *Manage*. 25 (4), 427-433.

Zarra, T., Naddeo, V., y Belgiorno, V. 2009. A novel tool for estimating the odour emissions of composting plants in air pollution management. *Global NEST Journal*. 11 (4), 477-486.

Zou, S.C., Lee, S.C. Chan, C.Y., Ho, K.F., Wang, X.M., Chan, L.Y., Zhang, Z.X., 2003. Characterization of ambient volatile organic compound at a landfill site in Guangzhou, South China. *Chemosphere* 52, 1015-1022.

6. Agradecimientos.

Los autores agradecen la financiación de este trabajo a la Consejería andaluza de Economía, Innovación, Ciencia y Empleo (Proyecto RNM 2323) y al Ministerio de Economía y Competitividad (Programa Nacional para la Investigación Retos de la Sociedad, CTQ2013-46804-C2-1-R).

COMPOSTAJE DE LODOS DE EDAR CON RESTOS VEGETALES PARA SU POSTERIOR VALORIZACIÓN AGRÍCOLA

Remedios Albiach[1], Pedro Rojo[2], Tatiana Montoya[1], Vicente Fajardo[2]

[1] Sociedad Española de Abastecimientos, S.A, Gran Vía Marqués del Turia, 17 bj. drcha. 46005 Valencia (España), [2] Empresa General Valenciana del Agua, S.A., Santa Amalia, 2 - 2º Entresuelo-Pta E. 46009 Valencia (España), mremalvi@aguasdevalencia.es

Resumen: El aumento de la cantidad de fangos generados tras la aplicación de las Directivas Europeas sobre aguas y las nuevas tendencias legislativas europeas sobre aplicación de lodos encaminadas a exigir su tratamiento de los lodos antes de su aplicación al suelo, hacen del compostaje una vía muy atractiva para la gestión y el reciclaje de los lodos generados en las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR), tanto por su facilidad de gestión como por su menor coste en comparación con otros tratamientos.
El objetivo del presente estudio fue la determinación de la mezcla más adecuada de lodos de EDAR junto a restos vegetales para su compostaje y posterior valorización agrícola. Para ello se realizaron ocho mezclas con lodos de EDAR como residuo principal y otros restos vegetales en distintas proporciones (restos de jardinería precompostados, raspajo de uva, restos forestales, restos de poda de olivo y almendro, paja y serrín) con unas relaciones C/N que oscilaron entre 20,5-39,4.
El compostaje se desarrolló durante 220 días en pilas al aire libre con volteo semanal y riego según necesidad. Durante el proceso se realizó un seguimiento de la temperatura de las pilas, así como del pH, conductividad eléctrica, materia orgánica total, carbono orgánico oxidable y nitrógeno total.
Se obtuvieron ocho compost con un contenido de nutrientes que osciló entre 2,23-3,24% Nt, 1,04-3,06% P_2O_5 y 0,37-1,99% K_2O, pudiendo ser tres de ellos considerados como clase C (RD 506/2013) y todos ellos como lodo tratado apto para uso agrícola (RD 1310/1990).
La mezcla más adecuada para uso agrícola por sus características resultó ser la de lodo con paja, seguida por la de restos forestales, raspajo y jardinería.

Palabras clave: fangos depuración, gestión residuos, compost

1. Introducción

Debido al aumento de la cantidad de fangos generados tras la aplicación de la Directiva Europea sobre aguas (Directiva 91/271/EEC), la gestión de los mismos constituye un problema para las entidades de saneamiento, siendo las medidas más extendidas para su gestión la aplicación directa al suelo, valorización energética, compostaje o eliminación en vertederos. Las nuevas tendencias legislativas europeas van encaminadas a exigir el tratamiento de los lodos antes de su aplicación al suelo, por lo que el compostaje aparece como una vía muy atractiva para su gestión y reciclaje, tanto por su facilidad como por su menor coste en comparación con otros tratamientos. Además, los compost generados poseen una composición que los hace muy adecuados para su uso como enmienda orgánica en la mejora de las propiedades de los suelos (Albiach y col., 2001), ya que actúan como abono de liberación lenta de nutrientes (Moral y Muro, 2008).

El objetivo de este estudio fue la obtención de las mezclas más adecuadas para el compostaje de lodos de EDAR junto a restos vegetales y su posterior valorización agrícola. En el presente trabajo se exponen los resultados del proceso de compostaje de las mezclas realizadas.

2. Material y Métodos

Se elaboraron 8 pilas de compostaje utilizando como residuo principal lodos de depuradora de la EDAR Camp de Turia (Valencia) (L) y otros residuos complementarios como son restos de jardinería (RJ), raspajo de uva (RU), restos forestales (RF), restos de poda de olivo (RO) y almendro (RA) y paja (P), junto a serrín (S) cuando fue necesario para equilibrar las mezclas. Las principales características de los residuos utilizados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Principales características de los residuos utilizados en las pilas de compostaje.

Parámetro	L	RJ	RU	RF	RO	RA	P	S
% Humedad	81,6	24,3	16,8	24,7	12,6	18,4	3,3	12,5
pH (1:5)	7	8,2	8,6	5,6	6,6	6,5	7,6	7,9
CE (1:5) (dS/m)	2,76	4,38	0,46	0,83	0,38	0,47	1,42	1,81
MOT(%)	79	79	89	97	97	96	95	84
COOx (%)	57,9	55,3	53,0	53,7	57,7	58,0	63,1	52,7
NT (%)	5,03	1,22	0,88	0,99	1,85	0,53	0,42	2,14
P_2O_5 (mg/kg)	25.900	1.430	1.460	983	392	522	468	531
K_2O (mg/kg)	1.720	12.100	31.900	3.080	6.610	3.060	7.290	1.510

CE: conductividad eléctrica; MOT: materia orgánica total; COOx: carbono orgánico oxidable; NT: nitrógeno total

Las mezclas de compostaje fueron preparadas con las siguientes proporciones (respecto a peso fresco):

pila 1	pila 2	pila 3	pila 4
36%L + 38%RJ + 26%S	45%L + 25%RJ + 30%S	43%L + 36%RU + 21%S	51%L + 20%RU + 29%S
pila 5	pila 6	pila 7	pila 8
56%L + 18%RF + 26%S	55%L + 10%RO + 35%S	58%L + 14%RA + 28%S	64%L + 36%P

Las pilas, de unos 8000 kg cada una, fueron dispuestas en forma piramidal y volteadas semanalmente, controlando la humedad y suministrándoles el agua necesaria para mantener un nivel superior al 40%. La temperatura se controló durante todo el proceso, dándose por finalizado alrededor de 220 días después de su inicio.

A lo largo del proceso se realizaron 14 muestreos, en cada una de las muestras intermedias se determinaron: humedad, pH, conductividad eléctrica, materia orgánica total, carbono orgánico oxidable y nitrógeno total. Además, en las muestras inicial y final, se determinaron P, K, Mg, Mn, Na, Fe, Ca, Zn y Cu, metales pesados (Cd, Cr, Ni, Pb, Hg), *Salmonella* y *E.coli*.

Las propiedades físico-químicas y químicas fueron analizadas según los Métodos Oficiales del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA, 1986), la determinación de *Salmonella* según el método UNE EN-ISO 6579:2003 y la de *E.coli* según el método de filtración por membrana de APHA (2012).

3. Resultados y Discusión

3.1 Evolución del proceso de compostaje

Tras el montaje de las pilas, éstas mostraron un rápido aumento de la temperatura, alcanzando los 60-70 °C (Figura 1). El patrón seguido por las pilas fue similar en todas ellas, aunque a distintos tiempos, así las primeras en alcanzar dichas temperaturas fueron las que tenían como residuo complementario el raspajo de uva y la que tardó más, alrededor de 39 días, fue la de lodo y paja, quizás debido a los amplios espacios que creaban en el interior de la pila las fibras de paja.

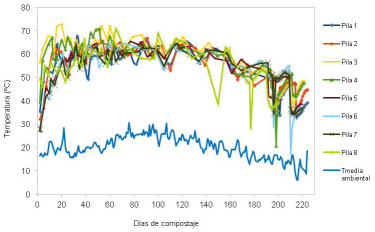


Figura 1. Evolución de la temperatura en las pilas de compostaje.

Al inicio, las pilas presentaron unos valores de pH adecuados según el intervalo indicado en Bernal y col. (2009) para el desarrollo de la actividad microbiana en el proceso (Figura 2). A lo largo del mismo, el pH disminuyó ligeramente en la mayoría de los casos, estando cerca de la neutralidad, excepto en las pilas con raspajo de uva que se mantuvieron con valores similares a los iniciales. En el caso de la conductividad eléctrica, los valores se mantuvieron, con ciertas oscilaciones a lo largo del proceso, en un nivel similar a los valores de inicio, no observándose incremento al final por el efecto de la pérdida de peso (Paredes y col., 2001).

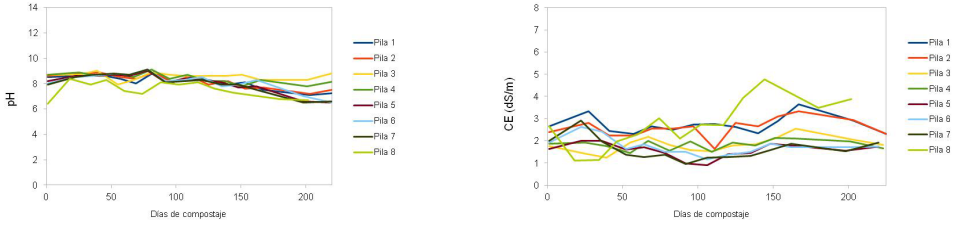


Figura 2. Evolución del pH y la conductividad eléctrica en las pilas de compostaje.

El contenido de materia orgánica (Figura 3) disminuyó a lo largo del proceso, debido a la degradación de la misma, dando lugar a valores finales en los compost similares entre sí. Asimismo, también lo hizo la relación C/N, con valores por debajo de 20, lo cual es indicativo de una madurez aceptable, pero son preferibles aquellos que poseen una relación de 15 o menos (Iglesias y Pérez, 1989).

El contenido de nitrógeno total se incrementó a lo largo del proceso en cinco de las ocho pilas, debido al efecto de concentración (Bernal y col., 2009), dos de ellas más o menos se mantuvieron y en la pila 8 se produjo un descenso bastante acusado, quizás debido a pérdidas por volatilización de amonio (Paredes y col., 2001).

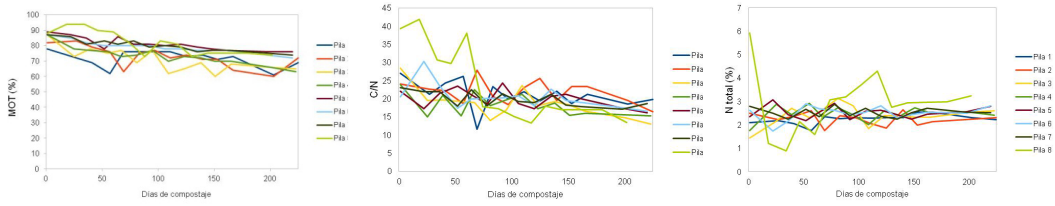


Figura 3. Evolución del contenido de materia orgánica total, la relación C/N y N en las pilas de compostaje.

3.2 Calidad de los compost obtenidos

En la Tabla 2 se muestran las principales características de los compost obtenidos. Al final del proceso los compost presentaron valores de pH cercanos a la neutralidad, de forma similar a lo encontrado por Paredes y col. (2001) al compostar lodos con restos de algodón o a lo encontrado por Roca-Pérez y col. (2006) al hacerlo con residuos de arroz. Los valores de CE de los compost fueron moderados, siempre por debajo de 2,5 dS/m, a excepción del compost de lodo y paja, siendo todos ellos inferiores a los valores encontrados por Paredes y col. (2001) y similares a los de Blaya y col. (2014).

Los niveles de materia orgánica fueron elevados, por encima del mínimo requerido por la legislación española (RD 506/2013) y con valores similares a los encontrados por Paredes y col. (2001) y Bernal y col. (1998) en sus compost de lodos.

La concentración de NT, P y K fue similar a lo encontrado por otros autores para distintos compost de lodos (Bertran y col., 2004; Pérez y Moreno, 2008; Blaya y col., 2014).

El contenido de metales pesados fue similar a los mostrados por Pérez y Moreno (2008) para otros compost de lodos. De los ocho compost, tres (C2, C3 y C8) podrían ser considerados clase C (RD 506/2013) y todos ellos podrían ser utilizados como lodos tratados (RD 1310/1990).

Tabla 2. Principales características de los compost obtenidos.

Parámetro	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
pH (1:5)	7,3	7,6	8,9	8,2	6,5	6,5	6,6	6,7
CE (1:5) (dS/m)	2,31	2,30	1,82	1,67	1,73	1,74	1,92	3,89
MOT(%)	69	72	65	63	76	72	74	74
NT (%)	2,23	2,32	2,60	2,41	2,80	2,81	2,52	3,24
C/N	19,8	16,3	12,9	15,3	16,2	16,5	18,7	13,4
P_2O_5 (mg/kg)	12500	11900	15200	13400	10400	11300	11500	30600
K_2O (mg/kg)	8200	8630	14100	18272	4040	4010	3740	19900
Cd (mg/kg)	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Cu (mg/kg)	114	83,9	161	147	141	143	1220	206
Cr (mg/kg)	25	22	28	25	24	27	24	33
Ni (mg/kg)	19	14	26	19	18	24	18	27
Pb (mg/kg)	270	160	140	200	190	220	230	59
Zn (mg/kg)	732	499	897	1180	1020	1300	1160	951
Hg (mg/kg)	0,64	0,33	0,52	0,6	0,56	0,43	0,71	0,59
Salmonella	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia
E. coli (ufc/g)	1	2	8	13	<1	6	16	31

4. Conclusiones

De acuerdo con lo observado en las características agronómicas de los compost, así como su contenido en metales pesados, podemos concluir que las mezclas más adecuadas para uso agrícola han sido la de lodo con paja (C8), la de restos forestales (C5), la de raspajo de uva (C3) y restos jardinería (C2). Estos compost serán los que se apliquen en campo posteriormente en el proyecto.

5. Bibliografía

Albiach, R, Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F., 2001. Organic matter components and aggregate stability after the application of different amendments to a horticultural soil. Bioresource Technol. 76, 125-129.

APHA, 2012. Method 9222D: Fecal coliform membrane procedure. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association (APHA), the American Water Works Association (AWWA), and the Water Environment Federation (WEF). 22th Edition.

Bernal, M.P., Paredes, C., Sánchez-Monedero, M.A., Cegarra, J. 1998. Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes. Bioresource Technol. 63, 91-99.

Bernal, M.P., Alburquerque, J.A., Moral, R., 2009. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. Bioresource Technol. 100, 5444-5453.

Bertran, E., Sort, X., Soliva, M., Trillas, I. 2004. Composting winery waste: sludges and grape stalks. Bioresource Technol. 95, 203-208.

Blaya, J., Macías, R., Ayuso, M., Morales, A.B., Pascual, J.A., Ros, M. 2014. Evaluación del compostaje de residuos de la industria agroalimentaria como sustratos orgánicos con alto valor añadido para su empleo en semillero: experiencia LIFE+. IV Jornadas de la Red Española de Compostaje, Murcia, 12-14 de noviembre de 2014, pp. 281-285.

Directiva 91/271/EEC, del Consejo Europeo del 21 de mayo de 1991, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas.

Iglesias, E., Pérez, V. 1989. Evaluation of city refuse compost maturity: a review. Biol. Wastes 27, 115-142.

MAPA, 1986. Métodos Oficiales de Análisis del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Moral, R., Muro, J. 2008. Manejo, dosificación y gestión agronómica del compost. En: J. Moreno, R. Moral, (Eds. Científicos) Compostaje. Ed. Mundi Prensa, Madrid, pp. 351-378.

Paredes, C., Bernal, M.P., Roig, A., Cegarra, J. 2001. Effects of olive mill wastewater addition in composting of agroindustrial and urban wastes. Biodegradation 12, 225-234.

Pérez, M.D., Moreno, J. 2008. Residuos urbanos. En: J. Moreno, R. Moral, (Eds. Científicos) Compostaje. Ed. Mundi Prensa, Madrid, pp. 467-488.

RD 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario.

RD 506/2013, de 28 de junio, sobre productos fertilizantes.

Roca-Pérez, L., Martínez, C., Boluda, R. 2006. Aproximación al estudio del compostaje del residuo del arroz y lodo de depuradora a escala piloto. Edafología 13 (1), 1-11.

UNE EN-ISO 6579:2003. Microbiología de los alimentos para consumo humano y alimentación animal. Método horizontal para la detección de Salmonella spp.

6. Agradecimientos

Al Ministerio de Ciencia y Competitividad por la financiación recibida con la Ayuda para contratos Torres Quevedo (PTQ 13-06471), cofinanciado por el Fondo Social Europeo (FSE, "El FSE invierte en tu futuro").

BIOTRANSFORMACIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS DE DISTINTA NATURALEZA COMBINANDO COMPOSTAJE Y VERMICOMPOSTAJE

Aurelia Pérez-Espinosa[1], Justin Camiletti[1], Mª Dolores Pérez-Murcia[1], Enrique Agulló[1], Javier Andreu[2], Mª Angeles Bustamante[1], Concepción Paredes[1], Mauricio Fernández[3], Raúl Moral[1]

[1]Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández
EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[2]Departamento de Ingeniería, Universidad Miguel Hernández
EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[3]COMPOSTINGREEN S.L., Parque Científico y Empresarial Univ. Miguel Hernández de Elche.
Avda. de la Universidad s/n, Edificio Quorum III, 03202 Elche, Alicante
Correo electrónico: aurelia.perez@umh.es

Resumen: El uso de técnicas de valorización de residuos orgánicos combinadas (compostaje + vermicompostaje) empiezan a ser valoradas como propuestas de mejora extrapolables a escala industrial con el fin de mejorar y normalizar la calidad final del producto obtenido. De este modo, los bioproductos, biofertilizantes o enmiendas orgánicas obtenidos a través de esta doble estabilización biológica pueden presentar propiedades adicionales, aumentando así el valor de los materiales únicamente compostados.En este ensayo se han empleado residuos orgánicos de distinta tipología (ganaderos, restos de jardinería, lodos de estaciones depuradoras de aguas residuales urbanas y agroindustriales), con la finalidad de realizar la valorización en dos fases: a) compostaje binario o ternario de estos materiales (9 procesos distintos) empleando el sistema Rutgers a escala comercial y b) los compost maduros obtenidos fueron vermicompostados en contenedor. Se determinaron las calidades de compost y sus respectivos vermicompost, analizando los parámetros pH, CE, materia orgánica total (MOT), carbono orgánico total (COT), contenido nutricional NPK y sodio, capacidad de cambio catiónico e índice de germinación (% IG), realizando un seguimiento de las poblaciones de lombrices.

Palabras clave: lombriz roja, calidad, compost, vermicompost,

1. Introducción

La creciente generación de materiales de origen muy diverso en diferentes actividades, que tienen consideración de residuos o subproductos y de naturaleza fundamentalmente orgánica, procedente de distintos sectores, si bien en el primario (agricultura y ganadería) y en actividades de transformación y también los residuos urbanos como los lodos procedentes de aguas residuales (EDAR) y restos vegetales del mantenimiento de parques y jardines municipales, es donde se está produciendo las mayores cantidades.

La valorización a través del compostaje de estos residuos orgánicos como alternativa para el reciclado y aprovechamiento de los mismos, es muy interesante no solo porque reduce el volumen de estos residuos sino también porque el compost obtenido puede utilizarse con fines agrícolas, recuperándose y aprovechándose así la materia orgánica y los nutrientes contenidos en dichos residuos. En esta misma línea también el vermicompostaje se presenta como un tratamiento de biotransformación adecuado para la obtención de materiales de aplicación agrícola y en la última década, hay ensayos que proponen el uso de tratamientos combinados compostaje y vermicompostaje para la adecuación de la calidad del producto final obtenido (Villar y col., 2016) y

estudios para la comparación entre ambos procesos biológicos (Fornes y col., 2012; Fornes y col., 2013) e incluso abarcando también aspectos medioambientales y económicos de la gestión mediante compostaje y vermicompostaje (Su Lin Lim y col., 2016).

En este trabajo se va a establecer un tratamiento combinado compostaje más vermicompostaje en residuos de distinta naturaleza de modo que podamos determinar que parámetros son los que más cambian con la combinación de ambos procesos y cuál es la calidad final del vermicompost obtenido.

2. Material y Métodos

2.1. Diseño experimental

El proceso de vermicompostaje se ha desarrollado en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (E.P.S.O.) en las instalaciones de COMPOLAB-UMH en cajas de polietileno de alta densidad y resistente a los rayos ultravioletas, de capacidad 27 litros y dimensiones 27 x 37 x 27 cm y 1.5 Kg. Para el drenaje de lixiviado se realizaron 5 agujeros de diámetro 10 mm. El compost introducido, también fue producido en estas instalaciones, mediante pilas volteadas de 15 m^3 y cuyos ingredientes se muestran en la tabla 1. Las cajas fueron humectadas al 80% de su peso, para adecuarlo y que las lombrices se encuentren en un ambiente cercano al ideal. Se inocularon 100 lombrices, lombriz roja de california (*Eisenia foetida*), en los contenedores en cantidad de 4 kg de MS de cada tipo de compost inicial.

Tabla 1. Ingredientes de los compost utilizados en el experimento

CAJA/COMPOSTS	INGREDIENTES (% s.m.s.)
C-1	Estiércol cabra (78,4) + Césped (10,1) + Paja cereal (11,5)
C-2	Lodo EDAR Torrevieja (29,6) + Restos poda morera (70,4)
C-3	Lodo EDAR Orihuela (29,5) + Hoja palmera (36,8) + Poda morera (33,7)
C-4	Lodo EDAR Orihuela (42,2) + Hoja palmera (57,8)
C-5	Lodo EDAR Carrizales (36,2) + Hoja palmera (63,8)
C-6	Lodo EDAR Algorós (29,5) + Caña río (70,5)
C-7	Lodo EDARI (27,5) +Tronco de palmera (72,5)
C-8	Lodo EDARI (19,6) + Caña de río (80,4)
C-9	Lodo EDARI (40,9) + Restos poda EPSO (59,1)

2.1. Métodos analíticos

Cada muestra de compost y vermicompost se obtuvo como resultado de 3 submuestras tomadas de sitios diferentes de la pila/caja correspondientes, considerando todo el perfil (desde la parte superior hasta la parte inferior). Las muestras se secaron al aire y se molieron a 0,5 mm para su análisis y se muestrearon al inicio del vermicompostaje y a los 120 días. En las muestras de compost y vermicompost se determinaron los siguientes parámetros: humedad, pH y conductividad eléctrica en el extracto acuoso 1:10 (p/v), materia orgánica total y cenizas, por pérdida de peso por calcinación a 430ºC, Navarro y col. (1993). Carbono orgánico total y nitrógeno total, quemando la muestra a 1020ºC en un analizador elemental (Navarro y col., 1991), relación C/N, contenido de P, K, Na previa digestión nítrico-perclórica, capacidad de cambio catiónico (CCC) con $BaCl_2$-trietanolamina e índice de germinación (IG), Zucconi et al.,(1985).

2.2. Métodos estadísticos

Se realizó un análisis estadístico Anova de un factor (compost frente a vermicompost) para cada tipo de material y un análisis general lineal multivariante donde se consideran conjuntamente todos los compost frente a todos los vermicompost. En los casos en que la F-ANOVA mostró cierta significación, se empleó la prueba Tukey-b como prueba post-hoc para evaluar las diferencias entre medias específicas, mostrándose en los resultados mediante el empleo de letras para una probabilidad del 95% ($P < 0,05$).

3. Resultados y discusión

En la tabla 2. se muestran algunos de los parámetros más importantes analizados tanto en los nueve composts analizados como en sus respectivos vermicompots.

Tabla 2. Parámetros determinados en los compost (C) y vermicomposts (V).

Caja	pH			CE (dS m^{-1})			MOT (%)		
	C	V	Sign.	C	V	Sign.	C	V	Sign.
C 1	6,88^{a}	7,30^{a}	3,7^{ns}	2,6^{a}	5,5^{b}	507***	54,4^{a}	57,9^{b}	1^{ns}
C 2	6,61^{a}	6,95^{a}	7,1^{ns}	4,4^{a}	4,1^{b}	38**	59,3^{a}	60,7^{a}	0,5^{ns}
C 3	6,53^{a}	6,67^{a}	0,6^{ns}	7,5^{b}	6,9^{a}	24*	63,1^{a}	58,8^{a}	1,4^{ns}
C 4	6,56^{b}	6,11^{a}	7,8*	6,8^{a}	7,6^{b}	25*	47,7^{b}	40,5^{a}	63**
C 5	6,37^{b}	6,21^{a}	7,8*	7,2^{a}	7,1^{a}	0,03^{ns}	34,2^{a}	55,5^{b}	55**
C 6	6,87^{a}	6,60^{a}	1,3^{ns}	3,8^{a}	4,9^{b}	88**	65,7^{b}	44,6^{a}	25**
C 7	6,13^{a}	6,41^{a}	3,1^{ns}	7,6^{b}	4,8^{a}	162***	58,4^{b}	42,7^{a}	15*
C 8	6,12^{a}	6,80^{b}	160***	4,0^{a}	3,4^{a}	24*	48,1^{a}	45,8^{a}	0,2^{ns}
C 9	6,59^{a}	6,64^{a}	0,1^{ns}	5,8^{a}	5,8^{a}	1,0^{ns}	51,6^{a}	50,2^{a}	0,2^{ns}
MGLM*	6,52^{a}	6,63^{b}	4,5*	5,51^{a}	5,55^{a}	0,28^{ns}	48^{b}	45,9^{a}	5,3*
Caja	COT (%)			NT (%)			C/N		
	C	V	Sign.	C	V	Sign.	C	V	Sign.
C 1	33,2^{b}	28,6^{a}	45*	3,04^{a}	2,84^{a}	4,50^{ns}	11^{b}	10,10^{a}	58*
C 2	28,1^{a}	32,0^{b}	21*	3,12^{a}	3,29^{a}	3,20^{ns}	9^{a}	9,7^{b}	26*
C 3	32,4^{b}	29,2^{a}	14*	3,49^{a}	3,39^{a}	0,50^{ns}	9,3^{a}	8,6^{a}	2,10^{ns}
C 4	25,9^{b}	20,8^{a}	241***	2,32^{b}	2,10^{a}	69**	11,2^{b}	9,9^{a}	429***
C 5	23,8^{a}	29,7^{b}	78**	1,59^{a}	3,30^{b}	727***	15^{b}	9^{a}	245***
C 6	22,8^{a}	20,8^{a}	2,7^{ns}	1,89^{a}	2,12^{b}	9,05*	12^{b}	9,8^{a}	174***
C 7	25,6^{b}	21,6^{a}	65**	2,87^{b}	1,69^{a}	219**	8,9^{a}	12,8^{b}	139***
C 8	23,8^{b}	21,1^{a}	58*	2,02^{b}	1,90^{a}	27*	11,8^{b}	11,1^{a}	51**
C 9	26,3^{a}	27,1^{a}	1^{ns}	2,56^{a}	2,49^{a}	0,15^{ns}	10,3^{a}	10,9^{a}	0,51^{ns}
MGLM*	27,2^{b}	26,9^{a}	13**	2,55^{a}	2,60^{a}	0,5^{ns}	10,95^{b}	10,2^{a}	10,2***
Caja	P (%)			K (%)			Na (g kg^{-1})		
	C	V	Sign.	C	V	Sign.	C	V	Sign.
C 1	9,7^{a}	13,9^{b}	35*	7,5^{a}	10,6^{b}	101**	2,5^{a}	2,5^{a}	0,00^{ns}
C 2	15,5^{a}	22,8^{b}	40*	9,3^{b}	6,2^{a}	148***	2,6^{b}	1,1^{a}	161***
C 3	8,7^{a}	15,3^{b}	299***	11,4^{b}	7,1^{a}	72**	4,5^{b}	1,0^{a}	20697***
C 4	6,4^{a}	14,3^{b}	27**	14,7^{b}	13,2^{a}	113***	7,6^{b}	1,6^{a}	41389***
C 5	7,7^{a}	18,9^{b}	466***	10,2^{b}	9,2^{a}	4,80^{ns}	4,1^{b}	1,1^{a}	99***
C 6	10,4^{a}	12,8^{b}	54*	12,9^{b}	7,9^{a}	8,1*	3,4^{b}	1,0^{a}	10*
C 7	11,3^{b}	5,9^{a}	10*	10,3^{a}	11,6^{b}	15*	5,9^{b}	1,5^{a}	321***
C 8	5,1^{a}	6,3^{b}	105**	7,8^{a}	8,4^{b}	15*	2,6^{b}	0,8^{a}	562***
C 9	7,0^{a}	11,5^{b}	97**	11,7^{a}	14,1^{b}	12**	5,2^{b}	1,5^{a}	4680***
MGLM*	9,1^{a}	13,6^{b}	304***	10,65^{b}	9,82^{a}	18***	4,26^{b}	1,33^{a}	2992***

Uno de los beneficios asociados al proceso de vermicompostaje ha sido la disminución significativa del sodio el cual era muy alto en los compost de origen y que en gran medida limitan el uso agrícola de estos composts. Este descenso ha sido importante para todos los casos (entorno al 70%) excepto para C1 (estiércol cabra, césped y paja de cereal), donde no se produjo ningún cambio en los valores obtenidos tras el vermicompostaje. También descendieron los niveles de MOT tras el vermicompostaje, como consecuencia de una mayor mineralización de la materia orgánica a la que son sometidos los compost por las lombrices, excepto en C1, C2 y C5.

Respecto al contenido en nutrientes es de destacar el notable aumento de P en la mayoría de vermicompost, no siendo este efecto tan claro para el potasio, cuyo comportamiento es más dispar, ni para el nitrógeno, aunque en general desciende para la mayoría de los compost tras su vermicompostaje. El fósforo es uno de los elementos que más claramente aumenta en los vermicompots junto con el Ca y Mg (Benítez y col., 2002; Melgar y col., 2009) tal y como ha ocurrido en nuestro estudio, excepto en el compost C7.

Los compost C7 y C8 (compuestos de lodo de residuos agroalimentarios y tronco de palmera y caña de río, respectivamente) mostraron una respuesta positiva en cuanto a la disminución de la salinidad, la perdida de materia orgánica y carbono orgánico y en general en el resto de parámetros. En cambio el C5 es el que tiene el comportamiento más anómalo respecto a lo que debería de ser el proceso de biotransformación mediante vermicompostaje con un aumento importante de su MOT tras el compostaje (% 65), descenso en el % IG y un aumento del nitrógeno total bastante importante, lo que hace pensar en algún tipo de problema respecto a su composición (lodo de depuradora y hoja de palmera). En los parámetros de madurez el proceso de vermicompostaje (tabla 3), ha supuesto un aumento de IG, prácticamente en todos y un claro aumento de la CCC con niveles bastante importantes en algunos compost como el C6 (%106).

Tabla 3. Parámetros determinados en los compost (C) y vermicomposts (V)

Caja	CCC (meq/100g m.o.)			IG (%)		
	C	V	Sign.	C	V	Sign.
C 1	89^{a}	102^{b}	16*	101^{a}	115^{a}	$4,9^{ns}$
C 2	111^{a}	140^{a}	$2,25^{ns}$	128^{a}	132^{a}	$4,55^{ns}$
C 3	139^{a}	171^{a}	$3,00^{ns}$	100^{a}	129^{b}	72^{**}
C 4	131^{a}	169^{b}	27**	98^{a}	111^{b}	8,9*
C 5	157^{a}	216^{b}	11*	144^{b}	127^{a}	8,8*
C 6	70^{a}	144^{b}	46^{***}	130^{a}	150^{b}	18*
C 7	132^{a}	194^{b}	41^{***}	101^{a}	116^{b}	31^{**}
C 8	63^{a}	89^{b}	14*	122^{a}	124^{a}	9,10*
C 9	76^{a}	91^{a}	$5,4^{ns}$	108^{a}	125^{b}	12*
MGLM*	$107,65^{a}$	$146,40^{b}$	104^{***}	115^{a}	126^{b}	54^{***}

4. Conclusiones

Todos los vermicompost obtenidos cumplen con los requisitos mínimos que debe tener una enmienda orgánica para ser considerado vermicompost según el Real Decreto 506/2013 de fertilizantes, respecto a los parámetros analizados en este ensayo, aunque debería de completarse la analítica con metales pesados y patógenos. Respecto a los parámetros indicativos de madurez de los vermicompost finales se produjo un aumento de la CCC y del IG tras el vermicompostaje repercutiendo así en una mejora de su calidad para su uso agronómico.

5. Bibliografía

Benítez, E., Sainz, H. Melagr, R., Nogales, R.2002. Vermicomposting of a lignocellulosic waste from olive oil industry: a pilot scale study. *Waste Manag. Res.* 22, 488-491.

Fornes,F., Mendoza-Hernández, D., García-de-la-Fuente, R., Abad, M., Belda, R.M. 2012. Composting versus vermicomposting: A comparative study of organic matter evolution through straight and combined processes. *Bioresource Technology* 118, 296-305.

Fornes, F., Mendoza-Hernandez, D., y Belda, R.M. 2013**.** Compost versus vermicompost as substrate constituents for rooting shrub cuttings. *Spanish Journal of Agricultural Research* 11(2), 518-528.

Melgar, R.,Benítez,E.,Nogales,R. 2009. Bioconversion of wastes from olive oil industries by vermicomposting process using the epigeic eatrhworm Eisenia andrei. *J. Environ. Sci. Haelth* Part B.44, 488-495.

Navarro, A.F., Cegarra, J., Roig, A. y Bernal, M.P. 1991. An automatic microanalysis method for the determination of organic carbon in wastes. *Commun. Soil Sci. Plant Anal*., 22, 2137-2144.

Nogales, R., Romero, E., Fernández, M. 2014. De Residuo a Recurso. El camino hacia la sostenibilidad. 5. Vermicompostaje: Procesos productos y aplicaciones. Ed. Científicos Moreno, J., Moral, R., García Morales, J.L., Pascual, J.A., Bernal, M.P. Ed. Mundi-Prensa

Su Lin Lim, Leong Hwee Lee, Ta Yeong Wu. 2016. Sustainability of using composting and vermicomposting technologies for organic solid waste biotransformation: recent overview, greenhouse gases emissions and economic analysis.*Journal of Cleaner Production* 111, 262-278.

Villar, I., Alves, D., Pérez-Díaz, Domingo., Mato, Salustiano. 2016. Changes in microbial dynamics during vermicomposting of fresh and composted sewage sludge. *Waste Management* 48, 409-417.

Zucconi**,** F., Pera, A., Forte, M. y de Bertoldi, M. 1981. Evaluating toxicity of immature compost. *BioCycle*,22, 27-29.

CONSORCIOS MICROALGAS-BACTERIAS PARA EL TRATAMIENTO DE EFLUENTES GANADEROS: INFLUENCIA DE LA CARGA ORGÁNICA EN LA PRODUCTIVIDAD Y CONTENIDO DE LÍPIDOS DE LA BIOMASA

Berta Riaño, D. Hernández, M. C. García-González

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, Finca Zamadueñas, 47071 Valladolid, España.
bertariano@yahoo.es (B. Riaño), gargonmi@itacyl.es (M.C. García-González)

Resumen: Los consorcios microalgas-bacterias están siendo objeto de numerosos estudios por su potencial para tratar aguas residuales con alta carga de nutrientes y, al mismo tiempo, generar biomasa valorizable, por ejemplo para producir biodiesel. El presente trabajo investiga el efecto de la velocidad de carga orgánica (VCO) en la productividad de biomasa y en el contenido en lípidos de la misma en un sistema de microalgas-bacterias alimentado con efluente de una granja porcina. Se trabajó con fotobiorreactores de 2,5 L operando en modo semicontinuo y con un tiempo de residencia hidráulica de 6,5 d. Se estudió el efecto de distintas VCO entre 44 y 374 mg demanda química de oxígeno total (DQO_t) L^{-1} d^{-1} manteniendo la misma carga de nutrientes (N y P) en todos los ensayos. Se observó que la producción de biomasa aumenta a medida que aumenta la VCO. Sin embargo, las VCO altas no favorecen el crecimiento de microalgas, cuya densidad en el medio fue similar para todas las cargas estudiadas, sino que son más favorables para el desarrollo de biomasa bacteriana. Asimismo, la VCO también afecta al contenido de lípidos de la biomasa obtenida. Así, a mayor VCO mayor contenido de lípidos en la biomasa producida. Estos resultados ponen de manifiesto la influencia de la velocidad de carga orgánica en la producción de biomasa y en su composición, lo cual determinará su posterior valorización.

Palabras clave: microalgas, purines, biodiesel

1. Introducción.

El uso de sistemas de microalgas-bacterias para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales ha aumentado en los últimos años (Su y col., 2011). En estos procesos, se establece una relación simbiótica entre microalgas (incluyendo cianófitas o cianobacterias) y bacterias en las que las primeras proporcionan oxígeno que es usado para la degradación de la materia orgánica y consumen el CO_2 procedente de la respiración bacteriana. De esta forma se evita la necesidad de airear el medio, constituyendo una alternativa económica a los procesos convencionales de tratamiento (Muñoz y Guieysse, 2006). Asimismo, los nutrientes contenidos en el agua residual pueden ser acumulados en la biomasa durante el proceso y posteriormente valorizados (Su y col., 2011). La combinación del tratamiento de aguas residuales con consorcios microalgas-bacterias y la producción de biomasa es considerada actualmente como una solución económica y viable para la obtención de biocombustibles (Olguín y col., 2015).

Dado el elevado contenido en nutrientes de los efluentes ganaderos, éstos parecen ser idóneos para el cultivo de microalgas, al mismo tiempo que se aborda la problemática de estos residuos en zonas vulnerables. La eficacia de la tecnología algal en el reciclaje de nutrientes ha sido estudiada por diversos autores (de Godos y col., 2010; González-Fernández y col., 2011; Molinuevo-Salces y col., 2016). Estos trabajos han evaluado fundamentalmente el efecto de la concentración de amonio y de las condiciones operacionales (temperatura, periodo de luz,…) sobre la productividad de biomasa y la eficacia de eliminación de nutrientes. Poca información se tiene, sin embargo, sobre el efecto de la velocidad de carga orgánica en la productividad de biomasa y en la composición bioquímica de dicha biomasa, lo cual determina su posterior valorización.

En el presente trabajo se evalúa el efecto de la velocidad de carga orgánica sobre la productividad de biomasa, las poblaciones de microalgas y el contenido en lípidos de la biomasa en sistemas de microalgas-bacterias que operan en semicontinuo alimentados con efluentes ganaderos.

2. Material y Métodos.

2.1. Montaje experimental.

Los ensayos se realizaron utilizando cuatro reactores con un volumen de 2,5 L de policloruro de vinilo (PVC) (16,5 cm de diámetro y 17,5 cm de altura). Los reactores fueron iluminados mediante 3 lámparas fluorescentes con una intensidad de 7500 lux y con un fotoperiodo de 12:12 horas. Los cultivos se mantuvieron a una temperatura media de 21,6 ± 0,4 ºC y con agitación magnética constante (400 rpm).

Los reactores fueron inoculados con un consorcio microalgas-bacterias procedente de un fotobiorreactor que trataba suero lácteo digerido anaeróbicamente en una concentración de 60 mg sólidos suspendidos volátiles (SSV) L^{-1}. Las microalgas fueron identificadas como *Aphanothece* sp., *Chlorella* sp. y *Xenococcus* sp. Una vez inoculados los reactores, se alimentaron diariamente con efluente ganadero previamente centrifugado procedente de una granja porcina de Segovia. La alimentación se diluyó en distintas proporciones, resultando en velocidades de carga orgánica (VCO) entre 44 y 374 mg demanda química de oxígeno total (DQOt) L^{-1} d^{-1} (Tabla 1). La carga diaria amoniacal y de fósforo soluble fue de 21,6 mg L^{-1} d^{-1} y de 0,2 mg L^{-1} d^{-1}, respectivamente, para todos los ensayos. Para alcanzar la misma carga de amonio y fósforo soluble, la alimentación se suplementó con NH_4Cl y Na_2HPO_4. El tiempo de retención hidráulico fue de 6,5 d (387 mL d^{-1}) y los ensayos tuvieron una duración de 22 d.

Tabla 1. Velocidad de carga orgánica de los ensayos.

Ensayo	VCO (mg DQOt L^{-1} d^{-1})
VCO-1	43,5 ± 6,0
VCO-2	103,6 ± 15,1
VCO-3	228,7 ± 42,5
VCO-4	373,7 ± 51,1

Se tomaron muestras del medio de cultivo dos veces por semana para monitorizar la concentración de sólidos suspendidos totales (SST), SSV y el contenido de clorofila. Al finalizar cada ensayo, el cultivo se centrifugó (10 min, 5000 rpm) para concentrar la biomasa. Esta biomasa se liofilizó (Lyoquest 85 Plus Eco, Spain) para la determinación de la concentración de lípidos.

2.2. Métodos analíticos y estadísticos.

La determinación de DQOt, SST y SSV se realizó de acuerdo con los métodos normalizados (APHA, 2005). Para el análisis de clorofila se siguió el método de Hansmann (1973). Los lípidos se extrajeron de la biomasa liofilizada con cloroformo-metanol siguiendo el método propuesto por Kochert (1978). La identificación y cuantificación de las microalgas se llevó a cabo siguiendo las indicaciones del "Phytoplankton Manual" (Sournia, 1978). El análisis estadístico de los datos se realizó usando ANOVA ($p < 0,05$).

3. Resultados y Discusión.

3.1. Productividad de biomasa, contenido de clorofila y cuantificación de algas.

Se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la productividad de biomasa para las distintas condiciones estudiadas (Tabla 2). La productividad aumentó desde 22 hasta 102 mg SSV L^{-1} d^{-1} al aumentar la velocidad de carga orgánica desde 44 hasta 374 mg L^{-1} d^{-1}. El contenido de clorofila es mayor para VCO-1, manteniéndose prácticamente constante a partir de VCO-2 ($p > 0,05$). Sin embargo, aunque se observa una disminución significativa del contenido de clorofila en relación a la concentración de biomasa (disminuyendo casi diez veces desde VCO-1 hasta VCO-4 (Tabla 2)), no se obtuvieron diferencias significativas ($p = 0,06$) en el número de células de microalgas entre los distintos ensayos, que se situó entre 2,6 x10^8 y 1,6 x10^8. Por lo tanto, el aumento de la velocidad de carga orgánica favorece el desarrollo de bacterias dentro del consorcio, debido principalmente a su mayor velocidad metabólica, y a que aunque las microalgas son capaces de degradar materia orgánica, este proceso de degradación es fundamentalmente llevado a cabo por bacterias (Riaño y col., 2011). De esta forma, para velocidades de carga orgánica altas, el consorcio está formado mayoritariamente por biomasa bacteriana y otros microorganismos, como protozoos, manteniéndose el número de células microalgales prácticamente constante.

Las condiciones de cultivo también afectan al desarrollo de poblaciones de microalgas (Fig. 1). Así, para VCO-1 en el cultivo sólo aparece la clorofita *Chlorella* sp. A medida que aumenta la velocidad de carga, esta especie se ve desplazada por la cianofita *Aphanothece* sp. que es la especie predominante (95%) a altas velocidades de carga orgánica estudiada (VCO-4).

Tabla 2. Productividad volumétrica de biomasa, contenido de clorofila y densidad algal en el medio. Letras distintas en la misma columna indican que existen diferencias significativas ($p < 0,05$).

Ensayo	Productividad (mg SSV L^{-1} d^{-1})	Clorofila (mg L^{-1})	Clorofila (mg g SSV^{-1})	Densidad algal (cel L^{-1})
VCO-1	22,0 ± 2,8 ^{a}	1,91 ± 0,24 ^{a}	13,11 ± 2,72 ^{a}	2,6 x10^8 ± 1,6 x 10^{7} ^{a}
VCO-2	36,2 ± 6,7 ^{b}	1,77 ± 0,86 ^{ab}	7,45 ± 2,76 ^{b}	1,6 x 10^8 ± 8,4 x 10^{6} ^{b}
VCO-3	73,7 ± 8,8 ^{c}	1,23 ± 0,41 ^{b}	2,67 ± 1,15 ^{c}	1,9 x 10^8 ± 4,3 x 10^{7} ^{ab}
VCO-4	102,2 ± 13,9 ^{d}	0,86 ± 0,16 ^{b}	1,34 ± 0,22 ^{d}	1,8 x 10^8 ± 6,3 x 10^{6} ^{b}

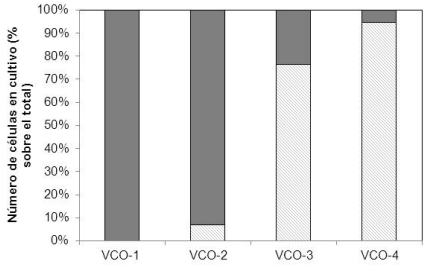


Figura 1. Porcentaje de células de microalgas presentes en el cultivo en los ensayos con distintas cargas orgánicas estudiadas (■ *Chlorella* sp. y ▨ *Aphanothece* sp.).

3.2. Contenido de lípidos de la biomasa obtenida.

El contenido de lípidos en la biomasa producida aumenta significativamente desde un 9% hasta un 14% con el aumento de la velocidad de carga orgánica (Fig. 2). En este sentido, Pérez-García y col. (2011) indicaron que la acumulación de lípidos se puede deber al consumo de fuentes

externas de carbono a una velocidad mayor que la división celular, lo cual favorece la conversión del carbono en lípidos en los cultivos autótrofos y heterótrofos. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Riaño y col. (2012), que encontraron que la carga aplicada era un factor muy importante en la acumulación de lípidos en la biomasa en un sistema de microalgas-bacterias que trataba aguas residuales de piscifactoría. La productividad de lípidos, estimada teniendo en cuenta la biomasa producida y su contenido en lípidos, aumenta hasta 7 veces pasando de 2,0 mg L^{-1} d^{-1} para VCO-1 hasta 14,6 mg L^{-1} d^{-1} para VCO-4.

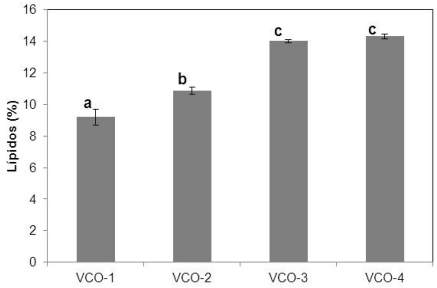


Figura 2. Porcentaje de lípidos en la biomasa producida. Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

4. Conclusiones.

Este estudio demuestra que la velocidad de carga orgánica aplicada a un sistema de microalgas-bacterias influye de forma significativa en la producción de biomasa y en la acumulación de lípidos. Altas velocidades de carga orgánica provocan un desequilibrio entre las poblaciones de microalgas-bacterias en favor de las bacterias. Asimismo, las velocidades de carga orgánica más altas han evidenciado una mayor productividad y contenido de lípidos en la biomasa, lo cual puede suponer un factor determinante a la hora de su posterior valorización en forma de biocombustible.

5. Bibliografía.

APHA, 2005. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. American Water Works Association and Water Environment Federation. 21st ed. American Public Health Association. Washington, D. C.

De Godos, I., Vargas, V.A., Blanco, S., García-González, M.C., Soto, R., García-Encina, P., Becares, E., Muñoz, R., 2010. A comparative evaluation of microalgae for the degradation of piggery wastewater under photosynthetic oxygenation. Bioresour. Technol. 101, 5150-5158.

González-Fernández, C., Riaño-Irazábal, B., Molinuevo-Salces, B., Blanco, S., García-González, M.C., 2011. Effect of operational conditions on the degradation of organic matter and development of microalgae-bacteria consortia when treating swine slurry. Appl. Microbiol. Biotechnol. 90 (3), 1147-1153.

Hansmann, E., 1973. Pigment analysis. In: Stein, J.R. (Ed.), Handbook of Psychological Methods, Culture Methods and Growth Measurements. Cambridge University Press, London, pp. 359–368.

Kochert, G., 1978. Quantitation of the macromolecular components of microalgae. In: Hellebust, J., Craigie, J. (Eds.), Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods. Cambridge University Press, London, pp. 189–195.

Molinuevo-Salces, M., Mahdy, Ballesteros, M., González-Fernández, C., 2016. From piggery wastewater nutrients to biogas: microalgae biomass revalorization through anaerobic digestion. Renew. Energ. 96, part B, 1103-1110.

Muñoz, R., Guieysse, B., 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. Water Res. 40, 2799-2815.

Olguín, E.J., Castillo, O.S., Mendoza, A., Tapia, K., González-Portela, R.E., Hernández-Landa, V.J., 2015. Dual purpose system that treats anaerobic effluents from pig waste and produce Neochloris oleoabundands as lipid rich biomass. New Biotechnol. 32, 3, 387-395.

Pérez-García, O., Escalante, F.M.E., de-Bashan, L.E., Bashan, Y., 2011. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. Water Res. 45, 11–36.

Riaño, B., Hernández, D., García-González, M.C., 2012. Microalgal-based systems for wastewater treatment: effect of applied organic and nutrient loading rate on biomass composition. Ecol. Eng. 49, 112-117.

Riaño, B., Molinuevo, B., García-González, M.C., 2011. Treatment of fish processing wastewater with microalgae-containing microbiota. Bioresour. Technol. 102, 10829-10833.

Sournia, A., 1978. Phytoplankton Manual. Musée National d˘ı Historie Naturelle. United Nations Educational Scientific and Cultural Organization (Unesco), París.

Su, Y., Mennerich, A., Urban, B., 2011. Municipal wastewater treatment and biomass accumulation with a wastewater-born and settleable algal-bacterial culture. Water Res. 45, 3351-3358.

6. Agradecimientos.

Este trabajo ha sido financiado por el INIA (Instituto Nacional Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria) (proyecto RTA 2013-56-C03-01).

GESTIÓN DE LA BIOMASA DE *Phoenix dactylifera*: I. COMPOSTAJE DE TRONCO DE PALMERA CON LODOS DE DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS Y AGROINDUSTRIALES

Maria Dolores Pérez-Murcia[1], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Xavier Barber[2], Enrique Agulló[1], Alberto Vico[1], Jose Antonio Saez-Tovar[1], Concepción Paredes[1], Maria Angeles Bustamante[1], Raul Moral[1]

[1]Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández, EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[2]Centro de Investigación Operativa, CIO-UMH, Universidad Miguel Hernández, Avda Universidad sn, 03202-Elche (Alicante); perez.murcia@umh.es

Resumen: En este estudio se plantea el co-compostaje del tronco de palmera (TP) con lodos de depuradora procedentes de la depuración de aguas residuales urbanas (EDAR) y de la depuración de aguas residuales del sector agroindustrial (EDARI), para el desarrollo de biosustratos y biofertilizantes, como vía de gestión de la biomasa generada. Se configuraron 4 pilas de co-compostaje en las instalaciones de COMPOLAB-UMH, de 15 m^3 utilizando el sistema de pila volteada y donde la proporción de TP en las pilas estuvo en el rango de 77 ± 5% sobre materia seca. Se ha realizado el seguimiento durante el proceso de compostaje, así como se ha evaluado la calidad de los productos finales obtenidos. Los resultados han mostrado que el proceso de compostaje es viable para la estabilización de dichos flujos residuales, aunque el uso de los compost estaría limitado por su elevada salinidad.

Palabras clave: compostaje, biomasa de palmera, lodos depuradora, lodos agroindustriales, biofertilizante

1. Introducción

Las especies palmáceas son un cultivo con una elevada importancia a nivel ambiental, paisajístico, económico y cultural, con una creciente presencia en la UE y especialmente en la cuenca mediterránea del sureste de España. La poda de estas especies representa una gran cantidad de biomasa por hectárea y año que mayoritariamente se deposita en vertedero. La gran cantidad de palmeras afectadas por la plaga de picudo ha incrementado el volumen de biomasa generado así como su tipología, incluyendo flujos residuales asociados a los troncos de palmáceas. Por otra parte, la alta concentración de población y el elevado desarrollo del sector agroindustrial en el sureste español generan una elevada producción de lodos urbanos y agroindustriales. El co-compostaje de estos flujos residuales para su uso como biofertilizante permitiría el aprovechamiento de los nutrientes a la vez que ayudaría a la reposición de los deficientes niveles de materia orgánica de los suelos de la zona, a lo que podríamos asociar también un beneficio ambiental derivado del aumento de carbono secuestrado en el suelo. Otra alternativa sería el uso de los compost obtenidos como biosustrato, reduciendo así los problemas asociados al uso de la turba. El objetivo de este trabajo fue estudiar la viabilidad del proceso de compostaje como método alternativo de gestión a la biomasa de palmáceas usando lodos de depuradora y agroindustriales como fuente de microorganismos y de nitrógeno para el proceso.

2. Material y métodos

Se han elaborado cuatro pilas de compostaje usando tronco de palmera (TP) y lodos procedentes de la depuración de aguas residuales agroindustriales (EDARI) y de agua residuales urbanas (EDAR). El lodo EDARI 1 procedía de una industria de congelados vegetales y de

procesados vegetales de cuarta gama (campaña de pimiento), y se obtuvo mediante tratamiento físico-químico (DAF) y biológico con reactor discontinuo secuencial (SBR). El lodo EDARI 2 procedía de una industria de procesado de fruta (campaña de pera) y se obtuvo tras flotación por cavitación, desnitrificación, aireación forzada MTS y clarificación en reactor USBF. En todos los casos, los lodos obtenidos son deshidratados mediante centrífuga. El lodo EDAR 1 de Elche-Algorós procedía de un proceso biológico de doble etapa, con nitrificación-desnitrificación y fue estabilizado mediante digestión anaerobia. El lodo EDAR 2 de Torrevieja procedía de un proceso de fangos activos de aireación prolongada y fue estabilizado mediante digestión aerobia. El TP usado como agente estructurante fue cortado, secado al aire, triturado y normalizada su granulometría a tamaño < 5 cm. La proporción en base a materia seca de tronco de palmera en las pilas estuvo en el rango de 77 ± 5%. Las principales características físico-químicas y químicas de los materiales iniciales se muestran en la Tabla 1. En general, los lodos presentaron una alta humedad (80-90%), una conductividad eléctrica (CE) similar, pH ácido en el caso de EDARI 1 y EDAR 2 y relación C/N baja, aunque algo superior en el caso de los EDARIs. El tronco de palmera presentó una humedad entorno al 30%, CE alta, pH cercano a la neutralidad y relación C/N alta. Los cuatro procesos de compostaje se han desarrollado en la planta COMPOLAB-UMH. Las pilas trapezoidales de 15 m3 se compostaron mediante el sistema de pila volteada. La temperatura y la humedad (nunca inferior al 40%) se controlaron añadiendo el agua necesaria y volteando la pila cada 7-12 días, aproximadamente. La fase bio-oxidativa se completó cuando la temperatura de las pilas fue estable y próxima a la del ambiente. Se realizaron 4 muestreos, al inicio, en la etapa termófila y final de la fase bio-oxidativa, así como en el momento de madurez (45 días después del final de la fase bio-oxidativa). Las muestras se secaron al aire y tamizaron a 0,5 mm para realizar las determinaciones analíticas. Los parámetros se analizados según los métodos descritos por Bustamante y col. (2012). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Tabla 1. Características de los materiales utilizados como ingredientes en las pilas de compostaje.

Parámetro	TP	EDARI 1	EDARI 2	EDAR 1	EDAR 2
Humedad (%)	30,4	86,3	91,8	79,1	83,3
pH	6,45	5,63	7,19	6,95	4,92
CE (dS/m)	7,21	5,48	5,14	3,75	5,83
MO (%)	78,1	81,5	52,4	65,8	58,1
Corg (%)	37,6	50,5	34,5	36,2	40,1
NT (%)	1,73	6,71	3,30	5,63	6,95
C/N	24,0	7,52	10,4	6,45	5,76
P (g/kg)	1,85	17,4	5,87	29,1	25,1
Na (g/kg)	6,91	8,23	14,6	2,54	2,28
K (g/kg)	13,0	13,3	5,68	2,79	4,72

CE: conductividad eléctrica; MO: materia orgánica; Corg: Carbono orgánico total; NT: nitrógeno total.

3. Resultados y discusión

En la figura 1 se muestra la evolución térmica de las pilas elaboradas expresadas mediante el índice EXI2 (sumatorio cuadrático de la diferencia diaria entre la temperatura promedio de la pila y la temperatura ambiente). Este índice permite comparar procesos de compostaje complejos a nivel de exotermia global y es útil en diseño de mezclas. Se observa que para el co-compostaje de TP con lodo EDARI 1 y lodo EDAR 1 se generaron procesos más intensos a nivel exotérmico que para el resto de lodos empleados, como puede observarse en el índice EXI2. Si se normaliza para el número de días de fase bio-oxidativa (ratio EXI2/días f. bio-oxid.) se observa una mayor eficiencia del proceso bio-oxidativo en el caso del co-compostaje de TP con lodo EDARI 1 (Tabla

3). Esto se produce de forma general y específica dentro de cada tipo de lodo, no estando ligado al número de días en fase termófila. La fase termófila de cada uno de los procesos fue intensa y duradera lo que asegura la higienización de la pila, siendo esto especialmente positivo en las pilas elaboradas con lodos por el riesgo biológico que supondría una mala higienización.

En la mayoría de las pilas, los valores de pH se mantuvieron estables durante el proceso, próximos a la neutralidad, salvo en la pila con lodos EDAR 2 estabilizados aeróbicamente, donde el pH disminuyó durante el proceso desde 6,8 a 6,0 (Tabla 2). El pH en los compost maduros se situó dentro del rango adecuado para su uso agrícola (6,0-8,5) (Hogg y col., 2002). La conductividad eléctrica fue alta al inicio del proceso, con valores superior a 5 dS/m, debido a la alta salinidad de los residuos de tronco de palmera. La CE aumentó en todas las pilas durante el compostaje, especialmente en las pilas EDAR 1, EDAR 2 Y EDARI 2, debido a la producción de compuestos inorgánicos procedentes de la degradación de la materia orgánica y su concentración relativa por pérdida de masa de la pila. Los compost maduros (tabal 3) presentaron valores altos de CE (6,8-12,7 dS/m), superiores al límite establecido para no provocar efectos adversos (3 dS/m) (Lasaridi y col., 2006).

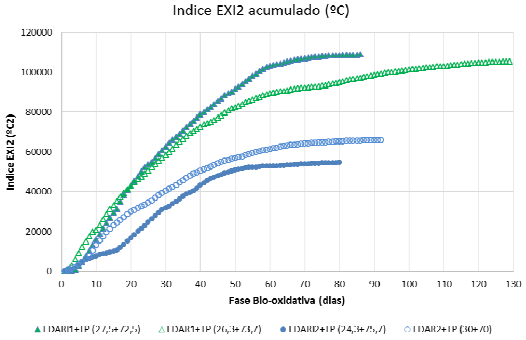


Figura 1. Evolución del índice EXI2 acumulado en la fase bio-oxidativa para las pilas ensayadas.

Tabla 2. Evolución durante el compostaje de los principales parámetros físico-químicos y químicos.

Fase de compostaje	pH	CE (dS/m)	MO (%)	Pérdida MO (%)	Cot/TN	Cot (%)	NT (%)	P (g/kg)	K (g/kg)
66 % EDARI 1 + 34% TP (s.m.f.) [27,5:72,5 s.m.s.]									
Inicio	6,7	6,4	58,8	0,0	20,3	30,9	1,52	3,5	13,9
Termófila	7,0	7,0	45,3	41,9	16,1	24,4	1,52	-	-
Final bio-oxidativa	6,9	6,8	44,4	44,0	14,4	23,4	1,65	-	-
Madurez	6,9	6,8	42,7	47,3	14,5	23,4	1,62	4,8	16,3
66,6% EDARI 2 + 32,4% TP (s.m.f.) [24,3:75,7 s.m.s.]									
Inicio	7,1	8,55	84,5	0,0	20,5	41,9	2,04	3,2	14,9
Termófila	6,9	11,4	80,1	25,5	19,1	40,3	2,11	-	-
Final bio-oxidativa	7,0	12,7	77,4	36,4	16,8	39,8	2,37		
Madurez	7,0	12,7	76,0	41,2	16,6	40,2	2,42	4,6	26,4
52,3% EDAR1 + 47,7% TP (s.m.f.) [26,3:73,7 s.m.s.]									
Inicio	7,0	5,6	60,7	0,0	21,1	31,5	1,50	9,4	12,2
Termófila	7,0	6,9	42,5	51,8	15,7	25,3	1,61	-	-
Final bio-oxidativa	7,0	8,0	41,1	54,5	14,0	22,8	1,63	-	-
Madurez	7,0	8,3	34,0	66,5	11,6	20,2	1,73	8,7	15,7
68,1% EDAR 2 + 31,9% TP (s.m.f.) [30:70 s.m.s)									
Inicio	6,8	5,7	58,3	0,0	16,5	27,9	1,70	7,4	12,0
Termófila	6,4	6,3	48,8	31,8	11,9	25,6	2,14	-	-
Final bio-oxidativa	6,3	7,7	47,5	35,2	11,2	24,4	2,18	-	-
Madurez	6,0	7,2	46,0	39,1	10,7	22,7	2,13	12,2	13,0

TP: tronco palmera; CE: conductividad eléctrica; MO: materia orgánica; COT: carbono orgánico total; NT: nitrógeno total.

La materia orgánica disminuyó a lo largo del proceso de compostaje, principalmente durante la fase termófila, como consecuencia de los procesos de mineralización de la materia orgánica durante el compostaje. Los valores de materia orgánica en los compost finales fueron de 42,7, 34, 46 y 76 % para los elaborados con lodo EDARI 1, EDAR1, EDAR 2 y EDARI 2, respectivamente. La mayor pérdida de MO se dio en la pila con lodos EDAR 1 estabilizados anaeróbicamente y en la que se produjo una elevada exotermia (EXI2), prolongada durante más tiempo. El contenido de nitrógeno total aumentó a lo largo del proceso de compostaje debido al efecto concentración, como consecuencia de la pérdida de peso de la pila por la degradación de la materia orgánica, así como a la posible fijación biológica de nitrógeno. Los valores de NT en los compost finales estuvieron entorno al 2%, siendo inferiores a los encontrados en compost elaborados con digeridos de residuos ganaderos (Bustamante y col., 2012) y a otros materiales utilizados frecuentemente como enmiendas de suelos (Bustamante y col., 2008). El contenido del resto de nutrientes (P y K) aumentó durante el proceso de compostaje probablemente debido al efecto concentración.

En base a la relación capacidad de cambio catiónica/carbono orgánico total (CCC/COT), los compost elaborados con EDAR 1, EDAR 2 y EDARI2 habrían alcanzado un grado de madurez y estabilidad adecuados, aunque habría que tener en cuenta el resto de parámetros. A nivel de fitotoxicidad, los valores del índice de germinación fueron superiores al 50% en todos los casos, lo cual es indicativo de ausencia de fitotoxicidad (Bernal y col., 2009).

Tabla 3. Evaluación de la calidad de los compost obtenidos.

Parámetro	EDARI 1 + TP: 66,0-34,0 % s.m.f.	EDARI 2 + TP: 66,6-32,4 % s.m.f.	EDAR 1 + TP: 52,30-47,70 % s.m.f.	EDAR 2 + TP: 68,1-31,9 % s.m.f.
Índice EXI2 (ºC^2)	108673	54571	105349	65904
Nº Días F.Bio-oxid/ >40ºC	84/56	78/34	127/67	90/78
Ratio EXI2/dias f. bio-oxid.	1294	700	829	732
CE (dS/m)	6,8	12,7	8,3	7,2
CCC (meq/100g MOT)	82	118	112	152
CCC/Cot (meq/g Cot)	1,50	2,22	1,90	3,07
IG (%)	72,0	61,1	76,9	68,7
Densidad aparente (g/cm^3)	0,30	0,15	0,31	0,31
EPT (%)	85,1	91,0	86,2	84,5
Contracción (%)	28,1	9,9	15,3	15,7
CRA (mL agua/L)	684	458	470	480
Contenido aire (%)	16,7	45,2	39,2	36,5

EXI2: sumatorio cuadrático de la diferencia diaria entre la temperatura promedio de la pila y la temperatura ambiente; CE: conductividad eléctrica; CCC: capacidad de cambio catiónico; Cot: carbono orgánico total; IG: índice de germinación; EPT: espacio poroso total; CRA: capacidad de retención de agua.

4. Conclusiones

El co-compostaje de tronco de palmáceas con lodos de depuradora y lodos agroindustriales se ha desarrollado de forma idónea desde el punto de vista de la exotermia del proceso, pudiéndose considerar como una estrategia alternativa de gestión de ambos tipos de residuos. Sin embargo, los compost obtenidos estarían limitados en su uso agrícola, especialmente como biosustratos, por su elevada salinidad.

5. Bibliografía

Bernal M.P., Alburquerque J.A., Moral R. 2009. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. a review. *Bioresource Technology* 100, 5444–5453.

Bustamante M.A., Alburquerque J.A., Restrepo A.P., de la Fuente C., Paredes C., Moral R., Bernal M.P. 2012. Co-composting of the solid fraction of anaerobic digestates, to obtain added-value materials for use in agriculture. *Biomass Bioenergy* 43, 26-35.

Bustamante M.A., Paredes C., Marhuenda-Egea F.C., Pérez-Espinosa A., Bernal M.P., Moral R. 2008. Co-composting distillery wastes with animal manure: Carbon and nitrogen transformations and evaluation of compost stability. *Chemosphere* 72, 551-557.

Hogg D., J. Barth E. Favoino M., Centemero V. Caimi F., Amlinger W., Devliegher W., Brinton W., Antler S.. 2002. Comparison of compost standards within the EU, North America, and Australasia: Main report. Banbury, UK: Waste and Resources Action Programme.

Lasaridi K., Protopapa I., Kotsou M., Pilidis G., Manios G., Kyriacoua A. 2006. Quality assessment of composts in the Greek market: The need for standards and quality assurance. *Journal of Environmental Management* 80: 58-65.

6. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado dentro del marco del proyecto “Desarrollo de nuevos recursos y bioproductos basados en residuos de especies palmáceas orientados al secuestro de carbono y estrategias de mitigación, Palmresource” (Proyecto AGL2013-41612-R), financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad de España y los Fondos europeos de Desarrollo Regional (FEDER, “Una manera de hacer Europa”).

USO DE *Arundo Donax* COMO AGENTE ESTRUCTURANTE EN COMPOSTAJE DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS Y AGROINDUSTRIALES

Mariano Pelegrín[1], Javier Andreu[2], Enrique Agullo[1], Teresa Garcia-Ortuño[2], Maria Dolores Pérez-Murcia[1], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Concepción Paredes[1], Maria Angeles Bustamante[1], Raul Moral[1]

[1]Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández, EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[2]Departamento de Ingeniería, Universidad Miguel Hernández, EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)

Resumen: En este trabajo se exploran las posibilidades del co-compostaje de *Arundo donax* y lodos de depuración de aguas urbanas y agroindustriales con el objetivo de mejorar la gestión de ambos flujos residuales, en un entorno de actuación de pilotaje comercial. Su empleo se ha demostrado muy adecuado, existiendo una correlación directa entre el incremento en el porcentaje de AD en la mezcla con la mejora de las condiciones bioxidativa obteniéndose enmiendas orgánicas equilibradas.

Palabras clave: Giant reed, co-compostaje, depuración, calidad

1. Introducción

En España muchas de las cuencas de los ríos están colonizadas por *Arundo donax* L. (AD), una de las 100 peores especies invasoras del mundo, lo que produce una pérdida importante de biodiversidad. La actual gestión de AD no incluye el aprovechamiento de la biomasa debido a cuestiones organizativas y/o a dificultades técnicas en la extracción de AD de los cauces, por lo que es usual estrangulamientos en los cursos. Por otro lado, la generación de lodos procedentes de la depuración de aguas residuales urbanas y agroalimentarias es creciente siendo el compostaje una de las soluciones de gestión más adecuada para el aprovechamiento por su contenido en materia orgánica y nutrientes. Para ello y debido a su naturaleza (baja relación C/N, elevada humedad y baja porosidad) es necesario plantear el co-compostaje mediante la adición de materiales estructurantes. En este punto la sinergia entre ambos flujos residuales está clara y especialmente en el ámbito del sureste español donde la existencia de materiales carbonosos es escasa. Por ello, en este estudio se plantea el uso de AD como ingrediente significativo en procesos de co-compostaje comercial junto a otros flujos residuales secundarios (lodos EDAR y EDARI), haciendo un seguimiento integral del proceso, incluyendo la evaluación de la calidad de los compost obtenidos.

2. Material y Métodos

En este estudio se han desarrollado 6 procesos de co-compostaje binario entre AD y flujos residuales secundarios (lodos) de estaciones de depuración de aguas residuales urbanas (EDAR) y agroindustriales (EDARI). Estos procesos se han desarrollado a escala comercial en las instalaciones de COMPOLAB-UMH, mediante pilas duplicadas de 7m^3 (3 x 4 x 1,5 m) utilizando pilas volteadas; 4 de los procesos se han realizado usando lodos EDAR de dos depuradoras urbanas (Torrevieja y Elche-Algorós) y 2 usando lodos EDARI, en diferentes ratios lodo+AD (Ver tabla 1). Los fangos EDAR de Torrevieja (EDAR-TO 1 y 2) se generan mediante un proceso de fangos activos de aireación prolongada y son estabilizados mediante digestión aerobia; los fangos

EDAR de Elche-Algorós (EDAR-ALG 1 y 2) proceden de proceso biológico de doble etapa (nitrificación-desnitrificación) y son estabilizados mediante digestión anaerobia. Los lodos EDARI 1 proceden de una industria de congelados vegetales y de procesados vegetales de cuarta gama (campaña de pimiento), y se obtienen mediante tratamiento físico-químico (DAF) y biológico con reactor discontinuo secuencial (SBR). El lodo EDARI2 procede una industria de procesado de fruta (campaña de pera) y se obtiene tras flotación por cavitación, denitrificación, aireación forzada MTS y clarificación en reactor USBF. En todos los casos los lodos obtenidos son deshidratados mediante centrífuga. AD usado como agente estructurante procede del cauce del rio Segura, ha sido cortado, secado al aire, triturado y normalizada su granulometría a tamaño < 5cm. Como parámetros de interés destacar que todos los lodos presentan una conductividad similar, con pH ácidos para EDAR TO y EDARI1. AD presenta una relación C/N de 28,7 similar a la referenciada por Andreu y col (2013)

Tabla 1. Parámetros de interés de los residuos utilizados en el experimento

Parámetro	EDAR TO	EDAR ALG	EDARI 1	EDARI 2	AD
Humedad (%)	82,2	78,3	86,3	91,8	23,8
pH	4,9	6,8	5,6	7,2	6,6
Cond. eléctrica (dS/m)	5,8	4,8	5,5	5,1	3,4
MOT (%)	58,2	47,5	81,4	52,4	76,5
C orgánico total (%)	40,1	31,1	50,5	34,5	36,5
Ratio C/N	5,8	7,4	7,5	10,4	28,7
N (%)	6,9	4,2	6,7	3,3	1,51
P (g/kg)	25,1	36,0	17,4	5,9	1,4
K (g/kg)	4,7	2,7	6,9	5,7	7,4
Na (g/kg)	2,3	3,0	4,5	14,6	2,4

AD: Arundo donax

Las pilas así constituidas se han aireado-homogenizado periódicamente (Cada 7-12 días) y se han muestreado al inicio y final de la fase bioxidativa, así como en el momento de madurez (+45 días después de final de la fase bioxidativa).

3. Resultados y discusión

En la figura 1 se muestra la evolución térmica de las pilas planteadas expresadas mediante el índice EXI2 (sumatorio cuadrático de la diferencia diaria entre la temperatura promedio de la pila y la temperatura ambiente).

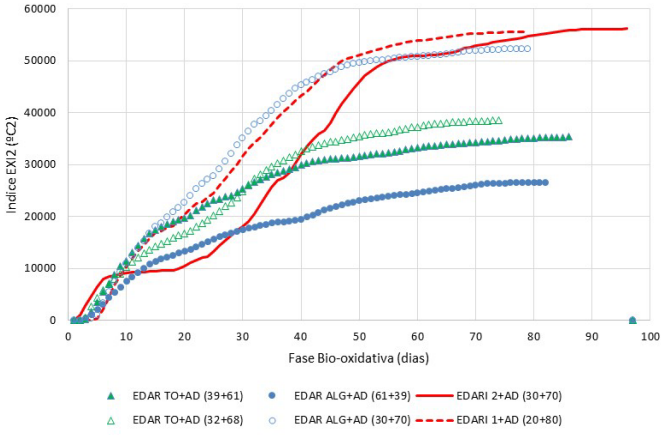


Figura 1. Evolución del índice EXI 2 acumulado en la fase bioxidativa para las pilas ensayadas.

Podemos observar en general que para el co-compostaje de AD los fangos procedentes de EDARI generan procesos más intensos a nivel exotérmico que los procedentes de las EDARs. Si analizamos de forma global todos los procesos y normalizando para el número de días de fase bioxidativa (tabla 3) obtenemos que las mezclas con mayor presencia de AD (>70% s.m.f.) generan mayores ratios EXI2/día lo que indica una eficiencia elevada del proceso bioxidativo controlado. Esto se produce de forma general y especifica dentro de cada tipo de lodo, no estando ligado al número de días en fase termófila.

Tabla 2. Evolución de algunos parámetros de interés durante el compostaje de las pilas (N=4).

Fase de compostaje	pH	CE (dS/m)	MO (%)	Pérdida MO (%)	TOC/TN	COT (%)	N (%)	P (g/kg)	K (g/kg)
Lodo EDAR TO1 + AD: 38,7-61,3% s.m.f. (75,6-24,4 s.m.s.), CIG 22									
Inicio	5,73c	3,55a	47,9d	0,0a	11,4d	23,4d	2,06ab	8,5a	9,1a
Termófila	5,70c	4,52c	41,7c	22,3b	10,5c	22,0c	2,12b	--	--
Final bioxidativa	5,43a	5,77c	40,3b	26,6c	9,0a	21,9b	2,43c	--	--
Madurez	5,60b	3,70b	38,9a	30,5d	9,8b	18,5a	1,89a	9,8b	9,3a
F-ANOVA	***	***	***	***	***	***	**	***	**Ns**
Lodo EDAR TO2 + AD: 32,2-67,8% s.m.f. (69,9: 30,1 s.m.s.), CIG 23									
Inicio	5,64b	3,21b	47,3d	0,0a	12,3c	23,9c	1,95b	6,7a	9,4b
Termófila	5,58b	3,65c	38,9c	28,9b	11,8b	19,1b	1,62a	--	--
Final bioxidativa	5,44a	4,73d	37,1b	34,3c	10,7ª	18,0a	1,67a	--	--
Madurez	5,72c	2,87a	33,1a	44,8d	11,2ab	17,7a	1,59a	9,3b	8,3a
F-ANOVA	**	***	***	***	**	***	***	***	
Lodo EDAR ALG1 + AD: 60,8-39,2% s.m.f. (85,3-14,7 s.m.s.), CIG 16									
Inicio	6,57a	3,05c	58,3d	0,0a	12,7c	30,7d	2,45b	15,3a	6,8a
Termófila	6,72b	2,95b	54,6c	13,9b	12,6c	28,6c	2,28a	--	--
Final bioxidativa	6,71b	2,91b	50,9b	25,3c	10,9b	25,9b	2,37ab	--	--
Madurez	6,81c	2,48a	49,6a	29,6d	10,2a	22,4a	2,24a	19,9b	8,9b
F-ANOVA	**	***	***	***	***	***	*	***	***
Lodo EDAR ALG2 + AD: 29,5-70,5% s.m.f. (59,3-40,8 s.m.s.), CIG 10									
Inicio	6,81b	3,21a	61,5c	0,0a	31,6c	35,5c	1,13a	4,1a	9,0
Termófila	6,80b	5,03d	48,3b	41,4b	14,9b	26,0b	1,75b	--	--
Final bioxidativa	6,80b	4,84c	46,6ab	45,2bc	12,0a	23,2a	1,94c	--	--
Madurez	6,70a	3,44b	44,3a	50,0c	12,4a	22,3a	1,80b	10,8b	10,6
F-ANOVA	**	***	***	**	***	***	***	***	***
Lodo EDARI2 + AD: 30,4-69,6% s.m.f. (78,3-21,7 s.m.s.), CIG 25									
Inicio	7,62c	3,54a	78,5c	0,0a	23,5c	38,5c	1,64a	2,75a	9,3a
Termófila	7,63c	4,55b	73,6b	23,7b	17,4b	36,9b	2,12b	--	--
Final bioxidativa	7,52b	5,21c	71,3b	31,8c	14,8a	35,2a	2,38c	--	--
Madurez	7,43a	5,42d	66,7a	45,2d	14,2a	34,9a	2,46d	4,89b	15,7b
F-ANOVA	**	***	**	***	^***	***	**	***	***
Lodo EDARI1 + AD: 19,6-80,4% s.m.f. (56,7-43,3 s.m.s.), CIG 14									
Inicio	6,34a	3,51a	65,6d	0,0a	21,7c	37,8c	1,75a	3,6a	9,0a
Termófila	6,89b	4,04b	60,6c	17,9b	15,6b	29,4b	1,88ab	--	--
Final bioxidativa	7,06c	4,03b	54,8b	36,2c	13,3a	25,6a	1,93b	--	--
Madurez	6,79b	3,45a	47,5a	52,6d	13,5a	24,8a	1,86ab	5,5b	12,1b
F-ANOVA	***	***	***	***	***	***	*	***	***

CE: conductividad eléctrica; MO: materia orgánica; TOC: carbono orgánico total; Ch: carbono hidrosoluble. *, ** y *** indican diferencias significativas a 0,05, 0,001 y 0,0001. En cada columna, valores medios seguidos con letras distintas indican diferencias significativas ($p<0,05$)

A lo largo de estos procesos comerciales de co-compostaje, el pH no ha variado excesivamente entre la mezcla inicial y el compost maduro, siendo los valores menores en los compostajes que usan lodos EDAR estabilizados aeróbicamente (tabla 2). La conductividad eléctrica suele aumentar en sistemas cerrados pues no se producen episodios de lavado. En nuestro caso, en

todas las pilas se producen aumentos de a salinidad en la fase bioxidativa frente a la mezcla inicial, pero en las fases de madurez se observa una reducción de las sales solubles, salvo para el compost EDARI2+AD. El contenido orgánico desciende en todas las pilas de forma correspondiente a intensidad de la exotermia del proceso, siendo mayor la perdida en la pila EDARI1 y EDAR ALG2.

El contenido en nutrientes primarios NPK varía de forma diferente en función del elemento. Respecto al N total, se observan ascensos, descensos o variaciones poco significativas durante los compostajes ensayados, indicando la complejidad de los procesos involucrados (emisión de especies nitrogenadas volátiles, lixiviación de nitrato). Por lo que respecta a K observamos variaciones entre inicio y madurez poco importantes, a diferencia del P que cuyo incremento varía entre 16 y el 163% de incremento, por lo que podemos asumir la hipótesis de lavado de sales.

Tabla 3. Evaluación de la calidad de los compost generados.

Parámetro	EDAR TO1 + AD: 39-61% s.m.f.	EDAR TO2 + AD: 32-68% s.m.f.	EDAR ALG1 + AD: 61-39% s.m.f.	EDAR ALG2 + AD: 30-70% s.m.f.	EDARI 2+AD: 30-70% s.m.f.	EDARI 1+AD: 20-80% s.m.f.
Nomenclatura Pilas CIG	22	23	16	10	25	14
Índice EXI2 (ºC^2)	35331	38469	26626	52264	56172	55598
Nº Días F.Bioxid/ >40ºC	85/70	73/63	80/12	77/37	95/33	77/39
Ratio EXI2/dias f. bioxid.	416	527	333	679	591	722
CCC (meq/100g MOT)	103	103	130	100	115	65
CCC/Cot (meq/g Cot)	2,16	1,93	2,88	1,98	2.20	1,27
Ind. germinación, IG (%)	113	55	66,4	131	107	72,3
D aparente (g/cm3)	0,32	0,35	0,37	0,27	0,18	0,24
Esp. poroso total, EPT (%)	84,4	83,7	81,3	87,1	89,7	88,6
Contracción (%)	11,6	13,6	11,9	8,0	14,0	7,7
CRA (mL agua/L)	381	407	445	317	455	353
Contenido aire (%)	46,3	43,0	36,8	55,3	44,2	53,3

Índice EXI2: sumatorio cuadrático de la diferencia diaria entre la temperatura promedio de la pila y la temperatura ambiente. F. Bioxid: Fase bioxidativa. CCC: capacidad de cambio catiónico. Cot: carbono orgánico total. Ind. Germinación: índice de germinación. D.aparente: densidad aparente. CRA: capacidad retención de agua

A nivel de producto final, los 6 compost generados presentan una calidad (tabla 3) adecuada en cuanto a su capacidad de cambio catiónico, con valores superiores a 100 en todos los casos, salvo para el compost EDARI2. A nivel de fitotoxicidad, los valores de IG obtenidos usando *Lepidium sativus* son superiores a 50% en todos los casos.

Se ha contemplado un análisis de las propiedades del compost como ingrediente de sustratos, observándose en general una densidad menor que otros compost a base de lodos de depuración asociado el efecto reductor de la fibra remanente de AD. El espacio poroso total es en todos los casos cercano al valor de referencia establecido como ideal (85%). La contracción de estos compost es muy baja y la aireación es muy elevada siendo necesario la gestión integral del régimen de humedad de estos medios con riegos más frecuentes.

4. Conclusiones

El uso de *Arundo donax* como elemento mayoritario en el rol de agente estructurante en procesos de co-compostaje de lodos EDAR y EDARI se ha demostrado muy adecuado, pareciendo existir una correlación directa entre el incremento en el porcentaje de AD en la mezcla con la mejora de las condiciones bioxidativas. Aunque las propiedades de los composts finales se encuentran afectadas por la naturaleza de los lodos utilizados, los valores promedio en unidades fertilizantes N-P_2O_5-K_2O se sitúan en 2,0-2,3-1,4 y muestran una enmienda orgánica equilibrada.

5. Bibliografía

Andreu-Rodriguez, J., Medina , E., Ferrandez-Garcia, M.T., Ferrandez-Villena, M., Ferrandez-Garcia, C.E., Paredes, C., Bustamante, M.A., Moreno-Caselles, J. 2013. Agricultural and Industrial Valorization of Arundo donax L., Commun Soil Sci Plant Anal., 44:1-4, 598-609.

6. Agradecimientos

A las empresas HIDRAQUA S.A., AGUAS DEL ARCO MEDITERRANEO, S.A. Y AIGÜES I SANEJAMENT D`ELX, S.A. por la financiación del convenio 2013-15 para valorización de lodos de depuradora urbanos de los municipios de Orihuela, Torrevieja y Elche.

USO DE LA FLUORESCENCIA EN EL SEGUIMIENTO DE LA HUMIFICACION EN PROCESOS DE COMPOSTAJE

Maria Pilar Gomis[1], Encarnación Martinez-Sabater[1], Frutos Carlos Marhuenda-Egea[2], Maria Dolores Pérez-Murcia[1], Maria Angeles Bustamante[1], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Concepción Paredes[1], Raul Moral[1]

[1]Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[2]Departamento de Bioquímica y Agroquímica, Universidad de Alicante, Facultad de Ciencias, Ap. 99, E-03080, San Vicente del Raspeig (Alicante)
e-mail: frutos@ua.es

Resumen

La espectroscopia de fluorescencia mediante una matriz de excitación-emisión (Fluorescence excitation–emission matrix spectroscopy, EEM) permite caracterizar la fracción de la materia orgánica soluble que presenta fluorescencia (MOSF) con mucho detalle y gran sensibilidad. Los diferentes grupos de biomoléculas, que presentan fluorescencia son los péptidos y proteínas, sustancias de origen microbiológico, así como sustancias de tipo húmico y fúlvico. Estas sustancias varían durante el proceso de compostaje, como consecuencia de las transformaciones que sufren por acción de los microorganismos presentes en el compost. La MOSF es sólo una pequeña parte, pero podemos considerar que los cambios que sufre esta fracción durante el proceso de compostaje son extrapolables a toda la materia orgánica soluble del material compostado.

Palabras clave: EEM, PARAFAC, MOSF, compost.

1. Introducción.

Durante el proceso de compostaje se produce una transformación de la materia orgánica hasta un punto en el cual se considera que el material final puede tener usos en agricultura y otras aplicaciones medioambientales. La materia orgánica soluble (MOS) forma la parte de la materia orgánica disponible para los microorganismos, que van transformando la materia orgánica hasta obtener el producto final. Una parte de esa MOS es fácilmente detectable mediante fluorescencia. Podemos llamar a esa MOS, como MOSF (materia orgánica soluble y fluorescente). Asumiremos que las transformaciones que sufra esta MOSF también son sufridas por toda la MOS. La fluorescencia es una técnica sumamente sensible y que no necesita una excesiva preparación de la muestra. Para preparar la muestra utilizada en fluorescencia, el primer paso es realizar una extracción acuosa del compost (Sección de Materiales y Métodos). Con esta muestra acuosa, y en función de la concentración de MOS, podremos realizar el experimento de análisis de fluorescencia. Este experimento se basa en realizar una serie de barridos a diferentes longitudes de excitación, adquiriendo la energía emitida en forma de luz (esa energía se denomina luz de emisión). Este tipo de experimentos se denominan Excitation-Emission Matriz (EEM)(Murphy, Bro and Stedmon 2014) y con ellos se obtienen una serie de “mapas de contorno”, similares a unas curvas de nivel topográficas. En estos mapas, aparecen una serie de señales anchas, que no son fácilmente separables unas de otras. También es difícil poder identificar los máximos de emisión y de excitación de una forma manual. Para poder identificar los picos correspondientes a los diferentes fluoróforos presentes en la muestra hay que utilizar herramientas quimiométricas, como PARAFAC (Parallel Factor Análisis) (Murphy et al. 2014, Ohno, Amirbahman and Bro 2008). Esta

herramienta de análisis multivariante permite identificar los fluoróforos presentes en una muestra y determinar su contribución a la señal globalDe este modo se pueden identificar los diferentes fluoróforos presentes en un conjunto de muestras y como varía su contenido en las distintas muestras. Así podríamos seguir el proceso de compostaje, analizando cómo se modifica la composición de los MOSF presentes (Marhuenda-Egea et al. 2007). Por ejemplo, los fluoróforos correspondientes a materiales de tipo peptídico son rápidamente degradados por los microorganismos, mientras que los materiales de tipo ácido hùmico y fúlvico van aumentando en la MOSF. Nuestro objetivo era analizar un número elevado de pilas de compostaje mediante fluorescencia y tratar de encontrar un patrón de variación en la concentración y composición de fluoróforos asociado al propio proceso de compostaje.

2. Material y Métodos.

2.1 Preparación de la muestra y análisis de fluorescencia.

En este estudio se han caracterizado la MOSF de 23 procesos distintos de compostaje industrial (10-30 m^3) en 4 momentos del proceso de compostaje (inicio, fase termófila, final fase bioxidativa y madurez) (ver el trabajo de Gomis et al., "Termolabilidad de la materia orgánica residual y su evolucion en funcion de la estabilizacion mediante compostaje", en este mismo compendio para una descripción detallada). Se prepararon las muestras y se realizaron los espectros EEM como se detalla en (Martin-Mata et al. 2015).

2.2 Pretratamiento de los datos y análisis mediante PARAFC.

Utilizamos una nueva técnica de "excisión-interpolación" antes de crear el modelo con PARAFAC (paralallel factor analysis). Este tipo de análisis utilizando PARAFAC ha sido expuesto en detalle en diferentes trabajos (Ohno et al. 2008). El modelado de los datos y el preprocesado se hicieron con MATLAB (Mathworks, 2005) utilizando diferentes algoritmos N-way toolbox y eemscat toolbox (http://www.models.life.ku.dk). Utilizamos el diagnóstico de CONCORDIA para estimar el modelo que mejor recoge la información trilinear (Murphy et al. 2014).

3. Resultados y Discusión.

En este trabajo presentamos un número elevado de diferentes pilas de compostaje. Esto nos permite buscar patrones, que nos ayuden a evaluar la evolución de la materia orgánica durante el proceso. Para ello utilizaremos la espectroscopia de fluorescencia (Excitation, Emissión Matrix, EEM) (Murphy et al. 2014, Marhuenda-Egea et al. 2007). Tal y como hemos descrito en la sección de Materiales y Métodos, los datos brutos de EEM se procesan para eliminar las líneas de dispersión. Después pasamos a aplicar PARAFAC. Con esta herramienta quimiométrica podemos aislar un número de fluoróforos que describen, mediante un modelo matemático, los datos experimentales. La diferencia entre los datos experimentales y el modelo, serán los residuales, es decir, los posibles datos que quedan sin modelar. Si el modelo es correcto, los residuales corresponderán a ruido y artefactos. Sin embargo, es importante revisar los residuales para asegurarnos que no hemos dejado datos importantes fuera del modelo. En la Figura 1 muestra una representación de los datos brutos, el modelo y los residuales.

Para conseguir un buen modelo, tenemos que elegir adecuadamente el número de fluoróforos que buscaremos en los datos brutos y que nos permitirán construir el modelo. Un número elevado de fluoróforos nos crearan muchos artificios matemáticos, pero un número bajo, nos dejará datos

importantes fuera del modelo. En procesos de compostaje se suelen encontrar dos o tres fluoróforos (Marhuenda-Egea et al., 2007). Para muestras desconocidas se optimiza la elección de fluoróforos con el valor de CORCONDIA. Este valor tiene que ser lo más cercano a 100. En nuestro modelo hemos elegido dos fluoróforos, que nos dan un valor de CORCONDIA de 99,7 %. También aplicamos unas restricciones de ortogonalidad y no-negatividad en la construcción del modelo. El primer fluoróforo, o componente 1, del modelo tiene de longitud de? excitación 240 y 325 nm, y de emisión 442 nm en fluorescencia. El segundo fluoróforo, o componente 2, del modelo tiene de longitud de? excitación 225 y 280 nm, y de emisión 313 y 360 nm (Figura 2). Después de revisar los residuales, podemos considerar que estos dos componentes son suficientes para obtener un modelo adecuado a los datos experimentales.

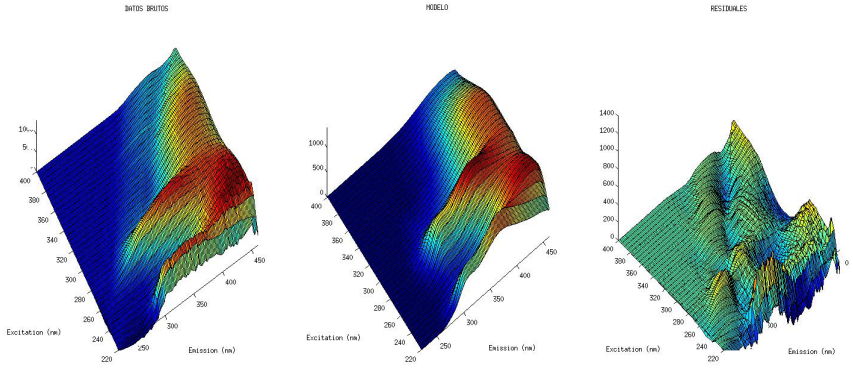


Figura 1. Espectros de EEM de los datos brutos, los datos modelados y los datos residuales.

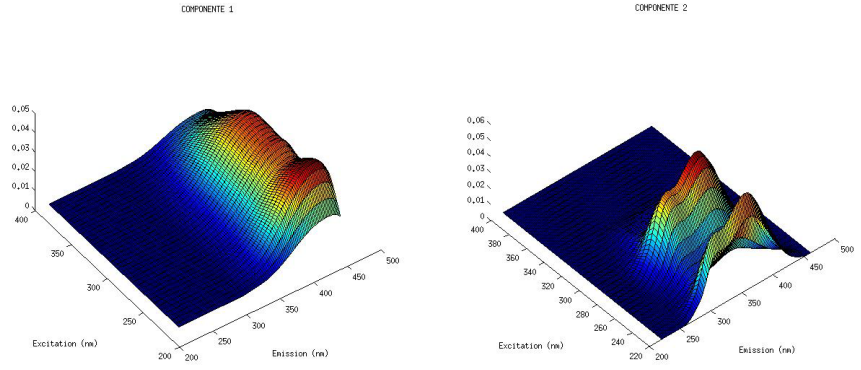


Figura 2. Representación de los componentes o fluoróforos aislados en el modelo de PARAFAC.

El componente 1 del modelo se asocia anillos aromáticos asociados a moléculas orgánicas de gran tamaño, del tipo ácido húmico y ácidos fúlvicos. El componente 2 se asocia a péptidos que contienen los residuos de aminoácidos fluorescentes (triptófano y tirosina). Cada uno de estos dos componentes contribuye, de forma independiente, para construir el modelo para cada una de las muestras. Esta contribución de cada uno de los fluoróforos o componentes aislados nos permitirá seguir el proceso de compostaje. Estamos considerando la MOSF, pero asumimos que los cambios que se produzcan en esta fracción de la MOS también se producirán en toda la MOS. Cuando evaluamos los valores de los componentes 1 y 2, se observa que van disminuyendo

durante el proceso de compostaje. El valor del componente 2 disminuye más rápidamente, pues los péptidos son rápidamente metabolizados por los microorganismos responsables del proceso de compostaje. Pero si queremos comparar entre las diferentes pilas de compostaje, hemos de normalizar los valores de los componentes en cada muestra. Para ello, calculamos el cociente de cada uno de los valores entre la suma de los valores de ese componente a lo largo de los cuatro momentos del muestreo. Construimos la siguiente gráfica de cajas y bigotes (Figura3).

Como podemos observar en la Figura 3, tenemos que el fluoróforo asociado al componente 2 disminuye muy rápidamente, reflejando ese rápido consumo de moléculas fuente de nitrógeno, como son los péptidos. Otra aproximación sería el cálculo de un índice de fluorescencia (F1), que lo calcularíamos como el cociente entre el valor de la contribución del componente 1 y el valor de la contribución del componente 2. En todos los casos hay un aumento del valor de F1 durante el proceso de compostaje (Figura 3). Este índice podría ser complementario de los valores de R1 y R2 calculados mediante análisis térmico. Además, el valor de F1 se podría obtener mediante un sencillo análisis de fluorescencia, tomando las medidas de emisión a 442 nm, con la excitación a 240 nm para el componente 1 y con una emisión de 360 nm y una excitación de 280 nm para el componente 2. Esto no sería un cálculo tan preciso como hacer todo el espectro EEM, pero nos podría dar una aproximación bastante buena de cómo podría estar yendo la transformación de la MOS.

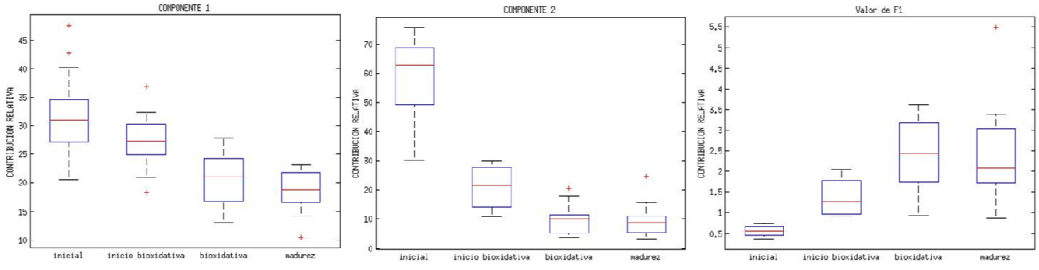


Figura 3. Gráfica de cajas y bigotes de los valores de los componentes 1,2 y gráfica de los valores de F1, calculados durante el proceso de compostaje.

4. Conclusiones.

Este trabajo demuestra la posibilidad real de utilizar la espectroscopia de fluorescencia para seguir el proceso de compostaje, así como proponemos un índice (F1), para poder hacer más sencilla la evaluación de la transformación de la MOS. En los procesos de compostaje podemos observar que el índice F1 aumenta en todas las pilas, debido a que disminuye enormemente el componente 2, asociado los péptidos, moléculas metabolizadas por los microorganismos responsables de la transformación de la materia orgánica. Esto podría permitir plantear la hipótesis de que en los componentes iniciales de la pila tiene que estar disponible material peptídico (componente 2), de tal forma que los microorganismos puedan iniciar el proceso de compostaje de una forma adecuada.

5. Bibliografía.

Marhuenda-Egea, F. C., E. Martinez-Sabater, J. Jorda, R. Moral, M. A. Bustamante, C. Paredes & M. D. Perez-Murcia (2007) Dissolved organic matter fractions formed during composting of winery and distillery residues: Evaluation of the process by fluorescence excitation-emission matrix. *Chemosphere,* 68**,** 301-309.

Martin-Mata, J., F. C. Marhuenda-Egea, R. Moral, A. Torres-Climent, E. Martinez-Sabater, C. Paredes, X. Barber & J. Morales (2015) Characterization of Dissolved Organic Matter from Sewage Sludge using 3D-Fluorescence Spectroscopy and Chemometric Tools. *Communications in Soil Science and Plant Analysis,* 46**,** 188-196.

Murphy, K. R., R. Bro & C. A. Stedmon. 2014. Chemometric Analysis of Organic Matter Fluorescence. In *Aquatic Organic Matter Fluorescence,* eds. P. G. Coble, J. Lead, A. Baker, D. M. Reynolds & R. G. M. Spencer, 339-375.

Ohno, T., A. Amirbahman & R. Bro (2008) Parallel factor analysis of excitation-emission matrix fluorescence spectra of water soluble soil organic matter as basis for the determination of conditional metal binding parameters. *Environmental Science & Technology,* 42**,** 186-192.

6. Agradecimientos.

Este trabajo se ha realizado dentro del marco del proyecto “Desarrollo de nuevos recursos y bioproductos basados en residuos de especies palmáceas orientados al secuestro de carbono y estrategias de mitigación, Palmresource” (Proyecto AGL2013-41612-R), financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad de España y los Fondos europeos de Desarrollo Regional (FEDER, “Una manera de hacer Europa”).

INFLUENCIA DE LA PROPORCION DE RESIDUO DE PALMERA EN EL PROCESO DE CO-COMPOSTAJE CON LODOS DE EDAR

José Antonio Sáez Tovar[1], Maria Dolores Pérez-Murcia[1], Alberto Vico[1], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Xavier Barber[2], Enrique Agulló[1], Concepción Paredes[1], Maria Angeles Bustamante[1], Raúl Moral[1]

[1]Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández, EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[2]Centro de Investigación Operativa, CIO-UMH, Universidad Miguel Hernández, Avda Universidad sn, 03202-Elche (Alicante)
Correo electrónico: marilo.perez@umh.es

Resumen:

En este trabajo se pretende estudiar la influencia del uso de proporciones crecientes de residuo de tronco de palmera (*Phoenix dactylifera*) (TP) en el co-compostaje junto con lodos de EDAR (LD) con el fin de optimizar el proceso a escala comercial. Para ello el estudio se dividió en 3 Fases: en la Fase 1 se realizaron 4 mezclas con diferentes proporciones, C1 (59,5% LD+ 39,5% TP); C2 (39,6% LD+59,4% TP); C3 (34,0% LD+ 66,0% TP); C4 (19,5% LD+ 79,5% TP) en composteras de 350L durante 80 días. Posteriormente en la Fase 2, con los datos obtenidos de la Fase 1 se desarrolló una función modelo haciendo uso de estadística bayesiana, que permite optimizar el proceso a través del ajuste de la proporción de TP en el escenario de co-compostaje considerado en base a la exotermia del proceso. En la Fase 3, con el resultado óptimo obtenido del modelo se preparó una pila a tamaño comercial ($8m^3$), de la que se realizó un seguimiento y análisis del producto final como punto final del proceso de optimización y escalado.

Palabras clave: Modelización, perfil térmico, composteras, índice EXI2, escalado, tronco palmera

1. Introducción

El Plan Nacional de Residuos planteaba como objetivo que la mayoría (67%) de los lodos de EDAR fuesen gestionados a través de su aplicación en suelos agrícolas. Pero las características intrínsecas de estos residuos dificultan un uso ambientalmente sostenible de los mismos, siendo necesario encontrar tratamientos que acondicionen estos residuos y a la vez sean económicamente viables. En este sentido el co-compostaje junto con restos de poda de jardinería se ha mostrado como una tecnología capaz de higienizar y estabilizar el producto, obteniendo un material orgánico humificado, libre de patógenos o compuestos fitotóxicos. Una de las especies vegetales con más presencia en zonas urbanas del sureste español debido a su importancia paisajística y ornamental en parajes protegidos de gran valor es la *Phoenix dactilifera*. Se trata de una especie vegetal que crece muy bien en zonas semiaridas y que además produce gran cantidad de residuo en su poda y mantenimiento, los cuales debido a la falta de sistemas de gestión o tratamiento suponen un problema. Aunque el uso de compostaje como método para gestionar y reutilizar residuos de jardinería ha sido ampliamente estudiado, el uso de este método para el reciclado de los residuos de palmera sólo se ha estudiado en áreas de cultivo de palmeras productoras de dátiles, como Arabia Saudita, Egipto, Marruecos y Túnez (Sadik y col, 2012; El Fels y col, 2014).

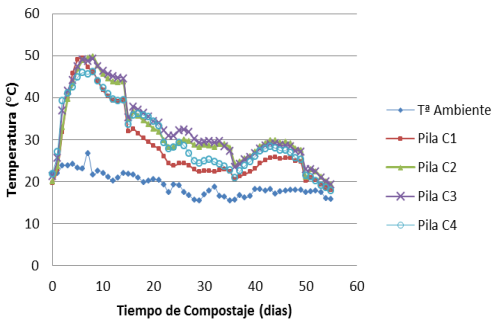
2. Materiales y métodos

Para llevar a cabo la Fase 1 se prepararon 4 mezclas de residuo de Tronco de palmera (TP) y Lodo EDAR, con las proporciones indicadas anteriormente en el resumen. Previo a la preparación de las mezclas el TP era triturado hasta obtener un tamaño de partícula de 1cm. Se procedió a la preparación y homogenización de unos 200 kg de cada mezcla a los que se adicionó un 1% de cáscara de almendra a fin de ajustar la ratio C/N de las mismas. Las diferentes mezclas se colocaron en composteras de unos 350L de polietileno de alta densidad (HDPE), usando volteo periódico (días 15 y 35) para mejorar la aireación y homogeneizar las mezclas. La fase bio-oxidativa de las mezclas duró 56 días (10 días seguidos con diferencia de temperatura entre las pilas y el ambiente menor de 10ºC) con un periodo de maduración de un mes adicional. Se realizaron 5 muestreos, donde cada muestra fue secada al aire y molida a tamaño de partícula < 0,5mm para su posterior análisis. En la Fase 2, con los perfiles térmicos obtenidos de la Fase 1 se desarrolló una función modelo haciendo uso de estadística bayesiana, que permite optimizar el proceso a través del ajuste de la proporción de TP en el escenario de co-compostaje considerado en base a la exotermia del proceso. Para ello se definió el Índice EXI como sumatorio cuadrático de la diferencia diaria entre la temperatura de la pila y la ambiente durante la fase bioxidativa de compostaje y se maximizó dicho índice en función del porcentaje de TP mediante el paquete software R. En el Fase 3 se realizó una pila a tamaño comercial ($8m^3$) utilizando los mismos materiales iniciales que en la Fase 1, y teniendo en cuenta la solución del modelo. Con esta pila se procedió mediante volteo periódico semanal mediante volteadora, ajustando la humedad (>40%). La duración de la fase bioxidativa fue de 127 días y un periodo de madurez de 45 días. Los materiales orgánicos iniciales y las muestras de compost fueron analizados según los métodos descritos por Bustamante y col. (2012). A los datos obtenidos en las analíticas realizadas se les comprobó la normalidad y homogeneidad de las varianzas mediante test de Shapiro-Wilk y Levene, posteriormente se realizó ANOVA de los valores medios de los parámetros físico-químicos determinados en los diferentes tiempos de muestreo, adicionalmente se realizó contraste post-hoc Tukey-b ($p<0,05$).

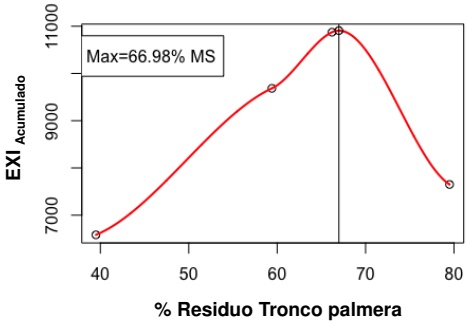
3. Resultados y Discusión

3.1. Fase 1: Compostera

Uno de los indicativos de la actividad microbiana y la biodegradación en las mezclas de compostaje es la temperatura, por lo que este parámetro ha sido considerado tradicionalmente como una variable fundamental en el control del proceso de compostaje. Las 4 pilas presentaron un perfil térmico muy parecido al inicio del experimento (figura 1A), independiente del porcentaje de ambos materiales utilizado en su preparación. Todas las pilas alcanzaron temperaturas termófilas (>40ºC) durante los primeros días, las cuales se mantuvieron durante unos 15 días. Tras el primer volteo (día 15) todas las pilas mostraron un aumento de la Tª, excepto la pila elaborada con menor porcentaje (39,5 %) de TP (Pila C1). Sadik y col. (2012) también observó un mayor aumento en la temperatura con el aumento de la proporción de TP en mezclas preparadas con diferentes materiales ricos en N a fin de regular la ratio C/N de la mezcla.



A. Perfil de Temperatura de las Pilas de la Fase 1.



B. Optimización en función del índice EXI para las mezclas C1, C2, C3 y C4 de la fase 1.

Figura 1. Perfil térmico de las composteras (F. 1) y modelización del comportamiento exotérmico (F. 2).

Las cuatro mezclas preparadas tenían valores iniciales de pH (Tabla 1) casi neutros y no sufrieron grandes cambios durante el proceso, la tendencia observada fue de un ligero aumento en el pH al final del estudio, probablemente debido a la degradación de compuestos de tipo ácido como grupos carboxilo o fenólicos. En todas las mezclas la conductividad eléctrica (CE) al inicio era alta (>5 dS/m), siendo más alta en las mezclas con mayor proporción de TP, debido a que este material tiene también mayor conductividad (7,04 dS/m) que el LD (3,75 dS/m). Durante el proceso tanto las 4 mezclas aumentaron su CE debido a la mineralización de parte de la MO, siendo este aumento más destacado en las mezclas con mayor proporción de LD. Los valores finales de conductividad estaban en un rango de 8,2 - 9,9 dS/m.

En cuanto a la degradación de MO, durante el compostaje todas las mezclas mostraron una disminución significativa del contenido en MO, siendo este descenso más evidente al inicio del proceso en las Pilas C3 y C4, con mayor proporción de TP. Estas pilas también alcanzaron una mayor pérdida total de MO

Tabla 1. Valores medios de la evolución de las Pilas C1, C2, C3 y C4 (Fase 1: composteras).

Muestreo (días)	pH	EC (dS m^{-1})	MO (%)	NT (g kg^{-1})	COT/NT	Perdida MO (%)
Pila C1: 59,2 % Lodo EDAR + 39,8 % TP						
0	7,12	4,91 a	59,7	23,7 a	12,2 a	0,0 a
16	6,93	6,05 b	59,7	24,6 a	11,6 ab	0,8 a
36	7,24	5,87 b	59,3	23,7 a	12,0 ab	4,9 b
56	7,31	7,66 c	58,5	24,3 a	11,1 ab	7,7 c
86	7,08	8,19 c	56,6	26,6 b	10,7 b	14,0 d
ANOVA	ns	***	ns	**	**	***
Pila C2: 39,5 % Lodo EDAR + 59,5 % TP						
0	6,98	5,35 a	68,6 d	25,3 a	12,0 ab	0,0 a
16	6,77	5,62 a	64,1 c	23,3 a	13,2 b	20,6 b
36	7,25	6,80 b	62,2 bc	26,1 ab	11,2 ab	26,5 b
56	6,83	6,39 b	59,5 ab	29,0 b	10,2 a	32,7 c
86	7,11	9,05 c	56,7 a	29,0 b	9,9 a	40,1 d
ANOVA	ns	***	***	**	***	***

Pila C3: 32,5 % Lodo EDAR + 66,5 % TP						
0	6,90	6,12 b	72,9 c	17,0 a	20,2 b	0,0 a
16	6,84	6,30 b	68,0 b	17,3 a	18,3b	23,1 b
36	7,30	5,53 a	63,1 a	25,1 b	12,4 a	37,1 c
56	7,29	7,67 c	59,4 a	24,5 b	12,5 a	45,5 d
86	7,08	9,86 a	58,8 a	24,2 b	12,3 a	46,8 d
ANOVA	*	***	***	***	***	***
Pila C4: 20% Lodo EDAR + 80 % TP						
0	6,86	6,55 a	75,6 d	14,3 a	27,9 b	0,0 a
16	6,75	7,27 b	70,8 c	20,6 b	17,4 a	23,9 b
36	7,20	8,04 c	67,6 bc	20,9 b	15,7 a	33,3 c
56	7,11	8,50 c	65,8 ab	20,4 b	16,3 a	37,9 cd
86	7,06	9,19 d	62,6 a	20,5 b	16,2 a	46,0 d
ANOVA	ns	***	***	***	***	***

3.2. Fase 2: Modelización del proceso

Con el fin de obtener la mezcla óptima a nivel de exotermia, se desarrolla un modelo de optimización basado en el comportamiento exotérmico de las Pilas de la Fase 1. En la figura 1B se muestra el modelo en función del porcentaje de TP y el índice EXI, obteniéndose un máximo absoluto para la mezcla 66,98% TP y 33,02% de LD (en base a peso seco). Para este punto, se produce el valor de EXI más alto y que por tanto el óptimo en la mezcla. Como se puede observar en la gráfica, la proporción de TP tiene gran influencia en la termodinámica de las mezclas.

3.3. Fase 3: Escalado de la Pila a tamaño Comercial

En la pila comercial optimizada con las proporciones establecidas en la Fase 2 se observó un rápido-eficiente inicio del proceso exotérmico (figura 2), alcanzándose Tª termófilas durante los primeros días, las cuales se mantuvieron al menos durante 60 días. Además, el perfil del índice $EXI_{acumulado}$ da idea de una degradación de la MO muy progresiva durante todo el proceso de compostaje.

En cuanto a la evolución de otros parámetros físico-químicos, en la Pila optimizada comercial se observó un pequeño descenso del pH al final del estudio, puede que el mayor tiempo de compostaje se viera reflejado en un proceso de nitrificación más intenso durante la madurez, con la consecuente disminución del pH en la mezcla (Tabla 2). La evolución de la CE durante el proceso siguió un patrón similar al de las pilas de la Fase 1, mientras que la pérdida de MO fue cuantitativamente mayor que las composteras.

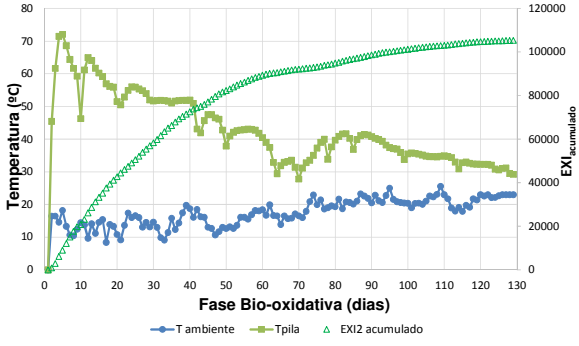


Figura 2. Perfil Térmico y $EXI_{acumulado}$ de la Pila optimizada comercial.

Tabla 2. Valores Medios de las Pila B de tamaño comercial de la Fase 3**.**

Muestreo	pH	EC (dS m^{-1})	MO (%)	NT (g kg^{-1})	COT/NT	Pérdida MO (%)
Start-up, Inicio (0 d)	7,03	5,57	60,7	15,0	21,1	0,2
Inicio F. termófila (46 d)	7,01	6,91	42,5	16,1	15,7	51,8
Final F. bioxidativa (127 d)	6,97	7,98	41,1	16,3	14,0	54,5
Madurez (168 d)	6,98	8,29	34,0	17,3	11,6	66,5

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos permiten concluir que el co-compostaje constituye un método eficiente de tratamiento y reciclado de estos residuos, permitiendo obtener un producto maduro, estable y con buenas características, excepto por su alta salinidad. El uso del Indice EXI para valorar la exotermia de los procesos de co-compostaje junto a la modelización utilizada ha permitido escalar el proceso, que para estos materiales se ha situado en un óptimo de 66,98% TP y 33,02% de LD (que al conformar pilas comerciales puede tener un error en torno al ±5%). En el futuro consideramos que deberían aplicarse modelos más complejos basados no solo en la exotermia sino en la maximización de aspectos positivos (vg. contenido fertilizante NPK) y minimización de aspectos limitantes (vg. CE, Na, polifenoles).

5. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado dentro del marco del proyecto “Desarrollo de nuevos recursos y bioproductos basados en residuos de especies palmáceas orientados al secuestro de carbono y estrategias de mitigación, Palmresource” (Proyecto AGL2013-41612-R), financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad de España y los Fondos europeos de Desarrollo Regional (FEDER, “Una manera de hacer Europa”)

6. Bibliografía

Bustamante, M.A., Alburquerque, J.A., Restrepo, A.P., de la Fuente, C., Paredes, C., Moral, R., Bernal, M.P. 2012. Co-composting of the solid fraction of anaerobic digestates, to obtain added-value materials for use in agriculture. Biomass Bioenergy 43: 26-35.

Sadik M.W, Al Ashhab A.O, Zahran M.K., Alsaqan F.M. 2012. Composting mulch of date palm trees through microbial activator in Saudi Arabia. International Journal of Biochemistry and Biotechnology, 1:156-161.

El Fels, L., Lemee, L., Ambles, A., Hafidi, H. 2014. Identification and biotransformation of lignin compounds during cocomposting of sewage sludge-palm tree waste using pyrolysis-GC/MS. Int. Biodet & Biodeg: 92, 26-35.

MATER, UN PROYECTO PILOTO DE *AGROCOMPOSTAJE* DE RESIDUOS MUNICIPALES EN LA COMUNIDAD VALENCIANA

Marta Ribó[1], Alfons Domínguez[2], Josep Roselló[2], Rodolfo Canet[1]

[1] Centro para el Desarrollo de la Agricultura Sostenible.
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias
Carretera Moncada-Náquera km 4,5 – 46113 Moncada (Valencia)
[2] Servicio de Producción Ecológica, Innovación y Tecnología.
Ciudad Administrativa 9 d'Octubre – Torre 1
Castan Tobeñas – 7 46018- Valencia

El MATER es un proyecto que nace de la mano de la Dirección General de Desarrollo Rural y Política Agraria Común de la Comunidad Valenciana en colaboración con diversos municipios y colectivos, con la intención de desarrollar sistemas de agrocompostaje[1] local de la fracción orgánica de los RSU, basados en la recogida selectiva y el uso directo, a pequeña escala y de km 0 del compost generado.

Uno de los objetivos del Horizonte 2020 es reducir la generación de residuos en un 20% y aumentar hasta un 50% los materiales recuperados mediante su reciclaje. Para alcanzar estos porcentajes es imprescindible la introducción de la recogida selectiva de los residuos orgánicos. Para ello, se están diseñando una serie de experiencias piloto en varios municipios de distintas dimensiones y características, con la intención de plantear modelos alternativos para reducir la cantidad de residuos orgánicos que acaban directamente en vertederos o incineradoras. Como opciones de sistemas de recogida se incluyen la recogida selectiva mediante el sistema puerta a puerta por una empresa especializada o ad-hoc o por el propio agricultor, la utilización de contenedores exclusivos para materia orgánica o la recogida comunitaria en centros escolares y de restauración. Como sistemas de tratamiento de los residuos se plantean tres posibilidades: crear la figura del agricultor que se encargue de recoger y compostar la materia orgánica en su finca (modelo austríaco), que sean las cooperativas agrarias las que realicen esta gestión, o que se lleve a cabo en instalaciones municipales. La principal propuesta de este proyecto es aplicar el principio de proximidad y de cierre de ciclos en el ámbito de lo local, promoviendo el uso agrario de este compost de mejor calidad en los municipios donde se ha generado. También se persigue dinamizar la economía social y las iniciativas sociales integradoras, generando un menor impacto ambiental y económico.

1. Introducción

Según datos del Instituto Nacional de Estadística (2012), la generación de residuos municipales por persona y año en España es de 464 kg, de los que el 43% corresponden a la fracción orgánica, más de 10 puntos por encima de la media Europea. Esto significa que se producen alrededor de 199 kg de materia orgánica por habitante anualmente.

Con estas cifras tan elevadas de generación, la prevención debe ocupar el primer lugar en la escala de la gestión sostenible de los residuos, pero una vez producidos, estos se deben tratar de la manera más adecuada. Los sistemas actuales de recogida y tratamiento, en la mayoría de los casos, no contemplan la recogida selectiva de la fracción orgánica y son ineficientes económica y ecológicamente. A pesar de que la fracción biodegradable puede ser extraída de los residuos mixtos, la denominada fracción resto, y tratada en las plantas de compostaje industrial, el proceso es laborioso y da lugar a un material que generalmente dista mucho de tener la calidad deseada. Es más, según la Ley 22/2011, de 28 de julio, de residuos y suelos contaminados, el material producido en estas plantas no debería tener la denominación de compost, sino de material

[1] La denominación *agrocompostaje* surge de la fracción orgánica compostada directamente en campo para uso del propio agricultor o aquel que lo composta.

bioestabilizado, ya que en muchas ocasiones no reúne las características óptimas para que se le considere un fertilizante orgánico de calidad.

Si nos atenemos a los objetivos del Plan Nacional Integrado de Residuos PNIR 2007-2015 en España, dentro de las medidas consideradas en el mismo, se reconoce que la recogida selectiva es un elemento esencial para aumentar el reciclado. Durante el periodo de vigencia de este Plan, uno de los compromisos fue incrementar la cantidad de fracción orgánica recogida selectivamente como mínimo a dos millones de toneladas, para destinarla a compostaje o biometanización. No obstante, una vez finalizado este periodo, y aunque no se tienen todavía datos precisos, parece que se está lejos de cumplir con estos objetivos. En nuestro país hay muy pocas experiencias de recogida selectiva de los residuos orgánicos; solo se pueden encontrar algunas de ellas en 9 de las 17 comunidades autónomas.

Partiendo de esta circunstancia, en la Comunidad Valenciana se está impulsando el MATER, una iniciativa que nace de la mano de la Dirección General de Desarrollo Rural y Política Agraria Común y que está promovido por la Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural. El objetivo principal de este proyecto es servir de referencia y liderar un cambio de gestión sostenible y local de la fracción orgánica de los residuos por parte de los agricultores, contribuyendo de esta manera a dar soluciones al problema evidente que presentan los RSU en las sociedades actuales, mediante la recogida selectiva de los restos y el compostaje posterior en una finca agraria.

2. Fines buscados por el proyecto MATER

En el MATER se plantea la puesta en marcha de distintos proyectos piloto para compostar la fracción orgánica de los RSU, con un modelo de gestión a pequeña escala, implicando al sector agrario y con un concepto de proximidad, es decir reduciendo la distancia de recorrido de los residuos. El equipo de trabajo que conforma el proyecto son técnicos del Servicio de Producción Ecológica, Innovación y Tecnología y del Servicio de Transferencia de la Conselleria, así como técnicos de los distintos ayuntamientos, alcaldes y otros actores involucrados en la gestión de los municipios.

La intención del MATER es que se genere:

- Una disminución de la fracción desestimada de los RSU, que es de media unas 45 t / 100 hogares, minimizando así el impacto producido. Esta fracción se destinará a la producción de materia orgánica compostada de calidad.
- Una reducción del coste actual por la gestión, producción y transporte de dichos residuos, estimada en 300 €/t. A medio plazo, se pretende una rebaja de las tasas abonadas por la ciudadanía y/o una compensación por el esfuerzo que realiza la población con este fin.
- La gestión local y directa de la materia orgánica, para lo que se cuenta con los agricultores, cooperativas o empresas locales, generando rentas complementarias a estos colectivos.
- Un uso directo del compost que se produzca por parte de agricultores ecológicos, huertos municipales u otras iniciativas de producción agraria.
- El fomento de la economía social y circular. Creación de puestos de trabajo y estimulación de empresas a nivel local, así como una reducción de los actuales gastos de gestión de los RSU.

3. Planteamiento de trabajo

Para facilitar la toma de decisiones a los ayuntamientos implicados en esta iniciativa, se han planteado de forma sistemática y clara las distintas modalidades de recogida y tratamiento de los residuos orgánicos. El modelo por el que se opte dependerá de las características de cada municipio.

En primer lugar, se parte de la idea de que la separación en origen de la fracción orgánica de los RSU es el paso obligatorio para su correcta gestión y para la obtención de un compost de calidad.

En segundo lugar, hay que escoger entre los distintos sistemas de recogida, en base a los requerimientos socio-urbanísticos de cada población. Dependiendo de la tipología urbanística, los hábitos de consumo de la población y la cantidad y composición de esta fracción se optará por un modelo u otro. Se han contemplado varias modalidades de recogida selectiva:

- La recogida de la materia orgánica la realizaría una empresa o consorcio que colabora con el proyecto piloto.
- La recogida la llevaría a cabo un agricultor del municipio o una cooperativa local agraria.
- El sistema de recogida lo efectuaría una empresa social y/o de inserción laboral.

En tercer lugar, es aconsejable que se planifique, conjuntamente con el tipo de recogida, el tratamiento de los residuos orgánicos a aplicar, ya que presentan un alto grado de dependencia. Como sistemas de tratamiento se plantean tres posibilidades:

- El agrocompostaje, en colaboración con los productores, gestionando un volumen en general reducido.
- Que sean las cooperativas agrarias las que realicen esta gestión, obteniendo un volumen mayor de compost.
- Que se lleve a cabo en las plantas de compostaje industrial de forma diferenciada.

De nuevo, dependiendo de las características del lugar de implantación se adoptará un modelo u otro. Sin embargo, en el proyecto MATER se le da una especial prioridad al agrocompostaje, ya que implica al sector y a los propios agricultores realizando el compostaje en sus fincas agrarias. La propuesta está basada en la profesionalización de un nuevo actor en el tratamiento de la materia orgánica, que sería el propio agricultor. Con esta idea se pretende aplicar el principio de proximidad y el cierre de ciclos en el ámbito local, ya que el compost producido se utilizaría como un insumo agrario en la misma explotación agrícola.

Por último, dado que se ha de contar con la colaboración de la población implicada en la recogida selectiva, y siendo uno de los objetivos producir un cambio en el modelo de gestión de los RSU y una reducción de las tasas y costes aparejados a ellos, y teniendo en cuenta el componente social del proyecto, es importante tener un aliciente para los ciudadanos que colaboren positivamente. Por ello, se da la posibilidad de implantar diversas modalidades de incentivos a los que participen en la donación o selección de sus residuos domésticos, bien a través de un sistema de puntos canjeables por servicios y bienes municipales o de empresas locales colaboradoras, bien a través de un sistema de moneda social local. Este incentivo puede ser definitivo para conseguir la colaboración ciudadana y una recogida selectiva de calidad, como así se ha demostrado en otras experiencias.

Así, el agrocompostaje ya se está planteando en diferentes estados de la UE con excelentes resultados de reducción de costes y como una buena alternativa para mitigar los efectos de los GEI. En algunos países como Austria, el agrocompostaje supone el 60% del total de la gestión de la materia orgánica. Además, el modelo austríaco cuenta con más de 300 estaciones agrocompostadoras dirigidas por los propios agricultores y ganaderos, con un coste medio de 50 €/t, muy inferior a los 150-300 €/t a los que ascienden los sistemas habituales de recogida y posterior tratamiento de los RSU. El agrocompostaje se adapta muy bien sobre todo a zonas rurales y zonas más dispersas, donde las instalaciones de compostaje de elevada capacidad no son viables. Una experiencia similar a la aquí se relata también se está promoviendo en la Comunidad de Madrid, bajo el epígrafe de *Madrid Agrocomposta* (Llobera, 2016), donde ya están desarrollando diferentes proyectos piloto que suponen un volumen interesante de recuperación de la materia orgánica junto a la puesta en marcha de una moneda social. En este proyecto ya se han llevado a cabo la recogida de más de 2.000 kg mensuales de residuos orgánicos de alta calidad, con un bajo porcentaje de impropios descartados (un 0,16% sobre el total recuperado).

4. Estado actual del proyecto MATER

Es importante un análisis profundo de la realidad de cada municipio para determinar qué modalidad de gestión es la más adecuada en cada caso. En la actualidad se está pactando la estrategia a seguir con los principales actores (ayuntamientos, mancomunidades de municipios, consorcios) y se están buscando posibles vías de financiación para la ejecución de las diferentes propuestas. En el próximo año se espera poner en marcha un mínimo de tres proyectos pilotos por provincia, con la previsión de consolidar los modelos de mayor éxito y poder extrapolarlos a otros municipios de la Comunidad Valenciana.

5. Referencias

F. Llobera, 2016. Comunicación personal.
http://madridagroecologico.org/tag/agrocomposta/
http://tedxtalks.ted.com/video/El-valor-de-la-basura-organica

ESTUDIO DE LOS PROCESOS DE COMPOSTAJE Y VERMICOMPOSTAJE MEDIANTE TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS (^{13}CPMAS RMN Y FT-IR)

Begoña Mayans[1], Consuelo Escolástico[1], Eduardo Fernández[2], Alberto Masaguer[2]

*[1]Dpto. Química Orgánica y Bio-Orgánica. Facultad de Ciencias, UNED. *Correspondencia autor email: cescolastico@ccia.uned.es*

[2]Dpto. Producción Agraria. E.T.S.I.Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, UPM.

Resumen

Los procesos de compostaje y vermicompostaje son una de las alternativas más eficiente y económica para el tratamiento de los residuos orgánicos. A fin de optimizar dichos procesos y valorar el grado de madurez y estabilidad del producto final obtenido es importante conocer y comparar los cambios químicos que se producen durante el desarrollo de estos procesos. Por ello, el objetivo del trabajo es aplicar técnicas espectroscópicas complementarias como Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido (RMN ^{13}C CPMAS) y espectroscopia de infrarrojo (FT-IR) para analizar las variaciones en la composición y estructura química de una mezcla de residuos orgánicos sometida a dos procesos de trasformación diferentes (compostaje y vermicompostaje). Los residuos orgánicos iniciales (C0) son estiércoles mezclados con restos de poda procedentes del campo de prácticas, naves ganaderas y jardines de la E.T.S.I.A.A.B. Se pre-compostaron durante 60 días y posteriormente se sometieron al proceso de compostaje o vermicompostaje, tomándose muestras a las 2, 4, 6, 8 y 10 semanas. Los espectros de FT-IR y RMN muestran que en ambos procesos hay una disminución en las señales de los materiales más fácilmente degradables como son las cadenas alifáticas (0-45 ppm), (2929 y 2853 cm^{-1}). Además se observa un incremento de las señales de compuestos aromáticos y fenoles (110-160 ppm) debido a los procesos de humificación, siendo mayor en el proceso de vermicompostaje. Aunque los productos finales presentan similitudes, el obtenido por vermicompostaje presenta un incremento en el grado de aromaticidad que podría indicar una mayor estabilidad y humificación, y por tanto mejores cualidades agronómicas.

Palabras clave: Compost, vermicompost, RMN ^{13}C CPMAS, FT-IR.

1. Introducción

Los residuos orgánicos constituyen un grave problema medioambiental dado su enorme producción, principalmente en los países desarrollados. Una de las alternativas para su tratamiento es someterlos a procesos de estabilización como son el compostaje y vermicompostaje, para una óptima utilización en prácticas agrícolas o de restauración ambiental (suelos degradados, etc). Ambos procesos son aerobios y difieren fundamentalmente en el tipo de organismos que intervienen. En el compostaje participan microorganismos quimioheterótrofos que usan los residuos orgánicos como fuente de carbono y energía en fases mesófilas y termófilas, mientras que en el vermicompostaje se usa la acción combinada de lombrices de tierra (*Eisenia sps*) y microorganismos en una fase mesófila (Nogales et al., 2008). El conocimiento de las transformaciones químicas que ocurren en cada uno de los procesos es crucial para evaluar el grado de madurez química y estabilidad biológica del producto final ya que tanto la evolución de la materia orgánica (MO) como las características del producto final pueden ser diferentes (Lazcano et al., 2008). Sin embargo, la heterogeneidad de las muestras representa un problema para su análisis por lo que en los últimos años se han incorporado nuevas técnicas como la RMN en estado sólido (RMN ^{13}C CPMAS) (Albrecht R. et al, 2008) y espectroscopia de infrarrojo FT-IR (Tandy et al, 2010).

Por ello, el objetivo del trabajo es analizar mediante RMN ^{13}C CPMAS y FT-IR la evolución de los procesos de compostaje y vermicompostaje partiendo de un mismo material inicial mezcla de residuos orgánicos, y dilucidar las posibles diferencias entre los dos procedimientos, así como en los productos finales obtenidos.

2. Material y Métodos

2.1 Residuos orgánicos

Los residuos orgánicos iniciales (C0) se componen de una mezcla de estiércoles con restos de poda procedentes del campo de prácticas, naves ganaderas y jardines de la E.T.S.I.A.A.B. Se pre-compostaron 60 días y posteriormente se sometieron por un lado al proceso de compostaje y por otro lado a un proceso de vermicompostaje (*Eisenia fetida*, Savygni).Se tomaron muestras a las 2, 4, 6, 8 y 10 semanas. Corresponden a: C2, C4, C6, C8 y C10 (compostaje) y VC2, VC4, VC6, VC8 y VC10 (vermicompostaje).

2.2 Técnicas espectroscópicas

Los espectros de RMN ^{13}C CPMAS se han llevado a cabo en un espectrómetro Bruker WB-400 a 300K con una frecuencia de 100.73 MHz y sonda DVT de 4 mm. Las muestras se molieron y compactaron en rotores de óxido de zirconio de 4 mm de diámetro con tapas de Kel-F. Los parámetros de adquisición fueron: anchura espectral, 40 kHz; tiempo de repetición, 5s; tiempo de adquisición, 30 ms; tiempo de contacto, 2 ms; y velocidad de giro 12 kHz. Los desplazamientos químicos (δ en ppm) están referidos a la glicina calibrada a 176.1 ppm. Se corrigió la línea base de todos los espectros, y se integraron las siguientes regiones según los desplazamientos químicos: Carbonos alifáticos (0-45 ppm), N-alquílicos (45-60 ppm), O-alquílicos (60-95 ppm), Di-O-alquílicos (95-110 ppm), Aromáticos (110-140 ppm), Fenólicos (140-160 ppm), Carboxílicos (160-190 ppm) y Carbonílicos (190-210 ppm) (Albrecht R., 2008)
Los espectros infrarrojos con transformada de Fourier (IR-TF) se obtuvieron con un equipo FT-R Bruker IFS66v. Las pastillas se prepararon con 2 mg muestra y 98 mg de KBr. Los espectros se registraron entre 7000 y 550 cm^{-1} con resolución de 1 cm^{-1}.

3. Resultados y Discusión

3.1. *RMN ^{13}C CPMAS*

En la figura 1 se presentan los espectros del material inicial (C0) y la serie de muestras sometidas a compostaje y vermicompostaje. En la tabla 1 se muestran los datos de distribución porcentual de los distintos grupos funcionales a partir de los valores de integración de los espectros de RMN. El espectro de C0 presenta dos picos de gran intensidad en la región de los C O-alquílicos (60-95 ppm) en 72 y 74 ppm correspondientes a la celulosa y hemicelulosa, siendo esta región la de mayor representación, un 35.8%. Los C alquílicos (0-45 ppm) suponen un 17.9%; un 12,3% los C aromáticos (110-140 ppm), un 6.1% los fenólicos (140-160 ppm) y un 7.5% los grupos carboxilo (160-190 ppm). Ambos procesos producen una disminución de C alquílicos, hasta un 12% en VC10 y un 11.9% en C10, destaca el pico situado en 29 ppm, atribuible a los C de los grupos metileno de cadenas alifáticas, parte de la MO de fácil degradación; resultados similares fueron obtenidos por Fernández Gómez et al. (2015). En general, los fenoles (140-160 ppm) se asocian a la lignina y se considera que su aumento se debe a la degradación de polisacáridos (60-95 ppm).

Se observa un incremento de un 2.9% en VC10 y 3.1 % en C10 así como de C aromáticos (110-140 ppm) debido a la humificación, siendo mayor en vermicompostaje con un 4,7% de incremento en VC10 frente al 3.3% en C10 (Caricasole, 2011). Los grupos carboxilo aumentan y disminuyen a lo largo del proceso de vermicompostaje manteniendo al final el porcentaje inicial (7.5%), mientras que en el compostaje aumentan al final del proceso un 2.6% que podría ser producido por el proceso de transformación oxidativa durante la biodegradación que introducen grupos carboxilo (Kögel-Knabner, 2002). La relación C-alquílico/O-alquílico se utiliza como indicador de la descomposición de la MO y su incremento indica una pérdida preferencial de carbohidratos y humificación durante el proceso (Tang et al., 2006).

Figura 1. Espectros apilados de RMN^{13}C CPMAS de la serie de VC y C.

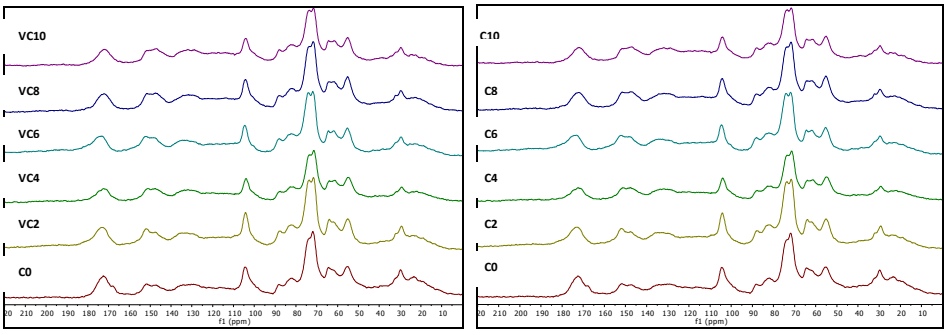


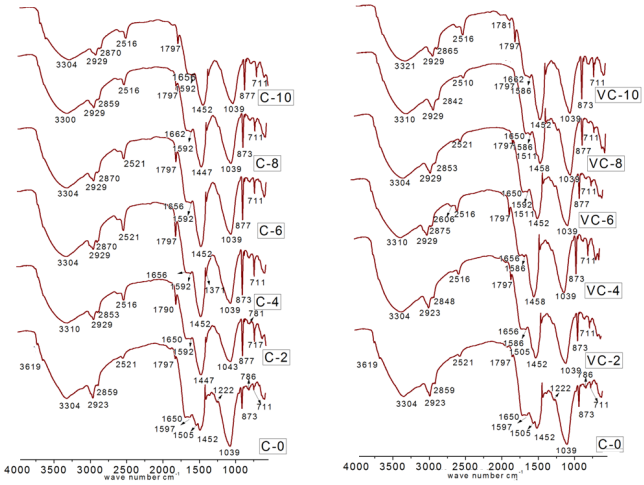
Tabla 1. Distribución de grupos funcionales en la serie del vermicompost (VC) y del compost (C).

DISTRIBUCIÓN GRUPOS FUNCIONALES (%) SEGÚN DESPLAZAMIENTO QUÍMICO (ppm)								
ENMIENDA	0-45 ppm Alquilo	45-60 ppm N-Alquilo	60-95 ppm O-Alquilo	95-110 ppm Di-O-Alquilo	110-140 ppm Aromático	140-160 ppm Fenoles	160-190 ppm Carboxilo	Alquil/O-Alquil
C 0	17.9	11.3	35.8	9.0	12.3	6.1	7.5	0.32
VC 2	13.0	8.7	37.0	8.7	14.3	8.7	9.6	0.24
VC 4	15.0	10.6	35.2	8.4	15.0	8.8	7.0	0.28
VC 6	13.9	8.8	36.6	7.9	13.9	9.7	9.2	0.26
VC 8	14.2	9.8	35.3	8.8	15.2	8.8	7.8	0.26
VC 10	12.0	9.5	36.0	9.0	17.0	9.0	7.5	0.22
C 2	14.5	9.8	38.5	9.8	12.8	6.8	7.7	0.25
C 4	14.4	8.7	36.5	8.7	12.5	8.2	11.0	0.26
C 6	16.4	8.6	37.9	8.6	13.8	6.9	7.8	0.30
C 8	16.2	10.5	35.2	8.6	14.3	7.6	7.6	0.30
C 10	11.9	7.8	35.8	9.6	15.6	9.2	10.1	0.22

3.2 FT-IR

El espectro de FT-IR correspondiente a las series de compost y vermicompost se muestra en la figura 2.

Fig. 2 Espectros apilados FT-IR de la serie C y VC.



Se observa que las bandas atribuidas a los estiramientos de los C-H de cadenas alifáticas en 2929 y 2853 cm^{1} (picos 29 y 22 ppm de RMN), sufren una disminución de intensidad a lo largo de ambos procesos de desde la semana 2 y se estabilizan en la semana 6 como consecuencia de la progresiva maduración del material. Diversas investigaciones han obtenido resultados similares (Grube 2006, Smidt, 2007). La señal de los carbohidratos pierde intensidad (1039 cm^{-1}) desde la semana 2, dado que son compuestos de fácil degradación junto a las cadenas alifáticas, lo que también se observaba en RMN. Las bandas entre 1586 y 1650 cm^{-1} sufren una fuerte disminución de intensidad a partir de la semana 2 en ambos procesos aunque es más notoria en el proceso de compostaje. Esta región muestra los procesos de degradación y síntesis. Si la degradación supera la síntesis se ve una clara disminución de señal (Smidt 2002). La formación de carboxilatos contribuye al aumento de la señal lo que se corrobora con el aumento de la señal de los C-Carboxílicos en el espectro de RMN a lo largo del proceso, donde es posible apreciar variaciones en la intensidad de las señales hasta llegar a estabilizarse al final del proceso.

4. Conclusiones.

Los procesos de compostaje y vermicompostaje dan lugar a materiales estabilizados bastante similares en su composición química cuando se parte de los mismos residuos iniciales, pero difieren en la proporción de los grupos funcionales. El vermicompostaje genera un mayor incremento en los compuestos aromáticos que el compostaje, mientras que este último contiene mayor proporción de grupos carboxilo. Ambos procesos siguen patrones similares en cuanto a la degradación de los componentes fácilmente degradables como los hidratos de carbono o las cadenas alquílicas.

5. Bibliografía.

Albrecht R., Ziarelli F. ,Alarcon-Gutierrez E., Le Petit J.Terrom G., Perissol C. ^{13}C solid-state NMR assessment of decomposition pattern during co-composting of sewage sludge and green wastes. European Journal of Soil Science, June 2008, 59: 445–452.

Caricasole P., Provenzano M.R., Hatcher P.G., Senesi N. Evolution of organic matter during composting of different organic wastes assessed by CPMAS ^{13}C NMR spectroscopy. Waste Management 31 (2011) 411–415

Fernandez-Gomez M., Nogales R., Plante A., Plaza C., Fernandez J.M. Aplication of a set of complementary techniques to understand how varying the proportion of two wastes affects humic acids produced by vermicomposting. Waste Management 35 (2015) 81-88.

Grube M., Lin J.G., Lee P.H., Kokorevicha S. Evaluation of sewage sludge-based compost by FT-IR spectroscopy. Geoderma 130 (2006) 324– 333.

Kögel-Knabner I., The macromolecular composition of plant and microbial residues as imput to soil organic matter. Soil Biology & Biochemistry 34 (2002)139-162.

Lazcano, C., Gómez-Brandón, M., Domínguez, J. (2008). Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure. Chemosphere, 72(7), 1013-1019.

Nogales R., Domínguez, J., Mato, S. (2008). Vermicompostaje. *Compostaje. Editorial Mundi-Prensa, Madrid, Spain*, 187-2008.

Smidt E., Eckhardt K., Lechner P., Schulten H.,Leinweber P. Characterization of different decomposition stages of biowaste using FT-IR spectroscopy and pyrolysis-field ionization mass spectrometry. Biodegradation 2005, 16: 67–79.

Tandy S., Healey J., Nason M., Williamson J., Jones D., Thain S. FT-IR as an alternative method for measuring chemical properties during composting. Bioresource Technology 101 (2010) 5431–5436.

Tang, J., Maie, N., Tada, Y., Katayama, A., 2006. Characterization of the maturing process of cattle manure compost. Process Biochemistry 41, 380–389.

6. Agradecimientos

Este trabajo está financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto CTM2013-47874-C2-1R).

CARACTERIZACIÓN TÉRMICA DE AISLADOS MICROBIANOS PRESENTES EN COMPOSTAJE DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS

Joaquín Moreno, Juan Antonio López-González, Francisca Suárez-Estrella, María José López, María del Carmen Vargas-García, Macarena del Mar Jurado, Mª Ángeles Arcos-Nievas

Área de Microbiología, Departamento de Biología y Geología, Universidad de Almería, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, 04120, Almería. jcasco@ual.es

Resumen: Tradicionalmente se ha descrito el fenómeno de la sucesión de comunidades microbianas a lo largo de las diferentes fases del proceso de compostaje, de modo que comunidades mesófilas son reemplazadas por comunidades termófilas y viceversa, dependiendo de las condiciones de la pila. Este trabajo se ha centrado en el conocimiento de la capacidad de crecimiento de las poblaciones microbianas en un amplio rango de temperaturas, con objeto de conocer la verdadera influencia que ejerce este parámetro físico sobre la microbiota asociada al proceso.

Para ello, sobre una colección de 1457 cepas microbianas aisladas en un proceso de compostaje de residuos lignocelulósicos, se han estudiado los perfiles de termotolerancia de las mismas, comprobando si son capaces de crecer a 20, 30, 40, 50 y 60 ºC en medios adecuados a su desarrollo (Agar Nutritivo para procariotas y Agar Patata Glucosa para eucariotas).

Según nuestros resultados, un 90% de los aislados obtenidos de todo el proceso de compostaje mostraron ser capaces de crecer a un amplio rango de temperaturas, es decir, se trataba efectivamente de microorganismos termotolerantes. Solo un 9% de las cepas estudiadas mostraron un perfil mesófilo, incapaces de crecer a temperaturas superiores de 40 ^{0}C y solo un 1% fueron capaces de desarrollarse exclusivamente a elevadas temperaturas (termófilos). En este sentido, la tradicional consideración de que mesófilos y termófilos van alternando al tiempo que gobiernan cada etapa del proceso, podría verse profundamente modificada, ya que la inmensa mayoría de los microorganismos asociados al proceso de compostaje son termotolerantes.

Palabras clave: Termotolerancia, Microbiota Residente, Microbiota Transeúnte.

1. Introducción.

Durante el compostaje intervienen una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias, actinobacterias y hongos, ligados en una sucesión de ambientes. La diversidad de materiales susceptibles de ser compostados marca la existencia de importantes diferencias en cuanto a la microbiota asociada al proceso específico, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo. Las características nutricionales y la composición del residuo orgánico deciden, en función de la capacidad para modificar tales compuestos, el tipo de microbiota predominante en el proceso, y su distribución a lo largo de las diferentes etapas que lo constituyen. Así, algunos estudios presentan la fase termófila como aquella en la que la carga microbiana alcanza los valores máximos (Chroni y col., 2009), mientras que en otros casos, tal papel queda adjudicado a las etapas de enfriamiento y maduración (Albrecht y col., 2010) e incluso a la fase inicial del proceso (Rebollido y col., 2010). La dinámica poblacional microbiana durante el compostaje también se encuentra influida por el tipo de sistema mediante el que se gestione el proceso. La aplicación de aireación forzada o la utilización de sistemas estáticos, el compostaje al aire libre o en compostadores cerrados u otros aspectos de carácter metodológico influyen de tal manera en las condiciones que

se dan durante el proceso que determinan, en última instancia, la viabilidad final de éste (Gea y col., 2005). Lo que sí es evidente es que la temperatura, además de caracterizar al proceso de compostaje, es consecuencia de la actividad microbiana y a su vez, incide sobre la propia actividad biológica de los microorganismos.

Tradicionalmente se ha considerado que existe una sucesión de poblaciones microbianas gobernada por el perfil térmico del proceso de compostaje, de manera que al principio, predominan los microorganismos mesófilos, y posteriormente, cuando la temperatura se eleva, predominan los microorganismos termófilos. Cuando finaliza la fase activa (bio-oxidativa) del proceso, vuelve a instaurarse una microbiota mesófila que ya queda establecida hasta el final del proceso (Moreno y col., 2013). Este trabajo se ha centrado en el conocimiento de la capacidad de crecimiento de las poblaciones microbianas en un amplio rango de temperaturas, con objeto de conocer la verdadera influencia que ejerce este parámetro físico sobre la microbiota asociada al proceso.

2. Material y Métodos.

En primer lugar, se detalla el desarrollo del proceso de compostaje a partir del cual se llevó a cabo el aislamiento y caracterización de los microorganismos procedentes de las distintas fases del proceso. En segundo lugar, se describe la metodología empleada para la obtención de la colección de cepas tipo. Finalmente, se expone la mecánica del ensayo de comprobación de la termotolerancia a un amplio rango de temperaturas

2.1 Ensayo de Compostaje.

Se constituyeron 3 pilas de compostaje idénticas elaboradas con residuo hortícola procedente de plantas de tomate y astillas de pino, previamente secadas al sol. Las astillas de pino se utilizaron como agente estructurante y material acondicionador para obtener una relación C/N de 25. Cada una de las tres pilas de forma trapezoidal pesó alrededor de 500 kg (1,5 m de ancho x 3 m de largo x 1 m de alto). Para asegurar la correcta aireación de las pilas, éstas fueron tratadas con ventilación forzada (0.6 $m^3 \cdot s^{-1}$ durante 5 minutos cada 4 horas) y volteadas cuando la temperatura descendía. El contenido en humedad inicial se impuso 50% o más, y se mantuvo constante mediante riego a lo largo de toda la fase bio-oxidativa.

2.2 Aislamiento y Caracterización de la Microbiota.

Durante el proceso de compostaje se llevaron a cabo 19 muestreos representativos del mismo, a partir de las cuales se obtuvo una colección de 1457 cepas microbianas mediante el aislamiento y caracterización microbiana por el método clásico de diluciones seriadas. Posteriormente se llevó a cabo una identificación de todas las cepas mediante análisis genético basado en la secuenciación del gen 16S ARNr (para bacterias) y la región 5.8S-ITS (para hongos). Como resultado, se obtuvo un total de 187 especies de bacterias y 69 especies de hongos. En términos generales del proceso, se aislaron 68 especies de *Actinobacteria*, 59 *Firmicutes*, 59 *Proteobacteria* y 1 *Bacteroidete* (bacterias). Por otro lado (hongos), se aislaron 59 especies de *Ascomycota* y 10 de *Basidiomycota*.

2.3 Comprobación de la Termofilia.

Para la realización del ensayo se estableció un rango de temperaturas donde podían crecer o no los microorganismos comprobando así su termotolerancia. Para ello se realizaron siembras en placa desde cada uno de los cultivos puros frescos pertenecientes a la colección de Cepas-Tipo en diferentes medios de cultivo: Agar Nutritivo para bacterias y actinobacterias y Agar Patata Glucosa para hongos. El proceso se repitió para la incubación a distintas temperaturas (20, 30, 40, 50 y 60 ^{0}C) durante 48 horas para bacterias, 120 horas para hongos y hasta 168 horas para actinobacterias. Tras el tiempo de incubación estipulado, se procedió a la lectura de las placas, dándose como positivas aquellas en las que existía crecimiento microbiano (en mayor o menor medida) y negativas en las que tras pasar ese periodo de incubación no se apreciaba crecimiento alguno.

3. Resultados y Discusión.

Se planteó la siguiente clasificación microbiana en función del rango de resistencia de temperaturas, determinándose 3 grupos, dependiendo de si existía o no crecimiento microbiano: Mesófilos, Termotolerantes y Termófilos. En la siguiente tabla (Tabla 1) se observa la clasificación por temperaturas.

Tabla 1. Clasificación microbiana en función del rango de resistencia de temperaturas.

	20 ^{0}C	30 ^{0}C	40 ^{0}C	50 ^{0}C	60 ^{0}C
Mesófilos	No	Sí	No	No	No
Mesófilos	No	Sí	Sí	No	No
Mesófilos	Sí	Sí	No	No	No
Mesófilos	Sí	Sí	Sí	No	No
Termotolerantes	No	Sí	Sí	Sí	No
Termotolerantes	No	Sí	Sí	Sí	Sí
Termotolerantes	Sí	Sí	Sí	Sí	No
Termotolerantes	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Termófilos	No	No	No	Sí	Sí
Termófilos	No	No	Sí	Sí	No
Termófilos	No	No	Sí	Sí	Sí

De acuerdo a los resultados obtenidos, el grupo ampliamente mayoritario fue el de termotolerantes, que registró un 90% del total de las cepas ensayadas. Sin embargo, los grupos de mesófilos y termófilos mostraron valores inferiores, del 9 y 1% respectivamente.

Durante el proceso de compostaje existen fluctuaciones en el crecimiento microbiano. Ciertas etapas del proceso favorecen la proliferación de ciertos grupos microbianos, mientras que otras etapas conducen a su disminución. Esto es debido a factores ambientales (temperatura, humedad, etc.) y nutricionales. La Figura 1 muestra la evolución de los 3 grupos, anteriormente descritos, atendiendo a los 6 estados generales que experimenta el proceso (materias primas, fase mesófila, fase termófila, enfriamiento, maduración y producto final).

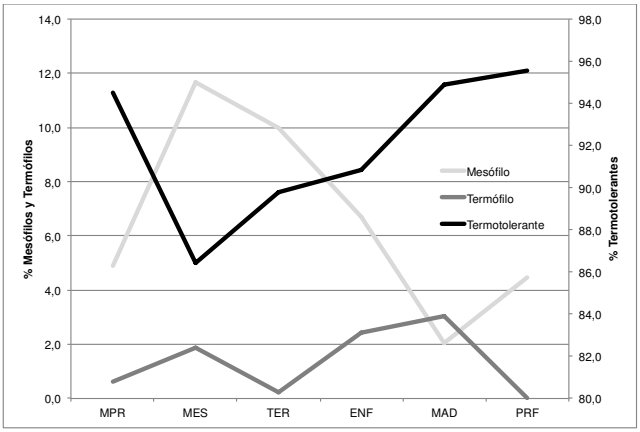


Figura 1. Porcentaje de grupos microbianos registrados durante los diferentes estados del proceso de compostaje en función de su perfil térmico (MPR: materias primas; MES: fase mesófila; TER: fase termófila; ENF: enfriamiento; MAD: maduración; PRF: Producto final).

Los datos reflejan que la evolución de los grupos de mesófilos y termotolerantes es claramente opuesta, de manera que el máximo en uno de los grupos se corresponde con un mínimo en el otro. Además, se puede observar cómo la mayor proporción de mesófilos se alcanza en la etapa mesófila, coincidiendo con la menor proporción de termotolerantes. A medida que el proceso avanza, el grupo de mesófilos va disminuyendo, mientras que los microorganismos termotolerantes incrementan su proporción. Con respecto al grupo de termófilos estrictos, resulta curioso que los valores más pequeños coincidan precisamente con la etapa termófila, sin embargo, la proporción en que se encuentra este grupo microbiano es tan insignificante, en relación con los otros dos grupos, que difícilmente se podrían considerar estos resultados como concluyentes.

Analizando los datos obtenidos por especies, para determinar la importancia de éstas durante el proceso completo, la Tabla 2 muestra las especies que presentaron los mayores recuentos en los tres grupos térmicos evaluados.

Tabla 2. Principales especies microbianas halladas durante el proceso

Grupo microbiano	Especie procariota	Recuento (UFC/g)	Especie eucariota	Recuento (UFC/g)
Mesófilos	*Pseudomonas xanthomarina*	$1{,}27x10^{9}$	*Scopulariopsis hibernica*	$1{,}64x10^{6}$
	Pseudomonas bauzanensis	$6{,}10x10^{8}$	*Graphium putredinis*	$4{,}0x10^{5}$
Termotolerantes	*Bacillus licheniformis*	$3{,}73x10^{9}$	*Scopulariopsis brevicaulis*	$1{,}16x10^{6}$
	Psychrobacter faecalis	$3{,}49x10^{9}$	*Nakazawaea holstii*	$4{,}30x10^{5}$
Termófilos	*Chelatococcus daeguensis*	$9{,}0x10^{7}$	*Aspergillus fumigatus*	$2{,}0x10^{2}$
	Bacillus thermoamylovorans	$3{,}07x10^{7}$	-	-

En procariotas, está ampliamente descrita la importancia en compostaje de especies Gram positivas, destacando las pertenecientes al género *Bacillus* (Karadag y col., 2013). Nuestros resultados se muestran acordes a este hecho, destacando la especie *Bacillus licheniformis* como predominante del proceso. Los resultados obtenidos en eucariotas son más reseñables aún si cabe que los de procariotas, ya que está asociada a los hongos una mayor sensibilidad térmica en procesos de compostaje (Hassen y col., 2001). En este trabajo se pone de manifiesto que aunque existe una amplia y compleja diversidad dentro del proceso de compostaje, son fundamentalmente

los mismos grupos de microorganismos los que a lo largo de todas las fases van produciendo los cambios existentes en las pilas. Este grupo de microorganismos formaría la denominada microbiota residente del proceso de compostaje, que además supone la mayor parte de las poblaciones microbianas presentes en la pila.

4. Conclusiones.

- La inmensa mayoría (>90%) de los microorganismos que participan en el proceso de compostaje son termotolerantes, lo que asegura su presencia en las diferentes etapas del proceso y les confiere una ventaja competitiva evidente. Los microorganismos estrictamente mesófilos o termófilos se encuentran en una proporción insignificante, aunque su papel biológico en el proceso no debe ser despreciado.

- Por último, los resultados obtenidos en este estudio reafirman que no existe una separación de grupos microbianos delimitada por las etapas del compostaje. En realidad, existe una participación solidaria de grupos microbianos de distinta naturaleza que provocan variaciones en la temperatura del interior de las pilas, pero están perfectamente adaptados a estas variaciones, por lo que pueden sobrevivir y multiplicarse sin las limitaciones impuestas por una temperatura que resulta hostil para la mayoría de los seres vivos.

5. Bibliografía.

Albrecht, R., Périssol, C., Ruaudel, F., Le Petit, J., Terrom, G., 2010. Functional changes in culturable microbial communities during a co-composting process: Carbon source utilization and co-metabolism. *Waste Manag*. 30, 764-770.

Chroni, C., Kyriacou, A., Georgaki, I., Mnaios, T., Kotosu, M., Lasaridi, K., 2009. Microbial characterization during composting of biowaste. *Waste Manag*. 5, 1520-1525.

Gea, T., Artola, A., Sort, X., Sánchez, A., 2005. Composting of residuals produced in the catalan wine industry. *Compost Sci. Util.* 13, 168-174.

Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N., Cherif, M., Boudabous, A., 2001. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresource Technol*. 80, 217-225.

Karadag, D., Özkaya, B., Ölmez, E., Nissilä, M. E., Çakmakçı, Yıldız, Ş., Puhakka, J.A., 2013. Profiling of bacterial community in a full-scale aerobic composting plant. *Int. Biodeterior Biodegrad*. 77, 85-90.

Moreno, J., López, M.J., Vargas-García, M.C., Suárez-Estrella, F., 2013. Recent advances in microbial aspects of compost production and use. *Acta Horticul.* 1013, 443-457.

Rebollido, R., Martínez, J., Aguilera, Y., Melchor, K., Koerner, I., Stegmann, R., 2008. Microbial populations during composting process of organic fraction of municipal solid waste. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 6, 61-67.

6. Agradecimientos.

Este trabajo ha sido financiado mediante los proyectos AGL2009-08405 y AGL2012-36434 del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

EVOLUCION DE LAS PROPIEDADES DEL COMPOST MEDIANTE LA COMBINACION DEL VEMICOMPOSTAJE Y COMPOSTAJE RESPECTO AL SOLO COMPOSTAJE DE LOS RESIDUOS.

Nikola Teutscherová, Eduardo Vázquez, Eduardo Fernández, Marta Benito, Alberto Masaguer.

Departamento de Producción Agraria, ETS Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. Universidad Politécnica de Madrid. Av. Puerta de Hierro 2, (28040). Madrid. España. nikola.teutscherova@upm.es

La combinación de una fase de precompostaje en la que se alcanzan temperaturas que aseguren la reducción de patógenos de los residuos y la continuación con una segunda fase de vermicompostaje permite optimizar el tratamiento de biosólidos. La maduración de los residuos a través de un proceso de vermicompostaje permite reducir el tiempo del proceso y obtener un producto de mayor calidad. Se llevó a cabo un ensayo en el que se comparó el compostaje y vermicompostaje de un mismo material (restos de poda y estiércoles) ya precompostado durante 60 días. Parte del material se usó para la construcción de una cama de vermicompostaje en la que se introdujeron lombrices (*Eisenia fetida*). El resto del material continuó en su misma pila el proceso de compostaje. Se tomaron muestras de ambos procesos a las 2, 4, 6, 8 y 10 semanas del inicio para estudiar su evolución. La respiración resultó superior en el vermicompostaje aunque alcanzó su mínimo a las 6 semanas, mientras que la actividad de la deshidrogenasa resultó superior en el compostaje. La nitrificación en el vermicompostaje ocurrió principalmente en las dos primeras semanas, lo que provocó la pérdida de NO_3^-. Los contenidos en materia orgánica, carbono y nitrógeno total se mantuvieron estables en el proceso de vermicompostaje, mientras que en el compostaje dichos valores disminuyeron hasta el final del proceso. Por tanto, la maduración mediante vermicompostaje acelera el proceso pero reduce la descomposición de la materia orgánica, lo cual afecta a las propiedades finales del producto.

Palabras clave: respiración, deshidrogenasa, nitratos, maduración, nitrógeno

1. Introducción.

El uso del compostaje y el vermicompostaje como técnicas para el manejo de residuos orgánicos está ampliamente extendido y permite gestionar estos residuos de manera que puedan convertirse en fertilizantes con valor agronómicos libres de fitotoxicidad y riesgos ambientales. Ambos procesos difieren en el mecanismo utilizado para la descomposición de la materia orgánica (MO). En el caso del compostaje, esta degradación es llevada a cabo por microorganismos e incluye una primera fase termófila en la cual se alcanzan altas temperaturas que aseguran la higienización del producto obtenido. Por su parte, en el proceso de vermicompostaje esta degradación de la MO es llevada a cabo tanto por microorganismos como por lombrices introducidas en residuo, lo cual, acorta los plazos del proceso, reduce los costes y mejora las propiedades finales del producto final. Sin embargo, el uso del vermicompostaje presenta el problema de la higienización del residuo, puesto que en este método no se pueden alcanzar temperaturas superiores a los 35ºC que provocarían la muerte de las lombrices (Ndegwa y Thomson 2001). Una posible solución es la integración de ambos procesos de manera que se puedan obtener las ventajas de ambos. Esto pasaría por una primera fase de compostaje que incluyese la fase termófila en la que el residuo se higienizase, y una segunda de vermicompostaje que permitiese obtener un producto de mejor calidad. Varios estudios han comparado la

integración de ambos procesos y su resultado sobre la calidad del producto final (Ndegwa y Thomson 2001), así como la evolución de diferentes parámetros a lo largo de ambos procesos (Tognetti et al., 2007). Sin embargo, poca atención se ha prestado a la evolución de parámetros microbiológicos a lo largo del proceso. Lazcano *et al*., (2008) analizaron la actividad de varias enzimas y la respiración de los diferentes productos finales obtenidos de compostaje, vermicompostaje y la integración de ambos, aunque no se realizó un estudio detallado de estos parámetros a lo largo del tiempo. Para arrojar luz sobre este asunto, hemos planteado una comparativa entre diferentes parámetros químicos y microbiológicos a lo largo del proceso de compostaje y vermicompostaje de un mismo producto ya precompostado. Nuestra hipótesis de partida plantea que el vermicompostaje acelerará el proceso de estabilización y maduración de los residuos orgánicos, reduciendo así los plazos frente al compostaje.

2. Materiales y Métodos.

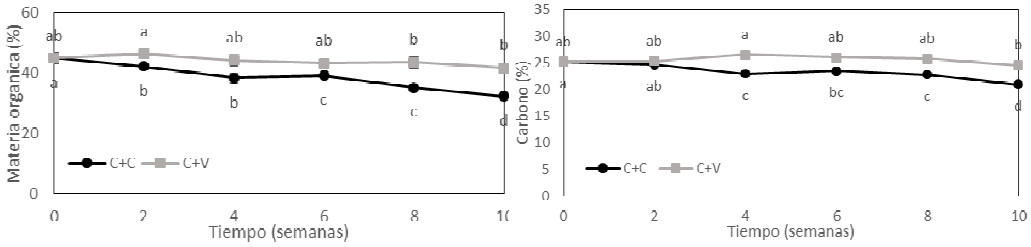
Los procesos y de compostaje y vermicompostaje se llevaron a cabo en los campos experimentales de la ETSI Agrónomos, UPM, en Madrid, España, a partir de abril de 2014. Una mezcla de purines procedentes de las naves de experimentación animales, restos de poda de jardín y restos de rastrojo de cereales fue preparada para la instalación de una pila donde tendría lugar un proceso de precompostaje de 60 días, en el que se asegurase la correcta eliminación de patógenos. Tras este periodo, una parte de la pila fue separada para la construcción de una cama de vermicompostaje en la que se introdujeron lombrices (*Eisinia fetida*, Savygni). De este modo, quedaron construidas, a partir del mismo material pre-compostado, una pila de compostaje trapezoidal de 1 de altura por 10 de largo (tratamiento C+C) y una cama de vermicompostaje de 5 metros de largo por 0.5 m de ancho (tratamiento C+V). La pila de compostaje fue volteada de forma mecanizada cada dos semanas y se añadía de forma manual agua para mantener el contenido de humedad entre un 45 y 65%. Por su parte, la cama de vermicompostaje gozaba de un sistema de microaspersión que mediante tres riegos al día humedecía la cama para asegurar el correcto nivel de humedad para la pervivencia de las lombrices.

Tras la separación de ambos procesos, se llevó a cabo un muestreo a las 2, 4, 6, 8 y 10 semanas del inicio. En cada muestro, se tomó una muestra compuesta de cinco submuestras tomadas aleatoriamente de la pila de C+C y otra muestra compuesta de la cama de C+V. Tras ser tamizadas a 8 mm para eliminar elementos gruesos, se analizó carbono total (%C) y nitrógeno total (%N) mediante un analizador LECO TruSpec CN, mientras que el contenido en materia orgánica (%MO) fue obtenido por el método de combustión seco a 540ºC. El extracto de $N\text{-}NH_4^+$ fue realizado 1:5 (w/v) con KCl 2M, mientras que el extracto de NO_3^- se realizó en H_2O destilada en relación 1:5 (w/v). Ambos fueron analizados con un analizador FIAS 400, Flow Injection System de Perkin Elmer. La respiración fue medida como el CO_2 atrapado en una trampa de NaOH al incubar 25g de suelo a 25ºC durante 72 horas en un recipiente cerrado. La actividad de la enzima deshidrogenasa fue medida de acuerdo con García et al. (1993).Todos los análisis se realizaron por triplicado en laboratorio a partir de la misma muestra compuesta.

El análisis estadístico de las diferencias producidas a lo largo del tiempo en cada uno de los factores de cada proceso se analizó a través del análisis de la varianza de un factor (ANOVA) utilizando el test de Tukey para determinar las diferencias significativas ($p<0.05$). El programa estadístico utilizado fue el SPSS 19.0 para Windows.

3. Resultados y discusión

La evolución en el %MO en el proceso C+C demostró un continuo descenso significativo ($p<0.05$) desde los valores máximos iniciales hasta los valores mínimos obtenidos a las 10 semanas, mientras que en el proceso C+V no se observa ninguna tendencia significativa a lo largo de todo el proceso, siendo iguales los valores iniciales y finales (Fig. 1). Esta misma evolución puede observarse en la evolución del %C en C+C y C+V. Esta diferencia entre un proceso y otro es similar a la encontrada por Tognetti et al. (2007) y puede ser debida al hecho de que al separar parte del material para iniciar la cama de vermicompostaje, las temperaturas del residuo bajan reduciéndose la degradación de la MO, mientras que en el proceso C+C, la fase termofílica se



alarga durante más tiempo y continua la degradación MO.

Figura 1: Evolución del contenido en materia orgánica (%) y el contenido en carbono (%). Diferentes letras dentro de cada proceso indican diferencias significativas ($p<0.05$) entre cada una de las fechas.

El %N en el proceso de C+V se mantuvo constante desde el inicio hasta el fin del proceso (Fig. 2), mientras que en el proceso C+C sufrió un descenso continuado ($p<0.05$) hasta alcanzar su valor mínimo a las diez semanas. Este descenso en el %N a lo largo del proceso de C+C puede ser debido a

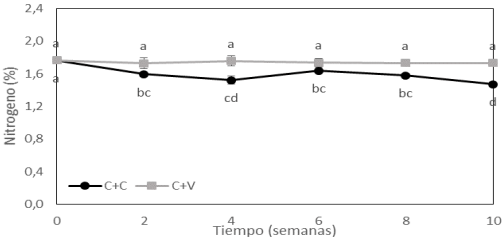
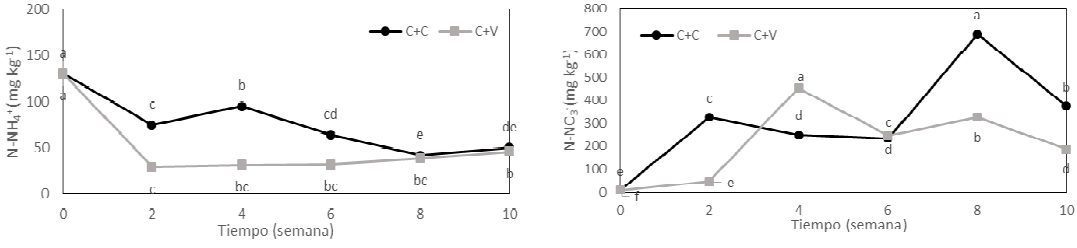


Figura 2: Evolución del contenido en nitrógeno (%)

las habituales pérdidas de N en forma de volatilización que ocurren durante los procesos de compostaje, las cuales son debidas a la mayor velocidad de descomposición de los compuestos de N frente a los compuestos ricos en C que no permiten la inmovilización de todo el N mineralizado (Nakhshiniev *et al.*, 2014). Además, las altas temperaturas que ocurren durante el proceso de compostaje favorecen estas pérdidas por volatilización (Pagans *et al.*, 2006), por lo

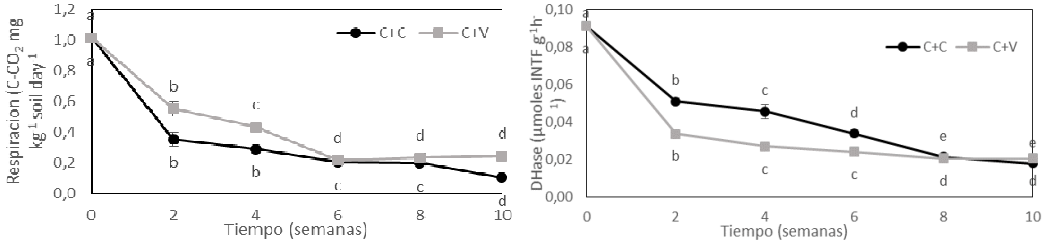


que el descenso de temperatura del material que supone la preparación de camas de vermicompostaje pudo hacer que en el proceso C+V no se registrase ninguna disminución en el %N a lo largo de las diez semanas.

Al comparar la evolución del contenido en $N\text{-}NH_4^+$ y $N\text{-}NO_3^-$ en ambos procesos, podemos observar una mayor velocidad en la nitrificación de los amonios en el proceso de C+V (Fig 3), puesto que el valor mínimo de $N\text{-}NH_4^+$ se alcanzó a la segunda semana y máximo de $N\text{-}NO_3^-$ a las cuatro semanas, mientras que en C+C no se alcanzaron estos valores mínimos y máximos hasta la octava semana. El más rápido descenso en el contenido de $N\text{-}NH_4^+$ puede deberse a la menor mineralización de la MO y del N orgánico frente al proceso C+C, lo cual puede provocar el rápido agotamiento del nitrógeno en forma de amonio. Por su parte, el descenso observado en el contenido de $N\text{-}NO_3^-$ en el proceso de C+V a partir del máximo de la cuarta semana puede deberse a pérdidas por lixiviación de los nitratos a causa de los abundantes riegos dados a la cama de vermicompostaje y a la no reposición de los mismos por la nitrificación de amonios, pues como se mencionó anteriormente, desde la segunda semana estos presentaron valores bajos.

Figura 3: Evolución del contenido en $N\text{-}NH_4^+$ (mg kg^{-1}) y el contenido en $N\text{-}NO_3^-$ (mg kg^{-1})

El estudio de la respiración en forma de CO_2 y de la actividad de la deshidrogenasa han sido encontrados como dos parámetros de interés y utilidad a la hora de evaluar los procesos de compostaje y vermicompostaje (Benito *et al*., 2003; Lazcano *et al*., 2008; Alidadi *et al*., 2016), por lo que aquel tratamiento que presente valores menores de forma más rápida puede considerarse como más rápido en la maduración del residuo. La evolución de la respiración en ambos procesos siguió una tendencia similar de descenso, siendo el mayor descenso el ocurrido en las dos



primeras semanas (Fig 4). Sin embargo, ambos procesos difieren en la fecha a la cual alcanzaron su valor mínimo de respiración ($p<0.05$), siendo la sexta semana en el caso de C+V y la décima en C+C. Por su parte, la actividad de la enzima deshidrogenasa sigue también una evolución similar en ambos procesos, decayendo desde el punto inicial hasta alcanzar el valor mínimo a la octava semana de ambos procesos ($p<0.05$). Sin embargo, se puede observar que el descenso en las primeras semanas ocurre de una forma mucho más marcada en el proceso C+V. A la vista de estos resultados, podría considerarse que la maduración del producto se alcanza de forma más temprana en el proceso de C+V. Este resultado encajaría con las conclusiones obtenidas por Lazcano *et al*. (2008) y Gómez-Brandón *et al*. (2011), y se justificaría, por un lado, por el agotamiento más temprano de la materia orgánica fácilmente mineralizable gracias a la acción de las lombrices, lo cual reduciría la actividad de los microorganismos presentes. Por otro lado, está demostrado que el paso de los residuos orgánicos a través del tracto intestinal de las lombrices reduce el contenido de microorganismos (Gómez-Brandón *et al*., 2011) lo que puede explicar el más rápido descenso de la respiración en C+V. De ser así, el uso integrado de compostaje y vermicompostaje podría considerarse como más rápido en la maduración de los residuos que el solo compostaje del material.

Figura 4: Evolución de la respiración basal ($C\text{-}CO_2$ mg kg^{-1} suelo $día^{-1}$) y la actividad de la enzima deshidrogenasa (µmoles INTF g^{-1} h^{-1})

4. Conclusiones.

El uso integrado del compostaje y el vermicompostaje supone interesante alternativa a la utilización por separada de cada uno de los procesos. A la vista de los resultados obtenidos, la degradación de la MO es menor a lo largo del proceso C+V, lo que lleva a reducir la pérdidas de N. Además, el proceso de nitrificación de los amonios ocurrió más rápidamente en el tratamiento C+V, lo que provocó una temprana acumulación de nitratos que posteriormente disminuyeron con el paso de las semanas. El estudio de la respiración y de la actividad de la deshidrogenasa demostraron que aunque la maduración del residuo siguió una tendencia similar en ambos procesos, este fue más temprano en C+V, aunque estudios más concretos y exhaustivos serían precisos para confirmar esta hipótesis.

5. Bibliografía.

Alidadi, H., Hosseinzadeh, A., Najafpoor, A. A., Esmaili, H., Zanganeh, J., Takabi, M. D., & Piranloo, F. G. (2016). Waste recycling by vermicomposting: Maturity and quality assessment via dehydrogenase enzyme activity, lignin, water soluble carbon, nitrogen, phosphorous and other indicators. *Journal of Environmental Management*, *182*, 134-140.

Benito, M., Masaguer, A., Moliner, A., Arrigo, N., & Palma, R. M. (2003). Chemical and microbiological parameters for the characterisation of the stability and maturity of pruning waste compost. *Biology and Fertility of Soils*,*37*(3), 184-189.

Fornes, F., Mendoza-Hernández, D., García-de-la-Fuente, R., Abad, M., & Belda, R. M. (2012). Composting versus vermicomposting: a comparative study of organic matter evolution through straight and combined processes.*Bioresource technology*, *118*, 296-305.

García, C., Gil, F., Hernández, T. & Trasar, C. (2003). Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. *Mundi-Prensa, Madrid*.

Gómez-Brandón, M., Aira, M., Lores, M., & Domínguez, J. (2011). Changes in microbial community structure and function during vermicomposting of pig slurry. *Bioresource Technology*, *102*(5), 4171-4178.

Lazcano, C., Gómez-Brandón, M., & Domínguez, J. (2008). Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure. *Chemosphere*, *72*(7), 1013-1019.

Nakhshiniev, B., Perera, C., Biddinika, M. K., Gonzales, H. B., Sumida, H., & Yoshikawa, K. (2014). Reducing ammonia volatilization during composting of organic waste through addition of hydrothermally treated lignocellulose.*International Biodeterioration & Biodegradation*, *96*, 58-62.

Ndegwa, P. M., & Thompson, S. A. (2001). Integrating composting and vermicomposting in the treatment and bioconversion of biosolids. *Bioresource technology*, *76*(2), 107-112.

Pagans, E., Barrena, R., Font, X., & Sánchez, A. (2006). Ammonia emissions from the composting of different organic wastes. Dependency on process temperature. *Chemosphere*, *62*(9), 1534-1542.

Tognetti, C., Laos, F., Mazzarino, M. J., & Hernandez, M. T. (2005). Composting vs. vermicomposting: a comparison of end product quality.*Compost Science & Utilization*, *13*(1), 6-13.

6. Agradecimientos.

Este trabajo está financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto CTM2013-47874-C2-1R).

REVISIÓN Y ANÁLISIS DE LOS MANUALES DE COMPOSTAJE DOMÉSTICO

Gonzalo Pocoví[*], Concepción Paredes[1], Marga López[2]

[1]Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández EPS-Orihuela, Ctra. Beniel km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[2]Universitat Politècnica de Catalunya
[*]Máster en Gestión, Tratamiento y Valorización de Residuos Orgánicos. Universidad Miguel Hernández
Correo electrónico: marga.lopez@upc.edu

Resumen: El compostaje doméstico puede ser considerado como una estrategia de prevención y reducción de residuos municipales. En los últimos años, este tipo de prácticas han cobrado un peso específico considerable y existen multitud de experiencias en distintos entornos (rurales y urbanos). Disponer de estrategias adecuadas de implantación y de seguimiento son factores fundamentales para el éxito del sistema, y entre ellas destacan, dentro de las campañas de sensibilización, los manuales de compostaje doméstico. El presente trabajo revisa y analiza una colección de manuales de compostaje doméstico utilizados para la formación de los ciudadanos que realizan esta práctica, con objeto de analizar sus características. En la mayoría de las campañas de promoción del compostaje los manuales son entregados a los usuarios como complemento de los talleres de formación. Se ha realizado una búsqueda bibliográfica por internet, ya que es el medio principal de difusión de las diferentes entidades que publican estos manuales. En total se han encontrado y contrastado cerca de 50 publicaciones, 35 de las cuales han sido seleccionadas para ser analizadas en base a distintos criterios. La selección se ha realizado siguiendo criterios de representación territorial, alcance de las campañas y calidad de los contenidos. Se incluyen también manuales de origen latino y norte americanos, así como del norte de Europa para contrastar los contenidos formativos. El análisis se estructura en aspectos relacionados con los contenidos generales, que resultan considerablemente dispares; como la puesta en marcha del sistema y control del proceso; los materiales recomendados para incorporar, donde se aprecian notables diferencias entre manuales; y por último se discuten los contenidos desde un punto de vista científico y no sólo divulgativo. Como reflexión final, se observa que sería conveniente establecer una metodología donde concurran los objetivos agronómico, ambiental y funcionalidad del sistema de manera que quede integrado en la rutina del usuario.

Palabras clave: autocompostaje, tratados de compostaje, campañas municipales, sensibilización

1. Introducción

El compostaje doméstico puede ser considerado como una corriente emergente, en el ámbito estatal y europeo, entre las estrategias de prevención y reducción de residuos. Esta práctica tan utilizada en el pasado, vuelve a ser valorada hoy como una estrategia más para hacer frente al complejo problema de la gestión de los biorresiduos urbanos (Barrena y col., 2014; Lleó y col., 2013; Martínez y col., 2010; Rudé y Torres, 2008; Storino y col., 2014).

La fracción orgánica contenida en los residuos municipales en España es del 43 % (MAGRAMA, 2012) siendo la fracción que se genera en mayor cantidad, la más costosa de gestionar, la más inestable y la que más inconvenientes genera para la opinión pública, por lo que cabe considerar al compostaje doméstico y comunitario como el complemento clave de la gestión de los biorresiduos domésticos (Colón y col., 2010, Martínez y col., 2010, Rodríguez y col., 2013). En sólo 9 de las 17 comunidades autónomas españolas (Rodríguez y col., 2013) se produce la recogida selectiva de la fracción orgánica y sólo Cataluña, Euskadi, Galicia, Madrid y Navarra presentan experiencias de promoción de compostaje remarcables. El Programa Estatal de Prevención de Residuos 2014-2020 considera los programas de compostaje doméstico y comunitarios de forma positiva a escala local.

La correcta implantación del compostaje doméstico y comunitario presenta muchas ventajas (Amigos de la Tierra, 2015; Barrena y col., 2014; Lleó y col., 2013; Martínez y col., 2010; Storino y col., 2014, Torras, 2013), tales como: 1) la prevención y disminución en la generación de residuos, 2) la disminución de restos orgánicos a recoger, transportar y tratar en plantas industriales, 3) la disminución de la contaminación ambiental y gasto energético asociado a la gestión de los residuos: reducción de la flota de camiones, frecuencia de paso, dimensionamiento de plantas, consumo de energía en todo el proceso, etc., 4) la disminución del consumo de

fertilizantes químicos en el hogar, 5) la disminución de "impropios" en la fracción orgánica, 6) la disminución del coste municipal de gestión, al reducir la fracción más problemática y pesada y poder recuperar materiales reciclables, 7) la disminución de la materia orgánica que es destinada a vertederos o incineración, y 8) una mayor sensibilización y educación ambiental a la población.

Por lo tanto, los objetivos de este trabajo fueron describir y analizar los conceptos y metodología utilizados en los manuales para la formación de los participantes de las campañas municipales de compostaje doméstico a través de: 1) la clasificación de la información de los manuales en bloques de contenidos, 2) la descripción y comparación de las características editoriales de los manuales de compostaje, 3) la descripción y la comparación de los contenidos, y 4) el contraste de los contenidos de los manuales con publicaciones científicas referentes. De esta forma, los resultados de este trabajo pretenden aportar nueva información a la radiografía de la situación del compostaje doméstico y comunitario en el estado español.

2. Material y métodos

Para la selección de los manuales se realizó una primera búsqueda por internet a través de palabras clave en castellano, catalán, euskera, gallego e inglés, así como se siguieron diferentes experiencias de compostaje doméstico documentadas por Torras (2013). Y por último, se consultaron buscadores específicos como Web of Knowledge. Inicialmente se seleccionaron 50 manuales como más representativos, y finalmente el conjunto se redujo a 35 manuales, 29 de los cuales fueron editados en España.

La información presentada en los manuales se agrupó según: 1) Información descriptiva básica de los manuales; 2) Instalación y puesta en marcha del compostador; 3) Funcionamiento, mantenimiento y control del compostador, 4) Materiales a incluir en el compostador y 5) Problemas frecuentes y su solución.

3. Resultados y discusión

3.1 Información descriptiva de los manuales

De los manuales finalmente analizados, en su mayor parte pertenecen al Estado Español (80 %), y el resto se dividen entre países europeos y americanos. Principalmente presentan una orientación didáctica (77 %) y están editados mayormente por administraciones públicas (74 %).

3.2 Instalación y puesta en marcha

El 60% de los manuales sugiere más de una forma de realizar compostaje y describe diversas opciones en diversos tipos de recipientes, algunos de los cuales pueden ser montones o recipientes de fabricación casera; aunque el 40% de los manuales consultados recomiendan la adquisición de compostadores comerciales. Rudé y Torres (2008) observaron que el tipo de compostador no presentaba influencia en el resultado del proceso, a excepción de que permita la entrada de lluvia, lo que tiende a enfriar el material y ralentiza el proceso.

La ubicación del compostador en general está contemplada en la mayor parte de los manuales, donde el 98 % tiene en cuenta la época del año, la insolación y la pluviometría de la zona. La recomendación más habitual es situarlo a la sombra (43 %) para reducir la desecación o también a la sombra en verano y al sol en invierno (34 %) para optimizar las condiciones ambientales.

El 71 % de los casos recomienda la utilización de una base seca sobre la que ubicar el compostador para absorber el exceso de líquidos y a la vez favorecer el paso del aire mediante el efecto chimenea. La recomendación en cuanto a la altura de la base es muy variable, y va desde 12 cm a 40 cm. Una vez instaurada la base, la forma de llenado preferida es mediante mezcla de la carga (74 %), frente al 17 % que recomienda realizar capas. En un 40 % de los casos se recomienda cubrir con restos vegetales la superficie como filtro de olores y para la reducción de presencia de vectores como moscas.

La incorporación de restos vegetales en la mezcla es recomendada en todos los manuales pero sí que existen diferencias en cuanto al tamaño y las proporciones. En general se recomienda que estén bien troceados pero menos del 30 % especifican medidas concretas, que se sitúan entre 1-15 cm; Cornell Composting Science and Engineering (2001) recomienda medidas entre 4 y 7 cm para evitar compactación o el exceso de porosidad. La recomendación de sistemas mecánicos de trituración no manuales se contempla en el 31 % de los manuales (trituradoras domésticas o aportación de material ya triturado por parte del ayuntamiento). Respecto la proporción en volumen de resto vegetales y fracción orgánica, la mayor parte de los manuales (34 %) indican una relación 1:1, seguida de la relación 1:2 (doble de vegetal) (26 %).

Lladó y Pujol (2013) observaron una relación C/N de 20 con proporción 1:1, mientras que Andreu (2014), determinó que una proporción 1:2 daba lugar a una C/N de 30.

3.3 Funcionamiento, mantenimiento y control

La aportación de agua al proceso es un elemento clave para su éxito, ya que permite reponer el agua evaporada por las altas temperaturas alcanzadas debidas a la actividad microbiológica. Sin embargo, en el caso del compostaje doméstico es difícil proponer una metodología adecuada, ya que los recursos son limitados así como mantener una humedad correcta (Andreu, 2014), aunque en general, hay consenso en que se debe controlar (80 %). Por ello, las recomendaciones se basan en observaciones tales como "muy seco", presencia de gotas de condensación en la tapa o la prueba de la croqueta, la que presenta muy diversas interpretaciones.

Junto con la humedad, la aportación de oxígeno/aire es un aspecto fundamental en el éxito del proceso, así que las recomendaciones se basan en aplicar volteos (91 %), con una frecuencia normalmente semanal (31 %), que además favorecen la homogeneización del material y por tanto la mejor transformación. Pese a la importancia de este aspecto, en el 29 % de los manuales no se considera.

La temperatura es la garantía de higienización del material. Sin embargo, en general los manuales no consideran métodos de control de temperatura, diversos estudios contrastan que en el compostaje doméstico se pueden alcanzar temperaturas de higienización (Rudé y Torres, 2008; Storino y col., 2014), especialmente si se añadían cantidades elevadas para la carga (Lladó y Pujol, 2013; Andreu, 2014).

En muchos manuales se habla de la duración del proceso (80 %), aunque ésta depende de factores como la cantidad de material incorporado, la época del año o la intensidad del manejo, de manera que, aquellos que indican duraciones específicas hacen que se genere un intervalo entre 3 y 16 meses.

3.4 Materiales a incluir en el compostador

Los materiales a incluir en el compostador es el apartado de mayor controversia con diferencia a tratar dentro de los manuales. En general, no hay inconveniente en la inclusión de restos de vegetales y que los materiales inorgánicos no se deben incluir, mientras que los excrementos de animales domésticos (69 %), la carne y el pescado (70 %), las plantas enfermas (44 %) y los lácteos (42 %) y los aceites y grasas (39 %) son los menos recomendados. El 22 % de los manuales consideran que estos restos, especialmente carne y pescado, pueden ser gestionados sin problemas cuando el usuario posee cierta experiencia. Existen diversos trabajos que demuestran que la presencia de restos cárnicos en el compostaje doméstico acelera la velocidad y mantiene la temperatura elevada, contribuyendo a una mejor higienización y a la obtención de un producto de calidad adecuada (Storino y col., 2012; Lladó y Pujol, 2013; Andreu, 2014; Ceferino, 2015). Algunas referencias de bibliografía anglosajona (Roulac, 1999; Martin y Gershuny, 1992) relacionan los restos de carne y de pescado con la presencia de roedores. En el caso de lácteos, aceites y grasas, su presencia no es por si misma perjudicial para el proceso, aunque sí se debe considerar la cantidad que incidiría más negativamente en cuestiones físicas (porosidad, intercambio de gases) que sobre la biología del proceso (Rudé y Torres, 2008 y 2011; Storino y col., 2012 y 2014; Vázquez y col., 2012; Lladó y Pujol, 2013; Andreu, 2014; Ceferino, 2015). En el caso de los excrementos de animales, plantas enfermas y semillas de malas hierbas, el principal problema viene dado por la falta de temperaturas elevadas que puedan asegurar una adecuada higienización.

El 50 % recomiendan no incluir los restos de barrer o aspirar por la posibilidad de incorporación de partículas contaminantes nocivas (ftalatos, pirorretardantes, compuestos organoestánnicos, etc) para los microorganismos. Se recomienda no incluir cenizas en el 25 % de los manuales, aunque constituía una cierta práctica habitual, ya que puede reducir la porosidad y alcalinizar. De cara a aprovechar los nutrientes minerales que contenga, se puede utilizar en pequeñas cantidades como mezcla con el compost una vez producido pero no durante el proceso. Otro material biodegradable que se recomienda incluir con cautela es el césped (únicamente 1 manual lo excluye), que nunca debe considerarse como sustituto de los restos vegetales secos. Rudé y Torres (2008) realizaron un seguimiento de olor, temperatura y humedad con distintas aportaciones de césped en los compostadores y señalan ciclos distintos entre las cargas sucesivas de este material. En cuanto a otros materiales específicos como cítricos, tomate o piña, algunos manuales consideran que pueden llevar a la acidificación del material, aunque se podría corregir al final mediante la adición de cenizas o cal.

3.4 Problemas frecuentes

El 83 % de los manuales incluye una sección sobre principales problemas y las soluciones existentes, donde los principales consejos se dirigen a la presencia de moscas, olores, temperatura o humedad inadecuada del material, etc. Todas estas indicaciones pretenden dar respuesta a las inquietudes con las que se va a encontrar la persona que realice el compostaje doméstico, especialmente en las primeras veces y con falta de experiencia. En la mayoría de los casos, las propuestas son añadir agua si está muy seco y poder recuperar un proceso probablemente parado o bien mezclar con restos vegetales secos para reducir humedad y por tanto, la incidencia de olores y moscas.

4. Conclusiones

La revisión realizada indica que hay información similar entre los manuales aunque en ocasiones la interpretación puede ser diversa. Por ello sería conveniente poner de acuerdo algunas ideas para aumentar la confianza del usuario a la hora de llevar a cabo el compostaje doméstico en su domicilio.

Los manuales están orientados a facilitar un correcto proceso de compostaje haciendo hincapié en uno o varios de los siguientes propósitos: que sea fácil y sencillo para los usuarios (Factor FUNCIONAL); que produzca un compost de excelente calidad (Factor AGRONÓMICO); que permita "aprovechar" todos los restos del hogar (Factor AMBIENTAL). Desde este punto de vista el manual ideal debería ser aquel que consiga unir en la metodología los tres tipos de factores y consiga un buen equilibrio entre ellos.

5. Bibliografía

Amigos de la Tierra, 2015. *Ventajas del compostaje*. Ed. Mundoprint, Madrid. 18 pp.

Andreu A., 2014. *Efectes de la relació C/N inicial en la descomposició i maduració del compostatge de la FORM amb restes de poda urbana*. ESAB-UPC, TFG. 74 pp.

Barrena R., Font X., Gabarrell X., Sánchez A., 2014. Home composting versus industrial composting system on compost quality with focus on compost stability. *Waste Management* 34, 1109-1116.

Ceferino C., 2015. *Qualitat de compost en funció de la relació c/n inicial en el compostatge i vermicompostatge de la FO del barrestaurant del campus del Baix Llobregat en compostadors domèstics*. ESAB-UPC, TFG. 134 pp.

Colón J., Martínez Blanco J., Gabarrell X., Artola A., Sánchez A., Rieradevall J., Font X., 2010. Enviromental assessment of home composting. *Resources, Conservation and Recycling* 54, 893-904.

Cornell Composting Science and Engineering, 2001. *The Science and Engineering of Composting*. http://agrienvarchive.ca/bioenergy/download/cornell_composting.pdf http://compost.css.cornell.edu/science.html (fecha de consulta: 26/02/2016).

Lladó R., Pujol M., 2013. *Quantificació del residus organics generats al bar restaurant del campus del Baix Llobregat i valorització de la fracció orgànica per compostatge*. ESAB-UPC, TFC. 140 pp.

Lleó T., Albacete E., Barrena R., Font X., Artola A., Sánchez A., 2013. Home and vermicomposting as sustainable options for biowaste management. *Journal of Cleaner Production* 47, 70-76.

MAGRAMA, 2012. *Manual de Compostaje. Experiencias realizadas años 2004-08*. Secretaría General Técnica, Centro de Publicaciones. 121 pp.

Martin D., Gershuny G., 1992. *The Rodale Book of Composting: easy methods for every gardener*. Rodale Press, Emmaus, Pennsilvania. 278pp.

Martínez B., Colón J., Gabarrell X., Font X., Sánchez A., Artola A., Rieradevall J., 2010. The use of life cycle assessment for comparison of biowaste composting at home and full scale. *Waste Management* 30, 983-994.

Roulac J., 1999. *Backyard Composting*. Green Earth Books, Devon. 96 pp.

Rodríguez A., Ruiz M., Rueda S. (Coords.), 2013. *Gestión de biorresiduos de competencia municipal. Guía para la implantación de la recogida separada y tratamiento de la fracción orgánica*. Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente, Gobierno de España. 355 pp.

Rudé E., Torres R., 2008. *Avaluació de diferents models de compostadors domèstics*. Facultat de Química, Universitat de Barcelona.

Rudé E., Torres R., 2011. *Recerca en compostaje comercial*. Facultat de Química, Universitat de Barcelona.

Storino F., Arizmendiarrieta J., Ganuza E., Muro J., Aparicio-Tejo P., Irigoyen I., 2014. Comparación del compostaje a pequeña y gran escala: Estudio del proceso y del compost obtenido. En: M.P. Bernal, J.A. Pascual, M. Ros, R. Clemente (Eds) *De Residuo a Recurso: Estrategias de Gestión, Tratamiento y Valorización*. Red Española de Compostaje, pp. 40-44.

Storino F., Arizmendiarrieta J., Calleja-Cervantes M.E., Irigoyen I., Muro J., Aparicio-Tejo P., 2012. Aportaciones de residuos cárnicos en la práctica del compostaje doméstico. En: M.T. Barral, M. Díaz-Raviña, R. Devesa-Rey, R. Pardelo (Eds) *Avances en la investigación sobre compost.* Andavira Editora, pp. 35-46

Torras A. (Coord.), 2013. *Situación del compostaje doméstico y comunitario en el Estado Español 2012*. Red Estatal de Entidades Locales por el Compostaje Doméstico y Comunitario, Madrid. 343 pp.

Vázquez M., Plana R., Pérez C., Pita L., Soto M., 2012. Compostaje descentralizado de residuos de comedor en centros Universitarios. En: M.T. Barral, M. Díaz-Raviña, R. Devesa-Rey, R. Pardelo (Eds) *Avances en la investigación sobre compost*. Andavira Editora, pp. 175-188.

EVALUACION DEL VERMICOMPOSTAJE COMO ECOTECNOLOGIA DE BAJO COSTE PARA LA VALORIZACION DEL ALPERUJO REPASADO Y DESHUESADO

Rogelio Nogales, Laura Delgado-Moreno, Inés Aguilar, Esperanza Romero

Departamento de Protección Ambiental, Estación Experimental del Zaidín, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (EEZ-CSIC), c/ Profesor Albareda 1, 18008-Granada
rogelio.nogales@eez.csic.es

Resumen: El alperujo es el principal residuo generado durante la extracción del aceite de oliva. En los últimos años este material es sometido a un proceso de deshuesado y posterior repaso para extraer parte del contenido remanente de aceite, obteniendo un nuevo residuo "alperujo repasado y deshuesado". El estudio tuvo como objetivo desarrollar un proceso de vermicompostaje (litera de 1 m^2 y larga duración -5 meses de vermicompostaje + 1 mes de maduración-) utilizando alperujo repasado y deshuesado mezclado con estiércol caprino (4:1 peso seco). Mensualmente, el proceso se evaluó mediante el análisis de las lombrices (*Eisenia fétida*), actividad dehidrogenasa, FDA y elementos extraídos con AB-DTPA. Además, en la mezcla inicial y en el vermicompost maduro se analizaron otras propiedades químicas. La biomasa de las lombrices aumentó durante el periodo de vermicompostaje alcanzando su máximo después de 4 meses. Se observó una correlación positiva entre la biomasa de las lombrices y la actividad FDA y negativa con la actividad deshidrogenasa. La mayoría de los elementos, excepto Mn, Pb y Mo, extraídos con AB-DTPA disminuyeron durante el periodo de vermicompostaje y maduración. En cambio los contenidos totales de todos los elementos fueron mayores en el vermicompost maduro que en el material orgánico inicial. El vermicompost maduro de alperujo repasado y deshuesado presentó elevados contenidos de materia orgánica y nutrientes, escasa fitotoxicidad y baja relación C/N, cumpliendo por ello con la legislación (RD 506/2013) para ser utilizado como enmienda orgánica en agricultura o como material orgánico para descontaminar suelos y aguas.

Palabras clave: *Eisenia fetida,* escala piloto, actividad deshidrogenasa, FDA, propiedades químicas, elementos extraídos con AB-DTPA

1. Introducción

El alperujo es el principal residuo generado durante la extracción del aceite de oliva por el sistema de centrifugación de 2 fases. En España, su producción varía entre 3,5-4,5 10^6 Tm/año. En los últimos años y debido a la mayor demanda mundial de aceite de oliva, en muchas almazaras, el alperujo es sometido a una segunda centrifugación con objeto de extraer entre el 40-60% del aceite contenido en este material quedando como residuo final el alperujo repasado. Además en algunas de ellas, el alperujo repasado es previamente deshuesado, para utilizar los restos de hueso de aceituna como combustible en las propias calderas de las almazaras. Aunque el alperujo natural, previa mezcla con otros residuos orgánicos, ha sido utilizado exitosamente como residuo orgánico en procesos de compostaje y vermicompostaje (Castillo y col., 2013; Melgar y col., 2009; Tortosa y col., 2011), no existe información previa sobre el uso del alperujo repasado y deshuesado en ambos procesos biotecnológicos. En este sentido, el estudio tuvo como objetivo evaluar, mediante el análisis de parámetros químicos y enzimáticos, el potencial del vermicompostaje y posterior maduración como biotecnología de bajo coste para obtener una enmienda orgánica con valor añadido a partir del alperujo repasado y deshuesado.

2. Material y Métodos

Se desarrolló un proceso de vermicompostaje convencional a escala piloto (litera de 1,5 m^2), de larga duración (5 meses) utilizando lombrices de la especie *Eisenia fetida* que fueron inoculadas en 81 kg (peso seco) de una mezcla de alperujo repasado y deshuesado:estiércol caprino (4:1 peso seco). Una vez retiradas las lombrices, el material fue madurado durante 1 mes. Mensualmente, el proceso de vermicompostaje se monitorizó analizando la evolución de las lombrices, carbono hidrosoluble (Sims y Haby, 1971), actividad deshidrogenasa (García y col., 1997), hidrólisis de diacetato de fluoresceína, FDA (Perucci y col., 2000) y elementos extraídos con AB-DTPA (Soltanpour y Schwab, 1977). En la mezcla inicial (I) y en el vermicompost maduro (VM) se analizaron otras propiedades químicas y fitotóxicas según métodos descritos por Fernandez y col. (2010).

3. Resultados y Discusión

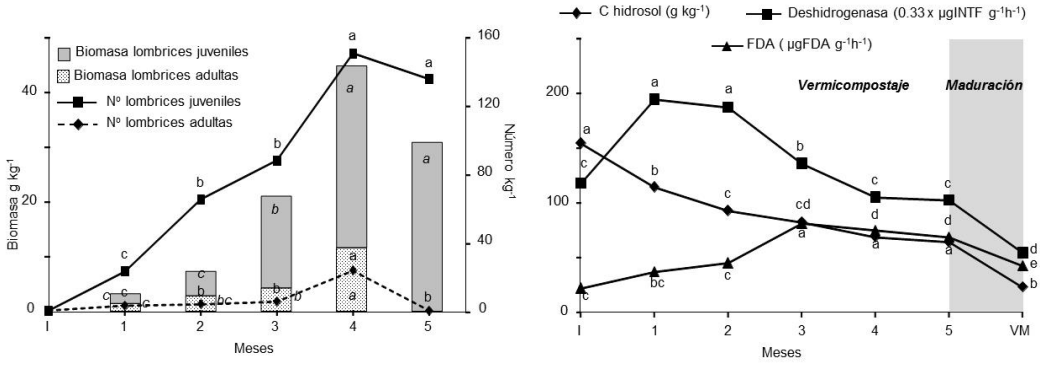


Figura 1. Evolucion de la biomasa y numero de lombrices adultas y juveniles durante el periodo de vermicompostaje (a), y del carbono hidrosoluble, actividad deshidrogenasa y FDA durante el periodo de vermicompostaje y maduración (b). Valores medios de tres repeticiones. Para cada parámetro, valores con la misma letra no son significativamente diferentes ($p<0,05$).

La biomasa y número de lombrices adultas y juveniles aumentó significativamente durante el vermicompostaje alcanzando su máximo después de 4 meses (Fig. 1a). Posteriormente (5º mes) no se observaron lombrices adultas, reduciéndose además el número y biomasa de las lombrices juveniles, lo que implicaría que habría que añadir más mezcla orgánica para mantener adecuadamente la población de lombrices (Nogales y col., 2014). Castillo y col. (2013) utilizando una mezcla de alperujo natural y estiércol caprino (4:1) observaron una dinámica poblacional similar, aunque la máxima biomasa de lombrices (21 g kg^{-1} sustrato, 15ª semana) fue significativamente menor que la registrada con el alperujo repasado y deshuesado (42 g kg^{-1} sustrato).

La mayor actividad deshidrogenasa, considerada un buen indicador de la actividad metabólica de los microorganismos, se observó al mes del inicio del vermicompostaje, disminuyendo posteriormente durante este periodo y durante la etapa de maduración (Figura1b). La disminución de esta actividad se relacionaría con la desaparición de los compuestos carbonados fácilmente metabolizables (Melgar y col., 2009; Nogales y col., 2014), lo que quedó patente, transcurrido el primero mes de vermicompostaje, por la correlación positiva existente entre los valores de DHA y

carbono hidrosoluble (r: 0,943, p<0,001). La tasa de la hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA), indicativa de la actividad enzimática hidrolítica del sustrato, ya que su reacción involucra diversos grupos de enzimas (proteasas, lipasas y estereasas principalmente) (Schnürer y Rosswall, 1982) aumentó durante el periodo de vermicompostaje (Figura 1b), correlacionándose con el número y biomasa de las lombrices (r: 0,737, p<0,001 y r: 0,771, p<0,001, respectivamente) y disminuyendo significativamente durante el periodo de maduración. Singh y col. (2014) observaron aumentos de la actividad hidrolitica de la FDA en mezclas de residuos agroganaderos inoculadas con lombrices de la especies *Eisenia fetida* y *Perionyx excavatus.*

El proceso de vermicompostaje y posterior maduración disminuyó significativamente los niveles de carbono orgánico total (COT, 23%) y de conductividad (7%) (Tabla 1). Esos descensos fueron similares o inferiores a los observados en otros estudios de vermicompostaje utilizando alperujo natural mezclado con otros residuos orgánicos (Melgar y col., 2009; Castillo y col., 2013). Asimismo y al igual que lo observado en esos estudios, el carbono extraído con solución alcalina disminuyó apreciablemente (50%), descenso que fue menor para la fracción de ácidos húmicos (16%). Los alperujos presentan un contenido relativamente elevado de sustancias grasas y compuestos orgánicos fácilmente degradables que son extraídos conjuntamente con las sustancias húmicas por soluciones alcalina; compuestos que tienden a desaparecer durante el proceso de vermicompostaje (Melgar y col., 2009).

Tabla 1. Análisis de la mezcla de alperujo repasado y deshuesado y estiércol caprino al inicio (I) y final (VM) del proceso de vermicompostaje y maduración. Valores medios de tres repeticiones.

	pH	CE	COT	NKT	CET	AH	C/N	AH/AF	IG	P	K	Ca
		dS m^{-1}	g kg^{-1}				%			g kg^{-1}		
I	8,1	8*	438*	17	152*	43*	27*	0,4	2	7,2	46	54
VM	8,8*	7,4	338	22*	76	37	15	1*	98*	20*	94*	166*
	Mg	Na	Al	Fe	Mn	Cu	Zn	Cd	Ni	Pb	Cr	Hg
	g kg^{-1}				mg kg^{-1}							
I	15	2,8	10	6,5	253	58	200	0,6	28	17	62	<0,025
VM	41*	6,7*	33*	16*	689*	153*	417*	1,5*	59*	41*	152*	<0,025

CE: Conductividad, COT: carbono orgánico total, CET: carbono extraíble total, AH: ácidos húmicos, IG: índice de germinación.

*indica diferencia significativa (P<0.05) entre inicio y final del vermicompostaje-maduración

El nitrógeno kjeldahl total, índice de germinación y la concentración total de los elementos analizados aumentaron significativamente después del vermicompostaje y maduración (Tabla 1). Las concentración de Cu, Zn, Ni y Cr registradas en el vermicompost maduro superaron los límites establecidos para la clase A de productos fertilizantes según la legislación de España (RD 506/2013), lo que restringiría su uso como enmienda orgánica en agricultura ecológica. El descenso de la relación C/N y de la actividad deshidrogenasa y el aumento del índice de germinación y relación ácidos húmicos/ácidos fúlvicos indicaría un mayor grado de estabilidad y madurez y un aumento de la síntesis de compuestos orgánicos resistentes a la degradación microbiana en el vermicompost maduro frente al material inicial.

Los valores de P, K, Ni y Cr extraídos con AB-DTPA (como medida de la asimilabilidad de los nutrientes y metales pesados por los cultivos vegetales) disminuyó porcentualmente durante el proceso de vermicompostaje (1-5 meses) y maduración (VM) respecto a los valores iniciales registradosen la mezcla de alperujo repasado y deshuesado y estiércol caprino (Figura 2). Esos disminuciones fueron muy acusadas (>75%) para el AB-DTPA Ni y Cr. En cambio porcentualmente, los valores de AB-DTPA Na, Cu y Zn aumentaron ligeramente y de forma más significativa los de AB-DTPA Mn, Mo y Pb durante el periodo de vermicompostaje, aunque la extractabilidad de esos elementos disminuyó posteriormente durante la etapa de maduración. El grado de extractabilidad de los metales pesados tóxicos (porcentaje del elemento extraído con AB-DTPA respecto a su concentración total) fue significativamente menor en el vermicompost

maduro (entre 0,1 y 9%) que en el la mezcla inicial (entre 2 y 25%), lo cual implicaría una disminución significativa de la ecotoxicidad y potencial contaminante de los metales pesados durante el proceso de vermicompostaje y maduración.

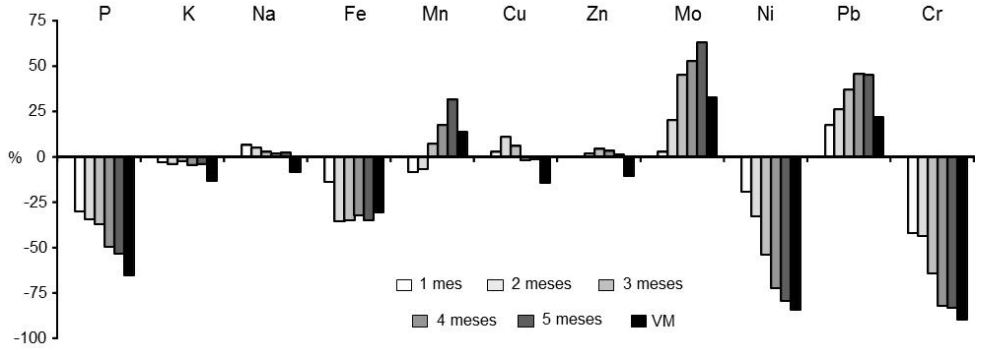


Figura 2. Cambios porcentuales de los elementos extraídos con AB-DTPA respecto a los valores de la mezcla inicial durante el proceso de vermicompostaje y maduración.

Elvira y col. (1989), Suthar (2009) y Singh y Kalamdhad (2013) observaron, con alguna excepción, disminuciones significativas de la extractabilidad del Fe, Mn, Cu, Zn, Ni y Cr extraido con DTPA durante el vermicompostaje de diversos residuos orgánicos. La acumulación de las formas más asimilables de esos elementos en los tejidos de las lombrices, la precipitación de algunos de ellos con los carbonatos liberados durante el tránsito de la mezcla orgánica por el tracto intestinal de las lombrices, las reacciones de oxidación que favorecen la insolubilización, la inmovilización intracelular por los microorganismos presentes en la mezcla orgánica y la formación de complejos organometalicos insolubles entre los metales y los acidos húmicos y las fracciones orgánicas más polimerizadas neoformadas durante el vermicompostaje y maduración serían los principales mecanismos de la reducción de la asimilabilidad de algunos nutrientes y metales pesados observados en el estudio (Bhattacharya y Chattopadhyay, 2006; Nogales y col., 2014).

4. Conclusiones

El proceso de vermicompostaje y maduración se mostró muy eficaz para biodegradar, estabilizar y madurar el alperujo repasado y deshuesado mezclado con estiércol caprino. El vermicompost obtenido cumpliría con la legislación (RD 506/2013) para su uso como enmienda orgánica en agricultura convencional e integrada. Además, y en base a sus propiedades orgánicas y bioquímicas y a la reducción de la toxicidad del contenido de metales pesados, podría ser utilizado para diversos fines, entre otros, como materiales sustitutivos de la turba en sistemas de bioremediacion biobed con potencial para eliminar contaminantes orgánicos de aguas.

5. Bibliografia

Bhattacharya S.S., Chattopadhyay, G.H., 2006. Effect of vermicomposting on the transformation of some trace elements in fly ash. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 75, 223–231.

Castillo-Diaz J.M., Romero E., Nogales R., 2013. Dynamics of microbial communities related to biochemical parameters during vermicomposting and maturation of agroindustrial lignocellulose wastes. *Bioresource Technol.* 146, 345-354.

Elvira y col. (1989), García C., Hernández T., Costa F., 1997. Potencial use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. *Commun.Soil Sci. Plant Anal.* 28, 123–134.

Fernández-Gómez M.J., Romero E., Nogales, R., 2010. Feasibility of vermicomposting for vegetable greenhouse waste recycling. *Bioresource Technol.* 101, 9654- 9660.

García C., Hernández T., Costa F., 1997. Potencial use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. *Commun.Soil Sci. Plant Anal.* 28, 123–134.

Melgar R., Benítez E., Nogales, R. 2009. Bioconversion of wastes from olive oil industries by vermicomposting process using the epigeic earthworm *Eisenia andrei*. *J. Environ. Sci. Health Part B,* 44, 488-495.

Nogales R., Romero E., Fernández-Gómez M., 2014. *Vermicompostaje: procesos, productos y aplicaciones.* Ed. Mundi Prensa, Madrid, 172 pp.

Perucci P., Dumontet S., Bufo S.A., Mazzatura,A., Casucci C., 2000. Effects of organic amendment and herbicide treatment on soil microbial biomass. *Biol. Fert. Soils* 32, 17-23.

Schnürer J., Rosswall T., 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Appl.Environ. Microbiol.* 43, 1256-1261.

Sims J.R., Haby V.A., 1971. Simplified colorimetric determination of soil organic matter. *Soil Sci.* 112, 137-141.

Singh J., Kalamdhad A.S., 2013. Reduction of bioavailability and leachability of heavy metals during vermicomposting of water hyacinth. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20,8974–8985

Singh A., Singh R.V., Saxena A.K., Shivay Y.S., Nain. L., 2014. Comparative studies on composting efficiency of *Eisenia foetida* (Savigny) and *Perionyx excavatus* (Perrier). *J. Exp. Biol. Agr. Sci.* 2, 508-517

Soltanpour, P.N., Schwab, A P., 1977. A new soil test for simultaneous extraction of macro and micronutrients in alkaline soils. *Commun.Soil Sci. Plant Anal.* 8,195–207.

Suthar S., 2009. Vermistabilization of municipal sewage sludge amended with sugarcane trash using epigeic *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *J. Hazard. Mater.* 163, 199-206

Tortosa G., Albuequerque, J.A., Ait-Baddu G., Cegarra J., 2011. The production of commercial organic amendments and fertilisers by composting of two-phase olive mill waste ("alperujo"). *J. Clean Prod.* 26, 48-55

6. Agradecimientos

El presente estudio ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, Proyecto CTM2013-44271-R y cofinanciado con fondos FEDER. L. Delgado-Moreno e I. Aguilar agradecen al Ministerio de Economía y Competitividad el contrato y Beca FPI (BES-2014-070043) concedidos, respectivamente, a cargo del proyecto.

BIOTRANSFORMACION, CON O SIN LOMBRICES, DE ESTIERCOLES DE CABRAS ALIMENTADAS CON DIFERENTES DIETAS

Rogelio Nogales, Julia Fernández-Yepes, Teresa Llopis, Eduarda Molina-Alcaide

Estación Experimental del Zaidín, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (EEZ-CSIC), c/ Profesor Albareda 1, 18008-Granada
rogelio.nogales@eez.csic.es

Resumen: La utilización de residuos y destríos de cultivos hortofrutícolas en la alimentación del ganado es una estrategia innovadora dirigida a reducir costes, mejorar la calidad de la carne y leche y minimizar el impacto ambiental de los sistemas pecuarios. La composición de los estiércoles del ganado y las enmiendas orgánicas obtenidas de ellos, deberían variar dependiendo del tipo de alimento suministrado. El objeto del estudio fue biotransformar, en presencia o ausencia de lombrices (*Eisenia fetida*), estiércoles de cabras alimentadas con una dieta control constituida por heno de alfalfa y un concentrado comercial en la relación 1:1 y una dieta experimental que incluía subproductos. El experimento se realizó a escala laboratorio, bajo condiciones controladas, durante 4 meses y utilizando recipientes cilíndricos de 1 l de capacidad. Al inicio y final del proceso se realizó la caracterización química y fitotóxica de los estiércoles ensayados. El vermicompostaje de ambos tipos de estiércol siguió un modelo similar, alcanzándose la máxima biomasa y número de lombrices cliteladas tras un mes de iniciarse el proceso y el máximo número de lombrices no cliteladas a los 3 meses. No se apreciaron diferencias significativas debidas al tipo de dieta consumida por los animales ni en la evolución de las lombrices ni en la composición química de los vermicomposts producidos. Sin embargo, en comparación con el estiércol en cuya biotransformacion no se utilizaron lombrices, los vermicomposts presentaron mayor calidad agronómica y madurez y se adecuaban a la legislación española requerida para su comercializacion como enmiendas orgánicas en agricultura.

Palabras clave: destríos hortofrutícolas, *Eisenia fetida*, fracciones orgánicas, índice de germinación, análisis elemental.

1. Introducción

La utilización de residuos y destríos de cultivos hortofrutícolas y de otros subproductos agroindustriales, como alimentos locales no convencionales, en la alimentación del ganado es una estrategia innovadora que permite reducir costes, mejorar la calidad de la carne y leche y minimizar el impacto ambiental de los sistemas pecuarios (Romero-Huelva y col., 2012, 2013). La composición y calidad de las deyecciones del ganado debe variar dependiendo del tipo de alimento suministrado y, la gestión y manejo adecuado de los estiércoles generados requiere su bioestabilización mediante procesos biodegradativos aeróbicos (compostaje o vermicompostaje, entre otros) previa a su aplicación al suelo, para evitar efectos indeseables (contaminación por nitratos, emisión de gases de efecto invernadero, etc.) sobre el medio ambiente (Burton y col., 2005; Nasiru y col., 2013). El objetivo de este estudio fue establecer posibles diferencias, debidas a la dieta consumida por cabras en lactación, de la calidad agronómica de estiércoles biotransformados, en presencia (vermicompostaje) o ausencia de lombrices.

2. Material y Métodos

Se ensayaron dos tipos de estiércoles procedentes de cabras alimentadas con una dieta control (DC), constituida por heno de alfalfa y un concentrado comercial en la relación 1:1, y una dieta experimental (DE), en la que el 50% de materias primas convencionales del concentrado comercial fue sustituido por una mezcla de destríos de tomate, pulpa de cítricos, bagazo y

levadura de cerveza. Cien g (peso seco) de cada uno de los estiércoles se colocaron, por sextuplicado, en recipientes cilíndricos de 1 l. En tres de esos recipientes, los estiércoles se inocularon con 10 g de lombrices (16 cliteladas o adultas y 42 no cliteladas o juveniles) de la especie *Eisenia fetida*. Posteriormente, todos los recipientes se colocaron en una cámara con temperatura (20±2°C) y humedad, (80-85%) controladas mediante riegos periódicos. A los 7 y 15 días, y mensualmente durante un periodo de 4 meses se determinó el número de lombrices cliteladas y no cliteladas y su biomasa. Una vez retiradas las lombrices, se determinaron las propiedades químicas y fitotóxicas, tanto de los estiércoles iniciales como de los productos obtenidos, en presencia o ausencia de lombrices según métodos descritos por Fernández y col. (2010) y Castillo y col. (2013).

3. Resultados y discusión

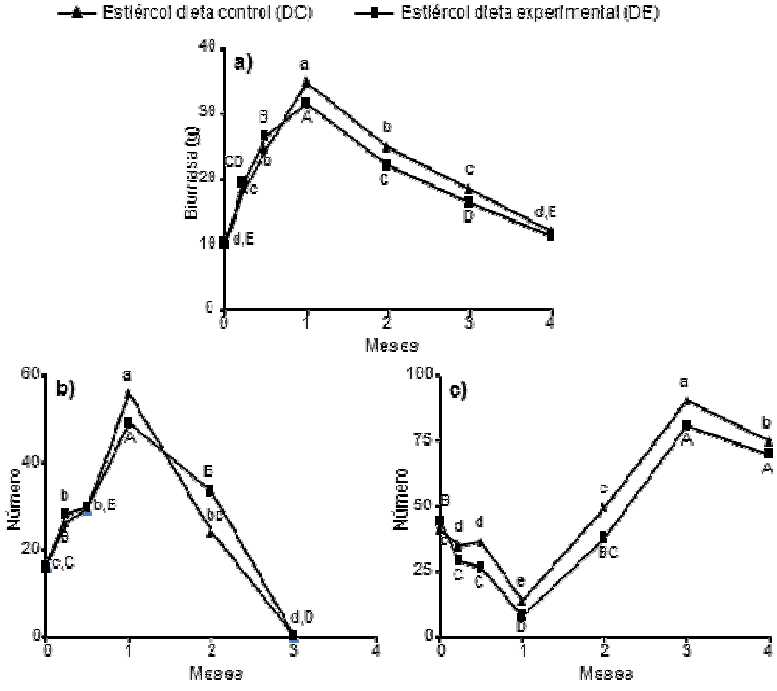


Figura 1. Evolución de la biomasa de las lombrices (a), número de lombrices cliteladas (b) y no cliteladas (c) durante el proceso de vermicompostaje. Valores medios de tres repeticiones. Para cada parámetro, valores con distinta letra (minúscula para DC o mayúscula para DE) son significativamente diferentes ($p<0,05$).

El proceso de vermicompostaje de los dos tipos de estiércol siguió un modelo similar, alcanzándose la máxima biomasa (Figura 1a) y número de lombrices cliteladas (Figura 1b) al mes de iniciarse el proceso y el máximo número de lombrices no cliteladas a los 3 meses (Figura 1c). Durante el primer mes, la tasa de crecimiento diario de las lombrices inoculadas fue ligeramente superior en el estiércol procedente de animales alimentados con la dieta experimental (12,64 ±0,87 mg lombriz^{-1} dia^{-1}) que en el estiércol de la dieta control (10,96 ±1,06 mg lombriz^{-1} dia^{-1}). Estas tasas de crecimiento fueron similares o incluso superiores a las observadas en otros estudios de laboratorio, utilizando diferentes tipos de residuos orgánicos (Elvira y col., 1998, Haimi y Huhta, 1990) y ponen de manifiesto la idoneidad de ambos estiércoles para ser utilizados en procesos de vermicompostaje. Al mes, más del 85% de las lombrices inoculadas tenían clitelo, lo

que dio lugar a una elevada producción de cápsulas. Posteriormente, la disminución de los nutrientes contenidos en ambos estiércoles provocó la pérdida del clitelo de todas las lombrices adultas (3er mes) y un descenso gradual de la biomasa total de las lombrices. Al final del vermicompostaje las lombrices eran muy pequeñas, con pesos muy bajos (162 ±14 mg lombriz^{-1}) y sin clitelo. Ello implicaría que los estiércoles ensayados habían sido ya biodegradados y que se requeriría un aporte adicional de estiércol para mantener el crecimiento y desarrollo reproductivo de las lombrices (Nogales y col., 2014).

Los dos tipos de estiércol ensayados presentaban valores de pH, fracciones orgánicas e índice de germinación similares, siendo más salino el procedente de los animales que recibían la dieta experimental (DE) en comparación con la dieta control (Tabla 1). Los contenidos de carbono orgánico total (COT), hemicelulosa y celulosa de ambos estiércoles disminuyeron significativamente durante su biotransformación, en presencia o ausencia de lombrices. El descenso fue más pronunciado en los estiércoles degradados por las lombrices (14-15% COT, 33-34% hemicelulosa, 49-55% celulosa) con valores similares o inferiores a los observados en otros procesos de vermicompostaje a escala laboratorio utilizando diferentes tipos de estiércoles (Fernández-Gómez y col., 2010; Nogales y col., 1999). Por el contrario, la conductividad, los contenidos de nitrógeno, lignina, carbono extraíble total (CET) y ácidos húmicos (AH), la relación de humificación (RH) e índice de germinación(IG) de semillas de berro (*Lepidium sativum*, L.), como medida indirecta de fitotoxicidad, de los estiércoles aumentaron significativamente al final del periodo de biodegradación. El incremento de lignina fue debido a fenómenos de policondensación y neosíntesis de esta fracción orgánica, que suelen producirse durante las últimas etapas de los procesos de biodegradación aeróbica (Vinceslas-Akpa, M. & Loquet, 1997). Los mayores aumentos del CET, AH, RH, IG y la menor relación C/N de los estiércoles biotransformados por las lombrices, implicaría que esos productos finales tendrían un mayor grado de estabilidad y madurez y menor fitotoxicidad que los obtenidos en ausencia de lombrices. Al igual que lo observado en los estiércoles iniciales, no se apreciaron diferencias significativas, excepto en los contenidos de celulosa y lignina, entre los dos productos finales, obtenidos tanto en presencia como en ausencia de lombrices. El tipo de dieta consumida por las cabras tuvo escasa influencia sobre las características orgánicas y fitotóxicas de los estiércoles excretados, así como sobre las enmiendas orgánicas producidas a partir de los mismos.

Tabla 1. Valores medios (n=3) de pH, conductividad, fracciones orgánica e índice de germinación (IG) de los estiércoles iniciales y biotransformados en presencia o ausencia de lombrices. En cada columna, letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (p<0.05).

	pH	CE	COT	NKT	Hemicel.	Celulosa	Lignina	CET	AH	C/N	HR	IG
		dS m^{-1}	g kg^{-1}								%	
Inicial												
DC	7,6^{a}	4,4^{d}	407^{a}	24^{e}	227^{a}	201^{a}	132^{c}	61^{c}	45^{c}	17^{a}	15^{c}	65^{c}
DE	7,6^{a}	5,4^{c}	399^{a}	24^{e}	193^{ab}	197^{a}	133^{c}	61^{c}	46^{c}	17^{a}	15^{c}	64^{c}
Final-biotransformado con lombrices												
DC	7,4^{a}	9^{b}	346^{c}	32^{a}	152^{bc}	103^{c}	169^{a}	78^{a}	61^{a}	11^{c}	23^{a}	80^{a}
DE	7,5^{a}	8,5^{b}	344^{c}	31^{a}	127^{c}	88^{d}	153^{b}	74^{a}	61^{a}	11^{c}	21^{a}	82^{a}
Final-biotransformado sin lombrices												
DC	7,2^{a}	10,3^{a}	375^{b}	30^{b}	162^{bc}	115^{b}	169^{a}	65^{b}	52^{b}	13^{b}	17^{b}	69^{b}
DE	7,3^{a}	10,2^{a}	376^{b}	28^{b}	136^{c}	103^{c}	152^{b}	64^{b}	54^{b}	13^{b}	17^{c}	66^{b}

CE: Conductividad, COT: carbono orgánico total, NKT: nitrógeno kjeldahl total, CET: carbono extraíble total, AH: ácidos húmicos, RH: relación de humificación, IG: índice de germinación

Tabla 2. Valores medios (n=3) de nutrientes y metales pesados de los estiércoles iniciales y biotransformados en presencia o ausencia de lombrices.. En cada columna, letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (p<0.05).

	P	S	K	Ca	Mg	Na	Al	Fe	Mn	Cu	Zn	Mo	Ni	Cr
	g kg^{-1}								mg kg^{-1}					
Inicial														
DC	9,3^{d}	3,8^{b}	4,7^{f}	41^{d}	8^{c}	1,1^{e}	0,77^{c}	0,75^{e}	379^{c}	90^{c}	440^{bc}	3,9^{b}	6,2^{c}	3,8^{d}
DE	7,6^{e}	3,9^{b}	6,1^{e}	52^{c}	9,1^{b}	4,1^{b}	1,2^{b}	0,84^{d}	330^{c}	72^{d}	416^{c}	2,4^{d}	4,7^{d}	4,7^{c}
Final-biotrransformados con lombrices														
DC	16^{a}	6^{a}	5,6^{b}	71^{b}	13^{a}	1,4^{de}	1,4^{b}	1,3^{b}	626^{a}	151^{a}	475^{a}	5,7^{a}	7,6^{b}	5,7^{b}
DE	13^{c}	5,9^{a}	6,9^{a}	87^{a}	14^{a}	3,5^{c}	1,9^{a}	1,4^{a}	543^{b}	115^{b}	432^{c}	3^{c}	6,9^{bc}	6,8^{a}
Final-biotransformados sin lombrices														
DC	15^{a}	6,2^{a}	7,2^{d}	68^{b}	13^{a}	1,8^{d}	1,2^{b}	1,2^{c}	604^{a}	144^{a}	461^{ab}	6,1^{a}	9,3^{a}	5,4^{b}
DE	13^{b}	6,1^{a}	9,7^{c}	85^{a}	14^{a}	5,9^{a}	1,9^{a}	1,3^{b}	515^{b}	112^{b}	427^{c}	3,4^{c}	8,2^{ab}	7,2^{a}

El estiércol procedente de animales alimentados con la dieta experimental (DE) contenía más S, K Ca, Na, Al, Fe y Cr, mientras que los valores de P, micronutrientes y Ni fueron mayores en el estiércol de animales que recibían la dieta control (DC) (Tabla 2). No se detectaron concentraciones de Cd, Pb y Co por la metodología analítica utilizada (<0,025 mg kg^{-1}) ni en los estiércoles iniciales ni en sus productos biotransformados. La biotransformación de ambos estiércoles, en presencia o ausencia de lombrices, aumentó significativamente la concentración de todos los elementos analizados. Porcentualmente, los aumentos registrados (entre 6-60% dependiendo del elemento), fueron similares para ambos procesos de biodegradación. Esos aumentos, también observados en otros procesos biodegradativos aeróbicos de residuos orgánicos (Nogales y col., 2014; Varma y Kalamdhad, 2015) serían consecuencia de la mineralización de la materia orgánica de los estiércoles y de la reducción de su volumen, ocurridas durante la biodegradación de esos residuos pecuarios (Fang y Wong, 1999; Fernández-Gómez y col. 2010). Aunque los productos finales de ambos procesos biodegradativos podrían utilizarse como productos fertilizantes según la legislación española (RD 506/2013), las concentraciones detectadas de Cu (>70 mg kg^{-1}) y Zn (>200 mg kg^{-1}) restringirían su uso como enmiendas orgánicas en agricultura ecológica.

4. Conclusiones

La sustitución parcial del 50% de materias primas convencionales de un concentrado comercial en la dieta de caprino por subproductos tuvo escaso efecto sobre la composición de los estiércoles producidos por esos animales, así como sobre las enmiendas orgánicas obtenidas después de su biotransformación, en presencia o ausencia de lombrices. Sin embargo, las enmiendas orgánicas de esos estiércoles, producidas mediante biotransformación con lombrices, fueron más estables y maduras que las obtenidas sin lombrices, presentando mayor calidad agronómica para su comercialización en agricultura convencional, integrada y bajo cubierta.

5. Bibliografia

Burton C.H., Turner C., 2003. Manure Management: Treatment Strategies for Sustainable Agriculture, 2nd edition. Silsoe Research Institute, Bedford, UK. 455 p.

Castillo-Diaz J.M., Romero E., Nogales R., 2013. Dynamics of microbial communities related to biochemical parameters during vermicomposting and maturation of agroindustrial lignocellulose wastes. *Bioresource Technol.* 146, 345-354.

Elvira C., Sampedro L., Benítez E., Nogales R. 1998. Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with Eisenia andrei: A pilot scale study. *Biores. Technol.*, 63, 211-218.

Fang F., Wong J.W.C. 1999. Effects of lime amendment on availability of heavy metals and maturation in sewage sludge composting. *Environ. Poll.* 106, 83–89

Fernández-Gómez M.J., Romero E., Nogales, R., 2010. Feasibility of vermicomposting for vegetable greenhouse waste recycling. *Bioresource Technol.* 101, 9654- 9660.

Haimi, J., Huhta V. 1986. Capacity of various organic residues to support adequate earthworm biomass for vermicomposting. *Biol. Fert. Soils.,* 2, 23-27.

Nasiru A., Ismail N., Ibrahim M.H. 2013. Vermicomposting: Tool for Sustainable Ruminant Manure Management. *J. Waste Manag.* Volume 2016, Article ID 7528263, 7 p.

Nogales R., Elvira C., Benitez E., Thompson R., Gómez M., 1999. Feasibility of vermicomposting dairy biosolids using a modified system to avoid earthworm mortality. J.Environ. Sci. Heal, B 34, 151-169

Nogales R., Romero E., Fernández-Gómez M., 2014. Vermicompostaje: procesos, productos y aplicaciones. Ed. Mundi Prensa, Madrid, 172 pp.

Romero-Huelva M., E. Ramos-Morales, and E. Molina-Alcaide. 2012. Nutrient utilization, ruminal fermentation, microbial abundances, and milk yield and composition in dairy goats fed diets including tomato and cucumber waste fruits. Journal of Dairy Science. 95, 6015-6026.

Romero-Huelva M., Molina-Alcaide E., 2013. Nutrient utilization, ruminal fermentation, microbial nitrogen flow, microbial abundances, and methane emissions in goats fed diets including tomato and cucumber waste fruits. *J. Anim. Sci.* 91, 914-923.

Varma S., Kalamdhad A.S., 2015. Evolution of chemical and biological characterization during thermophilic composting of vegetable waste using rotary drum composter. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 12, 2015–2024.

Vinceslas-Akpa M., Loquet, M., 1997. Organic matter transformations in lignocellulosic waste products composted or vermicomposted (Eisenia fetida andrei): chemical analysis and ^{13}C CPMAS NMR spectroscopy. *Soil Biol. Biochem.* 29, 751–758.

6. Agradecimientos

El presente estudio ha sido financiado por la Junta de Andalucía, Proyecto de Excelencia P12-AGR-587 y cofinanciado con fondos FEDER.

INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES ESTACIONALES SOBRE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN EN EL COMPOSTAJE DE RESIDUOS URBANOS

Raúl Alberto Vanegas, Rosario Solera, Diego Sales, José Luis García-Morales

Departamento de Tecnologías del Medio Ambiente, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Instituto de Investigación Vitivinícola y Agroalimentaria (IVAGRO). Universidad de Cádiz. Campus de Puerto Real. 11510. Puerto Real (Cádiz) Spain.
raulalberto.vanegas@uca.es

RESUMEN

En la actualidad la fracción orgánica de residuos de procedencia domiciliaria e industrial representa un porcentaje elevado, del 40 al 70%, variando su cantidad y composición en función del nivel de desarrollo de cada país. Asimismo, el desarrollo del proceso de compostaje en su fase activa de fermentación puede verse influenciado además por la estación climática en que este se desarrolle. El presente estudio hace referencia a la evaluación del proceso de compostaje de mezclas de residuos con características similares y bajo igual localización durante las estaciones de verano e invierno: B (100% Biorresiduos); M1 (90% Biorresiduos y 10% Biosólidos); y M2 (85% Biorresiduos y 15% Biosólidos). De esta manera, al desarrollarse éstos bajo condiciones ambientales diferentes durante la fase fermentativa (102 días) se evaluó la incidencia en el proceso de la climatología estacional mediante los parámetros temperatura, humedad y nitrógeno total. Adicionalmente, se procesaron los datos climatológicos mediante histogramas de frecuencia de 5 años de temperatura media diaria y la pluviometría registrada durante el periodo de los ensayos en ambas estaciones. Se concluye que los valores de temperatura de los ensayos registraron valores medios con diferencias apreciables, siendo más o menos elevados con respecto al período del estudio para las temperaturas medias ambientales y la precipitación. Asimismo, las diferencias significativas de los parámetros evaluados estuvieron condicionadas por el tipo de residuo presente en la mezcla, su heterogeneidad estacional y el aporte de humedad en los biosólidos.

Palabras clave: biorresiduos, biosólidos, climatología, compost**,** Windrow

1. Introducción

Actualmente, la gestión de residuos en Europa se orienta hacia una sociedad eficiente en el uso de los recursos, que produzca menos residuos y que sustituya una economía lineal basada en producir, consumir y tirar, por una economía circular en la que se reincorporen al proceso productivo una y otra vez los materiales que contienen los residuos para la producción de nuevos productos o materias primas (BOE, 2015).

De esta forma, una mejora de la gestión de los biorresiduos pasa por la adopción de medidas tendentes a establecer una recogida separada, su tratamiento biológico en instalaciones específicas, asegurando la calidad de los materiales obtenidos y garantizando su uso seguro en el suelo.

El co-compostaje es una práctica de manejo utilizada frecuentemente para optimizar los procesos y proporcionar productos finales de calidad (Cooperband, 2000;). Específicamente, el co-compostaje de residuos sólidos urbanos con biosólidos puede contribuir a incrementar el contenido final de nutrientes debido a la elevada concentración de N y P en los biosólidos (He y col., 2001). Diferentes estudios sobre co-compostaje corroboran la importancia que tiene la estación climática sobre el desarrollo del proceso de compostaje (Castaldi y col., 2005).

En el estudio que aquí se presenta se busca demostrar la influencia de las condiciones climatológicas sobre el proceso de fermentación (102 d) en pilas tipo windrow con características similares en cuanto a composición, peso y localización. De esta forma, se busca evaluar si las condiciones climáticas observadas en los diferentes ensayos inciden de manera directa en la evolución de parámetros tales como la temperatura, humedad y nitrógeno total.

2. Material y Métodos

2.1. Pilas de compostaje:

La composición de las pilas en ambos períodos (invierno (I) y verano (V)) estuvieron compuestas por **B** (100% Biorresiduos); **M1** (90% Biorresiduos y 10% biosólidos); y **M2** (85% Biorresiduos y 15% biosólidos).

Para su montaje se utilizaron los biorresiduos provenientes del Centro Integral de Tratamiento de Residuos 'Las Calandrias' y los biosólidos de la EDAR Guadalete, ambos en el municipio de Jerez de la Frontera. Los biosólidos provienen de un proceso de digestión anaerobia mesofílica de los lodos mixtos generados en la EDAR. En ambas experiencias **B** estuvo conformada aproximadamente por 17 t de biorresiduos, **M1** (12,5 t (I) ó 16,8 t (V) de biorresiduos y 1 t (I) ó 1,6 t (V) de biosólidos, **M2** (10 t (I) ó 11,7 t (V) de biorresiduos y 1,9 t (I) ó 2,2 t (V) de biosólidos).

La determinación de los parámetros físico-químicos (temperatura, humedad y nitrógeno total) en las muestras de compost, se realizó de acuerdo con los métodos normalizados recogidos en el Estándar Methods (APHA, 1989).

2.2. Soporte estadístico, informático e información climática.

En el procesado de los resultados experimentales se ha realizado un análisis de correlaciones de Pearson y un ANOVA para evaluar las interrelaciones del conjunto de variables, ambos mediante el programa estadístico SPSS 15.0. Asimismo, para determinar la importancia de la climatología en el proceso, se ha hecho un análisis mediante intervalos de frecuencia y porcentajes acumulados con la hoja de cálculo Excel de Microsoft de la temperatura media diaria, evapotranspiración y precipitación, con registros de 5 años (2002-2007), dos años arriba y dos abajo de nuestro periodo de estudios. Los datos climatológicos fueron obtenidos de una estación agroclimática próxima situada en el Poblado de Doña Blanca en el término municipal de El Puerto de Santa María consultada a través de la web de la Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural de la Junta de Andalucía (Junta de Andalucía, 2015).

3. Resultados y discusión.

3.1. Estudio de distintas variables climáticas. La posible influencia de algunos factores climáticos de interés para el proceso de compostaje fue evaluada mediante el análisis de los valores medios de temperatura y las precipitaciones. En la Tabla 1 se pueden ver los porcentajes acumulados e intervalos de temperatura al 75% y la temperatura media ambiental junto con su desviación estándar para el periodo de estudio (2002-2007).

Tabla 1. Intervalos de Temperatura, porcentaje acumulado al 75% y temperatura media durante la fase de fermentación.

	Período	% Acumulado 75%	Intervalo de Tª al 75% (ºC)	Tª Media y *DS* (ºC)
invierno	2002/2003	78,0	10-16	12,2 ± 2,9
	2003/2004	75,0	11-15	12,1 ± 2,2
	2004/2005*	71,4	8-11	9,4 ± 2,4
	2005/2006	73,6	9-13	10,7 ± 2,9
	2006/2007	78,0	10-16	11,2 ± 2,9
verano	2002	77,0	20-23	21,8 ± 1,9
	2003	75,9	21-29	23,5 ± 3,0
	2004*	75,9	21-25	23,4 ± 2,5
	2005	79,3	21-27	22,9 ± 2,4
	2006	79,3	20-28	23,6 ± 2,7

*Periodo correspondiente al desarrollo de los ensayos

El estudio mostró que específicamente para el período de desarrollo del ensayo de invierno, en 2004-2005, éste fue más frio que en los años precedentes y posteriores (ver Tabla 1). En ella se confirma como en el porcentaje acumulado al 75% en invierno (2004-2005), marca un intervalo de 8-11ºC y un valor medio de temperatura de 9,4ºC. En información de la Agencia Española de Meteorología (2006) este invierno fue catalogado como especialmente frío en distintas áreas del sur peninsular. Por su parte, la experiencia iniciada en el verano de 2004 se desarrolló bajo la influencia de valores de temperatura media similares a los del conjunto de años estudiados con excepción del 2002 (ver Tabla 1).

La Figura 1 muestra mediante un histograma de frecuencia, el perfil de las precipitaciones registradas en el periodo de fermentación de ambas estaciones. En ella se observa, como en ambas estaciones fue habitual la ausencia de precipitaciones (76 d en invierno y 85 d en verano), prevaleciendo déficits hídricos incluso en la época invernal. Las precipitaciones registradas fueron las más bajas de todo el período de estudio (2002-2007) (AEMET, 2006).

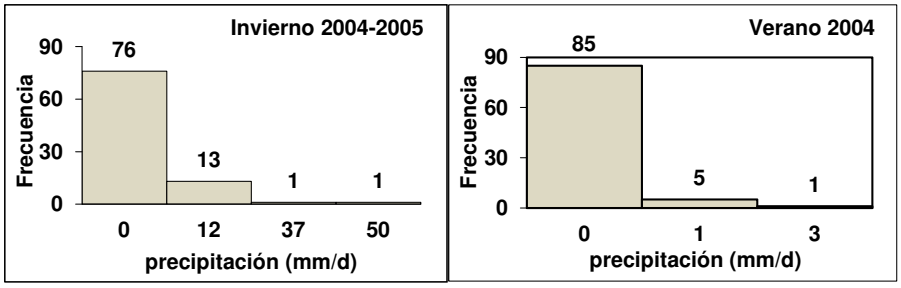


Figura 1. Histograma de frecuencia de la precipitación registrada durante la fase de fermentación en ambas estaciones.

3.2. Evolución de los parámetros físico-químicos.

De acuerdo con el ANOVA obtenido de los datos analizados de temperatura, humedad y NTK en la Tabla 2 se recogen las diferencias significativas obtenidas en ambas experiencias.

Tabla 2. Resumen de las diferencias significativas obtenidas en el ANOVA entre pilas en ambas estaciones para la temperatura, humedad y NTK (sombreado pilas de similar composición).

	Temperatura	Humedad	NTK
BI/BV	●		●
BI/M1I			●
BI/M2V			●
BI/M1V			●
BV/M1I	●	●	●
BV/M2I	●	●	●
M1I/M1V	●		●
M1I/M2V	●		●
M1V/M2I			●
M2I/M2V	●		●

Nota: El nombre del ensayo se acompaña de la estación (I: invierno, V: verano).

3.2.1. Temperatura. La evolución de la temperatura de los ensayos siguió el patrón de ascenso típico de paso de la fase mesofílica a la termofílica, mostrando en ambas experiencias una tendencia similar. Sin embargo, se registraron diferencias estadísticamente significativas en el parámetro entre pilas de similar composición en ambas estaciones (ver Tabla 2 sombreado). Adicionalmente se registró una influencia significativa de la composición de las pilas (% de biorresiduos y biosólidos), en la evolución del parámetro entre distintas estaciones.

3.2.2. Humedad. Las diferencias significativas encontradas en el contenido de humedad (pilas BV/M1I e BV/M2I), estuvieron claramente relacionadas con los ensayos de invierno que incluyeron biosólidos a diferencia del que solo contenía biorresiduos (B) en verano. Por lo que bajos porcentajes de humedad en verano favorecieron la ralentización del proceso de compostaje y demandaron, por tanto, un mayor aporte de humedad, en especial en la pila de biorresiduos (B). Las deficiencias de humectación sufridas durante el periodo estival fueron consecuencia de las altas temperaturas, las escasas precipitaciones y ciertas dificultades al humectar los ensayos.

3.2.3. Nitrógeno total. Los contenidos de nitrógeno en invierno presentaron diferencias apreciables con respecto al verano, debidas a la hetereogeneidad de las materias primas utilizadas, siendo corroboradas mediante el ANOVA tales diferencias para todos los ensayos en ambas experiencias.

Tal como se recoge en la Tabla 2, el número más elevado de diferencias significativas encontradas para los diferentes parámetros, se correspondieron con los ensayos B y las mezclas que contenían biosólidos (M1 y M2), independientemente de la estación. Asimismo, las diferencias obtenidas entre B de verano y las mezclas con biosólidos, involucraron no solo el nitrógeno total, sino también a la temperatura y la humedad. Por ello, las mayores diferencias se detectaron al compararla con M2 de invierno, mezcla con una mayor proporción de éstos, permitiendo confirmar la existencia de mejores condiciones de desarrollo en este ensayo debido a la presencia de biosólidos.

4. Conclusiones.

Las condiciones ambientales presentes a lo largo del estudio en el sistema de pilas de volteo, abarcaron dos estaciones climáticas singulares en el lustro estudiado, registrando valores

medios con diferencias apreciables, siendo más o menos elevados con respecto al período del estudio para las temperaturas medias ambientales y la precipitación.
Asimismo, el estudio comparativo de las experiencias de verano e invierno, pudo determinar que las diferencias de los parámetros evaluados estuvieron principalmente condicionadas por el tipo de residuo presente en la mezcla y su heterogeneidad estacional, siendo el aporte de humedad en los biosólidos un factor determinante en la evolución diferencial de los ensayos que los contenían.

5. Agradecimientos.

Los autores quieren expresar su agradecimiento al Ministerio de Ciencia y Tecnología por la financiación del proyecto (PETRI: PTR1995-0788-OP): Compostaje y co-compostaje de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU) y lodos de EDAR, en colaboración con la UTE-Las Calandrias, Aguas de Jerez Empresa Municipal (AJEMSA) y SUFI, S.A. durante el periodo 2004-2006.

6. Bibliografía.

AEMET, 2006. Agencia Estatal de Meteorología. Calendario Meteorológico años 2002-2010. http://www.aemet.es/documentos_d/conocermas/biblioteca/calendarios/cm (consulta: enero de 2014).

APHA, AWWWA, WPCF, 1989. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association - Washington, DC. 17th ed.

BOE, 2015. Resolución de 16 de noviembre de 2015, de la Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental y Medio Natural, por la que se publica el Acuerdo del Consejo de Ministros de 6 de noviembre de 2015, por el que se aprueba el Plan Estatal Marco de Gestión de Residuos (PEMAR) 2016-2022. Nº 287. Pág. 117395-97.

Castaldi P., Alberti G., Merella R., Melis P. 2005. Study of the organic matter evolution during municipal solid waste composting aimed at identifying suitable parameters for the evaluation of compost maturity. Waste Manag, 25: 209-213.

Junta de Andalucía, 2015. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Estación agroclimática de Doña Blanca. URL: https://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/ria/servlet/FrontController?action=Static&url=listadoEstaciones.jsp&c_provincia=11 (consulta: enero de 2015).

Cooperband L, 2000. Sustainable use of by-products in land management. In: Bartels JM, Dick WA (eds) Land application of agricultural, industrial, and municipal by-products. SSSA Book Series Nr 6, Madison, WI, USA, pp 215–235.

He Z, Yang X, Kahn BA, Stoffella PJ, Calvert DV, 2001. Plant nutrition benefits of phosphorus, potassium, calcium, magnesium, and micronutrients from compost utilization. In: Stoffella PJ, Kahn BA (eds) Compost utilization in horticultural cropping systems. Lewis, New York, pp 287–305.

CONTROL DE LA MADURACIÓN DEL PROCESO DE COMPOSTAJE MEDIANTE MANEJO ESTÁTICO Y DINÁMICO

Iria Villar[1], David Alves[1], Salustiano Mato[1]

[1] Departamento de Ecología y Biología Animal. Facultad de Biología. Universidad de Vigo. Campus As Lagoas – Marcosende 36310 Vigo (Pontevedra)
iriavillar@uvigo.es

Las plantas de compostaje realizan, usualmente, el tratamiento del residuo en dos zonas diferenciadas: una zona donde se realiza la fase biooxidativa de mayor actividad biológica y una zona de maduración. Por lo general, existe una falta de control de proceso en la estancia en maduración, lo cual, puede provocar problemas, como la generación de emisiones líquidas y gaseosas indeseables, y un detrimento de la calidad del compost. Por ello, esta investigación estudia los cambios físico-químicos y biológicos durante la estancia en maduración mediante dos manejos distintos: estático y dinámico. Se realizaron dos pruebas con la misma mezcla: lodo de depuradora de la industria de procesado de productos del mar mezclado con madera triturada en una proporción 1:2 (v/v). Cada prueba constó de una fase activa en reactor estático de 600L con aeración forzada y una fase de maduración por triplicado en cajas de 200L durante 112 días. En el tratamiento dinámico, el material se volteó cuando las temperaturas superaron los 55ºC mientras que en el estático el material se mantuvo sin voltear durante toda la maduración. Se tomó muestra compuesta de cada caja periódicamente para las determinaciones analíticas. El tratamiento dinámico posibilitó mayor duración de la fase termófila, mayor degradación de la materia orgánica y mejores parámetros de estabilidad y madurez. El control del material mediante volteos en la zona de maduración de las plantas de compostaje posibilitará la optimización del proceso al acortar el tiempo en alcanzar valores de calidad adecuados en los compost.

Palabras clave: volteos, PLFAs, biomasa microbiana, lodo de depuradora, compost

1. Introducción.

Generalmente, las plantas de compostaje industriales presentan dos zonas diferenciadas: una zona de compostaje activa y una zona de maduración. La fase activa del compostaje se caracteriza por mayores temperaturas, elevado consumo de oxígeno y alta producción de emisiones gaseosas y líquidas (Haug, 1993). Como consecuencia, en las instalaciones de compostaje esta fase se desarrolla con una técnica o tecnología concreta y con mayor control y seguimiento que la fase de maduración. Cuando finaliza, el material se deposita en la zona de maduración que se considera, en ocasiones, como un mero almacenamiento del compost (Rynk, 2000). De manera habitual, el material obtenido tras la fase activa puede sufrir una reactivación en la etapa de maduración. La falta de control de proceso en esta etapa provoca problemas ambientales como olores y lixiviados y afecta a la calidad de los compost. El diseño y funcionamiento de las plantas de compostaje debería integrar ambas fases con la finalidad de producir un compost estable y maduro (Haug, 1993). Diversos autores han estudiado el efecto que ejerce el volteo y su frecuencia durante el compostaje observando que los volteos provocan cambios en las características físicas, químicas y biológicas que afectan a la tasa de descomposición y, por lo tanto, al tiempo necesario para alcanzar la madurez y obtener un compost de calidad (Getahun et al., 2012; Ogunwande et al., 2008; Wong et al., 2001). Sin embargo, no se ha encontrado información sobre el posible efecto de voltear el material durante la estancia en la zona de maduración, ya que los volteos se ejercen principalmente durante la fase más activa del proceso o de manera programada a lo largo de todo el compostaje. Por lo tanto,

este trabajo trata de asimilar, a escala piloto, la fase de maduración que se desarrolla en las plantas de compostaje industriales, examinando el efecto de dos métodos de manejo: tratamiento estático y tratamiento dinámico mediante volteos. Los objetivos de este estudio fueron investigar si el manejo estático o el manejo dinámico influyen en los parámetros físico-químicos y biológicos y determinar si el control sobre la fase de maduración permite la obtención de un producto más estable en menor tiempo.

2. Material y Métodos.

2.1 Diseño experimental.

Se empleó lodo de depuradora procedente de una industria de elaboración de alimentos precocinados de pescado y cefalópodos y madera de pino triturada <3 cm como material estructurante. Ambos materiales se mezclaron en proporción 1:2 (v/v), respectivamente. La mezcla se compostó en un reactor estático con aireación mediante ventilación forzada y control de temperatura y oxígeno. El material se mantuvo en el reactor durante 30 días hasta que las temperaturas descendieron a valores inferiores a los 35ºC. El material precompostado se dispuso en cajas de madera de 200L de volumen donde se llevó a cabo la fase de maduración. Estas cajas presentaron la parte superior abierta y la parte inferior perforada y en ellas el material se situó entre dos capas de estructurante. El tratamiento estático se mantuvo durante 112 días sin homogeneizar, mientras que en el tratamiento dinámico el material se volteó cuando las temperaturas superaron los 55ºC. Ambos tratamientos se llevaron a cabo por triplicado. El control de temperatura se realizó diariamente los primeros 42 días y 3 veces por semana hasta el final del proceso a los 112 días. Se tomó muestra compuesta de un volumen total de 1.5 L de cada caja a los 0 (vaciado del reactor), 14, 28, 42, 56, 70, 91 y 112 días, la cual se cribó por un tamiz de 1 cm.

2.2. Análisis

Los contenidos de humedad y materia orgánica se determinaron gravimétricamente mediante secado a 105ºC hasta peso constante y calcinación a 550ºC durante 4 horas, respectivamente. El $N\text{-}NH_4^+$ y $N\text{-}NO_3^-$ se analizó en extractos 0.5 M K_2SO_4 en una relación 1:10(w/v) (Sims et al., 1995). La tasa respiratoria se midió empleando respirómetros manométricos mediante el sistema OxiTop® (WTW Gmbh, Weilheim). La composición de la comunidad microbiana se determinó mediante el análisis de perfiles de ácidos grasos fosfolípidos (PLFA) siguiendo el método descrito por Gómez-Brandón et al. (2010) para muestras orgánicas.

Todos los test estadísticos fueron desarrollados con el software R (R Development Core Team, 2014). Para evaluar las diferencias entre tratamientos se emplearon modelos mixtos usando el paquete nlme, con el tratamiento y el tiempo como factores fijos y la medida repetida en el tiempo en cada caja como factor aleatorio. Se realizaron pruebas t de Student para determinar la diferencia entre los compost.

3. Resultados y Discusión.

Se observaron evoluciones significativamente distintas ($p<0.05$) en el perfil de temperaturas entre tratamientos a lo largo de la maduración (Figura 1).

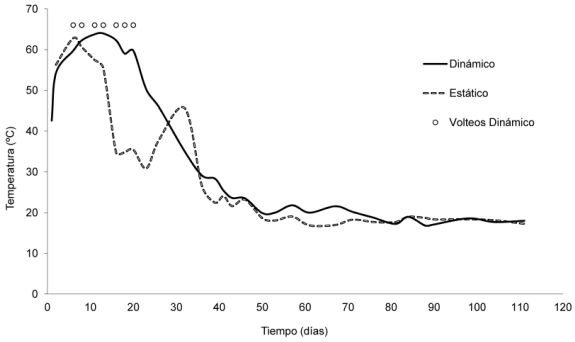


Figura 1. Perfil de temperaturas en el tratamiento dinámico y estático durante la fase de maduración.

En el tratamiento estático se mantuvieron temperaturas superiores a los 45ºC durante 10 días registrando un pico de temperatura a los 23 días y siendo necesario el riego del material a los 14 días para mantener la humedad superior al 40%. En el tratamiento dinámico, el material de las cajas se volteó en 7 ocasiones a lo largo de 20 días, se regó en 3 de los volteos, y las temperaturas termófilas se mantuvieron durante 26 días. Los volteos facilitaron la extensión de las condiciones termófilas, por lo tanto, permitieron la reactivación del proceso al incorporar el material menos degradado aportando sustratos fácilmente asimilables para la biomasa microbiana, desde el exterior al interior de las cajas. Ruggieri et al. (2008) sugirieron que el volteo durante el compostaje es preferible al sistema estático, ya que se impide la formación de agregados y la compactación.

Al finalizar la maduración la pérdida de materia orgánica en la fase en cajas fue significativamente mayor ($p<0.05$) en el tratamiento dinámico (11.1kg) que en el tratamiento estático (7.4 kg) (Tabla 1). El volteo del material permitió una mayor degradación del compost, sugiriendo que el tiempo necesario para alcanzar la estabilidad se redujo al realizar el control del proceso bajo condiciones dinámicas. Otros autores observaron resultados similares en experiencias a lo largo de todo el proceso de compostaje (Brito et al., 2008; Nikaeen et al., 2015).

Tabla 1. Balance de masas en el tratamiento dinámico y estático al inicio y al final de la fase de maduración.

	Tiempo 0		Tiempo 112		Compost F<10mm	
	Fresco(Kg)	MO(Kg)	Fresco(Kg)	MO(Kg)	Fresco (Kg)	MO(Kg)
Dinámico	78.2 ± 0.4	35.7 ± 0.2	59.8 ± 1.0	24.7 ± 0.3	18.1 ± 0.5	7.1 ± 0.2
Estático	74.5 ± 0.4*	35.2 ± 0.2	51.1 ± 0.7*	27.7 ± 0.4*	17.9 ± 0.6	9.0 ± 0.3*

*indica diferencias significativas entre el tratamiento dinámico y estático en la misma columna ($p<0.05$)

Tanto el ratio NH_4^+/NO_3^- como la tasa respiratoria presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($p<0.05$) a lo largo de la maduración (Figura 2a y 2b). A partir del día 56 se observaron condiciones de estabilidad y madurez en el tratamiento dinámico como fueron una tasa respiratoria menor de 0.5 $mgO_2\ g^{-1}SVh^{-1}$ (Iannotti et al., 1993) y un ratio NH_4^+/NO_3^- inferior a 0.16 (Bernal et al., 1998). El compost estático no presentó valores adecuados a día 56 mientras que a día 112 la tasa respiratoria alcanzó valores de estabilidad.

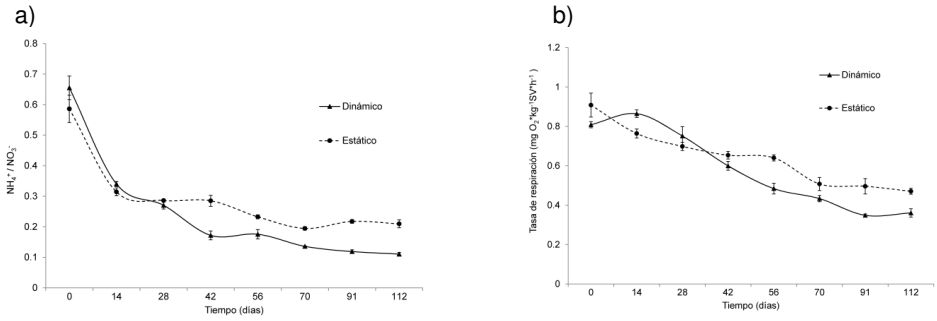


Figura 2. Ratio amonio/nitrato (a) y tasa respiratoria (b) durante la fase de maduración del tratamiento dinámico y estático.

Una vez alcanzados parámetros de estabilidad, las poblaciones microbianas se mantuvieron en valores bajos en el tratamiento dinámico mientras que el aumento de bacterias y hongos en el tratamiento estático podría indicar la disponibilidad de sustratos biodegradables (Figura 3a). Así mismo, el ratio PLFAs monoinsaturados/PLFAs saturados mostró que las comunidades microbianas del tratamiento dinámico estuvieron sometidas a un estrés nutricional mayor que en el tratamiento estático (Figura 3b).

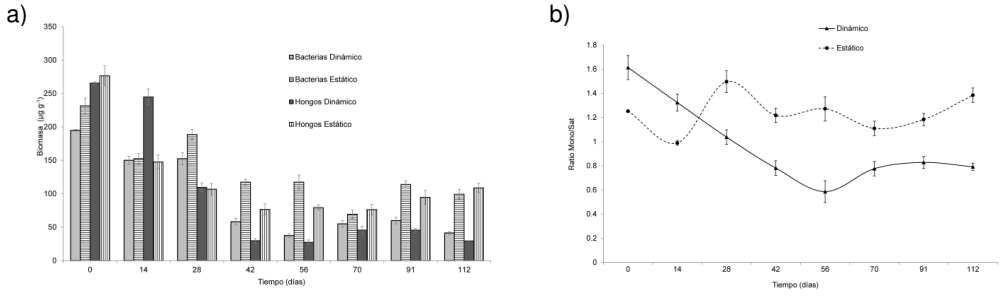


Figura 3. Biomasa bacteriana y fúngica (a) y ratio mono/sat (b) durante la fase de maduración del tratamiento dinámico y estático.

Jindo et al. (2012) sugirieron que valores bajos de este ratio muestran la finalización de las transformaciones de la materia orgánica durante el compostaje y Bastida et al. (2008) indicaron que valores altos de este ratio muestran mayor biodegradabilidad de sustratos carbonatados. De esta manera, la estabilización del ratio mono/sat puede ser indicativo de compost estables y maduros. El volteo del material posibilitó que se mantuvieran una diversidad microbiana más estable y similar tras alcanzar temperaturas mesófilas mientras que la no homogeneización de las cajas mantuvo una mayor diferencia entre muestreos.

4. Conclusiones.

El sistema dinámico permite mantener las temperaturas y, por lo tanto, prolongar la fase termófila con lo cual se consigue mantener durante mayor tiempo una tasa alta de degradación de la materia orgánica. El estudio de la estructura microbiana ayuda a caracterizar el estado de degradación de la materia orgánica de manera que un compost estable presenta una estructura microbiana estable mientras que la presencia de sustratos biodegradables provoca cambios importantes en las poblaciones microbianas. A la vista de los resultados, en las plantas de

compostaje los volteos del material durante la estancia en maduración posibilitará la optimización del proceso al acortar el tiempo en alcanzar valores de calidad adecuados.

5. Bibliografía.

Bastida, F., Kandeler, E., Moreno, J.L., Ros, M., García, C., Hernández, T., 2008. Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. Appl. Soil Ecol. 40, 318–329.

Bernal, M.P., Paredes, C., Sánchez-Monedero, M.A., Cegarra, J., 1998. Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes. Bioresour. Technol. 63, 91–99.

Brito, L.M., Coutinho, J., Smith, S.R., 2008. Methods to improve the composting process of the solid fraction of dairy cattle slurry. Bioresour. Technol. 99, 8955–60.

Getahun, T., Nigusie, A., Entele, T., Gerven, T. Van, Bruggen, B. Van der, 2012. Effect of turning frequencies on composting biodegradable municipal solid waste quality. Resour. Conserv. Recycl. 65, 79–84.

Gómez-Brandón, M., Lores, M., Domínguez, J., 2010. A new combination of extraction and derivatization methods that reduces the complexity and preparation time in determining phospholipid fatty acids in solid environmental samples. Bioresour. Technol. 101, 1348–1354.

Haug, R.T., 1993. The Practical Handbook of Compost Engineering. Lewis Publishers, Boca Raton.

Iannotti, D.A., Pang, T., Toth, B.L., Elwell, D.L., Keener, H.M., Hoitink, H.A.J., 1993. A quantitative respirometric method for monitoring compost stability. Compost Sci. Util. 1, 52–65.

Jindo, K., Sánchez-Monedero, M.A., Hernández, T., García, C., Furukawa, T., Matsumoto, K., Sonoki, T., Bastida, F., 2012. Biochar influences the microbial community structure during manure composting with agricultural wastes. Sci. Total Environ. 416, 476–481.

Nikaeen, M., Nafez, A.H., Bina, B., Nabavi, B.F., Hassanzadeh, A., 2015. Respiration and enzymatic activities as indicators of stabilization of sewage sludge composting. Waste Manag. 39, 104–110.

Ogunwande, G.A., Osunade, J.A., Adekalu, K.O., Ogunjimi, L.A.O., 2008. Nitrogen loss in chicken litter compost as affected by carbon to nitrogen ratio and turning frequency. Bioresour. Technol. 99, 7495–503.

R Development Core Team, 2014. R: a language and environment for statistical computing. R Found. Stat. Comput. Vienna, Austria.

Ruggieri, L., Artola, A., Gea, T., Sánchez, A., 2008. Biodegradation of animal fats in a co-composting process with wastewater sludge. Int. Biodeterior. Biodegrad. 62, 297–303.

Rynk, R., 2000. Fires At Composting Facilities: Causes And Conditions. Biocycle 41, 54.

Sims, G.K., Ellsworth, T.R., Mulvaney, R.L., 1995. Microscale determination of inorganic nitrogen in water and soil extracts. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 26, 303–316.

Wong, J.W.C., Mak, K.F., Chan, N.W., Lam, A., Fang, M., Zhou, L.X., Wu, Q.T., Liao, X.D., 2001. Co-composting of soybean residues and leaves in Hong Kong. Bioresour. Technol. 76, 99–106.

6. Agradecimientos.

Este estudio fue realizado gracias a la financiación de la Xunta de Galicia (09MDS024310PR).

COMPOSTAJE DE RESIDUOS PROCEDENTES DE GRANJAS DE AVÍCOLAS. INFLUENCIA DE LA AIREACIÓN

Mercedes Sánchez Báscones[(1)], Juan B. López Sotelo[(1)], Luis M. Navas Gracia[(1)], Juan M. Antolín Rodríguez[(1)], Carmen T. Bravo Sánchez[(1)], Petruta Mihaela Matei[(1,2)]

[(1)]E.T.S.I.I.A.A. Universidad de Valladolid, Av. Madrid, 50, Palencia, 34004, Spain
[(2)]Universidad de Ciencias Agronómicas, B-dul Marasti, 59, Bucarest, Romania
msanchez@agro.uva.es

Resumen
Tras la entrada en vigor del reglamento (CE) nº 1069/2009 la gestión de los subproductos producidos en las salas de incubación de las granjas avícolas ha generado un gran problema y coste económico. Estos subproductos están constituidos por huevos infértiles, cáscaras después del nacimiento (catalogados en el reglamento como tipo 3), embriones abortados y pollitos machos procedentes del sexado, catalogados como tipo 2. El tratamiento de estos subproductos mediante compostaje es viable al alcanzarse temperaturas suficientes para higienizar el producto y transformar los residuos en un producto estable y rico en sustancias húmicas. En el presente trabajo se describe el experimento de compostaje de residuos procedentes de granjas incubadoras avícolas junto con cama de gallina en proporción 1:2: La fase bio-oxidativa se realizó en dos biodigestores cerrados discontinuos utilizando una aireación diferente en cada uno (5 min/12 horas y 5 min/24 horas). Los biodigestores se llenaron formando capas alternas de subproductos de incubadoras y cama de gallina, hasta completar el biodigestor. Una vez completada esta fase (75 días) se vaciaron los biodigestores y se construyeron sendas pilas al aire libre para la fase de maduración, hasta completar el proceso en 275 días. Ambas aireaciones permitieron alcanzar 55ºC durante varios días pero la evolución de los perfiles de temperatura reflejó un periodo termófilo más prolongado en el proceso con menor aireación (5 min/24 horas), por el contrario, aunque ambos compost presentan un adecuado grado de madurez, es superior en el compost obtenido con la mayor aireación (5 min/ 12 horas).

Palabras clave: biodigestor discontinuo, residuos avícolas, subproductos incubadoras

1. Introducción.

Tras la entrada en vigor del reglamento (CE) nº 1069/2009 la gestión adecuada de los subproductos producidos en las salas de incubación de las granjas avícolas ha generado un gran problema y coste económico (Galarza-Sanz, 2012).

La evolución de la temperatura es un indicador de la actividad microbiana durante los procesos de compostaje y se puede considerar un parámetro conveniente y directo para determinar el estado de los procesos de compostaje (Haug, 1993; Li *et al.*, 2013). El síntoma más claro de la actividad microbiana es el incremento de la temperatura de la masa que se está compostando, por ello ha sido considerada tradicionalmente como una variable fundamental en el control del compostaje (Liang *et al.*, 2003; Miyatake y Iwabuchi, 2006). Se observan tres fases en el proceso: fase mesófila inicial (T<45°C), fase termófila (T>45°C); y fase mesófila final, considerándose finalizado el compostaje cuando se alcanza de nuevo la temperatura inicial. Cada especie de microorganismo tiene un intervalo de temperatura óptima en el que su actividad es mayor y más efectiva: 15-40 ºC para los microorganismos mesófilos y 40-70ºC para los termófilos (Suler y Finstein, 1977).

Los microorganismos que resulten beneficiados a una temperatura concreta son los que principalmente descompondrán la materia orgánica del residuo, produciéndose un desprendimiento de calor. Asimismo, pequeñas variaciones de temperatura influyen más en la actividad de los microorganismos que pequeños cambios de humedad, pH o relación C/N, de lo

que se deduce la importancia de los valores de la temperatura durante el proceso (Miyatake y Iwabuchi, 2006).

El mercado del compostaje debe caminar hacia la conciencia de calidad que permita adaptar cada producto final a cada situación particular, para ello se debe fomentar la sensibilización de los productores y los consumidores (Raviv, 2005). Para una correcta evaluación de la calidad agronómica del compost se deben considerar diferentes parámetros relevantes para su uso, tales como: granulometría, pH, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico, relación C/N, nivel de nutrientes, contenido y estabilidad de la materia orgánica, índice de germinación y actividad microbiana, entre otros (Masaguer y Capa, 2008). El destino final del compost determina también su calidad, siendo de gran importancia seleccionar los parámetros que mejor definan las características del compost en función de su uso (Masaguer y Capa, 2008). Miller y Sullivan (2005) establecieron la importancia relativa de diferentes parámetros físicos, físico-químicos, químicos y biológicos, según el uso final del compost producido. Independientemente de que se haga una evaluación de la madurez y estabilidad más exhaustiva, el test de germinación de Zucconi (Zucconi *et al*., 1981) es uno de los índices más usados para saber la madurez de un compost.

2. Material y métodos

Se utilizaron dos biodigestores construidos por paneles prefabricados tipo sándwich de dimensiones 2,37m de largo, 1,42 m de longitud y 1,08 cm de ancho y volumen de 3700 L. La aireación se aplica mediante un ventilador centrífugo de alta presión, que proporciona un caudal de aire de 600 m3/h. El aire se introduce a la mezcla a través de tuberías perforadas de plástico y, si es necesario, se acondiciona mediante 3 baterías calefactoras. La temperatura del material de compostaje se midió de forma continua gracias a tres sondas de temperatura Pt100 ubicadas en diferentes puntos de la mezcla. Los datos de temperatura fueron almacenados de forma automática en un DATA LOGGER (HOBO U12-008, marca Onset) y se descargaron semanalmente a un PC.

En un experimento anterior (Correa-Guimaraes et al., 2013; Sánchez-Báscones *et al*., 2008), se utilizaron diferentes proporciones de mezcla y ciclos de aireación, los resultados permitieron seleccionar en el presente estudio dos ciclos de aireación: 5 minutos cada 24 horas (AT24) y 5 minutos cada 12 horas (AT12), y una proporción de mezcla de residuos de incubadora: cama de 1:2 en peso. El llenado de los biodigestores se realizó alternando capas de residuos de incubadora y cama de gallina, comenzando por una capa de viruta de madera para controlar los lixiviados.

Los residuos de incubadora y la cama de gallinas fueron proporcionados por una granja avícola situada en Valladolid (España). Las experiencias se realizaron entre los meses de junio y octubre. Todas las materias primas fueron plenamente caracterizadas, en la Tabla 1 se presentan los valores que afectan a las proporciones de llenado.

Tabla 1. Caracterización físico-química de residuos usados durante el compostaje.

Parámetro	Huevo infértil	Huevo abortado	Pollito	Viruta	Cama
Humedad (% smf)	21,17	21,17	13,74	8,54	22,12
N_T (% sms)	5,86	7,21	10,08	0,51	1,88
C_T (%sms)	48,50	43,74	52,86	49,36	32,27
C_{OT}	45,56	40,06	52,76	49,36	29,76
MO. (%sms)	86,55	88,06	90,95	95,09	85,30
C_{OT}/N_T	7,77	5,62	5,23	96,07	15,80

3. Resultados y discusión

La Figura 1 muestra la evolución de la temperatura durante la fase bio-oxidativa. Los aportes de agua durante el proceso se indican con flechas para mantener la humedad en torno al 55%. La temperatura ambiente fluctuó en un estrecho rango (25 a 35 °C) durante la fase bio-oxidativa. Inicialmente, la temperatura de la mezcla fue de 22ºC. Las fluctuaciones de las temperaturas registradas durante el compostaje, para los dos tratamientos, fueron similares mostrando los tres pasos clásicos del proceso (Inbar *et al*., 1993):

Fase mesófila*:* En esta fase predominan los microorganismos mesófilos, que toleran una temperatura máxima de 45ºC. Esta temperatura se alcanza de forma muy rápida a las 42 y 36 horas para los tratamientos TA24 y TA12, respectivamente. Este rápido aumento inicial de la temperatura, síntoma del arranque del proceso, es causado por la descomposición de la materia orgánica y los compuestos nitrogenados, por parte de una población microbiana creciente (Nikaeen *et al*., 2015).

Fase termófíla*:* La temperatura en el tratamiento TA24 subió a un máximo de 62,2 durante el sexto día de compostaje. Este valor máximo de temperatura fue mayor en el caso de TA12, alcanzando los 66,3 ºC a los 4 días de compostaje probablemente debido a que el tratamiento TA12 suministra más oxígeno a los microorganismos aerobios, dando como resultando un aumento más rápido en la temperatura. Por otro lado, la fase termófila (>45ºC) se prolongó más en el tiempo en el tratamiento TA24 (84 días), con respecto al TA12 (64 días), posiblemente debido a una menor tasa de degradación y menores perdidas de calor por efecto de la aireación. Nikaeen *et al.* (2015) informaron del mismo comportamiento al estudiar diferentes sistemas de aireación en el co-compostaje de lodos de depuradora y restos de poda. La temperatura máxima alcanzada es semejante a la observada por otros autores, tanto en el compostaje de gallinaza (Gao *et al*., 2010; Khan *et al*., 2014; Tiquia y Tam, 2002) como en el de otros residuos ganaderos (Chen *et al*., 2010; Jiang *et al*., 2015; Liu *et al*., 2011). Sin embargo, la duración de la fase termófila fue mayor a las observadas por otros autores en el co-compostaje de diferentes residuos orgánicos con gallinaza (Khan *et al*., 2014; Shen *et al*., 2011; Wei *et al*., 2014). Esta larga fase termófila refleja una mayor disponibilidad de sustancias degradables, tales como hidratos carbonos y sustancias grasas (Piotrowska-Cyplik *et al*., 2013).

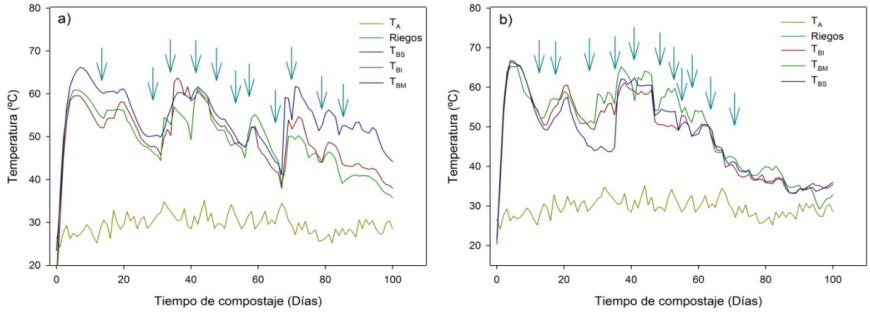


Figura 1. Perfiles de temperatura durante el proceso bio-oxidativo del co-compostaje de residuos de incubadora y cama de ponedoras para los tratamientos TA24 (a) y TA12 (b) (T_{BI}: tª en parte inferior del biodigestor r; T_{BM}: tª en parte media del biodigestor; T_{BS}: tª en parte superior del biodigestor; T_A: tª ambiente)

Fase de enfriamiento: Tras la fase termófila, la temperatura disminuyó gradualmente. Este descenso de la temperatura es provocado por la desaceleración de la actividad microbiana y la tasa de descomposición de la materia orgánica, al aumentar la estabilidad de la misma. *Después* de cien días de compostaje, en los dos biodigestores la temperatura disminuye hasta valores cercanos a los 35ºC, dándose por finalizada la fase activa. Posteriormente, la fase de maduración

se realizó en pilas al aire libre, en las cuales la temperatura disminuyó hasta temperatura ambiente (8-15 ºC).

En el compostaje también se tiene que asegurar una correcta higienización de los sustratos, ya que ello repercute de forma directa sobre la calidad y el potencial agronómico de los productos obtenidos (Noble y Roberts, 2004). Para conseguir esta correcta higienización la Agencia Estadounidense de Protección Ambiental (EPA, 2003) recomienda que el compostaje se mantenga por encima de 55ºC durante 15 días o por lo menos 5 días consecutivos. Estos requisitos se cumplieron sobradamente en los dos tratamientos, ya que se superaron los 55ºC durante 32 y 25 días en los tratamientos TA24 y TA12, respectivamente, a lo largo de toda la fase bio-oxidativa.

Los resultados del test de germinación de Zucconi para ambos compost son de 92,02% para TA24 y 124,27% para TA12, ambos valores superiores al 80% establecido por Zucconi *et al.* (1981) para ser considerados aptos.

4. Conclusiones

Los perfiles de temperatura reflejaron la evolución del proceso, mostrando un periodo termófilo más prolongado en el caso del tratamiento TA24, debido a la velocidad del proceso biodegradativo, consecuencia de un menor aporte de oxígeno. En ambos tratamientos se alcanzaron temperaturas superiores a 55ºC durante varios días, lo que seguramente condujo a la destrucción de gérmenes patógenos.

Se observó que ambos compost presentan un adecuado grado de madurez, siendo superior para el compost TA12.

5. Bibliografía.

Correa-Guimaraes, A., López-Sotelo, J. B., Navas-Gracia, L. M., Sanchez-Bascones, M., Diez-Gutierrez, M. A., and Matei, P. M., 2013. Aerobic discontinuous digestion of SANDACH from layer farms: Influence of aeration cycles. *In* "*VII Congreso Ibérico de agroingeniería y ciencias horticolas*", Madrid.

Chen, Y.-X., Huang, X.-D., Han, Z.-Y., Huang, X., Hu, B., Shi, D.-Z., and Wu, W.-X., 2010. Effects of bamboo charcoal and bamboo vinegar on nitrogen conservation and heavy metals immobility during pig manure composting. *Chemosphere* **78**, 1177-1181.

EPA, 2003. Environmental Protection Agency, USA. Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge. EPA625-R-92-013.

Galarza-Sanz, J., 2012. Gestión de residuos en salas de incubación. *In* "*Jornadas Profesionales de Avicultura 2012*", Sevilla.

Gao, M., Li, B., Yu, A., Liang, F., Yang, L., and Sun, Y., 2010. The effect of aeration rate on forced-aeration composting of chicken manure and sawdust. *Bioresource Technology* 101, 1899-1903.

Haug, R. T., 1993. "The practical handbook of compost engineering", CRC Press, Boca Raton, Florida.

Inbar, Y., Hadar, Y., and Chen, Y., 1993. Recycling of cattle manure: the composting process and characterization of maturity. *Journal of Environmental Quality* 22, 857-863.

Jiang, J., Liu, X., Huang, Y., and Huang, H., 2015. Inoculation with nitrogen turnover bacterial agent appropriately increasing nitrogen and promoting maturity in pig manure composting. *Waste Management* **39**, 78-85.

Khan, N., Clark, I., Sánchez-Monedero, M. A., Shea, S., Meier, S., and Bolan, N., 2014. Maturity indices in co-composting of chicken manure and sawdust with biochar. *Bioresource Technology* 168, 245-251.

Li, Z., Lu, H., Ren, L., and He, L., 2013. Experimental and modeling approaches for food waste composting: A review. *Chemosphere* 93, 1247-1257.

Liang, C., Das, K. C., and McClendon, R. W., 2003. The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend. *Bioresource Technology* 86, 131-137.

Liu, J., Xu, X.-h., Li, H.-t., and Xu, Y., 2011. Effect of microbiological inocula on chemical and physical properties and microbial community of cow manure compost. *Biomass and Bioenergy* 35, 3433-3439.

Masaguer, A., and Capa, M. B., 2008. Evaluación de la calidad del compost. *In* "Compostaje", pp. 285-304. Mundi Prensa Libros SA.

Miyatake, F., and Iwabuchi, K., 2006. Effect of compost temperature on oxygen uptake rate, specific growth rate and enzymatic activity of microorganisms in dairy cattle manure. *Bioresource Technology* 97,961-965.

Nikaeen, M., Nafez, A. H., Bina, B., Nabavi, B. F., and Hassanzadeh, A., 2015. Respiration and enzymatic activities as indicators of stabilization of sewage sludge composting. *Waste Management* 39, 104-110.

Noble, R., and Roberts, S. J., 2004. Eradication of plant pathogens and nematodes during composting: a review. *Plant Pathology* 53, 548-568.

Piotrowska-Cyplik, A., Chrzanowski, Ł., Cyplik, P., Dach, J., Olejnik, A., Staninska, J., Czarny, J., Lewicki, A., Marecik, R., and Powierska-Czarny, J., 2013. Composting of oiled bleaching earth: Fatty acids degradation, phytotoxicity and mutagenicity changes. *International Biodeterioration & Biodegradation* 78, 49-57.

Raviv, M., 2005. Production of high-quality composts for horticultural purposes: a mini-review. *HortTechnology* 15, 52-57.

Sánchez-Báscones, M., Navas, L. M., Díez, M. A., Correa, A., Hernández, S., and Martín, J., 2008. Compostaje de cadáveres de pollos en sistema cerrado discontinuo. *In* "I Jornadas de la Red Española de Compostaje", Barcelona.

Shen, Y., Ren, L., Li, G., Chen, T., and Guo, R., 2011. Influence of aeration on CH4, N2O and NH3 emissions during aerobic composting of a chicken manure and high C/N waste mixture. *Waste Management* 31, 33-38.

Suler, D. J., and Finstein, M. S., 1977. Effect of Temperature, Aeration, and Moisture on CO2 Formation in Bench-Scale, Continuously Thermophilic Composting of Solid Waste. *Applied and Environmental Microbiology* 33, 345-350.

Tiquia, S. M., and Tam, N. F. Y., 2002. Characterization and composting of poultry litter in forced-aeration piles. *Process Biochemistry* 37, 869-880.

Wei, L., Shutao, W., Jin, Z., and Tong, X., 2014. Biochar influences the microbial community structure during tomato stalk composting with chicken manure. *Bioresource Technology* 154, 148-154.

Zucconi, F., Pera, A., Forte, M., and De Bertoldi, M., 1981. Evaluating toxicity of immature compost. *Biocycle* 22, 54-57.

6. Agradecimientos.

Este trabajo ha sido financiado con cargo al proyecto IBK 10-655 (Ibercompost) “Optimización de la biodegración mediante digestores cerrados discontinuos para la eliminación alternativa in situ de cadáveres de animales, subproductos y residuos orgánicos en explotaciones agroganaderas”.

APROVECHAMIENTO DE LODOS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS Y *PHRAGMITES AUSTRALIS*: COMPOSTAJE VS VERMICOMPOSTAJE.

Mª del Valle Palenzuela[1], Alejandro Arévalo[1], Arturo F. Chica[2], Antonio Rosal[1].

[1]Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica. Universidad Pablo de Olavide de Sevilla. [2]Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química. Universidad de Córdoba.
mvpalrui@upo.es

Resumen

En este trabajo, se han comparado dos tecnologías (compostaje y vermicompostaje) aplicadas a una mezcla constituida por lodos de aguas residuales urbanas y *Phragmites australis* (carrizo vegetal) procedentes del Centro de las Nuevas Tecnologías del Agua (CENTA) de Carrión de los Céspedes (Sevilla). Se han desarrollado dos ensayos experimentales a escala piloto. Uno con una mezcla de lodos y carrizo, en proporción 1:1 (en base seca) y el otro con la misma proporción de mezcla inoculada con *Eisenia foetida* (1 kg). Ambas mezclas se han regado y volteado semanalmente durante 100 días que han durado los ensayos. Se han determinado el pH, los porcentajes de sólidos volátiles y nitrógeno total, el contenido metálico (Cu, Cd, Cr, Ni, Pb, Zn), la presencia de *E. coli* y *Salmonella sp*. y se ha evaluado el grado de estabilidad, mediante la T máxima de Autocalentamiento y el análisis de grupos funcionales presentes en sustancias húmicas. Los resultados indicaron que la aplicación del compostaje acelera el proceso de estabilidad en mayor medida que el vermicompostaje. Respecto al contenido de patógenos, las condiciones de operación han permitido la higienización solamente en el caso del compostaje. En base a la legislación española (RD 1310/1990), tanto compost como vermicompost han presentado un contenido metálico dentro de los rangos permitidos para uso agrícola.

Palabras clave: compost, vermicompost, carrizo vegetal, metales pesados, estabilidad.

1. Introducción

Actualmente, la generación de aguas residuales urbanas e industriales representa uno de los mayores problemas medioambientales al que nos enfrentamos. En este sentido, existe numerosa investigación que busca la optimización de los tratamientos biológicos convencionales (aerobios y anaerobios) de estas aguas residuales para incrementar la eficacia y en consecuencia, disminuir los costes medioambientales y económicos. Sin embargo, cuando el agua residual procede de pequeñas poblaciones se buscan alternativas más económicas, tales como la aplicación de humedales con especies vegetales capaces de reducir el poder contaminante (Chan et al., 2009)

El Centro de las Nuevas Tecnologías del Agua (CENTA) de Carrión de los Céspedes (Sevilla) aplica diferentes tratamientos no convencionales, tales como humedales constituidos por *Phragmites australis* (carrizo vegetal) que es una planta perenne, con tallos que se desarrollan en un sistema de rizoma extenso y que puede alcanzar hasta 6 m de altura. Esta planta es invasora y por tanto, debe controlarse su desarrollo mediante métodos químicos, biológicos o mecánicos como la poda (Mal and Narine, 2004). Este último, se lleva a cabo en el CENTA y genera una cantidad de residuo vegetal que se suma a la ingente cantidad de lodo que también se produce en el resto de operaciones que conlleva el tratamiento del agua residual urbana en el Centro.

El compostaje y el vermicompostaje resultan vías sostenibles de reciclaje para este tipo de residuos. La bibliografía aporta datos acerca de la aplicación de ambos procesos en mezclas de lodos procedentes de aguas residuales urbanas con otro tipo de materiales (Garg et al., 2006; Mohedo, 2002; Elvira et al., 1998) y compostaje aplicado a mezclas de carrizo vegetal con otros residuos biodegradables, tales como los generados en actividades ganaderas (Toumpeli et al. 2013). Sin embargo, no existe bibliografía sobre estudios de mezclas de lodos y carrizo vegetal.

En este trabajo, se comparan ambos procesos, compostaje y vermicompostaje, aplicados a una mezcla de lodos y *Phragmites australis*, con el fin de evaluar qué tratamiento es más efectivo y estudiar la calidad de los productos.

2. Materiales y Métodos

Ambos experimentos se han realizado a escala piloto con una mezcla de lodos y *Phragmites australis*, en la proporción 1:1 (peso seco), tratada durante 100 días con una frecuencia de riego y volteo de una vez por semana. El proceso de compostaje se ha llevado a cabo en una plancha de acero inoxidable mediante un sistema abierto de volteo manual y riego hasta alcanzar la humedad del 55%. En el caso del ensayo de vermicompostaje, la cama de residuos, inoculada con *Eisenia foetida* (1kg), se ha llevado al interior de un bidón de polietileno, sellado con tapa y abrazadera metálica, y se ha regado hasta alcanzar una humedad del 85%. En ambos ensayos, se ha seguido la evolución térmica mediante sondas de temperatura (PT-100) y Data logger (TESTO). Al final de los ensayos, el producto se ha obtenido mediante tamizado con una criba de 1 cm de luz.

En muestras tomadas, a diferentes momentos del proceso, fueron determinados parámetros físico-químicos, en base a métodos oficiales de análisis o bien recomendados (RD 506/2013). Las muestras se han secado a 70ºC en estufa y se ha determinado la humedad mediante diferencia de pesada. El pH se ha medido en suspensión acuosa 1:25 (peso/columen) con pHmetro CRISON Basic 20. El contenido de Sólidos Volátiles se ha determinado mediante calcinación en mufla a 550ºC durante 4 horas y el contenido de Carbono Total se ha obtenido por multiplicación del anterior con el Coeficiente de Waskman. El Nitrógeno Total se ha analizado mediante una variante del método Kjeldahl (Rosal, 2007) y el contenido metálico (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) mediante la técnica de Absorción Atómica con un Espectrofotómetro de Llama (Perkin Elmer AAnalyst 300). Todos los análisis citados se han realizado por triplicado.

Por otro lado, la estabilidad del material se ha evaluado mediante la relación C/N, la evolución de la Temperatura Máxima alcanzada en el Test de Autocalentamiento y la identificación de grupos funcionales presentes al final del proceso mediante Espectroscopía Infrarrojo con un Espectrofotómetro FTIR-ATR (Perkin Elmer Spectrum Two).

Por último, se han realizado análisis microbiológicos para cuantificación de *E. coli* y *Salmonella sp.* a los productos obtenidos, en base a las normas ISO 7251 e ISO 6579, respectivamente.

3. Resultados y Discusión

En las primeras semanas, se alcanzaron temperaturas termófilas y la temperatura máxima fue en torno a 55ºC. A medida que avanza el proceso, disminuye la materia orgánica fácilmente degradable y con ello, se reduce la actividad microbiológica (Arcos et al., 2008).

En el caso del proceso de vermicompostaje, la temperatura interna de la cama se ha mantenido dentro del rango de 15-35ºC que es considerado como óptimo para la actividad de la *Eisenia foetida* (Elvira et al., 1998).

La Tabla 1 muestra los resultados de los análisis de parámetros físico-químicos y microbiológicos realizados a muestras tomadas al inicio del proceso, en cuatro momentos posteriores y al compost y vermicompost obtenidos mediante tamizado. El pH fue similar en ambos casos y se mantuvo, prácticamente, entre 6,00 y 8,00 que es rango aceptable para la actividad de la microbiota y de la *Eisenia foetida* (Gómez, 2011). Este comportamiento del pH es análogo al aportado por otros autores para residuos biodegradables tratados con este tipo de tecnologías (Leite et al., 2015; Mohedo, 2002). Como es lógico, se observa que el porcentaje de sólidos volátiles disminuye a medida que avanza el proceso (reducción del porcentaje en torno a 20 puntos). Los productos incrementan ligeramente su contenido porque en el cernido, constituido por las partículas de menor tamaño, se concentra la fracción orgánica (Rosal, 2007).

La relación C/N es un parámetro que junto con otros, tales como la Temperatura Máxima de Autocalentamiento y la identificación de grupos funcionales propios de las sustancias húmicas, es

utilizado para evaluar cómo evoluciona el grado de estabilidad (Arcos, 2011). En ambos experimentos, la relación C/N disminuyó a medida que avanzó el proceso (Gutiérrez y Corredera, 2010; Rosal, 2007) aunque este descenso fue 1 punto más acusado en el compostaje. Respecto a la Temperatura Máxima de Autocalentamiento, se observa que la estabilidad alcanzada mediante el proceso de compostaje fue superior a la que se alcanzó con el vermicompostaje.

El contenido metálico fue menor en el caso del vermicompost. Este hecho podría deberse a fenómenos de lixiviación y a la capacidad de asimilación metálica de la *Eisenia foetida*. En cualquier caso, ambos productos presentaron concentraciones metálicas significativamente inferiores a las que por legislación se exige para el uso de lodos en agricultura (RD 1310/1990).

En los análisis microbiológicos, los resultados indicaron que el proceso de compostaje ha conducido a un producto "higienizado"; sin embargo, en el caso del vermicompostaje, se detectó presencia de Salmonella sp. y E. coli (<106 UFC/g) en el producto final.

Tabla 1. Caracterización físico-química de la pila y la cama en cuatro momentos del proceso.

Parámetros	**Muestreo (días)**	**Compostaje**	**Vermicompostaje**
pH	0	5,9±0,1	5,9±0,1
	7	6,5±0,2	6,5±0,1
	14	6,6±0,2	6,5±0,3
	42	6,9±0,3	6,8±0,1
	84	7,6±0,1	7,2±0,1
	100*	7,1±0,1	6,8±0,1
Sólidos Volátiles (%)	0	78,9±1,3	78,9±1,3
	7	74,0±1,1	73,0±1,6
	14	65,7±1,2	72,1±2,4
	42	63,4±1,1	65,0±2,1
	84	60,6±1,0	62,7±1,2
	100*	64,7±1,1	66,5±1,2
C/N	0	13,5	13,5
	7	15,4	14,1
	14	12,7	13,5
	42	11,9	12,1
	84	10,8	11,6
	100*	11,0	11,7
Temperatura Máxima Autocalentamiento (ºC)	0	50,1	50,1
	21	32,6	34,8
	100*	26,5	30,2
Cd (ppm)	100*	ND	ND
Cr (ppm)		110	98
Cu (ppm)		262	208
Ni (ppm)		33	24
Pb (ppm)		46	38
Zn (ppm)		811	858
E. coli (UFC/g)	100*	<10	$3,7x10^6$
Salmonella sp. (Ausencia/Presencia/25g)		Ausencia	Presencia

Valores medios y desviación estándar (n=3). ND=No Detectable.*Corresponden a compost y vermicompost.

En la Figura 1, el espectro de infrarrojo al compost y al vermicompost realizado mostró bandas correspondientes a diferentes grupos característicos de las estructuras moleculares de las sustancias húmicas y cuya presencia resulta indicativo del avance de cada proceso.

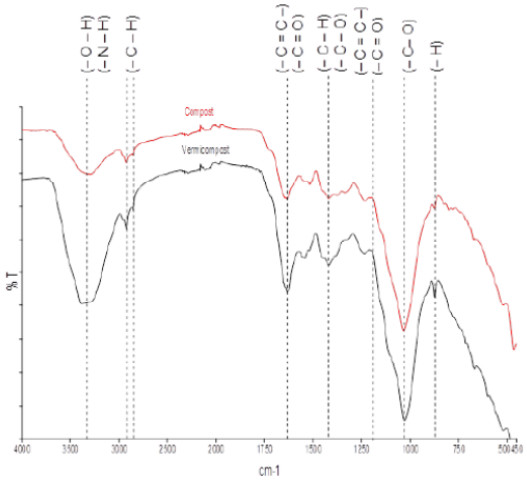


Figura 1. FTIR-ATR del producto obtenido en cada proceso.

Se registró una banda ancha a 3300 cm^{-1} correspondiente a grupos (O-H) de diferente naturaleza (carboxílica, fenólica, alcohólica) y grupos (N-H). Las bandas, en torno a 2900 cm^{-1}, pertenecen a grupos (C-H) simétricos y asimétricos de cadenas alifáticas. La banda registrada a 1625 cm^{-1} corresponde a grupos funcionales (C=C) de estructuras aromáticas, con grupos (C=O) de quinonas y cetonas. Una banda ancha, con centro a 1.430 cm^{-1}, se atribuye a vibraciones de diferentes grupos, entre ellos, (-C-H) de anillos aromáticos, y (-C-O) de fenoles y carboxilos. La banda a 1.008,6 cm^{-1} se corresponde con vibraciones (-C-O) asociadas a estructuras de restos de polisacáridos, carbohidratos y ésteres aromáticos. Por último, la banda (-H), registrada a 828 cm^{-1}, se asigna a vibraciones de anillos aromáticos (Andrés C. et al., 2012; Huang et al., 2006).

4. Conclusiones

A las condiciones de operación que se han desarrollado los experimentos, ambas tecnologías han incrementado el grado de estabilidad del material; aunque, en este sentido, el compostaje ha resultado más eficaz. Respecto al contenido de patógenos, la "higienización" solamente se ha conseguido en el caso del compostaje. Compost y vermicompost cumplieron los límites establecidos respecto al contenido metálico para su posible uso agrícola, según RD 1310/1990.

5. Bibliografía

Arcos Mª.Á., 2011. *Estudio del compostaje de residuos orgánicos municipales en sistemas de alta eficiencia.* Ed. Universidad de Córdoba, Córdoba.

Arcos Mª.Á., Dios M., Rosal A., 2008. *Estudio del compostaje de residuos sólidos urbanos en sistemas de alta eficiencia.* Ed. Universidad Internacional de Andalucía, Sevilla.

Chan Y.J., Chong M.F., Law C.L., Hassell, D.G., 2009. A review on anaerobic-aerobic treatament of industrial and municipal wastewater. *Chemical Engineering Journal.* 155, 1-18.

Calderín A., Luis de .Lima W., Furrazola E., Guridi F., Louro R.L., 2012. Modificaciones estructurales en Ácidos húmicos durante su extracción y purificación: Monitoreo espectoscópico FTIR y UV-Vis. *Revista Iberoamericana de Polímeros.* 13, 227-237.

Elvira C., Sampedro L., Benitez E., Nogales R., 1998. Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*: A pilot-scale study. *Bioresource Technology*. 63, 205-211.

Garg P., Gupta A., Satya, S. 2006. Vermicomposting of different types of waste using Eisenia foetida: A comparative study. *Bioresource Technology*. 97, 391-395.

Gómez, J.F., 2011.*Aplicación de la tecnología del vermicompostaje para la valorización agronómica de residuos y destríos de cultivos de invernadero*. Ed. Universidad de Granada, Granada.

Gutiérrez M., Corredera A.B., 2010. *La disminución del contenido metálico en el proceso de compostaje de residuos sólidos urbanos es factible*. Ed. Universidad internacional de Andalucia, Sevilla.

Huang G.F., Wu Q.T., Wong J.W.C., 2006. NagarTransformation of organic matter during co-composting of pig manure with sawdust. *Bioresource Technology*. 97, 1834–1842

ISO., 2005. ISO 7251: Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive Escherichia coli-Most probable number technique.

ISO., 2002. ISO 6579: Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of Salmonella spp.

Leite S.M., Ivani E., Hamilton C., 2015. Composting sewage sludge with green waste from tree pruning. *Scintia Agricola*. 72, 432-439.

Mal T.K., Narine L., 2004. The biology of Canadian weeds. Phragmites australis (Cav.) Trin. ex Steud. Can. *J. Plant Sci*. 84, 365-396.

Mohedo J., 2002. *Estudio de la estabilidad durante el compostaje de residuos municipales.* Ed. Universidad de Córdoba. Córdoba.

Real Decreto 506/2013, *sobre productos fertilizantes*. BOE, España.

Real Decreto 1310/1990, *sobre lodos tratados en agricultura*. BOE, España.

Rosal A., 2007. *Caracterización y mejora de la calidad en el compostaje de residuos municipales*. Ed. Universidad de Córdoba, Córdoba.

Toumpeli A., Pavlatou A.K., Kostopoulou S.K., Mamolos, A.P., Siomos A.S., Kalburtji K.L. 2013. Composting Phragmites australis Cav. Plant material and compost effects on soil and tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) growth. *Journal of Environmental Managment.* 128, 243-251.

6. Agradecimientos.

Los autores agradecen la financiación recibida a través del Plan Propio de la Universidad Pablo de Olavide (PPI1401) para poder llevar a cabo este trabajo.

LÍNEA TEMÁTICA II:

USOS DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS, COMPOSTS Y DIGESTATOS.

EFECTO DE LA GESTIÓN ECOLÓGICA Y DEL APORTE DE ENMIENDAS ORGÁNICAS DE ESTABILIDAD CONTRASTADA EN LA SUPRESIVIDAD DE *FUSARIUM GRAMINEARUM*

Joan Romanyà[1], A. Cabús[2], G. Segarra[2], Mª I Trillas[2]

[1]Secció Sanitat Ambiental i Edafologia. Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació. Universitat de Barcelona, correo electrónico: jromanya@ub.edu
[2]Secció Fisiologia Vegetal. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona

Resumen: La aplicación de compost en el suelo produce un aumento de la cantidad, diversidad y actividad de los microorganismos, bien sea los que provienen del compost o por la activación de la microbiota del suelo. Los suelos enmendados con materia orgánica son colonizados por microorganismos que compiten por nutrientes, parasitan o controlan el crecimiento de potenciales patógenos edáficos, como sería el caso de *Fusarium graminearum.* La gestión ecológica de los cultivos de cereales en Cataluña Central, donde hay abundancia de ganadería, se basa en la aplicación regular de estiércoles compostados, que afecta a la reserva de materia orgánica y a su capacidad de mineralización de nitrógeno.
En este contexto se plantearon los siguientes objetivos i) evaluar la supresividad natural frente a *F. graminearum* de los suelos de cultivos de cereales, con y sin gestión ecológica, según contenido de carbono orgánico y nitrógeno ii) evaluar el efecto en la supresividad de un aporte de material compostado o fresco.
Para ello se han seleccionado 4 suelos con gestión ecológica y 4 en convencional en los que se ha evaluado la supresividad frente a *F. gramineraum* según el modelo de gestión y las interacciones de la aplicación de compost o de estiércol fresco.
Los resultados obtenidos muestran una supresividad muy alta (entre 75 y 100%) en todos los suelos, comparada con el control turba (supresividad 6%). Los suelos con gestión ecológica muestran una tendencia en aumentar esta supresividad. Las aplicaciones únicas de enmiendas orgánicas no aumentaron la supresividad.

Palabras clave: supresividad natural, estiércol fresco, compost de residuos municipales (FORM),

1. Introducción.

Las enfermedades edáficas están provocadas por hongos patógenos que se transmiten a través del suelo. En el caso de la podredumbre de la raíz del trigo o de la cebada (dryland root complex; DLRRC) es una enfermedad provocada por los hongos patógenos *Bipolaris sorokiniana, Microdochium nivale y* diversas especies de *Fusarium* (principalmente *F. culmorum, pseudograminearum i graminearum*). Estos hongos pueden producir podriduras en semillas, plántulas, corona, tallos basales e incluso en las espigas (Paulitz et al. 2002). El daño que estos hongos hacen a menudo pasa desapercibido hasta que se observa una maduración prematura del grano (*whiteheads* en inglés). Las plantas infectadas presentan mayores síntomas en presencia de estrés hídrico. El DLRRC se encuentra casi en todo el mundo, a menudo de forma latente y en situaciones de sequía y temperatura elevadas en el periodo final del cultivo puede producir pérdidas de hasta el 50% de la cosecha, con efectos muy negativos en la calidad del grano (Tunali, B. et al. 2008).

Los materiales compostados además de favorecer el aumento de la reserva de C del suelo son conocidos por su capacidad supresora de enfermedades edáficas (Trillas-Gay et al. 1986; Erhart et al. 1999; Yogev et al. 2009). La competencia, la antibiosis y el hiperparasitismo son los

principales mecanismos relacionados con la supresividad de algunos compost. Al aplicar compost en el suelo se produce un aumento de la cantidad, diversidad y actividad de los microorganismos ya sea de los que provienen del compost o por la activación de la misma microbiota del suelo como resultado a la aportación de materia orgánica (Janvier et al. 2007). Los suelos enmendados con materia orgánica compostada son ampliamente colonizados por microorganismos que compiten por los nutrientes con los patógenos edáficos; o bien los parasitan o bien controlan químicamente su crecimiento (Hoitink and Boehm 1999). Más concretamente, sabemos que los materiales compostados pueden suprimir enfermedades producidas por el género *Fusarium* en diversos cultivos (Cotxarrera et al. 2002; Raviv et al. 2005) por lo tanto esperamos que la aplicación de compost como enmienda puede tener efectos significativos sobre la podredumbre de la raíz en trigo.

Las prácticas agrícolas ejercen una gran influencia en la salud del suelo y en su capacidad supresora (Janvier et al. 2007). Las rotaciones de cultivos, la intensidad del arado y las aplicaciones de materia orgánica pueden tener efectos importantes en las propiedades del suelo y en consecuencia afectar también a la capacidad supresiva de un suelo. En concreto los efectos de las aplicaciones de materia orgánica dependerán de las dosis de aplicación y del grado de madurez de las enmiendas (Erhart et al. 1999).

Las prácticas ecológicas que se llevan a cabo en los cultivos de cereales de Cataluña Central tienen como característica diferencial a las practicas convencionales la aplicación continuada de materiales orgánicos compostados y la introducción de leguminosas en sus rotaciones (Romanyà et al. 2011). Como resultado de estas prácticas los suelos con gestión ecológica tienen unos niveles de materia orgánica superiores y unas tasas de mineralización de N inferiores a los suelos con gestión convencional. En este contexto nos planteamos la siguiente hipótesis: debido a su mayor contenido en materia orgánica los suelos con gestión ecológica presentaran una supresividad superior a los de gestión convencional y una menor capacidad de respuesta a la aplicación de materiales orgánicos sean frescos o compostados.

En este trabajo presentamos los resultados de un experimento de supresividad natural frente *Fusarium graminearum* de cuatro suelos con gestión ecológica y de cuatro suelos con gestión convencional con y sin la aplicación de enmiendas orgánicas compostadas (FORM) o frescas (estiercol de ovino). Los objetivos del trabajo son i) evaluar la supresividad natural frente a *F. graminearum* de los suelos de cultivos de cereales, con y sin gestión ecológica, según contenido de carbono orgánico y nitrógeno ii) evaluar el efecto en la supresividad de un solo aporte de material compostado o fresco.

2. Material y Métodos.

2.1. Selección de suelos y diseño experimental

Para el estudio de la supresividad natural frente a *F. graminerarum* en suelos y en suelos enmendados con compost y estiércol fresco se han seleccionado 8 suelos procedentes de campos de cultivo de cereales de Cataluña central. Cuatro de estos suelos, con gestión ecológica, se habían fertilizado con estiércoles compostados durante por lo menos 10 años mientras que los otros cuatro habían recibido fertilización mineral, purines y estiércoles frescos (Tabla 1). Además los suelos congestión ecológica los cereales han rotado con leguminosas en contraste del monocultivo de cereales en los convencionales.

Tabla 1. Fertilización durante los 10 últimos años en los campos seleccionados.

	Campos ecológicos			Campos convencionales		
Loc	Enmienda	C	N	Enmienda	C	N
		kg/ha/año			kg/ha/año	
Car	Bovino compostado	1053	97	Purines	978	214
Man	Bovino compostado	1034	90	Purines+ gallinaza	1101	195
Esp	Ovino compostado	827	81	Purines+ Bovino	1089	288
Pil	Bovino + conejo comp.	986	76	Purines+ mineral	754	191

El ensayo de supresividad natural se realizó en una cámara de crecimiento (Fitotron) con una iluminación de 100 µmol m^{-2} s^{-1} y una temperatura de 24 ± 2°C, donde se colocaron los tiestos de 400 ml con mezclas de suelo o turba y enmienda orgánica. La turba se utilizó como control dado que se conoce que es un medio con alta conductividad a *F. graminearum*. Como enmienda orgánica se utilizó estiércol fresco ovino y un compost de alta calidad procedente de la fracción orgánica de residuos municipales (FORM; Tabla 2) a una dosis de 6.25 g por 100 g de suelo. En cada tiesto se sembraron 10 semillas de trigo (*Triticum durum* var. *regallo*) y se monitoreó su crecimiento durante 6 semanas. Las condiciones experimentales del emsayo consistieron en el tipo de suelo (4 convencionales +4 ecológicos +turba) y el tipo de enmienda orgánica (nada, compost y estiércol) y el inóculo de *F. graminearum*. El experimento en conjunto se repitió tres veces.

Tabla 2. Características del compost y del estiércol.

	pH	Ntotal (%)	C/N
Compost FORM	7.98	3.0	7.0
Estiércol Bovino	5.50	1.9	18.5

2.2 Preparación del inóculo. El inóculo se preparó a partir de muestras húmedas de suelo que se autoclavaron 2 días consecutivos. Al tercer día se les añadió patata troceada y se autoclavaron de nuevo. Posteriormente se inoculó el patógeno producido en agar (carnation leaf agar). Luego se homogeneizó y se dejó colonizar por el patógeno durante 3 semanas. Después se secó en condiciones estériles y se almacenó a 4^0C hasta su utilización. En cada tiesto inoculado se añadieron 100 g de inóculo.

2.3. Evaluación de la enfermedad. Al cabo de 6 semanas se cosecharon las plantas y se evaluó su peso seco. Los tratamientos no inoculados se tomaron como control. El porcentaje de supresividad se calculó a partir de del cociente entre la producción de las plantas inoculadas y las no inoculadas.

2.4. Análisis de suelos. Al final del ensayo se tomó muestra d ellos suelos y se analizó su contenido en C orgánico, N total y N mineral (NO_3^- y NH_4^+)

2.5. Análisis estadístico. La supresividad de la enfermedad según el modelo de gestión del suelo y según la aplicación de enmiendas orgánicas se testó mediante un ANOVA de dos factores. Se

caslcularon las correlaciones de Pearson entre la supresividad y el contenido en C, N y N mineral de los suelos.

3. Resultados y Discusión.

Los suelos con gestión ecológica tienen mayor contenido en C orgánico y en nitrógeno total. Este hecho pude ser debido a la aplicación repetida de materiales orgánicos compostados (Romanyà et al. 2011). También vemos como una simple aplicación de compost aumenta mucho más la reserva de C orgánico y de N total que la aplicación de materiales frescos en este caso más pobres en materia orgánica. Sin embargo, la aplicación repetida de de materiales compostados no afecta al N mineral ni al potencialmente mineralizable (datos no mostrados). Vemos también como el poder supresivo sobre la podredumbre de la raíz es muy elevado en todos los suelos estudiados ya que en todos los casos sobrepasa el 75% frente al 6% de la turba (material de referencia).

Destacamos que los suelos con gestión ecológica que han recibido materiales compostados durante por lo menos una década muestran una ligeras tendencia a aumentar su capacidad supresora (Fig. 1). Dicha tendencia coincide con un aumento en materia orgánica y en N total pero no se relaciona con los cambios en el nitrógeno mineral o mineralizable.

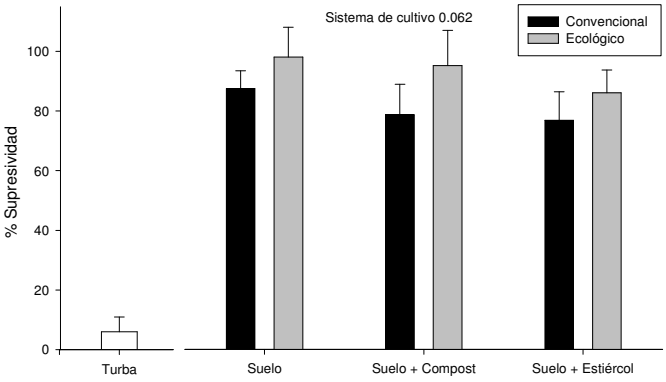


Figura 1. Supresividad de la podredumbre de la raíz medida según respuesta al crecimiento de plántulas de trigo en suelos de cultivo de cereales con y sin enmiendas de compost y estiércol fresco. También se muestra la supresividad de la turba.

4. Conclusiones.

En conclusión podemos inferir que el incremento de la capacidad supresiva de los suelos con gestión ecológica tendrá que ver con los cambios en la reserva de materia orgánica más que con los procesos de mineralización de nitrógeno. Una sola aplicación de material compostado no muestra ningún efecto sobre la capacidad supresiva de un suelo a *F. graminearum* si bien muestra un efecto importante en la disponibilidad de nitrógeno.

5. Bibliografía.

Cotxarrera L, Trillas-Gay MI, Steinberg C, Alabouvette C (2002) Use of sewage sludge compost and Trichoderma asperellum isolates to suppress Fusarium wilt of tomato. Soil Biol Biochem 34:467–476. doi: 10.1016/S0038-0717(01)00205-X

Erhart E, Burian K, Hartl W, Stich K (1999) Suppression of Pythium ultimum by biowaste composts in relation to compost microbial biomass, activity and content of phenolic compounds. J Phytopathol 147:299–305.

Hoitink HAJ, Boehm MJ (1999) Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate dependant phenomenon. 37:427-446. Annu Rev Phytopathol 37:427–446.

Janvier C, Villeneuve F, Alabouvette C, et al. (2007) Soil health through soil disease suppression: Which strategy from descriptors to indicators? Soil Biol Biochem 39:1–23. doi: 10.1016/j.soilbio.2006.07.001

Paulitz TC, Smiley RW, Cook RJ (2002) Insights into the prevalence and management of soilborne cereal pathogens under direct seeding in the Pacific Northwest, USA. Can. Plant Pathol 24:416–428.

Raviv M, Oka Y, Katan J, et al. (2005) High-nitrogen compost as a medium for organic container-grown crops. Bioresour Technol 96:427.

Romanyà J, Arco N, Solà-Morales I, et al. (2011) Carbon and nitrogen stocks and nitrogen mineralization in organically managed soils amended with composted manures. J Environ Qual 41:1337–47. doi: 10.2134/jeq2011.0456

Trillas-Gay M, Hoitink H, Madden LV (1986) Nature of suppression of Fusarium wilt of radish in a container medium amended with composted hardwood bark. Plant Dis 70:1023–1027.

Tunali, B., Nicol JM, Hodson D, et al. (2008) Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey. Plant Dis 92:1299–1306.

Yogev A, Raviv M, Kritzman G, et al. (2009) Suppression of bacterial canker of tomato by composts. Crop Prot 28:97–103.

6. Agradecimientos.

Quisiéramos agradecer a la planta de compostaje de Malla y a Josep Bové por facilitarnos el compost y el estiércol respectivamente. Este proyecto ha sido posible gracias al proyecto AGEC00041 de la Generalitat de Catalunya para la promoción de la investigación en agricultura ecológica y al proyecto delPlan Nacional AGL2015-66684-R.

ESTUDIO DEL VALOR AGRONÓMICO DEL TÉ DE COMPOST DE RESIDUOS DE JARDINERÍA EN EL CULTIVO DE PATATA (*Solanum tuberosum* L.) Y SU EFECTO SUPRESOR SOBRE *Rhizoctonia solani* Kühn

Gómez-Sánchez, M.A.[1], Morales-Corts, R.[1], Pérez-Sánchez, R[1], López-Martín, J.J.[1]

[1] Área de Producción Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales. Avda. Filiberto Villalobos, 119. 37007 Salamanca. geles@usal.es

Resumen: Existen diversos estudios sobre uso de té de compost para el control de enfermedades. En estos extractos se han encontrado microorganismos aeróbicos, que incluyen cepas de bacterias y hongos, que se reconocen como agentes potenciales de control biológico (Weltzien et al., 1991) y supresor de patógenos. Este es el punto de partida de este trabajo en el vamos a estudiar la aplicación de los extractos de compost en distintas dosis para el control de Rizoctonia en patata. En primer lugar, se ha realizado un análisis físico-químico del té de compost empleado en dilución 1:5 (v/v), mostrando que contienen una cantidad importante en N y K (superior a 2000 ppm), así como ácidos húmicos (10.3% sobre materia seca). En segundo lugar, se ha comprobado el efecto supresor in vitro cultivando *Rhizoctonia solani* en PDA (Potato Dextros Agar) con extracto en concentración de 1:10 (v/v). En el intervalo de 2 a 5 días el crecimiento del hongo en el medio con el extracto se ralentizó, mostrando un cierto control sobre el patógeno. Por último, se ha ensayado la aplicación en maceta con dos dosis distintas (60 y 120 ml/maceta y semana) y tres variedades de patata (Agria, Hermes y Lady Amarilla). En dichos ensayos, el extracto ha presentado un efecto vigorizante y supresor sobre *R. solani*.

Palabras clave: lucha biológica, fungicida, solanáceas, fitopatología

1. Introducción.

El cultivo de patata en España, y en concreto en Castilla y León, es uno de los principales motores de la economía agraria, siendo una de las fuentes principales de ingresos y el principal producto hortícola consumido.

La tendencia actual hacia una agricultura más sostenible y la limitación del uso de productos químicos para combatir plagas y enfermedades, origina la necesidad de buscar nuevas formas para controlarlas. En este contexto se encuadra el estudio de los tés de compost, extractos a base de agua, que se puede preparar usando composts de orígenes variables. Las características del compost de partida influyen de manera importante en las propiedades biológicas, físicas y químicas que adquiere el propio extracto (Scheuerell and Mahaffee, 2002).

El uso de estos extractos para el control de enfermedades ha sido estudiado por Weltzien (1991), que señala la presencia microorganismos aeróbicos reconocidos como agentes potenciales de control biológico.

Varios experimentos han indicado que la aplicación de extractos de compost y vermicompost mejora la salud de las plantas, el rendimiento y la calidad nutricional (Al-Dahmani et al., 2003; Elad y Shteinberg, 1994; Scheuerell and Mahaffee, 2004). Los extractos de compost pueden suministrar biomasa microbiana, materia orgánica con granulometría fina y ácidos orgánicos, que pueden actuar como reguladores del crecimiento vegetal y aportar nutrientes minerales solubles. Estas investigaciones muestran que la eficacia de los extractos es variable y depende principalmente de la naturaleza y características del compost de partida, así como del tipo de cultivo y el patógeno a controlar.

El estudio del uso de compost de residuos altamente orgánicos está motivado por el poder de supresión que presentan (Marín et al., 2014), en los que la microbiota que permanece en el producto final está directamente implicada.
Por ello, en este trabajo se estudió el efecto supresor de dos dosis de té de compost de residuos vegetales en el control de una de las enfermedades que más afecta al cultivo de patata, la Rizoctonia.

2. Material y Métodos.

En primer lugar, se realizó una caracterización físico-química del té de compost procedente de la empresa "Viveros El Arca" utilizado en los ensayos de producción. Para ello se analizaron los siguientes parámetros: pH, CE, N, P_2O_5, K_2O, S, Mg, Ca asimilables, medidos mediante fotómetro portátil Hanna y ácidos húmicos mediante precipitación y oxidación con dicromato.

A continuación se realizó una prueba de supresión en placa, añadiendo al PDA un 10% de extracto de compost (v/v). Se valoró el diámetro de crecimiento del hongo en comparación con un control sin extracto.

El ensayo de producción se llevó a cabo en macetas de 25 l de capacidad, con seis plantas por tratamiento. Las variedades de patata *(Solanum tuberosum L.)* utilizadas fueron Hermes, Lady Amarilla y Agria. Se trata de variedades muy utilizadas por la industria de procesado para su uso como Chips.

La variedad Hermes se caracteriza por su rusticidad, mientras que la variedad Agria se caracteriza por ser altamente sensible a los ataques producidos por hongos, siendo la variedad Lady Amarilla catalogada como una variedad de resistencia intermedia.

La plantación se realizó el 10 de mayo de 2016 en un sustrato formado por turba rubia y vermiculita en proporción 1:1 (v/v).

Se planteó la utilización de dos dosis de té de compost: 60 y 120 ml/semana, para evaluar el efecto supresor frente a *R. solani*.

Los tratamientos ensayados fueron:

T1: *R. solani* + aportes de 60 ml semanales de té de compost.
T2: *R. solani* + aportes de 120 ml semanales de té de compost.
T3: *R. solani*.
T4: Control sin patógeno y sin té de compost.

Para la inoculación del patógeno se creció el hongo en PDA hasta que alcanzó el borde de la placa. Posteriormente se realizó una emulsión de cada placa en 200 ml de agua destilada. Se añadieron 20 ml de esta emulsión por maceta, 15 d después de la plantación.

Los tratamientos con té de compost se iniciaron 10 d después de la plantación.

Semanalmente se aplicó un riego de 500 cm^3 por planta (descontándose en las plantas que se aplica el tratamiento la correspondiente cantidad de agua para evitar que los resultados puedan ser erróneos) y de 1000 cm^3 en las 3 últimas semanas del ensayo dadas las necesidades hídricas de las plantas.

A lo largo del ensayo se midió la altura de las plantas y se estimó el grado de infección de las plantas aplicando valorando de 1 a 5 el grado de infección, correspondiendo el valor 1 a planta sana y el valor 5 a planta muerta.

3. Resultados y discusión.

En la tabla 1 aparecen recogidos los resultados del análisis físico-químico del extracto de compost utilizado.

Tabla 1. Análisis físico-químico del extracto de compost.

pH	CE (dS/m)	N (ppm)	P_2O_5 (ppm)	K_2O (ppm)	S (ppm)	Ca (ppm)	Mg (ppm)	Ácidos húmicos (% ms)
7.16	1.2	2240,4	61.4	2851.2	20	280	20	10,3

El pH fue similar al obtenido por otros autores que utilizaron sustratos variables (Ferruzi, 1986, Martinez, 1996, Bollo, 1999 Masciandaro *et al*., 2000). Sin embargo, otros investigadores como Tognetti *et al.* (2005), obtuvieron valores más elevados, debido a la naturaleza de los materiales utilizados para la elaboración del compost.

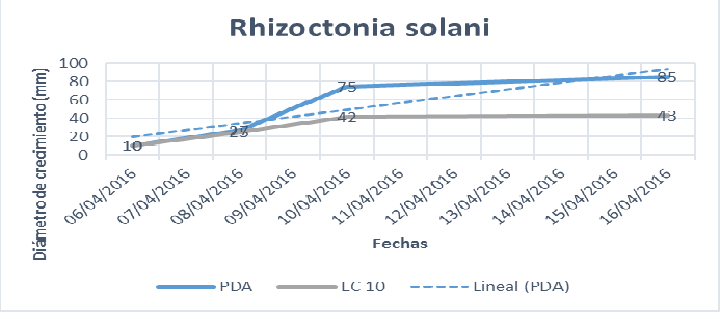
En cuanto a la conductividad eléctrica (CE) podemos observar resultados similares a los obtenidos por Pant *et al.* (2012).

El contenido en los elementos químicos es destacable, sobre todo en fosforo y potasio, datos que concuerdan con los expuestos por Labrador *et al.* (2001) en su estudio sobre compostaje de alperujo.

El contenido en ácidos húmicos es más elevado que el de los extractos analizados por Pant *et al.* (2012).

En el ensayo de cultivo en placa se comprobó la reducción de crecimiento de *R. solani*, corroborando así el efecto supresor, seguramente mediado por el crecimiento de distintos microorganismos desarrollados a partir del extracto de compost (Figura 1).

Figura 1. Diámetro de crecimiento de *Rhizoctonia solani* (mm).



Por último, en la tabla 2 se muestran los resultados del ensayo de producción en maceta.

Tabla 2. Altura y grado de infección de las plantas (1-sana/5-muerta).

Variedad	Tratamiento	Altura (cm)	Grado infección
Agria	T1	89,41	2,33
	T2	98,1	2,8
	T3	76,41	4,66
	T4	49	1,66
Lady Amarilla	T1	137,25	2,33
	T2	148,16	1
	T3	109,86	3,66
	T4	104,41	1,33
Hermes	T1	96,66	2,33
	T2	98,5	3,33
	T3	62,16	4,5
	T4	87,91	1,16

Como se puede apreciar los tratamientos con extracto presentan una mayor altura en comparación con los testigos a los que únicamente se les aplicó el agua de riego. Los primeros síntomas de la enfermedad están comenzando a aparecer, mientras que las testigos acusan rápidamente la enfermedad, las plantas tratadas aún no muestran signos de la enfermedad siendo su aspecto normal.

Se aprecia un mayor tamaño en las plantas del tratamiento T2 de las tres variedades en las que la enfermedad aún no se ha presentado. Así mismo se ve una reducción de la incidencia de la enfermedad, tal y como apuntan autores como Dionne *et al.* (2012).

La variedad Agria es muy sensible a *R. solani* y muestra daños en las plantas del T3 rápidamente y en algunas plantas del tratamiento T1, mientras que las plantas del tratamiento T2 tienen mejor comportamiento frente a la enfermedad.

La variedad Hermes, mucho más rústica no es tan sensible a *R. solani* y los daños que presentan las plantas del T3 son menores, además el poder vigorizante de los extractos se refleja con mayor claridad, siendo estas las que mayor altura presentan.

En la variedad Lady Amarilla, una variedad de sensibilidad intermedia los resultados del inicio del ensayo son muy buenos, apreciándose un mayor poder vigorizante para las dos dosis de Té, aunque siendo levemente superior en el tratamiento T2.

Este efecto supresor que poseen los extractos frente a los patógenos ha sido asociado con la actividad microbiana y con la capacidad para sostener esta actividad que presentan (Hoitink and Fahy, 1986; Hoitink and Boehm, 1999; Noble and Coventry, 2005).

5. Bibliografía.

Al-Dahmani J.H., Abbasi P.A., Miller S.A., Hoitink H.A.J, 2003. Suppression of bacterial spot of tomato with foliar sprays of compost extracts under greenhouse and field conditions. *Plant Dis.* 87: 913-919.

Bollo E. 1999. Lombricultura: una alternativa de reciclaje. Quito. Soboc Grafic. 149 p.

Dionne A., Tweddell R.J., Antoun H., Avis T.J., 2012. Effect of non-aerated compost teas on damping-off pathogens of tomato. *Can. J. Plant Pathol.* 34(1):51-57

Elad Y., Shteinberg D., 1994. Effect of compost wáter extracs on grey mold (*Botrytis cinerea*). *Crop Prot.* 13, 109-114.
Ferruzi, C. 1986. Manual de lombricultura. Madrid. España. Mundi-Prensa. 138 p.
Hoitink H.A.J., Boehm M.J., 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Annu. Rev. Phytopathol.* 37: 427-446.
Hoitink H.A., Fahy P.C., 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annu. Rev Phytopathol. 24*(1), 93-114.
Labrador M.J., 2001. La Materia Orgánica en los Agroecosistemas. Grupo Mundi-Prensa. España. 169-171 pp.
Martínez C., 1996. Potencial de la lombricultura: elementos básicos para su desarrollo. A. Carballo; S. Bravo (eds). *Texcoco*, MX. 140 p.
Noble R. Coventry E., 2005. Suppression of soil-borne plant diseases with composts: a review. *Biocontrol Sci. Technol. 15*(1), 3-20.
Masciandaro G., Ceccanti B., Rnchi V., Bauer, C., 2000. Kinetic parameters of dehydrogenase in the assessment of the response of soil to vermicompost and inorganic fertiliser. *Biology and Fertility of Soils* 32, 479-483.
Pant A.P., Radovich K.T.J., Hue V.N., Paull E.R., 2012. Biochemical properties of compost tea associated with compost quality and effects on pak choi growth. *Sci Horticulturae* 148:138-146.
Scheuerell S.J., Mahaffee W.F., 2002. Compost tea: principles and prospects for plant disease control. *Comp. Sci. util.* 10: 313-338.
Scheuerell S.J., Mahaffee W.F., 2004. Compost tea as a container medium drench for suppressing seedling damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 94 (11): 1156-1163.
Tognetti C., Laos F., Mazzarino M.J., Hernández M.T., 2005. Composting vs vermicomposting: A comparision of end product quality. *Comp. Sci. util.* 13(1):6-13.
Weltzien, H. C. 1991. Biocontrol of foliar fungal diseases with compost extracts. In: Andrews, J. H., Hirano, S. S. (Eds.). Microbial ecology or leaves. Springer-Verlag, New York, ppl 430-450.

DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UNA HERRAMIENTA SENCILLA Y DE BAJO COSTE PARA LA DIVULGACIÓN DEL USO DEL COMPOST PROCEDENTE DE ÁREAS DE COMPOSTAJE COMUNITARIO EN JARDINERIA

Zuazagoitia, Iñigo[1]; Storino, Francesco[2]; Arizmendiarrieta, Joseba S.[1]; Usanos, Monika[3]; Meoki, Miren[4]; Muro, Julio[1]; Irigoyen, Ignacio[1]

[1]Universidad Pública de Navarra. Dpto. Producción Agraria. Pamplona (Navarra)
[2] Universidad Pública de Navarra. Dpto. CC. del Medio Natural. Pamplona (Navarra)
[3] Oficina de Cambio Climático y Agenda 21, Ayuntamiento de Noáin (Navarra)
[4] Ayuntamiento de Baztán (Navarra)
[2]francesco.storino@unavarra.es

Resumen: El compostaje comunitario se está afirmando como una vía sostenible para prevenir la generación de residuos orgánicos domiciliarios. Sin embargo, en algunos casos las personas participantes en los programas de compostaje comunitario plantean ciertas dudas y desconfianzas sobre la utilización del compost obtenido.
El trabajo realizado tiene por objetivo diseñar e implementar una herramienta sencilla y barata para demostrar y divulgar el uso del compost en el ámbito de la jardinería y superar las posibles barreras para promover su utilización.
La herramienta proporciona a los usuarios la posibilidad de constatar directamente cómo influyen distintas dosis del compost procedente de las zonas de compostaje comunitario en el crecimiento de césped. El sistema presentado quiere ser únicamente una herramienta de divulgación y no un ensayo científico-técnico para lo que obviamente precisaría tener repeticiones.
En una zona pública ajardinada con césped bien implantado, próxima a un área de compostaje comunitario, se delimitan 5 parcelas de menos de 10 m^2. En cada una de ellas se aplica superficialmente dosis crecientes de compost. Periódicamente el propio servicio de jardinería municipal corta y pesa *in situ* la hierba de cada parcela. La ciudadanía y el propio servicio de jardinería pueden día a día constatar el efecto de las dosis de compost en el desarrollo del césped al estar en zonas muy visibles.
En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en dos municipios en los que se ha probado esta herramienta, uno con clima mediterráneo (Noáin) y otro atlántico (Baztán).
A la luz de los resultados obtenidos la herramienta ha demostrado ser un sistema sencillo y barato para la promoción del uso del compost, con un gran potencial educativo y divulgativo.

Palabras clave: Autocompostaje, Compostaje Descentralizado, FORM, *in-situ*, Prevención

1. Introducción.

Las actuales políticas europeas (Directiva 2008/98/CE) contemplan un sistema jerárquico para la gestión de los residuos, en el cual las acciones de prevención constituyen las más alta prioridad. El compostaje comunitario se está afirmando como sistema eficiente y sostenible de prevención de la fracción orgánica de los residuos municipales (FORM), en diversas zonas del estado español y de Europa (Vázquez y col., 2015).

Sin embargo, habitualmente parte de los participantes en los diversos programas de compostaje local, y de los ciudadanos en general, manifiestan dudas y una cierta desconfianza sobre cómo utilizar el compost de FORM. Existe por lo tanto la necesidad de generar instrumentos para dar a conocer como se usa en el ámbito de la jardinería y superar las posibles barreras para promover la utilización del compost comunitario por parte de usuarios y vecinos del entorno.

Para este fin se ha desarrollado e implantado una herramienta, sencilla y de bajo coste, para dar a conocer *in-situ* los efectos de la aplicación del compost doméstico en jardinería. El trabajo presentado describe los resultados obtenidos tras la implantación en dos municipios de Navarra.

2. Materiales y Métodos.

La herramienta proporciona a los usuarios la posibilidad de constatar de manera muy aplicada el efecto de las distintas dosis de compost sobre el crecimiento de césped.

La ciudadanía día a día puede observar directamente el desarrollo de la prueba al estar en zonas muy visibles. El sistema ideado se trata de un sencillo experimento de dosis-respuesta, inspirado en pruebas de crecimiento experimentales (López y col., 2010), en el que se aplica el compost como fertilizante orgánico sobre un césped y se observa el efecto que éste tiene sobre el crecimiento en la hierba. Se trata únicamente de una herramienta de divulgación de la utilización del compost comunitario y, al no realizarse repeticiones, no puede ni quiere constituir un ensayo técnico-científico para la evaluación de la calidad del compost.

Se procede identificando una zona ajardinada con césped homogéneo (*Lolium* sp.) y bien implantado cercana al área de compostaje comunitario, en la cual se delimitan unas parcelas de entre 5-10 m^2. En primavera se fertiliza aplicando superficialmente, por encima del césped, una cantidad de compost correspondiente a las dosis a ensayar. Durante 4 meses los servicios municipales realizan cortes periódicos, el primer de los cuales cuando la hierba alcanza los 5 cm de altura. El peso de la hierba cortada es determinado *in-situ* con una báscula portátil o peso de algún establecimiento comercial del entorno y apuntado en un registro (fig.1).

Figura 1. Control de producción con una báscula portátil realizada por el servicio de jardines.

El sistema ha sido probado en dos localidades navarras, respectivamente de clima mediterráneo y atlántico: Noáin y Baztán (fig.2). En Noáin el jardín seleccionado disponía de riego automático por aspersión puesto que esta zona mediterránea es imprescindible para el correcto desarrollo del césped. En Noáin antes de la aplicación del abono se realizó una escarda manual con azada para eliminar malas hierbas y se resembro con césped con el fin de mejorar la homogeneidad de la zona del ajardinamiento seleccionado para el ensayo. El abonado en superficie se realizó en abril y el primer corte un mes después. Los cortes han sido efectuados con un cortacésped con sistema de recogida, realizados con periodicidad mensual. Se previeron 4 cortes en Baztán y 2 en Noáin.

Figura 2. Localización del experimento en las dos localidades (izquierda: Noáin, derecha: Baztán)

En ambas localizaciones se marcaron con estaquillas fosforescentes en los extremos 5 parcelas, de 1,5 x 5 m en Noáin (7,5 m^2) y de 1,5 x 3 m en Baztán (4,5 m^2). En cada parcela la fertilización se manejó de forma diferente (fig. 3). Una parcela sirvió como testigo sin fertilización. Tres parcelas fueron fertilizadas con compost procedente del gallinero-compostador "Avicompo" de Noáin, una iniciativa de compostaje comunitario asistido por gallinas (Storino y col., 2014), aplicado a tres dosis distintas (10, 5 y 2,5 kg compost/parcela). La quinta parcela fue fertilizada con 5 kg de compost diferente en las dos localizaciones. En Noáin se utilizó compost procedente de la microplanta municipal de compostaje de FORM y residuos agrícolas de Larrabetzu, Bizkaia (Larrabetzu Zero Zabor, 2016). En Baztán se utilizó el compost comunitario del mismo municipio, procedente de una de las 10 áreas de compostaje comunitario de Elizondo, constituida por 3 compostadores de 800 L, en el que participan 8 familias, y que se encuentra al lado de las parcelas. En la tabla 1 se presentan las características de los diferentes compost.

También se realizó una encuesta final a los técnicos de Agenda 21 de ambos ayuntamientos.

Tabla 1. Características analíticas de los compost utilizados.

	"Avicompo"	"Elizondo"	"Larrabetzu"
procedencia	gallinero-compostador	compostaje comunitario	compostaje municipal
pH	8,6	7,6	8,0
conductividad eléctrica ($\mu S \cdot cm^{-1}$)	2176	3757	1960
humedad (%)	35,2	61,4	59,1
Materia orgánica ($g \cdot 100g^{-1}_{SS}$)	43,2	76,5	42,8
C/N	10	17	10
N total ($g \cdot 100g^{-1}_{SS}$)	2,79	2,67	2,07
P_2O_5 ($g \cdot 100g^{-1}_{SS}$)	1,67	1,18	1,88
K_2O ($g \cdot 100g^{-1}_{SS}$)	2,40	2,05	0,73

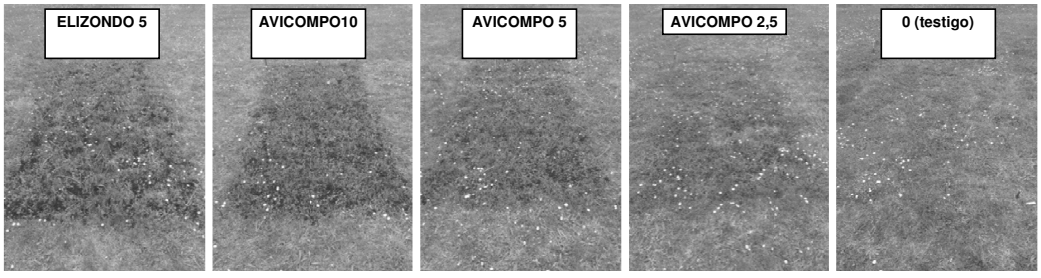


Figura 3. Aplicación de distintas dosis (Kg_{PF}/parcela) y tipos de compost (parcelas de Baztán)

3. Resultados y Discusión.

La implantación y seguimiento de las dos experiencias fue muy sencilla y no fue necesaria la realización de inversión alguna para su desarrollo. Este tipo de pruebas han aportado información interesante sobre las modalidades de uso del compost y han suscitado importante interés entre la población en general y los usuarios del compostaje comunitario en particular. Los 4 cortes de hierba previstos inicialmente en cada localidad no se llegaron a realizar. En Baztán sólo se realizaron 3 debido a la falta de lluvias en el mes de agosto. A su vez, en Noáin sólo se realizaron 2 cortes debido a que desconocidos retiraron las señalizaciones de las parcelas y el personal de jardinería segó accidentalmente la pradera sin realizar controles de peso. En cualquier caso en todas las parcelas el desarrollo del césped fue adecuado no percibiéndose grandes diferencias en función del abonado recibido. En ningún caso la aplicación de compost tuvo efectos negativos en el césped ni siquiera cuando se aplicaron a las dosis más elevadas de 10 kg de compost por parcela (tabla 2). Tener en cuenta que estas dosis ensayadas son muy elevadas y corresponden con la aplicación de 400 kg N/ha en Baztán y 250 kg N/ha en Noáin. Al contrario, la aplicación de compost a las dosis más altas aparentemente benefició el desarrollo del césped en ambas localidades, especialmente en el primer corte.

En Noáin las parcelas abonadas con dosis intermedias de compost, 2,5 y 5 kg/parcela, produjeron en el primer corte claramente más hierba que las parcelas control. Observando los resultados obtenidos en Noáin se aprecia un crecimiento similar de la hierba en las parcelas abonadas con el compost de Larrabetzu respeto a las que recibieron compost del Avicompo. Al contrario en Baztán el compost del Avicompo produjo un mayor crecimiento de la hierba que el compost de Elizondo posiblemente motivado por la elevada relación C/N del compost de Elizondo.

Tabla 2. Peso fresco (kg) de la hierba producida en las dos localidades.

	----------dosis y tipo de compost (kg_{PF} /parcela)----------					
	0 (testigo)	2,5 Avicompo	5 Avicompo	10 Avicompo	5 Larrabetzu	5 Elizondo
1º corte	2,9	3,2	3,6	4,8	4,4	na
2º corte	2,2	1,8	1,9	2,4	1,9	na
total Noáin	5,1	4,9	5,5	7,2	6,4	na
1º corte	4,4	4,9	6,1	6,3	na	4,9
2º corte	2	2,2	2,8	2,7	na	2,4
3º corte	6,4	6,4	7	5,4	na	5,7
total Baztán	12,8	13,5	15,8	14,4	na	13

Es necesario destacar que más allá de los resultados técnicos, el verdadero resultado del presente trabajo son los aspectos divulgativos y el potencial educativo de esta sencilla y barata experiencia replicable por cualquier servicio de jardinería municipal. La valoración en las encuestas de los técnicos municipales y de los participantes en compostaje comunitario ha sido muy buena, valorando principalmente la función demostrativa de la herramienta propuesta. Como se ha indicado en Noáin se realizaron sólo 2 cortes por la desaparición accidental de las estaquillas señalizadoras del ensayo. Este hecho demuestra la necesidad de una mejor comunicación y coordinación entre todos los agentes participantes en estas experiencias colaborativas en espacios públicos. Por otra parte las encuestas realizadas a los técnicos municipales, indican que el sistema propuesto no resuelve completamente sus dudas técnicas avanzadas sobre el posible uso en jardinería del compost autoproducido, aunque reconocen su utilidad para familiarizarse con sus posibles aplicaciones. Finalmente evidenciaron la facilidad de

implantación de esta herramienta, su bajo coste, la sencillez y el escaso requerimiento de mano de obra.

Por último se considera el potencial divulgativo de esta experiencia que podría ser amplificado implicando a centros educativos de primeria o secundaria en su ejecución. Dada su simplicidad y bajo coste incluso los controles de crecimiento del césped podrían ser realizados por el alumnado de asignaturas de ciencias naturales.

4. Conclusiones.

La puesta a punto y la implementación de esta herramienta pueden considerarse exitosas. Se ha proporcionado a la ciudadanía una herramienta para experimentar directamente e *in-situ* la utilización del compost obtenido localmente. Se trata de un sistema de fácil manejo, barato y con posibilidad de adaptarse a cualquier entorno. Los beneficios divulgativos han sido evidenciados por los diferentes colectivos participantes (entidades locales, usuarios de los puntos de compostaje comunitario, jardineros). Esta herramienta es muy útil para solventar las dudas y desconfianzas de parte de la ciudadanía sobre la utilización en jardinería de compost de FORM procedente del compostaje comunitario y presenta un gran potencial vinculándola a los programas de compostaje escolar.

5. Bibliografía.

Directiva 2008/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 19 de noviembre de 2008, sobre los residuos y por la que se derogan determinadas Directivas. *Diario Oficial de la Unión Europea* L 312 , 3-30.

Larrabetzu Zero Zabor (2016) Bertokoa Indartuz - Gestión de la materia orgánica de Larrabetzu. http://www.larrabetzuzerozabor.org (fecha de consulta 6/6/2016).

López M., Soliva M., Huerta O., 2010. *Proceso de compostaje: caracterización de muestras*. Escola Superior d'Agricultura de Barcelona. 240 pp.

Storino F., Azcona E., Muro J., Morales D., Baztan M., Goikoetxea J., Plana R., Irigoyen I. 2014. *Un año de transformación de FORM en compost y huevos con el Avicompo comunitario de Noáin (Navarra)*. IV Jornadas de la REC, Noviembre 2014, Murcia.

Vázquez M.A., Sen R., Soto M., 2015. Physico-chemical and biological characteristics of compost from decentralised composting programmes. Bioresource Technology 198, 520–532.

VALORACIÓN DE TÉ DE COMPOST DE RESIDUOS DE JARDINERÍA COMO POTENCIADOR DEL CRECIMIENTO DE TOMATE Y LECHUGA

Morales-Corts, R.[1], Gómez-Sánchez, M.A.[1], Pérez-Sánchez, R.[1], González-Rodríguez, S.[1]

[1]Área de Producción Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales. Avda. Filiberto Villalobos, 119. 37007 Salamanca. reme@usal.es

Resumen:
Los extractos o los tés de compost se generan realizando una mezcla de compost con agua e incubando dicha mezcla durante un periodo de tiempo definido y filtrando posteriormente. Según indican Reeve et al. (2010), los tés de compost tienen un potencial prometedor para suplementar o reemplazar a otros fertilizantes y como supresores de patógenos (Marín et al., 2014), pero se requieren estudios concretos de aplicación y análisis de la composición de cada té de compost. En este trabajo se analizan fisico-químicamente dos tés de compost aireados, en proporción 1:5 (v/v), (obtenidos con distintos tiempos de maceración y aireación) a partir de compost de residuos de jardinería. Se ensaya la aplicación en tomate y lechuga, de dos dosis de té de compost, en dos sustratos (turba y vermiculita) y dos tipos de aplicación (foliar y al sustrato). Los resultados muestran que estos tés tienen una cantidad importante de N y K (superior a 3000 ppm) y contienen ácidos húmicos (200 mg/l) que pueden estimular el desarrollo de los cultivos. Tanto para tomate como para lechuga las aplicaciones al sustrato han dado mejor resultado que las aplicaciones foliares, siendo estas últimas perjudiciales en el caso de lechuga. Para tomate las dosis semanales de 40ml/planta al sustrato de turba y 60 ml sobre vermiculita, producen la mejor estimulación del crecimiento. En lechuga, la dosis semanal de 60 ml/planta, aplicada al sustrato, produce los mejores efectos tanto en turba como en vermiculita.

Palabras clave: nitrato, potasio, ácidos húmicos, SPA, peso seco.

1. Introducción.

Los extractos o los tés de compost se generan realizando una mezcla de compost con agua e incubando dicha mezcla durante un periodo de tiempo definido y filtrando posteriormente. Generalmente, los extractos son preparados mezclando compost maduro con agua sin cloro en proporciones de 1:5 a 1:10 (v/v) (Al-Dahmani et al., 2003). Los tés de compost tienen un potencial prometedor para aportar fertilizantes y como supresores de patógenos (Marín et al., 2014). Como respuesta a la necesidad creciente de utilizar productos más sostenibles y que garanticen una mayor seguridad alimentaria, los tés de compost pueden suponer una alternativa al uso de fungicidas de síntesis (Pane et al., 2012).

La efectividad de los tés de compost puede variar considerablemente debido a las diferencias en el tipo de compost y en el procedimiento de preparación (Egwunatum y Lane, 2009). Algunos estudios como los de Marín et al. (2014), indican que los mejores resultados se obtienen cuando se aplican tés aireados frente a no aireados. Este mismo autor sugiere también, que los tés de compost tienen un papel importante como promotores del crecimiento vegetal y en el control de enfermedades, apuntando que son necesarios nuevos estudios para llegar a comprender su efectividad.

Algunos autores han señalado que el compost de residuos vegetales presenta ventajas respecto al de otros residuos orgánicos, debido a su menor riesgo de toxicidad por metales (Benito et al., 2005) y por el interés de su alta actividad biológica (Ros et al., 2005). Según indican Reeve et al. (2010), parece ser prometedor el potencial que tienen los tés de compost como suplemento o sustitutivo de otros fertilizantes, siendo necesario realizar estudios en cultivos concretos, bajo diferentes condiciones de invernadero y de campo para ajustar su empleo. De igual forma, Siddiqui et al. (2008; 2009) afirman la necesidad de estudiar la composición química y la calidad de los tés de compost.

El objetivo de este estudio es analizar la composición química de dos tés de compost de residuos de jardinería (obtenidos con distintos tiempos de maceración y aireación) y ensayar su uso en tomate y lechuga, sobre dos sustratos distintos, y con diferentes dosis y formas de aplicación.

2. Material y Métodos

2.1 Análisis químico.

Se prepararon dos tés de compost de residuos de jardinería obtenidos en proporción 1:5 (v/v) con agua. El primero, fue obtenido con 5 de días de maceración realizando una aireación diaria de 5h (T1.1). El segundo, se obtuvo con 15 días de maceración y 4h de agitación diaria (T2.1). En cada té se determinaron los siguientes parámetros: Conductividad eléctrica y pH usando respectivamente un pH-metro y un conductivímetro. NO_3^-, P_2O_5, K_2O, SO_4^{2-}, Ca y Mg, con un fotómetro HANNA HI 993310. Se analizó además el contenido en ácidos húmicos realizando un fraccionamiento alkali/ácido siguiendo el procedimiento indicado por Pant et al. (2012). Transcurridos 6 meses después de su extracción volvieron a analizarse muestras de cada uno de los dos tés (T1.2 y T2.2).

2.2 Ensayos de producción

Se establecieron ensayos de crecimiento de lechuga romana (cv. Teresa) y tomate (cv. Roma VF) sobre macetas de 1l de capacidad con 10 repeticiones de cada tratamiento. En el ensayo se consideraron 2 sustratos diferentes (turba rubia y vermiculita), y dos modelos de aplicación del té de compost (sobre sustrato y foliar) aplicando dos dosis diferentes (40 ml/planta por semana y 60 ml/planta por semana). El té aplicado fue T1.1. Los planteles se transplantaron a maceta con una hoja verdadera y el ensayo finalizó a las 12 semanas del transplante.

Los tratamientos realizados tanto en lechuga como en tomate fueron los siguientes:

A0: Control sustrato turba
A1: Aplicación de 40 ml/semana de té al sustrato de turba
A2: Aplicación de 60 ml/semana de té al sustrato de turba
A3: Control foliar (turba)
A4: Aplicación de 40 ml/semana de té con pulverización foliar (sustrato turba)
A5: Aplicación de 60 ml/semana de té con pulverización foliar (sustrato tuba)
B0: Control sobre vermiculita
B1: Aplicación de 40 ml/semana de té al sustrato de vermiculita
B2: Aplicación de 60 ml/semana de té al sustrato de vermiculita
B3: Control foliar (vermiculita)
B4: Aplicación de 40 ml/semana de té con pulverización foliar (sustrato vermiculita)
B5: Aplicación de 60 ml/semana de té con pulverización foliar (sustrato vermiculita)

Los parámetros analizados en cada planta fueron: contenido en clorofila (unidades SPA) medido con SPA-Konica Minolta, peso seco de la parte aérea, peso seco del sistema radicular y peso seco total (mediante secado en estufa P-Selecta-210 de circulación de aire a 60ºC durante 48h).

3. Resultados y Discusión.

Los resultados de los análisis químicos de los dos tés, tras su obtención y pasados seis meses, se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química de los dos tés de compost en diferentes tiempos.

	pH	EC mS cm^{-1}	NO_3^- ppm	P_2O_5 ppm	K_2O ppm	SO_4^{2-} ppm	Ca ppm	Mg ppm	Ácidos Húmicos mg L^{-1}
T1.1	7.32	1.22	3200	102	3848	28	79	150	190
T1.2	7.16	1.46	4700	105	4039	12	26	138	
T2.1	7.33	1.48	3300	368	4123	31	110	135	179
T2.2	7.12	1.43	3934	315	4016	13	0	128	

A pesar de haber aplicado distintos tiempos de maceración (15 días y 5 días) y de aireación en la obtención de T1 y T2, la composición en nutrientes y ácidos húmicos es muy similar en los dos tés. El pH es próximo a 7 en ambos tés, variando muy poco con el transcurso de 6 meses. Morales-Corts et al. (2014) obtuvieron valores bastante similares a los obtenidos en el pH de este estudio para extractos de compost de residuos de jardinería obtenidos en laboratorio. La conductividad es ligeramente más alta en el té de extracción durante 15 días y de igual forma que para el caso del pH se produce una mínima variación con el transcurso de 6 meses. En ambos casos, a los 6 meses, aumenta el contenido en nitratos, posiblemente debido a la mineralización de la materia orgánica. Los resultados muestran que estos tés tienen una cantidad importante de Nitrato y K_2O (superior a 3000 ppm) en ambos casos, valores parecidos fueron obtenidos por Naidu et al. (2010) en té de compost obtenido de residuos agrícolas. T1 y T2 contienen ácidos húmicos en valores próximos a los 200 mg/l que pueden estimular el desarrollo de los cultivos. Mora et al. (2012) encontraron una relación positiva entre la aplicación de ácidos húmicos y el crecimiento de raíces en tomate.

Los resultados de la aplicación del T1.1 sobre tomate se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros de crecimiento analizados en planta de tomate.

		Contenido en clorofila (unidades SPA)	Peso seco raíz (g)	Peso seco parte aérea (g)	Peso seco total (g)
Turba	A0.Control s	$14,9^{g}$	$0,54^{c}$	$2,32^{d}$	$2,86^{d}$
	A1.D1s	$17,4^{f}$	$1,06^{a}$	$4,69^{a}$	$5,75^{a}$
	A2.D2s	$20,5^{cdef}$	$1,01^{a}$	$4,62^{a}$	$5,64^{a}$
	A3.Control f	$25,7^{a}$	$0,78^{b}$	$2,98^{c}$	$3,76^{c}$
	A4.D1f	$21,3^{bcde}$	$0,80^{b}$	$3,36^{b}$	$4,16^{b}$
	A5.D2f	$21,6^{bcd}$	$0,85^{b}$	$3,23^{bc}$	$4,08^{bc}$
Vermiculita	B0.Control s	$18,7^{def}$	$0,00^{e}$	$0,00^{f}$	$0,01^{g}$
	B1. D1s	$22,1^{bcd}$	$0,17^{d}$	$0,32^{ef}$	$0,48^{ef}$
	B2. D2s	$22,6^{abc}$	$0,19^{d}$	$0,39^{e}$	$0,58^{e}$
	B3. Control f	$18,0^{ef}$	$0,00^{e}$	$0,00^{f}$	$0,01^{g}$
	B4. D1f	$21,3^{bcd}$	$0,02^{e}$	$0,07^{ef}$	$0,09^{g}$
	B5. D2f	$24,4^{ab}$	$0,06^{de}$	$0,14^{ef}$	$0,20^{fg}$

s:aplicaciones a sustrato, f:aplicación foliar, D1: dosis de té 40 ml/semana, D2: dosis de té 60 ml/semana
letras distintas $^{a-g}$ en la misma columna indican diferencias significativas ($P<0.05$)

Según los resultados obtenidos, tanto en turba como en vermiculita, el té de compost aplicado al sustrato, muestra mejores resultados en los parámetros analizados, que la aplicación mediante pulverización foliar. Tanto la dosis de 40 ml semanales como la de 60 ml aplicadas al suelo producen incrementos significativos frente al control consiguiendo ambas dosis resultados similares en sustrato de turba. En el caso de vermiculita, al ser un sustrato más deficitario en nutrientes, la dosis de 60 ml, en general produce mejores resultados que la de 40 ml. Las aplicaciones foliares al tomate con sustrato de turba, en ningún caso mejoran al control correspondiente, suponiendo una bajada en el nivel de clorofila respecto al control, debido probablemente al taponamiento de estomas producido por la aplicación foliar. En el caso de vermiculita, el tomate con aplicación foliar de té mejora al testigo correspondiente, sobre todo en la dosis más alta, pero siempre generando plantas deficitarias en crecimiento y desarrollo. En el caso del tomate, cuando la planta es muy pequeña se producen efectos negativos por la aplicación foliar, pero hemos observado que a partir de 4 hojas verdaderas, la hoja es más dura y ya no se producen efectos perjudiciales.

Los resultados de la aplicación del T1.1 sobre lechuga se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Parámetros de crecimiento analizados en planta de lechuga.

		Contenido en clorofila (unidades SPA)	Peso seco raíz (g)	Peso seco parte aérea (g)	Peso seco total (g)
Turba	A0. Control s	$18,3^{e}$	$0,03^{e}$	$0,27^{d}$	$0,30^{de}$
	A1. D1s	$19,1^{cde}$	$0,25^{c}$	$0,77^{b}$	$1,01^{b}$
	A2. D2s	$23,4^{abc}$	$0,59^{a}$	$1,06^{a}$	$1,65^{a}$
	A3. Control f	$20,6^{bcde}$	$0,08^{de}$	$0,51^{c}$	$0,58^{c}$
	A4. D1f	$18,4^{de}$	$0,01^{e}$	$0,04^{ef}$	$0,05^{f}$
	A5. D2f	$22,6^{abcde}$	$0,01^{e}$	$0,08^{ef}$	$0,09^{ef}$
Vermiculita	B0. Control s	$24,3^{ab}$	$0,00^{e}$	$0,01^{f}$	$0,11^{f}$
	B1. D1s	$23,3^{abc}$	$0,17^{cd}$	$0,14^{e}$	$0,32^{d}$
	B2. D2s	$23,2^{abcd}$	$0,39^{b}$	$0,33^{d}$	$0,71^{c}$
	B3. Control f	$17,9^{e}$	$0,00^{e}$	$0,01^{f}$	$0,01^{f}$
	B4. D1f	$24,4^{ab}$	$0,02^{e}$	$0,02^{f}$	$0,03^{f}$
	B5. D2f	$26,7^{a}$	$0,01^{e}$	$0,03^{f}$	$0,04^{f}$

s:aplicaciones a sustrato, f:aplicación foliar, D1: dosis de té 40 ml/semana, D2: dosis de té 60 ml/semana
letras distintas $^{a-g}$ en la misma columna indican diferencias significativas (P<0.05)

En lechuga la dosis semanal de 60 ml/planta, aplicada al sustrato, produce los mejores efectos tanto en turba como en vermiculita. En este caso, la aplicación foliar resulta totalmente ineficaz al ser la lechuga "Teresa" de hoja muy fina y acusar problemas con la aplicación desde el inicio de ésta. Wójcik (2004) señaló que los tés de compost en aplicación foliar son efectivos en plantas con baja actividad radicular. Este hecho puede ser también al causa de la baja efectividad de las aplicaciones foliares ya que comenzaron a aplicarse sobre planteles muy pequeños con alta actividad radicular.

En ambos ensayos, para tomate y lechuga, se observa claramente un aumento del peso de las plantas con al aplicación del té al sustrato frente a los controles no tratados. Esta mejora en los pesos, está de acuerdo con resultados obtenidos por otros autores como Hargreaves et al. (2009) y Marín et al. (2014).

El efecto positivo producido por la aplicación del té de compost (principalmente sobre sustrato) puede ser debido, según indican Zmora-Nahum et al. (2008) a los nutrientes aportados, a los

promotores del crecimiento tales como los ácidos húmicos y posibles fitohormonas y a los microorganismos presentes en el té.

4. Conclusiones.

El té de compost de residuos de jardinería obtenido en proporción 1:5 (v/v) durante 5 días de maceración y 4h diarias de agitación aporta N, K y ácidos húmicos en una cantidad suficiente como para estimular el crecimiento de plantas de tomate y lechuga. Este té no cambia sus propiedades químicas a los 6 meses de su obtención. Los aportes de té de compost de residuos de jardinería sobre plantel pequeño (de tomate y lechuga) son más eficaces sobre sustrato que con aplicaciones foliares. Dosis de 40 l semanales al tomate producen un aumento notable del desarrollo respecto a plantas no tratadas, mientras que en lechuga el aporte de 60 l semanales es más eficaz que la dosis de 40 l.

5. Bibliografía.

Al-Dahmani J.H., Abbasi P.A., Miller S.A., Hoitink H.A.J., 2003. Suppression of bacterial spot of tomato with foliar sprays of compost extracts under greenhouse and field conditions. *Plant Dis.* 87, 913–919.

Benito M., Masaguer A., De Antonio R., Moliner A., 2005. Use of pruning waste compost as a component in soilless growing media. *Bioresource Technol.* 96 (5), 597–603.

Egwunatum A., Lane S., 2009. Effects of compost age on the suppression of *Armillaria mellea* with green waste compost teas. *Compost Sci. Util.* 17(4), 237–240.

Hargreaves J.C., Adl M., Warman P.R., 2009. Are compost teas an effective nutrient amendment in the cultivation of strawberries? Soil and plant tissue effects. *J. Sci. Food Agr.* 89(3), 390–397.

Marín-Benito J.M., Herrero-Hernández E., Andrades M.S., Sánchez-Martín M.J., Rodríguez-Cruz M.S., 2014. Effect of different organic amendments on the dissipation of linuron, diazinon and myclobutanil in an agricultural soil incubated for different time periods. *Sci. Total Environ.* 476-477, 611–621.

Morales-Corts M.R., Gómez-Sánchez M.A., Pérez-Sánchez R., 2014. Evaluation of green/pruning wastes compost and vermicompost, slumgum compost and their mixes as growing media for horticultural production. *Sci Hortic-Amsterdam* 172, 155–160.

Naidu Y., Meon S., Kadir J., Siddiqui Y., 2010. Microbial starter for the enhancement of biological activity of compost tea. *Int. J. Agr. Biol.* 12, 51–56.

Pane C., Celano G., Villecco D., Zaccardelli M., 2012. Control of *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* and *Pyrenochaeta lycopersici* on tomato with whey compost-tea applications. *Crop Prot.* 38, 80–86.

Reeve J.R., Carpenter-Boggs L., Reganold J.P., York A.L., Brinton W.F., 2010. Influence of biodynamic preparations on compost development and resultant compost extracts on wheat seedling growth. *Bioresource Technol.* 101(14), 5658–5666.

Ros M., Hernandez M.T., García C., Bernal A., Pascual J.A., 2005. Biopesticide effect of green compost against fusarium wilt on melon plants. *J. Appl. Microbiol.* 98(4), 845–854.

Siddiqui Y., Meon S., Ismail R., Rahmani M., Ali A., 2008. Bio-efficiency of compost extracts on the wet rot incidence, morphological and physiological growth of okra *Abelmoschus esculentus* [(L.) Moench]). *Sci Hortic-Amsterdam* 117, 9–14.

Siddiqui Y., Meon S., Ismai R., Rahmani M., 2009. Bio-potential of compost tea from agro-waste to suppress *Choanephora cucurbitarum* L. the causal pathogen of wet rot of okra. *Biol. Control* 49**,** 38–44.

Wójcik P, 2004. Uptake of mineral nutrients from foliar fertilization (Review). *J. Fruit Ornam. Plant Res.* 12, 201-218.

Zmora-Nahum S., Danon M., Hadar Y., Chen Y., 2008. Chemical properties of compost extracts inhibitory to germination of *Sclerotium rolfsii*. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2523-2529.

PRODUCCIÓN DE ESPINACA EN AGRICULTURA INTENSIVISTA EN EL SURESTE ESPAÑOL: IMPLICACIONES MEDIOAMBIENTALES Y AGRONÓMICAS DE LAS PRÁCTICAS DE FERTILIZACIÓN ORGÁNICA

Alberto Vico[1], Jose Antonio Sáez Tovar[1], Maria Dolores Pérez-Murcia[1], Juan Martinez-Tomé[2], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Javier Andreu[3], Enrique Agulló[1], Maria Angeles Bustamante[1], Raul Moral[1]

[1]Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández, EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[2]Departamento de Producción Vegetal y Microbiología, Universidad Miguel Hernández, EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[3]Departamento de Ingeniería, Universidad Miguel Hernández, EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
Correo electrónico: avico@umh.es

Resumen

El objetivo de este trabajo ha sido el estudio comparado de diferentes escenarios de fertilización orgánica en la producción comercial de espinaca (*Spinacia oleracia*) frente a la fertilización inorgánica usualmente utilizada (abonos NPK con y sin liberación lenta), dosificados a 150 kg N/ha, así como su repercusión en el secuestro de C en el suelo y a las emisiones de gases GEI durante el cultivo.

Palabras claves: rendimiento, espinaca, NPK, extracción, carbono orgánico del suelo, GEI, CO_2

1. Introducción

Las prácticas de fertilización usualmente empleadas en la agricultura intensiva del sureste español constituyen un factor de riesgo para la calidad de los suelos debido a que no incluyen en muchos casos la restauración de la fertilidad orgánica. El uso de biofertilizantes de matriz orgánica representa una oportunidad para el desarrollo de un manejo más sostenible y respetuoso en el precario contexto ambiental que existe en la cuenca Mediterránea, incluyendo externalidades como secuestro de C en el suelo y reducción de emisiones de gases GEI. El aumento en la superficie agrícola bajo prácticas de manejo intensivo ha generado una serie de impactos medioambientales tales como una mayor erosión, cambios en el uso del suelo, sobreexplotación de recursos, contaminación de aguas subterráneas o aumento de emisiones de GEI a la atmósfera (Mattsson y col., 2000). Adicionalmente en cultivos como la espinaca es necesario controlar los niveles de nitrato en hoja por lo que es habitual el uso de fertilizantes de liberación lenta (encapsulados y/o con inhibidores de la nitrificación). El objetivo de este trabajo ha sido el estudio comparado de diferentes escenarios de fertilización orgánica en la producción comercial de espinaca (*Spinacia oleracia*) frente a la fertilización inorgánica usualmente utilizada (abonos NPK con y sin liberación lenta), dosificados a 150 kg N/ha, así como su repercusión en el secuestro de C en el suelo y en las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) durante el cultivo.

2. Material y métodos

Este experimento de campo fue llevado a cabo durante la primavera de 2016 en Librilla (Murcia-S N 37° 53' 16"; 37°55'01.9"N 1°17'16.8"W; 180 m.s.n). El clima en esta zona es semiárido cálido y durante el experimento, las condiciones climáticas fueron temperatura media de 17,2ºC y máxima de 24ºC, humedad relativa media 46,75%, precipitaciones totales de 62,47 l/m^2 (8 eventos) en los 61 días de experimento. El suelo donde se estableció el cultivo fue determinado como calcaric fluvisol (FAO, 2014).

Se establecieron 12 tratamientos incluyendo 7 enmiendas orgánicas estabilizadas (COM fertilizante órgano-mineral comercial, *Venus Bitop*®; TP compost lodo-tronco palmera; HP compost lodo-hoja palmera; JU compost vegetal procedente de jardinería urbana -cespáceas, arbustivas y leñosas-; VT vermicompost de origen ganadero; y PV mismo vermicompost peletizado), 2 residuos orgánicos frescos (DI digerido de un digestor anaeróbico agroalimentario; y LO lodo EDAR fresco). Se usaron también 3 fertilizaciones inorgánicas (NOLI fertilizante convencional NPK triple 15; 2 fertilizantes comerciales inorgánicos NPK de liberación lenta LI-1 *Nutricote*® y LI-2 *Nitrofoska*®*)*. Se estableció un tratamiento testigo sin fertilizar (B). El ensayo consistió en un diseño de subparcelas de 12 m^2 con distribución al azar por triplicado, cultivando espinaca (*Spinacia oleracia*) con densidad de plantación de 150.000 plantas/Ha, y riego por goteo (4L/h). Los tratamientos se ajustaron para lograr un aporte de 150 kg/ha de nitrógeno total. Tras 61 días de cultivo, se determinó el rendimiento comercial, la variación del contenido de C orgánico total del suelo para estimar el secuestro de C se estudió a lo largo del experimento, así como las emisiones de los gases GEIs CO_2, CH_4 y N_2O utilizando metodología de Viguria y col. (2014).

3. Resultados

3.1. Rendimiento biomasa

Los resultados obtenidos han sido homologables en su conjunto a los obtenidos comercialmente en la zona de estudio. De todos los tratamientos propuestos en este estudio, tanto el digerido (DI) como el vermicompost (VT) fueron los que produjeron los mejores resultados de producción. Se observa un efecto residual fertilizante en la zona de estudio al alcanzar el tratamiento testigo sin fertilizar rendimientos estadísticamente similares que el fertilizante inorgánico convencional y uno de los fertilizantes de liberación lenta. Se aprecian diferencias en función de compost utilizado, siendo más eficiente los compost derivados de la palmera TP y HP que los tratamientos JU y AD que fueron obtenidos con otros materiales vegetales. El lodo de depuradora fresco no ha sido muy eficiente a nivel productivo. En general se han obtenido los mejores resultados en la producción gracias a compost y vermicompost (homologables a los fertilizantes de liberación lenta avanzados generalmente usados en espinaca para evitar concentraciones superiores a 1500 mg NO_3/kg en hoja) probablemente debido al aporte de materia orgánica estabilizada, a su riqueza de nutrientes, aportadas de forma secuencial.

Tabla 1. Producción de biomasa aérea del cultivo de espinaca

Tratamiento	Biomasa aérea (t/ha)	
	sobre materia fresca	**sobre materia seca**
Testigo (B)	32,2 a	2,24 a
Fert. Inorgánica NPK 15-15-15 (NOLI)	41,7 abc	2,56 a
Fert. Inorgánica Lib. lenta Nutricote (LI-1)	42,7 abc	2,85 ab
Fert. Inorgánica Lib. lenta Nitrofoska (LI-2)	48,0 bc	3,15 abcd
Digerido Agroalimentario (DI)	**49,7 c**	**3,90 d**
Lodo depuradora (LO)	38,0 ab	2,91 abc
Fert organo-mineral Venus Bitop (COM)	47,8 bc	**3,87 d**
Vermicompost comercial (VT)	**50,5 c**	**3,89 d**
Vermicompost comercial pelletizado (PV)	46,7 bc	3,81 cd
Compost Lodo+TP (TP)	44,5 bc	3,03 abcd
Compost Lodo+HP (HP)	44,8 bc	3,54 bcd
Compost vegetal (JU)	39,4 abc	3,17 abcd
Compost Lodo+AD (AD)	39,5 abc	2,96 abcd
F-anova y significación	*5,3****	*8,0****

3.2. Fijación de carbono por el cultivo y extracción de nutrientes primarios y Na

Los tratamientos establecidos proporcionan diferentes entornos fertilizantes y en muchos casos las enmiendas orgánicas frescas y en menor grado las compostadas pueden inducir ciertas deficiencias o desequilibrios nutricionales. En el presente experimento, la fijación de C en tejido vegetal aéreo nos podría indicar la eficiencia fotosintética del cultivo así como su respuesta vegetativa, existiendo correspondencia entre fijación de C y el rendimiento comercial obtenido. Sin embargo, el efecto de los tratamientos fertilizantes se observan mejor cuando se considera la extracción de elementos como N, P y K por parte del cultivo. Respecto a la absorción de nutrientes primarios NPK por el cultivo, que puede indicar fortalezas y debilidades de los tratamientos establecidos, se observa que el digerido es un tratamiento muy eficiente en el suministro de N aunque es el más salinizante (absorción de Na), mientras que los vermicompost destacan en el suministro de P y K (tabla 2). Combinando todo este análisis podemos concluir que los materiales vermicompostados están al nivel de los fertilizantes inorgánicos de liberación lenta. Los compost también se asemejan mucho a los fertilizantes LI-1 y LI-2 salvo a nivel de K pues inducen menores extracciones.

Tabla 2. Fijación de C por la biomasa vegetal aérea y extracción de NPK y Na por el cultivo en función de los tratamientos.

Tratamiento	Fijación C	Extracción N P K Na			
	(kg C/ha)	(kg N/ha)	(kg P/ha)	(kg K/ha)	(kg Na/ha)
Testigo (B)	793 a	95 a	9,4 a	149 a	78 a
Fert. Inorgánica NPK 15-15-15 (NOLI)	929 b	117 b	10,6 ab	234 cde	83 ab
Fert. Inorgánica Lib. lenta Nutricote (LI-1)	1013 c	122 b	12,7 bcd	256 def	101 abcd
Fert. Inorgánica Lib. lenta Nitrofoska (LI-2	1104 d	140 c	12,9 bcd	297 fg	110 cd
Digerido Agroalimentario (DI	**1399 f**	**170 f**	13,4 bcd	275 efg	**134 e**
Lodo depuradora (LO)	1065 cd	111 b	10,9 ab	234 cde	87 abc
Fert organo-mineral Venus Bitop (COM)	**1357 f**	151 cde	14,9 cde	256 def	111 d
Vermicompost comercial (VT)	**1377 f**	162 ef	**17,7 f**	**319 g**	103 bcd
Vermicompost comercial pelletizado (PV)	**1377 f**	159 def	16,7 ef	**308 g**	102 abcd
Compost Lodo+TP (TP)	1051 cd	123 b	13,1 bcd	173 ab	86 ab
Compost Lodo+HP (HP)	1266 e	144 cd	15,2 def	193 abc	95 abcd
Compost vegetal (JU)	1101 d	124 b	12,2 bc	196 abc	92 abcd
Compost Lodo+AD AD)	1054 cd	114 b	12,7 bcd	207 bcd	80 ab
F-anova y significación	*258****	*39****	*15,6****	*22,3****	*8,9****

3.3. C orgánico en el suelo y emisión de gases de efecto invernadero

Los tratamientos establecidos (incluido el testigo sin fertilizar) suponen el incremento inicial del C orgánico del suelo, COS (asociado a la entrada exógena de C orgánico) pero también al laboreo-preparación-riego del suelo) frente al suelo original de la finca, COS 0,59% (tabla 3).

Tabla 3. Incremento del C orgánico (COS) del suelo (concentración tratamiento – concentración suelo inicial sin tratar) y emisión acumulada de CO_2 durante el experimento.

Tratamiento	Variación COS vs suelo inicial (kg COS/t suelo)		Emisión CO_2
	t=0	t=61 dias	(kg C-CO_2/ha)
Testigo (B)	+0,27ab	-1,11a	295ab
Fert. Inorgánica NPK 15-15-15 (NOLI)	+0,08a	+0,93def	179a
Fert. Inorgánica Lib. lenta Nutricote (LI-1)	+0,21ab	-0,24abc	288ab
Fert. Inorgánica Lib. lenta Nitrofoska (LI-2)	+0,16a	-0,96ab	263ab
Digerido Agroalimentario (DI	+0,82abc	+0,14cd	177a
Lodo depuradora (LO)	+0,82abc	+0,03bcd	**584c**
Fert organo-mineral Venus Bitop (COM)	+1,16bc	+1,24ef	285ab
Vermicompost comercial (VT)	**+3,63e**	+1,39ef	363ab
Vermicompost comercial pelletizado (PV)	+2,73d	**3,04h**	388b
Compost Lodo+TP (TP)	**3,82e**	+0,67cde	241ab
Compost Lodo+HP (HP)	+1,63c	+1,82fg	310ab
Compost vegetal (JU)	**3,93e**	+2,41gh	367ab
Compost Lodo+AD (AD)	+2,60d	+1,05def	371ab
F-anova y significación	*43****	*25****	*7,5****

Aunque el incremento observado para los diferentes tratamientos orgánicos tras la enmienda es dispar (muy similar entre lodo y digerido) destacan los compost elaborados con restos vegetales, más ricos en materia orgánica. Tras el experimento (61 días), el suelo presenta incrementos frente al suelo inicial en general menores, asociado a la pérdida de fracciones orgánicas más lábiles como consecuencia de los procesos de mineralización, salvo para el

vermicompost peletizado cuyo formato parece favorecer un mayor secuestro de C en el suelo. Destaca el efecto total negativo de los fertilizantes inorgánicos de liberación lenta (LI-1 y LI-2) al igual que el testigo sin fertilizar respecto al suelo inicial, indicando un proceso de mineralización neta de la materia orgánica del suelo, que pone en riesgo la fertilidad sostenible de la parcela; mientras que el fertilizante inorgánico tradicional induce un leve aumento. El uso de enmiendas frescas (LO y DI) no ejerce una influencia significativa al final del experimento.

La emisión de CO_2 durante el experimento se situó entre 177 y 584 kg C-CO_2/ha (tabla 3). Este rango es similar al reportado por Pardo y col. (2016). Cabe destacar la alta tasa de emisión asociada al lodo (LO), indicativo del alto contenido de C orgánico lábil aportado por esta enmienda. Por el contrario, el digerido debido su procedencia (el C lábil ha sido trasformado en metano en la biometanización), presenta emisiones mínimas junto al testigo. No se observan grandes diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos basados en compost aunque parece existir mayor emisión en los vermicomposts. No se constatan mayores emisiones de CO_2 para entornos fertilizados inorgánicamente respecto a lo emitido por el testigo sin fertilizar.

4. Conclusiones

En la producción hortícola intensiva y para un cultivo muy especializado como es la espinaca (que incluye restricciones de nitrato en hoja), las enmiendas orgánicas avanzadas (compost y vermicompost) tienen un comportamiento muy similar a los fertilizantes complejos NPK de liberación lenta generalmente utilizados, especialmente el vermicompost. A nivel de C edáfico, se observa disminución del contenido de COS después de 61 días de cultivo en las parcelas tratadas con fertilizantes inorgánicos de liberación lenta y un aumento del mismo para los tratamientos con fertilizantes orgánicos estabilizados. La emisión de CO_2 resultó máxima en los tratamientos con lodos frescos de depuradora y mínima para los suelos tratados con digeridos.

5. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado dentro del marco del proyecto “Desarrollo de nuevos recursos y bioproductos basados en residuos de especies palmáceas orientados al secuestro de carbono y estrategias de mitigación, Palmresource” (Proyecto AGL2013-41612-R), financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad de España y los Fondos europeos de Desarrollo Regional (FEDER, “Una manera de hacer Europa”). Agradecer a la empresa Hermanos Lucas S.L. por la cesión de los terrenos utilizados en el experimento.

6. Bibliografía

Mattsson B.,Cederberg C. and Blix L. 2000. Agricultural land use in life cycle assessment (LCA): case studies of three vegetable oil crops. Journal of Cleaner Production 8, 283-292.

Pardo, G., del Prado, A., Martínez-Mena, M., Bustamante, M.A., Rodríguez Martín, J.A., Alvaro-Fuentes, J., Moral, R. 2016. Intensive orchard and horticulture systems in Spanish Mediterranean coastal areas: Is there a real possibility to contribute to C sequestration? Agriculture Ecosystems & Environment (in press).

Viguria, M., Sanz-Cobena, A., Lopez, D.M., Arriaga, H., Merino, M.P. 2014. Ammonia and greenhouse gases emission from impermeable covered storage and land application of cattle slurry to bare soil. Agriculture Ecosystems & Environment 199:261-271.

LODOS EDAR Y SU EMPLEO EN AGRICULTURA: UNA APROXIMACIÓN A LA REALIDAD

Carlos Garcia[1], Sara Ondoño[1], Francisco J. Murcia[2] y Teresa Hernandez[1]

[1] Centro de Edafología y Biología aplicada del Segura, CEBAS-CSIC. Campus Universitario de Espinardo, 30100, Espinardo, Murcia. [2] Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental, Consejería de Agricultura, Agua y Medioambiente, Región de Murcia, c/ Catedrático Eugenio Úbeda, 30071, Murcia.

En este resumen pretendemos poner de manifiesto la problemática, siempre presente y todavía sin abordar en su totalidad, de uno de los residuos orgánicos "urbanos" de mayor interés: LODOS EDAR. Trataremos de poner en claro el uso mayoritario que a día de hoy se le da a dicho residuo orgánico: su valorización y empleo como enmienda orgánica en agricultura. Para ello, se aporta información sobre cómo se está llevando a cabo el reciclado de lodos en suelos agrícolas en Europa, en EEUU, en España, y en alguna de nuestras Comunidades Autónomas. Se finaliza con algunas ***Conclusiones*** *que consideramos necesarias, y que podrían ser tenidas en cuenta dentro de los diferentes ámbitos en los que este problema incide. Asumimos que los lodos EDAR son, hoy por hoy, un "residuo necesario" (hay que depurar aguas, y eso genera la aparición de lodos como residuo orgánico). Pero también asumimos que, si se trabaja en condiciones adecuadas y con el control necesario tanto en las plantas de tratamiento eliminando contaminaciones innecesarias, como en la gestión del mencionado residuo, también existe la posibilidad de valorizarlos desde un punto de vista ambiental, social y económicamente sostenible. Una de esas posibles valorizaciones, siempre y cuando la calidad de los lodos lo permita, es como se ha indicado, su reciclado en los suelos agrícolas o naturales, como enmienda orgánica. Todo ello debe realizarse sin poner en riesgo nuestra forma de vida y los ecosistemas que debemos proteger, en particular el suelo y el agua.*

1.- ENMIENDAS ORGANICAS (RESIDUOS ORGANICOS): UNA VALORIZACION NECESARIA

En un pilar económico clave para nuestro país, como es la agricultura, el suelo y su productividad se revela fundamental. Sin embargo, en nuestro país existe una buena proporción de nuestros suelos productivos, sometidos a riesgo de desertificación situada principalmente en la vertiente Mediterránea), y ello complica su fertilidad. Parece claro que los procesos de degradación de suelos suponen un grave problema para su conservación y protección, ya que dicha degradación les impedirá realizar funciones claves tales como ser un medio para el crecimiento de las plantas.

En la reciente Estrategia Temática para la Protección del Suelo, preámbulo de una nueva Directiva que apareció en 2006, se concede al suelo un papel ambiental decisivo, tanto en el ámbito agrícola como en cualquier otro ámbito. Además, se identifica a la pérdida de materia orgánica como una de las principales amenazas para la degradación del suelo. Dentro de esta Estrategia Temática europea se señala que la materia orgánica exógena, es decir, aquellas enmiendas orgánicas que son adicionadas al suelo con objeto de desarrollar un cultivo, mejorar la calidad o restaurar un suelo degradado para un uso posterior, constituye hoy en día una fuente inestimable de materia orgánica, y puede contribuir además a fijar C en dicho suelo, y por tanto, a disminuir en parte el efecto invernadero, derivado de la liberación de dióxido de carbono a la atmósfera (Ros y col., 2003; Bastida y col., 2015).

En los países sometidos a climas semiáridos y áridos (como los del sur de Europa, donde se sitúa España), necesitamos introducir materia orgánica exógena a los, siempre que sean de calidad y no conlleve riesgos no asumibles, si queremos realizar estrategias contra su degradación y desertificación, y fomentar su productividad y fertilidad edáfica. Una buena estrategia para recuperar suelos degradados, y en concreto su fertilidad y su actividad microbiana, es aportarles materia

orgánica exógena que actuará sobre: i) las propiedades químicas de ese suelo (nutrientes y carbono); ii) propiedades físicas (porosidad, estabilidad de agregados, densidad, etc.); iii) propiedades biológicas y microbiológicas, activando el desarrollo de las poblaciones microbianas existentes en el mencionado suelo, sin llegar a producir efectos adversos en el mismo. La enmienda orgánica es una materia orgánica joven si se compara con aquella autóctona del suelo, con periodos de formación de años. Pero esa enmienda podrá estar más o menos estabilizada, y proceder de un origen determinado (animal, vegetal o urbano), cada uno de ellos con "calidad" de su C diferente. En todo este proceso influye pues la calidad de la enmienda, así como el suelo receptor (sus propiedades físicas, su contenido en materia orgánica, etc.).

2.- "LODOS EDAR": UNA ENMIENDA USADA EN AGRICULTURA

Los LODOS EDAR, generados durante el tratamiento de aguas urbanas, constituye uno de los principales residuos orgánicos generados hoy en día por nuestra sociedad. Dentro de las diferentes valorizaciones para este tipo de residuo, su uso potencial como enmiendas de suelos es el aspecto fundamental que aquí se va a tratar. Si los lodos tienen calidad suficiente para ser considerados como enmienda orgánica para suelos, podremos beneficiar a éstos con la entrada en los mismos de nutrientes y carbono, y eliminar de manera razonable ese residuo orgánico (Garcia et al., 1998).

Los lodos presentan gran variabilidad en cuanto a su composición, siendo los constituyentes más comunes la materia orgánica, determinados compuestos inorgánicos y metales, así como diferentes microorganismos. Las características de los vertidos o efluentes de una EDAR, así como el tratamiento que experimentan los lodos en ella determinará en gran medida la composición final del lodo. Así, los principales factores que condicionan su composición final son, por una parte, el origen del agua residual y, por otra, la tipología de los tratamientos particulares aplicados tanto en la línea de aguas como en la de lodos.

El uso mayoritario para los lodos EDAR es su aplicación a suelos agrícolas como enmienda orgánica, bien mediante su aplicación directa al suelo o después de someter los lodos a procesos de higienización y estabilización, como el compostaje y el vermicompostaje. Si esta práctica se realiza de manera adecuada, con lodos que cumplan criterios de calidad idóneos (aspecto fundamental para la valorización como enmienda orgánica), y con un manejo sostenible y apropiado para que no se pongan en riesgo los ecosistemas que se pueden ver afectados, podemos indicar que los lodos EDAR pueden llegar a ser adecuadas enmiendas orgánicas para suelos, tanto para uso agronómico (mejorar la fertilidad y productividad del suelo), como su empleo desde una perspectiva puramente ambiental, con ánimo de recuperar los suelos degradados. Los lodos cuentan con un contenido en N elevado (media de 3-3,5%), así como un adecuado nivel de P, elemento de máximo interés para suelos agrícolas (2-2,5%); también contiene K (sobre 0,2-0,5%), además de otros micronutrientes de interés. Cuenta con una elevada cantidad de materia orgánica, cuya calidad viene dada por la procedencia del lodo y por su estabilización.

Los lodos EDAR también tienen aspectos negativos no deseables dentro de una enmienda orgánica: exceso de algún nutriente problemático para el equilibrio de la biota del suelo o para los ecosistemas (como el nitrógeno, por ejemplo, por su posible contaminación de suelos), exceso de sales disueltas, contenido en metales pesados tóxicos, otros compuestos orgánicos perjudiciales, microorganismos patógenos indeseables, o el mal olor derivado de las propias transformaciones de su materia orgánica. Hay estudios que describen cómo la aplicación incontrolada de residuos orgánicos en los suelos puede afectar negativamente a los mismos. Este tipo de investigaciones están en marcha actualmente, y si bien los principales problemas de los lodos para su aplicación agrícola son su contenido en metales pesados, y la posible contaminación por microorganismos

patógenos como *Salmonlella* y *E coli*, otros contaminantes emergentes (nonifenoles, LAS, AOX, etc.,) deberán ser tenidos en cuenta en un futuro.

Un aspecto importante dentro del estudio de las enmiendas orgánicas es la estabilización de su materia orgánica. Los lodos, por lo general, han sufrido ya una digestión en la planta de tratamiento, y que, junto con la calidad propia de las aguas tratadas, le confiere asimismo la calidad de esa posible enmienda orgánica y la posibilidad de que puedan ser empleados de manera directa para ser reciclados en los suelos agrícolas o naturales; pero a veces, podría interesar una mayor estabilidad de la materia orgánica contenida en ellos y, con ello, mejorar la calidad de los mencionados lodos. El proceso de compostaje es, por ejemplo, una de las posibilidades que tenemos (biotecnología de bajo coste), para estabilizar de una manera más controlada la materia orgánica contenida en los lodos, además de sanearla de posibles microorganismos patógenos u otras sustancias fitotóxicas, ya que consigue que el residuo se caliente hasta alcanzar temperaturas situadas en el intervalo de pasteurización (50-70ºC), y por tanto, permite la destrucción de organismos patógenos entéricos, por lo que está perfectamente indicado como método de higienización de lodos. El proceso de compostaje (siempre que se realice de manera adecuada), está en consonancia con los principios jerárquicos marcados por la legislación en materia de gestión de residuos, anteponiéndose el reciclaje de residuos frente a otros tipos diferentes de gestión. El vermicompostaje (tratamientos de lodos con lombrices), también puede finalizar en una buena enmienda orgánica estable para los suelos.

Además del compostaje señalado anteriormente, existen otros medios para conseguir la desinfección de los lodos, y la eliminación en los mismos de microorganismos patógenos: procesos de estabilización con cal, tratamientos térmicos, digestión anaerobia y aerobia mediante microorganismos termófilos, la pasteurización con la elevación de temperatura del lodo, etc. La higienización de los lodos, o de cualquier otro material orgánico destinado a enmiendas orgánicas, tendrá cada vez mayor importancia.

Podemos señalar de manera clara que existe una “necesidad de valorizar lodos como enmienda orgánica para aprovechar su contenido en nutrientes como el nitrógeno, el fósforo que ganará en importancia, y otros micronutrientes de interés”, siempre que dichos lodos cumplan una serie de condicionantes que no impidan su reciclado en los suelos: a) tratamiento previo adecuado; b) calidad nutricional y ambiental acorde con las normativas y condiciones propuestas; y c) un manejo apropiado a este tipo de producto. Se conseguirá así un doble beneficio: de una parte, dar salida racional, ambiental, social y económica, a un residuo que, de no hacerlo, crearía problemas de gestión enormes; de otra, mejorar la calidad y fertilidad de suelos agrícolas y naturales, lo que evita procesos de degradación y desertificación ayudando a proteger un Recurso Natural tan importante como el SUELO (Directiva 86/278/CEE; Real Decreto 1310/1990; Directiva 91/271/CEE, 2006; Ley 22/2011, 28 de julio; Orden 26 de octubre de 1993; Orden AAA/1072/2013, 7 de junio; I (2001-2006) y II (2006-2015) PNIR Plan Nacional de Lodos de Depuradora).

3.- CONCLUSIONES

Sobre la problemática de los lodos generados en nuestras estaciones depuradoras, las leyes ambientales europeas prohíben aspectos tan negativos como su vertido al mar, o su introducción masiva en vertederos (este último aspecto está muy restringido). Una posible alternativa sería la valorización agrícola de los lodos mediante su reciclado en los suelos como enmienda o fertilizante orgánico. Teniendo presente los aspectos positivos y negativos del problema, tal y como se ha puesto ya de manifiesto, lo importante sería establecer criterios claros de actuación para decidir sobre su futuro. Si el uso de lodos en agricultura puede ser una salida racional para ellos, tiene que contar con un exhaustivo seguimiento y control del suelo receptor, estableciendo

además ciertas premisas: qué tipo de lodos (calidad) pueden usarse; qué tipo de manejo debe ser empleado; y en qué condiciones se podrán emplear.

Europa no termina de legislar de forma definitiva al respecto (ver Documentos sobre lodos, elaborados por la UE o asociaciones ligadas a ella); no es clara tampoco nuestra posición a nivel estatal; y al final son las Comunidades Autónomas las que legislan con criterios muchas veces diferentes entre ellas, adaptándose a su realidad y a sus necesidades actuales. Las administraciones deberían ofrecer la mejor salida posible para los lodos de depuración (opción de uso agrícola directa; aplicación después de procesos de estabilización; o bien contemplar futuras opciones energéticas como la carbonización hidrotermal), sin tener en cuenta intereses sesgados que a menudo se observan sobre esta problemática. Ante todo, las administraciones deberían tomar en consideración la investigación científica que durante años se viene realizando en este campo, e incentivar nuevas investigaciones en el futuro, que permitan adoptar soluciones con criterios nada aleatorios y cada vez más realistas y aplicados.

Ante la gran heterogeneidad observada en Europa en materia de gestión de lodos de EDAR, se considera necesaria la publicación definitiva de una nueva Directiva en materia de gestión de lodos con fines agrícolas, a fin de estandarizar procedimientos de tratamiento y gestión, ya que cada Estado Miembro ha ido desarrollando diversas disposiciones legales de forma independiente para hacer frente a su situación en este ámbito. Si Europa no legisla, a nivel estado y de Comunidad Autónoma hay que dar respuesta con una normativa clara y concreta, administrativamente coherente con las necesidades existentes, y que no deje al azar cualquier circunstancia que pueda aparecer. Además, la información aportada en este estudio pone de manifiesto que es básico mejorar nuestro conocimiento sobre cómo afrontar el reciclado de lodos en los suelos (condiciones de manejo y monitorización); se debería de incrementar y fomentar experimentos que permitan actualizar de manera continua dicho conocimiento sobre los efectos del uso de lodos como enmienda orgánica de suelos sin riesgos para los ecosistemas.

4.- BIBLIOGRAFIA

Bastida, F., Selecsek, N., Torres, I.F., Hernández, T., García, C. 2015. Soil restoration with organic amendments: linking cellular functionality and ecosystem processes. Scientific Reports, 5, :150-155.

Caracterización de los lodos de depuradoras generados en España. Informe del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, 2009.

Directiva 86/278/CEE, 12 de junio de 1986: Protección del Medio Ambiente y Suelos (Utilización de los lodos con fines agrícolas).

Directiva 91/271/CEE de 2006: Tratamiento de aguas residuales urbanas.

García, C., Hernández, T., Costa F., 1992. Mineralization in a calcareous soil of a sewage-sludge composted with different organic residues. Waste Manag Res, 10, 445-452.

Ley 22/2011, de 28 de julio: Residuos y Suelos Contaminados.

Orden de 26 de octubre de 1993 (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación), sobre utilización de lodos de depuración en el sector agrario

Orden AAA/1072/2013, de 7 de junio (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medioambiente), sobre utilización de lodos de depuración en el sector agrario.

Propuesta de Directiva del Parlamento Europeo y del Consejo sobre la aplicación de lodos en el suelo (30 de Abril de 2003).

Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación): Regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario.

Ros, M., Hernández, M. T., García, C. 2003. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. Soil Biol Biochem 35, 463–469.

Working document on sludge, 27 April 2000.

WRC and RPA for the European Comission, 2010.

I Plan Nacional de Lodos de Depuradora. PNIR (2001-2006). BOE 12 julio 2001

II Plan Nacional de Lodos de Depuradora PNIR (2006-2015). BOE 14 julio 2006

INFLUENCIA DEL COMPOST DE "ALPERUJO" EN EL METABOLISMO OXIDATIVO DE PLANTAS DE PIMIENTO (*Capsicum annuum* L.)

Germán Tortosa[1], Salvador González-Gordo[2], Carmelo Ruiz[2], Eulogio J. Bedmar[1] y José Manuel Palma[2]

[1]Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos, E-mail: german.tortosa@eez.csic.es
[2]Grupo de Investigación Antioxidantes, Radicales Libres y Óxido Nítrico en Biotecnología y Agroalimentación (ARNOBA). Departamento de Bioquímica, Biología Celular y Molecular de Plantas, Estación Experimental del Zaidín (EEZ), CSIC, C/ Profesor Albareda 1, 18008 Granada, España.

Resumen: El compost de "alperujo" posee un gran potencial como abono y/o enmienda orgánica debido a su alto contenido en materia orgánica parcialmente humificada. Hoy en día existe una creciente demanda de abonos alternativos a los fertilizantes de síntesis motivada por el incremento en el coste de su producción. También debido al desarrollo de nuevos sistemas de producción agrícola más respetuosos con el medio ambiente como la agricultura ecológica. El pimiento (*Capsicum annuum* L.) es una de las hortalizas más consumidas a nivel mundial, de la cual España es uno de los países líderes en su cultivo y producción. Así, el empleo de estos abonos orgánicos es de gran interés para el sector al suponer un beneficio tanto en lo económico como en lo ambiental. Para evaluar el posible efecto beneficioso del compost de "alperujo" en el cultivo de pimiento, se ha analizado el metabolismo de las especies de oxígeno reactivo (ROS: *reactive oxygen species*) como indicador metabólico del desarrollo fisiológico de las plantas. Para ello, se cultivaron plantas de pimiento (tipo California) en condiciones de invernadero con diferentes dosis de compost y se compararon con sus correspondientes controles a los que se adicionó fertilización mineral. Se analizaron diversos parámetros fisiológicos y las actividades enzimáticas catalasa y superóxido dismutasa. Asimismo, en las muestras analizadas, se determinó la peroxidación lipídica. Los resultados obtenidos indican que el compost de "alperujo" incrementa la actividad antioxidante en las plantas de pimiento sin generar estrés oxidativo, lo que, además, podría favorecer la producción de frutos.

Palabras clave: compost de "alperujo", pimiento, ROS, antioxidantes.

1. Introducción.

El orujo de oliva de dos fases ("alperujo") es uno de los principales residuos agroindustriales que se generan actualmente en España (Alburquerque y col., 2004). Su tratamiento mediante compostaje ha demostrado ser viable para su revalorización y utilización agrícola, conduciendo a la producción de composts ricos en materia orgánica humificada de clara naturaleza lignocelulósica, que pueden constituir una excelente materia prima para la producción industrial de abonos orgánicos y órgano-minerales de calidad (Tortosa y col. 2012). Su uso como abono y/o enmienda orgánica puede ayudar a reducir la dependencia de los fertilizantes minerales de síntesis, cuyo incremento en su coste de producción y su impacto ambiental, está generando un cambio por sistemas de producción alternativos más respetuosos con el medio ambiente como la agricultura ecológica.

Una forma de estudiar el efecto positivo del compost como abono orgánico en el desarrollo fisiológico de las plantas es analizar la evolución de su metabolismo oxidativo. Por un lado, la presencia de un exceso de especies de oxígeno reactivo (ROS, *reactive oxygen species*), entre

las que se incluyen los radicales superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los radicales hidroxilo (·OH), pueden generar graves daños a nivel celular. Por otro lado, a bajas concentraciones, estas moléculas son fundamentales en determinados procesos de señalización implicados en el crecimiento vegetal, la respuesta a ciertos estímulos ambientales, muerte celular controlada, etc (Halliwell y Gutteridge 2015). Para regular la adecuada concentración de ROS dentro de las células, las plantas cuentan con sistemas de enzimas antioxidantes capaces de eliminar el exceso de ROS formadas. Entre ellas, cabe destacar la catalasa (EC 1.11.1.6), una enzima implicada en la descomposición de H_2O_2 en oxígeno y agua, y las superóxido dismutasas (SODs; EC 1.15.1.1), metaloenzimas que catalizan la dismutación de los radicales libres $O_2^{\cdot-}$ en agua y peróxido de hidrógeno (Palma y col. 2015). Así, un incremento en la presencia y/o actividad en estas enzimas puede significar una mejora en el crecimiento y desarrollo fisiológico de las plantas ante determinadas condiciones ambientales.

El objetivo de este trabajo fue estudiar cómo el compost de "alperujo" puede afectar al metabolismo oxidativo de una de las hortalizas de mayor consumo a nivel mundial, el pimiento (*Capsicum annuum* L.), de la cual España tiene un papel relevante tanto en su cultivo como en producción.

2. Material y Métodos.

2.1. Compostaje de "alperujo".

El compost empleado se obtuvo usando la metodología descrita previamente en Tortosa y col. (2012). Se basó en una mezcla inicial de "alperujo" con estiércol de oveja en proporción 1:1 (v/v) y el compostaje se realizó en pilas trapezoidales de aproximadamente 10 toneladas. Tanto la mezcla como el volteo se hicieron con una máquina retroexcavadora con una pala pequeña acoplada. La humedad se mantuvo cercana al 40% gracias a un sistema de riego por aspersión. Se aplicaron 7 volteos en total y el proceso duró unas 22 semanas. El compost resultante presentó un pH ligeramente alcalino (7,83 ± 0,21) y una salinidad baja (1,16 ± 0,03 mS cm^{-1}), además de un importante contenido en materia orgánica (55,7 ± 2,1 %), principalmente de naturaleza lignocelulósica. El contenido final de nitrógeno fue de 1,71 ± 0,31 %, fundamentalmente de naturaleza orgánica. También presentó un importante contenido húmico (80,7 ± 1,4 % de porcentaje de ácidos húmicos) y ausencia de fitotoxicidad (índice de germinación de Zucconi de 92 ± 4).

2.2. Cultivo de pimiento.

Las semillas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) usadas en este trabajo fueron de tipo California y las proporcionó la empresa Syngenta Seeds S.A. (El Ejido, Almería, España). Para el cultivo, las semillas se esterilizaron superficialmente, se germinaron y crecieron a 25ºC durante 30 días en vermiculita N.º 3. Posteriormente se trasplantaron aquellas que presentaban similares características fenotípicas poniendo una planta por maceta de 1 litro de capacidad que contenía también vermiculita. Se aplicaron cuatro tratamientos en función de la cantidad de compost añadido, manteniendo constante la cantidad de nitrógeno inorgánico que recibían las plantas: Control (sin compost), C1 (8 %, v/v), C2 (17 %, v/v) y C3 (33 %, v/v). El riego consistió en 200 ml semanales de disolución nutritiva de Hewitt modificada (del Río y col. 1985) para el tratamiento Control y 200 ml de 12 mM de NO_3^- para el resto de tratamientos. De forma complementaria, se realizaron riegos con agua destilada en volúmenes similares según la evolución y las necesidades del cultivo. Se hicieron dos cosechas, una al inicio de la etapa de floración (98 días) y otra en la fase de producción de fruto (107 días). Las plantas crecieron en condiciones controladas de

temperatura y luz en el Servicio de Invernaderos y Cámaras de Cultivo disponible en la Estación Experimental del Zaidín (EEZ-CSIC).

2.3. Análisis fisiológicos y actividades enzimáticas antioxidantes.

Una vez terminado el experimento, se determinó el peso seco de la parte aérea (PSPA) y el peso seco de la raíz (PSR) por diferencia de peso tras secar las muestras a 70ºC durante 72 horas. También se contabilizó el número de frutos obtenido y su peso seco, medido de forma similar al PSPA y PSR. Para el análisis de las actividades enzimáticas antioxidantes, se preparó un extracto crudo de las muestras foliares. Las muestras se congelaron en nitrógeno líquido y se homogenizaron con un mortero de porcelana. El polvo obtenido se suspendió en una disolución tampón en proporción (1:4, peso/volumen) que contenía: 0,1 M Tris–HCl (pH 8,0), 0,2 mM EDTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 10 % (v/v) glicerol y 5 mM DTT. El extracto se centrifugó a 27,000 *g* a 4 ºC durante 20 minutos, usándose el sobrenadante para las determinaciones bioquímicas. El contenido en proteína foliar se hizo según el método de Bradford (1986), usando albúmina de suero bovino como patrón analítico. La determinación de la actividad catalasa, de la peroxidación lipídica mediante la reacción con ácido tiobarbitúrico (método TBARS) y de la actividad SOD total e isoenzimática, por electroforesis nativa en geles de poliacrilamida, se llevó a cabo según los métodos descritos en Mateos y col. (2013).

2.4. Análisis estadístico.

Todos los tratamientos consistieron en 8 repeticiones, a los que se calcularon estadísticos descriptivos como la media aritmética y desviación estándar. Además, con el fin de determinar diferencias estadísticas entre los tratamientos, se realizó el análisis de la varianza (ANOVA de un factor) usando el test *post-hoc* de Duncan ($p< 0,05$), asumiendo que los datos presentaban homocedasticidad y distribución normalizada.

3. Resultados y Discusión.

3.1. Efecto del compost en el desarrollo vegetal de las plantas de pimiento.

El compost añadido provocó un claro efecto positivo en el desarrollo fisiológico de las plantas de pimiento, siendo mayor según la dosis, especialmente con C3 (Tabla 1). Este efecto fue más notable durante la primera cosecha (98 días), aunque también fue relevante al final del cultivo (107 días). Así, tanto el PSPA como el PSR se incrementaron cerca de cuatro veces con la dosis mayor de compost (C3) con respecto al tratamiento Control a los 98 días, siendo este efecto de solo 1,2 veces tras los 107 días de crecimiento (Tabla 1). En cuanto a los frutos, también se observó un incremento en la producción con la dosis de compost, afectando sobre todo a la biomasa obtenida más que al número de los mismos (Tabla 1).

3.1. Efecto del compost en las actividades enzimáticas antioxidantes.

En ambas cosechas se observó un incremento de la actividad catalasa en las hojas de pimiento conforme la concentración de compost fue mayor (Tabla 1). Cabe destacar que este incremento fue más notable en la primera cosecha que en la segunda. Así, los máximos valores para la actividad catalasa se encontraron con el tratamiento C3, dando valores de 73,96 y 71,26 µ moles de H_2O_2 min^{-1} mg^{-1} de proteína, tras 98 y 107 días de cultivo respectivamente, lo que significó un incremento de cerca del doble con respecto al tratamiento control en la primera cosecha. Por otro lado, la actividad SOD total a los 98 días se incrementó significativamente con la cantidad de compost añadido, siendo el doble para C1 y C2, y cerca de 7 veces con C3 con

respecto al tratamiento control respectivamente (Figura 1A). Este efecto se correlacionó con el incremento de la intensidad de las bandas observadas en el perfil de las diferentes isoenzimas SODs presentes en las hojas (Figura 1B). El análisis con inhibidores específicos de las iso-SODs determinó la presencia de una Mn-SOD, una Fe-SOD y una CuZn-SOD (I) en las hojas Control, C1 y C2 a los 98 días de tratamiento. Por el contrario, en el tratamiento C3 se detectó, al menos, una nueva CuZn-SOD (II) (Figura 1B).

Finalmente, los valores de peroxidación lipídica no mostraron diferencias significativas con la concentración de compost ensayado (Tabla 1), lo que confirmó que el compost de "alperujo" aumenta la actividad antioxidante en las plantas de pimiento sin que eso implique la generación de estrés oxidativo. Tal y como se observa hasta el momento, el efecto de la concentración del compost en el desarrollo fisiológico de las plantas fue más evidente durante la primera cosecha (98 días) que al final del experimento (107 días), presumiblemente porque el compost aceleró el ciclo de vida productivo de la planta de pimiento, sin que ello ocasiones síntomas claros de estrés.

5. Bibliografía.

Alburquerque, J.A., Gonzálvez, J., García, D., Cegarra, J., 2004. Agrochemical characterisation of ''alperujo'', a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresour. Technol*. 91 (2), 195-200.

Bradford, M.M. 1976. Rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing principle of protein dye binding. *Anal. Biochem*., 72, 248-254.

del Río, L.A., Sandalio, L.M., Yañez, J., Gómez, M. 1985. Induction of a manganese containing superoxide dismutase in leaves of *Pisum sativum* L. by high nutrient levels of zinc and manganese. *J. Inor Biochem*. 24, 25,34.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Oxford, RU.

Palma, J.M., Gupta, D.K., Corpas, F.J. 2015. Metalloenzymes involved in the metabolism of reactive oxygen species and heavy metals stress. En: *Heavy Metals Stress in Plants* (Gupta, D.K., Corpas, F.J., Palma, J.M, eds.). Springer, Heidelberg, Alemania.

Mateos, R.M., Jiménez, A., Román, P., Romojaro, F., y col. 2013. Antioxidant systems from pepper (*Capsicum annuum* l.): Involvement in the response to temperature changes in ripe fruits. *Int. J. Mol. Sci.* 2013, *14*, 9556-9580.

Tortosa, G., Alburquerque, J.A., Ait Baddi, G., Cegarra, J., 2012. The production of commercial organic amendments and fertilisers by composting of two-phase olive mill waste ("alperujo"). *J. Clean. Prod*. 26, 48-55.

6. Agradecimientos.

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Andalucía (proyecto P12-AGR-1968, y grupos BIO-275 y BIO192), y el MINECO/FEDER (proyecto AGL2015-65104-P).

Tabla 1. Peso seco de la parte aérea (PSPA), peso seco de la raíz (PSR), producción de frutos (gramos), actividad catalasa y peroxidación lipídica en las hojas de pimiento recogidas en los diferentes tratamientos aplicados durante las dos cosechas estudiadas.

Cosecha	Tratamiento	PSPA (g)	PSR (g)	Producción de frutos (g)	Catalasa (µmol H_2O_2 min^{-1} mg^{-1} proteína)	Peroxidación lipídica (nmol MDA g^{-1})
98 días	Control	1,6 a	1,5 a	0,0	39,65 a	0,33
	C1	3,5 b	3,2 b	0,0	31,20 a	0,35
	C2	5,1 c	5,7 c	0,0	43,37 b	0,41
	C3	6,8 d	5,9 c	0,0	73,96 c	0,47
127 días	Control	7,7 a	7,9 a	19,0 a	68,34 b	0,34
	C1	8,0 a	7,5 a	37,4 b	47,35 a	0,32
	C2	10,6 b	12,4 c	47,6 b	69,57 b	0,38
	C3	9,2 b	10,6 b	72,5 c	71,26 c	0,41

Nota: Para cada cosecha, los valores medios de los parámetros seguidos con letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05)

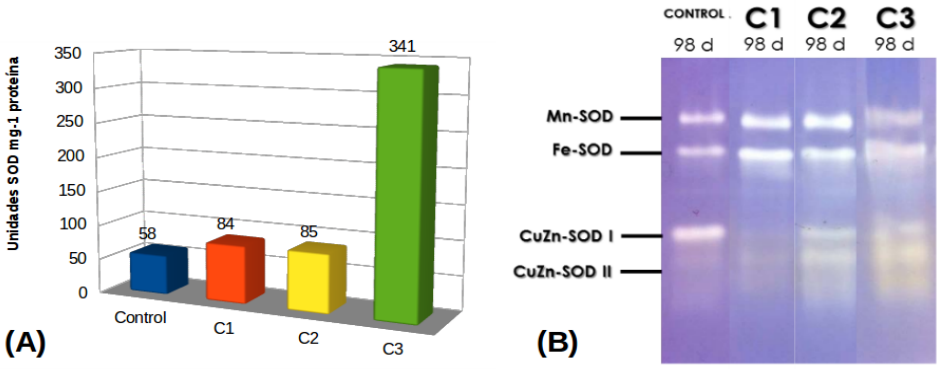


Figura 1. Actividad SOD total (A) y detección de las diferentes isoenzimas SODs (B) presentes en las hojas de pimiento a los 98 días en función de los tratamientos ensayados.

VALORACIÓN DEL USO DE BIONUTRIENTES EN HIDROPONÍA

Jose Luis Ruiz Zubiate[1], María del Carmen Salas Sanjuan[2]

[1]*Departamento de Agronomía, Universidad de Almería, España jl.ruizz@hotmail.com*
[2]*Departamento de Agronomía, Universidad de Almería, España csalas@ual.es*

Resumen

Los fertilizantes orgánicos y/o biofertilizantes se han identificado como una alternativa viable a la fertilización química y/o mineral para incrementar la fertilidad del suelo y productividad del cultivo en agricultura ecológica. El objetivo de esta investigación fue evaluar la riqueza en elementos minerales del té de vermicompost en función de la riqueza elemental para uso como biofertilizante en cultivo hidropónico de lechuga (*Lactuca sativa*). Se realizaron 4 tratamientos: cultivo en sustrato de fibra de coco y fertilización orgánica, sistema NGS (New Growing System) con fertilizante orgánico, sistema NGS con mayor aireación para incrementar la oxigenación en la solución nutritiva con fertilización orgánica y sistema NFT (New Film Technique) con nutrición mineral como testigo. Se analizó la evolución de la composición química del té de vermicompost con el paso del tiempo, encontrando diferencias significativas en la concentración de elementos nutritivos, así como en el desarrollo del cultivo entre los diferentes sistemas de producción. Los resultados de este estudio permiten concluir que es posible enriquecer la concentración de elementos nutritivos contenidos en él té de vermicompost mediante actividad de microorganismos que incrementan la cantidad de elementos asimilables por las plantas lo cual permite utilizar este biofertilizante como alternativa a la fertilización mineral, debido a su composición como fuente de nutrición durante todo el ciclo de cultivo obteniendo altos rendimientos, y manteniendo un bajo costo de producción.

Palabras clave: agricultura orgánica, vermicompost, *Lactuca sativa.*

1. Introducción

La hidroponía y/o cultivo sin suelo es una técnica eficiente para la producción de cultivos hortícolas en condiciones protegidas que ha permitido incrementar los rendimientos y la calidad de frutos, al propiciar un ambiente óptimo para potenciar el crecimiento y desarrollo de especies hortícolas (Preciado y col. 2011), pero está limitada a la aplicación de fertilizantes inorgánicos solubles en el agua como medio nutricional (Shinohara y col. 2011). Actualmente los fertilizantes orgánicos no se utilizan en los sistemas tradicionales de hidroponía debido a que pueden generar efectos fitotóxicos al contener elementos no asimilables por las plantas (Kawamura y col. 2014) y no suministrar los nutrientes en forma y cantidad suficiente. Los biofertilizantes representan alternativa para satisfacer las necesidades nutrimentales de los cultivos, disminuir los costos de producción y la dependencia de los fertilizantes minerales (González y col. 2013).

2. Material y métodos

Se estableció un cultivo de lechuga tipo Batavia, en sistema hidropónico y en sustrato distribuido en 4 tratamientos: 1) sistema NFT con solución nutritiva formulada con fertilizantes minerales y utilizado como testigo (T1); 2) cultivo en sustrato de fibra de coco con solución nutritiva elaborada a partir de materiales orgánicos (T2); 3) plantación en

sistema NGS con mayor oxigenación en la solución nutritiva orgánica (T3); 4) sistema NGS con nutrición orgánica (T4).

La recolección se realizó cuando las plantas alcanzaron el porte comercial; a los 35 días desde el transplante (DDT) en el tratamiento mineral (T1), mientras que en el resto (T2, T3 Y T4; tratamientos con solución nutritiva orgánica) se cosechó a los 50 DDT. La densidad de plantación fue de 30 plantas m^{-2}.

La solución nutritiva para los tratamientos orgánicos (T2, T3, T4), se realizó a base de té de vermicompost de origen vegetal, el cual fue diluido hasta obtener una conductividad eléctrica (CE) de 2.0 dS m^{-1} mediante un conductímetro Tec-Hu TE52 a fin de evitar problemas de fitotoxicidad (Preciado y col. 2009). Posteriormente fue aireado durante 8 días para incrementar la actividad bacteriana (Ingham, 2005). Para el tratamiento testigo la solución nutritiva (Tabla 1), se elaboró de fertilizantes minerales (Steiner, 1961).

El pH y la concentración de iones (NO_3^-, Cl^-, NH_4^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^+) en la solución nutritiva y savia se determinó mediante la técnica de potenciometría con una sonda modular de electrodos selectivos de iones Multi Ion iMa Cimus de la empresa NT Sensors (España). La determinación de fosfatos ($H_2PO_4^-$) se realizó por medio de análisis espectrofotométrico basado en la colorimetría del azul de molibdeno obtenida a para extracciones de P en medio acuoso (Guzmán, 1987). El contenido de oxígeno disuelto y temperatura de la solución nutritiva se analizó con un oxímetro portátil marca Crison modelo Oxi45+.

El procedimiento elegido para el análisis estadístico de los parámetros evaluados fue el análisis de la varianza (ANOVA) a un nivel de confianza del 95.0% ante las pruebas de rango múltiples para conocer el grado de significación mediante la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

Tabla 1. Composición química inicial concentración de iones (mmol L^{-1}), pH, CE y O_2 de las soluciones nutritivas empleadas en los tratamientos.

Tratamiento	NO_3^-	$H_2PO_4^-$	Cl^-	NH_4^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Na^+	pH	C.E. (dS m^{-1})	O_2 (mg L^{-1})
T2 T3 T4	7.9	0.5	6.7	0.2	4.2	3.3	1.2	6.3	8.25	2.1	7.67
T1	12	2.0	6.1	2.1	5.0	4.8	2.0	5.0	6.50	2.5	6.95

T1, NFT fertilización mineral; T2, cultivo en sustrato (fibra de coco) con fertilización orgánica; T3, NGS con fertilización orgánica y mayor aireación en tanque de solución nutritiva; T4, NGS nutrición orgánica.

3. Resultados y Discusión

Análisis de savia

En la tabla 3 se describe la concentración media de la composición química contenida en el extracto de savia. La máxima concentración de NO_3 se obtuvo en los extractos de las plantas cultivadas en los tratamientos T1 (mineral) y T3 (orgánico + aireación), no habiendo diferencia estadística significativa entre estos ellos. Estos resultados que concuerdan con el análisis de la solución nutritiva donde los resultados indican que las mayores cantidades de N en forma de NO_3^- se encuentran en T1 y T3.

Tabla 3. Concentración media y DS de elementos nutritivos contenidos en savia (mmol L^{-1}).

	NO_3^-	$H_2PO_4^-$	Cl^-	NH_4^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Na^+	pH
T1	59.0±3.5	12.1±3.0	49.3±3.5	5.5±0.2	76.0±5.0	1.4±0.1	1.8±0.4	29.0±5.0	5.65
	a	a	b	c	a	a	a	a	a
T2	48.6±5.03	8.4±2.1	68.6±1.5	6.2±0.2	71.0±3.6	0.5±0.1	0.6±0.1	33.3±4.0	5.68
	b	b	a	b	a	c	b	a	a
T3	53.6±0.5	7.96±1.5	69.0±3.0	7.0±0.2	71.3±2.0	0.5±0.0	0.5±0.0	26.6±3.7	5.73
	ab	b	a	a	a	bc	b	a	a
T4	50.0±2.6	8.5±1.1	64.0±5.0	7.0±0.5	71.0±3.6	0.7±0.0	0.4±0.0	18.6±1.5	5.66
	b	b	a	a	a	b	b	b	a

T1, NFT fertilización mineral; T2, cultivo en sustrato (fibra de coco) con fertilización orgánica; T3, NGS con fertilización orgánica y mayor aireación en tanque de solución nutritiva; T4, NGS nutrición orgánica. Valores con letras iguales dentro de cada columna son similares estadísticamente (LSD 95%).

Las mayores concentraciones de $H_2PO_4^-$ se obtuvieron en el tratamiento mineral (T1). En el caso de K^+ no se observó diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos lo que indica que los diferentes sistemas de producción no tuvieron influencia en K^+.

El tratamiento con fertilización mineral (T1) obtuvo la mayor concentración de Ca^{2+} en savia, mientras que a mayor concentración de Mg^{2+} se obtuvo en el tratamiento mineral (T1). Dentro de los tratamientos orgánicos la mayor acumulación de Na^+ se encontró en el cultivo regado con solución orgánica con sustrato (T2), lo cual pudiera indicar una acumulación de sales en el sustrato, además de que la fibra de coco tiene alto contenido de sales (Gayosso y col. 2016).

Solución Nutritiva

Se realizaron análisis periódicos de las soluciones nutritivas para controlar el equilibrio de nutrientes y evaluar la variación de la concentración de los elementos nutritivos en función del tiempo durante el desarrollo del cultivo. En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en cada uno de los tratamientos estructurados en 3 quincenas con datos medios de cada periodo.
Referente a N, se expresan diferencias estadísticamente significativas (LSD 95%) entre el tratamiento testigo (T1) y los tratamientos orgánicos (T2, T3, T4) en la concentración de NO_3^-.

El contenido de NH_4^+ fue muy similar (<5%) durante las quincenas 1 y 2, no habiendo diferencias significativas entre tratamientos. Respecto a la concentración de $H_2PO_4^-$ fue mayor en el tratamiento mineral (T1) durante todo el ciclo de cultivo. En el caso de Ca^{2+} no existen diferencias significativas entre tratamientos y se observa un incremento en la concentración en Ca^{2+} con el paso del tiempo en la totalidad de tratamientos. El contenido de Mg^{2+} en el T1 se encuentra dentro de los rangos aceptables durante todo el ciclo de cultivo. En el caso de Na^+ y Cl^-, no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos durante el ciclo de cultivo.

Tabla 2. Datos medios y DS (desviación estándar) de la composición química (mmol L^{-1}), pH, CE y O^2 (mg L^{-1}) de la solución nutritiva analizado por quincenas desde el trasplante en función de los tratamientos evaluados en un cultivo de lechuga.

Quincena		T1	T2	T3	T4
1	NO_3^-	11.25±1.06 a	5.90±0.99 c	7.10±0.21b	6.05±0.49 c
	$H_2PO_4^-$	2.60±0.02 a	0.36±0.10 b	0.41±0.91 b	0.21±0.93 c
	Cl^-	10.85±1.63 a	8.90±1.56 a	8.35±2.19 a	7.15±2.19 a
	NH_4^+	0.25±0.21 a	0.30±0.14 a	0.20±0.14 a	0.20±0.14 a
	K^+	3.95±1.48 a	3.60±0.20 a	3.15±0.07 a	2.70±0.28 a
	Ca^{2+}	4.25±0.07 a	3.30±0.42 a	3.20±0.14 a	3.35±0.78 a
	Mg^{2+}	2.00±0.57 a	1.10±0.14 b	1.20±0.14 ab	1.20±0.14 ab
	Na^+	9.55±0.64 a	9.55±0.64 a	8.95±0.64 a	7.10±0.14 a
	pH	7.00±0.47 b	8.39±0.01 a	8.54±0.05 a	8.23±0.16 a
	CE	2.63±0.28 a	2.20±0.08 ab	2.11±0.14 b	1.91±0.65 b
	O_2	6.89±0.14 b	6.97±0.24 b	7.62±0.22 a	6.91±0.13 b
2		T1	T2	T3	T4
	NO_3^-	11.03±2.10 a	5.13±0.54 c	7.30±0.37 b	5.38±0.41 c
	$H_2PO_4^-$	2.20±0.04 a	0.41±0.20 b	0.38±0.05 b	0.36±0.06 b
	Cl^-	9.83±1.90 a	10.03±1.13 a	9.85±1.98 a	10.28±1.66 a
	NH_4^+	0.43±0.10 a	0.30±0.08 a	0.28±0.15 a	0.30±0.13 a
	K^+	4.50±0.90 a	4.30±0.73 a	4.13±0.99 a	4.00±0.72 a
	Ca^{2+}	4.45±2.40a	4.34±1.69 a	3.82±0.70 a	4.05±0.68 a
	Mg^{2+}	1.60±0.30a	1.23±0.25 a	1.10±0.30a	1.20±0.70 a
	Na^+	11.30±2.34a	10.45±3.21 a	9.35±1.47a	8.75±4.37 a
	pH	6.87±0.10b	8.26±0.40 a	8.41±0.30a	8.26±0.20 a
	CE	2.83±0.15 a	2.62±0.18 b	2.36±0.05c	2.35±0.16 c
	O_2	6.72±0.14 b	6.78±0.24 b	7.36±0.22 a	6.73±0.13 b
3		T1	T2	T3	T4
	NO_3^-	9.80±1.27 a	5.64±0.34 c	6.90±0.27 b	5.54±0.56 c
	$H_2PO_4^-$	2.10±0.06 a	0.39±0.14 b	0.38±0.12 b	0.32±0.03 b
	Cl^-	11.50±3.54 a	12.14±3.90 a	11.88±4.22 a	10.92±4.05 a
	NH_4^+	0.50±0.14 a	0.44±0.10 a	0.20±0.09 b	0.20±0.07 b
	K^+	5.05±0.92 ab	5.10±0.66 a	3.80±0.93 bc	3.08±1.02 c
	Ca^{2+}	3.85±0.49 a	4.50±0.75 a	4.42±1.15 a	5.04±1.20 a
	Mg^{2+}	1.80±0.14 a	1.66±0.54 a	1.98±0.72 a	1.72±0.73 a
	Na^+	9.00±0.14 a	11.90±3.54 a	12.40±3.81a	10.90±3.47 a
	pH	7.12±0.06 b	8.23±0.10 a	8.30±0.20 a	8.18±0.20 a
	CE	2.59±0.27 b	2.98±0.03 a	2.93±0.05 a	2.85±0.05 b
	O_2	6.60±0.14 b	6.50±0.24 b	7.18±0.22 a	6.67±0.13 b

Peso medio parte aérea y peso medio raíz

No se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en el peso medio de fruto, sin embargo, T3 supera a la totalidad de los tratamientos pudiendo ser un factor determinante la mayor cantidad de oxígeno disuelto en la solución nutritiva., lo cual estimula el desarrollo de la raíz y la mayor absorción de nutrientes (Urrestarazu y Mazuela, 2005). En otro experimento Martínez y col. (2012) determinaron que porcentajes de oxígeno disuelto superiores al 90% en solución nutritiva generan los mayores aumentos en la producción de un cultivo de lechuga, lo que coincide con los datos obtenido en T3 al tener un promedio de 7.39 mg L^{-1} lo que equivale a 92.47% de oxígeno disuelto a una temperatura de 26^0C.

Materia seca

Los resultados obtenidos indica un mayor contenido de materia seca en hoja y raíz en el tratamiento con nutrición a base de fertilizantes minerales (T1), siendo estadísticamente significativa la diferencia en comparación a los tratamientos orgánicos.

Producción comercial (kg m^{-2})

No se presentó diferencia estadísticamente significativa en la producción (kg m^{-2}) entre el tratamiento mineral (T1) y los tratamientos orgánicos T3 y T4, lo que coincide con datos reflejados en el peso promedio de fruto y el análisis de savia entre estos tratamientos, sin embargo, el T3 al igual que en peso fresco de hoja y raíz fue el tratamiento más productivo alcanzando un rendimiento de promedio de 5 kg m^{-2} de acuerdo a la densidad de plantación.

Contenido de nitratos en hoja

Respecto a los tratamientos con solución nutritiva preparada a base de fuentes orgánicas, la acumulación fue muy inferior respecto al testigo, probablemente por la lenta mineralización del N orgánico que provoca una absorción progresiva de N por las plantas. Esta lenta absorción otorga el tiempo necesario para que se lleven a cabo los procesos metabólicos de asimilación en los tejidos vegetales para formar estructuras por lo que la acumulación de nitratos es menor (Hernández y col. 2016), lo cual representa un valor agregado en calidad del producto.

4. Conclusión

La disponibilidad de nutrientes en la solución nutritiva orgánica está directamente influenciada por el manejo de la solución de la solución durante el cultivo y la composición química inicial del vermicompost.

El té de vermicompost utilizado como solución nutritiva en sistema hidropónico aporta la mayoría de los nutrientes necesarios para el desarrollo del cultivo de lechuga, siendo necesario la aplicación puntual de una fuente de fosforo y magnesio para evitar posibles deficiencias.

El uso de soluciones nutritivas orgánicas preparadas a base de té de vermicompost de residuos vegetales hortícolas puede convertirse en una alternativa para la producción de cultivos de ciclo corto como la lechuga.

5. Bibliografía

Gayosso, R.S., Borges G.L., Villanueva C.E., Estrada B.M., y Garruña H.R., 2016. Conductividad eléctrica y sales en lavados de fibra de coco y sargazo. Ciencia y Tecnol. Agrop. Vol. 4 Núm. 1: 20-26

González, S.K., Rodríguez, M. M., Trejo T.L., Sánchez E.J., y García C.J., 2013. Propiedades químicas del té de vermicompost. Ciencias Agrícolas 5, 901-911.

Guzmán, M., 1987. Equilibrios nutricionales en condiciones de invernadero: corrección, y mejora de la cosecha. Tesis doctoral. Universidad de Granada.

Hernández, T., Chocano, C., Moreno, J.L., y García, C., 2016. Use of compost as an alternative to conventional inorganic fertilizers in intensive lettuce (*Lactuca sativa L.*) crops—Effects on soil and plant. Tillage Research. 160, 14–22.

Ingham, E.R., 2005. Compost Tea Brewing Manual: Latest Methods and Research. Soil Food Web. 13-86.

Kawamura, C., Fujiwara, K., Shinohara, M., and Takano, M., 2014. Study on the Hydroponic Culture of Lettuce with Microbbially Degraded Soil Food Waste as a Nitrate Source. JARQ. 48, 71-76.

Martínez, G.G., Ortiz, H.Y., y López, P.R., 2012. Oxigenación de la solución nutritiva recirculante y su efecto en tomate y lechuga. Rev. Fitotec. Mex 35, 49 – 52.

Preciado Rangel, P., Fortis, H.M., García-Hernández, J.L., Rueda Puente, E.O., Esparza Rivera, J.R., Lara Herrera, A., Segura Castruita, M.A., Orozco Vidal, J.A., 2011. Evaluación de soluciones nutritivas orgánicas en la producción de tomate en invernadero Interciencia. 36, 689-693.

Shinohara, M., Aoyama, C., Fujiwara, K., Watanabe, A., Ohmori, H., Uehara, Y., and Takano, M., 2011. Microbial mineralization of organic nitrogen into nitrate to allow the use of organic fertilizer in hydroponics. Soil Science and Plant Nutrition, 57, 190-203.

Steiner, AA., 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of certain desired composition. *Plant Soil 15*: 134-154.

Urrestarazu, M., and Mazuela, P., 2005. Effect of slow-release oxygen supply by fertigation on horticultural crops under soilless culture. Scientia Horticulture 106, 484-490.

CONTENIDO DE METALES PESADOS EN LEGUMBRES Y HORTALIZAS PROCEDENTES DE HUERTOS URBANOS

Juana Hallat Sánchez, Asunción Castro Pérez, Pilar Burgos Domenech, Rafael López Núñez

IRNAS-CSIC, Avda. Reina Mercedes 10, 41080, Sevilla; juani_almen_14@hotmail.com

Resumen: La agricultura urbana es una actividad en expansión a nivel mundial. Se estima en más de 20.000 el número de huertos urbanos en España, siendo cultivados la mayor parte de ellos bajo manejo ecológico y con frecuente uso de diversos tipos de composts o estiércoles. A pesar de los múltiples beneficios que nos aporta la agricultura urbana, se han detectado en ciertas ocasiones presencia de metales pesados en los suelos y cultivos urbanos lo que implica un riesgo para los consumidores. En el presente trabajo se han determinado las concentraciones de metales pesados y nutrientes en plantas y frutos de habas (*Vicia faba*) y lechugas (*Lactuca sativa*) recolectadas en huertos urbanos de la provincia de Sevilla, en poblaciones de diverso tamaño y a diferentes distancias de vías de comunicación. En todos los casos las plantas mostraron niveles de nutrientes minerales satisfactorios, de acuerdo con la elevada fertilidad y materia orgánica que de forma generalizada mostraron los suelos de los huertos urbanos. Las concentraciones de metales pesados estuvieron generalmente por debajo de los límites de seguridad permitidos. Se observaron diferencias entre localizaciones que pueden relacionarse con la deposición por vía aérea de metales pesados, con la contaminación previa del suelo y con el uso de fungicidas de cobre. Aunque parciales por lo limitado del muestreo, estos resultados indican que los productos procedentes de la agricultura urbana ofrecen seguridad a sus consumidores.

Palabras clave: Lechuga, haba, Sevilla, plomo

1. Introducción

La agricultura urbana es una actividad en crecimiento en, o alrededor de muchas ciudades del mundo. En España existen unos 20.000 huertos urbanos. Se practica con el propósito de entretenimiento pero también por seguridad alimentaria y conlleva beneficios sociales, económicos, medioambientales y de salud humana (Mok y col., 2014). Sin embargo, existe preocupación por la eventual contaminación de frutas y hortalizas urbanas por sustancias orgánicas o inorgánicas (metales pesados) (Meharg, 2016). En este trabajo se han determinado las concentraciones de metales pesados y nutrientes en plantas de haba (*Vicia faba*) y lechuga (*Lactuca sativa*) recolectadas en 4 huertos urbanos de la provincia de Sevilla situados a diferente distancia de carreteras y en poblaciones de diferente tamaño.

2. Materiales y métodos

Se muestrearon plantas y suelo (no considerado aquí) de 22 parcelas asignadas a personas mayores o desempleados, de 100 m^2, en 4 huertos urbanos de la provincia de Sevilla: parque de Miraflores en ciudad (MI), y en las poblaciones de Utrera (UT), Osuna (OS) y Almensilla (AL). Los huertos estaban cultivados bajo prácticas de agricultura ecológica con uso abundante de enmiendas orgánicas, pero difieren en su situación en la ciudad, distancia a carreteras y tamaño de la población (Tabla 1). Se seleccionaron las especies vegetales *Vicia faba* y *Lactuca sativa* presentes en los 4. Se tomaron

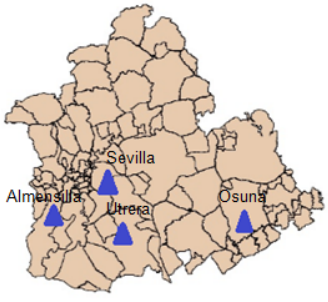


Fig. 1: Localización de los huertos

hojas y vainas de habas y hojas de lechuga. Las muestras de habas se analizaron sin lavar y después de lavarlas. Las de lechuga se analizaron siempre lavadas. Se determinaron los nutrientes P, K, Ca, Mg y S y metales pesados mediante digestión en microondas e ICP-OES y N en autoanalizador. Los valores medios de cada huerto se compararon con el test de Tukey ($p<0,05$).

Tabla 1: Características de los Huertos Urbanos

Huerto	AL	UT	OS	MI
Localidad	Almensilla	Utrera	Osuna	Sevilla
Población ~	6.000	53.000	18.000	700.000
Posición en la ciudad	Límite urbano	Límite urbano	Periurbano	Interior
Distancia a carretera (m)	200	100	20	100
Intensidad de tráfico	Baja	Media	Baja	Elevada
Otras infraestructuras (m)	Autovía en construcción (1600m)	Vía de tren (200m)	Industria de conservas (200 m) y parque industrial (500 m)	Vía de tren (800 m) y parque industrial (300 m)
Antigüedad (años)	4	9	8	25

Tabla 2: Nutrientes en hojas de haba (g kg^{-1})

		Mínimo	Máximo	Media
N	AL	43,6	51,0	47,9
	OS	30,5	40,7	36,6
	UT	45,8	51,4	49,2
	MI	32,0	38,8	35,4
	RE[1]	48,0	55,0	
P	AL	3,72	4,66	4,15
	OS	1,98	2,78	2,49
	UT	3,55	5,56	4,21
	MI	2,03	3,77	2,89
	RE[1]	3,20	4,20	
K	AL	25,6	47,9	36,4
	OS	25,3	43,2	32,6
	UT	17,9	30,1	21,7
	MI	17,8	28,3	22,8
	RE[1]	24,0	32,0	
Ca	AL	10,4	15,6	12,9
	OS	27,2	45,7	33,4
	UT	9,73	15,6	13,0
	MI	26,9	28,8	27,5
	RE[1]	5,0	7,5	
Mg	AL	2,89	4,70	3,66
	OS	3,02	4,84	3,78
	UT	1,80	2,84	2,27
	MI	3,66	4,90	4,29
	RE[1]	3,8	4,2	
S	AL	2,34	3,03	2,69
	OS	1,46	2,07	1,87
	UT	2,43	3,10	2,74
	MI	1,85	2,67	2,25
	RE[2]	2,5		

[1] Intervalo de suficiencia según Mills y Benton Jones (1996)

Tabla 3. Concentración de metales en hojas de lechuga (mg kg^{-1})

	AL	UT	OS	MI	Ref[1]
Fe	208 a	392 a	212 a	218 a	40-100
Cu	46 a	9 a	112 a	13 a	5-20
Zn	22,2 a	19,7 a	23,0 a	47,2 b	20-250
Cd	0,18 a	0,19 a	0,17 a	0,48 b	
Pb	1,00 a	0,80 a	0,68 a	2,19 a	
Cr	2,25 a	2,21 a	1,26 a	1,18 a	

Valores seguidos de la misma letra en la misma fila no difieren significativamente según el test de Tukey ($p<0,05$).

[1]Valores de referencia según Mills y Jones (1996)

3. Resultados y discusión

3.1. Contenido de macronutrientes

En la Tabla 2 se muestran los valores mínimo, máximo y medio encontrados para los macronutrientes en hojas de haba para cada uno de los huertos considerados. Se obtuvieron valores con tendencia a ser menores en los muestreos más tardíos realizados en OS y MI, aunque en general los cultivos mostraron niveles de nutrientes adecuados suministrados por la fertilización orgánica.

3.2. Contenido foliar de metales pesados

En la Fig. 2 se muestran los contenidos de los metales Fe, Cr, Zn y Cd en hojas de habas de los 4 huertos. Como se observa en la Fig. 2, las plantas de UT resultaron diferenciadas de las de los otros huertos porque presentaron contenidos significativamente mayores de Fe, Cr y Cd, y las de MI presentaron contenidos significativamente mayores de Zn. En la tabla 3, se muestran los contenidos de Fe, Cu, Zn, Cd y Pb en las hojas de lechuga. En lechuga puede observarse en cambio que las diferencias más notables se obtuvieron para las plantas del huerto MI con mayores concentraciones de Zn, Cd y Pb (no estadísticamente significativa para este último). Las lechugas de UT presentaron también un nivel de Fe que duplicó al de las otras localidades. Esto induce a pensar que en ambos huertos, UT y MI, las variaciones observadas en los metales han sido producidas por efectos o agentes diferentes.

Las concentraciones obtenidas de Cd fueron, en todos los huertos y para los dos cultivos, muy inferiores a la concentración tolerable para cultivos agrícolas (3 mg kg^{-1}). Los valores medios de Cr en el caso de las lechugas de Al y UT sobrepasaron la concentración tolerable en cultivos (2 mg kg^{-1}) según Kabata-Pendias y Pendias (2001) aunque sin alcanzar la concentración excesiva o tóxica para las plantas (5-30 mg kg^{-1}) según los mismos autores. También los niveles en habas de UT se acercaron a la concentración tolerable. Las concentraciones de Fe estuvieron comprendidas en el intervalo adecuado (100-800 mg kg^{-1}) según Reuter and Robinson (1997).

Las muestras de UT fueron tomadas pocos días después, de lo que se conoce como "lluvia roja", que es una deposición de polvo sahariano junto con la lluvia. La composición de este polvo, según Avila y col. (1998) es Al 9,94%, Fe 3,40%, Ca 3,14%, K 0,62%, Mn 540 mg kg^{-1}, Zn 142 mg kg^{-1}, Cr 68 mg kg^{-1} y Pb 47 mg kg^{-1} (sin datos para Cd) aunque puede ser variable según la procedencia concreta del polvo. Esta lluvia roja explica las concentraciones más elevadas de los elementos Fe, Cr, Cd (e incluido el Al, datos no mostrados) en las muestras de UT. Sin embargo, a pesar de la presencia moderada de Zn y Pb en el polvo sahariano descrito por Avila y col. (1998) en esta ocasión no se detectaron incrementos de estos elementos en las muestras de UT lo que puede deberse a una precedencia y composición diferentes de este polvo en suspensión.

Para las muestras de MI cabe destacar las mayores concentraciones de Zn (Fig. 2, Tabla 3). Este metal puede tener variados orígenes antropogénicos, aunque frecuentemente su aparición en ambientes urbanos se asocia al tráfico ya que las gomas y los metales galvanizados lo contienen (Heidary-Monfared, 2011). En el caso de las hojas de haba tomadas en MI, no se encontró diferencia en el contenido de Zn entre muestras no lavadas y lavadas (59,7 y 59,5 mg kg^{-1} respectivamente) por lo que la deposición atmosférica de este metal no parece explicar su mayor contenido respecto a los otros huertos. En lechuga, los valores encontrados pueden considerarse cercanos al límite inferior del intervalo de suficiencia (Tabla 3) por lo que no debe considerarse como problemático.

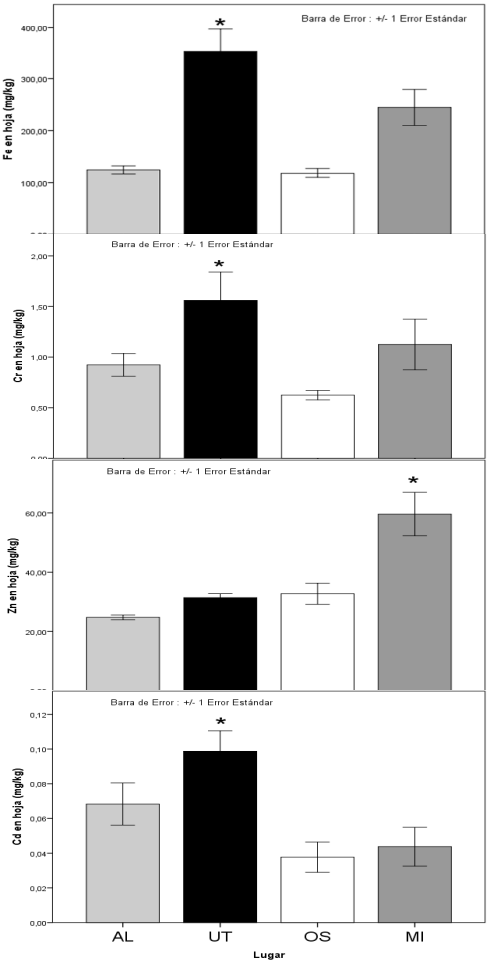


Figura 2: Concentraciones en hojas de haba

En general, el contenido de Pb en todas las muestras se encontró por debajo del nivel de tolerancia para los cultivos (10 mg kg^{-1}) (Kabata-Pendias y Pendias, 2001). Las concentraciones máximas se encontraron también en dos muestras de lechuga de MI, que alcanzaron valores de 6,4 y 6,5 mg kg^{-1}. Estas concentraciones equivalen a 0,34 y 0,35 mg kg^{-1} sobre peso fresco, valor superior al contenido máximo de 0,30 mg kg^{-1} fijado para hortalizas de hoja por la Unión Europea (2006). Aunque la dispersión de resultados correspondientes a las diferentes parcelas del huerto MI no permiten concluir que el valor medio encontrado en lechuga sea significativamente superior a los otros huertos, este valor medio fue 2-3 veces superior a las otras medias (Tabla 3). El contenido medio de Pb en suelos de MI fue de 292 mg kg^{-1}) mientras que para las otras tres localizaciones fue de 15 mg kg^{-1} por lo que la mayor concentración a nivel de planta está claramente relacionada con una contaminación por este metal en suelo. Diversas evidencias e información suministrada por los agricultores de MI indican que esta contaminación por Pb ha sido posiblemente producida por restos de pinturas en residuos de construcción y demolición. Esta fuente de contaminación ha sido citada anteriormente por ejemplo por Walraven y col. (2016).

Los contenidos de Cu mostraron gran dispersión de valores desde 4,9 mg kg^{-1} en lechugas de UT hasta 525 mg kg^{-1} en lechugas de OS. La normativa legal europea no restringe el contenido de Cu en hortalizas destinadas al consumo humano, aunque concentraciones superiores a 20-100 mg kg^{-1} podrían ser tóxicas para las plantas (Kabata-Pendias y Pendias, 2001). En muchas parcelas se observaron manchas azules en los cultivos debidas al uso de sales de Cu como fungicida, ya que su uso se autoriza en agricultura ecológica.

Aunque no se muestran datos concretos en este trabajo por motivos de espacio, los compost y estiércoles muestreados en los huertos no presentaron contenidos de metales pesados que

sobrepasaran los límites establecidos ni que pudieran justificar los relativamente elevados contenidos encontrados en los cultivos.

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos muestran que las hortalizas de huertos urbanos pueden haberse contaminado por metales procedentes de diversas fuentes: por deposición atmosférica, por contaminación previa del suelo o por actividades agrícolas. En algunos casos las concentraciones por metales tales como plomo pueden alcanzar valores que supongan riesgos toxicológicos para los consumidores, riesgos que podrán verse acrecentados por el consumo permanente que determinadas personas o familias pueden hacer de estas hortalizas.

5. Bibliografía

Avila, A., Alarcón, M., Queralt, I., 1998. The chemical composition of dust transported in red rains - Its contribution to the biogeochemical cycle of a Holm Oak Forest in Catalonia (Spain). *Atmospheric Environment* 32, 179-191,

Heidary-Monfared, S., 2011. Community Garden. Heavy Metal Study. Environment Canada, Halifax.

Kabata-Pendias, A., Pendias, H., 2001. Trace Elements in Soils ad Plants, 3 ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Meharg, A.A., 2016. Perspective: City farming needs monitoring. *Nature* 531, S60, doi: 10.1038/531S60a.

Mills, H.A., Jones, J.B., 1996. Plant Analysis Handbook II. A Practical Sampling, Preparation, Analysis, and Interpretation Guide. MicroMacro Publishing, Athens, Georgia, USA.

Mok, H.F., Williamson, V.G., Grove, J.R., Burry, K., Barker, S.F., Hamilton, A.J., 2014. Strawberry fields forever? Urban agriculture in developed countries: A review. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 21-43.

Reuter, D.J., Robinson, J.B., 1997. Plant analysis: an interpretation manual, 2nd ed. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia.

Unión Europea, 2006. Reglamento (CE) No 1881/2006 de la Comisión de 19 de diciembre de 2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios, *Diario Oficial de la Unión Europea*, L 364, 5-24.

Walraven, N., Bakker, M., Vanos, B., Klaver, G., Middelburg, J.J., Davies, G., 2016. Pollution and oral bioaccessibility of pb in soils of villages and cities with a long habitation history. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 13, doi: 10.3390/ijerph13020221.

6. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto CTQ2013-46804-C2-1-R financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y ha sido parcialmente financiado por el programa FEDER de la Junta de Andalucía

MEJORA DE LA SOSTENIBILIDAD EN LA RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS Y DEGRADADOS MEDIANTE EL USO DE COMPOST Y LA VALORIZACIÓN ENERGÉTICA DE PAULOWNIA FORTUNEI

Engracia Madejón[1], Manuel Jesús Díaz-Blanco[2], María Teresa Domínguez[1], Paula Madejón[1] y Francisco Cabrera[1]

[1]Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), CSIC, Avenida Reina Mercedes 10, P.O. Box 1052, 41080 Sevilla, España
Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Huelva, 21071 Huelva, España
emadejon@irnase.csic.es

Resumen: La plantación de árboles de crecimiento rápido en suelos contaminados, en combinación con el uso de residuos orgánicos, podría resolver parcialmente un problema ambiental dual: la eliminación de residuos y la mejora de la calidad de estos suelos degradados. En este estudio investigamos, durante dos campañas de experimentación en contenedores de 90 L, el efecto de dos compost (compost de alperujo y compost de biosolidos) y la cantidad y calidad de biomasa producida por un cultivo de *Paulownia fortunei* en tres suelos (dos suelos contaminados con elementos traza (uno de pH ácido y otro de pH neutro) y en un suelo no contaminado de baja fertilidad). Los compost aumentaron la producción de biomasa, especialmente en la segunda campaña de experimentación, y la calidad del gas de síntesis obtenido tras la gasificación de la misma. Las plantaciones de *P. fortunei* enmendadas con compost podrían ser una oportunidad para mejorar el equilibrio económico de la revegetación de suelos contaminados, teniendo en cuenta que otras opciones comerciales, tales como la producción de alimentos o de cultivos forrajeros no son posibles en estos suelos.
Palabras clave: Biomasa, gasificación, poder calorífico, elementos traza, fitorecuperación.

1. Introducción

La estabilización y la fitorrecuperación de suelos contaminados son técnicas en las que se utilizan enmiendas y / o plantas para alterar las formas físicas y/o químicas de los elementos traza (ET), y en última instancia para reducir su movilidad (Madejón y col. 2006). Entre las enmiendas más comúnmente utilizadas se encuentran los compost procedentes de residuos orgánicos. La investigación sobre el uso agronómico de residuos y compost muestra resultados consistentes: el uso de estos materiales beneficia la calidad y productividad del suelo, pero su aplicación debe hacerse seleccionando materiales de calidad.

Los cultivos de crecimiento rápido podrían tener un interés añadido, ya que su biomasa constituye una fuente importante de material lignocelulósico para la producción de biocombustibles. Sin embargo, la creciente demanda de alimentos, como resultado del crecimiento de la población humana, compite con los biocombustibles por los suelos agrícolas. Para evitar el conflicto entre la oferta de alimentos y la producción de cultivos energéticos la mejor opción es dedicar las tierras marginales a la producción de cultivos energéticos Schröder y col. (2008).

Las materias primas lignocelulósicas pueden ser valorizadas a través de las tecnologías de conversión. Entre las tecnologías termoquímicas, la gasificación de biomasa se considera como el tratamiento más eficaz para la valorización material lignocelulósico (Martínez-Merino y col., 2013).

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de dos compost en la cantidad y calidad de la producción de biomasa Paulownia cultivada en suelos degradados y contaminados. Se evaluó la

producción de biomasa en dos años consecutivos y se analizó su calidad en función de las concentraciones de ET y la composición de los gases obtenidos tras el proceso de gasificación.

2. Materiales y métodos

El experimento se llevó a cabo al aire libre en veintisiete contenedores de 90 L que se llenaron con dos suelos moderadamente contaminados con ETs (AZ pH 6,9 y V pH 3,7) y uno no contaminado, NC (pH 7,5). Se establecieron tres tratamientos por suelo: compost de alperujo (AC, pH 8,10; MO, 29,1%), compost de biosólidos (BC, pH 7,09; MO, 22,6%) y un control sin adición de enmienda (NA), en un diseño de bloques al azar con tres réplicas por tratamiento (ver más detalles en Madejón y col., 2014).

Se realizaron dos cosechas, la en marzo de 2013 y en febrero de 2014, que se pesaron en fresco y seco. En la primera se recogió toda la biomasa, excepto la raíz, y en la segunda se recogió toda la planta (incluyendo la raíz). Los troncos (madera y corteza) se prepararon para el análisis químico y para las pruebas de gasificación y combustión (poder calorífico). Estas pruebas se realizaron en un reactor a escala de laboratorio. La relación estequiométrica (k = 0,30) se fijó mediante el control de la velocidad de la biomasa a través del horno y el flujo de aire en la tubería (0,15 L / min para O_2 y 2,0 L / min para N_2). El gas crudo obtenido a partir de la gasificación de biomasa se analizó mediante GC-TCD (Shimadzu GC-14A cromatógrafo de gases) y GC-FID (Shimadzu GC-17A). Los valores caloríficos brutos (volumen constante) se determinó de acuerdo con la norma UNE 164001-EX usando un calorímetro Parr 6300

Los resultados, o sus transformados logarítmicamente, de cada suelo se analizaron mediante ANOVA considerando el tratamiento como variable independiente. Las diferencias significativas se establecieron por el test de Tukey ($p<0,05$). Se aplicó un análisis de componentes principales a los datos de la composición del gas (con los datos conjuntos de ambas cosechas) siendo el tratamiento (enmienda) la variable de agrupación.

3. Resultados y discusión

Producción de biomasa: La biomasa de *P. fortunei* en las dos cosechas realizadas no excedió de 300 g de peso seco por contenedor, en cualquier suelo o tratamiento, indicando la baja densidad de la biomasa de este árbol (Akyildizy col., 2010). En general, en la primera cosecha la biomasa fue menor que en la segunda. Esta capacidad de volver a crecer de forma más vigorosa después del primer corte es típica de las especies de crecimiento rápido (García y col., 2008). La adición de enmiendas sólo tuvo un efecto significativo y positivo sobre la producción de biomasa en la segunda cosecha sobre todo en los suelos contaminados (Madejón y col., 2016). En el suelo ácido la aplicación de compost produjo importantes aumentos en la producción de biomasa, debido a la mejora de los procesos de atenuación natural de la toxicidad de metales (Madejón y col., 2006). La adición de compost provocó una clara mejora de la calidad en los suelos, como indica el aumento de los nutrientes disponibles y en los índices bioquímicos de la actividad microbiana (Madejón y col., 2014).

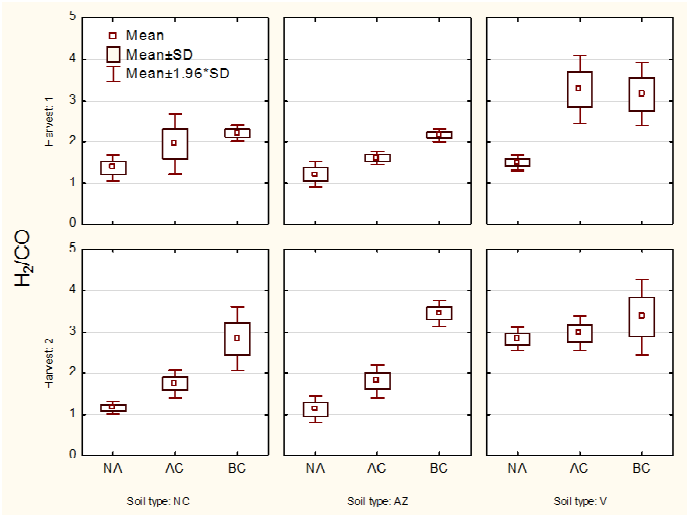


Figura 1. Razón de H_2/CO del gas de síntesis producido en la gasificación de la biomasa obtenido en cada tratamiento y suelo (SD desviación estándar)

Gasificación: Las cantidades de H_2 obtenidas a partir de la biomasa de Paulownia fue inferior a la obtenida con materiales similares (Parthasarathy y Sheeba, 2015). En cuanto a CO (valores promedio de 8,5%) también fueron ligeramente inferiores a los datos de otros estudios. Además, los datos de CO_2 y CH_4 (datos no mostrados) fueron también inferiores (Weerachanchai y col., 2009).

En general, la calidad del gas para fines energéticos (indicado por la concentración de H_2 y la relación H_2/CO) aumentó en los suelos enmendados desde la primera cosecha. Este efecto positivo sobre la concentración de H_2 fue particularmente importante en el suelo ácido (V). El tratamiento BC tuvo un mayor efecto positivo en el suelo contaminado neutro (AZ) que en los otros dos suelos (Fig.2). En la segunda cosecha, el efecto positivo de las enmiendas en la calidad del gas fue más claro. El BC produjo un mayor aumento de la relación H_2/CO que el AC en los suelos NC y AZ, mientras que en el suelo V el efecto de ambas enmiendas fue similar (Fig. 2). En cuanto al tipo de suelo tuvo, en general, una gran influencia sobre la composición del gas y existió una interacción significativa suelo × enmienda (datos no mostrados).

El análisis multivariante de la composición del gas confirmó que las plantas que crecen en suelos enmendados con CB tendieron a presentar una mayor calidad con fines de producción de energía (Fig. 2). La acumulación de ET en la biomasa no estuvo relacionada con la concentración de cualquiera de los gases analizados (datos no mostrados).

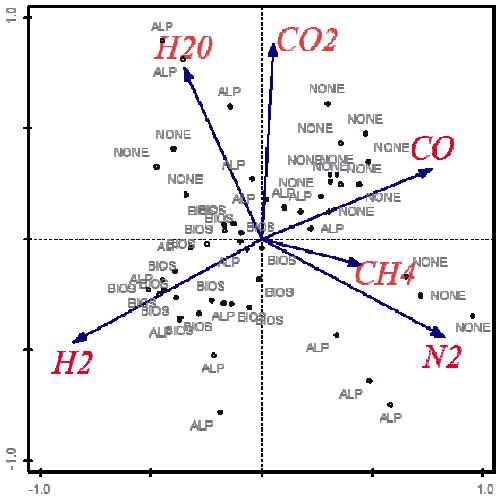


Figura 2. Análisis de las componentes principales del gas obtenido en la gasificación de biomasa en los suelos tratados con las distintas enmiendas (NONE: NA; ALP: AC; BIOS: BC).

Poder calorífico: El análisis de se realizó en muestras compuestas de tres replicados para cada tratamiento, por lo que no pudo realizar un análisis estadístico más detallado. En general, la densidad de energía depende del tipo de biomasa, las características de crecimiento y estructura de la planta. La biomasa con alto contenido en lignina y celulosa presenta una mayor densidad. En este sentido, los resultados de las densidades de energía (Tabla 1) a partir de biomasa de Paulownia fueron ligeramente inferiores a los obtenidos por otros materiales estudiados como la madera del pino (19,6 a 20,1 MJ/kg) (Telmo y col., 2010) y similares a los encontrados en las plantas de alimentos y residuos de la paja (16,7 a 17,8 MJ/kg) (Wang y col., 2011).

Tabla 1. Valores de poder calorífico (MJ/kg) de la biomasa obtenida en cada uno de los tratamientos y cosechas.

	Suelo NC			Suelo AZ			Suelo V		
	NA	**AC**	**BC**	**NA**	**AC**	**BC**	**NA**	**AC**	**BC**
Cosecha 1	17,6	17,6	17,8	17,1	17,6	17,9	16,7	18,3	18,1
Cosecha 2	16,9	17,4	17,9	16,9	17,8	18,1	16,5	18,4	18,2

Por otra parte, la biomasa leñosa, en general, tiene un menor contenido de cenizas que la biomasa herbácea y los residuos agrícolas. A pesar de la falta de replicados, los resultados están de acuerdo con los obtenidos en la gasificación. La biomasa procedente de suelos enmendados tuvo en general un poder calorífico más alto que la biomasa de los suelos NA. La presencia de enmiendas produjo una mejor calidad de la biomasa para la combustión y además la contaminación no afectó la biomasa para proceso de combustión.

4. Conclusiones

Los resultados de este estudio muestran que el uso combinado de *P. fortunei y* de compost podría ser una estrategia para promover el la valorización económica de la recuperación de la contaminación en el área mediterránea. La adición de compost aumentó de la producción de biomasa a valores similares a los de suelos no contaminados. La calidad de la biomasa para la

gasificación aumentó después de la adición del compost. Por lo tanto, *P. fortunei* podría ser una oportunidad para mejorar el equilibrio económico de la revegetación de suelos contaminados.

5. Bibliografía

Akyildiz M.H., Kol H.S., 2010. Some technological properties and uses of Paulownia (Paulownia tomentosa Steud.) wood. *J. Environ. Biol*. 31, 351–355.

García M.M., López F., Alfaro A., Ariza J., Tapias R., 2008. The use of tagasaste (*Chamaecytisus proliferus*) from different origins for biomass and paper production. Bioresour. Technol. 99, 3451–3457

Madejón E., Pérez de Mora A., Felipe E., Burgos P., Cabrera F., 2006. Soil amendments reduce trace element solubility in a contaminated soil and allow regrowth of natural vegetation. *Environ. Pollut*. 139,40-52.

Madejón P., Xiong J., Cabrera F., Madejón E., 2014. Quality of trace element contaminated soils amended with compost under fast growing tree Paulownia fortunei plantation. J*. Environ. Manag*. 144, 176-185

Madejón P., Domínguez M.T., Díaz M.J., Madejón E., 2016. Improving sustainability in the remediation of contaminated soils by the use of compost and energy valorization by *Paulownia fortunei*. *Sci. Total Environ*. 539, 401–409

Martínez-Merino V., Gil M.J., Cornejo A., 2013. Biomass sources for hydrogen production. En: L.M. Gandia, G. Arzamendi, P. Dieguez, (Eds) *Renewable Hydrogen Technologies: Production, Purification, Storage, Applications and Safety.* Ed. Elsevier, pp. 87–110.

Parthasarathy P., Sheeba K.N., 2015. Combined slow pyrolysis and steam gasification of biomass for hydrogen generation—a review. *Int. J. Energy Res*. 39, 147–164

Schröder P., Herzig R., Bojinov B., Ruttens A., Nehnevajova E., Stamatiadis S., Memon A., Vassilev A., Caviezel M., Vangrosveld J., 2008. Bioenergy to save the world—producing novel energy plants for growth on abandoned land. *Environ. Sci. Pollut. Res*. 15, 196–204.

Telmo C., Lousada J., Moreira N., 2010. Proximate analysis, backwards stepwise regression between gross calorific value, ultimate and chemical analysis of wood. *Bioresour. Technol*. 101, 3808–3815.

Wang L.J., Shahbazi A., Hanna M.A., 2011. Characterization of corn stover, distiller grains and cattle manure for thermochemical conversion. *Biomass Bioenergy* 35, 171–178.

Weerachanchai P., Horio M., Tangsathitkulchai C., 2009. Effects of gasifying conditions and bed materials on fluidized bed steam gasification of wood biomass. *Bioresour. Technol*. 100, 1419–1427.

6. Agradecimientos

Estudio financiado por la Junta de Andalucía (RNM-6398) con Fondos europeos para el desarrollo regional (FEDER) y por el proyecto AGL2014-55717-R Programa Estatal de Investigación, Desarrollo e Innovación Orientada a los Retos de la Sociedad, Convocatoria 2014, Modalidad 1: «Proyectos De I+D+I».

ACTIVIDAD MICROBIANA Y DINÁMICA DE LIBERACIÓN DE P Y K EN UN SUELO ABONADO CON UN COMPOST DE ALGAS Y RESTOS DE PESCADO

Marta Illera-Vives[1], Adolfo López-Fabal[1], Socorro Seoane[2], María López de la Calle[1], Mª Elvira López-Mosquera[1]

[1]Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvemento Rural (IBADER), Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, España.
[2]Departamento de Edafoloxía e Química Agrícola, Escola Politécnica Superior, Universidade de Santiago de Compostela, 27002 Lugo, España
marta.illera@usc.es

Resumen: Tras el estudio de la dinámica de mineralización del C y N de un compost realizado a base de algas de arribazón y restos de pescado (Illera-Vives y col., 2015), se han realizado dos ensayos adicionales, uno con el fin de estudiar la disponibilidad de P y K de esta enmienda, y otro para conocer su influencia sobre la actividad biológica del suelo.

Se empleó un suelo recogido después de un cultivo de tomate abonado con distintos tratamientos fertilizantes: C: control; CAP: compost de algas y restos de pescado; EPD: estiércol de pollo deshidratado; M: mineral. El ensayo I consistió en una incubación en la que se realizó un seguimiento de la liberación de P y K durante 90 días, utilizando el suelo de las parcelas C, al que se aplicaron tres dosis del compost.

El ensayo II consistió en otra incubación (durante 10 días), en la que se evaluó la actividad biológica de los suelos una vez finalizado el cultivo de tomate, a través del seguimiento de la liberación de CO_2,

Para describir la cinética de liberación de P, K y CO_2 se utilizó un modelo exponencial de primer orden, que presentó un ajuste significativo para el P y el CO_2. La liberación de K se produjo durante los 90 días de incubación, mientras que la del P sucedió durante los primeros 20 días. La actividad microbiana fue significativamente mayor en las parcelas que recibieron abonado orgánico (compost y estiércol de pollo) frente a los tratamientos control y mineral.

Palabras clave: recursos marinos, mineralización, fertilidad del suelo.

1. Introducción

Las algas de arribazón y los restos de pescado son recursos con un gran potencial para ser utilizados en agricultura como enmienda y/o fertilizante. Por el contrario, cuando estos materiales no son gestionados adecuadamente, se convierten en un residuo en las zonas costeras. El compostaje de ambos productos es una alternativa para la obtención de un material estable, con un alto contenido en materia orgánica y rico en nutrientes (Illera-Vives y col., 2013). Sin embargo, gran parte de estos nutrientes no se encuentran disponibles inmediatamente, es necesario que la materia orgánica sufra un proceso de mineralización para que se transformen en forma asimilable por las plantas. El compost obtenido por Illera-Vives y col. (2013) mostró ser muy estable con una tasa de mineralización lenta, por lo que la liberación de nutrientes se prolonga en el tiempo, si bien una parte importante del N está en forma mineral rápidamente disponible para las plantas (Illera-Vives y col., 2015). El objetivo de este ensayo fue estudiar la dinámica de liberación de P y K de este compost para profundizar en su conocimiento como fertilizante, así como evaluar su efecto sobre la actividad biológica de un suelo de invernadero.

2. Material y Métodos

El compost estudiado se obtuvo a partir de algas de arribazón, restos de pescado y corteza de pino; con una proporción de 1:1:3 (v/v), cuyo proceso y caracterización está descrito en Illera-Vives y col. (2013). El compost obtenido tuvo un alto contenido de materia orgánica (80%) y de nitrógeno (2,1%). La proporción N: P: K fue de 3: 1,5: 1 y su relación C/N de 20 (Tabla 1).

Tabla 1. Caracterización final del compost (valores expresados sobre materia seca).

		Elementos solubles en agua (1:5 mg L^{-1})		
Materia seca (%)	58,02±0,86	NH_4^+	480,43 ±	16,23
pH pasta saturada	6,61±0,04	NO_3^-	108,51 ±	4,73
C.E. ext. sat. (dSm^{-1})	1,96±0,50	PO_4^{3-}	82,92 ±	10,05
Carbono (%)	48,08±0,18	Ca^{2+}	57,08 ±	27,25
Materia Orgánica (%)	82,98±0,30	Mg^{2+}	27,44 ±	17,07
N (%)	2,10±0,01	Na^+	1041,50 ±	124,40
N-orgánico (%)	1,86±0,01	K^+	705,40 ±	116,00
C / N	20,00±0,17	Cationes de cambio (cmol(+) kg^{-1})		
P (%)	0,66±0,03	Ca	17,29	3,75
K (%)	0,67±0,01	Mg	10,06	0,99
Ca (%)	1,16±0,19	Na	18,84	1,43
Mg (%)	0,27±0,01	K	9,12	0,83

El suelo utilizado en ambos ensayos procedía de la capa arable de un suelo de invernadero clasificado como Cambisol húmico, con un pH de 4,2, una baja CICe (8,2 cmol (+) kg^{-1}), una alta CE (5,6 dS m^{-1}) y un contenido en MO del 3,1%. El suelo fue recogido tras un cultivo de tomate que duró 4 meses y que fue abonado con distintos tratamientos fertilizantes: C: control sin fertilizar; CAP: compost de algas y restos de pescado (49 t ha^{-1}); EPD: estiércol de pollo deshidratado (15 t ha^{-1}); M: mineral liberación lenta NPK: 20-2.2-8.3 (1,15 t ha^{-1}).

2.1 Ensayo I: Liberación de P y K

Para este ensayo se empleó el suelo control (C: sin fertilizar) previamente ajustado al 60% de su capacidad de campo. Se tomaron muestras de 100 g (peso equivalente a suelo seco), que fueron fertilizadas con el compost con las siguientes dosis C: 0; CAP1: 39 y CAP2: 66 t ha^{-1} (por triplicado para cada tratamiento). La incubación aerobia se llevó a cabo durante 90 días a 25ºC. A los 0, 1, 2, 4, 7, 14, 21, 35, 49, 63, 77, y 90 días, se analizó su contenido en P asimilable (Olsen y Sommers, 1982) y K disponible extraído con NH_4Cl 1N (Peech y col., 1947) y medido por emisión atómica.

2.2 Ensayo II: Actividad biológica del suelo

Para evaluar el efecto de los distintos tratamientos fertilizantes aplicados al cultivo del tomate sobre la actividad biológica del suelo, una vez finalizado el cultivo, se hizo un seguimiento del CO_2 liberado. Se pesaron cuatro muestras de 25 g de suelo húmedo de cada tratamiento (C, CAP, EDP y M), se introdujeron en recipientes de vidrio de 1,5 L con cierre hermético, que contenían también un vial de 25 mL de agua destilada (para mantener las condiciones de humedad durante la incubación) y un recipiente con 10 mL de solución de OHNa 1M para atrapar el CO_2. La incubación se realizó a 25 °C durante 10 días. Después de 1, 2, 4, 7 y 10 días se valoró la cantidad de OHNa en exceso (Hernández y García, 2003).

2.3 Tratamiento de los datos

Los resultados de ambos ensayos se sometieron a un ANOVA utilizando el test de Duncan en caso de varianzas homogéneas y el test de Games-Howell para varianzas no homogéneas.

Para describir la mineralización del C y la liberación de P y K, se utilizó un modelo cinético de primer orden (Stanford y Smith, 1972) comúnmente empleado para describir la dinámica de mineralización de la materia orgánica $Xt = Xi + X_0(1 - e^{(-k*t)})$, donde *Xt* es el nutriente liberado en el momento *t, Xi* es el contenido del nutriente cuando t=0, X_0 es la liberación máxima potencial del nutriente (mg kg^{-1} suelo), *k* es la tasa de mineralización (d^{-1}) y *t* es el tiempo (días). Para determinar diferencias significativas entre curvas se utilizó la metodología propuesta por Pérez-Cruzado y col. (2015).

3. Resultados y Discusión

3.1 Liberación de P y K

La aplicación del compost supuso un aumento, estadísticamente significativo, del contenido de P disponible en el suelo con respecto al control. Aumento que se produjo de forma más intensa en los 20 primeros días, siendo mínima a partir de ese momento (Figura 1a). Además, se encontraron diferencias significativas según la dosis aplicada.

En el caso del K, la aplicación del compost supuso un incremento en su forma disponible, desde el primer día de aplicación y se mantuvo lo largo de todo el ensayo. Además, el contenido en este elemento fue significativamente superior en los suelos abonados frente al control (Figura 1b). También se observaron diferencias significativas entre las dos dosis testadas. Al final del ensayo, la liberación de K continuó en ambas dosis, no observándose en ningún caso una tendencia a la estabilización, por lo que se puede deducir que el proceso de liberación de K aún seguía activo a los 90 días.

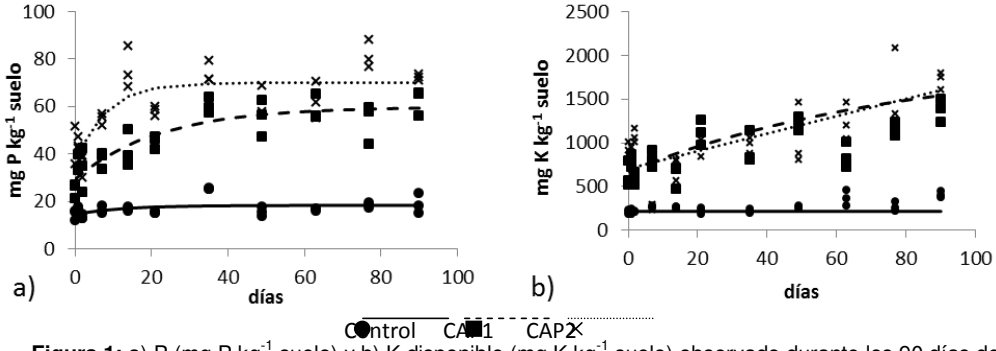


Figura 1: a) P (mg P kg^{-1} suelo) y b) K disponible (mg K kg^{-1} suelo) observado durante los 90 días de incubación en los diferentes tratamientos (C: 0; CAP1: 39 y CAP2: 66 t ha^{-1} de compost de algas y pescado).

La liberación de P se ajustó bien a un modelo exponencial de primer orden ya que, probablemente, proviene de la mineralización de la materia orgánica aportada por los componentes del compost. En el caso del K, los resultados observados no presentaron un buen ajuste a este modelo, ya que su origen es mayoritariamente inorgánico: soluble (Tabla 1) y cambiable, razón por la cual los resultados no siguen una cinética de primer orden tal y como suele ocurrir con los procesos microbianos.

Actividad biológica

La actividad microbiana fue mayor en las parcelas que recibieron abonado orgánico (compost y estiércol de pollo) frente a los tratamientos control y mineral, como se demuestra por la mayor liberación de CO_2 producida con los tratamientos orgánicos (Figura 2).

Al ajustar los datos observados a la ecuación propuesta por Stanford y Smith (1972), se observa que la velocidad de mineralización (*k*) es mucho mayor en los tratamientos orgánicos. La tendencia descrita por el compost de algas y restos de pescado fue similar a la del estiércol de pollo, no existiendo diferencias significativas entre ellos (Tabla 2).

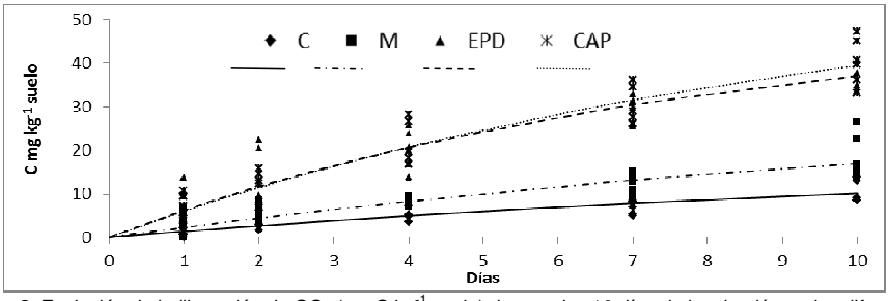


Figura 2. Evolución de la liberación de CO_2 (mg C kg^{-1} suelo) durante los 10 días de incubación en los diferentes tratamientos (C: control; M: mineral; EPD: Estiércol de pollo deshidratado; CAP: compost de algas y pescado).

Tabla 2. Coeficientes de ajuste al modelo $Ct = Co \times (1 - e^{(-k*t)})$.

Tratamiento	Co	α	k	α	
C	20,21	0,054*	0,07	0,139	a
M	33,83	0,021*	0,07	0,08*	b
EPD	50,91	$6x10^{-7}$***	0,13	$7x10^{-4}$***	c
CAP	61,47	$5x10^{-6}$***	0,10	$9x10^{-4}$***	c

***Ct*: mineralización en el tiempo *t*; *Co*: mineralización máxima potencial (mg kg^{-1} suelo); *k:* tasa de mineralización (d^{-1}); *t:* tiempo (días); α: significación del coeficiente en el modelo. En cada fila, distintas letras indican diferencias significativas entre los modelos (p<0.05).**

4. Conclusiones

El compostaje de algas y restos de pescado junto con corteza de pino, producen un material con buenas cualidades como fertilizante, proporcionando una fuente de nutrientes prolongada en el tiempo. La liberación de P se produjo principalmente durante 20 días y la de K durante más de 90 (tiempo de duración del ensayo). Por otra parte, la actividad biológica del suelo tras 4 meses de su aplicación era significativamente superior a la de un suelo abonado con fertilizantes minerales.

5. Bibliografía

Hernández T., García C. 2003. Estimación de la respiración microbiana del suelo. En: C. García, F. Gil-Sotres, T. Hernández, C. Trasar-Cepeda (Eds) *Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos.* Actividades encimáticas y biomasa microbiana. Mundi-Prensa, Madrid, pp. 311-346.

Illera-Vives M., López-Fabal A., López-Mosquera M.E., Ribeiro H.M., 2015. Mineralization dynamics in soil fertilized with seaweed–fish waste compost. Journal of the Science of Food and Agriculture. 95, 3047-3054.

Illera-Vives M., Seoane Labandeira S., López-Mosquera M., 2013. Production of compost from marine waste: evaluation of the product for use in ecological agriculture. Journal of. Applied Phycology. 25, 1395-1403.

Olsen S., Sommers L., 1982. Phosphorus. En: A.L. Page (Ed.) *Methods of Soil Analysis*. Part 2 . American Society of Agronomy, pp. 403-430.

Peech M., Alexander L.T., Dean L.A., Reed J.F., 1947. Methods of Soil Analysis for Soil-Fertility Investigations. USDA, Washinton D.C.

Pérez-Cruzado C., Fehrmann L., Magdon P., Cañellas I., Sixto H., Kleinn C., 2015. On the site-level suitability of biomass models. Environmental Modelling & Software 73, 14-26.

Stanford, G., Smith, S., 1972. Nitrogen mineralization potentials of soils. Soil Science Society of America Journal 36, 465-472.

DINÁMICA DE MINERALIZACIÓN DEL NITRÓGENO DE UN ABONO ÓRGANO-MINERAL

María López de la Calle[1]; Socorro Seoane[2]; Marta Illera-Vives[1]; Mª Elvira López-Mosquera[1]

[1] Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvemento Rural (IBADER), Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, España.
[2]Departamento de Edafoloxía e Química Agrícola, Escola Politécnica Superior, Universidade de Santiago de Compostela, 27002 Lugo, España
maria.lopez.delacalle@rai.usc.es

Resumen: A partir de lodos de depuradora se obtiene un abono órgano-mineral mediante un tratamiento químico novedoso que higieniza y añade valor agronómico a los lodos procedentes, tanto de aguas residuales urbanas como de agroindustrias. Con el fin de evaluar la dinámica de liberación de nutrientes de este nuevo abono, se llevó a cabo una incubación aeróbica de un suelo ácido y de otro alcalino durante 180 días. Ambos fueron abonados con una dosis equivalente a 160 kg N ha^{-1}. Tanto el abonado como el tipo de suelo influyeron significativamente en el contenido de N inorgánico en el suelo ($p<0,005$ y $<0,001$ respectivamente). Ambos parámetros presentaron una interacción significativa, siendo el suelo el factor más influyente en la mineralización del N. La incorporación del abono al suelo produjo una liberación inicial de amonio, que fue descendiendo a medida que aumentaba el contenido en nitratos. El paso de amonio a nitrato se produjo de forma más rápida en el suelo alcalino, que en el suelo ácido.

Palabras clave: Lodos de depuradora, formas de nitrógeno, suelo alcalino, suelo ácido.

1. Introducción

Los lodos de depuradora por su composición tienen interés para ser valorizados agronómicamente. La Unión Europea regula la utilización de los lodos de depuradora en agricultura con el fin de evitar efectos nocivos en los suelos, la vegetación, los animales y el ser humano (RD 1310/1990, 1990). Para reducir riesgos, las reglamentaciones cada vez son más exigentes y restringen la aplicación agrícola de lodos frescos (DOG 107, 2012).

Un tratamiento novedoso de los mismos es la pasteurización, que higieniza el producto, pero que además puede ser combinado con la adición de nutrientes en forma mineral, dando lugar a un abono órgano-mineral comercial (Verdiberia NP®). Previa a la comercialización del producto es necesario estudiar su comportamiento en el suelo y hacer así un uso correcto y eficiente del mismo.

En este trabajo se estudia la dinámica de liberación del nitrógeno del abono órgano-mineral comercial con el fin de conocer en qué forma se va haciendo disponible para las plantas y así determinar las épocas de aplicación y las dosis necesarias para que la liberación de nutrientes coincida con el momento de demanda por parte de los cultivos.

2. Material y métodos

Para evaluar la dinámica de liberación de N se utilizaron dos suelos de diferentes características, uno con textura franco-arenosa, pH en H_2O de 4,6; 14,4% de materia orgánica y C/N 20. El otro suelo tenía textura franco-arcillo-arenosa, pH en H_2O de 8,7; 1,5% de materia orgánica y C/N 34.

El abono utilizado fue un fertilizante órgano-mineral, obtenido a partir de lodos de depuradora diseñado y patentado por la empresa Verdiberia Aqualab S.L, con pH en H_2O de 7,4, contenido de materia orgánica del 44,9% y nitrógeno total del 7,1%, así como un contenido en metales pesados dentro de lo permitido por la legislación (RD 506/2013, 2013). La dosis de abonado utilizada fue de 160 Kg N ha^{-1}, que es comúnmente empleada para un amplio rango de cultivos.

Se llevaron a cabo cuatro tratamientos: Suelo ácido (SAc), SAc+ Abono Verdiberia(SAc+V), Suelo alcalino (SAl), SAl+Abono Verdiberia (SAl+V). De cada suelo se pesaron 200 g que se dispusieron en tarrinas y se humedecieron al 60% de la capacidad de campo y después, según el caso, se les aplicó la dosis de abono correspondiente. De cada tratamiento se prepararon 36 tarrinas con el fin de realizar 12 muestreos con tres repeticiones cada uno. Tanto los suelos control como los suelos tratados con el abono se incubaron a 25ºC en una cámara de incubación durante 180 días. Se realizaron muestreos los días 0 (caracterización inicial), 2, 5, 10, 20, 30, 40, 55, 70, 120, 150 y 180.

La determinación del N-NH_4^+ y del N-NO_3^- se realizó espectrofotométricamente mediante el método descrito por Keeney y Nelson (1982). Los resultados experimentales se sometieron a un ANOVA con el fin de evaluar los efectos de cada tratamiento. Tras comprobar que los datos eran normales y homogéneos se aplicó el test de Duncan con un nivel de significación de $p<0,05$. Para cada parámetro que se analizó, también se realizó un ANOVA de dos vías: tratamiento y suelo, así como la interacción entre ambos factores.

3. Resultados y discusión

Mineralización del nitrógeno

El nitrógeno es un nutriente cuyo ciclo en el suelo es complejo y está influido por diversos factores que afectan a las ganancias y pérdidas del mismo (Stevenson y Cole, 1999). Para estudiar el comportamiento del abono sobre las formas de N (amonio, nitrato) en cada uno de los suelos, se realizó un ANOVA de dos vías (suelo, tratamiento) cuyos resultados aparecen en la Tabla 1.

Tabla 1: ANOVA de dos factores (suelo y tratamiento) para la mineralización del nitrógeno al final de la incubación

Parámetro	Suelo		Tratamiento		Suelo x tratamiento	
	F	α	F	α	F	α
NH_4^+	61,07	0,000	17,84	0,003	12,21	0,008
NO_3^-	28,21	0,001	4,70	0,062	2,78	0,134

En el caso del NH_4^+, tanto el suelo como el tratamiento fertilizante, influyeron en la mineralización de manera significativa, aunque el factor que más influyó sobre la evolución del amonio fue el suelo ($p<0,001$), con un valor de F de 61,07 frente a 17,84 del tratamiento. Además, existió interacción entre ambos factores ($p<0,01$).

En el NO_3^- el factor suelo afectó de forma significativa a su evolución ($p<0,001$), pero no lo fue el tratamiento, ni existió interacción entre los dos factores.

Amonio

En la Tabla 2 se presentan los contenidos de N-NH_4^+ (mg kg^{-1}) en ambos suelos durante el periodo de incubación.

Tabla 2: Medias y desviación del contenido de N-NH_4^+ (mg kg^{-1}) en los dos suelos de estudio, según tratamiento, a lo largo del periodo de incubación. Medias y desviación típica.

Días	Suelo ácido (SAc)			SAc+V			Suelo alcalino (SAl)			SAl+V		
0	4,42 ± 0,92	a		19,70 ± 1,42	b		1,64 ± 0,59	a		17,70 ± 1,45	b	
1	40,97 ± 2,26	a		60,00 ± 10,20	a		55,00 ± 14,00	a		44,90 ± 7,77	a	
3	55,82 ± 5,67	a		72,20 ± 6,75	b		47,50 ± 5,19	a		53,40 ± 7,00	a	
6	23,50 ± 7,34	a		60,50 ± 6,92	b		13,60 ± 4,48	a		37,30 ± 8,64	a	
10	5,06 ± 2,45	a		16,80 ± 1,96	b		2,56 ± 0,97	a		3,95 ± 1,86	a	
20	2,97 ± 0,88	a		18,60 ± 1,75	b		0,32 ± 0,03	a		0,70 ± 0,10	a	
30	10,40 ± 1,06	a		19,90 ± 4,05	b		0,78 ± 0,21	a		1,47 ± 0,50	a	
50	3,32 ± 0,83	a		14,50 ± 3,19	b		2,22 ± 0,09	a		1,83 ± 0,13	a	
70	1,30 ± 0,57	a		12,80 ± 3,09	b		0,55 ± 0,42	a		0,59 ± 0,25	a	
120	0,51 ± 0,08	a		4,45 ± 1,66	b		0,22 ± 0,04	a		0,51 ± 0,14	a	
150	1,27 ± 0,60	a		5,40 ± 0,84	b		0,19 ± 0,06	a		0,50 ± 0,10	b	
180	1,70 ± 0,08	a		4,35 ± 1,18	b		0,22 ± 0,02	a		0,48 ± 0,11	b	

Valores con la misma letra no se diferencian significativamente para p<0,05. Para cada suelo, letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos.

Al inicio de la incubación se produjo una fase intensa de liberación de nitrógeno en forma amoniacal, que se manifestó en un rápido incremento del amonio, llegando al valor máximo el día 3 en SAc y el día 1 en SAl. Posteriormente, su contenido fue descendiendo a lo largo de la incubación. Como cabría esperar, a pesar de que en el suelo abonado se produjo una mayor liberación de NH_4^+, la evolución a lo largo del tiempo siguió la misma tendencia que en los suelos no abonados. Los valores más altos de $N\text{-}NH_4^+$ registrados en el suelo ácido, tanto sin abonar como abonado, pueden estar relacionados con una mayor actividad biológica promovida por el alto contenido en materia orgánica de este suelo y su C/N más baja que la del suelo alcalino.

Nitratos

La nitrificación depende, fundamentalmente, de la presencia de amonio y las condiciones del medio (Stevenson y Cole, 1999).

En el suelo ácido, en los 70 primeros días de incubación no se registraron diferencias significativas en el contenido en $N\text{-}NO_3^-$ entre el suelo abonado y el no abonado, sólo se encontraron algunas diferencias a partir del día 70 (Tabla 3).

Tabla 3: Medias y desviación del contenido de $N\text{-}NO_3^-$ (mg kg^{-1}) en los dos suelos de estudio, según tratamiento, a lo largo del periodo de incubación.

Día	Suelo ácido (SAc)			SAc+Verdiberia			Suelo alcalino (Sal)			Sal +Verdiberia		
0	0,97 ± 0,22	b		0,66 ± 0,05	a		2,64 ± 0,20	a		2,79 ± 0,08	a	
1	0,20 ± 0,03	a		0,47 ± 0,05	a		4,85 ± 0,43	a		5,49 ± 0,37	b	
3	0,92 ± 0,26	a		0,65 ± 0,45	a		2,86 ± 0,24	a		3,36 ± 0,70	a	
6	0,90 ± 0,19	a		0,98 ± 0,36	a		4,52 ± 0,59	a		5,15 ± 1,30	a	
10	2,09 ± 0,22	a		2,17 ± 0,40	a		5,03 ± 0,44	a		5,99 ± 0,40	b	
20	3,75 ± 1,04	a		2,35 ± 1,13	a		10,76 ± 2,86	a		11,38 ± 2,01	a	
30	11,19 ± 2,67	a		10,22 ± 0,73	a		11,94 ± 0,67	a		12,84 ± 2,88	a	
50	13,32 ± 6,92	a		10,57 ± 1,87	a		7,63 ± 2,00	a		14,24 ± 2,16	b	
70	11,86 ± 5,19	a		15,73 ± 1,98	b		12,38 ± 2,96	a		13,53 ± 4,98	b	
120	8,56 ± 3,81	a		17,30 ± 5,57	b		2,37 ± 0,92	a		7,56 ± 2,49	a	
150	18,90 ± 1,56	a		18,86 ± 2,11	a		6,82 ± 2,18	a		10,20 ± 2,20	b	
180	16,49 ± 1,00	a		22,27 ± 3,66	b		11,00 ± 3,10	a		11,75 ± 1,83	a	

Valores con la misma letra no se diferencian significativamente para p<0,05. Para cada suelo,

letras distintas muestran diferencias significativas.

A lo largo del periodo de incubación, en el suelo ácido abonado y sin abonar se produjo formación de nitratos, sobre todo a partir de un mes de incubación. Las altas concentraciones de amonio producidas hasta el día 6 del ensayo pudieron inhibir la nitrificación posterior, debido a la toxicidad que producen sobre los microorganismos nitrificantes (Morrill y Dawson, 1967; Nadelhoffer y col., 1984). Por otra parte, también pudo existir inmovilización del nitrógeno por parte de los microorganismos, ya que a pesar de no tener una relación C/N muy elevada (20), se partió de un suelo seco, que al humedecerse y comenzar la incubación, pudo originar una intensificación de la actividad biológica dando lugar a una gran demanda de nutrientes (Amato y Ladd, 1980; Parker y Sommers, 1983; Hart y col., 1994). Esto también fue observado por Busby y col. (2007) al enmendar un suelo de relación C/N baja, de textura franco arenosa y pH 5,1 (características similares a SAc), con un compost obtenido a partir de residuos orgánicos.

En el suelo alcalino se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) entre el suelo con y sin abono para el contenido de nitratos en diferentes momentos de la de incubación (Tabla 3). El contenido en nitratos al final del ensayo fue superior al inicial, por lo tanto, la formación de nitrato fue positiva. No obstante, nuevamente, no se corresponde con la elevada liberación de amonio que se produjo en los primeros días del ensayo. De igual manera que ocurría en el suelo ácido, se podría estar hablando de un proceso de inmovilización. En este caso, más justificada, ya que la relación C/N era más elevada (34). También pudo haber pérdidas por volatilización del amonio, ya que se trata de un suelo de pH alcalino y con un régimen de temperatura que favorece este proceso. Además, determinados días (como el día 120) se produjo un notable descenso del contenido en nitratos que pudo ser debido al proceso de desnitrificación, ya que para este suelo es muy posible que se dieran condiciones de anoxia, debido a su elevado contenido en arcilla.

Resultados similares fueron encontrados por Bernal y col. (1998) al estudiar la mineralización de un compost obtenido a partir de un lodo de depuradora y residuos de algodón, en un suelo con un contenido inicial en materia orgánica del 0,8 %, una relación C/N de 21, un pH en agua de 7,8 y una textura franco-arcillosa, en condiciones similares a las que estuvo sometido el suelo alcalino de este ensayo.

Hay que tener en cuenta que las variaciones que se observaron en los niveles de $N\text{-}NH_4^+$ y $N\text{-}NO_3^-$ se deben a que su formación varía día a día, incluso en cuestión de horas y dependen de una gran variedad de procesos como la inmovilización por parte de los microorganismos, desnitrificación, volatilización o lixiviación (Harmsen y Van Schreven, 1955).

4. Conclusiones

La incorporación al suelo del abono órgano-mineral estudiado produce una liberación inicial de amonio, significativa con respecto al control desde el inicio de la incubación, tanto en el suelo ácido como en el alcalino. Esta liberación fue máxima entre los días 1 y 6 y después descendió al mismo tiempo que aumentó el contenido en nitratos progresivamente.

5. Bibliografía

Amato M., Ladd J., 1980. Studies of nitrogen immobilization and mineralization in calcareous soils—V. Formation and distribution of isotope-labelled biomass during decomposition of 14 C-and 15 N-labelled plant material. Soil Biology and Biochemistry. 12, 405-411.

Azeez J., Van Averbeke W., 2010. Nitrogen mineralization potential of three animal manures applied on a sandy clay loam soil. Bioresource. Technolgy. 101, 5645-5651.

Bernal M., Navarro A., Sánchez-Monedero M., Roig A., Cegarra, J., 1998. Influence of sewage sludge compost stability and maturity on carbon and nitrogen mineralization in soil. Soil Biology and Biochemistry. 30, 305-313.

Busby R.R., Torbert H.A., Gebhart D.L., 2007. Carbon and nitrogen mineralization of non-composted and composted municipal solid waste in sandy soils. Soil Biology and Biochemistry. 39, 1277-1283.

DOG 107, 2012. Decreto 125/2012, de 10 de mayo, por el que se regula la utilización de lodos de depuradora en el ámbito del sector agrario en la Comunidad Autónoma de Galicia.

Harmsen G., Van Schreven D., 1955. Mineralization of organic nitrogen in soil. Adv. Agron. 7, 299-398.

Hart S.C., Stark J.M., Davidson E.A., Firestone M.K., 1994. Nitrogen mineralization, immobilization, and nitrification. En: R. Weaver, S. Angle, P Bottomley, D. Bezdicek, S. Smith, A. Tabatabai, and A. Wollum (Eds) *Methods of Soil Analysis: Part 2—Microbiological and Biochemical Properties.* Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA, pp. 985-1018.

Keeney D.R., Nelson D.W. 1982. Nitrogen—inorganic forms. En A. L. Page, R. H. Miller, D. R. Keeney, (Eds). *Methods of soil analysis. Part 2: Chemical and microbiological properties.* Agronomy Series Volume 9. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA, pp. 643-698.

Morrill L., Dawson J., 1967. Patterns observed for the oxidation of ammonium to nitrate by soil organisms. Soil Science Society of America Journal. 31, 757-760.

Nadelhoffer K.J., Aber J.D., Melillo J.M., 1984. Seasonal patterns of ammonium and nitrate uptake in nine temperate forest ecosystems. Plant and Soil. 80, 321-335.

Parker C.F., Sommers L.E., 1983. Mineralization of nitrogen in sewage sludges. Journal of Environmental Quality. 12, 150-156.

Ribeiro H.M., Fangueiro D., Alves F., Ventura R., Coelho D., Vasconcelos E., Cunha-Queda C., Coutinho J., Cabral F., 2010. Nitrogen mineralization from an organically managed soil and nitrogen accumulation in lettuce. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 173, 260-267.

RD 506/2013, 2013. Real Decreto de 28 de junio, sobre productos fertilizantes. Boletín Oficial del Estado 164, 51119-51207.

RD 1310/1990, 1990. Real Decreto de 29 octubre, sobre utilización de los lodos de depuración en el sector agrario. 262, 32339-32340

Stevenson F.J., Cole M.A., 1999. Cycles of Soils: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients. John Wiley y Sons.

ASEGURAMIENTO DE LA SUPERVIVENCIA NUTRICIONAL DE ESPECIES VEGETALES PARA REFORESTACIÓN EN ENTORNOS MEDITERRÁNEOS: ESTUDIO COMPARATIVO DE MEDIOS ORGÁNICOS DE TRANSICIÓN

Maria Pilar Gomis[1], Miguel Angel Domene[2], Maria Dolores Segura[2], Maria Dolores Pérez-Murcia, Maria Angeles Bustamante[1], Enrique Agullo[1], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Concepción Paredes[1], Raul Moral[1]

[1]Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[2]Estación Experimental Cajamar Las Palmerillas, Santa María del Águila, Almería
e-mail: raul.moral@umh.es

Resumen
En este trabajo se desarrollaron medios de transición que puedan usarse como aditivo-enmienda en el momento del trasplante para asegurar un mayor éxito en la supervivencia de 2 especies vegetales autóctonas de repoblación (*Thymus vulgaris y Lavanduleae*). El medio de transición estaba compuesto en un 75% del volumen por un ingrediente estructural fijo (turba y fibra de coco, 50-50% v/v) y como tratamientos ensayados se utilizaron 5 materiales orgánicos diferentes que suponían el 25% restante del volumen de la maceta. Se utilizaron como referencia fertilizantes inorgánicos de liberación lenta dosificados de tal forma que todos los tratamientos tuvieran el mismo contenido en nitrógeno total. Durante el desarrollo del trabajo se evaluaron la eficiencia en el enraizamiento, el desarrollo vegetativo, y pervivencia de las plantas, así como las propiedades físicas de estos medios de transición y su potencialidad como agentes fertilizantes de liberación lenta.

Palabras claves: repoblación, compost, tomillo, lavanda, sustratos.

1. Introducción

La restauración de suelos degradados así como el aseguramiento de una cobertura vegetal mínima es una de las estrategias más exitosas para evitar la erosión y desertificación de los medios edáficos. El desarrollo de plántulas eficientes en ambientes áridos y semiáridos incluye no sólo la selección de las especies más adecuadas, su germinación-desarrollo a nivel plantular, pero también el aseguramiento de la supervivencia nutricional puesto que se implantan en suelos en condiciones extremas a nivel físico, hidrofísico y químico. El desarrollo de medios de transición que se apliquen junto al trasplante en áreas repobladas puede permitir aumentar la pervivencia de las especies implantadas en función del aporte de materiales que permitan aumentar la reserva de agua y nutrientes en el medio radicular adyacente al alveolo de trasplante, siendo especialmente importante en sistemas de trasplante donde la actuación es puntual, la pervivencia depende de las condiciones ambientales de la zona y el mantenimiento-gestión es poco frecuente.

2. Material y métodos

En este experimento se prepararon mezclas como medios de cultivo para contenedor de transición de especies arbustivas de repoblación. Se han usado tiestos de 1700 cm^3, donde se implantaron cepellones forestales de 250 cm^3 con plantas aromáticas autóctonas, lavanda (*Lavanduleae)* y tomillo (*Thymus vulgaris*), producidas en el centro experimental Las Palmerillas

de la Fundación Cajamar en El Ejido (Almería). Se planteó la validación de 5 materiales orgánicos como aditivo en medios de transición de uso en repoblación. Los materiales orgánicos ensayados fueron: compost CTP (70,2% Tronco palmera + 29,8% Lodo EDAR), compost CHP (63,8% Hoja palmera+ 36,2% Lodo EDAR), vermicompost (VG, de origen ganadero), material pelletizado del compost CTP (PCTP) y material pelletizado del vermicompost VG (PVG). Los pellets (6 mm diámetro y 25 mm largo) fueron elaborados mediante pelletizadora por extrusionado Zhangqiu-Fadall mod. SKJ450. Como referencia se usaron 2 fertilizantes inorgánicos de liberación lenta NPK 15-15-15 *Nutricote*® de 3 y 6 meses (FILL3 y FILL6) respectivamente, que se añadieron de forma que se incorporara un gramo de N total por tiesto (en el rango de la entrada de N para los tratamientos orgánicos). El medio de transición estaba compuesto por un ingrediente estructural fijo formado por turba y fibra de coco (50-50% v/v) que componía el 100% del volumen en el caso de los tratamientos con fertilización inorgánica de liberación lenta y para el control/testigo sin fertilizar (B), y el 75% del volumen en los tratamientos con materiales orgánicos, donde el 25% restante lo componían los 5 materiales orgánicos ensayados (CTP, CHP, VG, PCTP y PVG). Se prepararon en total 8 tratamientos con 24 repeticiones por tratamiento y cultivo que se colocaron al azar y se mantuvieron en crecimiento durante 6 meses en invernadero. En los sustratos se determinaron propiedades físicas, físico-químicas, así como iones en el extracto de saturación según los métodos descritos por Bustamante y col. (2008). En ambos cultivos se determinaron el desarrollo vegetativo y la producción de biomasa en raíz, tallo y hojas.

3. Resultados y discusión

Los sustratos con materiales orgánicos como ingredientes mostraron unas adecuadas propiedades físicas, en el rango de los valores considerados como óptimos (Noguera y col., 2003), incluso obteniendo mejores resultados para la CRA respecto al control y los tratamientos inorgánicos FILL 3 y 6 (Tabla 1). La capacidad de cambio catiónico (CCC) aumentó en los medios de transición que incluyen compost-vermicompost, aumentando así su potencial amortiguador a nivel fertilizante. Sin embargo, el contenido en aniones (nitratos-cloruros-sulfatos) en el extracto de saturación fue superior al control y los medios FILL 3 y 6, mostrando riesgo de salinización, confirmado por los valores de conductividad eléctrica. Los cationes también se mostraron más elevados, siendo en este caso un efecto beneficioso para la nutrición vegetal salvo para el Na^+. Algunos de los tratamientos (p.ej. CHP, PCTP) favorecieron un mayor contenido de agua útil y en paralelo una menor capacidad de aireación. El pH o el EPT no se vieron afectados en los medios de cultivo por los diferentes tratamientos.

Los tratamientos establecidos a base de la sustitución del 25% del volumen del tiesto con materiales orgánicos no generaron una producción de biomasa comparable a los tratamientos de fertilización inorgánica de liberación lenta (FILL 3 y 6) y sólo fueron superiores al control para CHP en la lavanda. En este cultivo, respecto a los parámetros morfológicos, los tratamientos CTP, PCTP y CHP mostraron valores más próximos a los obtenidos con la fertilización inorgánica de liberación lenta. En el caso del tomillo, la incorporación de los materiales orgánicos en los sustratos tuvo en general un efecto más positivo sobre los parámetros morfológicos que el control y los tratamientos FILL 3 y 6, principalmente para PCTP para el área foliar, CTP y VG para la ratio hoja/raíz (m.s.) y CTP, PCTP, CHP y VG para la ratio hoja+tallo/raíz (m.s.).

Parámetros	B	FILL3	FILL6	CTP	PCTP	CHP	VG	PVG	F anova	Intervalo óptimo[4]
Densidad aparente (g/cm^3)	0,118 a	0,122 a	0,126 a	0,138 bc	0,155 d	0,138 bc	0,152 cd	0,163 d	25,0 ***	≤ 0,4
EPT[1] (%vol)	95,1 a	95,0 a	94,61 a	94,3 a	93,0 a	94,0 a	93,5 a	92,6 a	0,80 ns	>85
Contracción (%vol)	20,4 bc	20,9 bc	18,9 ab	17,8 a	20,3 bc	22,4 c	20,7 bc	20,3 bc	5,93 **	<30
CRA[2] (mL /L sustrato)	506 a	519 a	537 ab	530 ab	553 bc	580 c	538 ab	516 a	10,2 ***	550-800
Capacidad Aireación (%vol)	44,4 e	43,1 de	40,8 cd	41,2 cd	37,7 ab	36,0 a	39,7 bc	41,0 cd	16,6 ***	20-30
pH_{sat}	7,22 a	6,93 a	6,97 a	7,03 a	7,09 a	6,62 a	7,27 a	7,21 a	0,73 ns	5,3-6,5
CE_{sat}	1,77 a	2,15 ab	2,38 b	5,40 e	4,33 d	5,10 e	4,12 d	3,37 c	108 ***	<0,5
CCC (meq /100 g MO)	28,4 a	29,6 a	30,8 a	35,7 b	37,1 b	37,9 b	37,6 b	35,0 b	9,29 ***	--
$NO_{3\ sat}^-$ (mg/ kg)[3]	271 a	384 b	453 b	1052 e	926 d	866 d	671 c	391 b	151 ***	--
Cl^-_{sat} (mg/ kg)[3]	406 a	442 a	460 a	936 c	855 c	873 c	747 b	711 b	75,0 ***	--
SO_4^{2-} (mg/ kg)[3]	83 a	124 a	197 b	692 e	303 c	819 f	416 d	341 c	286 ***	--
Na^+_{sat} (mg/ kg)[3]	134 a	145 a	151 a	307 c	307 c	272 bc	258 b	258 b	77,5 ***	--
K^+_{sat} (mg/ kg)[3]	284 a	345 a	361 a	623 c	584 bc	639 c	620 c	534 b	64,9 ***	--
Ca^{2+}_{sat} (mg/ kg)[3]	49 a	78 b	137 c	390 f	192 d	312 e	145 c	124 c	255 ***	--
Mg^{2+}_{sat} (mg/ kg)[3]	21 a	29 ab	29 ab	117 d	79 c	130 e	80 c	37 b	253 ***	--

Tabla 1. Caracterización inicial de los medios de cultivo utilizados en el experimento.

[1] Espacio poroso total (%vol); [2] Capacidad de retención de agua; [3]Medida sobre extracto saturado. [4]Intervalo óptimo para un sustrato de cultivo en contenedor según Noguera y col. (2003). B: control sin fertilizar; FILL: fertilizante de liberación lenta; CTP: 70,2% Tronco palmera + 29,8% Lodo EDAR; compost CHP: 63,8% Hoja palmera+ 36,2% Lodo EDAR; VG: vermicompost de origen ganadero): PCTP: material pelletizado del compost CTP; PVG: material pelletizado del vermicompost VG.

*, ** y *** indican diferencias significativas a 0,05, 0,001 y 0,0001. En cada fila, valores medios seguidos con letras distintas indican diferencias significativas ($p<0,05$).

4. Conclusiones

Los medios de transición con materiales orgánicos en su composición mostraron adecuadas propiedades físicas y mejoraron aspectos químicos como la capacidad de cambio catiónico y el contenido nutriente con respecto a los tratamientos inorgánicos de liberación lenta, pero también implicaron una mayor salinidad, que pudo influir en la menor producción de biomasa observada en ambos cultivos. Por ello, son necesarios más estudios para optimizar la proporción más adecuada de estos materiales en medios de cultivo de transición.

Tabla 2. Aspectos de producción y morfológicos para lavanda y tomillo en función de los tratamientos (6 meses experimento).

Parámetros	B	FILL3	FILL6	CTP	PCTP	CHP	VG	PVG	F anova
Lavanda *(Lavanduleae*)									
Materia fresca Hoja (g/planta)	41,4 ab	91,6 d	89,2 d	56,5 bc	62,7 c	70,7 cd	30,3 a	35,5 ab	20,4 ***
Materia seca Hoja (g/planta)	12,9 abc	27,3 e	29,2 e	18,3 bcd	19,5 cd	23,2 de	9,7 a	11,2 ab	15,5 ***
Materia fresca Tallo (g/planta)	21,3 ab	52,8 c	45,5 c	23,7, ab	24,7 ab	29,9 b	15,7 a	23,3 ab	27,5 ***
Materia seca Tallo (g/planta)	9,2 ab	20,8 c	17,4 c	10,7 ab	10,2 ab	12,3 b	6,6 a	9,2 ab	23,6 ***
Materia seca Raíz (g/planta)	12,7 cd	14,2 d	7,9 ab	11,7 bcd	10,3 bc	15,0 d	8,4 ab	5,9 a	12,7 ***
Biomasa fresca total p. aérea (g/planta)	62 ab	144 d	134 d	80 bc	87 bc	100 c	46 a	58 ab	28,2 ***
Biomasa seca total (g/planta)	34,8 ab	62,3 e	54,5 de	40,8 bc	39,9 bc	50,6 cd	24,8 a	26,3 a	24,4 ***
Área foliar (cm^2/g m.f.)	5,14a	6,65e	6,38de	6,09cd	5,70b	5,81bc	5,23a	5,17a	5,1**
Ratio Hoja+Tallo/Raíz (m.s.)	1,78 a	3,45 b	5,91 c	2,4 ab	2,99 ab	2,37 ab	1,96 a	3,57 b	22,4 ***
Ratio Hoja/Tallo (m.s.)	1,41 a	1,32 a	1,69 a	1,77 a	1,91 a	1,90 a	1,48 a	1,26 a	2,43 *
Ratio Hoja/Raíz (m.s.)	1,03 a	1,96 c	3,71 d	1,55 abc	1,91 bc	1,54 abc	1,17 ab	1,99 c	21,8 ***
Tomillo (*Thymus*)									
Materia fresca Hoja (g/planta)	70,6 a	83,4 a	77,9 a	73,4 a	74,6 a	72,5 a	69,8 a	60,8 a	1,11 ns
Materia seca Hoja (g/planta)	24,2 a	33,9 b	35,2 b	25,4 a	24,6 a	24,6 a	25,4 a	27,0 a	13,6 ***
Materia fresca Tallo (g/planta)	19,9 a	48,3 b	49,4 b	24,9 a	26,6 a	26,6 a	24,9 a	30,1 a	22,5 ***
Materia seca Tallo (g/planta)	10,5 a	24,7 c	26,9 c	9,45 a	13,9 ab	13,9 ab	9,45 a	16,2 b	35,8 ***
Materia seca Raíz (g/planta)	59,0 b	57,40 b	59,9 b	22,2 a	26,4 a	26,4 a	22,2 a	61,5 b	25,7 ***
Biomasa fresca total p. aérea (g/planta)	90 a	131 b	127 b	98 a	101 a	101 a	98 a	102 a	9,98 ***
Biomasa seca total (g/planta)	93 b	116 cd	122 d	57 a	64 a	64 a	57 a	104 bc	43,0 ***
Área foliar (cm^2/g m.f.)	1,74a	2,61c	2,38b	2,43b	3,19d	2,60c	1,73a	2,44b	15,4***
Ratio Hoja+Tallo/Raíz (m.s.)	0,59 a	1,04 b	1,03 b	1,61 c	1,48 c	1,48 c	1,61 c	0,71 ab	23,3 ***
Ratio Hoja/Tallo (m.s.)	2,32 b, c	1,38 a	1,31 a	2,72 c	1,80 ab	1,80 ab	2,72 c	1,66 a	16,1 ***
Ratio Hoja/Raíz (m.s.)	0,41 ab	0,60 b	0,58 ab	1,17 d	0,95 c	0,95 c	1,17 d	0,44 ab	27,2 ***

B: control sin fertilizar; FILL: fertilizante de liberación lenta; CTP: 70,2% Tronco palmera + 29,8% Lodo EDAR; compost CHP: 63,8% Hoja palmera+ 36,2% Lodo EDAR; VG: vermicompost de origen ganadero): PCTP: material pelletizado del compost CTP; PVG: material pelletizado del vermicompost VG.

*, ** y *** indican diferencias significativas a 0,05, 0,001 y 0,0001.

En cada columna y cultivo, valores medios seguidos con letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05)

5. Bibliografía

Bustamante M.A., Paredes C., Moral R., Agulló E., Pérez-Murcia M.D., Abad M. 2008. Composts from distillery wastes as peat substitutes for transplant production. *Resour. Conserv. Recycl.* 52, 792-799.

Noguera P., Abad M., Puchades R., Maquieira A., Noguera V. 2002. Influence of particle size on physical and chemical properties of coconut coir dust as a container medium. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 34, 593-605.

6. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado dentro del programa científico de la Cátedra Cajamar de la UMH 2015-2017, así como dentro del proyecto “Desarrollo de nuevos recursos y bioproductos basados en residuos de especies palmáceas orientados al secuestro de carbono y estrategias de mitigación, Palmresource” (Proyecto AGL2013-41612-R), financiado por el MINECO y Fondos FEDER “Una manera de hacer Europa”).

FITOINMOVILIZACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR ELEMENTOS TRAZA MEDIANTE LA COMBINACIÓN DE EMNIENDAS ORGÁNICAS E INORGÁNICAS

Rafael Clemente, Elena Arco-Lázaro, Ignacio Martín, Tania Pardo, Maria Pilar Bernal

Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, CSIC. Campus Universitario de Espinardo, 30100 Murcia. rclemente@cebas.csic.es

Resumen: El desarrollo de las fitotecnologías de recuperación de suelos contaminados por elementos traza se basa en la combinación de plantas y enmiendas para reducir la movilidad y toxicidad de los contaminantes. El objeto de este estudio es determinar la combinación de enmiendas orgánicas e inorgánicas que favorezcan el crecimiento de especies silvestres adaptadas a las condiciones climáticas de la zona a recuperar. Se utilizó un suelo contaminado por elementos traza procedente de Portmán (Sierra Minera de La Unión, Murcia). El suelo se trató con una enmienda orgánica (fracción sólida de purín de cerdo) y se aplicaron dos tratamientos inorgánicos para aumentar el pH y facilitar la inmovilización de los metales: lodo de papelera y ViroBind™ (un producto comercial con distintos óxidos). Se cultivaron tres especies silvestres *Silybum marianum, Piptatherum miliaceum* y *Nicotiana glauca*, y un cultivo, girasol, dejando suelos con tratamientos pero sin plantas. El experimento se realizó en macetas bajo condiciones de invernadero (4 macetas por tratamiento y especie). Las plantas se cosecharon una vez desarrolladas, pero antes de su floración, y se determinó la producción de biomasa (peso seco y fresco de la parte aérea). Se estudió el efecto de las enmiendas en el desarrollo de las distintas especies, su concentración de nutrientes y elementos traza. Además, se estudiaron los cambios químicos en el suelo, tales como pH, conductividad eléctrica, COT, N total, y concentraciones de nutrientes y elementos traza en formas disponibles.

Palabras clave: Purín de cerdo; Fracción sólida; Metales pesados; Arsénico; Reutilización.

1. Introducción.

La recuperación de suelos afectados por elementos traza (ET) representa una tarea difícil como consecuencia de su toxicidad, su resistencia a la degradación y su relativa inmovilidad en el suelo. Por tanto, la mayoría de las investigaciones relacionadas con la recuperación de estos suelos se ha centrado en el desarrollo de métodos que se puedan aplicar "in situ", que requieran poco manejo del suelo y que sean capaces de eliminar o inmovilizar a los ET, y al mismo tiempo ser económicos y respetuosos con el medio ambiente. Dentro de estos métodos se encuentran las fitotecnologías, que utilizan los efectos que las plantas y sus microorganismos asociados ejercen sobre los contaminantes del suelo para la recuperación de los procesos básicos que definen la funcionalidad de los ecosistemas y su sostenibilidad (Mench y col., 2010). La fitoinmovilización busca la contención de los contaminantes en el suelo con el objetivo de crear una cubierta vegetal que evite la dispersión de los ET en el medio ambiente, evitando su lixiviación a aguas subterráneas y su incorporación a la cadena alimentaria (Méndez y Maier, 2008).

Los suelos contaminados por lo general tienen baja fertilidad y contenido de materia orgánica, pH ácido y/o alta salinidad, por lo que cuando el objetivo de la recuperación es el re-establecimiento de una cubierta vegetal será generalmente necesaria la mejora de las propiedades físico-químicas del suelo mediante la aplicación de enmiendas orgánicas y/o inorgánicas (Clemente y col., 2015). El uso de residuos orgánicos como fuente de materia orgánica en la recuperación de suelos contaminados significaría un beneficio medioambiental adicional, ya que supondría una alternativa para su reciclaje y reutilización, reduciendo su

acumulación y necesidad de eliminación. Sin embargo, los beneficios potenciales de la aplicación estos residuos a los suelos contaminados tienen que equilibrarse con los posibles riesgos debidos a la incorporación de contaminantes no deseados (como los TE) y/o su solubilización en el suelo (Clemente y col., 2015).

La biomasa obtenida en los procesos de fitoinmovilización podría valorizarse económicamente en forma de bioenergía, lo que supondría un beneficio añadido al proceso de control de la erosión y la mejora de la calidad y funcionalidad del suelo (Gomes, 2012). En cualquier caso, la evaluación de la resistencia de las plantas a la contaminación por ET, su distribución y su acumulación en las plantas es necesaria. En ese aspecto, el uso de especies autóctonas como cultivos bioenergéticos resulta un tema de gran interés, pues evitaría las limitaciones a la hora de introducir ciertas especies en el ecosistema del suelo a recuperar (Gomes, 2012).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la viabilidad del uso de técnicas de fitoinmovilización para recuperar un suelo altamente contaminado por actividad minera, mediante la combinación de la adición de enmiendas orgánicas e inorgánicas y el cultivo de plantas adaptadas al entorno con potencial uso como cultivos de bioenergéticos.

2. Material y Métodos.

En este trabajo se describen los resultados de un ensayo en macetas realizado en condiciones de invernadero con un suelo contaminado procedente de la Sierra Minera de La Unión-Cartagena (concretamente de la Rambla de Portmán). Este suelo presentó un pH ácido, bajo contenido en materia orgánica (MO) y nutrientes, y concentraciones muy altas de elementos traza, especialmente As, Pb y Zn (Tabla 1). Como enmiendas se emplearon dos combinaciones diferentes: fracción sólida de purín de cerdo con lodo de papelera (FS+LP, 67 y 4,1 g kg^{-1} suelo respectivamente); y la misma fracción sólida con un producto comercial denominado ViroBind™ (FS+VB, 67 y 2,2 g kg^{-1} suelo respectivamente), desarrollado para la retención de metales pesados. La fracción sólida es un material húmedo (75%), alcalino y rico en MO, con concentraciones relativamente altas de Cu y Zn; el lodo de papelera es también alcalino con contenido medio en MO y bajo en metales; mientras que el ViroBind™ es altamente alcalino y rico en Fe y Mn (Tabla 1).

Tabla 1. Caracterización del suelo y de los materiales utilizados en el experimento (contenido sobre materia seca). FS, fracción sólida de purín; LP, lodo de papelera; VB, ViroBind™.

	Suelo	FS	LP	VB
pH	4,16	7,31	8,87	10,9
CE (dS m^{-1})	0,22	6,81	0,44	0,14
MO (%)	0,47	68,6	32,2	-
COT (g kg^{-1})	2,7	356	195	10,9
NT (g kg^{-1})	1,0	32,8	20	140
Cd (mg kg^{-1})	12	0,2	0,2	0,27
Cu (mg kg^{-1})	230	226	184	55,7
Fe (g kg^{-1})	215	1,36	9,10	90,2
Mn (mg kg^{-1})	968	194	72,7	901
Pb (mg kg^{-1})	19129	5,3	18,4	41,2
Zn (mg kg^{-1})	2257	849	38,6	10,7
As (mg kg^{-1})	1976	-	-	4,68

Se utilizaron 3 especies silvestres, *Silybum marianum*, *Piptatherum miliaceum* y *Nicotiana glauca*, y una de cultivo, *Helianthus annuus*. Todas las plantas se cultivaron en las mismas condiciones y fueron seleccionadas por su tolerancia a los ET, por ser especies autóctonas o de

presencia generalizada en la zona de estudio, y/o por su potencial uso como cultivos energéticos. Se establecieron macetas sin tratamiento como control (CT), y se dejaron sin sembrar macetas con tratamiento para poder determinar el posible efecto de la presencia de las plantas en la solubilidad de los ET. Las plantas crecieron en las macetas un total de 15 semanas, hasta que estaban completamente desarrolladas y antes de llegar a floración. En ese momento se cosecharon las plantas, se determinó la producción de biomasa (peso fresco), se lavaron, secaron y molieron y se determinó la concentración de nutrientes y elementos traza. Al final del experimento se determinó en los suelos el pH, la conductividad eléctrica (CE), el contenido en C-orgánico total (COT) y N-total (NT), y la concentración de metales ($CaCl_2$ 0,1 M) y de As ($NaHCO_3$ 0,5M) extraíbles en el suelo.

3. Resultados y Discusión.

Las dos combinaciones de enmiendas utilizadas aumentaron de forma significativa el pH del suelo hasta valores entre 5,2 y 6,0, así como las concentraciones de COT y NT, alcanzándose valores a priori propicios para el crecimiento de las plantas (Tabla 2).

Tabla 2. Valores de pH, conductividad eléctrica (CE), C-orgánico total (COT) y N-total (NT) en los suelos al final del experimento.

Especie	Tratamiento	pH	CE (dS m^{-1})	COT (g kg^{-1})	NT(g kg^{-1})
Sin Planta	CT	4,5a	0,26	2,1a	0,3
	FS+LP	5,4b	0,62	6,4b	0,7
	FS+VB	5,7b	0,60	5,5b	0,6
	ANOVA	***	ns	*	ns
S. marianum	CT	4,3a	0,40a	1,6a	0,3a
	FS+LP	5,2b	0,73c	5,5b	0,7c
	FS+VB	5,4c	0,63b	5,4b	0,5b
	ANOVA	***	***	***	***
P. miliaceum	CT	4,2a	0,32a	1,4a	0,2a
	FS+LP	5,4b	0,64b	6,0b	0,7b
	FS+VB	5,6b	0,73b	7,0b	0,7b
	ANOVA	***	***	*	***
H. annuus	CT	4,9a	0,28a	1,8a	0,2a
	FS+LP	5,8b	0,40b	6,0b	0,6b
	FS+VB	6,0c	0,55c	6,4b	0,7b
	ANOVA	***	***	***	*
N. glauca	CT	4,8a	0,31a	1,3a	0,2a
	FS+LP	5,6b	0,65b	5,5b	0,6b
	FS+VB	5,6b	0,56b	6,3b	0,6b
	ANOVA	**	*	***	***
ANOVA	Esp. × Trat.	**	ns	ns	ns

Valores medios seguidos con letras distintas para cada especie en cada columna indican diferencias significativas (P<0,05). ***, *: significativo a P<0,001 y 0,05, respectivamente; n.s.: no significativo.

Las concentraciones de la mayoría de los metales de este suelo (entre ellos Cd, Cu y Zn) extraíbles con $CaCl_2$ fueron muy bajas, resultando en todos los tratamientos disminuidas hasta valores significativamente inferiores (datos no mostrados). La excepción fue el Pb, que presentó valores extraíbles muy altos (hasta cerca de 2000 mg kg^{-1}; Figura 1), por lo que este parece ser el principal causante de la toxicidad de este suelo, completamente desprovisto de vegetación en su entorno natural. En cualquier caso las dos combinaciones de enmiendas aplicadas al suelo fueron capaces de disminuir de forma significativa la concentración fácilmente extraíble de este elemento,

hasta valores inferiores a 500 mg kg^{-1}, especialmente en los suelos con tratamiento FS+VB (Figura 2). Sin embargo el As, que presentó en el suelo concentraciones extraíbles ($NaHCO_3$) muy bajas (1,5-2 mg kg^{-1}) se vio ligeramente movilizado tras la adición de las enmiendas (hasta valores en torno a los 3 mg kg^{-1}; Figura 2). Este efecto sobre el As es bastante común en este tipo de actuaciones (Clemente y col., 2015), y si bien no supondría un grave problema medioambiental al tratarse todavía de concentraciones muy bajas, debe ser tenido en cuenta a la hora de seleccionar las enmiendas a utilizar en un suelo de este tipo y, sobre todo, al ajustar las dosis a ser utilizadas.

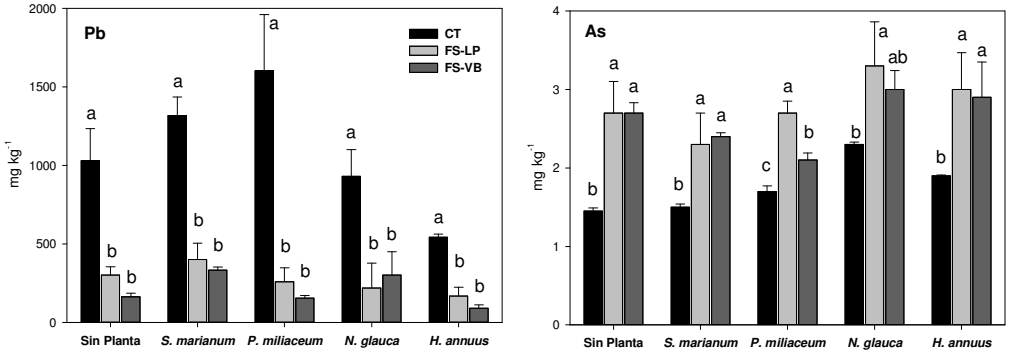


Figura 1. Concentraciones extraíbles de Pb ($CaCl_2$ 0,1M) y As ($NaHCO_3$ 0,5M) en los suelos al final del experimento. Barras marcadas con la misma letra para cada especie no son diferentes significativamente de acuerdo con el test de Tukey (P<0,05).

En cuanto al crecimiento de las plantas, ninguna de las especies estudiadas fue capaz de desarrollarse adecuadamente en los suelos control sin tratamiento, mientras que todas las especies crecieron bien en los suelos que habían recibido las enmiendas, desarrollándose de forma correcta y alcanzando un nivel normal de biomasa de planta en el orden *S. marianum* > *P. miliaceum* ≥ *H. annuus* > *N. glauca*. El contenido en elementos traza de todas las especies estuvo en general por debajo de los límites considerados normales para las plantas (Tabla 3), lo que demuestra el carácter tolerante por exclusión de estas especies a los elementos traza del suelo. *P. miliaceum* fue la especie que acumuló mayor concentración de As en su parte aérea, mientras que *S. marianum* (parte aérea) y *N. glauca* (hoja) mostraron los valores más elevados Cd, Pb y Zn. La combinación FS+VB se mostró en general ligeramente más efectiva que FS+LP respecto a la limitación de la acumulación de ET por parte de las plantas.

Tabla 3. Concentración (mg kg^{-1} peso seco) de elementos traza en parte aérea[1]/hoja[2] de las distintas especies utilizadas en el experimento.

		As	Cd	Pb	Zn
S. marianum[1]	FS+LP	4,27abc	2,34c	172ab	359a
	FS+VB	2,13b	1,95c	113b	304ab
P. miliaceum[1]	FS+LP	7,53a	0,10de	106b	115c
	FS+VB	6,07ab	0,05e	80b	113c
H. annuus[2]	FS+LP	1,21c	0,80d	55b	102c
	FS+VB	1,01c	0,60de	41b	72c
N. glauca[2]	FS+LP	1,11c	5,46a	337a	318ab
	FS+VB	1,13c	3,99b	106b	174bc
ANOVA	Esp. × Trat.	***	***	***	***

Valores medios seguidos con letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (P<0,05).
***: significativo a P<0,001

4. Conclusiones.

Las dos combinaciones de enmiendas estudiadas fueron capaces de aumentar el pH y el contenido en MO del suelo, disminuyendo la solubilidad de los ET, y permitiendo el establecimiento de las plantas. Por tanto, el uso de este tipo de enmiendas, en combinación con el cultivo de plantas tolerantes a la contaminación y adaptadas al medio, supone una buena estrategia para la recuperación de suelos contaminados por ET, con el atractivo adicional de su potencial uso como cultivos de biomasa o energéticos (ver Bernal1_REC2016).

5. Bibliografía.

Clemente, R., Pardo, T., Madejón, P., Madejón, E., Bernal, M.P., 2015. Food byproducts as amendments in trace elements contaminated soils. *Food Research International* 73, 176-189.

Gomes, H.I. 2012. Phytoremediation for bioenergy: challenges and opportunities. *Environmental Technology Reviews* 1:1, 59-66.

Mench, M., Lepp, N., Bert, V., Schwitzguébel, J.P., Gawronski, S.W., Schröder, P., Vangronsveld, J. 2010. Successes and limitations of phytotechnologies at field scale: outcomes, assessment and outlook from COST Action 859. *J. Soils Sediments* 10, 1039-1070.

Mendez, M.O., Maier, R., 2008. Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments - an emerging remediation technology. *Environ. Health Persp.* 116, 278-283.

6. Agradecimientos.

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto CTM2013-48697-C2-1-R financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, Subdirección General de Proyectos de Investigación.

MODIFICACIÓN DEL ESTADO SANITARIO DE UN SUELO EN RECONVERSIÓN A CULTIVO ECOLÓGICO POR APLICACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA

Ana Pérez-Piqueres[1], Remedios Albiach[1], Alfons Domínguez[2], Rodolfo Canet[1]

[1] Centro para el Desarrollo de la Agricultura Sostenible, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (CEDAS-IVIA). Apartado oficial. 46113-Moncada.
[2] Estación Experimental Agraria de Carcaixent, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Partida del Barranquet s/n. 46740-Carcaixent.
perez_anapiq@gva.es

Resumen: Para el éxito de un cultivo en agricultura ecológica es necesario que el suelo tenga una adecuada fertilidad biológica y un óptimo estado sanitario. El periodo de reconversión de manejo convencional a ecológico es especialmente delicado, pues se trata de suelos de características convencionales que sólo pueden ser manejados con prácticas ecológicas. El objetivo de este trabajo es valorar el estado sanitario de una parcela de cítricos en reconversión a cultivo ecológico tras el uso de distintas técnicas de preparación del suelo que incluían el aporte de materias orgánicas. Los tratamientos ensayados, aplicados en preplantación, fueron: estiércol de oveja, solarización, solarización combinada con estiércol de oveja, cubierta vegetal desinfectante y testigo sin tratar. El estado sanitario del suelo fue evaluado a través del estudio del potencial infeccioso de *Phytophthora* spp. y de la capacidad supresiva frente a *P. nicotianae*. Ningún tratamiento modificó el potencial del suelo para producir la enfermedad ni su capacidad para frenar el desarrollo del hongo cuando era inoculado artificialmente. Sin embargo, al esterilizar el suelo control e inocularlo con *P. nicotianae*, el número de plantas enfermas resultó significativamente mayor en comparación con el control sin esterilizar y al resto de los tratamientos. Esta diferencia indicaría la existencia de una supresión biótica intrínseca al suelo que regularía de forma natural el desarrollo de *Phytophthora*, a pesar de que el ensayo se realizó en una parcela con un largo historial de ataques de este hongo.

Palabras clave: potencial infeccioso; capacidad supresiva; *Phytophthora*; actividad biológica

1. Introducción

Para el éxito de un cultivo en agricultura ecológica es necesario que el suelo tenga unos niveles adecuados de materia orgánica y actividad biológica, además de un estado sanitario óptimo. Aunque el mantenimiento de estas condiciones en un cultivo ecológico ya establecido es relativamente sencillo, el periodo de reconversión de manejo convencional a ecológico es especialmente delicado. Efectivamente, los suelos provenientes de años de agricultura convencional suelen presentar una reducida fertilidad y actividad biológica (Albiach y col., 1999; Ge y col., 2013; van Diepeningen y col., 2006) y las plantas jóvenes, especialmente sensibles, pueden verse confrontadas a diversos problemas fitosanitarios sin posibilidad de utilizar los tratamientos químicos habitualmente empleados. Como forma de facilitar la construcción de la fertilidad biológica del suelo y minimizar los riesgos sanitarios, cabe pensar en su preparación, de forma previa a la nueva plantación, con tratamientos que combinen cierta desinfección con una mejora en sus niveles de fertilidad y actividad biológica.

Es un hecho bien conocido que el contenido de materia orgánica del suelo y los niveles de actividad biológica de éste están altamente correlacionados. Igualmente, la supresividad de un suelo frente a enfermedades, o capacidad de éste para limitar el desarrollo de una enfermedad aunque el patógeno esté presente y se den las condiciones adecuadas para su desarrollo, se debe a mecanismos muy dependientes de la actividad biológica: competencia ecológica por nutrientes, producción de sustancias biocidas más o menos específicas e inducción de resistencias en las plantas. Del mismo modo, la materia orgánica puede participar en fenómenos de desinfección gracias a la liberación de sustancias volátiles en su degradación como el amonio propio de residuos ricos en nitrógeno y, sobre todo, de isotiocianatos en la descomposición de materiales vegetales ricos en glucosinolatos, como los restos de brasicáceas. Esta es la base de los tratamientos habitualmente englobados bajo el término "biofumigación", aunque el caso del amonio está desfavorecido en agricultura ecológica debido a los límites existentes respecto a la aplicaciones de productos nitrogenados. Si el tratamiento se produce en el periodo caluroso del año y el suelo sujeto al mismo se cubre con plástico en la técnica habitualmente denominada "solarización", el calor favorece la desinfección, la intensidad de la degradación de los materiales orgánicos se ve potenciada por el incremento de temperatura, y los gases resultantes tienen un mayor efecto al estar confinados. No obstante, el mismo calor que desinfecta puede tener efectos negativos sobre la actividad microbiana general del suelo (Albiach y col., 2014;Scopa y col., 2008).

El objetivo del presente trabajo es evaluar el estado sanitario de una parcela de cítricos en reconversión a cultivo ecológico tras el uso de diferentes técnicas de preparación del suelo, incluyendo el aporte de materias orgánicas, conocidas por sus propiedades desinfectantes, por su efecto supresivo o por su capacidad para estimular la actividad biológica.

2. Material y Métodos

El ensayo se realizó en una parcela de 1.2 ha dentro de una finca localizada en Gandía (Valencia), con un historial de más de cien años cultivando cítricos y un amplio registro de ataques de *Phytophthora* spp. Antes de replantar y convertir la parcela a manejo ecológico se probaron los siguientes tratamientos del suelo: Control sin tratar (C); Solarización (S), Cubierta vegetal biodesinfectante, mezcla de *Sinapis alba* (16,5 Kg semilla/ha), *Brassica carinata*, *B. rapa* y *B. juncea* (25 Kg semilla/ha de cada una) (CV); Enmienda orgánica, estiércol de oveja 16 t /ha peso fresco, 150 Kg N /ha/año (EO); Solarización y enmienda orgánica, mismo estiércol y misma dosis que el tratamiento anterior (S+EO). Todos los tratamientos se realizaron por triplicado en subparcelas experimentales, donde tras su aplicación se plantaron 8 árboles por subparcela (*C. Sinensis,* var. *Salustiana* sobre Citrange Carrizo) con un marco de plantación de 6 x 4 m. Un año después, el estado sanitario del suelo fue evaluado a través de dos bioensayos, uno para determinar el potencial infeccioso de *Phytophthora* spp. y otro para estudiar la capacidad supresiva frente a *P. nicotianae (*syn. *P. parasitica)*. Ambos bioensayos fueron realizados en plantas de limón rugoso sensibles a *Phytophthora*, bajo condiciones óptimas para el desarrollo del hongo. En la determinación del potencial infeccioso se evaluó el porcentaje de submuestras de suelo (8 por subparcela, 1 por árbol) capaces de desarrollar marchitez debido a *Phytophthora* (3 plantas por submuestra), comprobándose su identidad por aislamiento en medio selectivo PARBPH modificado (Jeffers y Martin, 1986). En el bioensayo de supresividad se trabajó con suelo procedente de los 5 tratamientos mas un control abiótico obtenido tras esterilizar por autoclavado suelo procedente del control sin tratar (C estéril). Tras inoculación a la dosis de 500 zoosporas/planta se determinó el número de plantas que presentaron marchitez debido a *Phytophthora* (10 plantas por repetición). La significación estadística del efecto de los tratamientos se evaluó mediante análisis de varianza, utilizando el paquete Statgraphics 5.0 (Manugistic Inc.)

3. Resultados y Discusión

La evaluación del estado fitosanitario del suelo se realizó a través del hongo *Phytophthora* spp., elegido por tratarse de uno de los principales patógenos fúngicos de cítricos en España, siendo *P.*

citrophthora y *P. nicotianae* las especies predominantes en el área Mediterránea (Álvarez y col*.,* 2008) . A pesar de los tratamientos realizados en preplantación, durante el año que duró el ensayo fueron numerosos los plantones que enfermaron a lo largo de toda la parcela y tuvieron que ser sustituidos. Los síntomas fueron identificados como ataques de *Phytophthora*, siendo la especie *P. citrophthora* aislada de suelos y raíces. El estudio del potencial infeccioso, realizado con el fin de evaluar la capacidad de un suelo naturalmente infestado para inducir la enfermedad en condiciones óptimas para su desarrollo, reveló que ninguno de los tratamientos desinfectantes (S, S+EO y CV) redujeron de forma significativa el desarrollo de la enfermedad (Fig.1). Aunque existen diversos estudios que indican la efectividad de estos tratamientos para el control de distintas especies de *Phytophthora* (Funahashi y Parke, 2016; Ji y col., 2012; Lacasa y col., 2010) la mayoría han sido realizados en invernadero, situación diferente a la de nuestro estudio, donde la omnipresencia de *Phytophthora* en toda la finca, combinada con la facilidad de propagación de este patógeno por salpicaduras y agua de riego, podría haber facilitado su reintroducción en el suelo desinfectado. Igualmente, la aplicación de materia orgánica en forma de estiércol tampoco modificó de forma significativa el potencial infeccioso de suelo.

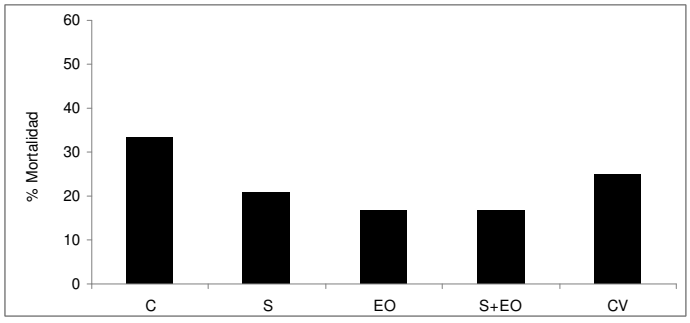


Figura 1. Bioensayo de potencial infeccioso: porcentaje de mortalidad medio por tratamiento.

El bioensayo de supresividad, realizado para evaluar la capacidad tamponante del suelo frente a la entrada de *P. nicotianae*, reveló la existencia de una supresividad natural biótica en el campo, que mantendría a un nivel base el número de plantas afectadas. Efectivamente, tal y como se puede ver en la Fig. 2, al esterilizar el suelo control e inocularlo con *P. nicotianae*, el porcentaje de plantas enfermas resultó significativamente mayor en comparación con el control sin esterilizar. Diversos autores han demostrado con anterioridad la existencia de suelos con supresividad biológica frente a *Phytophthora*, incluyendo tanto la especie *P. nicotianae* (Ntougias y col., 2008) como *P. citrophthora* (Dirac y Menge, 2002), debido a mecanismos tales como antagonismo, actividad biológica o resistencia sistémica inducida. Por otro lado, ninguno de los tratamientos aplicados en preplantación modificó la supresividad natural del suelo. Está demostrado que la aplicación de materia orgánica puede aumentar la capacidad supresiva de un suelo frente a *Phytophthora*, así por ejemplo la aplicación de compost puede limitar el desarrollo del hongo por un mecanismo de supresión general al aumentar la actividad de los microorganismos del suelo y producir cambios en la comunidad microbiana (Hoitink y Boehm, 1999). En nuestro estudio, la caracterización microbiológica del suelo (Albiach y col., 2014) no reveló diferencias entre tratamientos en la biomasa y actividad microbiana global, ni en poblaciones específicas, que pudieran estar relacionados con mecanismos de supresión, por lo que no es sorprendente no haber encontrado cambios en la capacidad supresiva del suelo.

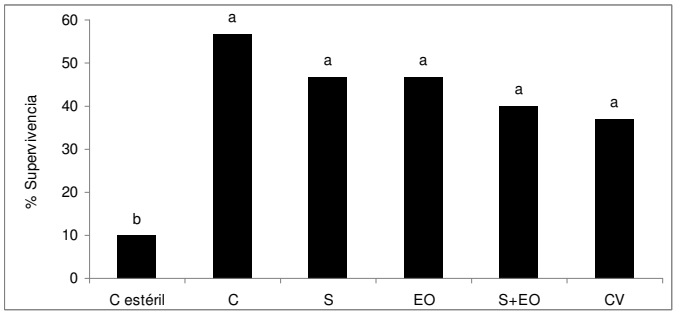


Figura 2. Bioensayo de supresividad: porcentaje de supervivencia media por tratamiento. Valores seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según el test MDS a P< 0,05.

4. Conclusiones

Un estado fitosanitario óptimo es clave para el éxito de la reconversión de un cultivo a ecológico. La aplicación de tratamientos desinfectantes y la estimulación de la actividad biológica a través de la aplicación de materia orgánica puede incrementar la capacidad supresiva de un suelo. Este estudio ha mostrado la existencia de una supresión biótica natural en el suelo que controlaría el desarrollo de *Phytophthora* hasta cierto punto, no obstante, ninguno de los tratamientos empleados consiguió aumentarla. El control de este patógeno en citricultura ecológica es una tarea difícil que parece necesitar de prácticas que construyan calidad biológica de forma continuada en lugar de tratamientos puntuales. Estrategias a largo plazo y sistemas mixtos que por ejemplo combinaran cubiertas vegetales y aplicaciones de materia orgánica, podrían ser una interesante opción para construir suelos fértiles y sanos.

5. Bibliografía

Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F., 1999. Structure, organic components and biological activity in citrus soils under organic and conventional management. *Agrochimica* XLIII, 235-242.

Albiach, R., Pérez-Piqueres, A., Domínguez, A., Pomares, F., Canet, R., 2014. Short-term effects of different techniques to prepare an organic citrus soil for replanting on its microbiological and biochemical properties. En: G. Rahmann, U. Aksoy (Eds) *Building Organic Bridges*. Proceedings of the 4th ISOFAR Scientific Conference, Organic World Congress 2014, 13-15 Oct., Istanbul, Turkey, pp. 965-968.

Álvarez, L.A., Vicent, A., De la Roca, E., Bascón, J., Abad-Campos, P., Armengol, J., García-Jiménez, J., 2008. Branch cankers on citrus trees in Spain caused by *Phytophthora citrophthora*. *Plant Pathology* 57, 84-91.

Dirac, M.F., Menge, J.A., 2002. High temperatures are not responsible for lack of infection of citrus by *Phytophthora citrophthora* during the summer, but suppressive soil microorganisms may inhibit infection by *P. citrophthora*. *Plant and Soil* 241, 243-249.

Funahashi,F.,Parke, J.L.,2016.Effects of soil solarization and *Trichoderma asperellum* on soilborne inoculum of *Phytophthora ramorum* and *Phytophthora pini* in container nurseries. *Plant Disease* 100,438-443.

Ge, T., Chen, X., Yuan, H., Li, B., Zhu, H., Peng, P., Li, K., Jones, D.L., Wu, J., 2013. Microbial biomass, activity, and community structure in horticultural soils under conventional and organic management strategies. *European Journal of Soil Biology* 58, 122–128.

Hoitink, H.A.J., Stone, A.G., Han, D.Y., 1997. Suppression of plant diseases by composts. *HortScience* 32,184–187.

Jeffers, S.N., Martin, S.B., 1986. Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. *Plant Disease* 70, 1038-1043.

Ji, P.S., Kone, D., Yin, J.F., Jackson, K.L., Csinos, A.S., 2012. Soil amendments with Brassica cover crops for management of *Phytophthora* blight on squash. *Pest Management Science* 68: 639-644.

Lacasa, C. M., Guerrero, M. M., Ros, C., Martínez, V., Lacasa, A., Fernández, P., Núñez-Zofío, M., Larregla, M.A., Martínez, M.A., Díez-Rojo, M.A., Bello, A. 2010. Efficacy of biosolarization with sugar beet vinasses for soil disinfestation in pepper greenhouses. *Acta Horticulturae* 883, 345–352.

Ntougias, S., Papadopoulou, K.K., Zervakis, G.I., Kavroulakis, N., Ehaliotis, C., 2008. Suppression of soil-borne pathogens of tomato by composts derived from agro-industrial wastes abundant in Mediterranean regions. *Biology and Fertility Soils* 44, 1081-1090.

Scopa, A., Candido, V., Dumontet, S., Miccolis, V., 2008. Greenhouse solarization: effects on soil microbiological parameters and agronomic aspects. *Scientia Horticulturae* 116, 98–103.

van Diepeningen, A.D., de Vos, O.J., Korthals, G.W., van Bruggen, A.H.C., 2006. Effects of organic versus conventional management on chemical and biological parameters in agricultural soils. *Applied Soil Ecology* 31, 120–135.

6. Agradecimientos

El autor reconoce y agradece el apoyo financiero para este proyecto provisto por las organizaciones financiadoras de CORE Organic II, socios del proyecto FP7 ERA-Net CORE Organic II (Coordinación de Investigación Transnacional Europea en Alimentación Ecológica y Sistemas de Cultivo, proyecto no. 249667). Más información en www.coreorganic2.org. El texto en este artículo es responsabilidad única del autor y no refleja necesariamente las opiniones de las organizaciones nacionales que han financiado este proyecto.

EVALUACIÓN DE LA ALTERACIÓN DE BIOCHARS UTILIZADOS COMO ENMIENDA DE UN CULTIVO DE GIRASOL BAJO CONDICIONES DE CLIMA MEDITERRÁNEO

Mario Rosado, José M. de la Rosa*, Marina Paneque, Ana. Z. Miller, Rafael López y Heike Knicker

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC), Avenida Reina Mercedes, 10, 41012 Sevilla (España). (*) e mail: jmrosa@irnase.csic.es

Resumen: El biochar es un subproducto de la pirólisis de biomasa, generalmente posee un elevado contenido en carbono y una alta porosidad. El biochar puede mejorar las propiedades físicas y químicas del suelo, y por tanto incrementar la calidad agronómica del mismo. Además se considera una estrategia eficaz para mitigar la emisión de dióxido de carbono a la atmósfera, ya que es rico en carbono recalcitrante funcionando como sumidero de carbono. Diversos factores como el tipo de materia prima, así como las condiciones de pirólisis determinarán la composición, estructura y propiedades de los biochars, lo que ocasiona una gran heterogeneidad de los productos. Aún no se conoce suficientemente como afecta la degradación al biochar en condiciones de campo. Es necesario conocer cómo se modifica la composición de esta materia orgánica pirogénica una vez es incorporada al suelo, con este objetivo principal se sometió a cinco tipos diferentes de biochars a un envejecimiento en condiciones de clima Mediterráneo. Para ello, se mezclaron las muestras de biochar con un cambisol de la finca experimental "*La Hampa*" a modo de enmienda. Posteriormente se sembraron plantas de girasol, que fueron cosechadas a los 6 meses de su germinación. A los 6, 12 y 24 meses de iniciado el experimento se tomaron muestras de suelo y de biochar para su estudio. Con el fin de poder conocer las alteraciones en la composición y propiedades del biochar, se han realizado análisis de C y N, de pH, conductividad eléctrica y la determinación de la fragmentación. Además, el uso de la Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C en estado sólido nos permitió observar los cambios en la funcionalidad de este material.

Palabras clave: Estabilidad, enmienda orgánica, agricultura, "aging", secuestro de carbono.

1. INTRODUCCIÓN

El biochar es un producto poroso de alto contenido en carbono aromático resultante de la pirolisis de biomasa (calentamiento a temperaturas superiores a 250ºC en ausencia de oxígeno) De la (Rosa et al., 2014). La aplicación del bichar puede ser de gran interés en zonas áridas y semiáridas como ocurre en el caso de los países de clima mediterráneo, debido a ciertas propiedades características del biochar, como es su elevada capacidad de retención hídrica. Durante la transformación de la biomasa en biochar, una parte de la materia orgánica se condensa en estructuras poliaromáticas, incrementando la aromaticidad y la recalcitrancia, por ello el biochar es considerado un potencial secuestrador de carbono (CO_2) en los ecosistemas. Sin embargo, Knicker et al. (2013) indicaron que muchos materiales orgánicos pirogénicos son degradados en el suelo a tasas mucho más rápidas que las inicialmente previstas. El mecanismo de pirolisis empleado y el tipo de biomasa usada como materia prima serán los factores que determinen las propiedades físicas y químicas del biochar (Kan et al., 2016). Existen varios estudios sobre los efectos del biochar en la fisiología de las plantas y la producción agronómica. Sin embargo, se conoce muy poco sobre las alteraciones que se producen en la estructura, composición y estabilidad del biochar una vez es aplicado al suelo, estos aspectos constituyen los objetivos principales del presente estudio.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Diseño experimental del ensayo de campo y la enmienda con biochars

El ensayo de campo se inició en enero de 2014 y tuvo una duración total de 25 meses. Se llevó a cabo en la finca experimental "La Hampa" perteneciente al Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), que se encuentra localizada cerca de Coria del Río (Sevilla) en el valle del río Guadalquivir; (37º 21.32 N, 6º 4.07'W). En primer lugar, se plantaron semillas de *Helianthus annus* (girasol) en un suelo clasificado como cambisol cálcico (IUSS Working Group WRB, 2007). Utilizando cinco tipos diferentes de biochars como enmiendas al suelo, que fueron aplicados en dosis equivalentes a 1.5 y 15 ha^{-1}. Se establecieron parcelas sin enmienda que fueron utilizadas como control. Los cinco biochars usados como enmienda se obtuvieron respectivamente a partir de madera de pino (PWB), pasta de papel (PSB), lodos de depuradora (SSB), biochar de madera producido en pilas (*kilns*) (KWB), virutas de madera certificada de pino (CWB) y madera de poda de vid (KWB). Para cada tratamiento se tomaron 5 muestras de suelo a los 6, 12 y 24 meses de la aplicación del biochar. Una vez en el laboratorio, se secaron las muestras a 40ºC durante 48 h y se separaron manualmente los fragmentos de biochar.

2.2 Análisis de las propiedades físicas y químicas elementales

El pH y la conductividad eléctrica de cada muestra de biochar se midieron respectivamente con un pHmetro Crisom 40 pH-meter y un conductivímetro Crisom Basic 20 (Crison, España) en una mezcla biochar:agua destilada 1:10. El contenido en C y N total se determinó por triplicado mediante combustión a 1000 ºC en un instrumento LECO micro CHNS (LECO, Estados Unidos), en el Centro de Investigación Tecnológica e Investigación de la Universidad de Sevilla (CITIUS).

2.3. Fragmentación física del biochar

La fragmentación del biochar se midió contando el número de fragmentos de biochar de las muestras iniciales (t_0) y de las recogidas manualmente para cada uno de los muestreos (6, 12 y 24 meses) siguiendo el método publicado por Pereira et al. (2014).

2.4. Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^{13}C en Estado Sólido

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (NMR) de ^{13}C en estado sólido de los biochars se realizaron en condiciones de polarización cruzada bajo ángulo mágico (CP-MAS). La polarización cruzada bajo giro de ángulo mágico (CPMAS) se llevó a cabo en un equipo Bruker Ascend 400 MHZ (Bremen, Alemania). La velocidad de giro para la obtención de los espectros fue de 14 kHz. Para la polarización cruzada, se utilizó una rampa de pulso de ^{1}H con un tiempo de contacto de 1 ms para evitar la pérdida de señal. Para cada uno de los espectros se obtuvo un pulso a 90º. Para calcular las intensidades relativas de cada familia de carbonos se utilizó la herramienta de integración del software Mestrenova 10 (Santiago de Compostela, España).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Fragmentación física de los biochars

Tabla 1. Fragmentación física del biochar con el tiempo (6, 12 y 24 meses desde su aplicación al suelo)

Muestra	Fragmentos a los 6 meses	Fragmentos a los 12 meses	Fragmentos a los 24 meses
PWB	16.3 ± 1.8	13.3 ± 0.4	25.3 ± 2.1
PSB	9.8 ± 1.1	18.0 ± 1.4	28.0 ± 2.80
SSB	17.0 ± 1.4	15.8 ± 1.1	20.3 ± 1.1
KWB	3.3 ± 0.4	3.8 ± 0.4	7.8 ± 0.4
CWB	5.5 ± 1.4	8.8 ± 0.4	16.0 ± 2.1

La Tabla 1 muestra en general que el número de fragmentos de biochar se incrementa con el tiempo para todos los tipos de biochar, alcanzando la máxima fragmentación a los 24 meses de su aplicación al suelo. En cuanto al orden de fragmentación, fue el siguiente: PSB> PCB> SSB> CWB> KWB. Siendo las muestras producidad a partir de madera las que tuvieron una menor fragmentación física. Existen numerosos factores responsables de la fragmentación física del biochar, de entre ellos destaca la naturaleza de la materia prima utilizada para producir el biochar.

3.2. Propiedades físicas y químicas elementales

Todos los biochars procedentes de restos vegetales (PWB, PSB, KWB y CWB) obtuvieron valores de pH alcalino (pH>9; Tabla 2), mientras que el biochar producido a partir de lodo de depuradora (SSB) fue neutro (pH= 6.9). Esta diferencia es debida a la diversa naturaleza de la materia prima y se redujo con el tiempo que los biochars permanecieron en el suelo. Así, el pH de los biochars derivados de plantas (los alcalinos) se redujo, mientras que el de la muestras SSB se incrementó hasta 7.7. Podemos afirmar que después de 24 meses todos los biochars alcanzaron el pH del suelo, lo que indicaría un grado de equilibrio biochar-suelo en todas las enmiendas.

Tabla 2. Resultados de los análisis de contenido en Carbono y Nitrógeno total, pH y conductividad eléctrica de los biochars (t_0= biochar inicial; t_1= 6 meses; t_2= 12 meses; t_3= 24 meses)

Muestra	*Análisis elemental (C. N)*			*Propiedades físicas y químicas*	
	C (g Kg^{-1})	**N (g Kg^{-1})**	**C/N**	**pH**	**Cond. (µS cm^{-1})**
PWB (t_0)	847.7 ± 2.0	1.9 ± 0.2	446.2	9.3 ± 0.1	1187.7 ± 56.6
PWB (t_1)	751.3 ± 9.2	1.3 ± 0.1	557.9	8.7 ± 0.2	1181.5 ± 50.1
PWB (t_2)	723.7 ± 3.4	1.4 ± 0.7	516.4	7.9 ± 0.1	1179.7 ± 57.7
PWB (t_3)	679.4 ± 1.6	2.3 ± 0.3	295.4	7.9 ± 0.1	101.3 ± 4.2
PSB (t_0)	475.4 ± 4.3	12.3 ± 0.1	38.7	9.2 ± 0.1	1045.7 ± 13.7
PSB (t_1)	N/A	N/A	N/A	8.6 ± 0.0	989 ± 25.5
PSB (t_2)	349.1 ± 2.8	14.2 ± 0.6	24.6	7.8 ± 0.1	190.5 ± 5.1
PSB (t_3)	419.8 ±10.5	13.4 ± 0.5	31.3	8.0 ± 0.0	139.5 ± 1.7
SSB (t_0)	182.0 ± 2.1	20.0 ± 0.4	9.1	6.9 ± 0.1	814.0 ± 34.4
SSB (t_1)	149.0 ± 1.1	15.1 ± 0.1	9.9	7.1 ± 0.0	801. 2 ± 12.9
SSB (t_2)	144.4 ± 3.1	15.9 ± 0.3	9.1	7.7 ± 0.1	117.3 ± 0.3
SSB (t_3)	163.3 ± 1.4	19.4 ± 0.3	8.4	7.7 ± 0.1	150.4 ± 2.5
KWB (t_0)	764 ± 10.4	6.0 ± 0.0	127.3	9.3 ± 0.0	1082.3 ± 2.9
KWB (t_1)	752.6 ± 13.4	1.7 ± 0.0	442.7	8.9 ± 0.1	1079.9 ± 25.8
KWB (t_2)	644.2 ± 5.5	3.3 ± 0.1	117.1	8.1 ± 0.1	112.0 ± 1.3
KWB (t_3)	676.8 ± 4.1	3.6 ± 0.1	188.0	7.8 ± 0.0	74.5 ± 0.9
CWB (t_0)	829.4 ± 2.3	0.9 ± 0.0	921.6	9.3 ± 0.0	1096.7 ± 5.1
CWB (t_1)	721.6 ± 9.3	1.0 ± 0.1	721.6	8.7 ±0.1	1070.1 ± 8.5
CWB (t_2)	707.0 ± 0.9	2.1 ± 0.5	336.7	8.1 ± 0.1	222.7 ± 3.8
CWB (t_3)	708.0 ± 4.1	2.1 ± 0.4	336.8.	7.8 ± 0.1	93.3 ± 4.4

La conductividad de los biochars fue en todos los casos superior a 1000 µS cm^{-1}, a excepción de la muestra SSB (≤800 µS cm^{-1}). Estos valores son similares a los obtenidos por Lehmann (2007). Este parámetro está relacionado con el intercambio iónico. Con el tiempo, debido al lavado de los iones y su lixiviación en todos los casos se observó una drástica disminución de la conductividad eléctrica hasta valores dentro del intervalo 74.5-150.4 µS cm^{-1}. La Tabla 2 refleja el elevado contenido en C orgánico de todos los biochars, a excepción del SSB (≤ 182 g kg^{-1}), y la disminución del mismo con el tiempo, probablemente debido a su degradación microbiana. El contenido en nitrógeno (N) de los biochars estuvo comprendido entre 1 y 15 g Kg^{-1} de N, que son similares a los encontrados para otros biochars producidos a partir de restos de madera. El contenido en N se incrementó levemente con el tiempo, lo que podría deberse a la incorporación de materia orgánica procedente de microorganismos del suelo (De la Rosa et al., 2014).

3.3. Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C en estado sólido

La Figura 1 muestra la gran abundancia de C-aromático (160-100 ppm) en todos los biochars. Debido a la extrema condensación aromática de las muestras PWB y CWB no fue posible obtener sus espectros de ^{13}C a t_0. Las muestras PSB y KWB obtuvieron porcentajes de C-aromático superiores al 80% del total. Se observan además señales en los biochars PSB, SSB y KWB a 151-155 ppm, correspondientes a lignina degradada, furfurales y/o estructuras N-heterocíclicas (Knicker et al., 2007) y en la región asignada a los grupos carboxilos/amida (185-160 ppm; integración ≤ 6%). El envejecimiento de los biochars causó una reducción sensible del área de C-aromáticos (160-100 ppm), y un incremento relativo similar de la presencia de C-alquílicos (45-0 ppm) y O-alquílicos (100-60 ppm). Con lo que podemos afirmar que el envejecimiento en condiciones de campo de todos los tipos de biochar ha producido una reducción de su aromaticidad y un incremento de su funcionalización.

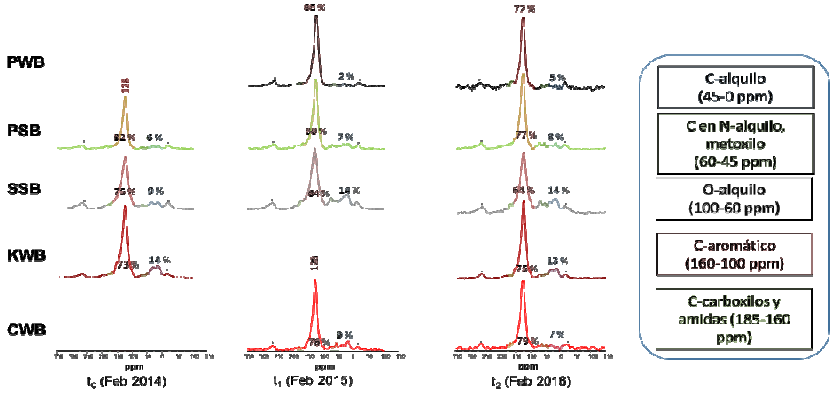


Figura 1. Espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C en estado sólido de las muestras de biochar después de 0, 12 y 24 meses de su aplicación al suelo. (*) "spinning side bands".

4. CONCLUSIONES

Los resultados han mostrado que la heterogeneidad en las características físicas y químicas (pH, conductividad, composición elemental) de los biochars están relacionadas con la naturaleza de la biomasa utilizada como materia prima. Una vez aplicados al suelo, con el paso del tiempo, el pH y la conductividad de los biochars se homogeneizaron acercándose al equilibrio con los valores del cambisol. La evolución de la composición elemental (contenido en C y N) de los biochars mostraron evidencias de su degradación. La fragmentación física de las muestras probablemente

ha contribuido a facilitar este proceso. Las alteraciones observadas mediante RMN de ^{13}C de los biochars fueron la reducción de su aromaticidad y un incremento de su funcionalización.

5. BIBLIOGRAFÍA

Agrafioti E., Bouras G., Kalderis D., Diamadopoulos E., 2013. Biochar production by sewage sludge pyrolysis. *J. Anal. Appl Pyrolysis* 101, 72-78.

De la Rosa J.M., Paneque M., Miller A.Z., Knicker H. 2014. Relating physical and chemical properties of four different biochars and their application rate to biomass production of Lolium perenne on a Calcic Cambisol during a pot experiment of 79 days. *Sci. Total Environ.* 499, 175-184.

IUSS Working Group WRB. 2007. World Reference Base for Soil Resources, first update 2007. *World Soil Resources Reports* 103. FAO, Rome.

Kan T., Strezov V., Evans T.J. 2016. Lignocellulosic biomass pyrolysis: A review of product properties and effects of pyrolysis parameters. *Renew. Sust. En. Rev.* 57, 1126-1140

Knicker H., Hilscher A., De la Rosa J.M., González-Pérez J.A., González-Vila, F.J. 2013. Modification of biomarkers in pyrogenic organic matter during the initial phase of charcoal biodegradation in soils. *Geoderma*, 197-198, 43-50.

Knicker H. 2007. How does fire affect the nature and stability of soil organic nitrogen and carbon? A review. *Biogeochem.* 85, 91-118

Lehmann J., Rillig M.C., Thies J., Masiello C.A., Hockaday W.C., Crowley D., 2010. Soil Biology and Biochemistry Biochar effects on soil biota: A review. *Soil Biol Biochem. 43*(9), 1812-1836.

Pereira C., Pinho C. 2014. Influence of particle fragmentation and non-sphericity on the determination of diffusive and kinetic fluidized bed biochar combustion data. *Fuel* 131, 77-88.

6. AGRADECIMIENTOS

M. Paneque agradece al Ministerio de Educación de España la financiación de la beca FPU 13/05831. Se agradece al MINECO la financiación del proyecto BIOREMEC (CGL2016-76498-R).

ESTUDIO DE ESTRATEGIAS DE MANEJO AGRÍCOLA PARA LA MEJORA DE LA CALIDAD DEL SUELO Y DE LA PRODUCCIÓN DE LOS SISTEMAS VITIVINÍCOLAS MEDITERRÁNEOS

Concepción Paredes, Antonio José Marín-Martínez, Encarnación Martínez-Sabater, Enrique Agulló, Mª Angeles Bustamante, Aurelia Pérez-Espinosa, Mª Dolores Pérez-Murcia, Raúl Moral

Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández
EPS-Orihuela, Ctra. Beniel km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
Correo electrónico: c.paredes@umh.es

Resumen: La mayor parte de los suelos vitivinícolas mediterráneos se caracterizan por ser deficientes en materia orgánica, lo cual los hace vulnerables frente a la degradación y pérdida de suelo, así como supone la obtención de bajas producciones. Por ello, el objetivo principal de este trabajo fue determinar las condiciones de cultivo de la vid que conlleven una mejora de la calidad del suelo y de la producción del viñedo. Para desarrollar este objetivo se caracterizaron un gran número de suelos vitivinícolas de la zona del Vinalopó Medio, situada en el sureste español, para identificar posibles carencias y necesidades para el cultivo de la vid. Una vez realizado este estudio, se seleccionaron tres parcelas para evaluar, durante dos campañas, la interacción de diferentes manejos agrícolas (tipo de fertilización, sistemas de conducción de la planta y riego y variedad de uva) que consiguieran la adaptación del viñedo a los suelos de la zona. Los resultados obtenidos mostraron que en los suelos estudiados existe una disposición adecuada para el cultivo de la vid, siendo necesaria la aplicación de materia orgánica y de sales de hierro para tener las condiciones apropiadas para este cultivo. De este modo, en las parcelas seleccionadas se observó que la aplicación de enmiendas orgánicas, ricas en hierro, mejoró la calidad del suelo y aumentó la producción de uva. También, el sistema de conducción de la planta y la variedad de la uva tuvieron un efecto significativo en la producción del viñedo, así como las condiciones climatológicas. Las altas temperaturas y la sequía del segundo año de estudio redujeron la producción de uva en todas las parcelas en comparación con la primera campaña.

Palabras clave: suelos de viticultura, producción de uva, enmiendas orgánicas, variedad de uva, sistema de conducción de la planta.

1. Introducción

Los suelos vitivinícolas cubrieron a nivel mundial un área de aproximadamente 7,5 x 10^6 ha en el año 2011. En este año, España fue el país con mayor extensión de viñedo del mundo (1,03 x 10^6 ha) (OIV, 2011). La mayor parte del viñedo español está concentrada en la zona mediterránea del país, donde la viticultura es una actividad económica importante y un legado cultural. De este modo, unas prácticas adecuadas de manejo agrícola son necesarias para contribuir a una viticultura sostenible. La gestión del viñedo incluye diferentes prácticas agrícolas que afectan a las funciones desarrolladas en el suelo. El riego es una herramienta importante de gestión del viñedo para mejorar y regular la calidad y la producción de la uva, especialmente en las zonas con clima mediterráneo, donde la escasez de agua en verano es crítica. Esta práctica agrícola afecta tanto a la actividad microbiológica del suelo como al desarrollo de las raíces (Lardo y col., 2015). Por otra parte, en la actualidad se está llevando a cabo una transformación del sistema de conducción del viñedo de sistemas libres, sin estructura de conducción, a sistemas de empalizada que permiten guiar la vegetación. Este cambio facilita la mecanización de diferentes tareas agrícolas del viñedo tales como, la poda, el riego, la aplicación de pesticidas y fertilizantes y la vendimia, favoreciéndose así la compactación y sellado del suelo debido al paso de la maquinaría empleada (Coulouma y col., 2006). El uso intensivo de algunas de estas prácticas junto con el clima son los principales factores responsables del alto grado de erosión de la mayoría de los suelos vitivinícolas mediterráneos. La incorporación de enmiendas orgánicas al suelo ha demostrado ser una herramienta útil para incrementar la calidad del suelo a través de su capacidad para proporcionar nutrientes a las plantas, con el incremento de la capacidad de intercambio catiónico edáfica, la mejora de la actividad microbiológica, la capacidad de retención de agua, la infiltración y la agregación del suelo, así como la reducción de su densidad aparente (Bustamante y col., 2011; Rubio y col., 2013; Calleja-Cervantes y col., 2015).

Por lo tanto, basándose en las consideraciones mencionadas anteriormente, los objetivos de este estudio fueron: 1) caracterizar los suelos del Vinalopó Medio en la Denominación de Origen Protegida de Vinos de Alicante, con el fin de conocer su idoneidad y comprobar el potencial vitivinícola para el cultivo de la vid, identificando posibles carencias y necesidades para conseguir adaptar el manejo de los sistemas vitivinícolas a los suelos de la zona y; 2) evaluar las condiciones de cultivo de la vid (fertilización y sistemas de riego y de conducción de la planta y variedad de uva) que conlleven a una mejora de la fertilidad del suelo y de la producción de uva.

2. Material y métodos

2.1 Área de estudio

Para este estudio se seleccionaron 56 parcelas de muestreo distribuidas en diferentes zonas de la Comarca del Vinalopó-Medio, dentro de la Denominación de Origen Protegida de Vinos de Alicante, en la proporción de: 21 parcelas dentro del municipio de Pinoso, 13 parcelas en Monovar, 17 parcelas dentro de la zona de La Algueña-Romana y 5 parcelas en Novelda. De estas parcelas estudiadas se seleccionaron tres parcelas situadas en Monovar para evaluar, durante dos campañas (2012/2013 y 2013/2014), la interacción de diferentes manejos agrícolas (tipo de fertilización, sistemas de conducción de la planta y riego y variedad de uva) que consiguieran la adaptación del viñedo a los suelos de la zona: Parcela 1 con variedad de uva Monastrell (conducción de la planta en vaso y en secano); Parcela 2 con variedad de uva Monastrell (conducción de la planta en espaldera y con riego por goteo) y Parcela 3 con variedad de uva Cabernet Sauvignon (conducción de la planta en espaldera y con riego por goteo).

2.2 Diseño experimental

En las tres parcelas seleccionadas, situadas en Monovar, se emplearon cuatro tratamientos diferentes con tres repeticiones cada uno, distribuidas aleatoriamente para reducir la influencia de los factores externos. Con lo cual, cada una de las parcelas elegidas para la experiencia se dividió en 12 subparcelas, cada una de las cuales tenía 20 viñas. Los tratamientos fueron: EST (estiércol oveja + cabra), CVIT (compost a base de residuos vitivinícolas), CCOM (compost comercial) y B (control sin fertilización). La primera aplicación de los tratamientos se realizó en marzo 2013 y la segunda aplicación en marzo de 2014. En el segundo año solo se aplicaron los tratamientos de EST y CVIT con el fin de comprobar el efecto residual del CCOM frente al resto de tratamientos. La dosis de enmienda orgánica en el primer año fue de 5,5 t/ha para EST, 5,6 t/ha para CVIT y de 17 t/ha para CCOM. En el segundo año del experimento se aplicaron nuevamente 4,6 y 5,0 t/ha de EST y CVIT, respectivamente. La aplicación de estas enmiendas se realizó de manera que incorporarán al suelo cantidades equivalentes de nitrógeno (170 kg N/ha). El intervalo de las principales características de estos materiales orgánicos empleados en las dos campañas fueron: pH = 7,34-7,37; conductividad eléctrica (CE) = 10,8-11,6 dS/m; carbono orgánico total (C_{org}) = 22,4-23,0 %; nitrógeno total (N_t) = 3,08-3,70 %; P = 2,04-2,08 g/kg; K = 8,1-9,6 g/kg y Fe = 6777-6810 mg/kg para EST; pH = 7,79-7,96; CE = 4,92-6,50 dS/m; C_{org} = 32,5-43,6 %; N_t = 2,19-3,04 %; P = 1,84-2,45 g/kg; K = 20,7-23,7 g/kg y Fe = 4304-8235 mg/kg para CVIT y pH = 7,67; CE = 16,9 dS/m; C_{org} = 18,6 %; N_t = 1,02 %; P = 2,04 g/kg; K = 19,7 g/kg y Fe = 17639 mg/kg para CCOM. En las parcelas con sistema de conducción en vaso no se realizó ningún riego, mientras que en las parcelas con sistema en espaldera el riego fue por goteo. En la campaña 2012/2013 solo se realizó un riego anual durante el mes de agosto (142 días), debido a que las condiciones climáticas fueron menos extremas. Sin embargo, en la campaña 2013/2014 el estrés hídrico debido a la sequía fue más acusado y por ello se realizaron tres riegos, cada uno de ellos durante los meses de mayo (420 días), julio (458 días) y agosto (493 días). Este riego y la cantidad de agua aplicada estuvieron en función de las necesidades hídricas mínimas del viñedo.

2.3 Métodos analíticos y estadísticos

Los parámetros determinados en los suelos fueron: pH, conductividad eléctrica (CE), porcentajes de caliza activa, de carbono orgánico (Corg) y de carbono orgánico oxidable (Coox) y contenido de nitrógeno orgánico (Norg). También, la producción de uva fue determinada en las dos campañas de estudio. Todos los parámetros determinados en las enmiendas orgánicas, suelo y uva se analizaron de acuerdo a los métodos descritos en Rubio y col. (2013). Todos los análisis se hicieron por triplicado. En el experimento del estudio de diferentes manejos agrícolas, en todas las figuras se mostró el intervalo de confianza a $P < 0,05$ para comparar el efecto de los diferentes tratamientos estudiados. También, se realizó un análisis estadístico ANOVA doble vía de medidas repetidas (MLG) que permitiera evaluar en todos los parámetros del suelo y de la uva el efecto de las variables consideradas: tipo de tratamiento, tiempo, variedad y sistema de conducción. Además, se hizo un análisis de la varianza de una vía (ANOVA) con prueba post-hoc Tukey-b a $P < 0,05$, para comprobar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de producción de uva con respecto al tratamiento empleado.

3. Resultados y discusión

Todas las zonas estudiadas presentaron valores medios de pH altos (intervalo de valores de pH = 8,24-8,45), lo cual probablemente reducirá la disponibilidad de Cu, Mn, Fe y Zn, produciéndose la llamada "clorosis férrica" (carencia de hierro) (White, 2009). Sin embargo, el contenido de sales de los suelos estudiados fue bajo (intervalo de valores de CE = 0,33-0,58 dS/m) y no se alcanzó en ninguna zona valores de conductividad eléctrica limitante para el cultivo de la vid (Hidalgo, 2002). Los porcentajes promedio de caliza activa de los suelos fueron altos, siendo el intervalo de valores encontrado para este parámetro de 8-16 %. El exceso de caliza activa produce un gran debilitamiento de los viñedos no resistentes, como consecuencia de una acusada clorosis, como se ha comentado anteriormente. También, se observó que los contenidos de Corg de los suelos fueron bajos, con valores comprendidos entre 4,99 a 6,52 %. Estos suelos se caracterizan por carecer de

cubierta vegetal, tienen una reposición de materia orgánica baja y con laboreo, que contribuye al aumento

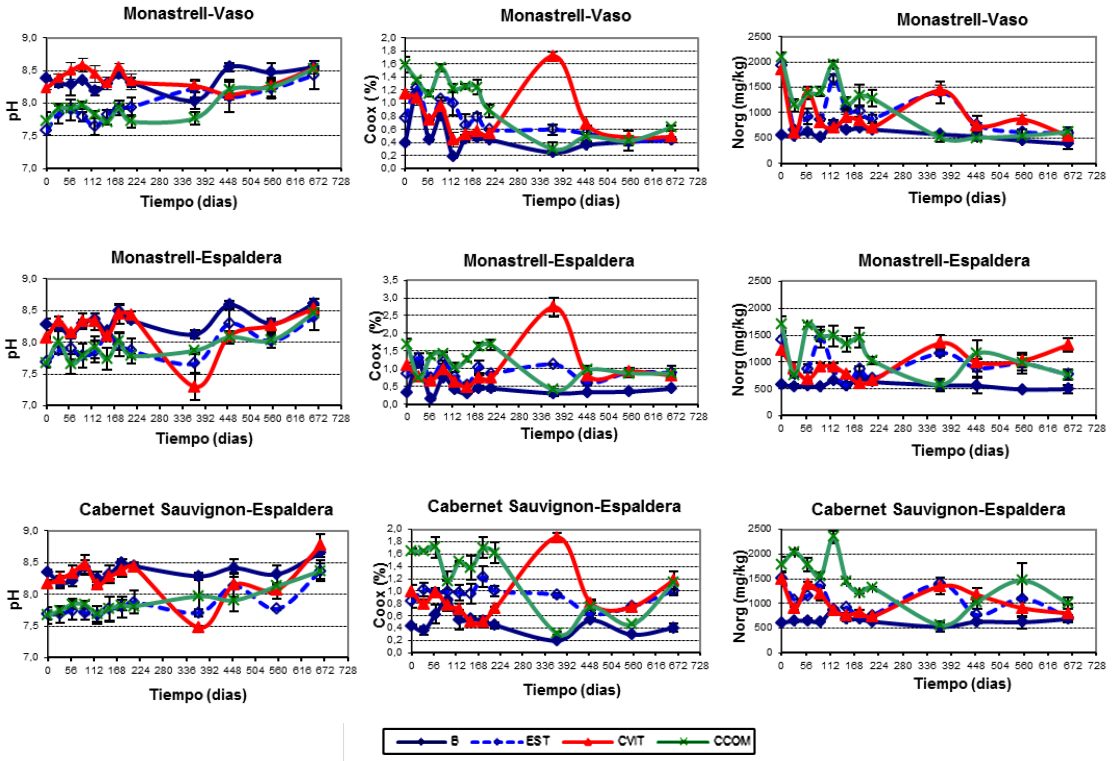


Figura 1. Evolución temporal del pH y de los contenidos de carbono orgánico oxidable (Coox) y nitrógeno orgánico (Norg) en las parcelas del estudio.

de la erosión y a la disminución de nutrientes para la planta. Las necesidades de reposición de materia orgánica en los suelos vitivinícolas han sido observadas por varios autores (Bustamante y col., 2011; Rubio y col., 2013; Calleja-Cervantes y col., 2015).

El efecto de los factores estudiados, mediante ANOVA doble vía de medidas repetidas, en los valores de pH del suelo de las parcelas seleccionadas fue significativo en el caso del tiempo, tratamiento y sistema de conducción, mientras que el factor variedad no afectó significativamente a este parámetro (datos no mostrados).

	Parcela Monastrell-vaso				Parcela Monastrell-espaldera				Parcela Cabernet S.-espaldera			
	B	EST	CVIT	CCOM	B	EST	CVIT	CCOM	B	EST	CVIT	CCOM
1er año	0,72 a	1,68 b	1,24 ab	0,92 a	0,67 a	3,02 b	3,60 b	5,62 c	2,49 a	4,88 b	4,77 b	4,43 b
2º año	0,19 a	0,85 b	0,73 b	0,60 b	0,86 a	1,59 b	1,59 b	0,97 a	1,88 a	2,69 c	2,18 b	2,33 b

Tabla 1. Producción de la viña (kg/planta) en función del tratamiento y del tiempo en las parcelas del estudio.
El análisis de la varianza de una vía (ANOVA) indicó que hubo diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de producción de uva con respecto al tratamiento empleado (datos no mostrados).
Los valores promedios en filas seguidos de la misma letra, para cada parcela, no son significativamente diferentes (P<0,05) (test Tukey-b).

Al principio del experimento, la adición al suelo de las enmiendas produjo una disminución de los valores de pH en comparación con el suelo control (Figura 1). Sin embargo, después de esta acidificación inicial, el pH aumentó a valores próximos a los del control solamente en el caso del tratamiento CVIT. La adición de los tratamientos EST y CCOM redujo los valores de pH del suelo a lo largo de todo el experimento. Este hecho podría mejorar la asimilación de micronutrientes por parte de la planta, especialmente en el caso de Fe, (Hannachi y col., 2015), reduciéndose así la clorosis de hierro común del viñedo de esta zona.

El análisis estadístico mostró que todos los factores estudiados tuvieron un efecto significativo sobre los contenidos de Coox y Norg del suelo, excepto el factor variedad y el sistema de conducción que no mostró

diferencias significativas en las concentraciones de Coox y Norg, respectivamente (datos no mostrados). Tras la adición de los tratamientos orgánicos al suelo, se apreció un aumento importante de los contenidos de Coox y de Norg en todas las parcelas y su posterior estabilización a lo largo del experimento (Figura 1). Al final de la experiencia en la parcela con la variedad Monastrell en vaso, todos los suelos enmendados presentaron valores de estos parámetros similares al tratamiento control. Sin embargo, en las parcelas con sistema de conducción en espaldera los contenidos finales de Coox y de Norg de los suelos con las enmiendas orgánicas fueron, en general, el doble o el triple que aquellos del control. El aumento de la fertilidad orgánica de los suelos vitivinícolas mediante la adición de materia orgánica exógena ha sido también observado por otros autores (Bustamante y col., 2011; Rubio y col., 2013; Calleja-Cervantes y col., 2015). Después de cada ciclo de cultivo la capacidad fertilizante de estas enmiendas se vio reducida, excepto en el caso del tratamiento CCOM cuya capacidad fertilizante residual se mantuvo durante todo el periodo del estudio, debido a la alta dosis de aplicación empleada.

Los valores de producción de la uva se vieron afectados significativamente por todas variables estudiadas (tiempo, tratamiento, sistema de conducción y variedad) (datos no mostrados). En la mayoría de los casos, la adición de enmiendas orgánicas al suelo aumentó la producción de uva con respecto al tratamiento control (Tabla 1). El sistema de conducción de la planta en espaldera favoreció la producción de uva frente al sistema en vaso. En relación con la variedad, se obtuvo una mayor producción de uva en el caso de la variedad importada (Cabernet Sauvignon) con respecto a la autóctona (Monastrell). Finalmente, la variable tiempo tuvo un efecto muy significativo sobre la producción de uva principalmente por las diferentes condiciones climáticas que hubieron en los dos años del experimento, siendo la producción menor en el segundo año de estudio debido a que fue más caluroso y seco que el primero (datos no mostrados). Pascual y col. (2015) observaron que un estrés hídrico severo en la planta disminuye los rendimientos debido a la falta de agua para movilizar los carbohidratos hacia los frutos.

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos permitieron concluir que los suelos vitivinícolas de la comarca del Vinalopó Medio presentan una salinidad baja adecuada para el cultivo de la vid, mientras que el pH y el porcentaje de caliza activa son altos y el contenido de materia orgánica es bajo. De este modo, se hace necesaria la aplicación de materia orgánica y de fertilizantes de Fe para corregir el déficit que provoca la "clorosis férrica" para tener las condiciones apropiadas para este cultivo. En las parcelas seleccionadas se observó que el empleo de enmiendas orgánicas mejoró la fertilidad del suelo, aumentando el contenido en carbono orgánico oxidable y nitrógeno orgánico, y redujo el pH del suelo, mejorándose así la clorosis férrica que sufre el viñedo en la zona de estudio. También, la adición de enmiendas orgánicas aumentó, en general, la producción de uva respecto al tratamiento control, siendo este parámetro mayor en la parcelas con el sistema de conducción de la planta en espaldera y con la variedad de uva Cabernet Sauvignon. Las condiciones climatológicas de cada campaña también influyeron en la producción del viñedo.

5. Bibliografía

Bustamante M.A., Said-Pullicino D., Paredes C., Moral R., 2011. Application of winery and distillery waste composts to a Jumilla (SE Spain) vineyard: Effects on the characteristics of a calcareous sandy-loam soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 140, 80-87.

Calleja-Cervantes M.E., Fernandez-Gonzalez A.J., Irigoyen I., Fernandez-Lopez M., Aparicio-Tejo P.M., Menendez S., 2015. Thirteen years of continued application of composted organic wastes in a vineyard modify soil quality characteristics. *Soil Biology and Biochemistry* 90, 241-254.

Coulouma G., Boizard H., Trotoux G., Lagacherie P., Richard G., 2006. Effect of deep tillage for vineyard establishment on soil structure: a case study in Southern France. *Soil Tillage Res.* 88, 132-143.

Hannachi N., Cocco S., Fornasier F., Agnelli A., Brecciaroli G., Massaccesi L., Weindorf D., Corti G., 2015. Effects of cultivation on chemical and biochemical properties of dryland soils from southern Tunisia. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 199, 249-260.

Hidalgo L., 2002. *Tratado de viticultura*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 1264 pp.

Lardo E., Palese A.M., Nuzzo V., Xiloyannis C., Celano G., 2015. Variability of total soil respiration in a Mediterranean vineyard. *Soil Research* 53, 531-541.

OIV, 2011. *Databases and Statistics*. http://www.oiv.int/es/bases-de-datos-y-estadisticas/estadisticas (fecha de consulta: 08/09/2016).

Pascual R., Gil Muñoz R., Fernandez-Fernandez J.I., Del Amor F.M., Martinez-Cutillas A., García-García J., 2015. Improvement of yield and grape and wine composition in fieldgrown Monastrell grapevines by partial root zone irrigation, in comparison with regulated deficit irrigation. *Agricultural Water Management* 149, 55-73.

Rubio R., Pérez-Murcia M.D., Agulló E., Bustamante M.A., Sánchez C., Paredes C., Moral, R., 2013. Recycling of agro-food wastes into vineyards by composting: Agronomic validation in field conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 44, 502-516.

White R.E., 2009. *Understanding vineyard soils*. Oxford University Press, New York. 230 pp.

COMUNIDADES DE HONGOS ENDOMICORRÍCICOS EN SUELOS DEGRADADOS: EFECTO DE DIFERENTES TIPOS DE COMPOST SOBRE LA DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD

María del Mar Montiel-Rozas, Engracia Madejón, Paula Madejón

Av. Reina Mercedes, 10. Sevilla. E-41012 (ESPAÑA). TEL: +34 95 462 4711 .
FAX:(+34) 95 462 4002 Corresponding autor: mmontielr@irnas.csic.es

Resumen: Las comunidades de hongos endomicorrícicos (HE) juegan un papel fundamental en la tolerancia de las plantas a elementos traza (ET). Conocer los filotipos presentes en condiciones estresantes permite la formulación de inóculos más eficientes así como conocer cuál es el estado de recuperación de un suelo en función de la presencia o ausencia de determinadas especies de HE. Se analizaron, la colonización, la diversidad y la composición de las comunidades de HE asociadas a tres especies vegetales potencialmente fitoestabilizadoras (*Poa annua, Medicago polymorpha* y *Malva sylvestris*) en tres suelos degradados, dos de ellos procedentes del área afectada por el vertido minero de Aznalcóllar y otro de un área con contaminación crónica por ET. Se establecieron tres tratamientos: uno con compost de alperujo, otro con compost de biosólidos y un control. La concentraciones de Mn y Cd en las plantas estuvieron relacionadas con el nivel de diversidad de la comunidad fúngica de forma positiva y negativa, respectivamente. Asimismo, una mayor colonización de las raíces produjo un incremento de Zn y Cd en las plantas. En suelos con mayor contenido de carbono orgánico la colonizacion disminuyó aunque que las comunidades de HE fueron mas diversas. El factor "suelo" fue el que mas afectó a la composicion de las comunidades de HE así como al filotipo dominante. Sin embargo, el efecto de las enmiendas solo fue relevante en el suelo con mayor materia orgánica *per se* en el tratamiento con compost de alperujo, donde las comunidades difirieron significativamente de las encontradas en los controles.

Palabras clave: Enmienda orgánica, Calidad del suelo, Rizosfera, *Rhizophagus irregularis,* Elementos traza

1. Introducción

Debido al incremento del número de suelos potencialmente contaminados con metal(oid)es (Panagos et al., 2013), los procesos de recuperación (entre ellos la fitorecuperación) han cobrado mayor importancia. Existen diferentes parámetros para evaluar el estado de un suelo, como el pH, la disponibilidad de nutrientes, el contenido en materia orgánica o las comunidades del suelo. Entre los microorganismos, los hongos endomicorrícicos (HE) son considerados bioindicadores (Winding et al., 2005) ya que tienen una importante relevancia ecológica; por ejemplo, mejoran la resiliencia de las comunidades vegetales bajo condiciones de estrés ambiental (Barea et al., 2011).
Por tanto, conocer los factores afectan a las comunidades de HE nos ayuda a promover la recuperación de un suelo contaminado por ET mientras que conocer los filotipos adaptados a las diferentes condiciones del suelo permite establecer cuál es el estado de recuperación de un suelo. Debido a que la aplicación de enmiendas es una práctica habitual en los procesos de fitorecuperación, es esencial el estudio de su efecto sobre las comunidades de HE.
El objetivo de este trabajo fue evaluar las diferencias entre las comunidades de HE presentes en tres suelos contaminados por ET con diferentes niveles de contaminación y fertilidad, evaluando la importancia del tipo de enmienda, especie vegetal y tipo de suelo sobre la comunidad de HE.

2. Material y Métodos

Se establecieron 27 tratamientos (4 replicados/tratamiento): 3 especies vegetales (*Poa annua* L., *Medicago polymorpha* L. y *Malva sylvestris* L.) x 3 enmiendas (compost de biosólidos (BC), compost de alperujo (AC) y un control) x 3 suelos contaminados (A y B proceden del área afectada por el vertido de Aznalcóllar; C procede de una zona minera abandonada). Los valores de pH, carbono orgánico total (COT) y concentraciones pseudo-totales de ET de los suelos pueden ser consultados en Montiel-Rozas et al. (2016a).

El experimento se llevó a cabo en condiciones de semicampo y tuvo una duración de 6 meses. En el suelo rizosférico se analizó pH, COT, fósforo disponible, la concentración pseudo-total y disponible (con $CaCl_2$ 0.01M) de Cd, Cu, Mn y Zn. En plantas se analizó la concentración de ET en la parte aérea mientras que en las raíces se realizó la estimación de la colonización (Hernández-Cuevas et al., 2008) y la extracción y amplificación de ADN de HE y posterior clonación y secuenciación (descripción detallada en Montiel-Rozas et al., 2016b; números de acceso en Genbank: KX684201 - KX684854).
Para la determinación de los filotipos de HE se eliminaron las quimeras y se agruparon las secuencias al 97% de similaridad, eligiéndose una secuencia representativa de cada grupo. Estas secuencias se ordenaron en un red filogenética de vecindad (SplitsTree4) y se realizó un *monophyletic clade approach* para definir los filotipos (Lekberg et al., 2014).
Las diferencias en las variables del suelo, la colonización radicular y la diversidad se evaluaron con una ANOVA de 1 vía (considerando el tipo de suelo, la enmienda y las especies vegetales como variable independiente). Se evaluaron la normalidad (test Shapiro-Wilk) y la homocedasticidad (test de Leven). Las diferencias significativas se establecieron por el test de Tukey o T3 Dunnet ($p<0,05$), según la igualdad la varianzas. Para determinar la relación entre la colonización y las variables del suelo, se realizó una correlación de Spearman.
El índice de Shannon se calculó con la función *diversity* (paquete vegan). El efecto del tipo enmienda, de la especie vegetal y del tipo de suelo sobre la comunidad fúngica así como la importancia de las variables del suelo se analizó mediante un PERMANOVA (McArdle y Anderson, 2001). Las comunidades de HE se representaron mediante un NMDS (Non- metric Multidimensional Scaling) y las variables con efecto significativo se representaron con la función *envfit* (paquete vegan).

3. Resultados y discusión

3.1. Colonización radicular

El nivel de colonización de las raíces por HE estuvo afectado significativamente por el contenido en materia orgánica y la concentración de ET en suelo y por la especie vegetal. Sin embargo, el aporte de enmiendas no afectó de forma significativa a la colonización de acuerdo con estudios previos (Cozzolino et al., 2016).

	pH	COT	Cddisp	Cudisp	Mndisp	Zndisp	Pdisp	Total Cd	Total Cu	Total Mn	Total P	Total Pb	Total Zn
H	0.23	-0.32	**0.42#**	0.18	-0.34	0.34	**-0.58***	**0.42#**	0.25	-0.20	**-0.46#**	-0.37	0.20
V	0.03	**-0.64***	0.10	**0.47#**	-0.33	**0.61***	-0.28	0.01	-0.06	**-0.64***	**-0.39#**	**-0.44#**	-0.25
A	**0.54***	**0.49***	**0.58***	0.006	-0.25	-0.17	-0.06	**0.69***	**0.73***	**0.43#**	0.19	-0.30	**0.63***

Tabla 1. Coeficientes de correlación entre la colonización radicular (%) y las variables del suelo (pH, COT, concentración disponible y pseudototal de ET). Las correlaciones significativas están indicadas en negrita (* $p<0.01$; # $p<0.05$, n=27). H:hifas;V:vesículas;A:arbúsculos.

La colonización (así como la presencia de hifas y vesículas) disminuyó con la mejora de la calidad del suelo, reduciéndose aprox. un 20% del suelo A al suelo C. Dicha disminución estuvo asociada a una reducción en la disponibilidad de los ET (excepto Mn, Tabla 1; Affholder et al., 2014) y con el incremento de COT en el suelo. Asimismo, un aumento en la concentración de P disponible en el suelo implicó una disminución de la colonización total y del porcentaje de hifas (Tabla 1). Entre las especies vegetales estudiadas, los porcentajes de colonización fueron altos en *M. sylvestris (>60%)* y *M. polymorpha (>70%)*.

3.2. Comunidad de HE. Diversidad y composición

									% filotipos identificados		
						Suelo		Tratamiento		Especies vegetales	
Filotipo	**Correspondencia**	**Nº acceso GenBank**	**A**	**B**	**C**	**Cont.**	**AC**	**BC**	***PA***	***MP***	***MS***
Cla1	*Claroideoglomus luteum*	HQ857084.1	0.4	18.9	14	14.2	6.3	11.2	12.7	7.4	12.3
Par2	*Uncultured Paraglomus*	AB547188.1			1.1			0.9		0.9	
Aca3	*Uncultured Acaulospora*	HG969371.1			5.6	1.7	2.4	0.5	0.5	3.9	
Glo4	*Uncultured Glomus*	HM216003.1	4.1			1.7	1	1.9	3.9	0.4	0.5
Glo5	*Glomus invermaium*	LN624111.1			14.5	5.6	2.9	3.3	2.4	8.3	0.9
Glo6	*Rhizophagus intraradices*	AY541904.1	3.3			0.4	1.9	1.4		3	0.5
Glo7	***Rhizophagus irregularis***	FR750190.1	**83.9**	**69.5**	11.7	**51.5**	**70.4**	**56.3**	**58**	**61.3**	**57.5**
Glo8	*Uncultured Glomeraceae*	HE775338.1	4.5			3.9	0.5	0.5	4.4	0.9	
Glo9	*Funneliformis geosporum*	EU931263.1	2.5		6.7	1.3	2.9	4.2	2.9	0.9	4.6
Glo10	*Uncultured Glomeraceae*	JX683749.1	1.2			0.9	0.5		1	0.4	
Cla11	*Uncultured Claroideoglomeraceae*	KP265031.1			1.1			0.9			0.9
Cla12	***Claroideoglomus claroideum***	HQ857048.1		11.6	**45.3**	18.9	11.2	19.1	14.1	12.6	22.8

Se identificaron 12 filotipos pertenecientes a 4 familias de HE (de menor a mayor abundancia): Acaulosporaceae, Paraglomeraceae, Claroideoglomeraceae y Glomeraceae (Tabla 2).
La mejora de la calidad del suelo (entendida como la menor disponibilidad de Cd, Cu y Zn y un mayor contenido en COT) conllevó un cambio en la composición de la comunidad de HE; se produjo una mayor presencia de Claroideoglomus sp., en detrimento de Glomus sp.. Este cambio puede deberse a que los filotipos pertenecientes a Glomeraceae (más generalistas) tienden a dominar en suelos afectados por estrés abiótico (Lenoir et al., 2016).

Tabla 2. Filotipos identificados en los suelos de estudio (los más abundantes están resaltados en negrita). Se indica la abundancia relativa de cada filotipo en cada suelo, tratamiento y especie vegetal. La asignación de especies se realizó mediante BLAST (Genbank, similaridad >97%).PA: *P.annua*; MP: *M.polymorpha*; MS: *M. sylvestris*.

De igual manera, las comunidades más diversas se encontraron en el suelo de mayor calidad (Suelo A (Shannon=0,53) < Suelo B (Shannon= 0,69) < Suelo C (Shannon= 1,08)). Los valores de diversidad fueron similares a los encontrados en otros suelos contaminados por ET (Hassan et al.,

2011), y bastante inferiores a los encontrados en suelos no alterados (Lekberg et al., 2013). A diferencia de otros estudios (Qin et al., 2015), las enmiendas no incrementaron la diversidad en ninguno de los suelos.

Figura1. Ordenación NMDS de las comunidades de HE. Las variables significativas (COT, pH, Mn y Cd disponible, Cd en planta, $p< 0.05$ en PERMANOVA, Cu disponibles, $p<0.1$) están incluidas en la ordenación. AC, triángulo; BC, círculo; C, cuadrado. *P. annua*, rojo; *M. polymorpha*, amarillo; *M. sylvestris*, verde.

Tanto los factores abióticos del suelo ($p=0.001$, $R_2=0,64$) como la planta hospedadora ($p=0,014$, $R_2=0,062$) tuvieron un efecto significativo sobre la comunidad de HE (Figura 1, Dumbrell et al., 2010). Entre las variables del suelo, el contenido en COT ($p<0.001$, $R_2=0.40$) fue la principal variable que afectó a la comunidad fúngica, seguido de la disponibilidad de ET (exceptuando el Zn). Por otro lado, tanto el Cd como el Mn pseudo totales tuvieron un efecto significativo sobre la comunidad de HE y, en menor medida, la concentración de Cd en la planta (Figura 1). A diferencia de lo encontrado en otros estudios (Toljander et al., 2008) la aplicación de enmiendas no afectó a la composición de la comunidad de HE. La única diferencia se encontró entre los filotipos identificados en el tratamiento con CB y el resto de tratamientos, debido a la presencia de Par2 y la ausencia de Glo10 (Tabla 2).

4. Conclusiones

El contenido en materia orgánica del suelo (nativa, no procedente de la aplicación de enmiendas) fue el factor que tuvo un mayor efecto sobre la composición de la comunidad de HE en suelos contaminados. La concentración de ET y la planta hospedadora también afectaron a la comunidad de HE, aunque en menor grado. Es destacable el nulo o escaso efecto que tuvo la aplicación de ambas enmiendas sobre la comunidad fúngica.
La familia dominante de HE varió acorde a las condiciones del suelo; con la mejora de la calidad del suelo (mayor contenido en materia orgánica y menor disponibilidad de ET) disminuyeron los filotipos pertenecientes a Glomeraceae mientras que aumentaban los pertenecientes a Claroideoglomeraceae. De acuerdo a los resultados obtenidos, la identificación de los filotipos de HE presentes en diferentes escenarios de contaminación nos permite su uso como bioindicadores del estado del suelo.

5. Bibliografía

Affholder M.C., Pricop A.D., Laffont-Schwob I., Coulomb B., Rabier J., Borla A., Prudent P., 2014. As, Pb, Sb, and Zn transfer from soil to root of wild rosemary: Do native symbionts matter? *Plant Soil* 382, 219–236.

Barea J.M., Palenzuela J., Cornejo P., Sánchez-Castro I., Navarro-Fernández C., López-García A., Estrada B., Azcón R., Ferrol N., Azcón-Aguilar C., 2011. Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. *J. Arid Environ.* 75, 1292–1301.

Cozzolino V., De Martino A., Nebbioso A., Di Meo V., Salluzzo A., Piccolo A., 2016. Plant tolerance to mercury in a contaminated soil is enhanced by the combined effects of humic matter addition and inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. *Environ. Sci. Pollut. R.* 23, 11312-11322.

Dumbrell A.J., Nelson M., Helgason T., Dytham C., Fitter A.H., 2010. Relative roles of niche and neutral processes in structuring a soil microbial community. *The ISME Journal* 4, 337–345.

Hassan S.E.D., Boon E., St-Arnaud M., Hijri M., 2011. Molecular biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trace metal-polluted soils. Mol. Ecol. 20, 3469–3483.

Hernández–Cuevas L., Guadarrama–Chávez P., Sánchez–Gallén I., Ramos–Zapata J., 2008. Micorriza arbuscular: colonización intrarradical y extracción de esporas. In: Álvarez–Sánchez, J., Monroy–Ata, A. (Eds.). Técnicas de Estudio de las Asociaciones Micorrízicas y sus Implicaciones en la Restauración. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., pp. 1– 15.

Lekberg Y., Gibbons S.M., Rosendahl S., Ramsey P.W., 2013. Severe plant invasions can increase mycorrhizal fungal abundance and diversity. *The ISME Journal* 7, 1424–1433.

Lekberg Y., Gibbons S.M., Rosendahl S., 2014. Will different OTU delineation methods change interpretation of arbuscular mycorrhizal fungal community patterns? *New Phytol.* 202, 1101–1104.

Lenoir I., Fontaine J., Lounès-Hadj Sahraoui A., 2016. Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: A review. *Phytochemistry* 123, 4–15.

McArdle B.H., Anderson M.J., 2001. Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology* 82, 290–297

Montiel-Rozas M.M., Madejón E., Madejón P., 2016a. Effect of heavy metals and organic matter on root exudates (low molecular weight organic acids) of herbaceous species: An assessment in sand and soil conditions under different levels of contamination. *Environ. Pollut.* 216, 273-281.

Montiel-Rozas M.M., López-García Á., Kjøller R., Madejón E., Rosendahl S., 2016b. Organic amendments increase phylogenetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in acid soil contaminated by trace elements. *Mycorrhiza* 26, 575-585.

Panagos P., Van Liedekerke M., Yigini Y., Montanarella L. 2013. Contaminated sites in Europe: review of the current situation based on data collected through a European network. *J. Environ. Public Health* ID 158764.

Qin H., Lu K., Strong P.J., Xu Q., Wu Q., Xu Z., Wang H., 2015. Long-term fertilizer application effects on the soil, root arbuscular mycorrhizal fungi and community composition in rotation agriculture. *Appl. Soil Ecol.* 89, 35–43.

Toljander J.F., Santos-González J.C., Tehler A., Finlay R.D., 2008. Community analysis of arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria in the maize mycorrhizosphere in a long-term fertilization trial. *FEMS Microbiol. Ecol.* 65, 323–338.

Winding A., Hund-Rinke K., Rutgers M., 2005. The use of microorganisms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotox. Environ. Safe.* 62, 230–248.

6. Agradecimientos

Este estudio se llevó a cabo gracias al proyecto AGL2014-55717-R, financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER (UE).

GESTIÓN DE LA BIOMASA DE *Phoenix dactylifera* II: COMPOSTAJE DE HOJA DE PALMERA CON LODOS DE DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS Y AGROINDUSTRIALES

Maria Dolores Pérez-Murcia[1], Enrique Agulló[1], Xavier Barber[2], Alberto Vico[1], Jose Antonio Saez-Tovar[1], Concepción Paredes[1], Aurelia Pérez-Espinosa[1], Maria Angeles Bustamante[1], Raul Moral[1]

[1]Depto. Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández, EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[2]CIO-UMH, Universidad Miguel Hernández, Avda Universidad sn, 03202-Elche (Alicante)
Correo electrónico: xbarber@goumh.umh.es

Resumen: En este trabajo se ha evaluado el proceso de co-compostaje de residuos de hoja de palmácea y lodos de depuración de aguas urbanas y agroindustriales con el objetivo de mejorar la gestión de ambos flujos residuales. Para ello, se prepararon 4 mezclas de compostaje, utilizando como materiales iniciales hoja de palmera (HP) en una proporción del 55 ± 5% respecto a materia seca, junto distintos lodos de depuradora, tres de ellos procedentes de la depuración de aguas residuales urbanas (EDAR) y uno de la depuración de aguas residuales agroindustriales (EDARI). Durante el proceso se han evaluado parámetros físico-químicos, químicos y térmicos, así como parámetros físicos y químicos en los compost finales. Los resultados han mostrado la viabilidad del proceso de compostaje como método para la estabilización de estos residuos, aunque la alta salinidad de los compost finales podría limitar su uso en algunos sectores agrícolas.

Palabras clave: compost, residuos de palmera, lodos agroindustriales, lodos depuradora.

1. Introducción

En los países del área mediterránea existe un importante flujo de residuos vegetales procedentes de la poda de especies palmáceas de áreas urbanas y periurbanas, los cuales generalmente son quemados o depositados en vertedero, causando serios problemas medioambientales. Cada palmera produce alrededor de 20 kg de hojas secas anualmente (Alkoaik et al., 2011). Por ello, el reciclaje de estos residuos en la agricultura, después de un proceso de estabilización apropiado como el compostaje, sería interesante en estas mismas zonas, con suelos degradados y deficitarios en materia orgánica. El compostaje es una alternativa atractiva no sólo para el tratamiento de estos residuos por su bajo impacto ambiental y bajo costo (Bustamante et al., 2008), sino también porque se obtiene un producto valorizable como biofertilizante que permitiría el incrementar la fertilidad y el contenido en materia orgánica en los suelos del área mediterránea. Adicionalmente, otro potencial uso alternativo sería como biosustrato (Perez-Murcia et al., 2005), reduciendo así los problemas asociados al uso de la turba. Por ello, este estudio pretende evaluar la viabilidad del co-compostaje para la gestión de los residuos de especies palmáceas con lodo de depuradora, tanto de origen urbano como agroindustrial, así como para el desarrollo de biosustratos y biofertilizantes para su uso agrícola.

2. Material y métodos

Se prepararon a escala comercial cuatro pilas de compostaje de 15 m^3, usando hoja de palmera (HP) y distintos lodos de depuradora, tres de ellos procedentes de la depuración de aguas residuales urbanas (EDAR) y uno procedente de la depuración de aguas residuales agroindustriales (EDARI). Los compost se desarrollaron en las instalaciones de COMPOLAB-UMH, mediante el sistema de compostaje de volteo. Los lodos de origen urbano procedían de las estaciones depuradoras de los municipios de Orihuela (EDAR 1 y 2) y Carrizales (EDAR 3). En la planta de Orihuela las aguas son tratadas mediante un proceso biológico de inyección directa de aire mediante difusores. Los lodos se estabilizan por digestión aerobia, se espesan y finalmente, se deshidratan mediante filtros banda. En la planta de Carrizales las aguas son tratadas

mediante un proceso de fangos activos de aireación prolongada, con eliminación de nutrientes (el fósforo se elimina por precipitación química) y los lodos son espesados y finalmente, deshidratados con decantadores centrífugos. El lodo EDARI 1 procedía de una industria de procesado de fruta (campaña de pera) y se obtuvo tras flotación por cavitación, desnitrificación, aireación forzada MTS y clarificación en reactor USBF. Los lodos obtenidos fueron espesados por gravedad y deshidratados mediante centrífuga. La hoja de palmera utilizada en los procesos de compostaje fue cortada, secada al aire, triturada y normalizada su granulometría a tamaño < 5 cm. La proporción en base a materia seca de HP en las pilas estuvo en el rango de 55 ± 5%. Las principales características físico-químicas y químicas de los materiales iniciales se muestran en la Tabla 1. Los lodos presentaron una alta humedad (70-92%), pH cercano a la neutralidad, CE más elevada para el lodo EDARI, salvo para el lodo EDAR 3 que resultó ligeramente ácido y relación C/N baja, aunque algo superior en el caso del lodo EDARI. La hoja de palmera presentó una humedad en torno al 35%, CE alta, pH cercano a la neutralidad y relación C/N alta.

Durante el compostaje, la temperatura y la humedad (nunca inferior a 40%) se controlaron añadiendo el agua necesaria y volteando la pila cada 7-12 días aprox. La fase bio-oxidativa se completó cuando la temperatura de las pilas fue estable y próxima a la del ambiente. Se realizaron 4 muestreos: inicio, etapa termófila, final de la fase bio-oxidativa y madurez (45 días después de final de la fase bio-oxidativa). Las muestras se secaron al aire y tamizaron a 0,5 mm para realizar las determinaciones analíticas. Los parámetros se determinaron según los métodos descritos por Bustamante y col. (2012). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Tabla 1. Características de los materiales utilizados como ingredientes en las pilas de compostaje.

Parámetro	Hoja palmera	EDAR 1	EDAR 2	EDAR 3	EDARI
Humedad (%)	35,1	73,9	75,5	81,0	91,8
pH	6,8	7,1	6,8	6,1	7,2
CE (dS/m)	7,3	3,3	2,1	4,4	5,1
MO (%)	91,4	68,7	64,8	66,8	52,4
Corg (%)	44,1	37,8	35,8	43,6	34,5
NT (%	2,0	5,9	5,8	5,5	3,3
C/N	24,2	6,4	6,2	7,9	10,4
P (g/kg)	1,7	17,8	27,8	26,2	5,9
K (g/kg)	19,9	1,7	2,2	2,4	5,7
Na (g/kg)	4,8	2,1	2,5	3,7	14,6

CE: conductividad eléctrica; MO: materia orgánica; Corg: Carbono orgánico total; NT: nitrógeno total.

3. Resultados y discusión

La figura 1 muestra la evolución térmica de las pilas elaboradas expresadas mediante el índice EXI2 (sumatorio cuadrático de la diferencia diaria entre la temperatura promedio de la pila y la temperatura ambiente). Este índice permite comparar procesos de compostaje complejos a nivel de exotermia global y es útil en diseño de mezclas. Las mezclas de HP con lodo de Orihuela (EDAR 1 y 2) mostraron un proceso más intenso y con una mayor eficiencia a nivel exotérmico que el resto de mezclas, tal como se observa en el índice EXI2 (tabla 3) y cuando se normaliza para el número de días de fase bio-oxidativa (ratio EXI2/días f. bio-oxid.). Esto se produjo de forma general y específica dentro de cada tipo de lodo, no estando ligado al número de días en fase termófila. El proceso de co-compostaje de HP con lodo EDARI fue el que mostró menor intensidad a nivel exotérmico, desarrollándose la fase termófila en un periodo más corto que el resto. La fase termófila de cada uno de los procesos fue intensa y duradera, asegurando la eliminación de patógenos en la pila, especialmente importante en este tipo de residuos. En las pilas con lodo EDAR los valores de pH disminuyeron ligeramente o prácticamente no cambiaron durante el proceso, resultando los compost ligeramente ácidos y en la pila con lodo EDARI, el compost resultó ligeramente básico, (Tabla 2). Todos los compost estuvieron dentro del rango adecuado para su uso agrícola (6,0-8,5) (Hogg y col., 2002). La conductividad eléctrica fue alta al inicio, principalmente debido al uso de HP en las mezclas, y siguió aumentando a lo largo del proceso, especialmente en las pilas EDAR 1 y EDAR 2, debido a la producción de compuestos inorgánicos procedentes de la degradación de la materia orgánica y su concentración relativa por pérdida de masa de la pila. Los compost maduros obtenidos (Tabla 3) presentaron valores altos

de CE (7,8-9,3 dS/m) lo cual supone una limitación para su uso agrícola, al poder inducir salinidad en el suelo e inhibición de la germinación de semillas (Hargreaves y col., 2008).

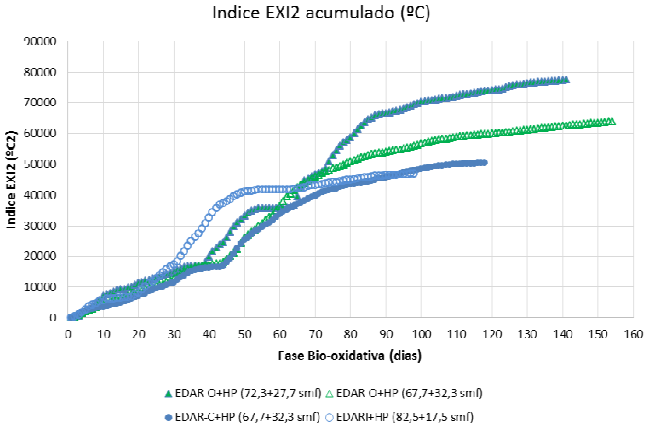


Figura 1. Evolución del índice EXI2 acumulado en la fase bio-oxidativa para las pilas ensayadas.

Tabla 2. Evolución de los principales parámetros físico-químicos y químicos durante el compostaje.

Fase de compostaje	pH	CE (dS/m)	MO (%)	Pérdida MO (%)	TOC/TN	COT (%)	NT (%)	P (g/kg)	K (g/kg)
72,3% EDAR 1 + 27,7% HP (s.m.f.) [46,6:53,4 s.m.s.]									
Inicio	6,4	5,3	82,4	0,0	23,1	41,5	1,81	7,0	10,6
Termófila	6,0	8,6	70,7	48,6	11,1	36,0	3,24	-	-
Final bio-oxidativa	6,0	10,1	60,3	67,5	9,5	33,2	3,51	-	-
Madurez	6,1	9,3	44,3	82,8	8,5	30,0	3,53	13,9	14,6
67,7% EDAR 2 + 32,3% HP s.m.f. [42,2:57,8 s.m.s.]									
Inicio	6,7	4,7	78,6	0,0	11,6	37,2	3,2	9,4	8,9
Termófila	6,2	6,3	71,6	31,0	11,3	35,3	3,1	-	-
Final bio-oxidativa	5,9	9,4	61,0	56,6	9,6	29,0	3,0	-	-
Madurez	6,0	8,9	63,7	52,8	8,7	30,2	3,5	15,5	14,8
67,7% EDAR 3 + 32,3% HP s.m.f. [36,2:63,8 s.m.s.]									
Inicio	6,6	5,0	80,4	0,0	15,1	40,9	2,7	8,6	7,6
Termófila	6,2	8,1	70,1	43,0	11,5	35,7	3,1	-	-
Final bio-oxidativa	6,3	9,6	62,2	59,9	9,4	30,0	3,2	-	-
Madurez	6,1	7,8	61,5	61,2	9,7	30,6	3,2	16,3	14,2
82,5% EDARI + 17,5% HP s.m.f. [42,8:57,2 s.m.s.]									
Inicio	7,4	5,7	80,8	0,0	16,0	40,4	2,5	3,5	13,2
Termófila	7,5	6,5	77,9	16,6	14,7	38,6	2,6	-	-
Final bio-oxidativa	7,5	7,9	71,3	41,0	11,6	35,8	3,1		
Madurez	7,4	8,3	70,1	44,4	12,0	35,7	3,0	5,4	23,5

CE: conductividad eléctrica; MO: materia orgánica; COT: carbono orgánico total; NT: nitrógeno total.

Los contenidos de materia orgánica (MO) descendieron en todas las pilas durante el proceso, especialmente en la etapa termófila, como consecuencia de los procesos de mineralización de la fracción orgánica (Tabla 2). Los valores de MO en los compost finales fueron de 44,3, 63,7, 61,5 y 70,1 % para los elaborados con lodo EDAR 1, EDAR 2, EDAR 3 y EDARI, respectivamente. La mayor pérdida de MO se dio en la pila con lodos EDAR 1 estabilizados aeróbicamente y en la que se produjo mayor exotermia (EXI2). El contenido de NT se incrementó a lo largo del proceso por el efecto concentración, debido a la pérdida de peso de la pila por degradación de materia orgánica y a la posible fijación biológica de nitrógeno. Los valores en los compost finales estuvieron entorno al 3% de NT. El contenido del resto de nutrientes (P y K) aumentó durante el compostaje, probablemente debido también al efecto concentración. Todos los compost obtenidos (Tabla 3) mostraron un adecuado grado de madurez, tal como se refleja en índices de madurez,

como la capacidad de cambio catiónico (CCC), relación CCC/Cot, así como ausencia de fitotoxicidad, según los criterios descritos por Bernal y col. (2009).

Tabla 3. Parámetros de calidad en los compost finales.

Parámetro	EDAR 1 + HP: 72,3-27,7% s.m.f.	EDAR 2 + HP: 267,7-32,3% s.m.f.	EDAR 3 + HP: 67,7-32,3% s.m.f.	EDARI + HP: 82,5-17,5% s.m.f.
Índice EXI2 (ºC^2)	77345	63838	50535	46961
Nº Días F.Bio-oxid/ >40ºC	139/49	152/71	116/80	96/27
Ratio EXI2/dias f. bioxid.	556	420	436	489
CE (dS/m)	9,3	8,9	7,8	8,3
CCC (meq/100g MOT)	84	196	136	179
CCC/Cot (meq/g Cot)	1,24	4,10	2,70	3,51
IG (%)	60	114	68	87
D. aparente (g/cm3)	0,20	0,20	0,22	0,17
EPT (%)	90,2	89,6	88,7	89,9
Contracción (%)	15,3	30,7	28,9	24,4
CRA (mL agua/L)	313	413	449	333
Contenido aire (%)	58,8	48,3	43,8	56,6

EXI2: sumatorio cuadrático de la diferencia diaria entre la temperatura promedio de la pila y la temperatura ambiente; CE: conductividad eléctrica; CCC: capacidad de intercambio catiónico; Cot: carbono orgánico total; IG; índice de germinación; D: densidad; EPT: espacio poroso total; CRA: capacidad de retención de agua

EFECTO DE LA MICROBIOTA DEL COMPOSTAJE SOBRE LA ELIMINACIÓN DEL OOMICETO FITOPATÓGENO *PHYTOPHTHORA CAPSICI*: POSIBLES MECANISMOS DE COMPETENCIA Y ANTIBIOSIS

Juan Antonio López-González, Francisca Suárez-Estrella, Macarena del Mar Jurado, María del Carmen Vargas-García, María José López y Joaquín Moreno

Área de Microbiología, Departamento de Biología y Geología, Universidad de Almería, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario ceiA3, lgj132@ual.es

Resumen: La pila de compostaje constituye un ecosistema en el que conviven diversas poblaciones de hongos y bacterias que pueden resultar beneficiosos o perjudiciales. Gracias a las altas temperaturas alcanzadas en el interior de la pila, gran parte de los microorganismos fitopatógenos existentes en un proceso de compostaje de restos vegetales son eliminados, por lo que, en términos generales, se considera éste un potente tratamiento para el control de enfermedades vegetales. Sin embargo, junto con el factor temperatura, otros aspectos de origen biótico podrían favorecer la eliminación de agentes fitopatógenos mediante fenómenos de competencia y antibiosis.

De forma tradicional, la enfermedad denominada como *damping-off* en semilleros, es causada por un complejo grupo de hongos y oomicetos. En ocasiones, son capaces de impedir la germinación de las semillas, en otras pudren la raíz recién emergida, o causan podredumbre del cuello de la raíz, provocando la caída de plántulas sobre el sustrato.

El objetivo que se plantea en este trabajo tendrá por tanto una doble finalidad. Por un lado, el esclarecimiento de los posibles mecanismos de origen biótico que podrían estar implicados en la eliminación del oomiceto fitopatógeno *Phytophthora capsici* (agente causante de *damping-off*) a lo largo de un proceso de compostaje de restos vegetales. Por otro, el aislamiento y selección de aquellas cepas microbianas que se caractericen por su capacidad para suprimir o inhibir el desarrollo *in vitro* e *in vivo* de este importante agente fitopatógeno, mediante la producción de sustancias tales como sideróforos, ácido salicílico, hidrolasas o cianuro.

Palabras clave: control biológico, *damping off*, antagonismo, cianuro, quitinasas

1. Introducción

Algunos de los microorganismos antagonistas más comunes utilizados en el control biológico del *damping off* pertenecen a los géneros *Pseudomonas, Bacillus* y *Burkholderia* (Ramarathnam y col., 2011; El-Hassan y col., 2013) cuya presencia en materiales compostados es muy significativa. Su implicación, tanto en la capacidad supresiva de un compost como en su capacidad para promover el crecimiento vegetal es bien conocida (Haruta y col., 2005). En este caso, la eficacia de tales agentes microbianos en el control de enfermedades, está relacionada con numerosos mecanismos tales como la producción de antibióticos, sideróforos, enzimas de tipo hidrolasas o cianuro de hidrógeno (Akgül y Mirik, 2008; Ozyilmaz y Benlioglu, 2013).

El objetivo global que se plantea en este trabajo pretende el abordaje, por un lado, de los posibles mecanismos de origen biótico que podrían estar implicados en la eliminación del oomiceto fitopatógeno *Phytophthora capsici* (agente causante de *damping-off*) a lo largo de un proceso de compostaje de restos vegetales. Por otro lado, el aislamiento y selección, a partir de muestras de compost, de cepas microbianas que se caractericen por su capacidad para suprimir o inhibir el desarrollo de este importante agente fitopatógeno, mediante la producción de sustancias como sideróforos, ácido salicílico, hidrolasas o cianuro.

2. Material y Métodos

La colección de bacterias a partir de la cual se llevó a cabo el estudio, se obtuvo a partir de un proceso de compostaje de restos vegetales, cuya duración estuvo en torno a 180 días. Durante dicho proceso se realizaron un total de 19 muestreos, que globalmente pudieron clasificarse en 4 etapas: mesófila, termófila, enfriamiento y maduración (**Tabla 1**). En todos los muestreos, se tuvieron en cuenta dos rangos térmicos bien diferenciados: 30 ºC, para el aislamiento de cepas mesófilas (BM) y 50 ºC para el aislamiento de cepas termófilas (BT).

Tabla 1. Escala de tiempo de las distintas fases del compostaje en las que se realizó la toma de muestras

Etapas del Proceso	Tiempo (días)
Mesófila	0, 1, 8, 14[1], 15, 26[1], 28
Termófila	2, 5, 7[1], 9, 12, 16
Enfriamiento	42, 56, 63[1]
Maduración	119, 168, 189

Dicha colección se ensayó frente al crecimiento *in vitro* del oomiceto fitopatógeno *Phytophthora capsici* CECT 20433, siguiendo las técnicas descritas por Landa y col. (1997). Con el objeto de buscar agentes productores de sustancias implicadas en mecanismos de control biológico se prepararon cultivos de las cepas en medio King B modificado (Sánchez y col., 2003) y transcurrido el tiempo de incubación, se llevó a cabo la búsqueda de las siguientes actividades en todos los individuos de la colección (**Tabla 2**):

Tabla 2. Protocolos aplicados para la detección de sustancias implicadas en control biológico

Metabolito	Protocolo original	Lectura de la prueba	Referencias
Sideróforos	Solución de Cromo-Azurol S	Color marrón/naranja	Schwyn y Neilands, 1987
Ácido salicílico	ClH 2N + Cloruro Férrico 0,1%	Color rosa/púrpura	Gil y Martínez-Merino, 2007
Quitinasas	Agar con quitina coloidal	Halos de aclaramiento	Garbeva y col., 2004
Cianuro	Solución de picrato alcalino	Color marrón/ladrillo	Devi y col., 2007

Se seleccionaron finalmente aquellas cepas que mostraron un perfil positivo para la inhibición del crecimiento *in vitro* de *P. capsici* y para alguna de las 4 actividades analizadas. Dichas cepas fueron identificadas mediante la secuenciación del gen que codifica la unidad 16S del ARN ribosomal. Posteriormente, con el objeto de probar el efecto supresor *in vivo* de las cepas seleccionadas sobre el *damping off* provocado por *P. capsici*, se llevó a cabo un ensayo preliminar en plántulas de pimiento siguiendo el protocolo empleado previamente por Kim y col. (2008).

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se llevó a cabo mediante un análisis multifactorial de la varianza (ANOVA). Tanto los análisis de Mínima Diferencia Significativa (LSD) como los diagramas de dispersión de los datos se realizaron teniendo en cuenta un nivel de confianza del 95%.

3. Resultados y Discusión

Más de 500 cepas procedentes de una colección de bacterias mesófilas y termófilas se ensayaron frente al crecimiento del oomiceto fitopatógeno *P. capsici.* Los resultados obtenidos se expresaron *a priori* como positivos o negativos, en función de que la cepa manifestara inhibición en el crecimiento del patógeno *in vitro.* Teniendo en cuenta que se conocía la procedencia exacta de cada una de las cepas respecto a la etapa del compostaje a partir de la que fueron aisladas, se ha intentado simular qué ocurriría con *P. capsici* en el interior de una pila de compostaje que

albergara cada una de las cepas ensayadas (**Figura 1**). De este modo, en la Figura 1, se indica en valores absolutos el número de cepas de la colección (tanto aislados en el programa de mesofilia como de termofilia) que fueron capaces de inhibir el crecimiento *in vitro* de *P. capsici*. Como puede observarse en la Figura 1 (izqda), la presencia de aislados microbianos que inhibieron el crecimiento del hongo fue evidente y continuada en el tiempo, hasta que finalizó el proceso de compostaje. Hay que destacar que, en términos generales, se detectó un mayor número de cepas termófilas antagonistas (círculos naranjas). Por otro lado, aunque en torno a la fase de enfriamiento, parece detectarse un ligero descenso en el número de cepas antagonistas, dicho efecto vuelve a recuperarse posteriormente durante la etapa de maduración (**Figura 1, dcha**).

De forma paralela al screening de antagonismo, se llevó a cabo la búsqueda de agentes productores de sustancias de interés (sideróforos, ácido salicílico, cianuro y enzimas de tipo quitinasas). Con el objeto de seleccionar las cepas de mayor potencial, se consideró como criterio imprescindible que estas ejercieran un efecto antagonista sobre *P. capsici* superior al 75%, y que adicionalmente, fueran capaces de producir el mayor número de metabolitos implicados en mecanismos de control biológico (**Tabla 3**).

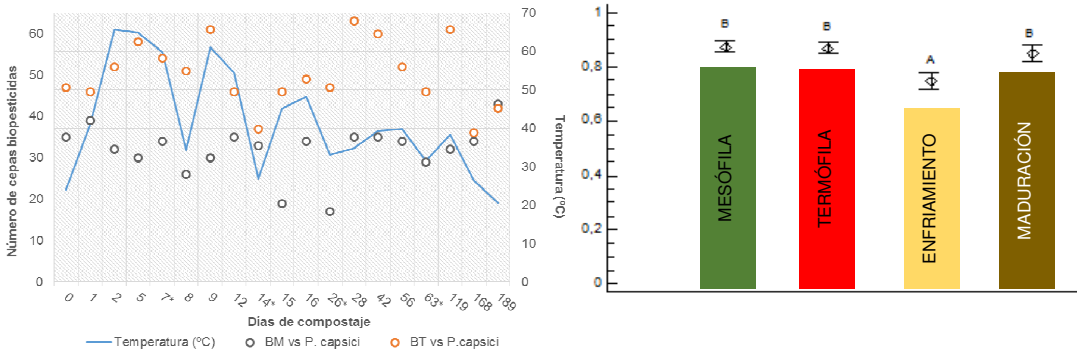


Figura 1. (a) Número total de cepas mesófilas (BM) y termófilas (BT) durante un proceso de compostaje de restos hortícolas que inhiben el crecimiento *in vitro* de *P. capsici*; (b) Test LSD (mínima diferencia significativa al 95% de nivel de confianza) que muestra los distintos grupos de homogeneidad para la variable Media de Cepas Antagonistas a lo largo de un proceso de compostaje

Siguiendo este criterio, se seleccionaron 16 cepas capaces de inhibir el crecimiento del oomiceto fitopatógeno, aunque sólo 4 de ellas fueron capaces de mostrar índices de inhibición superiores al 75% (**Tabla 3**). Hay que destacar que 12 cepas del total de las seleccionadas fueron identificadas como *Bacillus* spp. (9) y *Pseudomonas* spp. (3). Los resultados obtenidos en este caso corroboran en parte lo observado en ensayos previos, llevados a cabo por Akgül y Mirik (2008) y Ozyilmaz y Benlioglu (2013), quienes pudieron comprobar la actividad antagonista de determinadas cepas de *Bacillus* y *Pseudomonas* sobre el crecimiento de *Phytophthora* spp. Sin embargo, desde el punto de vista de su potencial como agente de control biológico, la cepa *Geobacillus thermodenitrificans* 3750 fue la que destacó, no sólo por su efecto antagonista sobre el crecimiento de *P. capsici* de forma significativa, sino también por su capacidad para producir *in vitro* sideróforos, ácido salicílico, quitinasas y cianuro (**Tabla 3**). Se conoce que varias de las actividades citadas podrían tener efecto directo sobre el crecimiento de hongos productores de *damping off* en semilleros (Zdor, 2014), por lo cual la cepa 3750, se

convirtió en la mejor candidata para llevar a cabo un ensayo preliminar de control de *damping off,* en plántulas de pimiento infectadas de forma artificial con el agente fitopatógeno (**Figura 2**).

Tabla 3. Caracterización de las mejores cepas biopesticidas frente a *P. capsici* y producción de metabolitos de interés (+ positivo; - negativo; * efecto antagonista superior al 75% frente al crecimiento *in vitro* de *P. capsici*)

		Producción de sustancias[1]				
Código	**Identidad**	**SID**	**SAL**	**QUIT**	**CIAN**	***P. capsici***
2092	*Pseudomonas stutzeri*	+	-	-	-	+
2124	*Corynebacterium stationis*	+	-	-	-	+
2167	*Bacillus subtilis*	-	+	+	-	+
2265	*Bacillus subtilis*	-	+	-	-	+
2296	*Bacillus pumilus*	+	-	-	+	+
2298	*Bacillus megaterium*	+	-	-	-	+
2303	*Bacillus aerophilus*	+	-	-	-	+
2416	*Pseudomonas stutzeri*	-	+	-	-	+
2449	*Staphylococcus succinus*	+	-	-	+	+
2624	*Bacillus pumilus*	+	-	-	-	+
2653	*Cellulosimicrobium funkei*	+	-	-	+	*
2668	*Pseudomonas stutzeri*	-	-	+	+	+
2727	*Bacillus subtilis*	+	-	-	-	+
3358	*Bacillus mojavensis*	+	+	+	-	*
3654	*Bacillus subtilis*	-	-	-	+	*
3750	*Geobacillus thermodenitrificans*	+	+	+	+	*

[1] SID: Sideroforos; SAL: Salicílico; QUIT: Quitinasas; CIAN: Cianuro

La aplicación de la cepa *G. thermodenitrificans* 3750 dio lugar a un descenso notable de los síntomas producidos por *P. capsici* en las plántulas de pimiento infectadas (Control +), equiparándose al grupo de plantas no tratadas con el patógeno (Control -); este hecho, convierte a la cepa 3750 en un potente agente de control biológico de gran utilidad en semilleros. Aun siendo este un ensayo preliminar, realizado sobre pimiento y con un agente fitopatógeno concreto, se espera poder ampliar el ensayo a otros agentes productores de *damping off* con el objeto de ampliar el espectro de inhibición.

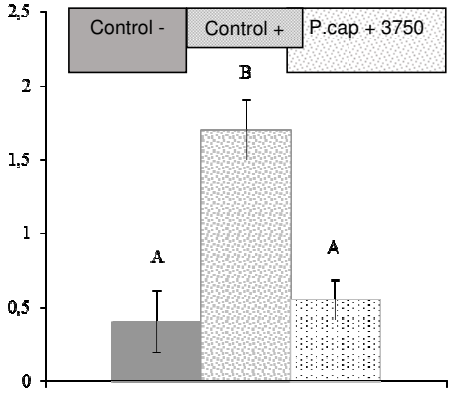


Figura 2. Efecto supresivo de *G. denitrificans* 3750 sobre los síntomas causados por *P. capsici* en plántulas de pimiento (0: planta sana; 1: síntomas leves de decaimiento; 2: déficit de crecimiento notable; 3: planta muerta). Los grupos homogéneos significativamente diferentes se indican en letras mayúsculas (Test LSD a un nivel de confianza del 95%).

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos corroboran el hecho de que durante el compostaje, junto al efecto higienizante de las altas temperaturas, una importante comunidad microbiana se encuentra

expresamente implicada en los procesos de eliminación de patógenos, lo cual permite obtener productos de gran calidad fitosanitaria. La cepa *G. denitrificans* 3750, aislada de un proceso de compostaje, ha demostrado ser altamente eficaz frente al oomiceto fitopatógeno *P. capsici.* Hay que destacar, además, que esta cepa es termotolerante, lo cual le daría cierta ventaja a la hora de ejercer su actividad como agente de control a lo largo del proceso de compostaje.

5. Bibliografía

Akgül, D.S., Mirik, M., 2008. Biocontrol of *Phytophthora capsici* on pepper plants by *Bacillus megaterium* strain. *J Plant Pathol,* 90(1), 29-34.

Devi, K.K., Seth, N., Kothamasi, S., Kothamasi, D., 2007. Hydrogen cyanide-producing rhizobacteria kill subterranean termite *Odontotermes obesus* (Rambur) by cyanide poisoning under *in vitro* conditions. *Current Microbiol,* 54(1), 74-78.

Garveba, P., van Veen, J.A., van Elsas, J.D., 2004. Assessment of the diversity, and antagonism towards *Rhizoctonia solani* AG3, of *Pseudomonas* species in soil from different agricultural regimes. *FEMS Microbiol Ecol,* 47, 51-64.

Gil, M.J., Martínez-Merino, V., 2007. Determination of the free salicylic acid concentration in aspirin by forming Fe+3 complexes. http://www.iupac.org/fileadmin/user_upload/publications/cd/Medicinal-Chemistry/Practica-I-11.pdf (fecha de consulta: 26/11/2014).

Haruta, S., Nakayama, T., Nakamura, K., Hemmi, H., Ishii, I., Igarashi, I., Nishino, T., 2005. Microbial diversity in biodegradation and reutilization processes of garbage. *J Biosci Bioeng,* 99, 1-11.

Kim, H.S., Sang, M.K., Jeun Y.C., Hwang, B.K., Kim, K.D., 2008. Sequential selection and efficacy of antagonistic rhizobacteria for controlling Phytophthora blight of pepper. *Crop Prot*, 27(3–5), 436-443,

Landa, B.B, Hervás, A., Bettiol, W., Jiménez-Díaz, R.M., 1997. Antagonistic activity of bacteria from chickpea rhizosphere against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris. Phytoparasitica* 25, 305-38.

Ozyilmaz U., Benlioglu K., 2013. Enhanced biological control of Phytophthora blight of pepper by biosurfactant-producing pseudomonas. *Plant Pathol J* 29(4), 418-26.

Sánchez, L., Ortiz, S., Hernández, A., 2003. Obtención de sideróforos a partir de *Burkholderia cepacia* y optimización del medio de cultivo para su producción. *Revista de Salud Animal*, 25(1), 27-23.

Schwyn, B., Neilands, J.B., 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal Biochem* 160, 47-56.

Zdor, R., 2014. Bacterial cyanogenesis: impact on biotic interactions. *J Appl Microbiol* 118, 267-274.

6. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través del proyecto AGL2012-36434.

FACTORES BIÓTICOS IMPLICADOS EN LA ELIMINACIÓN DE *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* DURANTE EL PROCESO DE COMPOSTAJE: ANTIBIÓTICOS Y OTRAS SUSTANCIAS DE INTERÉS

N. Sánchez-San Fulgencio, F. Suárez-Estrella, M.C. Vargas-García, M.J. López y J. Moreno

Área de Microbiología. Dpto. Biología y Geología. CITE-IIB, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario ceiA3, Universidad de Almería, 04120, Almería, farmamesa@gmail.com

Resumen

Gran parte de los microorganismos patógenos existentes durante un proceso de compostaje de restos vegetales son eliminados mediante mecanismos diversos entre los que cabe destacar las altas temperaturas generadas durante la fase termófila. Sin embargo, otros factores implicados son la producción, por parte de la microbiota autóctona del proceso, de enzimas líticas, antibióticos y sustancias que favorecen los mecanismos de competencia microbiana en el interior de la pila .El objetivo principal de este trabajo consistió en determinar qué factores bióticos podrían influir en la eliminación o supresión de la bacteria fitopatógena *Xanthomonas campestris* a lo largo de un proceso de compostaje de restos vegetales, especie que causa, entre otros problemas, la roña o sarna bacteriana, muy frecuente en semilleros de pimiento y tomate del sureste peninsular. Para ello, se constituyó una colección de bacterias aisladas en distintas etapas de un proceso de compostaje de restos hortícolas. Las cepas se ensayaron en laboratorio frente al crecimiento *in vitro* de *Xanthomonas campestris*. Una vez seleccionadas las mejores cepas, se llevó a cabo un *screening* para detectar la producción cualitativa y cuantitativa de sideróforos, ácido salicílico y promoción de germinación de semillas. Por su especial interés en lo referente a mecanismos de antibiosis, se llevó a cabo la búsqueda de genes implicados en la producción de antibióticos en aquellas cepas identificas como *Bacillus spp.* Finalmente, se seleccionaron aquellas cepas consideradas como firmes candidatas para prevenir el ataque foliar de *Xanthomonas campestris* en ensayos *in vivo* a pequeña escala en plántulas de tomate.

Palabras clave: Antibiosis, control biológico, *Bacillus spp,,* sideróforos, salicílico

1. Introducción

Actualmente, el principal control de las enfermedades vegetales se ejerce gracias al uso de pesticidas químicos los cuales, aunque a corto plazo son capaces de asegurar soluciones rápidas y eficaces, pueden derivar en la aparición de patógenos resistentes, y sin duda provocar graves efectos en el medio ambiente, así como en la salud de agricultores y consumidores. Por tanto, es imprescindible la implantación de alternativas al uso de agroquímicos, que sean compatibles con una agricultura de calidad, sostenible y respetuosa con el medio ambiente (Marrone, 2007). El compostaje es un proceso biológico natural, en el que la materia orgánica es transformada en compost, un producto estable con excelentes cualidades como fertilizante y fitoestimulante. Desde un punto de vista" biótico", el compost es una fuente de microorganismos diversos, lo que favorece la aparición de mecanismos dirigidos al control de agentes fitopatógenos. Uno de los objetivos principales que se persiguen en este trabajo será la caracterización de un grupo de bacterias aisladas de un proceso de compostaje de restos agrícolas, en lo que respecta a su capacidad para suprimir la enfermedad provocada por la bacteria fitopatógena *Xanthomonas campestris* mediante la producción de antibióticos u otros metabolitos como sideróforos y ácido salicílico, así como en relación a su capacidad para promover la germinación y elongación radicular en tomate.

2. Materiales y Métodos

El cultivo de la bacteria fitopatógena fue solicitado a la Colección Española de Cultivos Tipo (*Xanthomonas campestris* CECT 95), llevándose a cabo resiembras de la misma mensualmente en agar nutritivo a 28 °C. La colección de bacterias a partir de la cual se llevó a cabo el estudio, se obtuvo a partir de un proceso de compostaje de restos vegetales (Jurado y col., 2014). Durante dicho proceso se realizaron un total de 19 muestreos, que globalmente pudieron clasificarse en 4 etapas: mesófila, termófila, enfriamiento y maduración. En todos los muestreos, se tuvieron en cuenta dos rangos térmicos bien diferenciados: 30 °C, para el aislamiento de cepas mesófilas (BM) y 50 °C, para el aislamiento de cepas termófilas (BT).

La colección de cepas fue inicialmente caracterizada en base a las pruebas diagnósticas indicadas en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Protocolos aplicados para la detección *in vitro* de sustancias de interés agrícola y ensayos de aplicación *in vivo* de agentes biopesticidas y fitoestimulantes

Metabolito	Protocolo cualitativo / Referencia	Protocolo cuantitativo / Referencias
Sideróforos	Solución de Cromo-Azurol S / Schwyn y Neilands, 1987	Espectrofotómetro a 630 nm / Schwyn y Neilands, 1987
Ácido salicílico	ClH 2N + Cloruro Férrico 0,1% / Gil y Martínez-Merino, 2007	Espectrofotómetro a 527 nm / Trinder, 1954
Antagonismo *in vitro*	Enfrentamiento dual / Landa y col., 1997	% Inhibición del crecimiento / Suárez-Estrella y col., 2013
Fitotoxicidad de los extractos microbianos	---	Bioinmersión de semillas de berro / Gravel y col., 2007
Presencia de los genes que codifican para los antibióticos Surfactina 1 y Fengicina (sólo en aislados de *Bacillus* spp.)	Parejas de cebadores SrFA y FND / Joshi y McSpadden, 2006	---

Se seleccionaron finalmente aquellas cepas que mostraron un perfil positivo para la inhibición del crecimiento *in vitro* de *X. campestris* en un grado superior al 30% así como para la producción de sideróforos y ácido salicílico. Dichas cepas fueron identificadas mediante la secuenciación del gen que codifica la unidad 16S del ARN ribosomal. Posteriormente, con el objeto de probar el efecto supresor *in vivo* de las cepas seleccionadas sobre la mancha negra producida por *X. campestris*, se llevó a cabo un ensayo preliminar en plántulas de tomate siguiendo los protocolos empleados previamente por Larkin y Fravel (1998) y Al-Dahmani y col. (2003).

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se llevó a cabo mediante un análisis de varianza (ANOVA) multifactorial a un intervalo de confianza del 95%. Además se empleó el Test de Mínima Diferencia Significativa de Fisher (LSD) mediante el cual se pudo identificar qué niveles dentro de cada factor fueron significativamente diferentes.

3. Resultados y discusión

Los resultados derivados del trabajo que aquí se presenta, confirman la presencia en el interior de una pila de compostaje, de un elevado número de cepas antagonistas frente a la bacteria *X. campestris* CECT 95. Ya que se conoce la procedencia exacta de las cepas ensayadas respecto a la etapa del compostaje a partir de la que fueron aisladas, se ha tratado de simular *ex situ* cual

sería el comportamiento de tales cepas frente al crecimiento de *X. campestris* bajo condiciones de laboratorio (**Figura 1**). De este modo, se confirmó la presencia de una proporción significativa de cepas antagonistas de *X. campestris* que se fue incrementando a lo largo de todo el proceso de compostaje, hasta llegar a su máximo nivel en la fase de maduración (**Figura 1**).

De entre todas las cepas que mostraron un potencial antagonista significativo frente a la bacteria fitopatógena, se seleccionaron aquellas que fueron capaces de inhibir su crecimiento en un nivel superior al 30% (bajo condiciones de laboratorio) (**Figura 2**). Inicialmente, 50 cepas mostraron buenos resultados en este sentido, aunque posteriormente, tras ser caracterizadas en función de otras capacidades, tales como producción de sideróforos, salicílico y antibióticos (sólo en caso de las cepas identificadas como *Bacillus* spp.), dicho grupo quedó reducido a 9 individuos (**Tabla 2**).

El fenómeno de supresión de enfermedades vegetales puede ser el resultado de uno o más mecanismos de acción, incluyendo el antagonismo mediante enzimas líticas o antibióticos, la competición por el sustrato o el espacio, la producción de sideróforos o ácido cianhídrico, la inducción de la resistencia de la planta o la producción de fitohormonas (Babalola, 2010). En muchos casos, la reducción de los síntomas de la enfermedad puede deberse a la capacidad de algunas de estas bacterias de colonizar ampliamente la rizosfera de la planta, incluso el interior de las raíces, y ser capaces de dominar el nicho ecológico. En este sentido, algunas cepas microbianas identificadas como *Bacillus pumilus, Pseudomonas putida* o *Pseudomonas fluorescens*, han surgido como importantes agentes de control de patógenos vegetales que afectan a una enorme diversidad de cultivos hortofrutícolas (Mercado-Blanco y col., 2004).

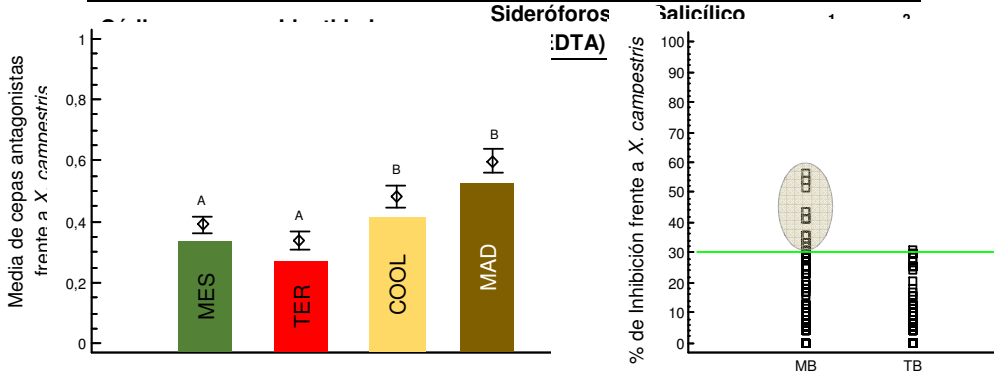


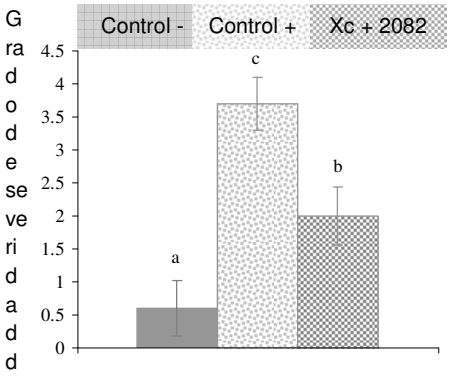
Figura 1 (izqda). Test LSD (95% de nivel de confianza) que muestra los grupos de homogeneidad para la Media de Cepas Antagonistas frente a *X. campestris* CECT 95 a lo largo de un proceso de compostaje (MES: fase mesófila; TER: fase termófila; COOL: fase de enfriamiento; MAD: fase de maduración)

Figura 2 (dcha). Diagrama de dispersión que representa el potencial de las cepas de la colección (MB: mesófilos; TB: termófilos) como agentes de control biológico frente a *X. campestris* CECT 95. Los valores se muestran como porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano *in vitro*. La línea horizontal delimita aquellas cepas de mayor potencial antibacteriano (superior al 30% de inhibición).

Tabla 2 .Caracterización de las cepas biopesticidas que mostraron un grado de inhibición frente a *X. campestris* CECT 95 superior al 30%

2082	*Pseudomonas putida*	546,6 ± 8,1	9,75 ± 0,4	N.A.	N.A.
2124	*Corynebacterium stationis*	526,6 ± 29,7	-	N.A.	N.A.
2303	*Bacillus aerophilus*	314,0 ± 53,5	-	-	-
2416	*Pseudomonas stutzeri*	-	2,97 ± 1,7	N.A.	N.A.
2449	*Staphylococcus succinus*	629,0 ± 47,5	-	N.A.	N.A.
2624	*Bacillus pumilus*	395,3 ± 20,5	-	-	-
2653	*Cellulosimicrobium funkei*	286,3 ± 22,0	-	N.A.	N.A.
2727	*Bacillus subtilis*	< 30	-	+	+
2788	*Bacillus aerophilus*	44,5 ± 26,5	-	-	-

+positivo; - negativo
[1] SRF1: positivo para el gen que codifica para la Surfactina 1
[2] FND: positivo para el gen que codifica para la Fengicina
N.A.: no procede el diagnóstico por no tratarse de *Bacillus* spp.



Según describen algunos autores, el género *Bacillus* puede ser considerado como uno de los predominantes en procesos de compostaje (López-González y col., 2014). En este trabajo, algunas de las cepas seleccionadas de mayor interés agronómico fueron identificadas como *B. aerophilus*, *B. pumilus* y *B. subtilis*. En concreto la cepa *B. subtilis* 2727, dio positivo para la presencia de genes implicados en la producción de Surfactina 1 y Fengicina (**Tabla 2**). Sin embargo, sólo la cepa *P. putida* 2082, productora de sideróforos y ácido salicílico, fue seleccionada para probar la capacidad de controlar al agente fitopatógeno *X. campestris* en plántulas de tomate (**Figura 3**). Dicha cepa, fue capaz de reducir significativamente el efecto del agente fitopatógeno aplicado de forma artificial, en plántulas de tomate.

4. Conclusiones

Gracias a este trabajo se ha caracterizado un grupo de bacterias aisladas de un proceso de compostaje de restos vegetales, en relación a su capacidad para inhibir el desarrollo del patógeno *X. campestris,* causante de la mancha bacteriana en cultivos de solanáceas. Dicho efecto parece derivar de la producción de sideróforos, ácido salicílico y antibióticos, lo que derivaría en fenómenos de competencia e inducción de resistencia vegetal, en el caso de la cepa *P. putida* 2082, o bien de de antibiosis directa, como es el caso de la cepa *B. subtilis* 2727.

Figura 3. Efecto supresivo de *P. putida* 2082 sobre la severidad de la mancha bacteriana provocada por *X. campestris* en plántulas de tomate (0: planta sana; 1: necrosis local; 2: déficit de crecimiento; 3: necrosis foliar; 4: necrosis foliar + marchitamiento general; 5: planta muerta). (Test LSD, nivel de confianza del 95%).

5. Bibliografía

Al-Dahmani, J.H., Abbasi, P.A., Hoitink, H.A.J., 2003. Suppression of bacterial spot of tomato with foliar sprays of compost extracts under greenhouse and field conditions. *Plant Dis*, 87, 913-919.
Babalola, O.O., 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol Letters*, 32, 1559-1570.
De Boer, M., van der Sluis, I., van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., 1999. Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strains to enhance suppression of Fusarium wilt of radish. *Eur J Plant Pathol,* 105, 201-210.

Gil, M.J., Martínez-Merino, V., 2007. Determination of the free salicylic acid concentration in aspirin by forming Fe+3 complexes (fecha de consulta: 26/09/2016). http://www.iupac.org/fileadmin/user_upload/publications/cd/Medicinal-Chemistry/Practica-I-11.pdf

Joshi, R., McSpadden, 2006. Identification and characterization of novel genetic markers associated with biological control activities in *Bacillus subtilis. Phytopathology,* 96, 145-154.

Jurado, M.M., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M.C., López, M.J., López-González, J.A., Moreno, J., 2014. Evolution of enzymatic activities and carbon fractions throughout composting of plant waste. *J Environ Management,* 133, 355-364.

Landa B., Hervás, A., Bettiol, W., Jiménez-Díaz, R.M., 1997. Antagonistic activity of bacteria from the chickpea rhizosphere against *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. *Phytoparasitica*, 25(4), 305-318.

Larkin R.P., Fravel D.R., 1998. Efficacy of Various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of Fusarium wilt of tomato. *Plant Dis,* 82, 1022-1028.

López-González, J.A., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M.C., López, M.J., Jurado, M.M., Moreno, J., 2014. Dynamics of bacterial microbiota during lignocellusic waste composting: Studies upon its structure, functionality and biodiversity. *Biores Technol,* 175, 406-416.

Marrone, P.M., 2007. Barriers to adoption of biological control agents and biological pesticides. En: CAB Reviews, Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 2(51) CAB International. Wallingford.UK

Mercado-Blanco, J., Rodríguez-Jurado, D., Hervás, A., Jiménez-Díaz, R.M., 2004. Suppression of *Verticillium* wilt in olive planting stocks by root-associated fluorescent *Pseudomonas* spp. *Biol Control*, 30, 474-486.

Schwyn, B., Neilands, J.B., 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal Biochem,* 160, 47-56.

Suárez-Estrella, F., Arcos-Nievas, M.A., López, M.J., Vargas-García, M.C., Moreno, J., 2013. Biological control of plant pathogens by microorganisms isolated from agro-industrial composts. *Biol control* 67, 509-515.

Trinder, P., 1953. Rapid determination of salicylate in biological fluids. *Biochm.J.*, 57, 301-303.

6. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación a través del proyecto AGL2012-36434.

PAPEL RELEVANTE DEL ORDEN ACTINOMYCETALES EN EL CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS DE AMPLIO ESPECTRO: MECANISMOS DE ANTIBIOSIS Y PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL

Francisca Suárez-Estrella, Macarena del Mar Jurado, Juan Antonio López-González, María del Carmen Vargas-García, María José López y Joaquín Moreno

Área de Microbiología, Departamento de Biología y Geología, Universidad de Almería, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario ceiA3, fsuarez@ual.es

Resumen: La enfermedad conocida como *damping-off*, es causada por un complejo grupo de hongos y oomicetos. Éstos son capaces de impedir la germinación de semillas, pudrir la raíz recién emergida, o causar podredumbre de cuello, provocando la caída de plántulas sobre el sustrato. Entre las comunidades microbianas presentes en un proceso de compostaje destacan el grupo de los actinomicetos, caracterizados por su potencial para producir sustancias implicadas en fenómenos de antibiosis y competencia. El objetivo principal de este trabajo consistió en determinar qué factores bióticos podrían estar implicados en la prevención o supresión precoz de hongos productores de *damping-off* en semilleros. Para ello, se constituyó una colección de actinomicetos aislados en distintas etapas de un proceso de compostaje de restos hortícolas. Las cepas se ensayaron en el laboratorio frente al crecimiento *in vitro* de hongos productores de *damping-off,* en concreto frente a 4 especies de los géneros *Pythium, Phytophthora*, *Rhizoctonia* y *Fusarium.* Posteriormente, se llevó a cabo un *screening* para detectar la producción de sideróforos, ácido salicílico, quitinasas y cianuro así como la promoción de la germinación en semillas de berro. Con las cepas que mostraron el mejor perfil, se llevó a cabo un ensayo de *bioinmersión* con semillas de melón, evaluándose finalmente el efecto protector de dichas cepas sobre las plántulas emergidas.

Palabras clave: *damping-off*; antagonismo; control biológico; *bioinmersión*

1. Introducción

Damping-off es el término utilizado para describir una enfermedad de plantas causada por hongos patógenos de suelo, que afecta principalmente a plántulas en cultivos de invernadero, causando pérdidas económicas importantes en semilleros durante el trasplante de plantas jóvenes y susceptibles. En la agricultura tradicional, se han utilizado durante décadas los fungicidas químicos para combatir y controlar esta enfermedad, pero su uso repetido puede resultar nocivo para la microbiota autóctona del suelo, además de generar problemas de resistencia por parte de los fitopatógenos.

Los actinomicetos son excelentes candidatos como agentes de control biológico y promotores del crecimiento vegetal, ya que tienen la capacidad de producir compuestos antimicrobianos y otros metabolitos de interés agronómico (Golinska y Dahm, 2013; Goudjal y col., 2016). El objetivo de este trabajo, por tanto, consistió en el estudio específico de un grupo de actinobacterias aisladas de un proceso de compostaje, para suprimir el *damping-off* en plántulas de melón, bien mediante mecanismos directos de antibiosis o bien mediante promoción del crecimiento vegetal.

2. Material y Métodos

Los cultivos de hongos fitopatógenos empleados en este trabajo fueron proporcionados por la Colección Española de Cepas Tipo (CECT): *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* CECT 20474 (Fom), *Rhizoctonia solani* CECT 2824 (Rs), *Pythium ultimum* CECT 2365 (Pu) y *Phytophthora capsici* CECT 20433 (Pc). En cuanto a las cepas potencialmente antagonistas estudiadas, fueron

aisladas en diferentes etapas de un proceso de compostaje de residuos lignocelulósicos. Fueron seleccionadas para este trabajo 221 cepas pertenecientes al orden Actinomycetales, que fueron caracterizadas en base a las pruebas diagnósticas indicadas en la Tabla 1.

Tabla 1. Protocolos aplicados para la detección de actividades implicadas en control biológico

Metabolito	Protocolo cualitativo	Referencias
Sideróforos	Solución de Cromo-Azurol S	Schwyn y Neilands, 1987
Ácido salicílico	ClH 2N + Cloruro Férrico 0,1%	Gil y Martínez-Merino, 2007
Quitinasas	Agar con quitina coloidal al 0,5%	Garbeva y col., 2004
Cianuro	Solución de picrato alcalino	Devi y col., 2007
Antagonismo *in vitro*	Enfrentamiento dual	Landa y col., 1997
Fitotoxicidad	Germinación de semillas de berro	Gravel y col., 2007

Finalmente se llevó a cabo un ensayo de *bioinmersión*, empleando el protocolo modificado de Errakhi y col. (2007), utilizando semillas de melón como cultivo susceptible al *damping-off*. Los inóculos de los fitopatógenos utilizados se prepararon según la siguiente metodología modificada: *F. o.* f.sp. *melonis* (Larkin y Fravel, 1998); *R. solani* (Hwangbo y col., 2016); *P. ultimum* y *P. capsici* (Kim y col., 2008).

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA multifactorial y test de rangos múltiples (Mínima Diferencia Significativa) a un nivel de confianza de $P < 0,05$. Todos los análisis de datos se procesaron utilizando Statgraphics Centurion XVI versión 1.16.17 (StatPoint, Inc., VA).

3. Resultados y Discusión

Para la criba de los mejores candidatos, en primer lugar, se optó por aquellas cepas que presentaron un índice de germinación igual o superior al 100% (50 cepas), siendo éste un requisito imprescindible para su posterior aplicación *in vivo*. Finalmente se seleccionaron 6 actinobacterias en base a tres criterios: amplio espectro de inhibición frente a los cuatro hongos fitopatógenos, capacidad para producir cianuro (CNH) y enzimas de tipo quitinasas (QUIT) y capacidad para producir ácido salicílico (SAL) y sideróforos (SID).

Los resultados obtenidos corroboran lo indicado en otros trabajos, los cuales defienden que el efecto supresivo de los actinomicetos frente a numerosos patógenos vegetales pueda deberse a su capacidad para producir antibióticos, enzimas líticas o compuestos antimicrobianos como el cianuro (Jacob y col., 2016).

Tabla 2. Caracterización de las mejores cepas biopesticidas frente a hongos productores de *damping off* y producción de sustancias de interés (IG: Índice de Germinación)

						Índice de Inhibición (%)			
Cepa	**Identidad**	**SID**	**SAL**	**QUIT**	**CNH**	**Pu**	**Fom**	**Rs**	**Pc**
254	*Brevibacterium epidermidis*	-	-	-	+	-	-	-	51
282	*Microbacterium gubbeenense*	-	-	-	-	52	31	48	48
283	*Microbacterium gubbeenense*	-	-	-	-	43	25	46	31
382	*Microbacterium ginsengiterrae*	+	-	+	-	-	-	6	31
491	*Microbacterium esteraromaticum*	-	+	-	-	-	-	-	90
2535	*Rhodococcus rhodochrous*	+	-	-	-	-	-	-	21

Tras el ensayo de *bioinmersión* de las semillas en los extractos microbianos, se extrajeron los siguientes resultados. La cepa 2535 resultó ser la menos tóxica en lo que se refiere a la emergencia y desarrollo posterior de las plántulas, ya que no mostró ser significativamente

diferente a las semillas no tratadas (Figura 1a). Con respecto a los rasgos generales de la enfermedad, se pudo observar una mayor susceptibilidad de las plantas frente al oomiceto *P. capsici* (Figura 1b).

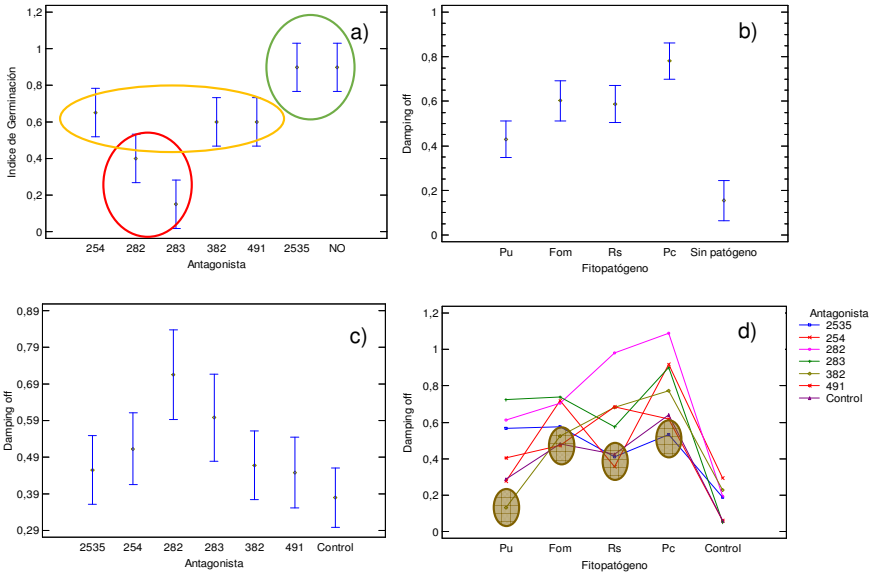


Figura 1. a) Índice de germinación de semillas de melón sometidas a tratamiento de *bioinmersión* con cepas potencialmente antagonistas; b) Nivel de infectividad (*damping-off*) observado globalmente en las plántulas inoculadas con los hongos fitopatógenos; c) Efecto supresivo sobre el *damping-off,* en semillas de melón previamente sometidas a *bioinmersión*; d) Gráfico que revela las interacciones concretas entre agente de control-fitopatógeno-plántula (ANOVA Multifactorial y Test LSD al 95% de nivel de confianza).

Sorprendentemente, a pesar de los aceptables índices de germinación que mostraron el resto de cepas *in vitro,* se observó un notable efecto negativo sobre la emergencia de las semillas sometidas a *bioinmersión.* Destacaron en este sentido las cepas 282 y 283, identificadas ambas como *M. gubbeenense* (Figura 1a). Probablemente, dicho efecto influyó directamente en el hecho de que las plantas inoculadas con ambas cepas, fueran más susceptibles al desarrollo de *damping-off* (Figura 1c). Este efecto perjudicial podría estar relacionado con la capacidad de algunos actinomicetos para producir metabolitos fitotóxicos (Yekkour y col., 2012), y que de algún modo no habrían sido detectados en los ensayos preliminares de fitotoxicidad en berro. De enorme interés, sin embargo, fueron los datos observados en la Gráfica de interacciones entre patógeno-agente de control-planta (Figura 1d), ya que en ella se revela el efecto beneficioso de las cepas seleccionadas, pero de forma específica frente a los agentes patógenos ensayados. De este modo, cabe destacar el efecto supresor de la cepa *M. ginsengiterrae* 382 sobre *P. ultimun,* la cepa *M. esteraromaticum* 491 sobre *R. solani,* y la cepa *R. rhodochrous* 2535 sobre *P. capsici.*

Las diferencias observadas entre los resultados *in vivo* e *in vitro*, podrían deberse, entre otras causas, a la triple interacción que ocurre cuando se da el salto a los ensayos de campo, y a la dosis de inóculo utilizado durante la *bioinmersión* de las semillas (Johansson y col., 2003).

4. Conclusiones

Este trabajo ha permitido la caracterización de un grupo de actinobacterias aisladas de un proceso de compostaje de restos vegetales, en relación con su capacidad para promover el crecimiento vegetal e inhibir el ataque de hongos fitopatógenos causantes de *damping-off,* mediante fenómenos de competencia y/o antibiosis. Además, arroja información relevante sobre el modo de acción, *in vivo*, de tales agentes de control, teniendo en cuenta la compleja interacción que ocurre entre cultivo hospedador-patógeno-antagonista para suprimir el desarrollo de enfermedades.

5. Bibliografía

Devi, K.K., Seth, N., Kothamasi, S., Kothamasi, D., 2007. Hydrogen cyanide-producing rhizobacteria kill subterranean termite *Odontotermes obesus* (Rambur) by cyanide poisoning under *in vitro* conditions. *Current Microbiol,* 54(1), 74-78.

Errakhi R., Bouteau F., Lebrihi A., Barakate M., 2007. Evidences of biological control capacities of *Streptomyces* spp. against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *World J Microbiol Biotechnol,* 23, 1503-1509.

Gil, M.J., Martínez-Merino, V., 2007. Determination of the free salicylic acid concentration in aspirin by forming Fe+3 complexes. En: A. Monge, R. Ganellin (Eds) Practical Studies for Medicinal Chemistry [Online] (accessed July 24, 2007).

Golinska P., Dahm H., 2013. Antagonistic properties of *Streptomyces* isolated from forest soils against fungal pathogens of pine seedlings. *Dendrobiology,* 69, 87-97.

Goudjal Y., Zamoum M., Meklat A., Sabaou N., Mathieu F., Zitouni A., 2016. Plant-growth-promoting potential of endosymbiotic actinobacteria isolated from sand truffles (*Terfezia leonis* Tul.) of the Algerian Sahara. *Ann Microbiol,* 66, 91-100.

Hwangbo H., Kim K-Y., Choi H-S., 2016. Effects of biocontrol agents on suppression of *damping-off* in *Cucumis sativus* L. caused by *Rhizoctonia solani*. *Hortic Environ Biotechnol,* 57(2), 191-196.

Jacob S., Sajjalaguddam R., Kumar K., Varshney R., Sudini H., 2016. Assessing the prospects of *Streptomyces* sp. RP1A-12 in managing groundnut stem rot disease caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. *J Gen Plant Pathol*. 82, 96-104.

Johansson P.M., Johansson L., Gerhardson B., 2003. Suppression of wheat-seedling diseases caused by *Fusarium culmorum* and *Microdochium nivale* using bacterial seed treatment. *Plant Pathol.* 52, 219-227

Kim H., Sang M., Jeun Y., Hwang B., Kim D., 2008. Sequential selection and efficacy of antagonistic rhizobacteria for controlling hytophthora blight of pepper. *Crop Prot*. 27, 436-443.

Landa B., Hervás A., Bettiol W., Jiménez-Díaz R.M., 1997. Antagonistic activity of bacteria from the chickpea rhizosphere against *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. *Phytoparasitica.* 25 (4), 305-318.

Larkin R.P., Fravel D.R., 1998. Efficacy of Various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Dis,* 82, 1022-1028.

Schwyn B., Neilands J.B., 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Annal Biochem.* 160, 47-56.

Yekkour A., Sabaou N., Zitouni A., Errakhi R., Mathieu F., Lebrihi A., 2012. Characterization and antagonistic properties of *Streptomyces* strains isolated from Saharan soils, and evaluation of their ability to control seedling blight of barley caused by *Fusarium culmorum*. *Lett Appl Microbiol,* 55, 427-435.

6. Agradecimientos.

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través del proyecto AGL2012-36434.

LA COMBINACIÓN DEL VERMICOMPOSTAJE Y COMPOSTAJE MEJORA LAS PROPIEDADES AGRONÓMICAS DEL PRODUCTO FINAL RESPECTO AL SOLO COMPOSTAJE DE LOS RESÍDUOS.

Eduardo Vázquez, Nikola Teutscherová, Eduardo Fernández, Marta Benito, Alberto Masaguer.

Departamento de Producción Agraria, ETS Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. Universidad Politécnica de Madrid. Av. Puerta de Hierro 2, (28040). Madrid. España. eduardo.vazquez@upm.es

El uso integrado del compostaje y el vermicompostaje permite combinar los efectos positivos del compostaje, que asegura la necesaria reducción de patógenos, con la maduración mediante vermicompostaje, lo cual permite acortar los plazos, reducir los costes y obtener un producto de mejores propiedades agrónomicas. Para evaluar los efectos sobre la calidad del producto final, se llevó a cabo un ensayo en el que se comparó el compostaje y vermicompostaje de un mismo residuo (restos de poda y purines) sometido a la fase bio-oxidativa durante 60 días. Parte del material se separó para la construcción de una cama de vermicompostaje en la que se introdujeron lombrices (*Eisinia fetida)*. El resto continuó en su misma pila el proceso de compostaje. Tras 75 días de procesado, el vermicompost presentó un mayor contenido en nitrógeno total y fósforo que el producto compostado. El vermicompost mostró un pH menos alcalino y una conductividad eléctrica menor, lo que achacamos al mayor regado de la cama de vermicompost que necesita contenidos de humedad más altos y constantes que la pila de compostaje. No se encontraron diferencias en el contenido de ácidos húmicos y fúlvicos. Sin embargo, valores más altos de carbono total, materia orgánica y fibras vegetales se encontraron en el vermicompost. Por tanto, la combinación del compostaje junto al vermicompostaje permite obtener un producto con mejores propiedades agronómicas aunque la degradación de los residuos orgánicos es menor que en el compostaje

Palabras clave: fibras vegetales, Eisenia fétida, celulosa, fósforo, nitrógeno

1. Introducción.

El compostaje y el vermicompostaje son dos técnicas que permiten el manejo biológico de residuos orgánicos para su estabilización y maduración hasta convertirse en productos con valor fertilizante para el suelo y libres de posibles riesgos de fitotoxicidad o contaminación ambiental. La principal diferencia entre ambos procesos radica en que el compostaje consiste en una degradación de la materia orgánica (MO) por parte de microorganismos, teniendo lugar una primera fase termofílica en que se alcanzan altas temperaturas que permiten la eliminación de elementos patógenos. Por su parte, el vermicompostaje realiza esta función de degradación mediante la acción conjunta de microorganismos y lombrices, lo que permite reducir los costes del proceso, acortar los plazos y la obtención de un producto final de mayor calidad. Sin embargo, la presencia de lombrices no permite que durante el proceso de vermicompostaje se alcancen temperaturas superiores a los 35ºC, lo que no asegura la correcta eliminación de patógenos (Ndegwa y Thomson 2001). Por ello, cobra interés el uso combinado de ambos procesos de manera que se puedan aprovechar las ventajas de una y otra técnica técnica. Varios estudios han comparado la integración de ambos procesos (Ndegwa y Thomson 2001; Tognetti y col., 2007) aunque a la vista de los resultados obtenidos en ellos, no puede generalizarse ya que tiende a depender del material inicial utilizado en el ensayo. Además, aunque hay estudios que han comparado la degradación de fibras vegetales en los procesos de compostaje y vermicompostaje

(Aira y col., 2006, Paradelo y col., 2013), no nos consta ningún estudio en que se haya comparado el contenido final de fibras entre el compost y el producto de un proceso integrado de compostaje y vermicompostaje. Nuestro objetivo es en primer lugar valorar la calidad agronómica de ambos productos y en segundo lugar, comparar el efecto sobre la degradación de fibras vegetales de la integración de compostaje y el vermicompostaje.

2. Materiales y Métodos.

Los procesos y de compostaje y vermicompostaje se llevaron a cabo en los campos experimentales de la ETSIAAB (UPM). Una mezcla de estiércoles procedentes de las naves de experimentación animal, restos de poda de jardín y restos de rastrojo de cereales fue preparada para la instalación de una pila donde tuvo lugar un proceso bioxidativo de 60 días, en el cual se asegurase la correcta eliminación de patógenos. Tras este periodo, una parte de la pila fue separada para la construcción de una cama de vermicompostaje en la que se introdujeron lombrices (*Eisinia fetida*, Savygni). De este modo, quedaron construidas, a partir del mismo material pre-tratado, una pila de compostaje trapezoidal de 1 de altura por 10 de largo y una cama de vermicompostaje de 5 metros de largo por 0.5 m de ancho. La pila de compostaje era volteada de forma mecanizada cada dos semanas y se añadía de forma manual agua para mantener el contenido de humedad entre un 45 y 65%. Por su parte, la cama de vermicompostaje gozaba de un sistema de microaspersión que mediante tres riegos al día humedecía la cama para asegurar el correcto nivel de humedad para la pervivencia de las lombrices.

Tras 75 días de procesado, una muestra compuesta por cinco submuestras aleatorias fue tomada de la pila de compostaje (C+C) y otra muestra también compuesta fue toma de la cama de vermicompostaje (C+V). Tras ser tamizadas a 8 mm para eliminar elementos gruesos, se llevaron a cabo los siguientes análisis; pH y conductividad eléctrica (CE) en extracto acuoso 1:6 v/v, carbono total (CT) y nitrógeno total (NT) mediante un analizador LECO TruSpec CN, el contenido en materia orgánica (MO) fue obtenido por el método de combustión seco a 540ºC y el contenido en fósforo (P) fue realizado mediante el método gravimétrico de quinolinium molybdophosphate para fertilizantes. El contenido en celulosa, hemicelulosa y lignina mediante el Método Van Soest y Wine (1967). Los ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF) fueron extraídos con $Na_4P_2O_7$ 0.5M y el contenido en C fue medido por el método Walkley-Black, para posteriormente precipitar los AH a pH 2 y medir el contenido de C de los AF por el mismo método. Todos los análisis se realizaron por triplicado en laboratorio a partir de la misma muestra compuesta.

El estudio estadístico de las diferencias entre las diferentes propiedades del compost se realizó utilizando el t-test de Student para muestras independientes utilizando un nivel de significancia $p<0.05$. El programa estadístico utilizado fue el SPSS 19.0 para Windows.

3. Resultados y discusión

El pH y la CE del producto C+V fue significativamente menor ($p<0.05$) que la de C+C, siendo los valores de pH de C+V cercanos a la neutralidad frente a al carácter claramente básico de C+C, y los de CE cinco veces inferiores a los valores de conductividad en C+C. La explicación a estas diferencias se atribuyen a las mayores necesidades de riego de la cama de C+V que pudieron provocar lavado de sales. Esto resulta de gran interés desde el punto de vista agronómico ya que uno de los grandes desventajas de las enmiendas orgánicas es su habitual carácter alcalino y salino, lo cual dificulta su utilización como medio de cultivo, ya que un elevado pH dificulta el crecimiento de las plantas al afectar la disponibilidad de nutrientes (Caballero y col., 2007) y una elevada concentración salina disminuye la capacidad de captación de agua por parte de la planta al aumentar el potencial osmótico. Por tanto, podemos considerar desde este punto

de vista que C+V ofrece un producto de mayor calidad, especialmente si su destino es el de sustrato de cultivo.

El producto final obtenido del proceso C+V ha mostrado valores significativamente mayores ($p<0.05$) de %C y %MO en comparación con el producto obtenido del proceso C+C (Tabla 1). Estos resultados coinciden por los encontrados por Tognetti y col., (2007) y se justifican por el hecho de que al separar del resto de la pila de compostaje el material que se utilizará en el proceso de vermicompostaje, se produce un descenso en la temperatura que ralentiza el proceso de degradación de la MO. Este descenso de temperatura en la pila de vermicompostaje igualmente puede explicar el hecho del significativamente mayor %N ($p<0.05$) de C+V que C+C, puesto que una de las mayores causas de pérdida de N en los procesos de compostaje es la volatización en forma de amonio (Costa y col., 1991). Por otra parte, las lombrices secretan mucus y excrementos nitrogenados que también favorecen la acumulación de N en el vermicompost (Tripathi y Bhardwaj, 2004). Además, el mayor %N de C+V debe considerarse como una ventaja frente al C+C, ya que el N es un importante macronutriente para las plantas y su aplicación en forma de fertilizante, ya sea orgánico o inorgánico, es común a la gran mayoría de cultivos. Este aumento tanto del %C como del %N en C+V provoca que no existan diferencias significativas en C/N entre ambos tratamientos, encontrándose ambos entre los valores $12<C/N<20$ que se recomiendan para su aplicación como enmienda orgánica, luego desde ese punto de vista, ambos presentan la misma calidad.

Tabla 1: Valores de las propiedades medidas en el producto obtenido tras compostaje (C+C) y compostaje combinado con vermicompostaje (C+V)

	C+C	C+V
pH	9.29 a (0.02)	7.96 b (0.02)
CE	1.93 a (0.03)	0.40 b (0.01)
%C	20.99 b (0.44)	24.51 a (0.12)
%N	1.47 b (0.03)	1.73 a (0.01)
C/N	14.26 a (0.04)	14.14 a (0.1)
%MO	38.23 b (1.07)	41.71 a (1)
%P	0.97 b (0.01)	1.3 a (0.05)
%AH	7.64 a (0.26)	7.2 a (0.79)
%AF	4.24 a (0.99)	4.75 a (2.18)
%Hemicelulosa	32 b (1.15)	47 a (1.73)
%Celulosa	30.33 b (0.58)	36.67 a (1.53)
%Lignina	6.33 b (0.58)	13.67 a (0.58)

Valores medios seguidos con letras distintas indican diferencias significativas ($p<0,05$). Entre paréntesis desviación estándar para n=3.

El porcentaje de fósforo en el producto obtenido durante el proceso C+V resultó ser significativamente mayor ($p<0.05$) que en C+C, lo cual resulta muy beneficioso desde el punto de vista agronómico ya que es un macronutriente fundamental que suele ser aplicado en forma de fertilizante. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Fornes y col., (2012). La razón de este incremento puede deberse al gran nivel de actividad de la enzima fosfatasa que se registra en las excreciones de las lombrices, lo cual puede favorecer una mineralización del P presente en el residuo orgánico (Tripathi y Bhardwaj, 2004; Parthasarathi, y Ranganathan, 1999).

La presencia de AF y AH es muy apreciada en las enmiendas orgánicas como el vermicompost gracias su capacidad para mejorar el crecimiento y productividad de las plantas (Arancon y col., 2006). En nuestro caso no se encontraron diferencias significativas en el %AH y %AF entre ambos tratamientos (Tabla 1), algo a tener en cuenta a favor de C+V, pues contrariamente a nuestros resultados, Fornes y col. (2012) encontró un mayor %AH y %AF en el producto obtenido del compostaje frente al proceso integrado.

El contenido de las tres fibras vegetales estudiadas fue significativamente mayor ($p<0.05$) en el producto C+V que en C+C. Tanto en el proceso de compostaje como en el proceso de vermicompostaje, la degradación de la MO de los residuos orgánicos lleva a un consumo de estas tres fibras vegetales. Existen evidencias de que la presencia de lombrices favorece la descomposición de celulosa, puesto que ésta es parte de su dieta y además, sus secreciones presentan alta actividad de la enzima celulasa (Zhang y col., 2000). Aira y col. (2006) encontraron en sus resultados que la presencia de lombrices aumentaba la degradación de celulosa en estiércol porcino respecto a un control sin lombrices, mientras que Vinceslas-Akpa y Loquet (1997) encontraron además un menor contenido final en lignina en el vermicompostaje que en el compostaje de restos de poda. Sin embargo, en ninguno de estos casos se compara el compostaje frente al proceso integrado de compostaje y vermicompostaje. De acuerdo con los resultados encontrados por Vinceslas-Akpa y Loquet (1997), la gran diferencia en la degradación de celulosa y lignina entre el compostado y vermicompostado de restos de poda ocurre en el primer mes de proceso, para posteriormente seguir evoluciones muy similares. En nuestro ensayo, las lombrices fueron aplicadas al residuo tras un periodo previo de compostaje, por lo que no se pudo dar esa diferencia en la degradación durante el primer mes cuando el residuo se encuentra más fresco y sin alterar. Además, tras la separación del material, la pila C+V vio disminuida su temperatura respecto a C+C, lo que hizo disminuir la degradación de la MO, lo que concuerda con nuestro mayor %MO en C+V.

4. Conclusiones.

El producto obtenido de la combinación de los procesos de compostaje y vermicompostaje ha presentado unas mejores propiedades agronómicas en lo referente a pH, C.E. y contenido en N y P, lo cual le dota de una mayor calidad de cara a su uso como enmendante de suelos o sustrato de cultivo. Por otro lado, este producto obtenido de la integración de ambos procesos ha presentado un contenido mayor en MO y fibras vegetales, lo que hace pensar que la degradación del residuo vegetal es menor que si el proceso se completa mediante compostaje. Sin embargo, más estudios son precisos para aclararlas causas de este diferente nivel de degradación de la MO.

5. Bibliografía.

Aira, M., Monroy, F., & Domínguez, J. (2006). Eisenia fetida (Oligochaeta, Lumbricidae) activates fungal growth, triggering cellulose decomposition during vermicomposting. *Microbial Ecol*, *52*(4), 738-747.

Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Lee, S., & Byrne, R. (2006). Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. *Eur J Soil Biol*,*42*, S65-S69.

Caballero, R., Ordovás, J., Pajuelo, P., Carmona, E., & Delgado, A. (2007). Iron chlorosis in gerber as related to properties of various types of compost used as growing media. *Commun Soil Sci Plan*, *38*(17-18), 2357-2369.

Costa, F., García, C., Hernández, T., & Polo, A. (1991). *Residuos orgánicos urbanos. Manejo y utilización*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura. Murcia. España.

Fornes, F., Mendoza-Hernández, D., García-de-la-Fuente, R., Abad, M., & Belda, R. M. (2012). Composting versus vermicomposting: a comparative study of organic matter evolution through straight and combined processes. *Bioresource Technol*, *118*, 296-305.

Ndegwa, P. M., & Thompson, S. A. (2001). Integrating composting and vermicomposting in the treatment and bioconversion of biosolids. *Bioresource Technol*, *76*(2), 107-112.

Paradelo, R., Moldes, A. B., & Barral, M. T. (2013). Evolution of organic matter during the mesophilic composting of lignocellulosic winery wastes. *J Environ Manage*, *116*, 18-26.

Parthasarathi, K., & Ranganathan, L. S. (1999). Longevity of microbial and enzyme activity and their influence on NPK content in pressmud vermicasts. *Eur J Soil Biol*, *35*(3), 107-113.

Tripathi, G., & Bhardwaj, P. (2004). Comparative studies on biomass production, life cycles and composting efficiency of Eisenia fetida (Savigny) and Lampito mauritii (Kinberg). *Bioresource Technol*, *92*(3), 275-283.

Tognetti, C., Mazzarino, M. J., & Laos, F. (2007). Improving the quality of municipal organic waste compost. *Bioresource Technol*, *98*(5), 1067-1076..

Van Soest, P. U., & Wine, R. H. (1967). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *J. Assoc. Off. Anal. Chem*, *50*(1), 50-55.

Vinceslas-Akpa, M., & Loquet, M. (1997). Organic matter transformations in lignocellulosic waste products composted or vermicomposted (Eisenia fetida andrei): chemical analysis and 13 C CPMAS NMR spectroscopy. *Soil Biol Biochem*, *29*(3), 751-758.

Zhang, B. G., Li, G. T., Shen, T. S., Wang, J. K., & Sun, Z. (2000). Changes in microbial biomass C, N, and P and enzyme activities in soil incubated with the earthworms Metaphire guillelmi or Eisenia fetida. *Soil Biol Biochem*,*32*(14), 2055-2062.

6. Agradecimientos.

Este trabajo está financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto CTM2013-47874-C2-1R).

ENSAYO DE SUSTRATOS PARA *Lactuca sativa* Y *Brassica oleracea italica* ORIENTADOS A AGRICULTURA ECOLOGICA

Gabriel García-Serna[1], María Dolores Pérez-Murcia[1], María Ángeles Bustamante[1], Javier Andreu[2], Xavier Barber[3], Enrique Agulló[1], Concepción Paredes[1], Raúl Moral[1]

[1]Dpto. de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández EPS-Orihuela, ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[2]Dpto. de Ingeniería, Universidad Miguel Hernández, EPS-Orihuela, ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[3] Centro de Investigación Operativa, CIO-UMH, Universidad Miguel Hernández, Avda. Universidad sn, 03202-Elche (Alicante)
e-mail: marian.bustamante@umh.es

Resumen: El uso de turbas como medio de cultivo en el entorno de la agricultura ecológica (AE) no está prohibido pero sí desaconsejado por su rol de fijación permanente de C, lo que implica una mayor demanda de sustratos sin turba. En este estudio se han ensayado tres medios de cultivo ternarios, utilizando un vermicompost de origen ganadero (VC), un compost vegetal (C) y fibra de coco (FC) en las siguientes proporciones (% v:v de VC-C-FC): 10-60-30; 20-60-20 y 20-50-30, respectivamente. Los cultivos utilizados en el semillero fueron lechuga (*Lactuca sativa* cv. Derbi) y brócoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*, cv. Naxos), los cuales fueron desarrollados en condiciones comerciales. Se estudiaron las propiedades físicas y físico-químicas de las diferentes mezclas elaboradas, así como sus efectos sobre la germinación y la biomasa de cada cultivo considerado, obteniendo diferencias significativas en función de cada tratamiento.

Palabras clave: Compost, vermicompost, medios de cultivo, fibra de coco, cultivos hortícolas.

1. Introducción

La turba es uno de los principales componentes en los medios de cultivo, estando su uso incluso permitido en la producción en semillero en condiciones de agricultura ecológica (AE) (Normativa CE 834/2007 y 889/ 2008), pese a que el uso de sustratos basados en la turba está en contradicción con los principios básicos de la AE. El uso de la turba implica un fuerte impacto medioambiental, ya que es obtenida de las turberas, humedales de alto valor ecológico que actúan como sumideros de C al almacenar y secuestrar el C atmosférico (Ceglie y col., 2015). Por ello, existe una importante y creciente demanda en el sector del cultivo sin suelo, y especialmente en el entorno AE, de materiales alternativos para su uso como sustrato, los cuales deben presentar alta calidad y un bajo coste. Existen diversos estudios utilizando diferentes tipos de materiales como ingredientes alternativos a la turba, como diferentes tipos de fibras residuales como la caña de río (*Arundo donax* L.) (Andreu-Rodríguez y col., 2013) y, principalmente, la fibra de coco (Noguera y col., 2003). Por otra parte, los residuos orgánicos, tras un adecuado proceso de estabilización e higienización como el compostaje y /o el vermicompostaje, también han sido utilizados como sustitutos totales o parciales de la turba en medios de cultivo (Raviv, 2011). En el entorno de AE, más restrictivo respecto al tipo de material orgánico utilizado, los compost de origen vegetal y el vermicompost pueden constituir componentes alternativos para los medios de cultivo. Por ello, el principal objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del uso de mezclas ternarias elaboradas con un compost de origen vegetal, un vermicompost de origen ganadero y fibra de coco como sustratos de cultivo alternativos a la turba para el cultivo en semillero de lechuga y brócoli en condiciones comerciales. Para ello, se estudiaron las propiedades físico-

químicas y físicas de los sustratos elaborados, así como la germinación y el rendimiento de cada cultivo.

2. Material y métodos

En este experimento se utilizaron 3 materiales de partida para la elaboración de los diferentes sustratos ternarios ensayados: un compost (C), constituido al 100% por restos vegetales derivados de la poda y el control de especies cespáceas, arbustivas y arbóreas de los jardines de la EPSO (Universidad Miguel Hernández de Elche) y elaborado mediante el sistema de compostaje por volteo; un vermicompost (VC), partir de estiércol vacuno de una granja extensiva y fibra de coco (FC). Las principales características de los materiales utilizados se muestran en la Tabla 1. Todos los materiales de partida mostraron un pH próximo a la neutralidad; una salinidad variable, mostrando C y VC valores más altos que FC, debido al proceso previo de lavado al que es sometido este material; un alto contenido en materia orgánica, así como en N y K, excepto la fibra de coco, también debido al lavado previamente mencionado.

Tabla 1. Principales características físico-químicas y químicas de los materiales de partida utilizados para elaborar los sustratos ensayados.

	Compost	Vermicompost	Fibra de coco
pH	7,7	7,1	6,3
CE (dS/m)	5,50	2,80	0,37
Materia orgánica total (%)	51,4	64,2	91,9
C orgánico total (%)	25,9	21,1	37,4
Nitrógeno total (%)	2,40	1,58	0,73
K (mg/L)[a]	7155	676	281
Na (mg/L)[a]	1651	776	238

[a] Fracción hidrosoluble. CE: conductividad eléctrica.

Estos tres materiales se emplearon como ingredientes de los medios de cultivo ternarios, siendo mezclados en los siguientes porcentajes (volumen:volumen de VC-C-FC): 10-60-30; 20-60-20 y 20-50-30, respectivamente. Como tratamiento control se utilizó un sustrato comercial constituido por turba rubia, turba negra y carbonato cálcico para corregir su pH. El experimento se desarrolló en el semillero comercial Semilleros BabyPlant S.L., (Alicante) y se utilizó un cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L. cv. Derbi) y otro de brócoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*, cv. Naxos). Los medios de cultivo elaborados se colocaron mediante un diseño al azar con tres repeticiones por tratamiento (una bandeja de 260 alvéolos por repetición). La germinación se realizó en una cámara de germinación a 18ºC y 85% de humedad relativa, siendo el porcentaje de germinación determinado mediante el recuento de semillas germinadas a las 72 horas de la siembra. Cuando las plantas tuvieron un tamaño adecuado para su comercialización (37 días), se muestrearon 20 plántulas al azar de cada bandeja, evitando aquellas próximas a los extremos. Antes de lavar y secar las plantas para determinar el peso seco de las plántulas (a 60ºC en una estufa de aire forzado), se determinó el peso fresco.

En los sustratos elaborados, las propiedades físico-químicas y físicas se determinaron según los métodos estandarizados descritos por Bustamante et al. (2008). Se cuantificaron aspectos morfológicos como el porcentaje de germinación y la biomasa fresca y seca de plántula. El análisis estadístico estuvo basado en un análisis ANOVA para estudiar las posibles diferencias entre tratamientos para cada uno de los cultivos estudiados, con la prueba Tukey-b como prueba post-hoc. Previamente al ANOVA, se evaluaron la normalidad y homogeneidad de las varianzas utilizando los tests de Shapiro-Wilk y Levene. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa informático SPSS 22.0.

3. Resultados y discusión

Las mezclas elaboradas con compost, vermicompost y fibra de coco mostraron un pH y una conductividad eléctrica superiores a los valores observados en el sustrato comercial utilizado como tratamiento control (Tabla 2). La incorporación de materiales orgánicos a los medios de cultivo suele incrementar significativamente el pH y la salinidad de los sustratos (Bustamante y col., 2008); sin embargo, en las mezclas ternarias ensayadas dicho incremento no fue muy alto, posiblemente debido al uso de FC, que actuó como diluyente. Este hecho también fue observado por Ceglie y col. (2015) en un experimento de sustitución de turba como medio de cultivo con mezclas ternarias elaboradas con compost de origen vegetal, residuo de palmera y turba como diluyente. Respecto a las propiedades físicas (Tabla 2), las mezclas ensayadas mostraron unos valores de densidad aparente (DA) dentro del rango óptimo (<0,4 g/cm^3), aunque estadísticamente superiores a los del sustrato control, mostrando el valor más alto la mezcla con mayor porcentaje de C y menos de FC (20VC:60C:20FC). Los valores más bajos se observaron en los materiales con mayor proporción de material fibroso, como el sustrato control y el resto de tratamientos, con mayor proporción de FC, tal como también fue observado por Ceglie y col. (2015). El espacio poroso total (EPT), el cual está inversamente correlacionado con la DA, mostró valores estadísticamente inferiores a los del sustrato control, pero dentro o próximos al rango del sustrato ideal (> 85%), favoreciendo el uso de FC a este parámetro. Los valores de capacidad de aireación (CA) fueron superiores a los del sustrato control, aunque dentro del rango óptimo, mientras que los valores de CRH fueron inferiores al rango óptimo en todos los sustratos, incluido el control. El sustrato con mayor proporción de C y FC (10VC:60C:30FC) mostró la mayor CA junto al sustrato control, lo cual es un aspecto esencial para el uso de un material o mezcla de materiales como medio de cultivo, ya que valores bajos de CA dificultan el crecimiento de la planta debido al pobre drenaje tras los riegos (Ceglie y col., 2015). La contracción estuvo dentro del rango óptimo en todas las mezclas, lo cual asegura que no haya importantes cambios de volumen del sustrato en ciclos de humectación-desecación, lo cual evita la compresión de las raíces.

Tabla 2. Propiedades físico-químicas y físicas de los sustratos estudiados comparadas con el sustrato ideal (SI).

	SI[1]	Sustrato comercial	10VC:60C:30FC	20VC:60C:20FC	20VC:50C:30FC	*F-ANOVA*
pH	5,3-6,5	6,1a	7,8b	7,7b	7,5b	*62,9****
CE (dS/m)	< 0,5	0,92a	3,87c	3,98c	3,47b	*548,7****
DR (g/cm^3)	--	1,676a	1,825b	1,903c	1,916c	*27,4****
DA (g/cm^3)	≤ 0,4	0,166a	0,256b	0,293c	0,256b	*267,7****
EPT (%)	> 85	90,3b	86,2a	84,8a	86,8ab	*5,45**
CA (%)	20-30	45,6c	44,1c	37,5a	40,0b	*46,7****
CRH (mL/L)	550-800	447b	421a	474c	468c	*19,2****
Cnt (%)	<30	19,8b	15,7a	16,0a	15,2a	*49,9****

[1]Según Noguera y col. (2003). CE: conductividad eléctrica; DR: densidad real; DA: densidad aparente; EPT: espacio poroso total; CA: capacidad de aireación; CRH: capacidad de retención hídrica; Cnt: contracción. VC: vermicompost; C: compost; FC: fibra de coco. *** y *: significación a $p < 0,001$ y $p < 0,05$, respectivamente. Los valores en fila con la misma letra no difieren estadísticamente (test de Tukey-b a $p < 0,05$).

La germinación en el cultivo de lechuga fue estadísticamente inferior a la obtenida con el control sólo para la mezcla 10VC:60C:30FC (Fig. 1a). Esto pudo deberse a la menor CRH de esta mezcla (Tabla 2), reduciéndose así la humedad y el aporte de nutrientes a las semillas.

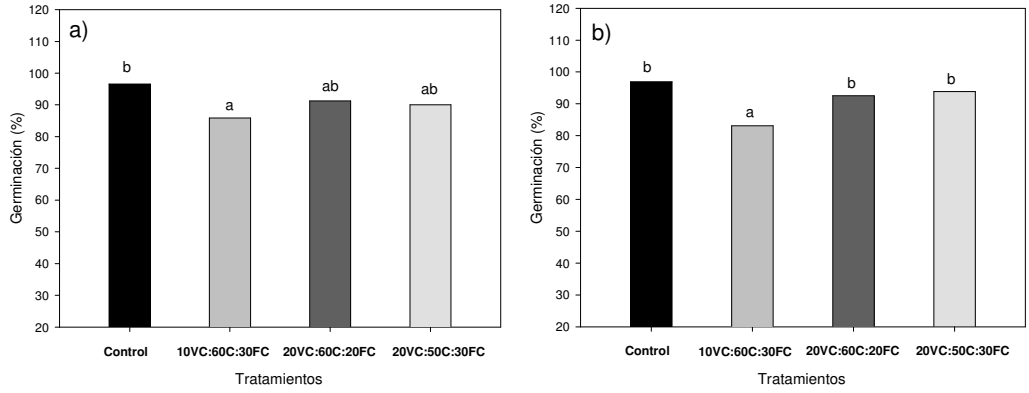


Figura 1. Incidencia de los tratamientos establecidos sobre la germinación en el cultivo de lechuga (a) y brócoli (b). Para cada tipo de sustrato, letras distintas implican tratamientos estadísticamente diferentes (p <0,05). VC: vermicompost; C: compost; FC: fibra de coco.

Este efecto también se observó en la germinación del brócoli, observándose valores estadísticamente similares para el sustrato control y las mezclas 20VC:60C:20FC y 20VC:50C:30FC.

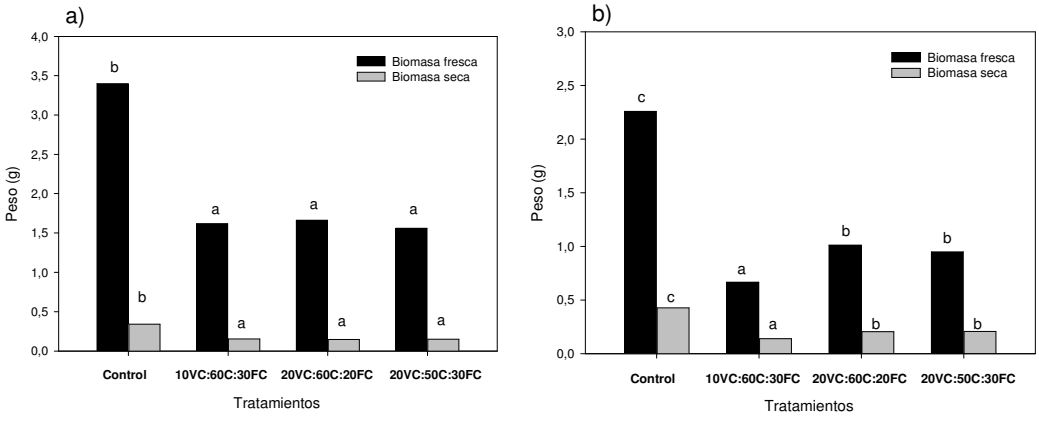


Figura 2. Efecto de los tratamientos establecidos sobre la biomasa fresca y seca en el cultivo de lechuga (a) y brócoli (b). Para cada tipo de sustrato, letras distintas implican tratamientos estadísticamente diferentes (p <0,05). VC: vermicompost; C: compost; FC: fibra de coco.

Respecto a la biomasa fresca y seca (Figs. 2a y b), en ambos cultivos, el sustrato control mostró la mayor biomasa, no observándose diferencias estadísticamente significativas entre las mezclas en el caso de la lechuga, mientras que para el brócoli, la mezcla con mayor proporción de C y de FC mostró los valores más bajos. Esto pudo deberse a los altos valores de CE en las mezclas (Tabla 2) y a la baja CRH de la mezcla 10VC:60C:30FC, que pudo influir en la baja producción de brócoli, pues este cultivo tiene mayores requerimientos nutricionales que la lechuga.

4. Conclusiones

En general, las mezclas ternarias elaboradas con compost vegetal, vermicompost y fibra de coco mostraron adecuadas propiedades físicas y físico-químicas para su uso como sustitutos de la turba para el cultivo de lechuga y brócoli en condiciones de agricultura ecológica. Sin embargo, el uso del vermicompost en menor proporción (10%) no permitió alcanzar una adecuada capacidad

de retención hídrica para los cultivos estudiados. La alta salinidad de las mezclas pudo ser el otro factor determinante de la menor germinación y producción de biomasa en ambos cultivos. La fibra de coco equilibró las características de las mezclas, reduciendo la salinidad y mejorando propiedades físicas esenciales para un sustrato como la capacidad de aireación, el espacio poroso total y la contracción.

5. Bibliografía

Andreu-Rodriguez J., Medina E., Ferrandez-Garcia M.T., Ferrandez-Villena M., Ferrandez-Garcia C.E., Paredes C., Bustamante M.A., Moreno-Caselles J. 2013. Agricultural and industrial valorization of *Arundo donax* L. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 44; 598–609.

Bustamante M.A., Paredes C., Moral R., Agulló E., Pérez-Murcia M.D., Abad M. 2008. Composts from distillery wastes as peat substitutes for transplant production. *Resour. Conserv. Recycl.* 52, 792-799.

Ceglie F.G., Bustamante M.A., Amara M.B., Tittarelli F. 2015. The challenge of peat substitution in organic seedling production: optimization of growing media formulation through mixture design and response surface analysis. *Plos One* 10(6): e0128600. doi:10.1371/journal.pone.0128600.

Noguera P., Abad M., Puchades R., Maquieira A., Noguera V. 2002. Influence of particle size on physical and chemical properties of coconut coir dust as a container medium. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 34, 593-605.

Raviv M. 2011. The future of composts as ingredients of growing media. Acta Hort. 891, 19-32.

6. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto "*Desarrollo de nuevos recursos y bioproductos basados en residuos de especies palmáceas orientados al secuestro de carbono y estrategias de mitigación, Palmresource*" (Proyecto AGL2013-41612-R), financiado por el MINECO y por Fondos FEDER ("Una manera de hacer Europa"). Los autores también quieren dar las gracias a la empresa Semilleros BabyPlant S.L. por su ayuda en el desarrollo práctico de este experimento.

ENSAYOS CON BIOCARBONES PROCEDENTES DE RESIDUOS DE ALMAZARA Y ORUJERA PARA LA ELIMINACIÓN DE CONTAMINANTES EN AGUAS

E. Durán, B. Gámiz, L. Cox, J. Cornejo, M.C. Hermosín

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla IRNAS-CSIC, España,
esperanza.duran@irnas.csic.es

Resumen:
El biocarbón (BC) es un material rico en carbono obtenido a partir de biomasa mediante un proceso de pirólisis, que se ha demostrado puede ser buen adsorbente de contaminantes orgánicos y metales pesados, capacidad que depende principalmente de las condiciones de preparación y materia prima inicial. Este estudio tiene como objetivo la evaluación de dos biocarbones, procedentes de dos materias primas residuales de la industria oleolícola olivarera, como adsorbentes de bajo coste para eliminar contaminantes en aguas. Se prepararon dos biocarbones a partir de dos residuos de almazara, alperujo (BCA) y orujo (BCO), mediante pirólisis a 550 Cº y atmósfera limitada de O_2 y se seleccionaron contaminantes de origen diverso (agrícola e industrial) y diferentes características fisicoquímicas: a) cuatro contaminantes orgánicos, tres plaguicidas (MCPA, tebuconazol y terbutilazina) y una dioxina (dibenzofurano) y b) dos contaminantes inorgánicos losmetales pesados Cu y Zn. La capacidad de adsorción de estos BCs se estudió mediante experimentos de adsorción a una sola concentración de contaminante, que se analizaron respectivamente por HPLC e ICP-MS. Los resultados demuestran que ambos biocarbones resultaron ser más eficientes para la eliminación de metales pesados y del contaminante altamente hidrófobo dibenzofurano, que para los contaminantes orgánicos polares (plaguicidas) y aunque mostraron poca diferencia en su capacidad de adsorción, siempre fue ligeramente superior la del BCA, a pesar de tener la menor superficie específica.

Palabras clave: Adsorción, Biocarbón, Contaminantes Orgánicos, Metales Pesados

1. Introducción.

El incremento de la actividad humana durante los últimos 50 años, ha ocasionado uno de los problemas medioambientales que más afecta a nuestra sociedad, como es la contaminación de las aguas, consecuencia en muchos casos de la contaminación previa de los suelos. Dicha contaminación es debida a la liberación de determinadas sustancias de diferente origen (industrial, agrícola, urbana) y/o naturaleza, bien sea orgánica (fármacos, pesticidas, dioxinas) o inorgánica (metales pesados) y afecta tanto a aguas subterráneas como superficiales. Esta problemática demanda el desarrollo de estrategias de prevención y control de la contaminación tales como el diseño y desarrollo de adsorbentes eficaces y de bajo coste para su eliminación del medio.

El biocarbón o biochar, es un sólido rico en carbono, obtenido mediante una degradación térmica o pirolisis en ausencia de oxígeno, que posee una serie de características que lo hacen ventajoso para potenciales aplicaciones, como enmienda de suelos, para la producción de energía o reciclado de residuos. Las propiedades específicas que estos materiales presentan: la superficie específica, la estructura porosa, una superficie rica en grupos funcionales o los componentes minerales, hacen posible su uso como material adsorbente (Tan y col., 2015). Estas propiedades varían según las condiciones de pirolisis a las que sea sometida la materia prima inicial, dándole por tanto una gran versatilidad. Los biocarbones pueden ser obtenidos a partir de una gran variedad de materias primas como son: residuos de origen agrícola o forestal, subproductos de origen industrial o incluso de residuos sólidos urbanos (huesos, papeles, etc,…) (Inyang y col., 2016), por lo que su origen natural, así como su proceso de obtención los hacen biocompatibles con su empleo como enmiendas de suelo (Gámiz et al., 2016) y como posibles biofiltros en

barreras o ecosistemas naturales. Para este estudio utilizaremos residuos sólidos procedentes de la industria del aceite de oliva (Orujo y Alperujo) ya que se trata de un residuo sólido muy abundante en Andalucía y cuya posibles vías eliminación y/o transformación tiene un enorme interés medioambiental.

El objetivo de este estudio es evaluar los dos biocarbones (BCA y BCO) como adsorbentes de contaminantes orgánicos (COs) como MCPA, tebuconazol, terbutilazina (plaguicidas) y dibenzofurano (dioxina); e inorgánicos como Cu y Zn, con vistas a su posible utilidad como enmienda en suelos o biofiltros en zonas de contaminación puntual.

2. Materiales y métodos.

2.1. Obtención del biocarbones.

Los biocarbones se obtuvieron a partir de dos residuos orgánicos procedentes de la industria del aceite de oliva, alperujo y orujo, facilitados por una almazara-orujera de Morón de la Frontera (Sevilla). El alperujo es un subproducto obtenido de la extracción de aceite de oliva virgen en sistema de dos fases, constituido por aguas de vegetación, partes sólidas de la aceituna y restos grasos. Este residuo se dejó secar al aire libre, removiendo para su aireación, hasta que una vez seco se molió y homogeneizó. El orujo es el residuo seco que queda tras extraer con solvente orgánico el aceite restante, tanto del alperujo previamente secado, como en el residuo del sistema de 3 fases también llamado orujo y en este caso se empleó tal cual fue suministrado.. Los adsorbentes se prepararon a partir de estos residuos orgánicos por pirolisis a 550ºC en un horno durante unos 50 minutos en atmósfera limitada de oxígeno.

2.2. *Contaminantes orgánicos y metales pesados.*

Se utilizaron los siguientes contaminantes:

Metales pesados: Se eligieron el Cu y Zn, que pueden tener tanto origen agrícola como industrial. Los experimentos de adsorción se llevaron a cabo con $CuCl_2$ con una pureza de 98.5%, y $ZnCl_2$ con un grado de pureza del 99.8 %.

Contaminantes orgánicos: se seleccionaron los plaguicidas, MCPA, tebuconazol, terbutilazina y una dioxina, dibenzofurano debido a que abarcan un amplio rango de características como se recogen en la Tabla 1.

Tabla 1. Características principales de los contaminantes orgánicos utilizados

Nombre	Procedencia	Peso molecular	pKa	Solubilidad en agua (mg/l)
MCPA	Agrícola	200.62	3.7	293.3
Tebuconazol	Agrícola	307.8	5.0	36
Terbutilazina	Agrícola	229.7	2.0	8.5
Dibenzofurano	Industrial	1800	----	5

2.3. Estudios de los biocarbones como adsorbentes de contaminantes.

La adsorción de los plaguicidas y de la dioxina se llevó a cabo haciendo interaccionar por triplicado 20 mg de adsorbente (BCA o BCO) con 8 ml de una disolución inicial a 3 mg/l de un único contaminante. En el caso de los plaguicidas se hicieron interaccionar los BCs con la disolución conteniendo los 3 plaguicidas simultáneamente (terbutilazina, tebuconazol y MCPA) a una concentración (3 mg/l). Las concentraciones de estos compuestos orgánicos se cuantificaron

por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con un flujo de fase móvil 1ml/min, un volumen de inyección de muestra de 25µl y patrones externos para la calibración. La fase móvil para la terbutilazina y el tebuconazol fue de 50% de agua y 50 % de acetonitrilo, para el MCPA fue de a 60% Metanol y 40 % y finalmente para el dibenzofurano fue de 70 % de acetonitrilo y 30 % de agua.

Las disoluciones iniciales de $CuCl_2$ y de $ZnCl_2$ se prepararon a dos concentraciones (0.05 mM y 0.3 mM para el Zn y 0.05 mM y 0.3 mM par el Cu), y fueron ajustadas a pH=3 para evitar la precipitación de los metales. Para los estudios de adsorción llevados a cabo con MPs se pusieron en contacto 20 mg de BCA o BCO con 8 ml de la disolución inicial y se agitaron durante 24 horas. Transcurrido el tiempo se analizaron los MPs mediante la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS).

3. Resultados y discusión.

En la tabla 2 se presentan el análisis elemental, y la superficie específica (S_{BET}) de los biocarbones. Tanto BCA como BCO presentaron unos porcentajes de carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno muy similares entre ellos. En cuanto a la superficie específica (S_{BET}), se obtuvieron valores bajos, debido que la dificultad que presentan las moléculas de N_2 para entrar en la estructura porosa que poseen los BCs.

Tabla 2. Principales características de los biochars obtenidos

	C (%)	H (%)	N (%)	O (%)*	S_{BET}(m^2/g)
BIOCARBÓN ALPERUJO (BCA)	61.68	1.64	1.33	35.35	0.2023
BIOCARBÓN ORUJO (BCO)	62.72	1.97	1.67	33.64	0.7434

*obtenido por diferencia sin contar con las cenizas.

3.1. Adsorción de contaminantes orgánicos en los biocarbones.

La figura 2 muestra los porcentajes de adsorción de tebuconazol, MCPA y dibenzofurano en los BCs. La adsorción para el herbicida MCPA, tanto para el BCA como para el BCO fue inelegible (< 5%), probablemente debido a la repulsión entre la forma aniónica del plaguicida (pH de la disolución inicial de 11.07 y de 10.42) y la superficie cargada negativamente de los biocarbones. Sin embargo, para el fungicida tebuconazol, el porcentaje de adsorción aumentó ligeramente llegando hasta un 20 % para el BCO. Por otro lado, el porcentaje de adsorción del dibenzofurano (compuesto muy hidrófobo) alcanzó cerca de un 60% para ambos BCs. Por lo que de estos resultados se desprende que la capacidad de adsorción de ambos biocarbones está más relacionada con la hidrofobicidad de los compuestos orgánicos que con su carácter polar o grupos funcionales moleculares que presenten los adsorbentes.

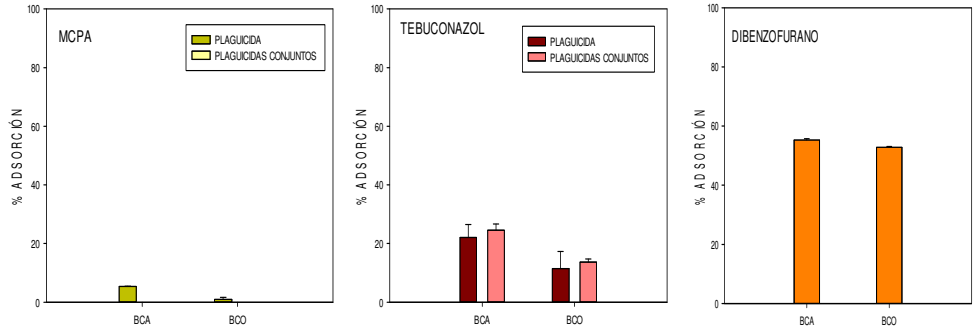


Figura 2.Porcentajes de adsorción de los plaguicidas de forma individual y coaplicados (MCPA, terbutilazina y tebuconazol) a Ci= 3 ppm en los dos biocarbones y porcentaje de adsorción del dibenzofurano para estos mismos adsorbentes.

3.2. Adsorción de metales pesados (Cu y Zn) en biocarbones

La Figura 3 muestra los porcentajes de adsorción de ambos metales a dos concentraciones diferentes en los BCs. Para ambos casos encontramos altos porcentajes de adsorción con respecto a los obtenidos en los COs. Para el BCA se obtuvo alrededor de un 90% de adsorción y más de un 70% para el BCO (para Cu y Zn). Las altas temperaturas de carbonización (> 400 ºC) promueven la formación estructuras de grafeno (anillos aromáticos condensados) que pueden favorecer la adsorción de estos MPs por mecanismos de atracción electrostática (Keiluweit y Kebler, 2009). Además estos MPs pueden formar complejos mediante enlaces polares con los carboxilatos o grupos carbonilos residuales en la superficie de los biocarbones. Adicionalmente, pueden tener lugar procesos de precipitación a consecuencia de un aumento del pH final. Aunque los BCs estudiados muestran diferencias poco significativas entre sí, pero el BCA adsorbe siempre ligeramente más MP que el BCO en todos los contaminantes, a pesar de tener mucha menor superficie. Esto que parece sugerir la relevancia de posibles enlaces polares específicos contaminante-BCA, dado por otra parte su mayor contenido en oxigeno (Tabla 1) que indicaría mayor contenido de grupos carboxilos, carbonilos e incluso fenólicos de este biocarbon.

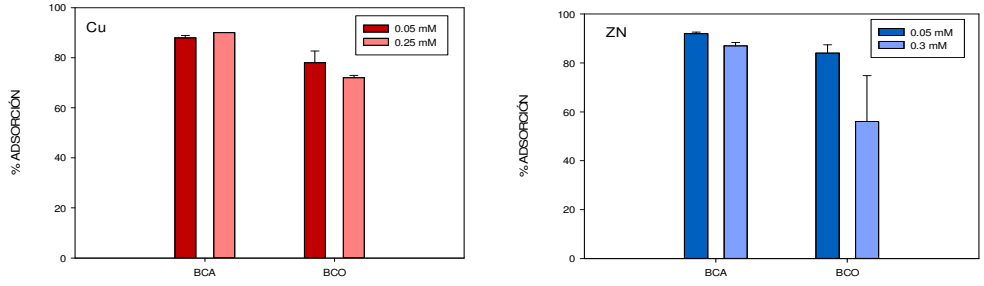


Figura 3. Porcentajes de adsorción del Cu y el Zn a poner las concentraciones en los dos biocarbones.

4. Conclusiones.

Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos nos permiten afirmar que los biocarbones son buenos adsorbentes para los metales pesados y el dibenzofurano, por lo que podrían ser usados en un filtro para su eliminación en agua. Por el contrario, estos BCs no son tan efectivos para los plaguicidas estudiados, todos ellos polares en diferente grado, que solo son eliminados

entre un 2-20%. En estos casos sería interesante probar con otras condiciones de pirólisis más favorables para la adsorción de estos compuestos. No existen diferencias significativas en los porcentajes de adsorción de los contaminantes ensayados en los dos biocarbones obtenidos de los diferentes subproductos de la almazara.

5. Bibliografía.

Gámiz B., J.J. Pignatello, L. Cox, M.C. Hermosin, R. Celis. 2016. Environmental fate of the fungicide metalaxyl in soil amended with composted olive-mill waste and its biochar: An enantioselective study . *Sci Total Environ*.15; 541:776-83.

Inyang M., Gao B., Yao Y., Xue Y., Zimmerman A., Mosa A., Pullammanappallil P., Sik Ok Y., Cao X., 2016. A review of biochar as low-cost adsorbent for aqueous heavy metal removal. Crit. Rev. Env. Sci. Tec.46 (4), 406-433.

Keiluweit M., y Kebler M., 2009.Molecular-level interactions in soils and sediments: the role aromatic pi-system. Env. Sci. Tec. 43, 3421-3429.

Tan X.,Liu Y.,Zeng G., Wang X., Hun X., Gu Y., Yang Z., 2015. Review: Application of biochar for the removal of pollutans from aqueous *Chemosphere*. 125, 70-85.

6. Agradecimientos.

Este trabajo ha sido financiado con los proyectos de la Junta de Andalucía (P11-AGR-7400) y RECUPERA 2020 (MCINN_CSIC). E. Durán agradece la concesión de la Beca Predoctoral FPI asociada (P11-AGR-7400).

BIOFERTILIZANTES CON SABOR A ACEITE DE OLIVA: AISLAMIENTO DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL (PGPB) DE UN COMPOST DE "ALPERUJO"

Alba Díaz-Arco[1], María Molina-Muñoz[2], Elena Navarro-García[3], Carlos Ortega-Fernández[4], Laura Palma-Pérez[5], María Carmen Sarmiento-Vega[2], Antonio Castellano-Hinojosa[6], Eulogio J. Bedmar[6] y Germán Tortosa-Muñoz[6]

[1]IES Hiponova, Avda. Miguel Hernández, s/n, 18270, Montefrío, Granada, España.
[2]IES Alba Longa, C/ San Miguel, s/n, 18100, Armilla, Granada, España.
[3]CDP Dulce Nombre de María, Paseo de los Basilios, 2, 18008, Granada, España.
[4]IES Pedro Jiménez Montoya, Calle Isaac Peral, 2, 18800, Baza, Granada, España.
[5]IES Aricel, Calle del Aricel, S/N, 18220 Albolote, Granada, España.
[6]Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos, Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Profesor Albareda, 1, 18008 Granada, España. E-mail: german.tortosa@eez.csic.es

Resumen: El compostaje es una biotecnología capaz de transformar residuos orgánicos en enmiendas y abonos orgánicos de interés en agricultura. Sin embargo, existen pocos estudios hasta la fecha que aborden la capacidad de los composts como fertilizantes biológicos o biofertilizantes, esto es, contener bacterias capaces de promover el crecimiento vegetal. En este trabajo se estudió la presencia de bacterias PGPBs (*Plant-Growth-Promoting Bacteria*) presentes en un compost de "alperujo", el principal residuo orgánico de la industria del aceite de oliva. Se hizo mediante dos metodologías: Por un lado, se inocularon plantas leguminosas (soja, judía y garbanzo) con compost para comprobar la presencia de bacterias capaces de formar nódulos. Por otro, empleando un medio de cultivo selectivo, se aislaron del compost bacterias fijadoras de nitrógeno y además, se analizó su capacidad para producir sideróforos (quelantes de hierro) y solubilizar fosfato tricálcico. Finalmente, se consiguieron aislar e identificar mediante amplificación del gen 16S rRNA por PCR, cuatro bacterias con reconocidas propiedades PGPB: *Burkholderia phymatum*, *Bacillus aryabhattai*, *Gluconacetobacter diazotrophicus* y *Pseudomonas stutzeri*. Estos resultados demostraron que el compost de "alperujo" podría utilizarse como fertilizante biológico al contener microorganismos capaces de promover y favorecer el crecimiento vegetal. Este trabajo lo realizaron estudiantes de educación secundaria de la provincia de Granada dentro del proyecto PIIISA (Proyecto de Iniciación a la Investigación e Innovación en Secundaria en Andalucía) durante octubre de 2015 y mayo de 2016. Todo el diario de laboratorio así como una exposición pública del trabajo puede consultarse en: http://www.compostandociencia.com/proyectos/piiisa2015-2016/.

Palabras clave: Biofertilizantes, compost de "alperujo", bacterias PGPB, fijación de nitrógeno.

1. Introducción.

El incremento de la población mundial demanda una mayor utilización de materias primas para cubrir la producción de alimentos. Esto genera, en muchos casos, graves problemas ambientales motivados por el abuso de fertilizantes, la generación de residuos y la contaminación de los ecosistemas terrestres y marinos (FAO, 2016). En los últimos años, la Unión Europa realiza serios esfuerzos para implementar la denominada "economía circular" cuyos objetivos son, entre otros, reducir el uso de materias primas, minimizar la producción de residuos y fomentar su reutilización y reciclaje (de Man y Friedge, 2016).

Uno de los procesos productivos que genera gran cantidad de residuos y subproductos es la industria extractiva del aceite de oliva, siendo España, y especialmente Andalucía, la principal

productora a nivel mundial. Su principal residuo es el orujo de dos fases o "alperujo" (Alburquerque y col., 2004), un producto de elevada toxicidad y extraordinariamente contaminante. Se ha demostrado, no obstante, que el compostaje es un método sencillo y viable, capaz de transformar el "alperujo" en abonos y enmiendas orgánicos de interés en agricultura (Tortosa y col., 2012). Sin embargo, hasta la fecha, existen pocos estudios que aborden la capacidad de este compost como biofertilizante, esto es, como fertilizante biológico capaz de promover el crecimiento vegetal.

El empleo de microorganismos beneficiosos para las plantas está cada vez más extendido en la agricultura. Se ha demostrado que las conocidas como *"plant growth-promoting bacteria"* (PGPB) promueven el desarrollo y crecimiento de numerosas plantas de interés agrícola y forestal. Los mecanismos que emplean las PGPBs incluyen la capacidad de actuar como agentes de control biológico de patógenos, producción de fitohormonas y sideróforos, solubilización de fosfato inorgánico, fijación de nitrógeno, etc. que, en definitiva, aumentan la disponibilidad de estos nutrientes en el suelo. De especial interés son las bacterias que reducen el nitrógeno atmosférico (N_2) a amonio, lo que puede ocurrir tanto en vida libre o en asociaciones simbióticas con las plantas leguminosas y actinorrícicas (Peix y col., 2015).

Así, para evaluar el compost de "alperujo" como biofertilizante, el objetivo de este trabajo se centró en aislar e identificar bacterias con propiedades PGPBs, estudiando concretamente a) su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico; b) la de producir compuestos que solubilizan hierro (sideróforos) y c) la de solubilizar fosfato insoluble.

2. Material y Métodos.

Para abordar el objetivo propuesto se realizaron dos aproximaciones metodológicas, una basada en las bacterias fijadoras de nitrógeno que forman simbiosis con leguminosas y la otra en bacterias que fijen nitrógeno en vida libre. Tanto las propiedades del compost de "alperujo" como los procedimientos y técnicas experimentales se encuentran detallados en Tortosa y col. (2012) y Castellano-Hinojosa y col. (2016).

2.1. Estudio de bacterias que forman simbiosis con leguminosas.

Para conocer la presencia de bacterias capaces de nodular plantas leguminosas se realizaron dos experimentos añadiendo compost tanto en forma sólida (experimento Nº 1) como en forma de extracto (experimento Nº 2). Las plantas elegidas fueron soja, judía y garbanzo ya que son modelos para el estudio del sistema simbiótico bacteria-planta y, además, tienen gran interés agrícola. Para esto, las semillas se esterilizaron superficialmente y se germinaron en oscuridad en placas Petri con agar estéril al 1% durante 3-4 días a 30 ºC. Una vez germinadas, se trasplantaron 4 semillas de cada especie a un sistema hidropónico de jarras Leonard que contenían una disolución nutritiva completa sin nitrógeno combinado. El sustrato usado fue vermiculita del Nº 3 con una capa superficial de perlita. En el experimento Nº 1 se adicionaron 5 g de compost por jarra y en el experimento Nº 2, 1 ml a cada semilla de un extracto acuoso del compost (relación peso:volumen 1:20 y 2 horas de agitación mecánica). En ambos experimentos se hicieron dos tratamientos, con y sin compost (control negativo), con 3 réplicas cada uno. En todo momento se trabajó en condiciones estériles para evitar cualquier posible contaminación. Todas las plantas crecieron durante 4 semanas en condiciones controladas de temperatura y luz en el Servicio de Invernaderos y Cámaras de Cultivo disponible en la Estación Experimental del Zaidín (CSIC).

2.2. Estudio de bacterias fijadoras de nitrógeno en vida libre.

2.2.1. Aislamiento y cultivo de bacterias.

Se preparó un extracto acuoso del compost usando la proporción peso:volumen 1:20 con solución salina estéril (NaCl al 0.9%) agitando durante 2 horas. Del extracto obtenido, se prepararon diluciones seriadas (hasta 10^{-6}) y se inocularon placas Petri que contenían medio de cultivo Burk específico para aislar bacterias fijadoras de nitrógeno. Se inocularon placas por triplicado con 30 µl de cada dilución con la ayuda de un asa estéril de Drigalsky. Finalmente, los cultivos se incubaron durante 4 semanas en oscuridad a 30 ºC hasta la aparición de bacterias formadoras de colonias (UFCs).

2.2.2. Selección de bacterias.

Se seleccionaron las UFCs que presentaron diferente morfología (color y forma) con la ayuda de una lupa y un microscopio óptico, se aislaron y se cultivaron de forma individual en placas Petri con el mismo medio. Después, los aislados que presentaron mejor crecimiento se pasaron a un cultivo líquido con medio Burk preparándose de cada aislado dos tandas de tubos, una destinada a las pruebas PGPB y la otra para el aislamiento de su ADN.

2.3. Propiedades promotoras del crecimiento vegetal (PGPB): producción de sideróforos y solubilización de fosfato inorgánico.

Las pruebas PGPB se realizaron de forma cualitativa mediante la inoculación en placas Petri de los aislados obtenidos:

- Solubilización de fosfato: El medio contenía fosfato tricálcico al 0.2%. Si la bacteria crece en este medio forma un halo blanco alrededor de la colonia al ser capaz de liberar el fosfato como ión fosfato.
- Producción de sideróforos: El medio contenía un compuesto azul cromogénico. Si la bacteria crece en este medio azul forma un halo naranja al liberar sideróforos al medio.

Para ambas pruebas, se adicionaron 3 µl de cada cultivo en el centro de las placa y se incubaron durante dos semanas en oscuridad a 30 ºC. Después se observó la presencia o ausencia de halo y se midió su diámetro. La eficiencia se calculó como: [E= (diámetro actividad PGPB/diámetro de la colonia) x 100]. Como control se utilizó la cepa *Azospirillum brasiliense* C16 (100% de eficiencia).

2.4. Identificación de las cepas.

El aislamiento del ADN genómico se realizó usando el kit comercial REAL PURE según las instrucciones del fabricante. Brevemente, el proceso consistió en centrifugar el cultivo, lisar las células (disolución de la membrana plasmática), eliminar los interferentes (proteínas, etc.) y limpiar el ADN con isopropanol. La calidad y cantidad del ADN obtenido se verificó espectrofotométricamente (Nanodrop). Seguidamente, se amplificó el gen 16S rRNA bacteriano usando los cebadores universales fD1 y rD1 mediante PCR, se comprobó su tamaño mediante electroforesis en geles de agarosa, se purificó y se secuenció en el Servicio de Secuenciación de ADN disponible en la Estación Experimental del Zaidín. Finalmente, las secuencias obtenidas se contrastaron con las depositadas en EzTaxon (http://www.ezbiocloud.net/eztaxon/) para la identificación de las bacterias aisladas.

3. Resultados y Discusión.

3.1. Bacterias fijadoras de nitrógeno que forman simbiosis con leguminosas (soja, judía y garbanzo).

Después de cuatro semanas de crecimiento en cámara de cultivo no se observó presencia de nódulos en las raíces de las plantas inoculadas con el compost en forma sólida (Experimento Nº 1). Para descartar que este resultado se debiese a la forma en la que compost fue adicionado, se repitió el experimento, pero esta vez inoculando 1 ml de un extracto acuoso del compost previamente preparado. Así, en el segundo experimento sí se observó presencia de nódulos tras el mismo tiempo de cultivo, aunque solo en las plantas de judía. Este resultado puede no ser concluyente ya que el aspecto visual de las plantas en comparación con las control (sin inocular con compost) era similar, es decir, la parte foliar presentaba un aspecto amarillento característico de plantas sin nitrógeno. Por lo tanto, habría que realizar otro experimento para comprobar si verdaderamente esos nódulos correspondían a bacterias fijadoras de nitrógeno o a una simple contaminación.

3.2. Bacterias fijadoras de nitrógeno en vida libre.

Las bacterias fijadoras de nitrógeno en vida libre presentes en el compost de "alperujo" se cuantificaron mediante la técnica de diluciones seriadas y fue de 1,62 x 10^8 UFC por gramo de compost seco. Por otro lado, se aislaron un total de 38 UFCs con diferente morfología (color y forma), aunque solo 9 fueron seleccionadas para las posteriores pruebas PGPB. De las 9 cepas, la 1, 2, 7 y 9 fueron capaces de producir sideróforos y de solubilizar fosfato inorgánico y sus valores de eficiencia fueron superiores que los de la cepa control *A. brasiliense* C16. La cepa 2 presentó la mayor producción de sideróforos (150%) y el aislado 7 la mayor capacidad de solubilizar fosfato (290%), respectivamente (Tabla 1). Finalmente, estos 4 aislados se identificaron como *Burkholderia phymatum, Bacillus aryabhattai, Gluconacetobacter diazotrophicus* y *Pseudomonas stutzeri* respectivamente, bacterias con reconocida capacidad para favorecer el crecimiento vegetal (Talbi y col., 2010; Castellano-Hinojosa y col., 2015; Ahemada y col., 2014; Shen y col., 2013).

Tabla 1. Identificación de las cepas bacterianas aisladas del compost de "alperujo" y su eficiencia de producir sideróforos (E_S) y solubilizar fosfato inorgánico (E_P) con respecto a la bacteria PGPB *A. brasilense* C16.

Cepa	Especie más relacionada de acuerdo al gen 16s rRNA	Similitud (%)	E_S (%)	E_P* (%)
1	*Burkholderia phymatum STM815*	99,7	125,0	182,5
2	*Bacillus aryabhattai B8W22*	100,0	150,0	176,3
7	*Gluconacetobacter diazotrophicus PAL*	100,0	93,8	290,0
9	*Pseudomonas stutzeri* ATCC 17588	88,2	100,0	141,6

*datos referidos a *A. brasilense* C16

4. Conclusiones.

Es posible la presencia de bacterias endosimbióticas de leguminosas en el compost de "alperujo". También se pueden encontrar bacterias fijadoras de nitrógeno en vida libre. Empleando medios dependientes de cultivo celular se han identificado 4 cepas que podrían emplearse como biofertilizantes: *Burkholderia phymatum, Bacillus aryabhattai, Gluconacetobacter diazotrophicus* y *Pseudomonas stutzeri*.

5. Bibliografía.

Ahemada M., Kibretb M., 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *J. King Saud.* 26, 1-20.

Alburquerque, J.A., Gonzálvez, J., García, D., Cegarra, J., 2004. Agrochemical characterisation of ''alperujo'', a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresour. Technol.* 91 (2), 195-200.

Castellano-Hinojosa A., Correa-Galeote D., Palau J., Bedmar E.J., 2015. Isolation of N_2-fixing rhizobacteria from *Lolium perenne* and evaluating their plant growth promoting traits. *J. Basic Microbiol.* 55, 1–7.

de Man R. Friedge H., 2016. Circular economy: European policy on shaky ground. *Waste Manag Res.* 34 (2), 93-95.

FAO (2016). Huella del despilfarro de alimentos, http://www.fao.org/nr/sustainability/despilfarro-de-alimentos/es/ (fecha de consulta 30/08/2016).

Peix A., Ramírez-Bahena M.H., Velázquez E., Bedmar E.J., 2015. Bacterial Associations with Legumes. *Crit. Rev. Plant Sci.* 34, 17-42.

Shen X., Hu H., Peng H., Wang W., Zhang X., 2013. Comparative genomic analysis of four representative plant growth-promoting rhizobacteria in *Pseudomonas*. *BMC Genomics,* 14, 271.

Talbi C., Delgado M.J., Girard L., Ramírez-Trujillo A., Caballero-Mellado J., Bedmar E. J. 2010. *Burkholderia phymatum s*trains capable of nodulating *Phaseolus vulgaris* are present in Moroccan soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 76 (13), 4587–4591.

Tortosa, G., Alburquerque, J.A., Ait Baddi, G., Cegarra, J., 2012. The production of commercial organic amendments and fertilisers by composting of two-phase olive mill waste ("alperujo"). *J. Clean. Prod.* 26, 48-55.

6. Agradecimientos.

Este trabajo se ha realizado gracias al apoyo económico del proyecto P12-AGR-1968 de la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa de la Junta de Andalucía, cofinanciado por la Fondo Europeo para el Desarrollo Regional (FEDER) y también, a la Ayuda a Grupos de Investigación de la Junta de Andalucía, especialmente al grupo BIO-275.

BIOMEZCLAS CON VERMICOMPOST DE ALPERUJO PARA LA DEGRADACION DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y DE CUIDADO PERSONAL

Laura Delgado-Moreno, Inés Aguilar, Rogelio Nogales, Esperanza Romero.

Departamento Protección Ambiental, Estación Experimental del Zaidín, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (EEZ-CSIC), c/ Profesor Albareda 1, 18008 Granada.
ines.aguilar@eez.csic.es

Resumen: El uso en agricultura de agua procedente de plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas constituye la principal vía de entrada al medio de productos farmacéuticos y de cuidado personal (PFCPs), compuestos altamente tóxicos para los organismos. En este trabajo proponemos el empleo de biomezclas para eliminar o reducir la presencia de PFCPs en los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas. Las biomezclas usadas estaban constituidas por suelo, vermicompost de alperujo como agente humificante y poda o paja como agentes texturantes. También se utilizó, a efectos comparativos, la biomezcla constituida por suelo, turba y paja, tradicionalmente usada en sistemas de biorremediación. Diclofenaco, ibuprofeno y triclosan fueron los PFCPs seleccionados para este estudio. Los resultados mostraron una alta eficacia de las biomezclas para la disipación de los compuestos estudiados. El compuesto con mayor disipación fue ibuprofeno con tiempos de vida media ($t_{1/2}$) de 1 día, en todas las biomezclas ensayadas. El $t_{1/2}$ de diclofenaco fue inferior a 14 días, siendo la biomezcla con vermicompost y paja la que presento una disipación más alta. La disipación para triclosán fue mayor en la biomezcla con vermicompost y poda. En todas las biomezclas el $t_{1/2}$ de este compuesto fue inferior a un mes. Estos resultados avalan la eficacia de las biomezclas de suelo, vermicompost y poda o paja para ser usadas en sistemas de biorremediación para la eliminación de PFCPs en aguas. Estas biomezclas constituyen una herramienta eco-innovadora y de bajo coste para la protección de los ecosistemas.

Palabras clave: Diclofenaco, ibuprofeno, triclosán, biorremediación, disipación.

1. Introducción.

1.1. El uso de sistemas de biorremediación *biobeds* (SBB) para amortiguar la contaminación puntual causada por plaguicidas está cada vez más extendido (Karanasios y col., 2012). Estos SBB consisten en una matriz biológicamente activa que retiene los plaguicidas y favorece o acelera la degradación biológica de los mismos. Tradicionalmente los SBB estaban constituidos por una biomezcla de suelo, turba y paja, pero actualmente las biomezclas contienen otros materiales orgánicos ambientalmente sostenibles, de bajo coste y fáciles de obtener en el área de aplicación. Las ventajas proporcionadas por los SBB han llevado a su uso en otras finalidades (Omirou y col., 2012), pero hasta la fecha no han sido empleados para la eliminación de contaminantes orgánicos emergentes como los productos farmacéuticos y productos para el cuidado personal (PFCPs).

1.2. Los PFCP son tóxicos (Tyler y col., 2005; Gómez y col., 2012), bioacumalables (Lapworth y col., 2010) y están presentes en ecosistemas acuáticos de todo el mundo (Santos y col., 2010). La principal vía de entrada de PFCPs al ecosistema es la descarga de aguas residuales municipales y hospitalarias y de los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) (Boxall y col., 2012), ya que los actuales sistemas de tratamiento de aguas residuales no eliminan completamente estos contaminantes (Grassi y col., 2013). Por tanto, las PTAR necesitan ser mejoradas con tecnologías que permitan la eliminación eficiente de contaminantes emergentes, como los PFCPs, antes de la descarga al medio ambiente o la reutilización de los efluentes.

1.3. En este trabajo se propone el uso de SBB alternativos y de bajo coste, elaborados con suelo, vermicompost de alperujo como sustituyente de la turba, y poda o paja como agente texturizante, para la retención y eliminación de triclosán, diclofenaco e ibuprofeno de aguas residuales o efluentes de PTAR. El objetivo fue determinar la capacidad de degradación de PFCPs de los sistemas propuestos. Para ello se realizaron estudios de disipación en las biomezclas estériles y no estériles. Los resultados obtenidos en los sistemas alternativos se compararon con el sistema tradicional compuesto por suelo, turba y paja.

2. Material y Métodos.

2.1. Compuestos químicos. Triclosan, diclofenaco e ibuprofeno, con una pureza superior a 97%, fueron suministrados por Sigma-Aldrich.y La solubilidad en agua de estos compuestos es 1,9, 2,4 y 21 mg L^{-1}, respectivamente. El coeficiente de partición octanol-agua (Log K_{ow}) es 4,8, 4,5 y 4,0, respectivamente.

2.2. Biomezclas. Las biomezclas empleadas, SVP, SVPj ySTP se prepararon mezclando los distintos componentes previamente secados y tamizados por 4 mm. La nomenclatura de las biomezclas, la composición y las propiedades físico-químicas se recogen en la Tabla 1.

2.3 Ensayo de disipación. En un vaso de cristal se pesó 1 g de arena (<2 mm) (previamente lavada con HCl y esterilizada) a la que se le adicionó un volumen de mezcla de los PFCPs en acetona para conseguir una concentración final de 20 µg de compuesto g^{-1} de biomezcla. Tras la evaporación de la acetona, a cada vaso se le añadieron 20 g de biomezcla (peso seco). Las muestras fueron homogeneizadas por agitación y adicionadas con agua hasta el 85% de la capacidad de campo (Tabla 1). Posteriormente, se incubaron en oscuridad a 20 ºC durante 84 días. A diferentes tiempos, se tomaron 2 vasos por biomezcla. La biomezcla de cada vaso se extrajo por duplicado y se analizó la concentración de farmacéuticos en la misma. El ensayo de disipación se realizó también con las biomezclas estériles. La esterilización de las biomezclas se llevó a cabo por tindalización a 90ºC. Para los tratamientos estériles el agua adicionada contenía azida sódica a una concentración de 20 g L^{-1}.

2.4 Extracción y análisis de farmacéuticos. Brevemente, 3 g de cada biomezcla se extrajo, por agitación durante 1 min., con 6 mL de acetonitrilo con 1% de ácido acético. Después, a las muestras se le añadió 1 g de una mezcla de sales QuEChERs EN Pouch (Agilent Technologies, CA, USA) y se agitaron durante 1 min. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 min. El sobrenadante (1 mL) se diluyó con 1 mL de agua. Las muestras se filtraron por 0.45 µm antes de su análisis.
La concentración de PFCPs en las muestras se determinó por HPLC-DAD equipado con columna RX-C8 (5 µm, 2,1 x 150 mm) conectada a una precolumna Eclipse XDB-C8 (5µm, 2.1 x 12.5 mm).
2.5 Análisis estadístico. Diferentes modelos de disipación se emplearon para conocer cuál es el que mejor describe los datos de disipación obtenidos. Para ello se empleó el programa Modelmaker 4.0 (Cherweel Scientific Ltd., Oxford, UK). La comparación de las curvas de disipación obtenidas se realizó usando el programa estadístico Statgraphics Centurion XV versión 15.2.06 (Statpoint Technologies, Inc. Warrenton, VA, USA).

3. Resultados y Discusión.

La cinética de disipación de los PFCPs en las diferentes biomezclas se recoge en la Figura 1.

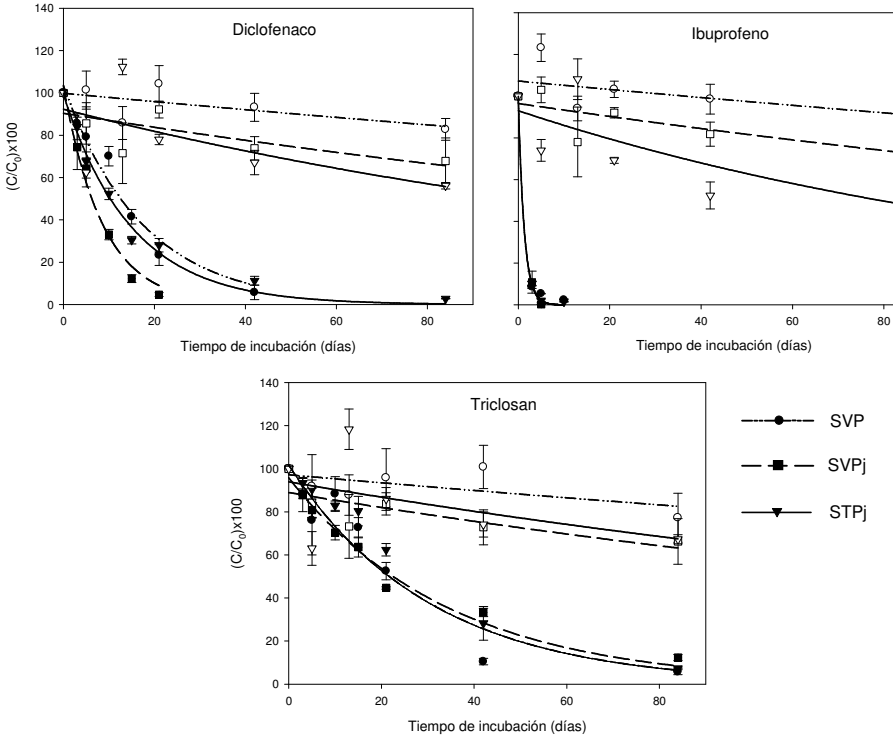


Figura 1. Cinética de disipación de diclofenaco, ibuprofeno y triclosán (expresada como porcentaje de la cantidad de compuesto inicialmente aplicada a lo largo del tiempo de incubación) en las diferentes biomezclas estériles (símbolos blancos) y no estériles (símbolos negros). Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas el ajuste al modelo cinético de primer orden. Las líneas verticales representan la desviación estándar para cada muestra (n=4).

Tabla 2. Parámetros cinéticos correspondientes al ajuste de la concentración residual del compuesto a una cinética de primer orden (SFO) ,tiempo de vida media ($t_{1/2}$) y porcentaje de compuesto disipado al final del periodo de incubación (*D*) en las biomezclas estudiadas (STPj, SVPj y SVP)

	Diclofenaco			Ibuprofeno			Triclosan		
	STPj	SVPj	SVP	STPj	SVPj	SVP	STPj	SVPj	SVP
D[a]±ds	97±0	95±1	94±3	97±1	100±0	96±3	93±1	88±1	94±1
Modelo SFO									
C_0±ds (%)	99±2	102±2	103±3	100±1	100±1	100±2	106±2	95±2	102±4
$kx10^2$±ds (d^{-1})	6.7±0.3	11.5±0.6	5.7±0.4	75.9±2.4	75.9±4.5	66.5±5.0	2.6±0.2	2.9±0.2	3.2±0.4
R^2	0.98	0.97	0.95	0.99	0.99	0.99	0.95	0.96	0.89
$t_{1/2}$ (d)	10	6	12	1	1	1	26	24	22

ds: desviación estándar; $R^{2:}$ coeficiente de regresión; $t_{1/2}$: tiempo de vida media.

En las biomezclas no estériles, el modelo cinético de primer orden fue el que mejor se ajustó a los datos experimentales de disipación de los PFCPs estudiados a lo largo del tiempo (Tabla 2). En base a los valores de *k*, se puede decir que la disipación de los PFCPs disminuyó con el aumento de la hidrofobicidad del compuesto, esto es ibuprofeno> diclofenaco> triclosan. Mayores

velocidades de disipación para diclofenaco se observaron en la biomezcla SVPj. Ibuprofeno presento menores valores de *k* en SVP y no se observaron diferencias significativas (*P*= 0.94) entre las curvas de degradación en SVPj y STPj. Para triclosan, no se observaron diferencias significativas entre las cinéticas de disipación en las biomezclas estudiadas (P>0.11).

Al final del periodo de incubación, la concentración disipada de los PFCPs fue superior al 93% de la concentración inicial aplicada, excepto para triclosán en SVPj, que fue del 88% (Tabla 2).

Los distintos PFCPs presentaron $t_{1/2}$ muy cortos en las distintas biomezclas (Tabla 2). Así, $t_{1/2}$ para triclosán fue inferior a un mes, para diclofenaco inferior a dos semanas y sólo 1 día para ibuprofeno.

La disipación de los PFCPs en las biomezclas estériles fue menor que en las no estériles (Figura 1). Al final del periodo de incubación, la cantidad de PFCPs presente en las distintas biomezclas estériles osciló entre el 57 y el 92% de la cantidad inicial aplicada. Estos resultados sugieren que la disipación de PFCPs en las biomezclas es debida principalmente a degradación biológica. La disminución de compuesto a lo largo del tiempo observada en las biomezclas estériles puede deberse a degradación de tipo químico pero también a que una pequeña parte de poblaciones microbianas haya resistido la esterilización y sea capaz de crecer degradando los PFCPs estudiados (Castillo-Díaz y col., 2016).

4. Conclusiones

Todas las biomezclas propuestas presentaron altas eficacias de degradación para ibuprofeno, diclofenaco y triclosan con $t_{1/2}$ inferiores al mes. Estos resultados revelan que las biomezclas de suelo, vermicompost de alperujo y poda o paja pueden ser empleadas para la eliminación de PFCPs de aguas residuales, evitando el uso de la turba, y constituyendo por ello una estrategia eco-innovadora, sostenible, de bajo coste y fácil implementación.

5. Bibliografía

Boxall, A.B.A., Rudd, M.A., Brooks, B.W., Caldwell, D.J., Choi, K., Hickmann, S., Innes, E., Ostapyk, K., Staveley, J.P., Verslycke, T., 2012. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: What Are the Big Questions?. *Environ. Health Perspect*. 120, 1221-1229.

Castillo-Díaz, J.M., Delgado-Moreno, L., Núñez, R., Nogales, R., Romero, E., 2016. Enhancing pesticide degradation using indigenous microorganisms isolated under high pesticide load in bioremediation systems with vermicomposts. *Biores. Technol.* 214, 234-241.

Gómez, E., Bachelot, M., Boillot, C, Munaron, D., Chiron, E., Casellas, C., Fenet., 2012 Bioconcentration of two pharmaceuticals (benzodiazepines) and two personal care products (UV filters) in marine mussels (Mytilus galloprovincialis) under controlled laboratory conditions. *Environ. Sci. Pollut. R.* 19, 2561-2569.

Grassi, M., Rizzo, L., Farina, A., 2013. Endocrine disruptors compounds, pharmaceuticals and personal care products in urban wastewater: implications for agricultural reuse and their removal by adsorption process. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 3616-3628.

Karanasios, E., Tsiropoulos, N.G., Karpouzas, D.G., 2012. On-farm biopurification systems for the depuration of pesticide wastewaters: recent biotechnological advances and future perspectives. *Biodegradation*. 23, 787-802.

Lapworth, D.J., Baran, N., Stuart, M.E., Ward, R.S., 2010. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. *Environ. Pollut*. 163, 240-246.

Omirou, M., Dalias, P., Costa, C., Papastefanou, C., Dados, A., Ehaliotis, C., Karpouzas, D.G., 2012. Exploring the potential of biobeds for the depuration of pesticide-contaminated wastewaters from the citrus production chain: Laboratory, column and field studies. *Environ. Pollut*. 166, 31–39.

Petrovic, M., González, S., Barceló, D., 2003. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *Trac-Trend. Anal. Chem*. 22, 685-696.

Santos, L., Araújo, A.N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., Montenegro, M.C.B.S.M., 2010. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *J. Hazard. Mater*. 175, 45-95.

Tyler, C.R., Spray, C., Gibson, R., Santos, E.M., Shears, J., Hill, E., 2005. Accounting for differences in estrogenic responses in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss : Salmonidae) and roach (Rutilus rutilus : Cyprinidae) exposed to effluents from wastewater treatment works. *Environ. Sci. Technol*. 39, 2599-2607.

6. Agradecimientos

El presente estudio ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, Proyecto CTM2013-44271-R y cofinanciado con fondos FEDER. L. Delgado-Moreno e I. Aguilar agradecen al Ministerio de Economía y Competitividad el contrato y Beca FPI (BES-2014-070043) concedidos, respectivamente, a cargo del proyecto.

APLICACIÓN DE RESIDUOS DE ALMAZARAS PARA REDUCIR LA PERSISTENCIA DE LOS ENANTIÓMEROS DEL HERBICIDA IMAZAQUÍN EN SUELOS AGRÍCOLAS

Rocío López, Beatriz Gámiz, Juan Cornejo, Rafael Celis

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS, CSIC), Avenida Reina Mercedes.10, 41012 Sevilla, rlopezc@irnas.csic.es

Resumen: El interés por la contaminación de los suelos y aguas por plaguicidas quirales ha ido en aumento en los últimos años. Por ello, en este trabajo se realizó un estudio enantioselectivo de la persistencia del herbicida imazaquín en un suelo agrícola de Andalucía. Asimismo, se evaluó el efecto sobre la degradación del herbicida de la enmienda del suelo con tres residuos de almazara: un alperujo fresco (ALP), un alperujo compostado (ALPc) y un carbón biológico (CB). Los resultados obtenidos mostraron que la degradación del imazaquín en el suelo examinado no fue enantioselectiva, y que dicha carencia de enantioselectividad no se vio afectada por la adición de las enmiendas. Por otro lado, la incorporación de los residuos de almazara supuso un aumento de la velocidad de degradación de los dos enantiómeros del imazaquín en el suelo, el cual fue muy acentuado en el caso de la enmienda con el alperujo fresco. Las diferencias en la persistencia de los enantiómeros del herbicida al tratar el suelo con las distintas enmiendas se atribuyeron al diferente carácter de la materia orgánica aportada por cada uno de los residuos.

Palabras clave: pesticidas quirales, imidazolinonas, residuos orgánicos, enmiendas de suelos.

1. Introducción.

Hoy en día, el uso de plaguicidas quirales está ampliamente extendido por todo el mundo, llegando a ser, aproximadamente, un cuarto de los plaguicidas utilizados actualmente (Ulrich y col., 2012). En la mayoría de los casos, estos plaguicidas se utilizan, regulan y analizan como si no fueran quirales, es decir, sin tener en cuenta que, generalmente, tanto la actividad biológica como el comportamiento en los suelos son diferentes para cada enantiómero. Por ejemplo, sólo uno de los dos enantiómeros de un plaguicida quiral suele actuar frente a la plaga objetivo y el efecto del enantiómero inactivo sobre organismos no objetivos suele desconocerse. Esto ha derivado en que en los últimos años se hayan intensificado los estudios sobre el comportamiento y destino final de enantiómeros por separado en los suelos, llegando incluso en ocasiones a recomendarse el uso del enantiómero activo puro (Magrans y col., 2001). Así, países como Suiza y Holanda han retirado la licencia de plaguicidas quirales aplicados en su forma racémica, permitiendo sólo la comercialización y uso del enantiómero activo.

El empleo de residuos de almazaras como enmiendas orgánicas de suelos es muy común en Andalucía, debido a que este subproducto de la industria aceitunera se genera en grandes cantidades en el sur de España. Varios estudios han demostrado que estos residuos, denominados alperujos, pueden modificar el comportamiento de los plaguicidas quirales en el suelo, principalmente su adsorción y degradación. Además, se ha comprobado cómo el tratamiento del alperujo fresco mediante compostaje (ALPc) y posterior pirólisis (CB), puede mejorar las propiedades del residuo, reduciendo la cantidad de compuestos ácidos y fitotóxicos (Gámiz y col., 2016).

Por este motivo, el objetivo de este trabajo ha sido el de evaluar la enantioselectividad de la persistencia del herbicida imazaquín en un suelo agrícola mediterráneo sin enmendar y

enmendado con un residuo de almazara fresco (ALP), otro compostado (ALPc) y con un carbón biológico (CB) obtenido por pirólisis del ALPc utilizado.

2. Material y Métodos.

El suelo empleado en este trabajo procede de una parcela agrícola de la provincia de Sevilla. Su textura es arcillosa, con un contenido de 6% de arena, 26% de limo y 68% de arcilla (20% montmorillonita, 38% ilita y 6% caolinita). Este suelo presenta un porcentaje de carbono orgánico bajo ($C_{orgánico}$= 0.48%) y un valor de pH alcalino (pH = 8.6), características típicas de suelos mediterráneos.

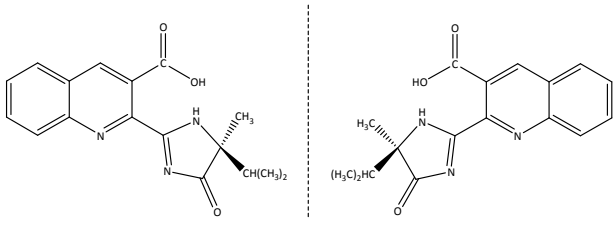
Las enmiendas utilizadas fueron tres residuos de almazara, uno fresco (ALP), otro compostado (ALPc) y un carbón biológico o biochar (CB) obtenido por pirólisis del ALPc a 400 ºC. Las principales características se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Propiedades de los residuos de almazara utilizados como enmiendas

Enmienda	$C_{orgánico}$ (%)	$C_{orgánico\ soluble}$ [a] (%)	pH[a]
ALP	44.0	7.6	5.3
ALPc	29.1	0.9	8.3
CB	23.4	0.4	9.4

[a]valores medidos en un extracto de 1 g de residuo:20ml de $CaCl_2$ 0.01 M.

En el experimento se utilizó imazaquín racémico con una pureza del 99.9%. El imazaquín es un herbicida quiral que presenta un C asimétrico en su estructura, pudiendo existir en forma de dos enantiómeros, *S*- y *R*-imazaquín (Figura 1). Este herbicida se caracteriza por ser un compuesto anfótero (pK_{a1}= 1.8, pK_{a2}= 3.8, pK_{a3}= 10.5), de modo que puede presentar diferente carga en función del pH en el que se encuentre. En el caso del suelo alcalino utilizado en este trabajo, los enantiómeros del imazaquín estarán en forma aniónica.



S-imazaquín *R*-imazaquín

Figura 1. Estructura química de los enantiómeros del imazaquín.

Los estudios de persistencia se llevaron a cabo mediante incubaciones de 100 g de suelo sin enmendar o enmendado con los residuos orgánicos en un porcentaje del 2%. Se ajustó la humedad del suelo a la capacidad de campo (40%) y se aplicó el herbicida en su forma racémica a una dosis de 2 mg/kg. Las incubaciones se realizaron a una temperatura de 20 ± 2 °C en oscuridad, para evitar la fotodegradación, y periódicamente, se tomaron muestras de 3 g de suelo que se congelaron hasta el día de la extracción. La extracción se realizó con 8 ml de una mezcla de H_3PO_4 (0.01 M): Acetonitrilo en una proporción 60:40, para posteriormente, analizar el extracto por HPLC enantioselectiva y determinar el contenido de los dos enantiómeros.

El análisis enantioselectivo del imazaquín se realizó por HPLC utilizando una columna cromatográfica quiral Chiralcel OD-3R (150 mm de longitud x 4.6 mm de diámetro interno, 3 µm de tamaño de partícula). La fase móvil fue H_3PO_4 (0.01 M): Acetonitrilo (60:40) a un flujo de 1ml/min y la longitud de onda de detección fue 250 nm. Bajo estas condiciones, los enantiómeros *S* y *R* del imazaquín eluyeron a 6.4 y 7.3 min, respectivamente.

3. Resultados y Discusión.

Para evaluar la enantioselectividad de la degradación del imazaquín en los experimentos de incubación, se calculó el valor de la fracción enantiomérica (EF) según la expresión propuesta por Harner y col. (2000): $EF = C_S / (C_S + C_R)$ donde C_S y C_R son, respectivamente, las concentraciones de *S*- y *R*-imazaquín residuales en el suelo. La Figura 2 muestra cómo los valores de EF en el suelo sin enmendar y enmendado con los residuos de almazara son aproximadamente constantes e iguales a 0.5, lo cual indica que el proceso de degradación del herbicida, en ninguno de los casos, fue enantioselectivo. La ausencia de enantioselectividad en la persistencia del imazaquín en suelos fue observada anteriormente por Jarman y col. (2005) y se atribuyó a la presencia de una población microbiana en el suelo que degradaba a ambos enantiómeros a la misma velocidad.

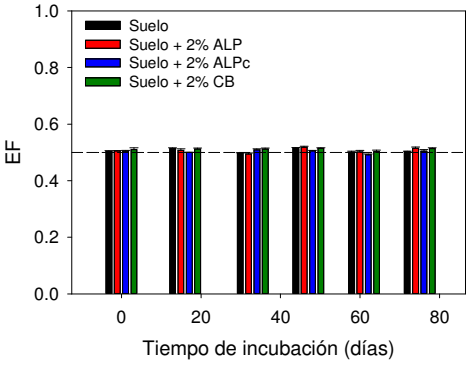


Figura 2. Variación de la fracción enantiomérica (EF) con el tiempo de incubación para el suelo sin enmendar y enmendado con ALP, ALPc y CB a un porcentaje del 2%.

La adición de las enmiendas orgánicas al suelo supuso una disminución en la persistencia de ambos enantiómeros (Figura 3). Este efecto se atribuye a varios factores. Por un lado, la materia orgánica proporcionada por las enmiendas puede bloquear sitios de adsorción del imazaquín en los suelos, de modo que queda mayor cantidad de herbicida disponible para ser biodegradado (Undabeytia y col., 2004). Al mismo tiempo, dicha materia orgánica pudo servir como alimento de los microorganismos autóctonos, estimulando el crecimiento de sus colonias. Además, pudo darse la incorporación de microorganismos exógenos al suelo procedente de los residuos de almazara que degradan el herbicida y/o fomentan la co-metabolización con los microbios autóctonos (Barriuso y col., 1997; Wang y col., 2007).

Al comparar el efecto de las distintas enmiendas, se observa que el alperujo fresco (ALP) incrementó la velocidad de degradación del *S*- y *R*-imazaquín en mayor medida que el ALPc y CB, si se compara con el suelo sin enmendar. Este resultado es, en parte, consecuencia del distinto carácter de la materia orgánica de las enmiendas. Así, el alperujo fresco contiene una cantidad considerable de compuestos orgánicos sencillos, lábiles y poco humificados que se adsorben

preferentemente en los componentes minerales de la fracción arcilla (Fernandes y col., 2006). Además, los microorganismos pueden utilizar la materia orgánica lábil del ALP como alimento, favoreciendo el crecimiento microbiano. En el caso del ALPc y CB, sus tratamientos de preparación dan lugar a una reducción del contenido de materia orgánica soluble lábil, generándose compuestos de mayor peso molecular, más complejos y humificados, los cuales son menos adecuados para ser utilizados como sustento por las poblaciones microbianas. Además los procedimientos de preparación tanto del ALPc como del CB pudieron eliminar parte de los microorganismos de los residuos.

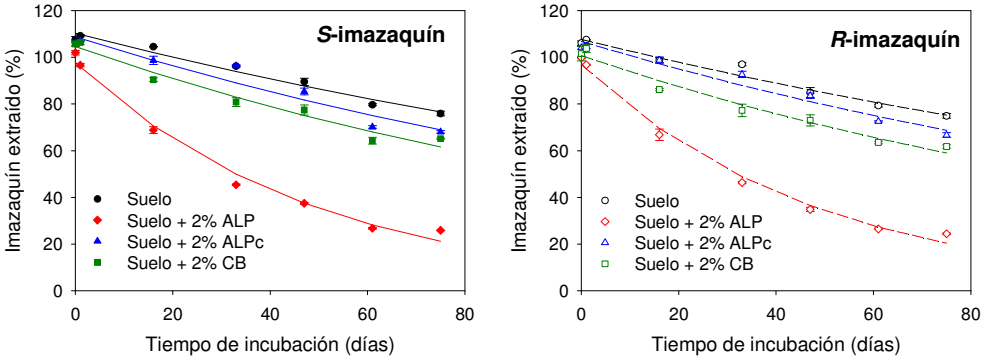


Figura 3. Curvas de disipación de los enantiómeros *S*- y *R*-imazaquín en el suelo sin enmendar y enmendado al 2% con ALP, ALPc y CB. Los símbolos corresponden a los datos experimentales, mientras que las líneas corresponden al ajuste de los datos a una cinética de primer orden.

4. Conclusiones.

Los resultados indican que la degradación del imazaquín en el suelo estudiado no fue enantioselectiva y que dicho carácter no enantioselectivo no se vio afectado por la adición al suelo de residuos de almazara. Sin embargo, el tratamiento del suelo con las enmiendas orgánicas sí supuso cambios en la velocidad de degradación de los enantiómeros al compararlo con el suelo sin enmendar, siendo el orden de dicha velocidad: suelo sin enmendar < suelo + ALPc < suelo + BC << suelo + ALP. De este modo, la utilización de residuos procedentes de almazaras podría ser una buena estrategia para reducir la elevada persistencia de los enantiómeros del imazaquín en suelos.

5. Bibliografía.

Barriuso E., Houot S., Serra-Wittling C., 1997. Influence of compost addition to soil on the behaviour of herbicides. *Pestic.Sci.* 49, 65-75.

Fernandes M.C., Cox L., Hermosín M.C., Cornejo J., 2006. Organic amendments affecting sorption, leaching and dissipation of fungicides in soils. *Pest Manag. Sci.* 62, 1207-1215.

Gámiz B., Pignatello J.J., Cox L., Hermosín M.C., Celis R., 2016. Environmental fate of the fungicide metalaxyl in soil amended with composted olive-mill waste and its biochar: an enantioselective study. *Sci.Total Environ.* 541, 776-783.

Harner T., Wiberg K., Norstrom R., 2000. Enantiomer fractions are preferred to enantiomer ratios for describing chiral signature in environmental analysis. *Environ. Sci. Technol.* 34, 218-220.

Jarman J.L., Jones W.J., Howell L.A., Garrison A.W., 2005. Application of capillary electrophoresis to study the enantioselective transformation of five chiral pesticides in aerobic soil slurries. *J. Agric Food Chem.* 53, 6175-6182.

Magrans J.O., Alonso-Prados J.L., García-Baudín J.M., 2002. Importance of considering pesticide stereoisomerism-proposal of a scheme to apply Directive 91/414/CEE framework to pesticide active substances manufactured as isomeric mixture. *Chemosphere* 49, 461-469.

Undabeytia T., Sanchez-Verdejo T., Morillo E., Maqueda C., 2004. Effect of organic amendments on the retention and mobility of imazaquin in soils. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4493-4500.

Ulrich E.M., Morrison C.N., Goldsmith M.R., Foreman W.T., 2012. Chiral pesticides: identification, description, and environmental implication. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 217, 1-74.

Wang H., Li Y., Wei G., Wang X., 2007. Imazaquin degradation and metabolism in a sandy loam amended with farm litters. *J. Environ. Sci.* 19, 1108-1113.

6. Agradecimientos.

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO, Proyectos AGL2011-23779 y AGL2014-51897-R) y la Junta de Andalucía (JA, Grupo de investigación AGR-264), con cofinanciación FEDER-FSE. Rocío López agradece al MINECO la concesión de una beca predoctoral FPI asociada al Proyecto AGL2011-23779 (Beca BES-2012-059945).

UTILIZACIÓN DE LIGNOSULFONATOS PARA EL CONTROL DE *MELOIDOGINE* MEDIANTE PROCESOS DE BIOFUMIGACIÓN

Javier López Robles, Ana Pascual, Yolanda Arribas, Carlos Rad.

Grupo de Investigación en Compostaje (UBUCOMP), Universidad de Burgos, Facultad de Ciencias, Pl. Misael Bañuelos s/n, 09001 Burgos. E-mail: djlopez@ubu.es

Resumen: Los lignosulfonatos son un importante subproducto de la industria papelera generado en el proceso de deslignificación de la pulpa de madera. Su obtención se realiza por neutralización de las aguas negras generadas en la cocción de la pasta con SO_2. Su destino habitual es la incineración, si bien se estudian diferentes aprovechamientos industriales dado su carácter polianónico. En este trabajo se ha utilizado Ca-lignosulfonato (Ca-LGS) como reactivo biofumigante en el control de *Meloidogine incognita*. La solución biofumigante (BFS) se preparó mediante la mezcla 1:1 (v/v) de Ca-LGS y urea (200 g L^{-1}) y se añadió a una muestra de suelo infectado en proporciones equivalentes de 0, 0,5, 1 y 2% (v/p), introduciéndose un tratamiento con Cadusafos al 10% (p/p) como control químico y cuatro réplicas por tratamiento. Los mesocosmos fueron llevados a saturación e incubados durante 20 días a 30 ºC, tras lo cual se determinó el número de juveniles (J2) mediante extracción y centrifugación en azúcar. El suelo final se analizó en términos de fertilidad química, así como en su capacidad infectiva. Para ello se cultivaron durante 35 días plántulas de tomate susceptible en 300 g de suelo, determinándose el índice de agallamiento en raíces y el rendimiento de la planta. Los resultados obtenidos muestran que con una dosis del 2% de BFS se obtienen mortalidades del patógeno similares a las logradas con el nematicida comercial e índices de agallamiento cercanos a cero, lo que confirma su utilidad como reactivo biofumigante.

Palabras clave: Manejo integrado de cultivos; enmiendas orgánicas; biodesinfestación

1. Introducción.

Los nematodos del género *Meloidogyne* son uno de los patógenos de mayor importancia económica en las regiones templadas. Distintas prácticas de manejo se pueden utilizar para controlar *Meloidogyne* spp. en el suelo; sin embargo, todas ellas presentan algunas limitaciones. Convencionalmente, el control de este patógeno se ha llevado a cabo utilizando fumigantes químicos, tales como bromuro de metilo y 1,3-dicloropropeno + cloropicrina. La eliminación del bromuro de metilo (PNUMA, 2006) y la prohibición europea de 1,3-dicloropropeno, junto con reducciones en el uso de otros nematicidas (Comisión Europea, 2007), ha dado lugar a una escasez de alternativas viables para desinfección de suelos en los países de la UE.

La incorporación de materia orgánica (MO) en los suelos se ha utilizado desde los comienzos de la agricultura, por sus efectos beneficiosos sobre las características físicas y químicas del suelo, el aumento de la fertilidad y la contribución a la gestión de patógenos (García Álvarez y col., 2004). La viabilidad de los patógenos edáficos de plantas se ve afectada por enmiendas orgánicas con alto contenido en nitrógeno, a través de la liberación de compuestos volátiles tóxicos, incluyendo amoniaco (NH_3) y ácido nitroso (HNO_2) (Tenuta y Lazarovits, 2004). Esta estrategia usada en combinación con la retención de los gases producidos durante el proceso de biodecomposición, se ha demostrado útil para el control de patógenos vegetales transmitidos por el suelo (Piedra-Buena y col., 2006).

Los objetivos de este trabajo son evaluar el efecto biodesinfectante de diferentes dosis de lignosulfonato sobre la viabilidad de los nematodos formadores de nódulos del género Meloidogyne. Esta información puede contribuir al desarrollo de alternativas para el manejo de poblaciones de nematodos, aprovechando la MO generada dentro del sistema productivo de la

madera y de este modo contribuir a resolver los problemas causados por la acumulación y el potencial efecto contaminante de estos residuos orgánicos, y reducir significativamente la necesidad de pesticidas.

2. Material y Métodos.

El suelo utilizado para los experimentos se recogió de la capa superficial de un *Xerofluvent* sembrado con tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en la localidad de Marchamalo (Guadalajara), con una textura franco arenosa (67% arena, 25 % limo, 8% arcilla), pH (1:5, agua) 7,66, conductividad eléctrica (1:5, agua, 25 ºC) 0,460 dS m^{-1}, 0,8% de materia orgánica, nitrógeno total 0,137%, la relación C/N 10,9. El suelo estaba infectado de forma natural con el nematodo *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitw. raza 1. Un muestra del suelo se llevó al laboratorio para la identificación de los nematodos presentes mediante las técnicas del test diferencial de hospedadores (Robertson et al., 2006) y PCR (Zijlstra, 1997).

La muestra de lignosulfonato utilizado en este estudio fue proporcionado por LignoTech Ibérica S.A. (Torrelavega, Cantabria) que lo obtiene durante el proceso de blanqueado de la pulpa de celulosa y floculado mediante adición de hidróxido de Ca. Presenta un valor de pH de 4,65 y una conductividad eléctrica de 9,23 mS cm^{-1}; el contenido en C-Total fue de 750 mg L^{-1} y N-Total de 10 mg L^{-1} determinados mediante un analizador COT-TN (Shimadzu).

La solución biofumigante (BFS) se preparó mediante la mezcla 1:1 (v/v) de Ca-LGS y una solución de urea (200 g L^{-1}) y se añadió a una muestra de 400 g de suelo infectado en proporciones equivalentes de 0, 0,5, 1 y 2% (v/p), introduciéndose un tratamiento con Cadusafos al 10% (p/p) como control químico y cuatro réplicas por tratamiento. Los mesocosmos fueron llevados a saturación con agua destilada, sellados e incubados durante 20 días a una temperatura de 30 ºC, tras lo cual se determinó el número de juveniles de segundo estadio (J2) mediante extracción y centrifugación en azúcar (Nombela y Bello, 1983).

Al finalizar la experiencia se sembraron en 300 g de suelo de cada réplica plántulas de tomate (*L. esculentum* Mill. cv. Marmande) susceptible al nematodo; se mantuvieron las plantas durante 35 días en cámara de cultivo a 25 ± 1 ºC, con un fotoperiodo 14:10, después de este período se evaluaron visualmente los índices de agallamiento, usando las tablas de clasificación basadas en una escala de 0 a 10, donde 0 representa raíces sin agallas y 10 índice de agallamiento máximo (Bridge y Page, 1980). Para evaluar el rendimiento de la planta se determinaron los parámetros: altura, peso fresco de raíz y de parte aérea al final de la experiencia.

3. Resultados y Discusión.

Los resultados obtenidos muestran que las tasas de mortalidad del nematodo *M. incognita* se ven incrementadas conforme aumenta la dosis de solución biofumigante (Figura 1), para las dosis intermedias de 0.5 y 1.0 % no se observan diferencias significativas en cuanto a su eficacia, lo mismo ocurre al compara la dosis máxima 2.0 % y el tratamiento con nematicida comercial.

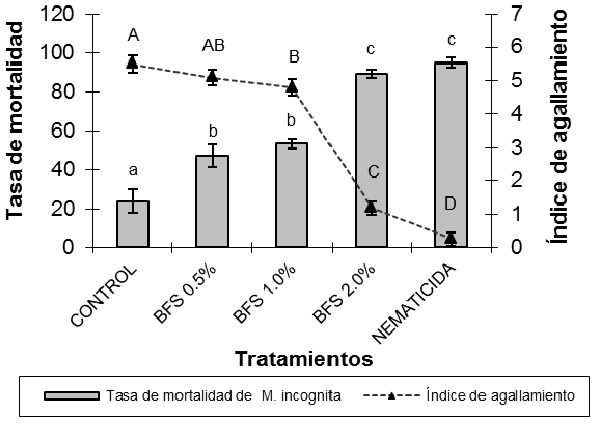


Figura 1. Análisis nematológico, porcentaje de mortalidad de *M. incognita* e índice de agallamiento después del tratamiento de biofumigación (valor medio de cuatro réplicas). Diferentes letras sobre las barras para cada tratamiento indican diferencias significativas (p<0,05).

Los valores de los índices de agallamiento experimentan un comportamiento muy parecido, el incremento de la dosis de biofumigante supone una paulatina disminución del agallamiento de las raíces. Para los valores de BFS 2,0 % y el tratamiento con nematicida los valores descienden bruscamente, no observándose en las raíces analizadas síntomas claros de agallamiento, con índices próximos a cero.

El uso de lignosulfonatos en agricultura ha sido escasamente estudiado, y aún menos su utilización en procesos relacionados con el control de los patógenos del suelo. No obstante, Soltani y col. (2002) obtuvieron resultados positivos en la aplicación de dosis de 6 t ha^{-1} de LGS amónico para el control de hongos patógenos, consiguiendo una importante reducción de las poblaciones de *Streptomyces* spp. y *Verticilium dahliae* en cultivos de patata (*Solanum tuberosum* L.), con reducciones en la incidencia de la enfermedad que variaban entre el 50 y el 80%, dependiendo de la variedad ensayada.

Los resultados de la evolución de las propiedades del suelo y la evaluación del desarrollo de las plantas de tomate se muestran en la Tabla1. La aplicación de la BFS a las dosis indicadas, no supuso un incremento significativo en las concentraciones de N total, sin embargo el C orgánico se incrementó de forma ligera pero significativa. El pH disminuyó ligeramente al aumentar las dosis de BFS, pero sin diferencias significativas entre el control y los tratamientos efectuados. Todos los parámetros analizados en plantas se vieron incrementados de forma significativa al aumentar las dosis de la BFS. Resultados semejantes en cuanto a crecimiento radicular se han observado con tratamientos de lignosulfonatos en cultivos "in vitro" (Doquier y col., 2007); se sugiere que este crecimiento se debe a que el lignosulfonato actúa incrementando la sensibilidad de los tejidos de la planta a las auxinas (Van der Krieken y col., 1997).

Tabla 1. Valores medios de algunas características de los suelos y evaluación del crecimiento de plantas de tomate después del tratamiento (valor medio de cuatro réplicas).

TRATAMIENTO	*COT* %	*NT* %	*pH*	*Altura* cm	*Peso Raíz* g	*Peso P. aérea* g
Control	2,09 a	0,137 a	7,66 a	16,6 a	0,397 a	1.52 a
CL 0,5%	2,30 b	0,138 a	7,64 a	18,0 b	0,477 b	1,68 ab
CL 1,0%	2,34 b	0,139 a	7,64 a	18,7 b	0,505 c	1,69 b
CL 2,0%	2,39 b	0,142 a	7,62 a	20,2 c	0,515 c	1,88 c
Cadusafos	2,11 a	0,139 a	7,65 a	20,5 c	0,542 cd	2,23 d

Valores medios seguidos con letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05).

4. Conclusiones.

Los resultados obtenidos muestran que con una dosis del 2% de BFS se obtienen mortalidades del patógeno similares a las logradas con el nematicida comercial e índices de agallamiento cercanos a cero, lo que confirma su utilidad como reactivo biofumigante. La aplicación BFS es una alternativa eficaz para la gestión de las poblaciones de *M. incognita* y teniendo como ventajas adicionales la salida económica a un subproducto industrial de alta producción en nuestro país, un coste aceptable y una práctica de bajo impacto ambiental.

5. Bibliografía.

Bridge J., Page S.L.J., 1980. Estimation of root-knot nematodes infestation levels using a rating chart. *Trop. Pest Manage*. 26, 296-298.

Comisión Europea, 2007. Commission Decision of 20 September 2007 concerning the non-inclusion of 1,3-dichloropropene in Annex I to Council Directive 91/414/EEC and the withdrawal of authorizations for plant protection products containing that substance. OJEU-L 249:11-13.

Docquier S., Kevers C., Lambe P., Gaspar T., Dommes J., 2007. Beneficial use of lignosulfonates in in vitro plant cultures: stimulation of growth, of multiplication and of rooting. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 90, 285-291.

García Álvarez A., Díez-Rojo M.A., López-Pérez J.A., Bello A., 2004. Materia orgánica, biofumigación y manejo de organismos del suelo patógenos de vegetales. En: Labrador, J. (Ed.), *Conocimientos, Técnicas y Productos para la Agricultura y la Ganadería Ecológica*. SEAE, Valencia, pp. 71-76.

Nombela G., Bello A., 1983. Modificaciones al método de extracción de nematodos fitoparásitos por centrifugación en azúcar. *Bol. Serv. Plagas* 9, 183-189.

Piedra-Buena A., García-Álvarez A., Díez-Rojo M.A., Bello A., 2006. Use of crop residues for the control of *Meloidogyne incognita* under laboratory conditions. *Pest Manag. Sci*. 62, 919-926.

PNUMA, Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, 2006. Resolution on methyl bromide. Annex XV of the Report of the Fourth Meeting of the Parties. En: *Handbook for the Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer* 7th edition. United Nations Environment Programme. Nairobi. p 441.

Robertson L., López-Perez J.A., Bello, A., Diez-Rojo M.A., Escuer M., Piedra-Buena A., Ros C., Martinez C., 2006. Characterization of *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* and *M. hapla* populations from Spain and Uruguay parasitizing pepper (*Capsicum annuum* L.). *Crop Prot.* 25, 440-445.

Soltani N., Conn K.L., Abbasi P.A., Lazarovits G., 2002. Reduction of potato scab and verticillium wilt with ammonium lignosulfonate soil amendment in four Ontario potato fields. *Can. J. Plant Pathol*. 24: 332-339.

Tenuta, M., Lazarovits G., 2004. Ammonia and nitrous acid from nitrogenous amendments kill microsclerotia of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 92:255-264.

Van der Krieken W.M., Kodde J., Visser M.H.M., Tsardakas D., Blaakmeer A., de Groot K., Leegstra L., 1997. Increased induction of adventitious rooting by slow release auxins and elicitors. En: A. Altman, Y. Waisel (Eds.) *Biology of Root Formation and Development*. Plenum Press, New York, pp. 95-104.

Zijlstra C., 1997. A fast PCR assay to identify *Meloidogyne hapla*, *M. chitw*oodi and *M. fallax*, and to sensitively differentiate them from each other and from *M. incognita* in mixtures. *Fund. Appl. Nematol*. 20, 505-511.

6. Agradecimientos.

Este trabajo ha sido financiado por LignoTech Ibérica S.A. (Torrelavega, Cantabria).

USO DE COMPOST QUE INCLUYEN CENIZAS DE BIOMASA PARA EL CULTIVO DE SANDÍA

Rafael López Núñez[1], Pilar Burgos Domenech[1], Ignacio F. Girón Moreno[1], Mireia Corell González[2]

[1]IRNAS-CSIC, Avda. Reina Mercedes 10, 41080, Sevilla.
[2]ETSIA, Universidad de Sevilla. Ctra. Utrera, km. 1, 41013 Sevilla.
rafael.lopez@csic.es

Resumen: La biomasa representa entre el 8 y el 15% del suministro energético mundial como electricidad, calor y combustibles para transporte, y podría contribuir hasta un 33-50% del consumo de energía primaria en 2050. Buena parte de esta energía se obtiene por combustión directa de biomasa generando 476 millones de toneladas de cenizas. Por el contrario de las cenizas derivadas del carbón, las cenizas de biomasa están libres de elementos contaminantes y en el caso de las de biomasa derivada de productos agrícolas y agroindustriales suelen presentar concentraciones apreciables de elementos fertilizantes como K, Mg, además de Ca por lo que su ciclo puede completarse si son reutilizadas en agricultura en lugar de depositadas en vertedero. En el presente trabajo se estudia el uso de un compost mixto de residuos agroindustriales y cenizas de orujo de aceituna como enmienda en un cultivo de sandía (*Citrullus lanatus* variedad Augusta). Como comparación se usaron tratamientos con el mismo compost de residuos agroindustriales o con fertilización mineral sólo (Control, 220 kg K_2O ha^{-1} como KCl). El compost con cenizas se aplicó a una dosis de 10.000 kg ha^{-1} y el compost sin cenizas a la dosis de 20.000 kg ha^{-1}. Cada tratamiento se efectuó por cuadruplicado, cultivando la sandía al aire libre. Se determinaron las propiedades del suelo y el rendimiento y estado nutricional del cultivo. Los resultados indican que la inclusión de este tipo de cenizas en las enmiendas de cultivos exigentes nutrientes como potasio puede ser ventajosa, ya que se mantiene la producción del tratamiento control (alrededor de 100000 kg ha^{-1}) pero con mayor tamaño del fruto (más 1,3 kg/fruto en el tratamiento con cenizas).

Palabras clave: potasio, fertilización potásica, orujillo de aceituna,

1. Introducción

Existe una abundante literatura científica relativa a toda una gama de posibles usos de cenizas de fuentes no renovables (sobre todo carbón) incluyendo entre ellos la aplicación con fines agrícolas y forestales (Uliasz-Bocheńczyk et al., 2015). Pero las cenizas procedentes de fuentes no renovables de energía< ("*fly ash*"), además de presentar una composición en cuanto a componentes mayoritarios distinta de las cenizas objeto de este trabajo, presentan también los problemas de presencia de contaminantes orgánicos e inorgánicos (metales pesados). Por otra parte, las cenizas procedentes de biomasa de carácter forestal han sido tradicionalmente recomendadas para aplicaciones silvícolas (Pitman, 2006) por ser una fuente de calcio para suelos forestales. Pero de particular interés para su uso como fertilizantes o enmiendas de suelos son las cenizas procedentes de biomasas residuales, y especialmente de los residuos de olivas (Vassilev et al., 2013). A pesar de que poseen un indudable potencial fertilizante, existen pocos estudios que traten sobre el uso de cenizas con fines agrícolas, bien solas o en mezclas con otros productos orgánicos (Kuba et al., 2008) o sus efectos en los suelos (Odlare and Pell, 2009).

Además, la generación de energía desde biomasa es una actividad en crecimiento. En Andalucía, las almazaras e industrias de aderezo de aceituna producen varios subproductos orgánicos (orujillos, alperujo, lodos) susceptibles de ser reutilizados como enmiendas agrícolas

para el mismo cultivo de olivar o para otros cultivos, después de ser sometidos a diversas transformaciones, como por ejemplo el compostaje. Aunque el valor agronómico de las enmiendas derivadas de estos residuos es indudable, su uso no deja de estar exento de problemas, que van desde variabilidad en su composición o grado de madurez, las dificultades para el aporte de elevadas dosis de enmiendas orgánicas, o la escasa información sobre su correcto uso. Además del uso directo como enmienda agrícola, una elevada proporción de estos subproductos son valorizados energéticamente, siendo Andalucía líder en generación de electricidad con biomasa (Agencia_Andaluza_de_la_Energía, 2009). La biomasa del olivar, tanto la agrícola como la residual de industria, destaca entre los subproductos destinados a valorización energética (Bas-Jiménez, 2011) con un 94% de los orujos destinados a producción de energía debido al contenido energético importante de estos subproductos (Agencia_Andaluza_de_la_Energía, 2015).

Aunque la alternativa energética permite reducir el impacto de los residuos procedentes del sector olivarero, en la última fase de su valorización como combustible, se genera un nuevo residuo, la ceniza, que debe ser gestionado correctamente (Anger et al., 2009). Las cenizas procedentes de subproductos del olivar contienen un significativo porcentaje de potasio en formas químicas solubles, junto con otros nutrientes vegetales que pueden aparecer en formas más o menos solubles (fósforo, magnesio, calcio), y por tanto con aprovechamiento como fertilizante (Vassilev et al., 2013). La presencia de carbono como biochar les confiere también un interés adicional para el uso agrícola. Este tipo de cenizas, por el contrario de las cenizas procedentes de centrales térmicas de carbón, no contienen contaminantes tales como metales pesados, por lo que no existen riesgos ambientales debidos a su utilización.

El objetivo de este trabajo es la evaluación de la efectividad como fertilizante de un compost basado en cenizas de biomasa de orujillo de aceituna mezcladas con otros subproductos de estas industrias en un cultivo de sandía.

2. Materiales y métodos

2.1. Cenizas y compost

La ceniza utilizada es ceniza volante de una planta energética en Fuente Piedra (Málaga, Neolectra), donde se incinera orujillo de aceituna junto con biomasa de chopo, olivo y pino. La ceniza fue utilizada como componente (53% en peso) para preparar un abono órgano-mineral (C) que contenía además orujo fresco de aceituna (28%) y un compost maduro de residuos de industrias de aceite de oliva (14%). Este mismo compost maduro (F, Fertiormont ®) fue utilizado como comparación en los ensayos. La composición de ambos productos se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Composición del abono organo-mineral con ceniza (C) y del compost (F)

		F	C
pH		10,5	11,4
Mat.Org.	g kg^{-1}	306	227
N-kj	g kg^{-1}	8,00	2,02
P (P_2O_5)	g kg^{-1}	16,3	36,2
K (K_2O)	g kg^{-1}	67,4	252
Ca (CaO)	g kg^{-1}	167	126
Mg(MgO)	g kg^{-1}	35,0	59,6
Cd	mg kg^{-1}	0,09	0,20
Cr	mg kg^{-1}	48,1	58,0
Cu	mg kg^{-1}	129	141
Ni	mg kg^{-1}	42,3	53,8
Pb	mg kg^{-1}	10,6	13,1
Zn	mg kg^{-1}	60	185

2.2 Descripción del ensayo

Los productos F y C se utilizaron como fertilización de fondo en un cultivo de sandía (*Citrullus lanatus* variedad Augusta). El compost F se aplicó a una dosis de 20.000 kg ha^{-1} y el producto C a una dosis de 10.000 kg ha^{-1}. Aunque la presentación habitual de estos productos es como pellet, los productos se aplicaron en forma de polvo para facilitar su mezcla en los 10 cm superiores de suelo. Se aplicó también como comparación un tratamiento con fertilización mineral de KCl a una

dosis de 348 kg ha^{-1} que corresponden a 220 kg K_2O ha^{-1} (tratamiento B). En cada línea de sandías, que estaban separadas entre sí 125 cm, los productos se aplicaron en la banda central de 75 cm de ancho por lo que las dosis reales de los tres productos en esta zona central corresponden a las indicadas antes multiplicadas por un factor de 1,67. La aplicación de los productos se realizó el 16/05/2016 y el trasplante el día 31/05/2016. Cada tratamiento se efectuó por cuadruplicado, en parcelas elementales de 5 m^2 (4 plantas por parcela) cultivando la sandía al aire libre con acolchado plástico.

2.3 Seguimiento del ensayo

Se determinaron pH y C.E. del suelo (15 cm superiores) a los 39 y 74 días después de haber incorporado los productos. Se tomaron muestras foliares para determinar el estado nutricional del cultivo el 18/07/2016. Se determinaron los nutrientes mediante digestión en microondas e ICP-OES. Las sandías de cada parcela se recolectaron y pesaron el 10/08/2016 determinándose el rendimiento. Los valores medios se compararon con el test de Tukey ($p<0,05$).

3. Resultados y discusión

3.1. Evolución del suelo

Tabla 2: Evolución del pH y la C.E. (µS cm-1 en extracto 1:2,5) durante el ensayo

	pH 39d	C.E.39d	pH 74d	CE.74d
B	8,28 a	364 a	8,38 a	393 a
F	8,21 a	295 a	8,42 a	521 a
C	8,28 a	537 a	8,82 b	608 a

Valores en cada columna seguidos de la misma letra no difieren significativamente según el test de Tukey ($p<0,05$)

En la Tabla 2 se muestran los valores de pH y C.E. determinados para los 3 tratamientos considerados durante el desarrollo del ensayo. Los valores de pH y C.E. a los 39 días no resultaron diferentes entre tratamientos. En cambio, en el tratamiento C se observó un valor de pH al final del ensayo, a los 79 días, mayor que en los otros tratamientos y mayor que el valor a los 38 días. También la C.E. fue mayor en el tratamiento C aunque la diferencia con los otros tratamientos no resultó estadísticamente significativa. Hay que señalar que los resultados medios correspondientes al tratamiento C vienen afectados por una gran dispersión en los valores individuales correspondientes a cada parcela, por lo que pueden ser indicativos de una falta de homogeneización de los abonos en el suelo al realizar la aplicación. Hay que señalar igualmente que la dosis de C aplicada se había establecido sobre la base de poder observar los efectos desfavorables que una posible aplicación excesiva de este producto pudiera ocasionar y que multiplicaba por un factor de 10 la dosis de K aplicada en B (de 220 en B a 2192 kg K_2O ha^{-1} en C) y por consiguiente los requerimientos de potasio del cultivo. Los resultados parecen indicar que ambos productos C y F van disolviéndose durante el desarrollo del cultivo, previsiblemente por acción del riego, dando lugar a un incremento del pH del suelo en el caso del C por el carácter alcalino de las cenizas que los constituyen y por su propio pH (Tabla 1).

3.2. Incidencia en el cultivo y en su rendimiento

En la tabla 3 se muestra el estado nutricional de las plantas de sandía según el análisis foliar efectuado, Se observa que las mayores variaciones respecto al tratamiento control B aparecieron en el contenido de P, algo menor en los tratamientos F y C, así como en el contenido de K mayor en C por su mayor adición. El mayor pH de C referido antes no ocasionó alteraciones nutricionales salvo un ligero menor contenido de P.

Tabla 3: Análisis foliar en plantas de sandía de los diferentes tratamientos

		B	F	C	Ref*
P	g kg^{-1}	2,44	1,54	1,76	2-3
K	g kg^{-1}	15,2	14,2	20,6	25-35
Ca	g kg^{-1}	62,3	79,1	60,3	25-35
Mg	g kg^{-1}	11,1	15,5	12,2	6-35
B	mg kg^{-1}	86	97	88	30-80
Fe	mg kg^{-1}	303	370	283	100-300
Cu	mg kg^{-1}	11,2	8,7	8,5	4-8
Mn	mg kg^{-1}	30	38	31	60-240
Zn	mg kg^{-1}	18	24	19	20-60

*Intervalo de suficiencia según Mills and Jones (1996)

En la tabla 4 se muestra el rendimiento del cultivo. No se encontraron diferencias significativas en cuanto al rendimiento total de sandías ni en cuanto al rendimiento en frutos mayores de 4 kg. Sin embargo, especialmente en el tratamiento C se encontró un menor número de sandías por mata a la par que un mayor peso medio (más 1,3 kg en C respecto a B). Por tanto, parece que la fertilización con C produce menos sandías pero de mayor peso unitario.

4. Conclusiones

Los resultados del presente estudio indican que la inclusión de cenizas de biomasa como las consideradas, ricas en potasio, en enmiendas o fertilizantes puede ser ventajosa, ya que se mantiene la producción en comparación con la fertilización mineral, sin que se vean desfavorecidos parámetros como el pH o la conductividad eléctrica del suelo incluso con la aplicación de dosis 10 veces superiores a las agronómicas. Aunque no son resultados concluyentes parece que en cultivos exigentes en potasio como la sandía se pueden obtener frutos de mayor tamaño aunque manteniéndose la producción neta.

Tabla 4: Rendimiento de frutos de sandía de los diferentes tratamientos

		B	F	C	α*
Rendimiento	kg Ha^{-1}	10,3	10,0	9,7	0,935
Frutos/planta		2,42	2,33	1,91	--
Peso/fruto	kg	5,2	5,3	6,5	0,214
	Frutos de más de 4 kg				
Rendimiento	kg Ha^{-1}	8,8	7, 9	8,6	0,905
Frutos/planta		1,42	1,33	1,27	

*Significación según ANOVA

Las cenizas de este tipo, a pesar de su indudable valor no están recogidas en la actualidad como materias primas para fertilizantes según la normativa española (Real Decreto 506/2013, de 28 de junio, sobre productos fertilizantes) a pasar de la implantación cada vez mayor, a nivel tanto español como andaluz, de instalaciones de valorización energética de biomasa y residuos. El presente estudio puede favorecer que las mismas presenten vías de reutilización posibles desde el punto de vista legal, evitando así que se conviertan en un residuo que necesariamente deba tener el vertedero como destino final,

5. Bibliografía

Agencia_Andaluza_de_la_Energía, 2009. https://www.agenciaandaluzadelaenergia.es/noticias/energias-renovables/andalucia-lidera-la-generacion-de-electricidad-con-biomasa-con-15-plantas-que-producen-el-4

Agencia_Andaluza_de_la_Energía, 2015. La biomasa en Andalucía.

Anger, H.-M., Schildbach, S., Harms, D., Pankoke, K., 2009. Analysis and Quality Control, Handbook of Brewing. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, pp. 437-475.

Bas-Jiménez, F.J., 2011. Oportunidades de generación eléctrica con biomasa en Andalucía JORNADA SOBRE EL DESARROLLO DE LOS USOS ENERGÉTICOS DE LA BIOMASA FORESTAL EN ANDALUCÍA, Baeza.

Kuba, T., Tschöll, A., Partl, C., Meyer, K., Insam, H., 2008. Wood ash admixture to organic wastes improves compost and its performance. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 127, 43-49, doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2008.02.012.

Mills, H.A., Jones, J.B., 1996. Plant Analysis Handbook II. A Practical Sampling, Preparation, Analysis, and Interpretation Guide. MicroMacro Publishing, Athens, Georgia, USA.

Odlare, M., Pell, M., 2009. Effect of wood fly ash and compost on nitrification and denitrification in agricultural soil. *Applied Energy* 86, 74-80, doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2008.04.004.

Pitman, R.M., 2006. Wood ash use in forestry - A review of the environmental impacts. *Forestry* 79, 563-588, doi: 10.1093/forestry/cpl041.

Uliasz-Bocheńczyk, A., Mazurkiewicz, M., Mokrzycki, E., 2015. Fly ash from energy production – A waste, byproduct and raw material. Gospodarka Surowcami Mineralnymi / *Mineral Resources Management* 31, 139-150, doi: 10.1515/gospo-2015-0042.

Vassilev, S.V., Baxter, D., Andersen, L.K., Vassileva, C.G., 2013. An overview of the composition and application of biomass ash.: Part 2. Potential utilisation, technological and ecological advantages and challenges. *Fuel* 105, 19-39, doi: 10.1016/j.fuel.2012.10.001.

6. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto CTQ2013-46804-C2-1-R financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y ha sido parcialmente financiado por el programa FEDER de la Junta de Andalucía. Los autores agradecen a la empresa Fertiormont por la cesión de los productos.

SUSTRATOS ORGANICOS COMO FUENTE DE NUTRIENTES EN CULTIVO DE MELON

Pedro Mejia[1] y María del Carmen Salas[2]

[1]Master en Horticultura Protegida Universidad Almería, pedromejia1205@gmail.com
[2]Departamento de Agronomía, Universidad de Almería

Resumen
Vermicompost ha sido promovido como una alternativa viable en componente de sustrato en la industria hortícola especialmente en producción orgánica y ecológica por su alto contenido en nutrientes, capacidad de retención de agua y otros beneficios. Este ensayo se realizó en invernadero, tipo raspa-amagado, cultivo orgánico sin suelo, el manejo de riego fue automatizado y se determinó en función de la humedad y CE, adecuándolo al tipo de sustrato. La fuente principal de nutrientes fue el té de vermicompost, ácidos húmicos y extracto de algas. Manejo integrado de plagas solamente con insectos benéficos, no se aplicaron pesticidas químicos. El objetivo principal fue determinar los efectos de sustratos orgánicos en producción, calibres comerciales y calidad en un cultivo de melón.; Los tratamientos de sustratos (%v:v) tenían diferentes porcentajes de vermicompost (20%,40%,60%) y fibra de coco (80%, 60%, 40%). Las plantas que no recibieron tratamiento fueron usadas como control. Los parámetros evaluados fueron: Producción (kg m^{-2}), calibres comerciales en fruta; Los parámetros de calidad: contenido de solidos solubles (°Brix) y vida de anaquel. Resultados en este experimento han demostrado que existió diferencia estadísticamente significativa en producción y calidad con diferencia estadísticamente significativa al 95% entre las diferentes mezclas de sustratos.

Palabras clave: Producción orgánica en contenedor, té de vermicompost, fibra de coco, vermicompost

1. Introducción

La creciente demanda global de alimentos para abastecer el incremento de la población mundial, sin comprometer los recursos naturales para las futuras generaciones, representa uno de los mayores retos para la ciencia agrícola. La agricultura intensiva ha alcanzado un punto crítico donde los impactos negativos derivados de su actividad están resultando en un irreversible cambio climático global y en pérdidas de muchos ecosistemas (Canellas et al., 2015).

Para evaluar la calidad del compost utilizado como sustrato y fertilizante, es importante considerar las formas en que el N es suministrado (orgánico, nítrico, amoniacal) y que los suelos manejados bajo prácticas de campo orgánicas tienen gran actividad microbial; Utilizando una mezcla de sustrato de vermicompost con cascara de arroz y fibra de coco, presentó los valores más altos en ratio de germinación, altura de planta, biomasa de planta y la concentración de P, K, Ca y Hierro en un cultivo de melón(*Cucumis melo L.)* (Manh, 2014).

La hipótesis planteada en este estudio de investigación fue confirmar la viabilidad de vermicompost y fibra de coco utilizados como sustratos orgánicos, con un manejo adecuado de la humedad de los mismos mediante el riego automatizado en base a sensores dieléctricos, minimizar las pérdidas por lixiviación y mantener condiciones de humedad óptimas para propiciar la actividad microbial existente y por ende el incremento de la asimilación de nutrientes para la planta con el objeto de asegurar una productividad aceptable, sin recurrir a fertilizantes químicos convencionales.

2. Materiales y Métodos

Localización y características del cultivo.

El experimento se realizó en un invernadero tipo Raspa y Amagado, control de clima pasivo con ventanas cenitales y una superficie de 900 m^2 localizado en la Finca UAL-ANECOOP. El área de cultivo fue 288 m^2, de melón tipo Galia (*Cucumis melo* L. var. *Reticulatus*), cv Brisa (HM Clause), con una planta por contenedor (de poliestireno, capacidad de 27 L) y una densidad de

plantación de 1 planta m^{-2}. Se trasplantó el 12 de marzo de 2016, el cultivo fue rastrero la polinización mediante el empleo de abejorros; la cosecha se realizó en un solo corte a los 93 días desde el transplante; el control de plagas se realizó según las normas de producción ecológica.

Sustratos empleados.

Los sustratos empleados para la preparación de las mezclas (tratamientos) del ensayo fueron: fibra de coco (FC), tamaño de partícula 0-12 mm, pH 5.8-6.8, CIC 60-130 $mmol_{c+}$ $100g^{-1}$, CE < 0.7 dS m^{-1}, relación C:N de 80 (Ejiturbas S.L.U.), y vermicompost (V) (% p/p): 2 N, 6 K_2O, 32 materia orgánica, 18.6 C, y 17.50 ácidos húmicos y fúlvicos (Tecomsa). Antes de realizar las mezclas se procedió a humedecer la fibra de coco para disminuir su contenido de sales, luego se dejó reposar durante 10 horas para facilitar el lavado. Posteriormente se elaboraron las mezclas de sustratos en base a volumen en %; los tratamientos fueron los siguientes: 20%vermicompost + 80%Fibra de coco (20V80FC), 40%V + 60%FC (40V60FC) y 60%V + 40%FC (60V40FC).

Manejo de riego y nutrición.

Se establecieron tres sectores de riego según el porcentaje de mezcla de sustratos, sistema de riego por goteo con goteros con caudal de 3 L h^{-1}. Manejo automatizado del riego mediante la determinación de la humedad disponible en el sustrato (Agrosistemas del Sur SL). El parámetro de decisión para el inicio de cada riego se estableció en un rango de 24-28% de contenido de humedad del sustrato. El programa de nutrición tuvo como fuente principal de nutrientes el té de vermicompost procedente de residuos vegetales hortícolas (Gonzales, 2013). El control de pH en agua de riego se realizó mediante vinagre de vino (ácido acético) para mantener pH a 5.5 – 6.5.

La metodología que se utilizó para la toma de muestra para el análisis de savia fue la recomendada por Cadahía (2008), se iniciaba con la recolección de 30 peciolos completos de la quinta hoja en los tallos primarios, hoja sana y con fotosíntesis activa, estos pecíolos se maceraron hasta quedar completamente molidos en forma pastosa, luego se filtró y se extrajo mediante presión la savia liquida para ser analizada.

Parámetros evaluados.

-Parámetro de fertirriego y nutricionales: Porcentaje de drenaje, y volumen drenaje y riego (gotero de control), CE y pH, y la concentración de los principales cationes y aniones en drenajes y riego (Multi-Ion NT sensors). Y concentración de los principales cationes y aniones en savia.

-Producción total y comercial, calidad y vida de anaquel: se pesó toda la producción por planta de cada una de las cuatro repeticiones por tratamiento, La producción comercial se estableció en base a los rangos de peso y diámetro de cada fruto.

-Para valorar la calidad se determinó el contenido total en sólidos solubles (°Brix); la vida de anaquel en función al porcentaje de fruta con calidad aceptable a los 22 días almacenamiento a 4ºC.

-El análisis estadístico se realizó con Statgraphics Centurion XVI, mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y la prueba de comparación de medias se utilizó el LSD (Diferencia significativa mínima) de Fisher.

3. Resultados y Discusión

Análisis nutricionales en savia y drenajes

La tabla 1 presenta la concentración de nutrientes en drenajes según tratamientos. El tratamiento con mayor cantidad de vermicompost (60V40FC) presentó diferencias estadísticamente significativas para Ca, Mg, K, Cl y CE en drenaje. En cuanto a nitratos y amonio no se presentó diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos. Los niveles de P siempre se mantuvieron estables en 0.5 mmol L^{-1} en gotero de control, asimismo el nivel de pH se mantenía en un rango de 6.5 – 7.5 (datos no mostrados).

Tabla 1. Análisis de nutrientes y CE en drenajes, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas al 95% (LSD Fisher*) a nivel de sustrato para cada nutriente y CE.

Sustrato	Calcio (mmol L^{-1})	Nitrato (mmol L-1)	Amonio (mmol L^{-1})	Magnesio (mmol L^{-1})	Potasio (mmol L^{-1})	Cloruro (mmol L^{-1})	Sodio (mmol L^{-1})	CE* (dS m^{-1})
20V80FC	6.37c	4.92ª	0.46a	0.99c	4.57b	6.06c	6.92c	3.06b
40V60FC	11.66b	2.94a	0.48a	1.78b	6.50a	8.94b	10.25b	3.96ab
60V40FC	19.66a	5.55a	0.77a	2.68ª	8.72a	11.67a	11.40a	4.74a

*CE = Conductividad eléctrica. *LSD (Diferencia significativa mínima), Test de comparación de medias de Fisher.

En la tabla 2 se presentan los resultados de análisis de savia a nivel de sustrato, solamente se presentó diferencia estadísticamente significativa entre la concentración de amonio (NH_4), cloruros y sodio según el tipo de sustrato empleado. Los tratamientos 60V40FC y 40V60FC generaron mayor nivel de concentración (mmol L^{-1}) en cloruros y amonio, mientras que el tratamiento con mayor cantidad de fibra de coco (20V80FC) presentó la mayor concentración de sodio en la savia.

Tabla 2. Análisis de nutrientes en savia, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas al 95% (LSD Fisher[1]) para cada nutriente a nivel sustrato.

Sustrato	Calcio (mmol L^{-1})	Nitrato (mmol L-1)	Amonio (mmol L^{-1})	Magnesio (mmol L^{-1})	Potasio (mmol L^{-1})	Cloruro (mmol L^{-1})	Sodio (mmol L^{-1})
20V80FC	479.65a	695.85a	120.89b	100.90a	1890.65a	8138.96c	321.39b
40V60FC	434.63a	719.25a	140.68a	80.21a	2080.85a	9924.65b	256.62a
60V40FC	547.30a	645.85a	140.26a	103.10a	2158.63a	12116.30a	274.54a

[1] LSD (Diferencia significativa mínima) Test de comparación de medias de Fisher.

Producción

La tabla 3 presenta los resultados obtenidos en rendimiento promedio (kg m^{-2}) y calibres comerciales (%) por tratamiento. Existió diferencia estadísticamente significativa al 95% a nivel de sustrato sobresaliendo 60V40FC con 5.20 kg m^{-2}; el mayor porcentaje de calibres comerciales se obtuvo en 20V80FC con 54.9%. Lo anterior coincide en que sustratos con mayor cantidad de vermicompost (40V60FC y 60V40FC) presentan mayor riqueza nutricional (Mahn, 2014), pero éstos sustratos a su vez presentan mayores niveles de salinidad (CE 20V80FC 3.06 dS m^{-1}, CE 60V40FC 4.74 dS m^{-1}) que influyen directamente el tamaño y sabor de la fruta (Zulkarami, 2010).

Tabla 3. Producción total y comercial a nivel de factor sustrato, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas al 95% (LSD Fisher[3]) entre cada nivel de sustrato.

Sustrato	Producción total (kg m^{-2})	ES	Producción comercial (Kg m^{-2})	ES
20V[1]80FC[2]	4.61ª	0.17	2.53b	0.20
40V60FC	5.17b	0.17	2.20ab	0.20
60V40FC	5.20b	0.17	1.85a	0.20

[1] porcentajes de vermicompost; [2] porcentajes de fibra de coco; [3] error estándar de cada media
[3] LSD (Diferencia significativa mínima) Test de medias de Fisher. ES error estándar.

Calidad

La tabla 4 presenta los resultados de solidos solubles obtenidos a nivel de sustrato para cada tratamiento en ºBrix y el porcentaje de fruta con cualidades óptimas para consumo a los 22 días después de la cosecha (vida de anaquel). Existió diferencia estadísticamente significativa al 95% entre los tres tratamientos de sustrato en °Brix sobresaliendo el 20V80FC, se ha comprobado que existe relación entre sodio y ºBrix, por lo cual se puede relacionar el mayor nivel de °Brix a la mayor concentración de sodio en savia que presentó este sustrato (Sato, 2006). En la vida de anaquel no se presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 4 Contenido en sólidos solubles (ºBrix) y porcentaje de vida de anaquel a nivel de factor sustrato, diferencias estadísticamente significativas al 95.0%, LSD[1] de Fisher.

Sustrato	Sólidos solubles (ºBrix)	ES	Vida de Anaquel (%)	ES
20V80FC	13.51a	0.23	85a	0.05
40V60FC	12.26b	0.23	80a	0.05
60V40FC	11.09c	0.23	80a	0.05

[1]LSD (Diferencia significativa mínima) Test de medias de Fisher. ES error estándar.

4. Conclusión

Existen diferencias estadísticamente significativas entre la producción y la calidad de los frutos en función de la proporción de mezcla de sustratos orgánicos utilizados como medio de cultivo y fuente de nutrientes en un cultivo de melón. La mayor producción estadísticamente significativa al 95% se obtuvo en el sustrato que contenía mayor porcentaje de vermicompost en volumen (60V40FC), lo cual está ligado a la mayor concentración de nutrientes que provee el vermicompost según se desprende de los análisis de savia.

En sistemas de producción en los que el aporte de nutrientes se realice mediante los aportes del sustrato orgánico es conveniente que el manejo del riego se determine mediante sondas de control de humedad, control diario de drenajes y análisis de savia, como herramientas fundamentales para asegurar el mayor aprovechamiento de los nutrientes contenidos en los sustratos, reducir las pérdidas de nutrientes que son lixiviados y mejorar el retorno económico.

5. Bibliografía

Canellas, L. P., F. L. Olivares, N. O. Aguiar, D. L. Jones, A. Nebbioso, P. Mazzei & A. Piccolo (2015) Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae,* 196**,** 15-27.

Cadahía López, C. (2008) La savia como indice de fertilización, cultivos agroenergeticos. Horticolas, frutales y ornamentals. Madrid: Mundi-Prensa.

Gonzalez Solano, K. D., M. d. l. N. Rodriguez Mendoza, L. I. Trejo Tellez, J. L. Garcia Cue & J. Sanchez Escudero (2013) Vermicompost effluent and tea in the production of leafy vegetables in system nft. *Interciencia,* 38**,** 863-869.

Manh, Vo and Ho Wang (2014) Vermicompost as an important component in substrates: effects on seedling quality and growth of muskmelon (*Cucumis melo L.).* 4th *International Conference on Agriculture and Animal Science (CAAS 2013)*. Elsevier BV.

Sato,S. et al. (2006) Effects of NaCl application to hydroponic nutrient solution on fruit characteristics of tomato (lycopersicum esculentum Mill.) *Scientia Horticulturae* 109 3, 248-253.

Zulkarami, B., M. Ashrafuzzman & I. M. Razi (2010) Morpho-physiological growth, yield and fruit quality of rock melon as affected by growing media and electrical conductivity. Journal of food Agriculture & Environment, 8, 249-252.

EFECTO DE UN LODO DE DEPURADORA COMPOSTADO COMO ENMIENDA PARA LA PRODUCCIÓN DE *Arundo donax* L, CON FINES AGROENERGÉTICOS.

Cano-Ruiz J, Plaza A, Guerrero A.M, Diez-Pascual S, Pinilla P, Mauri P.V, Lobo M.C.

IMIDRA, Finca "El Encín" A-2 Km 38,2. 28800 Alcalá de Henares (Spain).

Resumen: En las últimas décadas, las políticas ambientales apoyan el incremento de las fuentes de energía renovables. En este sentido, la biomasa a partir de cultivos no alimenticios es una buena alternativa que se considera neutra en emisiones de CO_2 en comparación con fuentes fósiles. A fin de evitar la competencia con cultivos alimenticios, los cultivos agroenergéticos se implantan en suelos pobres en materia orgánica y nutrientes. En estos casos, la utilización de lodos como fuente de materia orgánica supone una estrategia sostenible para recuperar la fertilidad de los suelos y mejorar la producción de los cultivos. El objetivo del estudio se centró en la utilización de lodos de depuradora compostados con restos de poda (50t.ha^{-1}) como enmienda para la producción de *Arundo donax* L en un suelo calizo. Se utilizaron parcelas experimentales (5x10m) con un diseño de bloques al azar. Los resultados se compararon con parcelas control sin tratamiento. En el segundo ciclo de cultivo, se evaluó la producción de biomasa y el poder calorífico del cultivo de Arundo; así como el efecto de las enmiendas sobre las características físico-químicas y biológicas del suelo, analizando la influencia del compost en las fracciones de materia orgánica. Las parcelas tratadas obtuvieron mayores valores de producción, siendo la capacidad calorífica de las plantas significativamente superior. En relación al efecto de la enmienda sobre las características del suelo, se observaron significativos incrementos en los valores de materia orgánica oxidable, así como en el contenido de ácidos húmicos en relación al suelo control.

Palabras clave: enmienda, respiración bacteriana, materia orgánica, capacidad calorífica, producción

1. Introducción.

En la actualidad, se promueve el uso de cultivos de alto rendimiento en biomasa no alimentaria para contribuir al cambio en las políticas de energías renovables en todo el mundo. Los cultivos energéticos requieren plantas de rápido crecimiento para la producción de energía o como materia prima para la producción de otros materiales combustibles (Plaza y col., 2014; Lag-Brotons y col., 2014). En ese sentido, la utilización energética supone la necesidad de disponer de producciones constantes y de alta biomasa, lo que puede dar lugar a la pérdida de fertilidad de suelos agrícolas. El uso de lodos de depuradora tratados como enmienda se ha demostrado como una práctica eficaz para aumentar los contenidos en materia orgánica y nutrientes en los suelos (Lobo y col., 2012) habiéndose incrementado su utilización en los últimos años en los suelos mediterráneos con baja fertilidad. En concreto, su uso para aumentar la producción de cultivos energéticos representa una adecuada alternativa que incrementa la biomasa de estos cultivos usando suelos degradados sin que exista competencia por el uso del suelo con cultivos alimentarios (Lag-Brotons y col., 2014), y evitando el potencial riesgo de transferencia de metales procedentes del lodo a la planta cuando no se aplican dosis racionales en función del tipo de suelo y cultivo (Pérez y col., 2016). *Arundo donax* L. es una planta de origen mediterráneo, perteneciente a la familia de las gramíneas, cuyo rápido crecimiento y su alta productividad la hacen idónea para la producción de biomasa (Lewandosky y col., 2003; Angelini y col., 2005). Estudios previos han mostrado como el incremento de materia orgánica en el suelo, mejora la producción de este cultivo energético (Plaza y col., 2015, Cano-Ruiz y col., 2016). El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de una

enmienda a partir de lodo compostado con restos de poda en la producción y capacidad calorífica de un cultivo de *Arundo Donax*, así como su influencia en la fertilidad del suelo valorando el impacto en las diferentes fracciones de la materia orgánica.

2. Material y métodos

2.1. Materiales

Se realizó un ensayo en parcelas experimentales (5x10m) en un suelo franco-arcilloso en Alcalá de Henares (Madrid), utilizando un diseño de bloques al azar, con 4 parcelas por tratamiento. Como enmienda orgánica se aplicaron lodos compostados con restos de poda a la dosis de 50 t/ha, utilizando parcelas control sin tratamiento. Las características del suelo y la enmienda se muestran en la tabla 1. La aplicación del residuo se llevo a cabo con un remolque distribuidor de estiércol. Posteriormente se incorporó en los 30 primeros centímetros del perfil utilizando un rotavator. Tres meses después de la incorporación se procedió a la plantación de rizomas comerciales de Arundo (36 plantas por parcela) aplicando riego por goteo (6000m^3.ha^{-1}). En el segundo ciclo de cultivo, se cosecharon las plantas a fin de evaluar la producción de biomasa y el poder calorífico del cultivo de Arundo; asimismo se tomaron muestras de suelo para determinar el efecto de la enmienda sobre su fertilidad.

Tabla 1. Características del suelo y compost (CP) utilizados en el experimento.

					Nutrientes asimilables (mg kg^{-1})					Metales/metaloides totales (mg kg^{-1})						
	pH	**CE** dSm^{-1}	**MO** %	**N** %	**P**	**Ca**	**Mg**	**Na**	**K**	**Ni**	**Pb**	**Cd**	**Cu**	**Cr**	**As**	**Zn**
Suelo	8,9	0,2	1,2	0,1	21	3954	450	30	268	14	23	0,6	18	26	18	55
CP	7,5	2,9	22,5	1,6	288	4705	883	352	2034	33	78	0,4	170	248	56	1602

2.2. Metodología analítica

Las muestras de suelo (0-30 cm) se secaron al aire y se tamizaron previamente al análisis. Las características químicas del suelo y el compost fueron determinadas de acuerdo con MAPA (1994). La materia orgánica soluble y las fracciones húmicas se valoraron según Chantigni y col. (1999) y Swift, (1996) respectivamente. El nitrógeno amoniacal y nítrico se determino mediante el método de Brenmer (1965). Los metales pesados se determinaron por Espectrofotometría de Absorción atómica (AA240FS, y AA240 Varian) después de un tratamiento ácido en un sistema de digestión por microondas (Anton Paar). La actividad biológica se determinó a partir de medidas de respiración según el método de Fernández y col. (2004) en un equipo µTrac4200 (SY-LAB,GmbH). El poder calorífico (HHV) fue evaluado a partir de muestras de material vegetal molidas a 0,5mm, de acuerdo con UNE-EN 14918. Se utilizó un calorímetro (LECO AC-350). La producción de biomasa se evaluó determinando el peso seco de las plantas cosechadas en el segundo ciclo de cultivo. Los datos obtenidos fueron analizados con el programa IBM SPSS 21. Se comprobó la normalidad con los test de Kolmogrov Sminorv y Shapiro Wilk; y la homogeneidad de varianzas con el test de Levene. Las variables que cumplían ambos criterios fueron analizadas utilizando un test ANOVA.

3. Resultados y discusión.

Los datos de producción mostrados en la tabla 2 presentan incrementos del 70% respecto al control en la biomasa de las plantas obtenidas en las parcelas tratadas con compost. El poder calorífico aumenta ligeramente en las muestras procedentes de las parcelas CP, siendo el cómputo global de poder calorífico por área cultivada significativamente mayor en las parcelas tratadas con el compost. Ensayos realizados con girasol encontraron importantes rendimientos por la aplicación de compost así como ligeros incrementos en la capacidad calorífica de las plantas (Plaza y col., 2014).

Tabla 2: Producción en peso seco; poder calorífico por gramo (HHV), poder calorífico por ha.

	Producción ($kg \cdot m^{-2}$)	HHV ($Kj \cdot g^{-1}$)	Poder calorífico ($Kj \cdot ha^{-1}$)
T	8183±2409a	18,81±0,27a	154,0±2,2a
CP	13920±4887b	19,06±0,05a	265,0±1,8b

Distintas letras indican diferencias significativas al 0,01.

Dos años después de la aplicación de la enmienda, se observa en el suelo una significativa disminución del pH, un ligero incremento de la conductividad eléctrica, y mayores contenidos en nutrientes, fundamentalmente nitrógeno y fósforo como se puede observar en la tabla 3. Los contenidos en metales en el suelo se encuentran por debajo de los límites legislativos (datos no mostrados).

Tabla 3. Características del suelo en las parcelas 2 años despúes de la aplicación de la enmienda (CP)

	pH	CE	CO_3^{2-}	N	Ca	Mg	Na	K	P
		dS/m	%	%	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Control	8,55±0,15	0,20±0,02	16,35±1,52	0,08±0,01	2915±106	396±30	60±27	201±33	43±10
CP	8,24±0,12	0,28±0,06	17,77±1,80	0,12±0,02	3092±163	354±37	64±26	290±114	68±12
Sig.	*	*	*	*	*	*	NS	*	*

(*): Diferencias significativas al 0,01 marcadas. NS: no presenta diferencias significativas.

El efecto de la enmienda sobre la materia orgánica del suelo se presenta en la Fig.1. La materia orgánica oxidable aumentó de manera significativa en los tratamientos CP, mostrando incrementos superiores al 50%. Sin embargo, los incrementos que se observan en los contenidos de la materia orgánica soluble no fueron estadísticamente significativos. Los valores de fraccionamiento de nitrógeno (Fig. 2), muestran un significativo aporte del compost en las formas amoniacales de N, incluso dos años después de la aplicación, efecto debido a la degradación de la materia orgánica del compost a lo largo del tiempo, que está fundamentalmente compuesta por materia orgánica soluble, que se mineraliza relativamente rápido (Usman y col., 2012).

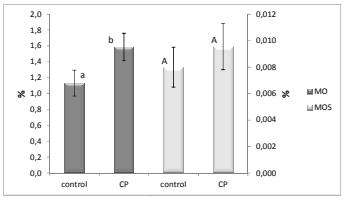


Fig. 1. Materia orgánica oxidable y soluble

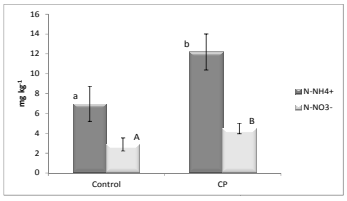


Fig. 2. Fraccionamiento del N en el suelo.
Distintas letras indican diferencias significativas al 0,01.

Asimismo, como se muestra en la Fig. 3, se observó un significativo incremento en el suelo tratado en sustancias de tipo húmico, presentando porcentajes superiores al 50% en carbono del extracto húmico (C-EHT) siendo las fracciones mayoritarias las correspondientes al C de ácidos húmicos (C-AH). En relación con la respiración bacteriana, en la Fig. 4 se observa que la aplicación de la enmienda supone un incremento en los valores de CO_2 lo que se traduce en una mayor actividad biológica que favorece un adecuado hábitat para los microorganismos del suelo y por consecuencia estimula la producción vegetal (Bastida y col., 2008, Lobo y col., 2012).

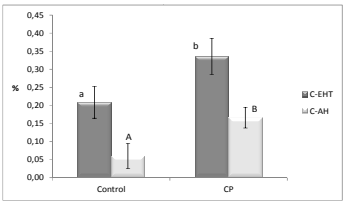


Fig. 3. Fraccionamiento de materia orgánica.

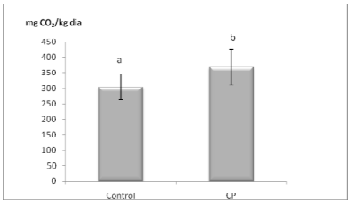


Fig. 4. Respiración en el suelo.
Distintas letras indican diferencias significativas al 0,01.

4. Conclusiones

A la vista de los resultados obtenidos, se puede concluir que el aporte de este tipo de compost a partir de lodos incrementa las producciones de Arundo y su capacidad calorífica. Al mismo tiempo, ha repercutido favorablemente en la calidad del suelo suministrando nutrientes, así como aportando materia orgánica de tipo húmico que contribuye a la recuperación de la fertilidad tanto físico-química como biológica del suelo dos años después de la aplicación de la enmienda. En este sentido, la aplicación de una dosis optima de compost representa una adecuada estrategia para la gestión de estos materiales con el fin de mejorar las producciones de un cultivo agroenergético como el Arundo.

5. Bibliografía

Angelini, L. G. Ceccarini L. Bonari E., 2005. Biomass Yield and Energy Balance of Giant Reed (*Arundo donax* L.) Cropped in Central Italy as Related to Different Management Practices, *European Journal of Agronomy* Vol. 22, No. 4, 375-389

Bastida F, Kandeler E, Moreno JL, Ros M, Garcia C, Hernandez T (2008) Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. *Applied Soil Ecology,* 40, 318-329

Bremner J M., 1965. Inorganic forms nitrogen availability indices. En: *Methods of soil analysis* C.A.Black (Ed) Madison, WI, 9, 1179-1237.

Cano-Ruiz .J, Plaza A, Guerrero A.M., Amorós M.C., Pinilla P., Mauri P.V., Lobo M.C.,2016. Production and heating value of Arundo donax L under different soil management. Proccedings 24th European Biomass Conference and Exhibition, At Amsterdam, Netherlands

Chantigny M.H., Angers D.A., Prévost D., Simard R.R., Chalifour F.P., 1999. Dynamics of soluble organic C and C mineralization in cultivated soils with varying N fertilization. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 543–550.

Fernández C., Alonso C., Babín M.M., Pro J., Carbonell G., Tarazona J.V., 2004. Ecotoxicological assessment of doxycycline in aged pig manure using multispecies soil systems. Sci. Total Environ. 323, 63-69.

Lag-Brotons A., Gómez I., Navarro-Pedreño J., Mayoral A.M., Curt M.D., 2014. Sewage sludge compost use in bioenergy production–a case study on the effects on *Cynara cardunculus* L energy crop. *Journal of Cleaner Production*, *79*, 32-40.

Lewandowski I., Scurlock J.M., Lindvall E., Christou M., 2003. The development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe. *Biomass and Bioenergy*, 25(4), 335-361.

Lobo M.C., Martínez-Iñigo M.J., Pérez-Sanz A., Cabezas J.G., Plaza A., Vicente M.A., Sastre-Conde I., 2012. *Evaluation of the Biological Activity in a Gypsiferous Soil Co-Amended with Residues. In: Trasar C. Hernández T, García C, Rad, González-Carcedo S.* (Eds.). *Soil Enzymology in the Recycling of Organic Wastes and Environmental Restoration*. Springer-Verlang, Berlin, Heidelberg, pp: 195-210.

MAPA, 1994. *Métodos oficiales de análisis* Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, 3:205-324

Pérez R.A., Sánchez-Brunete C., Albero B., Miguel E.,Tadeo J.L., Alonso J., Lobo M.C., 2016. Quality assessment three treated sewage sludge for agricultural use. *Compost Science and Utilization*

Plaza A., Martín J.V., Miralles de Imperial R., Alonso J., Delgado M.M, Lobo M.C., 2014. Application of treated sewage sludge for the fertilization of sunflower. En *Procceding 18th international congress on project management and engineering*. Ed, AEIPRO. Alcañiz pp 1418-1425.

Plaza A. Cano-Ruiz, J. Pinilla, P. Ruíz-Fernández, J. Alonso, J. Mauri, P. V. Lobo M. C. 2015 Effect of treated sewage sludge on the mineral nutrition and production of *Arundo donax* L. *23rd European Biomass Conference and Exhibition.* Viena.

Swift R.S., 1996. Organic matter characterization. In Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods. I, D.L. Sparks et al. (Eds.) Soil Science Society of America, Madison, WI, pp. 1018–1020.

Usman K., Khan S., Ghulam S., Khan M.U., Khan N.1, Khan M.A., Khalil S.K., 2012. Sewage Sludge: An Important Biological Resource for Sustainable Agriculture and Its Environmental Implications. *American Journal of Plant Sciences*, 3, 1708-1721

6. Agradecimientos.

Proyecto: FP16-RESIDUA (IMIDRA), INIA y FSE por la beca INIA-CCAA (FPI-INIA), asociada al proyecto INIA RTA12-00082-C2-01 concedida a Judith Cano Ruiz.
Grupo GA-UPM por facilitarnos la realización de los análisis de poder calorífico.

EFECTO DEL COMPOST DE LODO DE DEPURADORA EN LA FITORRECUPERACIÓN ASISTIDA DE UN SUELO CONTAMINADO POR ARSÉNICO.

Gil-Díaz M, Jian K, González H, Alonso J, Pinilla P, González A, Lobo M.C.

IMIDRA. Finca "El Encín", A-2, km 38,2 28800 Alcalá de Henares (Madrid)
carmen.lobo@madrid.org

Resumen: Los procesos de fitorrecuperación de suelos contaminados con metales/metaloides que combinan el uso de plantas y enmiendas orgánicas pueden suponer una alternativa sostenible ya que la enmienda mejora la fertilidad del suelo y favorece al mismo tiempo los procesos de inmovilización de los contaminantes. El objeto del estudio se centra en la evaluación de la eficacia de un compost procedente del tratamiento de lodos de depuradora con restos de poda en la inmovilización de arsénico (As) en un suelo contaminado utilizando plantas de trigo y cebada. Se realizó un ensayo en invernadero utilizando plantas de trigo (var.Albares) y cebada (var. Pedrezuela) cultivadas en un suelo alcalino contaminado con As a dos dosis (As-t1=40 $mg.kg^{-1}$ y As-t2=80 $mg.kg^{-1}$), para evaluar su capacidad fitorrecuperadora. A su vez, se estudió la influencia en el proceso de la aplicación de compost al suelo (40 t/ha). Los resultados obtenidos mostraron el diferente comportamiento de las plantas ensayadas, observándose una mayor tolerancia al contaminante en el trigo que en la cebada, presentando esta última un menor desarrollo que en el suelo control. La aplicación del compost disminuyó la fracción de As biodisponible del suelo antes del trasplante, tras la cosecha los valores fueron significativamente inferiores. Las plantas acumularon el contaminante preferentemente en la raíz, no observándose diferencias por efecto del compost en el trigo. Sin embargo, en el caso de la cebada, los tratamientos con compost indujeron una mayor translocación del contaminante a la parte aérea de la planta.

Palabras clave: cebada, trigo, disponibilidad, materia orgánica, tolerancia.

1.- **Introducción.**

La contaminación del suelo por metales y metaloides es un problema a nivel mundial que requiere soluciones efectivas y abordables (Nascimento y Xing, 2006). Aunque la legislación está referida a la concentración total del contaminante en el suelo, este dato supone una información limitada sobre el riesgo de toxicidad del suelo. La concentración de contaminante en la fracción biodisponible, accesible para plantas y microorganismos, es una medida más directa de la peligrosidad de ese elemento en el suelo. En los últimos años la gestión de compost se ha dirigido a ensayos de investigación en revegetación o remediación de suelos con metales pesados, donde se utilizan solos o combinados con otro tipo de tratamiento (Beesley y Dickinson, 2010). En estos casos, la estabilización de los contaminantes se consigue mediante una combinación de la actividad radicular de las plantas y su microflora asociada con la adición de enmiendas al suelo, lo que promueve la formación de complejos metálicos insolubles que reducen su movilidad y disponibilidad biológica (Vangronsveld y col., 1991; Berti y Cunningham, 2000; Lothenbach y col., 1998). En este sentido la utilización de enmiendas orgánicas puede favorecer los procesos de fitorrecuperación de suelos contaminados por metales. El arsénico (As) es un metaloide altamente tóxico para la biota y provoca efectos crónicos toxicológicos y cancerígenos para la salud humana (Zhang y Selim, 2008), por lo que la recuperación de emplazamientos contaminados con As es de gran interés a nivel mundial. La movilidad de As en suelo está principalmente controlada por procesos de adsorción/desorción y co-precipitación con óxidos de hierro (Bauer y Blodau, 2006). El papel de la materia orgánica sobre el As del suelo está todavía en discusión, en algunos

estudios su aplicación ha conseguido disminuir la movilidad de As (Gadepalle y col., 2007), pero en otros se ha observado una liberación de As después de la aplicación de compost, obteniendo una alta correlación entre carbono soluble y As biodisponible en suelos (Mench y col., 2003; Clemente y col., 2008). El objeto de este estudio es evaluar el efecto de la aplicación de un compost de lodo de depuradora sobre la fitorrecuperación de un suelo contaminado con As y cultivado con trigo o cebada.

2.-Material y Métodos.

2.1.-Materiales.

Se realizó un ensayo en invernadero cultivando plantas de cebada Pedrezuela y trigo Albares sobre un suelo agrícola de textura franco arcillosa que se contaminó con As a diferentes dosis. Se evaluó la influencia de la adición de materia orgánica al suelo en la disponibilidad de As y en el desarrollo de la planta. Como materia orgánica se utilizó un compost obtenido a partir de lodo de depuradora y restos de poda (CP). Las características físico-químicas del suelo y del CP se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características del suelo y compost utilizados en el experimento.

					Nutrientes disponibles (mg kg^{-1})					**Metales/metaloides totales** (mg kg^{-1})						
	pH	**CE dS m^{-1}**	**MO %**	**N %**	**P**	**Ca**	**Mg**	**Na**	**K**	**Ni**	**Pb**	**Cd**	**Cu**	**Cr**	**As**	**Zn**
Suelo	8,2	0,3	1,5	0,1	21	3954	450	30	268	14	23	0,6	18	26	18	55
CP	7,5	2,9	22,5	1,6	288	4705	883	352	2034	33	78	0,4	170	248	56	1602

2.2. -Metodología.

El suelo, previamente secado al aire y tamizado (<5 mm), se distribuyó en macetas de cerámica de 4 litros. Seguidamente, se contaminó con As a partir de la sal $Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$ a dos dosis, 40 mg kg^{-1} (As-t1) y 80 mg kg^{-1} (As-t2). Después de 30 días, se aplicó el CP a razón de 40 t ha^{-1} a las macetas correspondientes. Los tratamientos se han denominado: C (control), As-t1, As-t2, As-t1-CP, As-t2-CP. La contaminación se dejó consolidar durante 50 días, antes de trasplantar dos plantas por maceta (10 macetas por tratamiento). Las características del suelo se determinaron de acuerdo con MAPA (1994). El As total se determinó con un Espectrofotómetro de Absorción atómica con cámara de grafito (AA240Z, Varian) tras digestión en medio ácido en microondas (Multiwave 3000, AntonPaarGmbH). El As biodisponible se determinó por extracción con DTPA (Lindsay y Norwell, 1978). Al final del ciclo de cultivo, se cortaron las espigas, y el resto de la planta a nivel del suelo para obtener el peso seco de la parte aérea. Las raíces de cada planta se lavaron y secaron en estufa a 80º para determinar el peso seco.

3.- Resultados y Discusión.

La concentración de As disponible antes del trasplante (M1), mostró un efecto significativo de la enmienda en la inmovilización del As, sobre todo en la dosis alta de As (Figura 1).

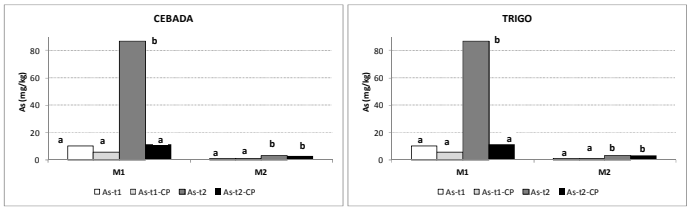


Figura 1. Contenido de As extraíble por DTPA en los suelos de los diferentes tratamientos antes del trasplante (M1) y después de la cosecha (M2). Distintas letras indican diferencias significativas (p<0,05, test de Duncan).

Al final del ciclo de cultivo, los valores de As extraído con DTPA fueron significativamente menores a los iniciales probablemente debido a procesos de inmovilización en suelo y a la absorción de las plantas durante el ciclo de cultivo, no observándose ningún efecto en los tratamientos con CP.

En general, las plantas de cebada y trigo cultivadas en el suelo contaminado con As presentaron un menor crecimiento y una menor biomasa que las plantas de suelo sin contaminar. Este efecto fue más acusado a la dosis alta, especialmente, en la cebada (Figura 2).

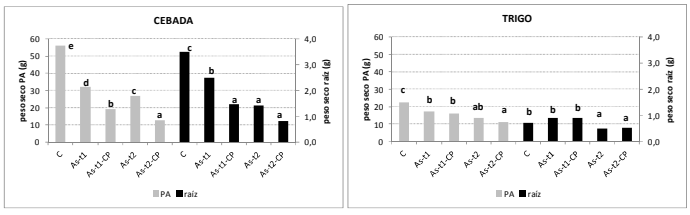


Figura 2. Biomasa de parte aérea (PA) y raíz de cebada y trigo en los diferentes tratamientos. Distintas letras indican diferencias significativas (p<0,05, test de Duncan).

La reducción del crecimiento por efecto de metales/metaloides ha sido observada por diversos autores en cultivos de trigo o cebada (Zhang y col., 2009, González y col., 2015). En las condiciones del ensayo, la aplicación de CP al suelo no indujo efecto significativo en el desarrollo de las plantas de trigo, mientras que provocó una disminución en el crecimiento en el caso de las plantas de cebada. En este sentido, la disminución de la biomasa de la parte aérea respecto al control fue, para la cebada, un 42 y 66% para los tratamientos t1 y t1-CP, y para las plantas de trigo del 23 y 28%, respectivamente. En la Figura 3 se observa el aspecto de las plantas al final del ciclo vegetativo.

Figura 3.- Plantas de cebada (A) y Trigo (B) en los diferentes tratamientos al final del cultivo. De izquierda a derecha: Control, As-t1, As-t2, As-t1-CP, As-t2-CP.

En ambos cultivos, el As se acumula preferentemente en la raíz de las plantas (Tabla 2). En los suelos contaminados con As a ambas dosis se observó una mayor translocación en el trigo que en la cebada. La aplicación de la enmienda supone un diferente comportamiento, aumentando en la cebada los porcentajes de translocación hasta el 90% en el caso del t1-CP. Los microorganismos de la rizosfera están condicionados por las características del suelo y por la planta y afectan a la movilidad y biodisponibilidad de los contaminantes. La materia orgánica del CP puede favorecer el desarrollo de poblaciones microbianas en la rizosfera de las plantas que faciliten la translocación del contaminante. Este efecto se observó en la cebada, pero no en el trigo debido probablemente a las diferencias en la microbiota de cada especie condicionada por sus exudados radiculares (Costa y col., 2006).

Tabla 2. Concentraciones medias de As en las distintas partes de las plantas de trigo y cebada. Índice de translocación ($IT=[As]_{PA}/[As]_{raíz}$). Distintas letras indican diferencias significativas ($p<0,05$, test de Duncan).

	CEBADA				TRIGO			
	Raíz	**P. aérea**	**Grano**	**IT**	**Raíz**	**P. aérea**	**Grano**	**IT**
As-t1	40,74b	4,90a	0,16a	0,12	31,75a	10,08a	0,25a	0,32
As-t1-CP	22,60a	20,40b	1,08b	0,90	41,02ab	12,77ab	0,40bc	0,31
As-t2	51,65b	7,11a	0,20a	0,14	60,31bc	17,21c	0,29ab	0,28
As-t2-CP	31,22a	14,77b	1,13b	0,47	50,64b	14,24bc	0,46c	0,28

4.- Conclusiones.

Ambas especies fueron tolerantes a las dosis ensayadas completando su ciclo vegetativo. La cebada mostró mayor reducción de biomasa respecto al control, especialmente en presencia de CP. El As se acumuló principalmente en la raíz, aumentando su translocación a la parte aérea en los tratamientos con CP. En cambio, el desarrollo del trigo se vio menos afectado por la adición de CP al suelo. Ambas especies podrían ser utilizadas para la estabilización de As en suelos con concentraciones inferiores a 80 mg kg^{-1}. En el caso de la cebada la aplicación de una enmienda orgánica favorecería la translocación del contaminante a la parte aérea.

5.-Bibliografía.

Bauer M., Blodaur C., 2006. Mobilization of arsenic by dissolved organic matter from iron oxides, soils and sediments. *Sci. Total Environ.* 354, 179-190.

Beesley L., Dickinson N., 2010. Carbon and trace element mobility in an urban soil amended with green waste compost. *J. Soils Sediments* 10, 215-222.

Berti W.R., Cunningham S.D., 2000. Phytostabilization of metals. En: Raskin, I. & Ensley, B.D. (eds.), *Phytoremediation of Toxic Metals Using Plants to Clean up the Environment*, Wiley, New York.

Clemente R., Dickinson N.M., Lepp N.W., 2008. Mobility of metals and metalloids in a multi-element contaminated soil 20 years after cessation of the pollution source activity. *Environ. Pollut.* 155, 254- 261.

Costa R., Gotz M.,Mrotzek N., Lottmann J., Berg G., Smalla K., 2006. Effects of site and plant species on rhizosphere community structure as revealed by molecular analysis of microbial guilds. *FEMS MicrobiolEcol* 56, 236–249.

Gadepalle V.P., Ouki S.K., Van Herwijnen R., Hutchings T., 2007.Immobilization of heavy metals in soil using natural and waste materials for vegetation establishment on contaminated sites. *Soil Sediment Contam* 16, 233-251

González A., Gil-Díaz M.M,, Lobo M.C., 2015.Response of Two Barley Cultivars to Increasing Concentrations of Cadmium or Chromium in Soil During the Growing Period. *Biol. Trace Elem Res* 163, 235–243.

Lindsay W.L, Norvell W.A.,1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Sci. Soc. Amer. J*. 42, 421-428.

Lothenbach B., Krebs R., Furrer G., Gupta S.K., Schulin R., 1998. Immobilization of cadmium and zinc in soil by Al-montmorillonite and gravel sludge. *Eur. J. Soil Sci.* 49, 141–148.

MAPA., 1994. *Métodos oficiales de análisis*. Ed. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid. Vol III: 205-324

Mench M., Bussiere S., Vangronsveld J., Manceau A., 2003. Progress in remediation and revegetation of the barren Jales gold mine spoil after in-situ treatments. *Plant Soil* 249, 187-202.

Nascimento C.W.A., Xing B., 2006. Phytoextraction: A Review on Enhanced Metal Availability and Plant Accumulation. *Scientia Agricola*, 63, 299-311

Vangronsveld J., Van Assche.F, Clijsters H., 1991. Reclamation of a ´desert like' site in the north east of Belgium: evolution of the metal pollution and experiments in situ. En: Farmer, J.G. (ed.), *Proc. Int. Conf. Heavy Metals in the Environment*, pp. 58-61. CEP Consultants, Edinburgh, UK.

Zhang H., Selim H.M., 2008. Reaction and transport of arsenic in soils: equilibrium and kinetic modeling. Adv. Agron. 98, 45-115.

Zhang W.D., Liu D.S., Tian J.C., He F.L., 2009. Toxicity and accumulation of arsenic in wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties of China. *Phyton*, 78,147-154.

6.-Agradecimientos:

Proyecto FP-RESIDUA (2016-2018). IMIDRA

RESPUESTA FISIOLÓGICA DE LAS PLANTAS CUANDO BIOCHAR Y VERMICOMPOST SON UTILIZADOS COMO SUSTITUTO PARCIAL DE LA TURBA EN LA PRODUCCION DE PLANTA ORNAMENTAL

José M. Alvarez[1,2,3,*], Claudio Pasian[2], Rattan Lal[3], Rafael López[4], Manuel Fernández[1]

[1]Escuela Técnica Superior de Ingeniería, Universidad de Huelva, 21071, Huelva.
[2] Horticulture Dept., 202 Kottman Hall, Ohio State University, Columbus OH, 43210, USA.
[3] C-MASC, 422B Kottman Hall, Ohio State University, Columbus OH, 43210, USA.
[4]IRNAS-CSIC, Avenida Reina Mercedes, 10, 41012, Sevilla.
** autor de la comunicación: josemaria.alvarez254@alu.uhu.es*

Resumen: El biochar (*B*) es un subproducto de la pirólisis para la producción de bio-energía a partir de materiales orgánicos. Vermicompost (*V*) es un producto derivado de la degradación biológica acelerada de residuos orgánicos por lombrices de tierra y microorganismos. La producción de plantas en contenedores en floricultura utiliza principalmente sustratos como la turba. La preocupación medioambiental por el drenaje de las turberas ha hecho que aumente el interés por buscar productos complementarios que la puedan sustituir. Así, se evaluó la idoneidad de mezclas de *B* y *V* como sustitutos parciales de sustratos de cultivo basados en turba para la producción de dos especies ornamentales: geranio (*Pelargonium peltatum*) y petunia (*Petunia hybrida*). Se caracterizaron los sustratos por sus propiedades físicas y químicas, se midió el crecimiento de las plantas y la producción de flores y, durante el cultivo, se evaluaron parámetros fisiológicos. Los resultados mostraron que es posible producir plantas de estas dos especies con calidad comercial en contenedores utilizando sustratos basados en turba a los que se añada *B* y/o *V*. Las plantas en estas nuevas mezclas de sustrato mostraron una respuesta fisiológica similar, o mejor en el caso de crecimiento, al de las cultivadas en un sustrato a base de turba. Asimismo, ciertas mezclas de *B* y *V* mejoraron la humectación del sustrato durante periodos de falta de riego. Estos resultados demuestran que es posible reducir el uso de turba (entre el 14 % y el 42 %) en la producción de plantas ornamentales en contenedor.

Palabras clave: compost / complementos de sustrato / *Petunia* / *Pelargonium* / huella de carbono.

1. Introducción

El cultivo de plantas en vivero utiliza principalmente sustratos sin suelo. Alrededor de 11 millones de toneladas de turba se utilizan anualmente para fines hortícolas en el mundo (U.S.G.S., 2013), por sus características físicas estables y su alta capacidad de intercambio de nutrientes. Sin embargo, cada vez hay más debate a nivel medioambiental sobre su uso, por ser considerada un recurso no renovable (Keddy, 2010). En consecuencia, es de interés evaluar el potencial reemplazo de la turba con otros sustratos. El biochar (*B*) es una enmienda orgánica que se puede utilizar como sustituto de la turba. Se define como un subproducto de la tecnología de pirólisis C-negativa para la producción de bio-energía a partir de materiales orgánicos, bajo exclusión completa o parcial de oxígeno y basada en la captura de los gases emitidos por la descomposición térmica de materiales orgánicos (Lehmann, 2007). El biochar producido de este modo no se aprovecha energéticamente, sino que se utiliza como enmienda del suelo para aumentar la retención de agua y nutrientes, bajar la densidad aparente y mejorar el pH (Laird, 2008), mejorando sus efectos cuando se une con compost en el medio de cultivo (Schmidt y col., 2014). Sin embargo, son escasos los resultados de la investigación sobre los efectos de *B* mezclado con compost o vermicompost (*V*) en sustratos utilizados en la floricultura. Tampoco se han encontrado estudios sobre respuestas fisiológicas de las plantas cuando se producen con *B* y

V como sustitutos parciales de la turba. Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio es analizar los efectos de *B* y *V,* añadidos en diferentes proporciones a un sustrato estándar basado en turba utilizado para la producción de petunia (*Petunia hybrida*) y geranio (*Pelargonium peltatum*), sobre el crecimiento, la producción de flores y la reacción fisiológica a las condiciones de cultivo. El experimento está diseñado para probar la hipótesis de que es posible producir plantas de estas especies con similares/mejores características fisiológicas, al tiempo que se reduce el uso de sustratos procedentes de fuentes no renovables.

2. Material y Métodos

El biochar (*B*) [Soil Reef Pure 02, Biochar Solutions Inc.] procedió de la pirólisis de la madera del *Pinus monticola* a alta temperatura (600-800 °C). El vermicompost (*V*) [Black Diamond] se preparó a partir de estiércol de vacuno. Ambos materiales se utilizaron como enmiendas orgánicas para reemplazar parcialmente al sustrato habitual (*S*) [Farfard 3B, de SunGro Horticulture Distribution Inc., con un 50 % de turba y proporciones no especificadas de corteza, perlita, vermiculita, caliza dolomítica y un agente humectante] al que, a su vez, se añadió un fertilizante de liberación lenta (Scotts Osmocote 15-9-12, 5,9 g L^{-1}). En los ensayos se utilizaron dos especies ornamentales: *Petunia x hybrida* y *Pelargonium peltatum*. Los tratamientos elegidos en este trabajo se basaron en un estudio preliminar en el que se ensayaron 24 mezclas diferentes. Se escogieron por su buen comportamiento 5 mezclas distintas de *S*, *B* y *V* para cada especie más un tratamiento testigo (100-0-0) (Tabla 1). Tres de los tratamientos estudiados fueron comunes para las dos especies.

S- V- B	
Petunia	*Pelargonium*
100-0-0	100-0-0
86-10-4	86-10-4
68-20-12	68-20-12
82-10-8	88-0-12
78-10-12	70-30-0
58-30-12	66-30-4

Tabla 1. Proporción (% de volumen) de sustrato basado en turba (*S*), vermicompost (*V*) y biochar (*B*) en la mezcla de sustrato.

Los contenedores utilizados (15,4 cm de diámetro, 800 cm^3), se distribuyeron en un diseño de 5 bloques al azar para cada uno de las dos especies y 6 plantas por especie y bloque. El experimento se llevó a cabo en los invernaderos del Departamento de Horticultura y Ciencia de los Cultivos de la OSU y se siguieron los protocolos habituales de propagación de petunia y geranio. Al inicio del experimento, para los sustratos, se determinó la densidad aparente (*Bd*), la capacidad del contenedor (*Cc*), la porosidad total (*PT*) y el espacio de aire (*As*) (Fonteno y Bilderback, 1993). La conductividad eléctrica (CE) y el pH se determinaron usando un extracto acuoso 1:6 (Ansorena, 1994). Al final del período de crecimiento, de 21 semanas, se midió el peso seco de la parte aérea (SDW) y el número de flores. La transpiración cuticular (CT) se evaluó mediante el método de Quisenberry y col. (1982), trazando las curvas descendentes del proceso de transpiración. Se evaluó el crecimiento potencial de la raíz (RGP) según Ritchie (1985). Para ello, se trasplantaron las plantas, con el cepellón intacto, a contenedores mayores (28,32 cm de diámetro) rellenos con perlita. Al cabo de 8 semanas se pesaron las nuevas raíces, crecidas fuera del cepellón original, una vez lavadas y secadas en estufa a 70 ºC.

Se evaluó la resistencia al frío mediante la prueba FIEL (Freeze-induced electrolyte leakage) (Landis y col., 2010). Para ello, se sometieron muestras de hojas a temperaturas naturales de congelación al aire libre (-6,7 ºC). Luego se colocaron en agua desionizada y los electrolitos que se desprendieron de las células dañadas aumentaron la CE del agua. Este aumento relativo de la CE (RC) fue una medida de la cantidad de lesión sufrida por el frío. También se midió la humectación del sustrato (SH) al dejar de recibir agua de riego las macetas durante un ensayo de estrés hídrico, mediante una sonda de humedad [ThetaProbe, Delta T]. Se realizaron mediciones después de 25 y 49 horas para petunia y después de 28, 98, 122, 195 y 219 horas para geranio. Se ponderó la diferencia entre la medición inicial y final de la humectación del sustrato con la superficie foliar de cada planta para obtener SH.

Dentro de cada especie, se llevó a cabo un ANOVA de un solo factor fijo, el tratamiento, y se consideraron las diferencias significativas para $p \leq 0,05$ (SPSS Statistics 17.0). Para la discriminación entre grupos homogéneos se aplicaron las pruebas de Duncan o T3-Dunnett, en función de la homocedasticidad de la varianza. Asimismo, se utilizó la prueba de Dunnett para comparar cada tratamiento con el control. Además, se realizaron análisis de correlación y regresión para establecer las relaciones entre los tratamientos y los parámetros medidos.

3. Resultados y discusión

El pH del sustrato testigo basado en turba fue ligeramente ácido (5,47) y aumentó ligeramente a medida que se incrementaban las proporciones de *B* y *V*, hasta alcanzar 6,27 en la mezcla 58-30-12. La proporción de *V* afectó significativamente a CE (r = 0,93, p <0,01, n = 27), incrementándose CE respecto del testigo hasta 3,6 veces en 58-30-12.

PT y *As* en todas las mezclas estuvieron dentro del rango óptimo (6-13 %), mientras que *Cc* (45-65 %) y *Bd* (0,1-0,14 kg dm^{-3}) ligeramente por encima de los valores recomendados, excepto para Bd del testigo. Resultados similares obtuvieron Mupondi y col. (2014) cuando sustituyeron parcialmente un substrato basado en corteza de pino por vermicompost de estiércol de bovino y restos de papel. La concentración de *V* en las mezclas se correlacionó significativa y positivamente con *Cc* (r = 0,71, p <0,01, n = 27), *Bd* (r = 0,68, p <0,01, n = 27), *PT* (r = 0,63, p <0,01, n = 27) y muy ligera e inversamente con *As*. Las mezclas que contuvieron mayor proporción de *B* y *V* tuvieron un mayor contenido de materia orgánica (MO), desde 55,3 % para el testigo hasta 66,7 % para la mezcla 58-30-12. En *Petunia*, las nuevas mezclas mejoraron el crecimiento y la floración respecto del testigo, mientras que para *Pelargonium* solo algunas mezclas mejoraron la floración (Fig. 1). SDW de *Petunia* se correlacionó significativamente CE del sustrato (r = 0,54, p <0,05, n = 28). Se trata de resultados similares a los obtenidos por Graber y col. (2010) con pimiento.

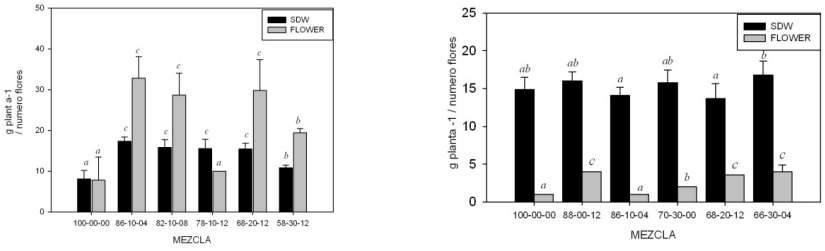


Figura 1. Peso seco de la parte aérea (SDW, g $planta^{-1}$) y producción de flores en petunia (izquierda) y geranio (derecha) cultivados en mezclas con distintas proporciones de sustrato basado en turba (*S*), vermicompost (*V*) y biochar (*B*). Letras distintas en un mismo parámetro muestran diferencias significativas entre los sustratos de estudio (p < 0,05) y las barras de error la desviación típica.

El grado de mantenimiento de la humedad del sustrato cuando dejó de regarse (SH) fue igualado o mejorado, respecto al testigo, por las mezclas ensayadas en las dos especies, similar a lo obtenido por Kammann y col., (2011). Por otro lado RC no se diferenció entre testigo y nuevas mezclas (Fig. 2). La regeneración de raíces (RGP) y la transpiración cuticular (CT) tampoco se vieron afectadas negativamente por las nuevas mezclas (Fig. 2).

Para petunia, en las mezclas *V-B* (30%-4%) y (0%-12%) el crecimiento y la floración mejoraron significativamente respecto al control y mantuvieron una respuesta fisiológica similar al mismo. Para geranio fueron las mezclas (10%-4%) y (20%-12%) las que lo hicieron. Estos resultados muestran que el estado fisiológico de *Petunia* y *Pelargonium* fue similar, o mejorado como en el caso de crecimiento y floración, en plantas producidas con un sustrato a base de turba mezclada con *V* y *B*.

4. Conclusiones

- Es posible cultivar plantas con calidad comercial de *Petunia hybrida* y *Pelargonium peltatum* en contenedores, utilizando sustratos que incluyan biochar y/o vermicompost mezclados con turba, al menos hasta un 42 % entre ambos.
- Las plantas de *Petunia* y *Pelargonium* cultivadas en estos sustratos mostraron una respuesta fisiológica similar o mejor a las plantas cultivadas en el sustrato testigo a base de turba, pero nunca peor.
- Estos resultados demuestran que es posible reducir el uso de turba (recurso no renovable y fijador de C) en la producción de plantas ornamentales en contenedor.

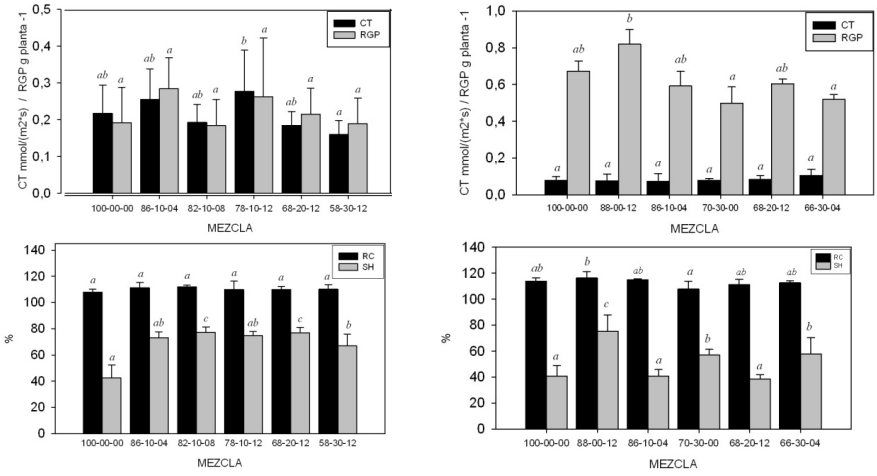


Figura 2. Transpiración cuticular (CT), crecimiento potencial de las raíces (RGP), conductividad relativa en daños por helada (RC) y Humectación del sustrato en fase de no riego (SH) en petunia (izquierda) y geranio (derecha) cultivados en mezclas con distintas proporciones de turba (*S*), vermicompost (*V*) y biochar (*B*). Las letras muestran diferencias significativas entre los sustratos de estudio ($p < 0,05$) y las barras de error la desviación típica.

5. Bibliografía

Ansorena Miner, J., 1994. Sustratos propiedades y caracterización. Mundi-Prensa. Madrid (Spain).

Fonteno, W.C., Bilderback, T.E., 1993. Impact of hydrogel on physical properties of coarse-structured horticultural substrates. Journal of the American Society for Horticultural Science 118(2),

Graber, E.R., Harel, Y.M., Kolton, M., Cytryn, E., Silber, A., David, D.R., Tsechansky, L., Borenshtein, M., Elad, Y., 2010. Biochar impact on development and productivity of pepper and tomato grown in fertirigated soilless media. Plant Soil 337, 481-496.

Kammann, C. I., Linsel, S., Gößling, J. W., & Koyro, H. W., 2011. Influence of biochar on drought tolerance of Chenopodium quinoa Willd and on soil-plant relations. Plant and Soil, 345, 195-210.

Keddy, P.A., 2010. Wetland Ecology: Principles and Conservation (2nd Edition), Cambridge University Press, Cambridge, UK. 497 p.

Laird, D. A., 2008. The Charcoal Vision: A win–win–win scenario for simultaneously producing bioenergy, permanently sequestering carbon, while improving soil and water quality. Agronomy Journal 100(1), 178-181. doi:10.2134/agrojnl2007.0161

Landis, T., Dumroese, R., & Haase, D., 2010. The Container Tree Nursery Manual: Volume 7, Seedling processing, storage, and outplanting. Pg 45.

Lehmann, J., 2007. Bio-energy in the black. Frontiers in Ecology and the Environment 5(7), 381-387.

Mupondi, L.T., Mnkeni, P.N.S., Muchaonyerwa, P., 2014. Vegetable Growth Medium Components: Effects of Dairy Manure- Waste Paper Vermicomposts on Physicochemical Properties, Nutrient Uptake and Growth of Tomato Seedlings 2, 23–31.

Quisenberry, J. E., Roark, B., & McMichael, B. L., 1982. Use of Transpiration Decline Curves to Identify Drought-Tolerant Cotton Germplasm1. Crop Science, 22(5), 918.

Ritchie, G.A., 1985. Root growth potential: principles, procedures and predictive ability. In Evaluating Seedling Quality: Principles, Pro-cedures, and Predictive Abilities of Major Tests. Ed. M.L. Duryea. Oregon State Univ., Corvallis, pp 93–104.

Schmidt, H.P., Kammann, C., Niggli, C., Evangelou, M.W.H., Mackie, K.A., Abiven, S., 2014. Biochar and biochar-compost as soil amendments to a vineyard soil: Influences on plant growth, nutrient uptake, plant health and grape quality. Agriculture, Ecosystems & Environment 191, 117–123.

U.S.G.S. (U.S. Geological Survey). U.S. Department of the Interior. 2013. http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/peat/index.html (fecha de consulta 4-9-16).

6. Agradecimientos

Este trabajo fue parcialmente apoyado por el proyecto CTQ 2013-46804-C2-1- R del Mineco (España) y por FEDER (UE). El autor desea agradecer al Departamento de Horticultura y al Centro de Manejo y Secuestro de Carbono de la OSU (USA), por facilitarle los materiales e instalaciones de investigación.

LÍNEA TEMÁTICA III:

INNOVACIONES BIOTECNOLÓGICAS BASADAS EN EL RECICLAJE DE RESIDUOS.

EVALUACIÓN DEL PROCESO DE COMPOSTAJE CON LA TECNOLOGÍA DE CUBIERTAS SEMIPERMEABLES A ESCALA INDUSTRIAL

Mª Carmen Gutiérrez, Manuel Toledo, José Ángel Siles, Arturo F. Chica, Mª Ángeles Martín

Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química, Área de Ingeniería Química, Universidad de Córdoba. Campus Universitario de Rabanales, edificio Marie Curie (C-3), planta baja. Ctra. N IV, km 396, 14071 Córdoba, España.Teléfono: +34 957212273; Fax: +34 957218625; E-mail: a12gumam@uco.es.

Resumen: Se ha evaluado el proceso de compostaje a escala industrial de lodo de EDAR con poda vegetal como agente estructurante. El estudio se ha realizado, en una pila estática aireada y cubierta con una manta semi-permeable durante los primeros 60 días de proceso. La mejora del compostaje con el uso de esta tecnología, respecto de la convencional, se evaluó mediante el seguimiento de variables físico-químicas, respirométricas y olfatométricas del sustrato, así como de la presencia de bacterias y hongos. Frente a esta tecnología, las pilas abiertas convencionales requieren mayores tiempos de compostaje para obtener un compost estabilizado, no alcanzándose siempre su higienización y se requieren volteos periódicos del material para evitar anaerobiosis.

Las elevadas temperaturas alcanzadas y mantenidas durante la etapa bajo la cubierta semi-permeable (≈80ºC) permitieron la higienización del material compostable, cuantificada mediante la desaparición de *Salmonella sp.,* el decrecimiento en *Escherichia coli* y de la concentración total de microorganismos, en sólo 5 días de proceso. Es destacable que la evolución de la concentración de bacterias y hongos, mesófilos y termófilos, estuvo condicionada por la temperatura y el contenido en materia orgánica de la pila.

Finalmente, se obtuvo una adecuada correlación lineal (R^2=0,9214) entre la concentración total de microorganismos (log CFU/g) y los sólidos volátiles (SV, %) durante el proceso de compostaje. Además de la reducción en el impacto oloroso del proceso (83%), el rápido decrecimiento (41%) del contenido en carbono, expresado como SV, muestra que el proceso de compostaje, llevado a cabo bajo las cubiertas semi-permeables, podría acortarse a 30 días.

Palabras clave: Lodo parcialmente estabilizado, sólidos volátiles, cultivo de microorganismos.

1. Introducción.

Actualmente, el proceso de compostaje continúa siendo una de las técnicas más efectivas para la estabilización de materia orgánica, en el cual la diversidad de microorganismos juega un papel fundamental, optimizando su desarrollo y mejorando, sustancialmente, la calidad del producto final (López-González y col., 2015).

El proceso de compostaje puede ser llevado a cabo en sistemas muy diversos, abiertos, semi-cerrados o cerrados. Desde el punto de vista medioambiental, las principales desventajas de los sistemas abiertos son las emisiones a la atmósfera de partículas, compuestos orgánicos volátiles (COVs) y olores generados durante el proceso (Romain y col., 2008), además de una mayor influencia de las condiciones meteorológicas sobre el proceso, independientemente del sistema de aireación usado. Los sistemas cerrados, sin embargo, requieren infraestructuras más complejas y costosas que suponen una mayor huella de carbono asociada principalmente a las operaciones de construcción, mantenimiento y costes energéticos.

Debido a la demanda de tecnologías de menor coste y similar eficiencia que los sistemas cerrados, se han ido fomentando a nivel europeo la utilización de pilas de compostaje estáticas con aireación forzada y con cubierta semi-permeable, que satisfacen estos requerimientos (Luo y col., 2014). El compostaje llevado a cabo bajo cubiertas semi-permeables permite almacenar

grandes cantidades de residuo, tiene un coste considerable y además, minimiza las emisiones a la atmósfera de compuestos orgánicos volátiles, partículas y olor.
La novedad de este estudio es el desarrollo del proceso de compostaje a escala industrial de lodo parcialmente estabilizado mediante digestión anaerobia, con el uso de pilas estáticas aireadas y cubiertas de membranas semi-permeables. El objetivo es demostrar que esta tecnología mejora considerablemente el desarrollo de la primera etapa del proceso de compostaje y para ello se ha llevado a cabo: (1) la monitorización de variables fisicoquímicas y respirométricas; (2) el seguimiento de la composición microbiológica y (3) de las emisiones de olor, durante el proceso de compostaje.

2. Material y Métodos.

Este estudio se ha llevado a cabo en una planta de compostaje de biosólidos denominada "El Salao" (Vegas del Genil, Granada). Para el desarrollo de este estudio, se ha construido una pila con dimensiones 30 x 8 x 1,5 m compuesta de lodos de depuradora y agente estructurante (poda vegetal) en una relación volumétrica 3:1. Previamente el lodo ha sido estabilizado mediante digestión anaerobia mesófila (tiempo de retención hidráulico = 12 días) y deshidratado por centrifugación en una planta de tratamiento de aguas residuales.

Se ha realizado un seguimiento del proceso durante 190 días en dos etapas: (1) una primera etapa (1-60 días) llevada a cabo bajo la cubierta semi-permeable y (2) una etapa de maduración (60-190 días) llevada a cabo en condiciones estáticas. La temperatura del material se regula indirectamente con un sistema de ventilación controlado.

2.1 Caracterización del residuo.

En este estudio se ha llevado a cabo la caracterización fisicoquímica y microbiológica inicial del lodo parcialmente estabilizado, del agente estructurante y la mezcla de estos (The US Department of Agriculture and the US Composting Council, 2002. La humedad (%), el carbono orgánico oxidable (COOx, %), los sólidos volátiles (SV, %) y el contenido en nitrógeno (% N-Kjeldahl) fueron analizados en la fracción sólida, mientras que pH, conductividad (mS/cm) y las formas solubles del Carbono (%, Carbono total (CT), carbono inorgánico (CI) y orgánico (CO)) fueron determinados al extracto acuoso (1 g materia seca- 25 g agua).
Las emisiones de olor fueron determinadas con olfatometría dinámica (UNE-EN 13725) con el uso de un olfatómetro modelo T08 (suministrado por Olfasense) basado en el método Sí/No que permite determinar la concentración de olor expresada en unidades de olor Europeas por metro cúbico (uo_E/m^3). Las tasa de emisión de olor (uo_E/s) ha sido obtenida multiplicando la concentración de olor (uo_E/m^3) por el caudal de aireación (m^3/s) del material durante el proceso de compostaje.
En este estudio se ha evaluado el desarrollo microbiológico durante la primera etapa bajo la cubierta semi-permeable: (1) se han determinado *Salmonella sp.* y *Escherichia coli* (acorde a norma UNE-EN ISO 6579:2003 e ISO 7251:2005, respectivamente) y (2) se han enumerado las poblaciones de hongos y bacterias, mesófilos y termófilos. Para ello, se han tomado muestras a 50 cm de profundidad en cinco puntos diferentes y, posteriormente, se han homogeneizado. El medio y el tiempo de inoculación han sido en cada caso: Trypticase soy agar (Oxoid™) y 48 h de inoculación para bacterias mesófilas (BM) y bacterias termófilas (BT); Czapek-Dox broth (Difco™, MI, USA), 14 g/L de Agar (Difco™, MI, USA) y 96 h de inoculación para hongos mesófilos (HM) y hongos termófilos (HT). La temperatura de incubación ha sido 30ºC y 55 ºC para microorganismos mesófilos y termófilos, respectivamente.

2.2 Características de la membrana semi-permeable.

La manta semi-permeable está compuesta de una capa con microporo (0,2 mm) situada entre dos capas textiles muy resistentes a factores medioambientales y rayos ultravioleta. También es impermeable al agua de lluvia y al viento previniendo así procesos de fermentación indeseados. Además, reduce las emisiones gaseosas principalmente debido a la formación de una capa de condensación bajo la cubierta, donde se solubilizan compuestos olorosos, principalmente NH_3. Sin embargo, es permeable al vapor de agua, así como, a parte de la humedad y del CO_2 generados durante el proceso. También cabe destacar que es inerte biológicamente, no biodegradable y resistente a compuestos químicos y al calor y, por lo tanto, reutilizable. Todo ello implica bajos costes de inversión y mantenimiento.

2.3 Control del proceso: Ventilación, temperatura y humedad del material.

Durante la etapa bajo la cubierta semi-permeable, se ha llevado a cabo una aireación forzada del material de manera intermitente (10 min ON/50 min OFF) desde la base de la pila con el uso de ventiladores (modelo CAM 545-2T-3, Sodeca) con un flujo máximo de 2300 Nm^3/h a 2840 rpm. La potencia fue 2,2 kW, siendo habitual el uso de ventiladores con una potencia entre 4,0 y 4,5 kW, lo cual supone un considerable ahorro energético durante todo el proceso de compostaje. Durante la etapa de maduración la pila fue volteada periódicamente con la finalidad de mantener un adecuado contenido en humedad del material y condiciones aerobias.
La temperatura del material ha sido medida con el uso de una sonda de acero inoxidable (PT-100) de 150 mm de diámetro y 1800 mm de largo, que permite grabar los datos de temperatura continuamente durante el proceso. La capa semi-permeable dispone de diferentes puntos de inserción por los que se ha introducido la sonda de temperatura.
El material no se ha regado hasta el día 30 de proceso ya que la cubierta semi-permeable permite mantener la humedad del mismo. Cabe destacar que la planta dispone de un sistema de recogida de lixiviado procedente de la pila y del agua de lluvia que, posteriormente, es tratado en una planta de tratamiento de aguas residuales cercana.

2.4 Toma de muestras sólidas y gaseosas.

Con la finalidad de evaluar la efectividad de la cubierta semi-permeable en prevenir la emisión de malos olores, se han tomado muestras gaseosas, previamente a la toma de muestras sólidas para su caracterización fisicoquímica, para determinar su concentración de olor. Para ello, la cubierta semi-permeable dispone de zonas que pueden abrirse para llevar a cabo la toma de ambos tipos de muestras. Las muestras sólidas se tomaron a unos 100 cm de profundidad.
Para la toma de muestras gaseosas se ha utilizado un muestreador de acero inoxidable (0,5 m^2 de superficie) y un sistema que contiene la bolsa de Nalophan y que permite su llenado por diferencia de presión con el exterior. El muestreo se realizó, cuando el material estaba siendo aireado, sobre la pila de compostaje cubierta y sin cubrir para determinar la efectividad de la manta semi-permeable.

3. Resultados y Discusión.

3.1 Evolución de la temperatura durante el proceso de compostaje.

De acuerdo a la temperatura, el proceso de compostaje puede ser dividido en dos etapas: la primera llevada a cabo bajo la cubierta semi-permeable (etapa A) y la etapa de maduración (etapa

B), desarrollada al aire libre. Durante la etapa A se alcanzó la máxima temperatura (80ºC) en tan solo 5 días, a pesar de que el material es lodo parcialmente estabilizado, y se mantuvo entre 60-70ºC durante la mayor parte de esta etapa. Durante la etapa B, la temperatura del material, considerablemente influenciada por la temperatura ambiente, se mantuvo entre 40-60ºC. Por lo tanto, el uso combinado de cubiertas semi-permeables y aireación forzada de la pila, permite mantener elevadas temperaturas del material durante largos periodos de tiempo, mejorando la higienización del material.

3.2 Evolución de las variables fisicoquímicas durante el proceso de compostaje.

El adecuado funcionamiento de la cubierta semi-permeable se refleja en la evolución de las variables fisicoquímicas. Especialmente, el contenido en humedad se ha mantenido en valores ideales durante la etapa A. Los SV disminuyeron un 41% durante los 30 primeros días permaneciendo constantes hasta el final de la etapa A y disminuyendo, sin embargo, en los últimos meses hasta un 67% respecto del valor inicial, lo cual indica que el proceso se había completado antes del sexto mes del proceso. La relación C/N no varió significativamente durante la etapa B, por una disminución tanto del COOx como del N-Kjeldahl. La evolución tanto de los SV como del COOx durante el proceso de compostaje indica claramente que la etapa cubierta se podría haber acortado a 30 días, aproximadamente. De acuerdo al R.D 506/2013 sobre productos fertilizantes, el proceso completo se podría haber acortado a 120 días para mantener un adecuado contenido en materia orgánica (<35%), lo cual supondría un ahorro en costes. Finalmente, el Nitrógeno Kjeldahl fue parcialmente volatilizado (NH_3 (g)) en los primeros cinco días, lo que puede deberse al incremento de la temperatura. Esta pérdida de nitrógeno causa una baja relación C/N inicial.

3.3 Evolución de los microorganismos mesófilos y termófilos durante el compostaje.

Aunque el material a compostar es un lodo parciamente estabilizado mediante digestión anaerobia, bacterias y hongos alcanzaron siete órdenes de magnitud durante el compostaje. La

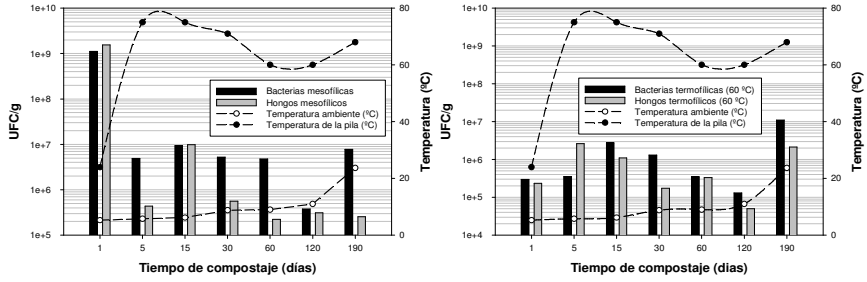


figura 1 muestra la evolución de bacterias y hongos tanto mesófilos como termófilos, así como, la temperatura ambiente y de la pila durante el proceso de compostaje. Como puede observarse, la mayor concentración de bacterias y hongos mesófilos se alcanzó al comienzo del proceso y, posteriormente, decreció considerablemente con el aumento de la temperatura de la pila, dando lugar al crecimiento de microorganismos termófilos. Aunque se ha encontrado una correlación lineal positiva y creciente entre la concentración de microorganismos total y la temperatura de la pila (r^2 = 0,6891), dicha tendencia fue más adecuada (r^2 = 0,9214) respecto al contenido en sólidos volátiles de la pila.

Figura 1. Evolución de bacterias y hongos mesófilos y termófilos durante el proceso de compostaje.

3.4 Impacto oloroso.

Las emisiones de olor generadas durante el compostaje, con el uso de la cubierta, fueron determinadas a los 1,5, 15, 30 y 60 días de proceso. Las tasas de emisión determinadas fueron 19; 32; 32; 32 y 19 uo_E/s, respectivamente. Al mismo tiempo, se hicieron muestreos de olor ocasionales abriendo los huecos de muestreo de la manta. Como cabía esperar, las emisiones de olor fueron considerablemente superiores a las generadas con la manta, con una tasa de emisión promedio de $8{,}2 \cdot 10^2$ uo_E/s. Cabe destacar que la tasa de emisión más elevada ($2{,}3 \cdot 10^2$ uo_E/s) generada al principio del proceso cuando la pila aun no ha sido cubierta, disminuyó hasta 19 uo_E/s (una reducción de un 85%, aproximadamente) en solo un día con el uso de la cubierta semi-permeable. Esto demuestra la efectividad de dichas cubiertas en la reducción de emisiones de olor.

4. Conclusiones.

Las conclusiones más relevantes de este estudio son:

- Se observaron un decrecimiento de la materia orgánica (41% sólidos volátiles) y un incremento de la temperatura (hasta 80ºC) durante la primera etapa del proceso de compostaje bajo la cubierta semi-permeable (2 meses). Consecuentemente, este periodo se podría haber acortado a un mes, no produciéndose cambios significativos tras este plazo.

- Como era de esperar, hongos y bacterias termófilas dominaron durante la etapa termófila y, durante la etapa mesófila, dominaron bacterias y hongos mesófilos, demostrándose así la influencia de la temperatura sobre hongos y bacterias.

- Se encontró una correlación lineal ($r^2 = 0{,}9214$) entre la materia orgánica expresada como sólidos volátiles y la concentración total de microorganismos.

- Se ha demostrado la efectividad de las mantas semi-permeables para reducción de las emisiones de olor.

Los resultados de este trabajo muestran claramente las ventajas tecnológicas, ambientales y económicas de llevar a cabo la primera etapa del compostaje en una pila estática aireada y con el uso de una cubierta semi-permeable.

5. Bibliografía.

López-González J.A., Suárez-Estrella F., Vargas-García M.C., López M.J., Jurado M.M., Moreno J., 2015. Dynamics of bacterial microbiota during lignocellulosic waste composting: studies upon its structure, functionality and biodiversity. *Bioresour. Technol.* 175, 406-416.

Luo W.H., Yuan J., Luo Y.M., Li G.X., Nghiem L.D., Price W.E., 2014. Effects of mixing and covering with mature compost on gaseous emissions during composting. Chemosphere 117, 14-19.

Romain A.-C., Delva J., Nicolas J., 2008. Complementary approaches to measure environmental odours emitted by landfill areas. *Sensors Actuators. B Chem.* 131, 18-23.

6. Agradecimientos.

Los autores agradecen al grupo de de microbiología ambiental (RNM-270) de la Universidad de Granada y a la empresa Biomasa del Guadalquivir S.A, por hacer posible la realización de este trabajo.

MICROORGANISMOS DEGRADADORES DE CONTAMINANTES AROMÁTICOS EN BIOMEZCLAS CONSTITUIDAS POR RESIDUOS ORGÁNICOS DE LA AGROINDUSTRIA DEL ACEITE DE OLIVA

Inés Mª Aguilar, Pieter van Dillewijn, Regina-Michaela Wittich, Rogelio Nogales, Esperanza Romero

Departamento de Protección Ambiental, Estación Experimental del Zaidín, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (EEZ-CSIC), C/ Profesor Albareda 1, 18008 Granada
ines.aguilar@eez.csic.es

Resumen: La gestión inadecuada de las aguas residuales urbanas, industriales y agrícolas implica que este recurso hídrico pueda llegar al medio ambiente contaminado por plaguicidas y por contaminantes emergentes que provienen, entre otras, de las industrias farmacéuticas, cosméticas y de higiene personal. Por ello, es de gran interés establecer alternativas sostenibles y de bajo coste para la depuración avanzada de las aguas residuales. Una de las herramientas desarrolladas son los sistemas de biorremediación "Biobeds", que han mostrado tener un gran potencial para la descontaminación de aguas con alta carga de plaguicidas. Estos sistemas se componen de biomezclas activas que presentan poblaciones microbianas capaces de biodegradar los contaminantes orgánicos. Sin embargo, existe poca información de las poblaciones microbianas presentes en estos sistemas. En este trabajo se propone el estudio de biomezclas innovadoras compuestas por suelo y residuos orgánicos procedentes de la extracción de aceite de oliva como el "alperujo", previamente vermicompostado, y la poda de olivo que posee una función estructurante. Mediante diversos métodos de cultivo, se han obtenido 129 aislados microbianos de estas biomezclas, siendo algunos de ellos capaces de crecer con los contaminantes emergentes como fuente de carbono. El conocimiento de estos microorganismos nos permitirá aumentar el potencial de las biomezclas, para reducir el tiempo de desaparición de los compuestos más recalcitrantes, mediante la bioaumentación de estos sistemas con los microorganismos degradadores más eficientes, o a través de la aplicación de tés de vermicompost o de las biomezclas agotadas.

Palabras clave: Alperujo, Biorremediación, PFCPs, plaguicidas, bacterias.

1. Introducción

La presencia de contaminantes orgánicos en el agua debido a las actividades agrícolas, industriales y urbanas es un tema de enorme relevancia ya que afecta a la calidad del medio ambiente y a la salud humana. Junto a los plaguicidas agrícolas, comienza a ser un problema la acumulación los contaminantes procedentes de las industrias, entre las que se incluyen la farmacéutica, cosmética y de higiene personal (PFCPs). Estos compuestos son bioacumulables y algunos de ellos poseen la capacidad de alterar el sistema endocrino de diversos organismos (Lapworth y col., 2012), siendo por ello de gran interés establecer alternativas sostenibles y de bajo coste para evitar la transferencia de estos contaminantes a los ecosistemas.

Uno de los métodos de descontaminación desarrollados son los sistemas de biorremediación Biobeds. Estos sistemas son biofiltros compuestos de biomezclas activas de suelo y materiales orgánicos, que disponen de una microbiota capaz de biodegradar contaminantes como los plaguicidas (Castillo-Díaz y col., 2016). A pesar de la capacidad degradativa que muestran las biomezclas, existe escasa información de las poblaciones microbianas y de las funciones catabólicas presentes en esos sistemas. El objeto del estudio fue aislar microorganismos degradadores existentes en dos tipos de biomezclas, una compuesta de suelo turba y paja, y otra, innovadora, compuesta de suelo y dos residuos orgánicos procedentes de la extracción de

aceite de oliva, alperujo previamente vermicompostado, y de la poda del olivo. Estas biomezclas fueron previamente tratadas con 5 plaguicidas distintos de uso frecuente en el cultivo del olivar durante más de tres meses. Los microorganismos degradadores aislados de estas biomezclas que resulten ser más efectivos podrían ser utilizados en la bioaumentación de estos sistemas para reducir así el tiempo de desaparición de los compuestos contaminantes más recalcitrantes (Verhagen y col., 2013).

2. Materiales y métodos

2.1 Biomezclas

Para la preparación de las biomezclas se utilizó un suelo francolimoarcilloso, pH 8.1, que contiene un 3% de carbono orgánico y un 44.1% de $CaCO_3$. Fue secado al aire y tamizado por 4 mm antes de su uso. La turba procedente de la turbera del Agia (Padul, Granada) posee un contenido del 30 % de carbono orgánico. El vermicompost de alperujo fue obtenido mediante vermicompostaje convencional, de una mezcla de alperujo y estiércol (4:1 ps:ps) con lombrices de la especie *Eisenia fetida* durante 6 meses y 2 meses de maduración. La composición y algunas propiedades fisicoquímicas de las biomezclas suelo:turba:paja (STP) y suelo:vermicompost:poda (SVP) tras ser estabilizadas, se recogen en la Tabla 1. Ambas biomezclas fueron utilizadas previamente en sistemas de biorremediacion biobeds y contaminadas secuencialmente durante más de tres meses con diferentes contaminantes aromáticos, incluyendo diuron.

Tabla 1. Composición y propiedades fisicoquímicas de las biomezclas estudiadas.

	Composición (%)					Propiedades fisicoquímicas						
	Suelo	Turba	Verm.	Paja	Poda	pH	CE (dS m^{-1})	CO g kg^{-1}	C/N	CH g kg^{-1}	AH g kg^{-1}	Lig/Cel/Hem (%)
STPj	25	25	-	50	-	7.1	3.4	161	29.1	1.5	39.7	2.8/2.8/3.4
SVP	25	-	25	-	50	7.9	1.1	216	20.1	7.3	17.4	8.6/6.3/8.2

Verm: Vermicompost de alperujo; CE: conductividad eléctrica; CO: carbono orgánico; CH: Carbono hidrosoluble; AH: ácidos húmicos; Lig/Cel/Hem.: lignina/celulosa/hemicelulosa

2.2 Aislamiento de microorganismos de las biomezclas

Para el aislamiento de los microorganismos se seleccionaron biomezclas contaminadas secuencialmente durante más de tres meses con diferentes contaminantes aromáticos como el diuron. El aislamiento se inició con la disgregación de las células de las partículas de las biomezclas. Para ello se añadió un gramo de biomezcla a un matraz con 100 ml de PBS (tampón fosfato salino) y se agitó a 200 rpm durante 1 h. Posteriormente, se dejó decantar 30 min, realizándose diluciones seriadas y siembra posterior en placas Petri con medio rico Nutrient Agar y LB (Luria Bertani) con agar diluidos 1/5. Una vez crecidas las distintas colonias microbianas se describieron morfológicamente y se conservaron en placas con glicerol al 30% a -80 ºC. Por último, los microorganismos aislados fueron sembrados en medio mínimo M9 (Abril y col., 1988) con agar noble y con tres productos activos (diuron, ibuprofeno, diclofenaco) como fuente de carbono, a concentración de 100 mg L^{-1}, estudiándose su crecimiento bajo esas condiciones.

2.3 Identificación de aislados

La extracción del ADN genómico de los microorganismos aislados se llevó a cabo utilizando el kit Wizard® Genomic DNA Purification. Se amplificó el gen 16S del ARNr y mediante secuenciación y posterior análisis con la herramienta informática Blast se determinaron los géneros y especies más cercanas.

3. Resultados y discusión

A partir de las biomezclas STPj y SVP tratadas previamente con plaguicidas se aislaron en función de la morfología de sus colonias 49 y 80 microorganismos respectivamente. De estos 129 aislados, expuestos en medio mínimo sólido a diferentes contaminantes (diuron, ibuprofeno y diclofenaco) sólo 15 fueron capaces de crecer usando estos compuestos como fuente de carbono (Tabla 2). Además, se observó una mayor diversidad morfológica en las colonias obtenidas de la biomezcla con alperujo vermicompostado (Figura 1). Según los análisis químicos, esta biomezcla muestra mayor contenido en carbono hidrosoluble y menor concentración de ácidos húmicos que STPj (Tabla 1), por tanto, SVP presenta condiciones más idóneas para el desarrollo de la actividad microbiana.

La mayoría de los aislados seleccionados presentaron un crecimiento moderado y algunos de ellos forman un halo transparente. El aislado 2.4B mostró el mayor crecimiento en presencia de diuron como única fuente de carbono, pero no creció en presencia de los demás contaminantes. En cambio, los aislados 2.4C, 2.8A y 2.10C_1, aunque mostraron un crecimiento moderado, fueron capaces de crecer con los tres compuestos como única fuente de carbono, lo que los hace buenos candidatos para bioaumentar estos sistemas de biorremediación y reducir así el tiempo de desaparición de los contaminantes de las biomezclas.

Tabla 2. Crecimiento de aislados de las biomezclas en medio mínimo con los productos activos Diuron, Ibuprofeno y Diclofenaco como fuente de carbono.

MM + Diurón		MM + Ibuprofeno		MM + Diclofenaco	
Aislados	Crecimiento	Aislados	Crecimiento	Aislados	Crecimiento
2.4B	+++	2.1E	++	2.5F	+ H
2.4C	++	2.4C	++	2.4C	++
2.8A	++ H	2.8A	++	2.8A	++
2.2F	++	1.8C	++	1.8C	++
2.5C1	+ +	2.8F	+	2.10C1	+ H
2.5C2	++	2.10C1	++		
2.10C1	++	2.10C2	+		
2.10C2	++				
2.1E	++ H				
1.10A	++				
1.12A	++				

Los símbolos indican: (+) poco crecimiento, (++) crecimiento moderado, (+++) crecimiento medio y (H) formación de halo transparente

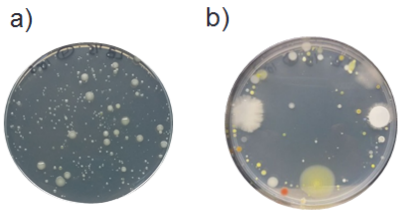


Figura 1. Colonias de microorganismos aislados de las biomezclas suelo-turba-paja (STP) (a) y suelo-vermicompost-poda (SVP) (b).

Tabla 3. Análisis del gen 16S del ARNr de los aislados.

Aislados	% Ident.	Especie más cercana
1.10A	98-99	*Arthrobacter nitroguajacolicus*
		Arthrobacter aurescens
2.10C1	98	*Pseudomonas xanthomarina*
2.10C2	99	*Bacillus sp.*
2.5C	98	*Pseudomonas sp.*
1.12A	99	*Bacillus sp.*
		Bacillus cereus
2.4B	100	*Bacillus cereus*
2.4C	99	*Pseudomonas plecoglossicida*
2.1E	99	*Bacillus mycoides*
1.8C	99	*Pseudomonas sp.*

% Ident: % de identidad con la especie más cercana.

Además, se observó una mayor cantidad de microorganismos capaces de crecer con diuron respecto a los otros contaminantes. Ello podría ser debido a la exposición previa de las biomezclas con este herbicida que puede estimular el desarrollo de microorganismos degradadores y promover una adaptación de los microorganismos a este contaminante.

De los aislados que presentaron mejor crecimiento, y mediante los análisis del gen 16S se determinaron los géneros y las especies más cercanas a los que probablemente pertenezcan estos microorganismos (Tabla 3). La mayoría de las bacterias pertenecieron a los géneros *Arthrobacter, Pseudomonas* y *Bacillus*, que incluyen especies implicadas en la degradación de compuestos aromáticos recalcitrantes, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (Pandey y col., 2016), plaguicidas (Singh y col., 2016) y PFCPs (Kagle y col., 2009).

4. Conclusiones

A partir de biomezclas tratadas expuestas tres meses previamente con plaguicidas se aislaron 15 microorganismos con capacidad de crecimiento en medio sólido con distintos contaminantes aromáticos como única fuente de carbono. Los aislados que pertenecen a los géneros *Arthrobacter, Pseudomonas* y *Bacillus* presentaron mejor crecimiento y pueden ser candidatos idóneos para la bioaumentación de los sistemas de biorremediación biobeds. La mayoría de estos microorganismos proceden de la biomezcla que contenía vermicompost de alperujo, ya que esta biomezcla presenta características fisicoquímicas más apropiadas para el desarrollo de la actividad microbiana.

5. Bibliografía

Abril, M. A., Michán, C., Timmis, K. N. & Ramos, J. L. 1989. Regulator and enzyme specificities of the TOL plasmid-encoded upper pathway for degradation of aromatic hydrocarbons and expansion of the substrate range of the pathway. *J Bacteriol* 171, 6782–6790.

Castillo-Díaz, J.M., Delgado-Moreno, L., Núñez, R., Nogales, R., Romero, E., 2016. Enhancing pesticide degradation using indigenous microorganisms isolated under high pesticide load in bioremediation systems with vermicomposts. *Biores. Technol.* 214, 234-241.

Kagle, J., Porter, A. W., Murdoch, R. W., Rivera-Cancel, G., Hay, A. G. 2009. Biodegradation of pharmaceutical and personal care products. Adv. Appl.Microbiol. 67, 65-108.

Lapworth, D. J., Baran, N., Stuart, M. E., Ward, R. S. 2012. Emerging organic contaminants in groundwater: a review of sources, fate and occurrence. *Environ. Pollut*. 163, 287-303.

Pandey, P., Pathak, H., Dave, S. 2016. Microbial Ecology of Hydrocarbon Degradation in the Soil: A Review. *Res. J. Environ.Toxico*l. 10, 1-15.

Singh, B., Singh, K. 2016. Microbial degradation of herbicides. Crit. Rev.Microbiol. 42, 245-261.

Verhagen, P., De Gelder, L., & Boon, N. (2013). Inoculation with a mixed degrading culture improves the pesticide removal of an on-farm biopurification system. *Curr. Microbiol.* 67, 466-471.

6. Agradecimientos

El presente estudio ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, Proyecto CTM2013-44271-R y cofinanciado con fondos FEDER. I.M Aguilar agradece al Ministerio de Economía y Competitividad la Beca FPI (BES-2014-070043) concedida a cargo del proyecto.

BIOSÍNTESIS DE ÁCIDO INDOLACÉTICO EN UN VERMICOMPOST DE ALPERUJO. EFECTOS EN LA RIZOSFERA DE UN CULTIVO DE PIMIENTO

Emilio Benítez, Rogelio Nogales, Beatriz Moreno

Estación Experimental del Zaidín. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (EEZ-CSIC), C/ Profesor Albareda 1, 18008 Granada. emilio.benitez@eez.csic.es

Resumen: El objetivo del estudio fue evaluar la biosíntesis bacteriana de la fitohormona ácido indolacético (IAA) durante un proceso de vermicompostaje. Para ello, a un vermicompost de alperujo se adicionó una fuente natural de triptófano y la mezcla volvió a ser vermicompostada (*Eisenia fetida*) durante 60 días. La abundancia y expresión de genes bacterianos que codifican la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH), implicada en el último paso de una de las rutas metabólicas de síntesis de IAA, fue cuantificada mediante diseño de una nueva pareja de oligonucleótidos. Cuando los vermicompost se utilizaron como enmiendas, se detectaron en la rizosfera de pimiento altos niveles de IAA y expresión de genes ALDH. Los resultados indicaron la presencia de tal maquinaria genética en el cromosoma de la mayoría de las bacterias transmitidas por el vermicompost.

Palabras clave: vermicompostaje, residuos olivar, torta de girasol, enzima aldehído deshidrogenasa, bacterias

1. Introducción

Las propiedades bioactivas de compost y vermicompost se han relacionado con las características moleculares de los ácidos húmicos contenidos en los mismos. Sin embargo, recientes investigaciones las atribuyen a la presencia de bacterias promotoras del crecimiento capaces de sintetizar sustancias con actividad fitohormonal tales como el ácido indolacético (IAA) (Zhang y col., 2015). A partir de triptófano, tres vías principales se han descrito para la síntesis bacteriana de IAA: el ácido indol-3-pirúvico, indol-3-acetamida y el indol-3-acetonitrilo, siendo las dos primeras las rutas más comunes. La inactivación de genes clave ha indicado la importancia de la vía del ácido indol-3-pirúvico (IPA) en la biosíntesis IAA, a veces casi el 90% de la producción total (Theunis y col., 2004), señalando el papel crucial de la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) bacteriana (Shao y col., 2015).

El objetivo de este trabajo fue examinar la posibilidad de estimular la producción bacteriana de IAA en un vermicompost de residuos procedentes de la agroindustria del olivar mediante la adición de una fuente exógena de triptófano. Un método para la cuantificación de genes bacterianos que codifican la enzima ALDH y un método para la extracción y cuantificación de IAA en residuos orgánicos fueron diseñados y optimizados para este trabajo. Los efectos de la adición de triptófano en el proceso de vermicompostaje y la influencia del vermicompost resultante en el microbioma bacteriano de la rizosfera de pimiento (*Capsicum annuum* L.) han sido asimismo evaluados.

2. Material y métodos

2.1. Proceso de vermicompostaje

Como sustrato inicial (Vo) se utilizó un vermicompost procedente de una mezcla de residuos de la industria del olivar y estiércol de oveja (8:1 en peso seco), madurado durante 9 meses (Vivas y col. 2009). Para obtener el tratamiento VSc se adicionó a Vo una dosis de torta de girasol del 2% en peso seco, reiniciando el proceso de vermicompostaje durante 60 días. Como controles se utilizaron Vo más una dosis de L-triptófano sintético equivalente al suministrado por la torta de girasol (VT) y Vo sin triptófano (V). Diez gramos de *Eisenia fetida* (cliteladas), equivalentes a 15 lombrices, fueron añadidos a 200 g de cada tratamiento. El contenido de humedad de todos los sustratos se mantuvo al 80-85% en oscuridad y a 25°C.

2.2. Experimento en macetas

El experimento se llevó a cabo en macetas de plástico 2 L, en un invernadero bajo condiciones controladas de temperatura y humedad. Cada maceta contenía 1.000 g de muestras inalteradas de un TypicXerorthent (Soil Survey Staff, 1999) y la cantidad necesaria de cada vermicompost para alcanzar un contenido de carbono orgánico en el suelo de 35 g kg^{-1}. Suelo sin enmendar fue utilizado como control (S). Semillas de pimiento (*C. annuum*, L., cv Melchor) fueron transferidas a las macetas y se dejaron crecer durante 3 meses. El aislamiento de ácidos nucleicos de la rizosfera y la síntesis de ADNc y los ensayos de PCR cuantitativa se realizó según descrito en Moreno y col. (2011). El diseño de cebadores para la detección de genes que codifican para la ALDH del IAA fue realizado a partir del análisis de 26 secuencias de proteínas ALDH obtenidas a partir de las bases de datos GenBank y Uniprot, y alineadas utilizando el programa Clustal Omega (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/) (Sievers y Higgins 2014). El árbol filogenético fue calculado con el método “neighbor-joining” y examinado utilizando un análisis de bootstrap mediante el software integrado de Análisis de Genética Evolutiva Molecular (MEGA6) (Tamura y col., 2013). A partir de este alineamiento, se identificaron regiones conservadas, las cuales fueron utilizadas para diseñar los cebadores degenerados BALDF2 (5'-ACGCTSGARCTBGGCGGMAA -3') y BALDR3 (5'-GGDCCGAARAYYTCYTC -3') con el programa CODEHOP (Rose y col., 2003). Para llevar a cabo la extracción y análisis de IAA de las enmiendas orgánicas y de los suelos enmendados procedentes de la rizosfera de pimiento, se optimizó un método basado en la extracción asistida por ultrasonido de IAA y posterior análisis por espectrometría de cromatografía-masa líquida. Todos los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza y pruebas post hoc de Tukey utilizando el software estadístico R (R Development Core Team 2010).

3. Resultados y Discusión

3.1. Proceso de vermicompostaje

La reactivación del proceso no modificó en ningún caso el carbono orgánico total (COT), N, pH y CE del sustrato inicial (Tabla 1).

Tabla 1. Características (media ± ES) del sustrato inicial (Vo) y de los productos finales control (V), Vo + triptófano (VT) y Vo + torta de girasol (VSc)

	COT (g kg^{-1})	N (g kg^{-1})	pH	EC (mS cm^{-1})	IAA (ng g^{-1})
Vo	327 ± 30	20 ± 2.1	9.1 ± 0.1	4.5 ± 0.5	70331 ± 1724
V	306 ± 42	22 ± 6.0	9.1 ± 0.1	5.1 ± 0.6	67479 ± 751
VT	312 ± 28	23 ± 4.2	9.2 ± 0.1	4.5 ± 0.7	65389 ± 566
VSc	307 ± 21	23 ± 4.2	9.2 ± 0.1	6.1 ± 1.0	62627 ± 727

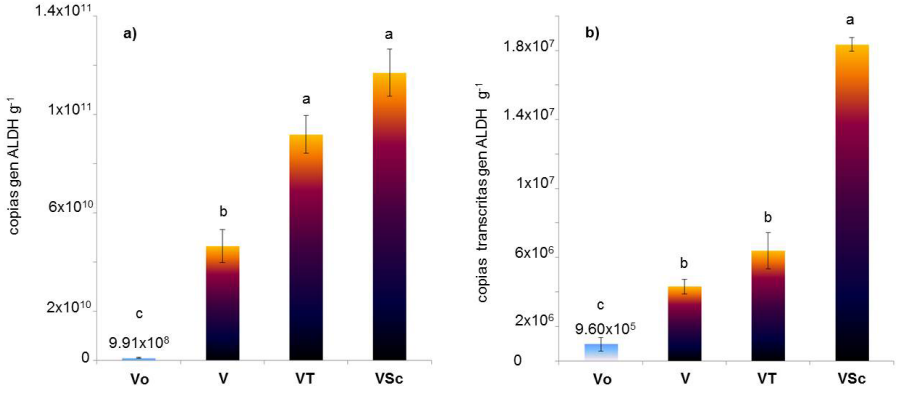


Figura 1. Número (a) y expresión (b) de genes ALDH en el sustrato inicial (Vo) y en los productos finales control (V), Vo + triptófano (VT) y Vo + torta de girasol (VSc). Para cada parámetro (media ± ES), diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0,05$)

El vermicompostaje aumentó el número de genes bacterianos que regulan la ruta IPA implicada en la síntesis de IAA, especialmente cuando se adicionó triptófano exógeno - natural o sintético (Fig. 1a). La tendencia fue análoga a la detectada para la expresión de dichos genes, aunque se observó una diferencia significativa entre VSc y VT (Fig. 1b).

Los resultados podrían apoyar la hipótesis según la cual, en los sistemas de descomposición, los genes bacterianos que controlan la producción de IAA son inducidos por triptófano independientemente de cualquier influencia rizosférica (Khalid y col. 2005). Sin embargo, no hubo ninguna correspondencia entre la expresión del gen ALDH y los niveles de IAA recuperados de los diferentes vermicompost.

3.2. Experimento en macetas

Como era de esperar, el contenido de carbono orgánico del suelo (COS) y el de IAA aumentó con la adición de enmiendas (Tabla 2). El carbono orgánico del suelo se mantuvo constante durante el período experimental de 3 meses mientras que el contenido de IAA disminuyó, siendo la disminución menos evidente en los suelos SVSc (Tabla 2).

Tabla 2. Carbono orgánico (SOC), N y ácido indolacético (IAA) en suelos control (S) y enmendados con vermicompost V (SV), VT (SVT) o VSc (SVSc) al inicio (t0) y al final (t3) del experimento en macetas. Para cada parámetro (media ± ES), diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0,05$)

	tiempo	SOC (g kg^{-1})	N (g kg^{-1})	IAA (ng g^{-1})
S	t0	17.4 ± 1.2 b	2.1 ± 0.5 a	n.d.
	t3	18.0 ± 1.9 b	2.0 ± 0.3 a	n.d.
SV	t0	40.7 ± 5.0 a	3.2 ± 0.2 a	4048 ± 121 a
	t3	37.3 ± 2.2 a	2.7 ± 0.3 a	1733 ± 336 c
SVT	t0	34.2 ± 3.2 a	3.0 ± 0.9 a	3776 ± 118 ab
	t3	34.5 ± 4.2 a	2.8 ± 0.5 a	2019 ± 290 c
SVSc	t0	41.8 ± 1.7 a	3.3 ± 0.3 a	4133 ± 185 a
	t3	40.4 ± 3.9 a	3.1 ± 0.4 a	3221 ± 219 b

n.d: no detectado

La adición de diferentes vermicompost al suelo también provocó un aumento en la cantidad de genes que codifican para ALDH proporcional a los genes ALDH ya presentes en el mismo y, en consecuencia, se detectó un número de copias de estos genes muy superior en el tratamiento SVSc (Fig. 2a). El número de copias de los genes que codifican para ALDH disminuyó con el tiempo, lo que podría indicar la presencia de estos genes en el cromosoma de la mayoría de las bacterias transmitidas por el vermicompost. Sin embargo, la expresión de genes ALDH sólo fue detectada en los tratamientos donde los suelo fueron enmendados con vermicompost y torta de girasol como fuente natural de triptófano (Fig. 2b).

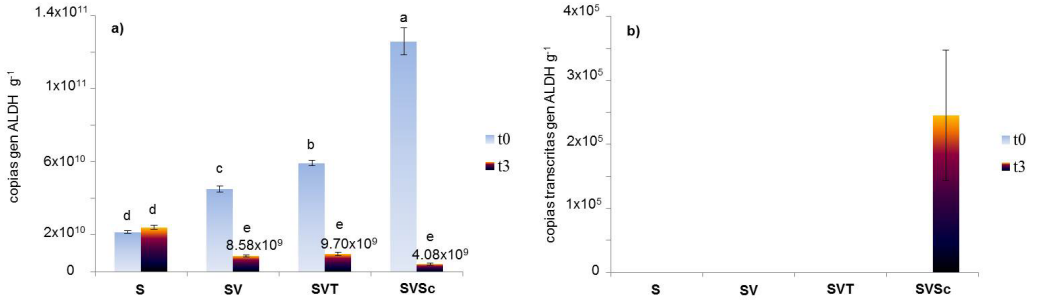


Figura 2. Número (a) y expresión (b) de genes ALDH en la rizosfera de suelos enmendados con el sustrato inicial Vo y los vermciompost control (V), Vo + triptófano (VT) y Vo + torta de girasol (VSc), al inicio (t0) y al final (t3) del experimento en macetas. Para cada parámetro (media ± ES), diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0,05$)

En cuanto al contenido de IAA en los suelos, el tratamiento SVSc fue el que mostró los niveles más altos de esta fitohormona tras 3 meses de crecimiento de las plantas de pimiento (Tabla 2). Por lo tanto, se podría asumir que, además del hecho de que la expresión de genes ALDH en el resto de los tratamientos no fue suficiente para ser detectada, (i) la torta de girasol indujo mucho más la expresión de genes ALDH, y (ii) no se llevaron a cabo regulaciones post-transcripcionales significativas en la rizosfera del suelo durante el crecimiento de la planta de pimiento.

4. Conclusiones

El estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad de una fuente exógena de triptófano para estimular la biosíntesis bacteriana de la fitohormona ácido indol-3-acético durante el vermicompostaje de subproductos agroindustriales, tratando de dilucidar el papel de genes que codifican una enzima clave en la producción de IAA.

Reiniciar el proceso de vermicompostaje supuso un aumento del número de bacterias y de la expresión de genes bacterianos implicados en la biosíntesis de IAA, particularmente cuando se introdujo triptófano (sintético o procedente de torta de girasol) en el sistema de biodegradación de vermicompostaje de alperujo. Sin embargo, la adición de triptófano no afectó la concentración final de IAA en los vermicompost.

Cuando se utilizaron como enmiendas, el vermicompost inoculó al suelo una cantidad de bacterias y genes ALDH proporcionales a las contenidas en ese material. Sin embargo, la expresión del gen ALDH en la rizosfera se detectó únicamente después de 3 meses de crecimiento del pimiento y en los suelos enmendados con vermicompost y torta de girasol, donde además se detectaron los niveles más altos de IAA. Los resultados también indican que la vía IPA puede no ser la principal ruta de biosíntesis para IAA en bacterias transmitidas por el vermicompost, y/o que los genes bacterianos que codifican la enzima ALDH no son específicos para la síntesis de IAA.

5. Bibliografía

Khalid A., Tahir S., Arshad M., Zahir Z. A., 2005. Relative efficiency of rhizobacteria for auxin biosynthesis in rhizosphere and non-rhizosphere soils. *Soil Res*., 42, 921-926.

Moreno B., Nogales R., Macci C., Masciandaro G., Benitez E., 2011. Microbial eco-physiological profiles to estimate the biological restoration of a trichloroethylene contaminated soil. *Ecol. Indic*., 1, 1563-1571.

R Development Core Team, 2010. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. http://www.R-project.org.

Rose T. M., Henikoff J. G., Henikoff S., 2003. CODEHOP (COnsensus-DEgenerate hybrid oligonucleotide primer) PCR primer design. *Nucleic Acids Res*., 31, 3763-3766.

Shao J., Xu Z., Zhang N., Shen Q., Zhang R., 2015. Contribution of indole-3-acetic acid in the plant growth promotion by the rhizospheric strain Bacillus amyloliquefaciens SQR9. *Biol. Fert. Soils*, 51, 321-330.

Sievers F., Higgins D.G., 2014. Clustal Omega, accurate alignment of very large numbers of sequences. *Methods Mol. Biol*., 1079, 105–116.

Soil Survey Staff, 1999. Soil taxonomy. A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. 2nd ed. U.S. Department of Agriculture, Natural Resources Conservation.

Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S., 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol*., mst197.

Theunis M., Kobayashi H., Broughton W. J., Prinsen E., 2004. Flavonoids, NodD1, NodD2, and nod-box NB15 modulate expression of the y4wEFG locus that is required for indole-3-acetic acid synthesis in Rhizobium sp. strain NGR234. Mol. *Plant-Micr. Interact*., 17, 1153-1161.

Vivas A., Moreno B., García-Rodriguez S., Benitez E., 2009. Assessing the impact of composting and vermicomposting on bacterial community size and structure, and microbial functional diversity of an olive-mill waste. *Bioresour. Technol*., 100, 1319-1326.

Zhang H., Tan S.N., Teo C.H., Yew Y.R., Ge L., Chen X., Yong J.W.H., 2015. Analysis of phytohormones in vermicompost using a novel combinative sample preparation strategy of ultrasound-assisted extraction and solid-phase extraction coupled with liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Talanta*, 139,189-197.

6. Agradecimientos

Estudio financiado por Convenio MINECO-CSIC, RECUPERA 2020 (Fondos Feder), Proyecto 20134R073

BIOSURFACTANTES A PARTIR DE RESIDUOS DEL REFINADO DE ACEITES POR FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO

Pedro Jiménez, Xavier Font, Antoni Sánchez, Teresa Gea.

GICOM, Grupo de Investigación en Compostaje,
Departamento de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental
Universitat Autònoma de Barcelona, 08913, Cerdanyola del Vallés, Barcelona
Xavier.font@uab.cat, www.gicom.cat.

Resumen: La gestión eficaz de los residuos ricos en grasas, tales como las tortas de filtración procedentes del refinado de aceites, es compleja. Estos residuos se caracterizan por la ausencia de nitrógeno y humedad, y por ende, nula compostabilidad. Pueden ser usados en procesos de co-compostaje y co-digestión anaerobia, aunque la degradación de las grasas alarga la fase termófila ralentizando el proceso de compostaje. Una alternativa para su gestión sería la utilización de procesos de Fermentación en Estado Sólido (FES) para la obtención de bioproductos.
Los soforolípidos (SLs) son un grupo de biosurfactantes extracelulares con interesantes aplicaciones en la industria cosmética, en productos de limpieza o incluso con fines terapéuticos. Se ha explorado su producción por FES a partir de los residuos generados en una instalación de refinado de aceites comestibles. Se ha usado torta de filtrado de winterización (RW) como sustrato, *Candida bombicola* ATCC 22214 como inóculo y melaza (M) como co-substrato en una FES de 10 días a 30ºC y en escala 100 g. Optimizado el proceso (relación sustratos 1:4 M:RW en peso y aireación 0,30 L kg^{-1} min^{-1}), se obtuvo un rendimiento de 0,18 g SL por g MS (materia seca). La mezcla intermitente de la matriz sólida aumentó la producción en un 31%. También se ha investigado la influencia de la temperatura y se ha conseguido una producción similar en reactor de lecho empacado de 1 kg. Los SLs obtenidos se han caracterizado para determinar su estructura y pureza y su potencial uso en diferentes aplicaciones.

Palabras clave: Soforolipidos, Candida bombicola, Tortas de filtración de aceite, fermentación en estado sólido.

1. Introducción.

La gestión eficaz de los residuos ricos en grasas, tales como las tortas de filtración procedentes del refinado de aceites, es compleja. Estos residuos se caracterizan por la ausencia de nitrógeno y humedad, y por ende, nula compostabilidad. Pueden ser usados en procesos de co-compostaje y co-digestión anaerobia (Gea y col., 2007, Fernández y col., 2009), si bien la degradación de las grasas alarga la fase termófila ralentizando el proceso de compostaje. Una alternativa para su gestión sería la utilización de procesos de Fermentación en Estado Sólido (FES) para la obtención de bioproductos.

Los biosurfactantes producidos por una variedad de microorganismos, se presentan como una alternativa a los tensioactivos convencionales, ya que son fácilmente biodegradables, muestran baja toxicidad y pueden ser producidos a partir de materias primas renovables, o incluso desechos, por un proceso de fermentación natural. Los soforolípidos (SLs) son un grupo de biosurfactantes extracelulares producidos por varias especies de levaduras no patógenas, siendo *Candida bombicola* la más estudiada. Los SLs tienen propiedades anti-microbianas, anti-inflamatorias, anti-VIH e incluso anti-cáncer (Rashad y col., 2014).

Actualmente los SL se producen comercialmente por fermentación sumergida de la levadura *Candida bombicola* utilizando aceite vegetal y glucosa como sustratos. La fermentación en estado sólido (FES) tiene dos ventajas importantes en comparación con la fermentación sumergida (FSum). En primer lugar, permite el uso de sustratos sólidos de bajo coste, tales como tortas de aceite procedentes de la industria alimentaria (Ramachandran y col., 2007). En segundo lugar, evita posibles problemas asociados con la formación de espuma. En algunos casos la FES ofrece un mayor rendimiento que la FSum (Parekh y col. 2012). Sin embargo, hay varios retos que deben abordarse antes de su uso en procesos a gran escala. Algunos de los más importantes son el diseño de un biorreactor que permita el control de la temperatura y la humedad, la selección de los métodos de extracción eficientes y el seguimiento del proceso de cultivo (Krieger et al., 2010).

Los escasos estudios realizados sobre la producción de biosurfactantes por FES se han realizado con pequeñas cantidades (5-10 g) de sustratos (Nalini y Parthasarathi, 2014; Parekh y Pandit, 2012; Parekh y col., 2012; Rashad y col., 2014), utilizando aceites y tortas de filtrado.

El objetivo principal de este trabajo es estudiar el proceso de producción de SLs a través de FES de los residuos de la industria alimentaria con *Candida bombicola*. Los objetivos específicos son los siguientes: (i) optimizar la producción de SLs en función de la relación de sustratos y la tasa de aireación a escala de 100 g; (ii) establecer la curva de producción de SLs y su correlación con los indicadores de actividad biológica; y (iii) evaluar el proceso a mayor escala en biorreactores de lecho empacado de 1.100 g.

2. Material y Métodos.

2.1 Sustratos e inóculo

El sustrato principal utilizado fue la torta de filtración de aceite tras el proceso de winterización (RW). Este proceso consiste en un enfriamiento del aceite a 5ºC por 24h para la cristalización y precipitación de ceras. El filtrado posterior se realiza con tierras diatomeas. La torta presenta entre un 60 y un 70% de materia grasa. Como co-sustrato se usó melaza de remolacha azucarera. Como inóculo hemos utilizado *Candida bombicola* ATCC 22214 obtenida de la American Type Culture Collection (Manassas, EE.UU.). El inóculo se preparó mediante la adición de un *loop* completo de microorganismo, recién crecido en cultivo inclinado de agar, a un matraz Erlenmeyer de 250 ml con 50 ml de medio estéril que contiene (g L^{-1}): dextrosa, 10; peptona, 5; extracto de malta, 3; extracto de levadura, 3. A continuación, el cultivo se incubó en un agitador orbital a 30ºC, 180 rpm durante 48 h.

2.2 Fermentación en estado sólido

Utilizamos un sistema basado en Arduino® para el monitoreo y control de todos los procesos.La optimización se realizó a escala 100g, con 100g de mezcla sólida húmeda (45 g de sustratos, 14 g de paja usada como soporte inerte, 10 mL de inóculo y agua destilada para alcanzar un 45% de contenido en agua) en Erlenmeyers de 500 mL. Posteriormente se utilizó un reactor de polipropileno de 5 L de volumen albergando 1100 g de mezcla.

En todos los casos, se realizó un aporte continuo de aire mediante caudalímetros másicos. Se monitoreó el caudal de aire, la temperatura y la concentración de oxígeno a la salida. Con esta información el software calculaba en línea la tasa de consumo de oxígeno (OUR) y el consumo acumulado de oxígeno (COA) (Ponsá et al., 2010) para monitorear la actividad biológica del

proceso de fermentación. Salvo que se indique, la temperatura se controló sumergiendo los reactores en un baño de agua a 30 ºC.

Tras la toma de muestras, se midió el pH, se extrajeron los SL y se determinó el contenido de carbohidratos y grasa para evaluar el consumo de sustratos. El rendimiento de SLs se define como gramos de soforolípido por gramos de materia seca total (g g^{-1} MS).

3. Resultados y Discusión.

3.1 FES a escala 100g. Optimización y perfil de producción.

Los resultados confirmaron que el RW es un sustrato adecuado para la producción de SLs por FES. Utilizamos el enfoque sistemático del diseño experimental para evaluar la influencia de la relación de sustratos y el caudal de aireación en la producción de SLs. De acuerdo con los resultados, ambos parámetros tienen un efecto positivo sobre el rendimiento de los SLs, siendo más importante la influencia de la aireación. La relación óptima de sustratos fue de 1:4 (melaza: RW). La velocidad de aireación óptima fue 0,30 L kg^{-1} min^{-1}, lo que confirma el suministro de oxígeno como un parámetro importante para este proceso de fermentación.

Se llevó a cabo la FES a escala 100 g usando las condiciones optimizadas anteriores con el objetivo de obtener el perfil de la producción de las SLs. La OUR alcanzó su valor máximo en 66 h (2,65 ± 0,11 mg O_2 g^{-1}DM h^{-1}) que indica la actividad biológica máxima en todo el proceso de fermentación. Se observó producción de SLs ya en el segundo día de fermentación y alcanzó su máximo rendimiento en el día 8 (0.18 g g^{-1} MS o 7,1 g 100 g^{-1} masa total). La producción de SL correlacionó linealmente con el COA sugiriendo que el COA se podría utilizar como un parámetro de seguimiento para la biosíntesis de SLs en procesos de FES. El contenido en grasa disminuyó progresivamente a lo largo del experimento coincidiendo con la biosíntesis de los SLs, y se observó un consumo final del 55%.

Para mejorar la biodisponibilidad del sustrato y reducir los gradientes de nutrientes y biomasa se estudió el efecto del mezclado intermitente observándose que esta acción de mezclado aumenta el rendimiento de producción de SL en un 31% en comparación con la fermentación en condiciones estáticas (Jiménez-Peñalver y col., 2016).

3.2 FES a escala 1100g. Perfil de producción.

Para comprobar el éxito del proceso a mayor escala, se llevó acabo la fermentación en el reactor de 5 L de lecho empaquetado con 1.100 g de mezcla de fermentación, colocado en un baño de agua de 30ºC. La Figura 1 muestra los perfiles obtenidos en la fermentación de 1100g de mezcla sólida.

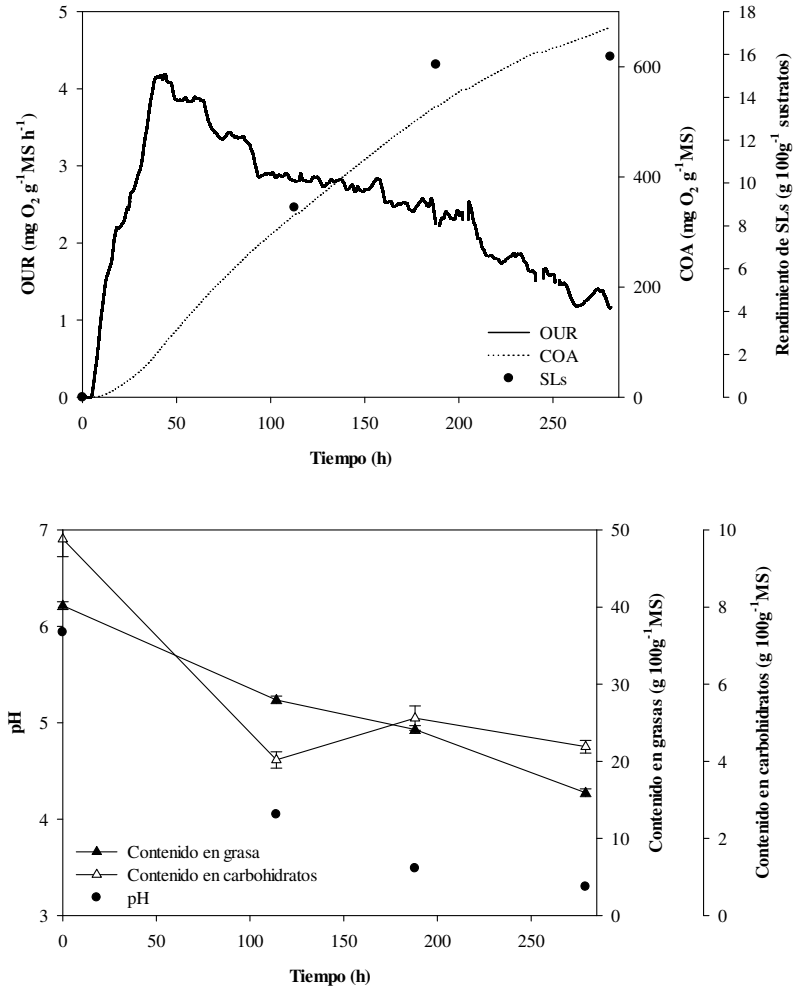


Figura 1. Perfiles de la fermentación en estado sólido en bioreactor de lecho empacado a escala 1100g a) OUR, COA, SL, b) pH, contenido en grasas y carbohidratos

En contraste con los resultados obtenidos a escala 100 g, el máximo de OUR (4,2 mg O_2 g^{-1}DM h^{-1}) se alcanzó después de 42 horas de fermentación y con un valor ligeramente superior. El rendimiento máximo se observó en el 8º día de fermentación (0.175 g g^{-1} MS), similar al rendimiento obtenido en la escala de 100 g sin mezclado intermitente. La evolución del pH y el consumo de grasa y carbohidratos siguió un patrón similar a la de la escala 100 g.

Si bien los resultados obtenidos fueron similares a los obtenidos a escala de 100 g, el reactor de 5L mostró problemas relacionados con la eliminación de calor y control de la humedad. Sin embargo, estos inconvenientes se pudieron solventar humedeciendo el aire de entrada con el objetivo de mantener la humedad en el interior del reactor y se controló manualmente la

temperatura por enfriamiento del aire de entrada y por la disminución de temperatura del baño de agua para mantener la mezcla de fermentación cerca de 30 ^{0}C.

Con el objetivo de mejorar el proceso y aumentar la escala de trabajo se realizarán experimentos en un reactor de bandejas con una capacidad total de 6 kg. Se espera que con esta configuración en bandejas el control de la temperatura se pueda realizar exclusivamente mediante la actuación sobre el caudal de aireación y que mediante la humidificación del aire de entrada se mantengan los valores de humedad del material.

4. Conclusiones.

La torta de filtración de aceite tras el proceso de winterización es un sustrato adecuado para la producción de soforolípidos por fermentación en estado sólido utilizando melaza de remolacha azucarera como co-sustrato y *Candida bombicola* como inóculo. La OUR y el consumo de oxígeno acumulado son herramientas de gran utilidad para supervisar la biosíntesis de SLs durante la fermentación. El rendimiento de producción de SLs a escala de 100 g fue de 0.18 g g^{-1} MS y se mantuvo al incrementar la escala hasta 1100 g.

5. Bibliografía.

Gea, T., Ferrer, P., Alvaro, G., Valero, F., Artola, A., Sánchez, A., 2007. Co-composting of sewage sludge:fats mixtures and characteristics of the lipases involved. *Biochem. Eng. J.* 33, 275–283.

Fernández, A., Sánchez, A., Font, X., 2005. Anaerobic co-digestion of a simulated organic fraction of municipal solid wastes and fats of animal and vegetable origin. (2005) *Biochem. Eng. J.* 26, 22-28.

Jiménez-Peñalver, P., Gea, T., Sánchez, A., Font, X., 2016. Production of sophorolipids from winterization oil cake by solid-state fermentation: Optimization, monitoring and effect of mixing. *Biochem Eng J.* 115, 93-100,

Krieger, N., Neto, D.C., Mitchell, D.A., 2010. Production of Microbial Biosurfactants by Solid-State Cultivation, in: Ramkrishna S. (Ed), *Biosurfactants*. Springer, New York, pp. 203–210.

Nalini, S., Parthasarathi, R., 2014. Production and characterization of rhamnolipids produced by Serratia rubidaea SNAU02 under solid-state fermentation and its application as biocontrol agent. *Bioresource Technol.* 173, 231–8.

Parekh, V.J., Pandit, A.B., 2012. Solid State Fermentation (SSF) for the Production of Sophorolipids from Starmerella bombicola NRRL Y-17069 using glucose , wheat bran and oleic acid. *Curr. Trends Biotechnol. Pharm.* 6, 418–424.

Parekh, V.J., Patravale, V.B., Pandit, A.B., 2012. Mango kernel fat: A novel lipid source for the fermentative production of sophorolipid biosurfactant using Starmerella Bombicola NRRL -Y 17069. *Ann. Biol. Res.* 3, 1798–1803.

Ponsá, S., Gea, T., Sánchez, A., 2010. Different indices to express biodegradability in organic solid wastes. *J. Environ. Qual.* 39, 706–712.

Rashad, M.M., Nooman, M.U., Ali, M.M., Mahmoud, A.E., 2014. Production, characterization and anticancer activity of *Candida bombicola* sophorolipids by means of solid state fermentation of sunflower oil cake and soybean oil. *Grasas Aceites* 65, 2.

6. Agradecimientos.

Los autores agradecen al Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto CTM2015-69513-R) por su apoyo financiero. Pedro Jiménez tiene una beca de doctorado del Ministerio de Economía y Competitividad (BES-2013-064852). Los autores agradecen a LIPSA y en especial a la persona de Llorenç Segarra por su colaboración en el suministro de los materiales para este estudio.

UTILIZACIÓN DEL TWISTER© PARA LA CARACTERIZACIÓN DE COV EMITIDOS POR EL COMPOSTAJE

Giraldez, I.[1], Ruiz-Montoya, M.[2], Delgado-Rodríguez, M.[2], Morales, E.[1], López, R.[3],Díaz, M J.[2]*

[1]Departamento de Química. Facultad de Ciencias Experimentales. Campus de "El Carmen". Universidad de Huelva. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, CeiA3. 21071. Huelva. España

[2]PRO2TEC. Departamento de Ingeniería Química, Química Física y Ciencias de los Materiales. Facultad de Ciencias Experimentales. Campus de "El Carmen". Universidad de Huelva. 21071. Huelva. España

[3]IRNAS (CSIC). Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla. Sevilla. España

**Autor para correspondencia: Dr. M.J. Díaz. +34 959219990, e-mail: dblanco@uhu.es*

Resumen: Las sustancias que causan mal olor procedente de la manipulación de los residuos sólidos urbanos (RSU), por lo general, surgen como resultado de la actividad biológica. Compuestos de amoniaco y sulfuro son los principales gases inorgánicos siendo los mercaptanos, terpenos, indoles y otros diversos compuestos orgánicos que llevan nitrógeno las sustancias orgánicas emitidas más importantes. El análisis de estos compuestos suele ser problemático debido a la baja concentración en el aire ambiente. La técnica actualmente más utilizada es la preconcentración de estos en absorbentes. Entre ellos uno de los más utilizados es el Twister©. Esta técnica permite una alta sensibilidad debido a la gran superficie de la fase estacionaria de sorción utilizada. El presente trabajo describe la optimización de un procedimiento de desorción térmica, aplicable a los compuestos emitidos tanto en la manipulación como el compostaje de RSU, de los compuestos adsorbidos en el Twister©. Los parámetros que afectan a la desorción térmica se investigan utilizando un enfoque quimiométrico en el que, por trabajos previos, se ha comprobado que, entre los parámetros implicados en la desorción térmica (temperatura de desorción (TDES), tiempo de desorción (t) y flujo de helio (f) y temperatura en el inyector PTV (TCIS)) los más importantes parámetros a optimizar son TDES y TCIS. Se comprueba que, fijando en sus valores típicos t (3 min) y f (50 ml min^{-1}), los valores para los que el área encontrada para la mayoría de los compuestos desorbidos se sitúan en un valor de TDES de 300ºC y TCIS de -20ºC.

Palabras clave: COMPOSTAJE, TWISTER, COV.

1. Introducción.

La recogida y tratamiento de residuos sólidos urbanos (RSU) han causado problemas de olores durante muchos años y muchos países tienen regulaciones para la distancia mínima entre la planta de tratamiento y zonas habitadas. En su identificación, la cromatografía de gases (GC) acoplada a distintos detectores, especialmente un espectrómetro de masas (MS) ha sido muy aplicada a la caracterización de la composición química de muestras de COVs. Para estos compuestos, se ha demostrado que el método de muestreo y de análisis tiene gran influencia en los resultados, debido fundamentalmente a que la mayoría de los compuestos están en muy baja concentración y no se identifican mediante muestreo directo en aire (Woolfenden, 1997). Se han ensayado distintos compuestos adsorbentes con gran selectividad para diferentes tipos de compuestos orgánicos volátiles (Harper, 2000) como el carbón activado, Tenax TA, XAD-2, Carbotrap, Carbopack, Carbosieve y Carboxen 569. De todas formas, el muestreo de adsorción pasiva tiene también algunos inconvenientes. La adsorción del analito es un proceso de equilibrio dinámico, por lo que puede existir desorción si su concentración en el entorno disminuye. En este sentido, el muestreo de aire con microextracción en fase sólida (MEFS o, en inglés, SPME) presenta más ventajas que los métodos de muestreo convencionales (Koziel et al., 2005) debido

a su simplicidad, reutilización, buena recuperación de los analitos y la propiedad hidrofóbica de recubrimientos de SPME. Para aumentar la sensibilidad de los análisis, Baltussen y col. (1999) desarrollaron otros adsorbentes de extracción como el Twister© (Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE) en el que se añade al adsorbente un segmento magnético o una barra de agitación.

El presente estudio describe la optimización de la extracción de los COV minoritarios, que no pueden ser identificados directamente en el aire, mediante adsorción en Twister©. Por otra parte se optimiza la desorción térmica acoplada a GC-MS para la determinación de COV generados en el compostaje de RSU. Se investigaron los parámetros que afectan a la desorción térmica mediante un enfoque quimiométrico para obtener la máxima señal para los componentes mayoritarios de la mezcla.

2. Materiales y Métodos

2.1 Materiales

El RSU se recogió de la planta de tratamiento de residuos urbanos de Villarrasa (Huelva-España). Se trata de planta sin recogida selectiva de residuos urbanos aunque si tienen separación electromagnética de metales ferrosos y separación manual de materiales no ferrosos. Este RSU se utiliza como materia prima para obtener compost (Tabla 1).

Tabla 1. Propiedades del RSU utilizado en el estudio (sobre base seca y libre de impurezas).

		RSU			RSU
Mat. orgánica	g kg^{-1}	385.4 ± 6.5	pH (1:5)		8.2 ± 0.2
N	g kg^{-1}	27.2 ± 0.6	EC (1:5)	dS m^{-1}	15.7 ± 0.8

El RSU obtenido se coloca en reactores de compostaje de 200 L de capacidad con forma de barril y fabricados en materiales acrílicos y aislados con espuma de poliuretano. Todos los análisis se realizaron por triplicado siguiendo procedimientos normalizados.

2.2 Procedimiento de análisis del aire

Las muestras se recogieron del espacio de cabeza de los reactores a la salida de corriente de flujo de aire del reactor. El muestreo se llevó a cabo con sistemas de 10 mm x 0,5 mm (longitud x espesor de la película) polidimetilsiloxano (PDMS) Twister© comercial (Mülheim y Ruhr, Alemania). Los Twister©s permanecieron colgados en el espacio de cabeza del reactor durante 30 minutos. El PDMS se almacenó en oscuridad a -20 ºC y se analizaron dentro de las 48 h de la toma de muestras. Para la desorción térmica de los compuestos absorbidos, se usó un sistema comercial (TDS, Gerstel) equipado con un muestreador automático MPS-2 conectado a un inyector de temperatura programable de vaporización (PTV) (CIS-4, Gerstel) por una línea de transferencia previamente acondicionada. El PTV se instaló en un cromatógrafo de gases Agilent 6890 con un detector selectivo de masas 5973 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EE.UU.). Los análisis se llevaron a cabo usando una columna HP-5 MS (30 m X 0,25 mm de diámetro interno 0,25 micras de espesor de película, 5% de polidimetilsiloxano fenil-95). Se utilizó helio como gas portador. Las temperaturas de la línea de transferencia, la fuente de iones y el analizador de cuadrupolo se mantuvieron a 280, 230 y 150°C, respectivamente. Los espectros de masas de los compuestos volátiles se comparan con el Wiley 275 L y NIST 02 (biblioteca de espectros) (Agilent Technologies).

2.3. Diseño experimental y análisis estadístico

Con el fin de obtener las condiciones más favorables para la etapa de desorción, se utilizó un diseño experimental de Box-Behnken (CSS Statistica, StatSoft Inc., Tulsa, Reino Unido) para evaluar la

influencia de las variables independientes (T_{DES} y T_{CIS}) sobre las dependientes (área de cromatograma) fijando el tiempo (3 min) y el flujo de helio como gas portador 50 (mL min^{-1}). Los niveles del diseño experimental fueron 200, 250, 300ºC para T_{DES} (-1,0,1) y -20, 0,20ºC para T_{CIS} (-1, 0, 1) . Los datos fueron analizados por análisis de regresión múltiple y se obtiene una ecuación polinómica (segundo orden) donde se presenta el de área de pico de los COV como una función de las variables independientes ensayadas, donde y es el de área de pico del COV predicho. Sólo las estimaciones de los coeficientes con niveles significativos superiores a 95% ($p < 0,05$) se incluyeron en los modelos finales.

3. Resultados y Discusión.

3.1 Principales compuestos encontrados

Se detectaron un gran número de compuestos orgánicos volátiles y fueron identificados en base a su espectro de masas y la base de datos espectral NIST (NIST 02). La Tabla 2 resume la fórmula química, peso molecular, el número de identificación CAS, los iones más abundantes de los espectros de masa, el tiempo de retención y los coeficientes de partición octanol/aire de los compuestos orgánicos volátiles detectados en el RSU.

Tabla 2. Características de los principales VOCs encontrados en los Twisters©.

Compuesto	t_r (min)	CAS Number	Fórmula	Mass	Log K_{oa}
3-Carene	12, 62	005989-27-5	$C_{10}H_{16}$	68, 93, 136	4,26
D-Limonene	13, 80	005989-27-5	$C_{10}H_{16}$	68, 93, 136	4,26
Butanedioic Acid, Diethyl Ester	18,75	000123-25-1	$C_8H_{14}O_4$	129, 101	5,87
Octanoic Acid (Caprylic acid)	19,06	000124-07-2	$C_8H_{16}O_2$	115,101, 73, 60	7,59
N-Decanoic Acid (Capric acid)	24,16	000334-48-5	$C_{10}H_{20}O_2$	129, 60, 71	8,35
Naphthalene	27,00	004630-07-3	$C_{15}H_{24}$	204, 106	4,85
Butylated Hydroxytoluene	27,45	000128-37-0	$C_{15}H_{24}O$	220, 205	8,87
Tetradecanoic Acid (Myristic acid)	33,17	000544-63-8	$C_{14}H_{28}O_2$	228, 185, 129	10,88
2-Propanol, 1-Chloro-, Phosphate	33,95	013674-84-5	$C_9H_{18}Cl_3O4P$	277, 157, 125	8,20
Bis(1-Chloro-2-Propyl)(3-Chloro-1-Propyl) Phosphate	34,27	137909-40-1	$C_9H_{18}Cl_3O_4P$	277, 157, 139	--
Pentadecanoic Acid	35,19	001002-84-2	$C_{15}H_{30}O_2$	242, 199, 129	9,52
1,2-Benzenedicarboxylic Acid,	35,27	000084-69-5	C16H22O4	149, 223	8,41
Hexadecanoic Acid (Palmitic acid)	37,15	000057-10-3	C16H32O2	256, 213, 129	10,26
Oleic Acid	40,39	000112-80-1	C18H34O2	264, 97, 83	10,38
Octadecanoic Acid (Stearic acid)	40,86	000057-11-4	C18H36O2	284, 241, 185	12,94

log K_{oa} = Log. del coeficiente de partición Octanol-Aire (25ºC, KOAWIN v1.10).

En este sentido, el butil hidroxitolueno (BHT) se ha utilizado (IARC, 1986) para estabilizar la frescura, valor nutritivo, sabor y color de los productos de alimentación (JECFA, 1996). Además, la durabilidad del caucho, elastómeros y plásticos se incrementa por el uso de BHT (Sherwin-Williams, 1992). La presencia de los terpenos como el limoneno pueden ser debido a la presencia de residuos de frutas y vegetales (Staley y col., 2006). También han sido encontrados retardadores de llama organofosforados (Hartmann et al., 2004), empleados como plastificantes y aditivos retardantes de llama en la industria textil y barnices (Andresen et al., 2004).

3.2 Optimización de las condiciones analíticas para los COV emitidos por los RSU

Entre los varios parámetros se piensa que afectan a la eficacia de desorción de compuestos orgánicos volátiles por en el Twister© se eligieron, por trabajos previos (Giráldez et al., 2013): temperatura de desorción y temperatura en el inyector de PTV como los más importantes. El área del pico de los iones extraídos (m/z) de cada compuesto fue seleccionado como la respuesta experimental. Las estimaciones de los coeficientes del modelo y los parámetros de estadística (R2, P y F) se calcularon mediante regresión polinómica (Tabla 3). De acuerdo con la metodología propuesta, sólo se muestran los términos con coeficientes estadísticamente significativos.

La Tabla 3 muestra que para cada compuesto, independientemente del ión m/z, las variables independientes que confirman su influencia presentan una influencia similar en la ecuación de respuesta. Se observa que cada compuesto tiene una respuesta distinta a las variables seleccionadas, por ello, los diferentes modelos se analizaron con superficies de respuestas (se ha realizado para las ecuaciones encontradas como más significativas, Figuras 1-3).

Tabla 3. Ecuaciones encontradas para cada compuesto y la masa como una función de las variables independientes (valores normalizados).

Compuesto	Masa	Ecuación obtenida	R2	p	F
3-Carene	67	Area= 71439 + 614523 $TDES^2$	0,881	0,002	29,332
Limonene	136	Area = 47680.1+22419.7 TDES -38428 TCIS-17051.0 TDES TCIS	0,892	0,000	45,338
Naphthalene	204	Area = 89693 -162140 TCIS + 32593 $TDES^2$ + 130946 $TCIS^2$	0,904	0,000	38,896

Una alta influencia de TDES se encuentran en 3-careno (Figura 1) área obtenida durante los experimentos. De esta forma, una baja señal, por lo tanto, menores cantidades de este compuesto han sido desorbidas ante valores medios de TDES (250ºC). Los valores más altos se obtienen bajo altos (300ºC) o bajos valores (200ºC) de TDES.

Como puede verse en la Figura 2, TDES es la variable que más influye (positivamente) en el área obtenida para limoneno. Sin embargo, se ha encontrado una baja influencia de este parámetro ante valores altos de TCIS. El parámetro TCIS influye positivamente ante valores bajos de TDES pero negativamente ante valores altos de este último parámetro. Por lo tanto, los valores máximos de área obtenidas se encuentran para valores de TDES altos (300ºC) y TCIS bajos (-20ºC).

Como puede verse en la Figura 3, el área obtenida para naftaleno fue mucho más sensible a cambios en TCIS que en la otra variable independiente. En este caso, un valor bajo TCIS produce un valor mucho más alto en el área obtenida a los obtenidos por el uso de valores TCIS medio o alto. Por otra parte, se ha encontrado una influencia cuadrática aunque baja para TDES. Para obtener el área máxima es recomendable utilizar valores bajos de TCIS (-20ºC) y altos (300ºC) o bajos (200ºC) para TDES.

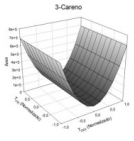


Figura 1. Evolución del área obtenida para el 3-careno.

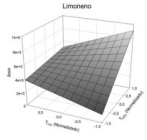


Figura 2. Evolución del área obtenida para el Limoneno.

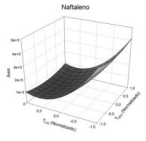


Figura 3. Evolución del área obtenida para el Naftaleno.

4. Conclusiones.

Entre los compuestos volátiles emitidos por los residuos sólidos urbanos, 15 componentes fueron identificados por SBSE-TD-GC-MS. Los principales compuestos identificados en las muestras son terpenos, ácidos grasos saturados, compuestos antioxidantes y retardantes de llama organofosforados de los plásticos.

Con el fin de establecer una única condición que podría ser útil para obtener la máxima extracción de las muestras para la determinación de todos los analitos por Twister© (máxima área en el cromatograma), los valores de TDES de trabajo debe ser de 300ºC y TCIS debe fijarse en -20ºC. Estando previamente fijados y optimizados t en 3 min, y F en 50 ml min^{-1}.

5. Bibliografía.

Andresen, J.A., Grundmann, A., Bester, K., 2004. Organophosphorus flame retardants and plasticisers in surface waters, Sci. Total Env., 332 (1-3), 155-166.

Baltussen, E., Sandra, P., David, F., Cramers, C., 1999. Stir bar sorptive extraction, (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles, J. Microcolumn, 11 (10), 737-747.

Harper, M., 2000. Sorbent trapping of volatile organic compounds from air, J. Chromatogr. A, 885 (1-2), 129-151.

Hartmann, P., Burgi, G., Giger, W., 2004. Organophosphate flame retardants and plasticizers in indoor air. Chemosphere, 57 (3), 781-789.

Koziel, J.A., Lingshuan, C., Anh, T.N., Yi, L., Hongwei, X., 2005. Identification and prioritization of poultry manure odours using SPME multidimensional GC-MS-olfactometry system: Implications for odour control, Animal Agriculture and Processing: Manag.Environ. Impacts, 1, 13-20.

Sherwin-Williams, Company 1992. BHT: the versatile antioxidant of today and tomorrow (Bull. A O-12), Cleveland, OH.

Staley, B.F., Xu, F., Cowie, S.J., Barlaz, M.A., Hater, G.R., 2006. Release of trace organic compounds during the decomposition of municipal solid waste components, Environ. Sci. Technol., 40 (19), 5984-5991.

Woolfenden, E., 1997. Monitoring VOCs in air using sorbent tubes followed by thermal desorption-capillary GC analysis: Summary of data and practical guidelines, J. Air Waste Manage. Assoc., 47 (1), 20-36.

6. Agradecimientos.

Los autores agradecen la financiación de este trabajo de la Consejería andaluza de Economía, Innovación, Ciencia y Empleo (Proyecto RNM 2323) y al Ministerio de Economía y Competitividad (Programa Nacional para la Investigación Retos de la Sociedad, CTQ2013-46804-C2-1-R).

EVALUACIÓN DEL PRETRATAMIENTO CON MICROONDAS EN LODOS DE EDAR PARA SU DIGESTIÓN ANAEROBIA

Aida Gil, Mª Carmen Gutiérrez, José Ángel Siles, Arturo F. Chica y Mª Ángeles Martín

Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química, Área de Ingeniería Química, Universidad de Córdoba. Campus Universitario de Rabanales, edificio Marie Curie (C-3), planta baja. Ctra. N-IV, km 396, 14071 Córdoba, España. Teléfono: +34 957212273; Fax: +34 957218625; E-mail: afchica@uco.es.

Resumen: Un residuo que supone un problema para la salud y el medio ambiente, además de ser generado en todas las poblaciones del mundo que poseen una planta de tratamiento de aguas residuales, es el lodo de depuradora, cuya gestión supone aproximadamente un 50% del coste total de operación de la planta. Una técnica interesante para su gestión y tratamiento es la digestión anaerobia, aunque tiene baja biodegradabilidad y bajo rendimiento en la producción de metano. El pretratamiento con microondas permite la mejora de la biodegradabilidad del lodo de depuradora. En este estudio, a escala de laboratorio, se ha llevado a cabo la digestión anaerobia en condiciones mesófilas y en semicontinuo de lodo pretratado y de lodo sin pretratar (o lodo control). En la biometanización de los mismos fueron comparadas la VCO (Velocidad de Carga Orgánica), biodegradabilidad y producción de metano. Las condiciones del pretratamiento con microondas fueron de 20.000 J/g ST y 700 W. Se produjo una mejora de la biodegradabilidad del 27 % así como un incremento en la velocidad de producción de metano de un 20 % en el caso del lodo pretratado con microondas.

Palabras clave: Digestión Anaerobia, Pretratamiento, Microondas, Lodo EDAR

1. Introducción.

El tratamiento de las aguas residuales urbanas genera grandes cantidades de lodos, de hecho se estima que se generan unos 10 millones de toneladas de lodo, en materia seca, anualmente en la Unión Europa (Kuglarz y col., 2013; Tyagi y col, 2011). Estos tienen que ser tratados adecuadamente ya que suponen un problema para el medio ambiente debido a su contenido en materia orgánica, metales pesados y patógenos. La gestión de estos lodos puede suponer el 50% del coste de operación de la planta de tratamiento, dependiendo del volumen de lodos a tratar y del contenido en agua que presenten (McLeod y col., 2015; Appels y col., 2008). La digestión anaerobia es una de las principales técnicas empleadas para el tratamiento de los lodos de depuradora, siendo una tecnología ampliamente utilizada, ya que es viable para estabilizar y tratar los lodos excedentes de plantas de tratamiento de aguas residuales y otros residuos orgánicos (Iacovidou y col., 2012).

Sin embargo, debido a la naturaleza de estos residuos, presentan una baja biodisponibilidad y/o biodegradabilidad (Carlsson y col., 2012; Parkin y Owen, 1986). Los lodos de depuradora son una mezcla de microorganismos, compuestos orgánicos e inorgánicos que se adhieren junto con las sustancias poliméricas extracelulares que llegan a ser resistentes a la digestión anaerobia (Koupaie y Eskicioglu, 2016; Park y Ahn, 2011).

El pretratamiento con microondas es una alternativa al método convencional de pretratamiento térmico y puede ser aplicado al tratamiento del lodo (Appels y col., 2013; Mudhoo y Sharma, 2011). El microondas produce un rápido calentamiento, destrucción de patógenos y es fácil de controlar; el tiempo de radiación, potencia y profundidad de penetración son los principales factores de la irradiación por microondas (Hong y col., 2004).

El objetivo de este trabajo es evaluar la mejora del proceso de digestión anaerobia, en modo semicontinuo, a través del estudio comparativo sobre el efecto que el pretratamiento del lodo tiene sobre la producción de metano.

2. Material y Métodos.

El seguimiento de la digestión anaerobia se realizó en el licor de mezcla, además de en el lodo de EDAR antes y después del pretratamiento. Las variables analíticas fueron: demanda química de oxígeno (DQO, g O_2/kg), sólidos totales (ST, g/kg), sólidos minerales (SM, g/kg), sólidos volátiles (SV, g/kg), alcalinidad (Alc, mg $CaCO_3$/L) y nitrógeno amoniacal ($N\text{-}NH_4^+$, mg/kg). La demanda química de oxígeno soluble (DQO_S, g O_2/kg), pH y conductividad (mS/cm) también fueron analizados sobre la fracción soluble del sustrato.

En la fracción soluble se determinaron carbono orgánico total (COT, mg/L) y nitrógeno soluble (Ns, mg/L). Ambas variables fueron determinadas utilizando un Shimadzu TOC-VCPH de combustión / analizador de infrarrojos no dispersivo. El espectro de ácidos orgánicos volátiles (AOV; ácido acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico y caproico) fue determinado con un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard HP-5890 con detector de ionización de llama y columna capilar de Nukol-silice de SUPELCO de 15 m y 0,53 mm de I.D. con una película de 0,5 μm de espesor. La temperatura del horno se programó de 100 a 150ªC con un gradiente de 4ºC/minuto. Se ha utilizado como gas portador Helio (28,6 kPa) con un flujo de 50 mL/min. Hidrógeno (14.3 kPa) y aire (28.6 kPa) se utilizaron para la ignición de la llama.

Todos los análisis fueron realizados de acuerdo con Standard Methods de APHA (1989). y según el test propuesto por Thompson y col. (2001) por US Department of Agriculture and the US Composting Council.

El lodo de depuradora y el inóculo anaerobio proceden de la EDAR EL COPERO (Sevilla). Las aguas residuales tratadas en esta planta son entre el 85-90% de procedencia urbana. Esta planta genera anualmente en torno a 500 toneladas de lodo en base seca, compuesto por lodo primario y secundario.

El pretratamiento se llevó a cabo en un sistema de microondas discontinuo a escala piloto, trabajando con alícuotas de 100 g de lodo en recipientes abiertos. Las condiciones de operación se fijaron en una potencia de 700 W, aplicándose una energía específica de 20.000 J/g ST. Estas condiciones de trabajo fueron fijadas como resultado de un estudio previo llevado a cabo por el grupo de investigación (Serrano y col., 2016).

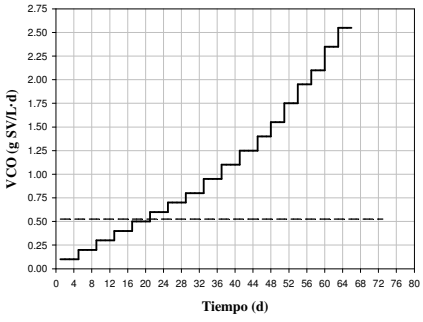


Figura 1. Programación experimental para la VCO.

El proceso de digestión anaerobia se llevó a cabo en 4 reactores Pyrex de 1L de volumen útil, mezcla completa, que operan en condiciones mesófilas de temperatura (35ºC) y en semicontinuo.

Los ensayos transcurrieron para el lodo y el lodo tratado con velocidades de carga orgánica (VCO) de 0,10 a 2,55 g SV/L·d. La figura 1 muestra las progresivas VCO ensayadas experimentalmente así como la referencia a la que opera la planta de origen (0,50 g SV/L). Cada VCO se ensayó por quintuplicado, conduciendo a un tiempo total de experimentación de 90 días.

El software utilizado para la elaboración de las figuras, la realización del análisis estadístico y los ajustes de los datos experimentales fue Sigma-Plot (versión 11.0).

3. Resultados y Discusión.

El proceso de digestión anaerobia de ambos lodos (lodo sin pretratar y lodo microondado) se ha considerado estable. Las variables de seguimiento para la estabilidad han sido el pH, conductividad, AV y Alc.

El contenido en ácidos volátiles representa una variable importante de operación y control de la digestión anaerobia. El ácido volátil más importante con respecto a la formación del metano durante la digestión anaerobia es el ácido acético (Fannin, 1987). En la figura 2A se muestra la relación ácido acético/COT (mg C-C_2/mg C-COT) con respecto a la VCO para ambos lodos. Puede observarse cómo la relación es mayor en el caso del lodo pretratado con microondas, siendo un 50% mayor inicialmente para el lodo microondado y disminuyendo esta diferencia al incrementarse la VCO. Esto es debido a la mayor concentración de materia carbonosa soluble debida al pretratamiento. No obstante, el hecho de que a medida que transcurren los experimentos la relación ácido acético/COT se unifique, indica que los digestores se adaptan perfectamente a la carga de ácidos que se les aporta, degradándola en la misma proporción que en el lodo control. Estos resultados están relacionados con lo estudiado por otros autores, los cuales han puesto de manifiesto un mayor contenido en ácidos de cadena corta, a lo largo del proceso de digestión anaerobia en los sustratos de lodo pretratado con respecto del control (Serrano y col., 2016; Appels y col., 2013)

A) **B**)

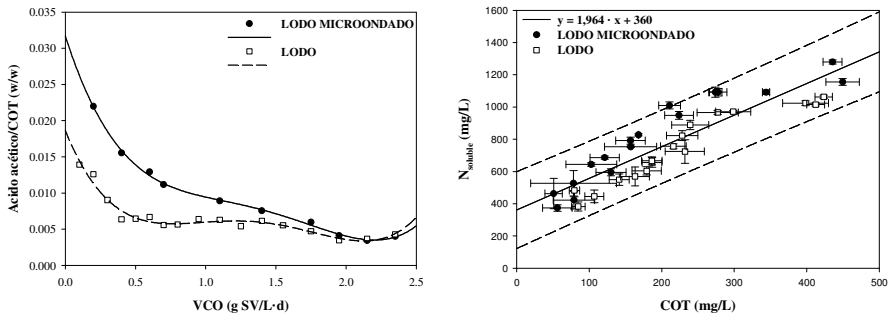


Figura 2. **A**. Evolución de la relación ácido acético/COT en función de VCO. **B.** Relación entre el nitrógeno y carbono solubles durante la biometanización de lodo y lodo pretratado.

El seguimiento del nitrógeno soluble, permite observar si se ha producido una diferenciación en el nitrógeno disponible en el licor de mezcla. Ya que se parte del mismo sustrato, la variación en su contenido puede ser debida al efecto del pretratamiento.

A lo largo de la experimentación, el contenido en nitrógeno soluble presente en el licor de mezcla ha sido proporcional a los SV no biodegradados, al igual que lo ha sido el COT, sin observarse diferencias significativas entre ambos lodos. En la figura 2B se puede observar cómo existe una correlación entre el N soluble y el COT, con un factor de proporcionalidad de 1,96 mg N/mg C. En el licor de mezcla aparece mayor contenido de nitrógeno que de C debido a que el carbono soluble al biodegradarse pasa a formar parte del biogás como CH_4 o CO_2, quedando el nitrógeno en forma de nitrógeno amoniacal en el medio reductor, que la digestión anaerobia aporta. Además, aunque el contenido en COT no biodegradado es similar para ambos lodos para una misma VCO, el correspondiente al N soluble es ligeramente mayor en el caso del lodo

microondado. El hecho de que se acumule más nitrógeno podría ser perjudicial, pero teniendo en cuenta que las concentraciones oscilan entre 373 y 1.280 mg/L, no se han considerado problemáticas, ya que como se indica en bibliografía es a partir de valores superiores a 1.700 mg/L cuando comienza a afectarse la actividad de los microorganismos (Chen y col., 2008).

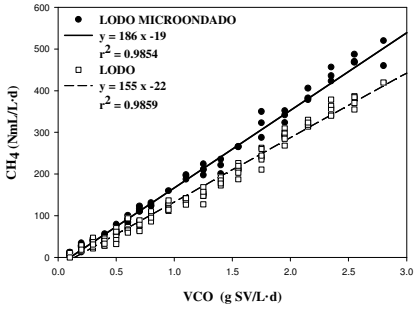


Figura 3. Evolución de la velocidad media diaria de producción de metano durante la biometanización de lodo y lodo tratado, en función de VCO.

Finalmente, en el rango de VCO evaluado, la diferencia en la producción de metano como consecuencia de la aplicación del pretratamiento con microondas queda de manifiesto en la figura 3. En esta figura se recogen los valores de la velocidad media de producción de metano para ambos lodos, alimentando los reactores en semicontinuo. En el rango de VCO evaluado, la velocidad de producción de metano es mayor para el lodo microondado. Se han obtenido los rendimientos en metano de la regresión lineal entre los pares de datos de velocidad de producción de metano y VCO, obteniéndose valores de 186 y 155 mL CH_4/g SV para lodo tratado y lodo respectivamente, lo que corresponde a un incremento del 20% en la producción de metano. Dichos valores corresponden paralelamente con un aumento en la biodegradabilidad que pasa del 55 % al 70%, porcentaje en peso de SV, al pretratar el lodo.

4. Conclusiones.

La digestión anaerobia en semicontinuo del lodo microondado a 20.000 J/g ST y 700W aumenta la capacidad de gestión del lodo de EDAR al aumentar su biodegradabilidad, conduciendo a un incremento del 20 % en el coeficiente de rendimiento en metano. Para una VCO entre 0,10 y 2,55 g SV/L·d se han obtenido 154 y 186 mLCH_4/g VS, para el lodo microondado y lodo control respectivamente. Adicionalmente, los resultados obtenidos corroboran que es posible operar a VCO mucho más elevadas que 0,5 g SV/L·d (valor de operación en planta real) en condiciones estables, tanto para el lodo control como para el lodo pretratado.

5. Bibliografía.

APHA, 1989. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 17thEdition. American Public Health Association, Washington DC, USA.

Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J., Dewil, R., 2008. Principles and potencial of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. Progress in Energy and Combustion Science. 34 (6), 755-781.

Appels, L., Houtmeyers, S., Degrève, J., Impe, J.V., Dewil, R., 2013. Influence of microwave pre-treatment on sludge solubilization and pilot scale semi-continuous anaerobic digestion. Bioresource Technology. 128, 598-603.

Carlsson, M., Lagerkvist, A., Morgan-Sagastume, F., 2012. The effects or substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: A review. Waste Management. 32, 1634-1650.

Chen, Y., Chen, J.J., Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. Bioresource Technology., 99, 4044-4064.

Fannin, K.F. 1987. Start-up, operation, stability, and control. In: Chynoweth DP, Isaacson R, editors. Anaerobic digestion of biomass. London, UK: Elsevier; 1987. pp.171-196

Hong, S.m., Park, J.K., Lee, Y.O., 2004. Mechanisms of microwave irradiation involved in the destruction of fecal coliform from biosolids. Water Research. 38, 1615-1625.

Iacovidou, E., Ohandja, D.G.,&Voulvoulis,N., 2012. Food waste codigestion with sewage sludge-realising its potential in the UK. Journal of Environmental Management, 112, 267–274.

Koupaie, E.H., Eskicioglu, C:, 2016. Conventional heating vs. microwave sludge pretreatment comparison under identical heating/cooling profiles for thermophilic advanced anaerobic digestion. Waste Management. 53, 182-195.

Kuglarz, M., Karakashev, D., Angelidaki, I., 2013. Microwave and thermal pretreatment as methods for increasing the biogas potential of secondary sludge from municipal wastewater treatment plants. Bioresource Technology. 134, 290-297.

McLeod J.D., Othman M.Z., Beale DJ, Joshi D., 2015. The use of laboratory scale reactors to predict sensitivity to changes in operating conditions for full-scale anaerobic digestion treating municipal sewage sludge. Bioresource Technology. 189, 384-390.

Mudhoo, A., Sharma, S.K., 2011. Microwave irradiation technology in waste sludge and wastewater treatment research. Critical Reviews in Environmental Science and Technology. 41, 999-1066.

Park, W-J., Ahn, J-H., 2011. Effects of microwave pretreatment on mesophilic anaerobic digestion for mixture of primary and secondary sludges compared with thermal pretreatment. Environmental Engineering Research. 16 (2), 103-109.

Parkin, G., Owen, W.F., 1986. Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges. Journal of Environmental Engineering. 112 (5), 867-920.

Serrano, A., Siles, J.A., Martín, M.A., Chica, A.F., Estévez-Pastor, F.S., Toro-Bapista, E. 2016. Improvement of anaerobic digestion of sewage sludge through microwave pre-treatment. Journal of Environmental Management. 177, 231-239.

Thompson, W.H., Leege, P.B., Millner, P.D., Watson, M.E., 2001. Test Methods for the Examination of Composting and Compost. US Composting Council, Bethesda.

Tyagi, V.K., Lo, S.-L., 2011. Application of physico-chemical pretreatment methods to enhance the sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: an up to date review. Reviews in Environmental Science and Biotechnology. 10, 215–242.

6. Agradecimientos.

Al Ministerio de Economía y Competitividad de España (proyecto CTQ2014-60050-R), al Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (Beca FPU2013) y a la Junta de Andalucía. Expresamente resaltar el interés y apoyo de EMASESA S.A. sin la cual está investigación no hubiera sido posible. Y el agradecimiento a Inmaculada Bellido Padillo y María Luisa López por su contribución a esta investigación.

GESTIÓN SOSTENIBLE DE LODOS DE AGUAS RESIDUALES EN MUNICIPIOS DE TAMAÑO REDUCIDO: SAN AGUSTÍN (TERUEL) CASO DE ESTUDIO

Laura Lara[*], Concepción Paredes[1], Raquel Barrena[2], Antoni Sánchez[2]

[1]Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández EPS-Orihuela, Ctra. Beniel km. 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)
[2] Departamento de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental, Universitat Autònoma de Barcelona. Escola d'Enginyeria, 08193-Bellaterra (Barcelona)
[*]Estudiante del Máster Universitario en Gestión, Tratamiento y Valorización de Residuos Orgánicos. Universidad Miguel Hernández
Correo electrónico: laura.lara.martin@gmail.com, c.paredes@umh.es,

Resumen: Teruel es una provincia caracterizada por una gran cantidad de municipios de muy escasa población, más de un tercio de los municipios no llega a los 100 habitantes censados y el 80% tiene menos de 500 habitantes. Muchos de estos municipios tienen importantes fluctuaciones estacionales de población, que dificultan su gestión de residuos, especialmente el caso de los lodos que quedan tras el proceso de depuración de aguas de origen urbano. En los territorios rurales estas aguas se suelen almacenar en fosas sépticas o balsas de decantación, las cuales generalmente son vaciadas por un gestor autorizado. Este trabajo pretende realizar una evaluación preliminar de las posibles alternativas a la gestión actual, tales como el empleo de los lodos residuales para la producción de biogás o como enmienda orgánica. Con este objetivo se evaluó el potencial de biodegradabilidad aerobia y anaerobia de diferentes muestras de lodos fecales del municipio turolense de San Agustín. Para llevar a cabo este estudio se determinaron en los lodos parámetros como pH, conductividad eléctrica, sólidos totales y volátiles y DQO. También, se realizó una respirometría dinámica del lodo y un test de biodegradabilidad anaerobia, sometiendo posteriormente el digestato final a una estabilización aerobia. Por último, se hizo un test de germinación para conocer la capacidad fitotóxica del residuo final obtenido tras todo el proceso. Los resultados obtenidos mostraron que el empleo de la digestión anaerobia como método de tratamiento de los lodos fecales es una opción para su valorización energética. Sin embargo, los digestatos obtenidos deberán de sufrir un tratamiento posterior antes de su uso agrícola. Estos digestatos mostraron una menor degradabilidad y fitotoxicidad que los lodos sin tratar, pero no se alcanzaron los valores del test de germinación establecidos en la bibliografía para su empleo como enmiendas orgánicas. También, serán necesarios estudios posteriores sobre el contenido de macronutrientes o la calidad y cantidad de materia orgánica, para establecer una dosificación agrícola racional del digestato obtenido.

Palabras clave: lodo séptico, lodo fecal, digestión anaerobia, respirometría, fitotoxicidad

1. Introducción

Aragón es una comunidad autónoma con una estructura territorial muy polarizada entre una gran urbe como es Zaragoza, que concentra más de la mitad de la población de la región (50,46%), y un inmenso medio rural compuesto por 672 municipios (IAEST, 2016). Se trata, por tanto, de un territorio con un poblamiento muy disperso, baja densidad de población y graves problemas de despoblación. Esta estructura territorial ha influido en la gestión de las aguas residuales domésticas, ya que solo las zonas más pobladas de Aragón, así como en las áreas altamente turísticas y/o industrializadas del valle del Ebro disponen de estaciones depuradoras de aguas residuales urbanas (Gobierno de Aragón, 2009). Sin embargo, en aquellos municipios con poca población, como es el caso de San Agustín (Gúdar-Javalambre, Teruel) con una población de apenas 140 habitantes, las aguas residuales son vertidas en fosas sépticas, cuyos lodos generados son eliminados por gestores externos privados, suponiendo un gran desembolso para las arcas municipales.

Se han encontrado diferentes estudios sobre el tratamiento y la valorización de los lodos fecales. Estos residuos han sido comúnmente aprovechados como enmiendas y fertilizantes orgánicos del suelo, debido a su contenido en nutrientes esenciales para las plantas y materia orgánica que aumenta la capacidad de los suelos de retener el agua (Cofie y col., 2005). Sin

embargo, también existen otras opciones de tratamiento como el compostaje (Koné y col., 2007), el vermicompostaje (Alidade y col., 2005) y la digestión anaeróbica para la producción de biogás (Sánchez y col., 2014). Además, existen iniciativas innovadoras que están desarrollando otros productos, como materiales de construcción (Rodríguez y col., 2011) o proteína en la forma de las larvas de la mosca Hermetia illucens (Nguyen, 2010).

Por lo tanto, basándose en las consideraciones mencionadas anteriormente, el objetivo principal de este trabajo fue evaluar posibles alternativas a la gestión actual de los lodos provenientes de fosas sépticas en municipios rurales tales como, la digestión anaerobia y estabilización aerobia; así como, conocer el estado de estabilización del digestato obtenido, a partir de la evaluación de su fitotoxicidad.

2. Material y métodos

El diseño experimental se basó en el desarrollo preliminar de opciones de tratamiento que pudieran realizarse en un hipotético futuro, estableciéndose dos líneas de tratamiento (Figura 1), divididas en varias fases: una primera línea, en la que se establece un tratamiento anaerobio y una segunda línea de estabilización aerobia.

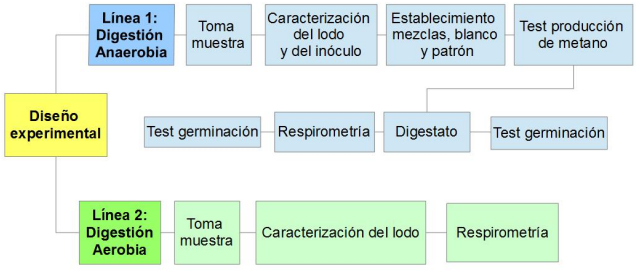


Figura 1. Esquema del diseño experimental. Fuente: Elaboración propia.

Los lodos empleados en este trabajo se tomaron de la 1ª cámara de la fosa séptica, donde se produce en mayor medida los procesos de sedimentación, digestión y almacenamiento de los sólidos en suspensión del agua residual. El inóculo empleado para la digestión anaerobia fue fango de recirculación de la EDAR Riu Sec (Sabadell), que se incubó a 37ºC durante cuatro días para reducir el material orgánico biodegradable residual presente en él (Angelidaki y col., 2009). En la Tabla 1 se muestran las principales características de los materiales de partida empleados, determinadas siguiendo los métodos de análisis descritos por Barrena (2006).

Tabla 1. Principales características de los lodos e inóculo empleados.

Parámetros	Lodo 1	Lodo 2	Inóculo
pH	7,5	7,5	6,97
Conductividad (µS/cm)	Extracto (1:10): 323 Directa: 2400	Extracto (1:10): 408,6 Directa: 1901	Directa: 9570
Sólidos Totales (%)	13,24 ± 0,23	11,95 ± 0,39	2,03± 0,01
Sólidos Volátiles (%)	72,03 ± 1,50	64,42 ± 0,85	74,10 ± 0,19
Humedad (%)	86,76 ± 0,23	88,05 ± 0,39	97,98 ± 0,01
Densidad (g/l)	1033,33 ± 2,05	-	998,08 ± 1,14
DQO (mg/l)	4290 ± 8,63	-	-
Alcalinidad (g $CaCO_3$/l)	-	AT: 0,729 AP: 0,343 AI: 0,386	-

DQO: demanda química de oxígeno; AT: alcalinidad total; AP: alcalinidad parcial; AI: alcalinidad intermedia

Para el test anaerobio se utilizaron botellas metálicas de 1 l, realizándose tres réplicas por ensayo. Una vez cerradas se les inyectó nitrógeno gas para desplazar el oxígeno existente en las mismas, asegurando las condiciones anaerobias necesarias para el test, dejándolas sin presión al

inicio del test, e incubándolas a 37ºC hasta la finalización del mismo. La medida de presión de cada una de las botellas se registró a diario y en algunas de estas mediciones también se determinó el porcentaje de metano en el biogás por cromatografía de gases. Una vez obtenidos los valores de biogás producido, equivalente a la presión medida para cada botella, se calculó el biogás acumulado para cada día, con el propósito de conocer el biogás total producido durante todo el ensayo.

El digestato obtenido se sometió a una respirometría para conocer su grado de biodegradabilidad, teniendo en cuenta los indicadores IRD (Índice Respirométrico Dinámico), basado en la velocidad de consumo de oxígeno y el AT_4, que muestra el consumo acumulado de oxígeno en un tiempo de 4 días. El digestato se centrifugó a 9.000 rpm durante 15 minutos y para cada réplica se usaron 90 g de muestra y 10 g de estructurante (trozos de bayeta de 4x2 cm). El ensayo respirométrico se realizó a temperatura constante de 37 ºC y a un caudal constante de 20 ml/min, que mantuvo el nivel de oxígeno en rangos adecuados para el desarrollo del proceso. La duración del ensayo fue de 4 días.

Por último, se evaluó su fitotoxicidad a través de un test de germinación del digestato tanto antes de la respirometría, es decir, tras la digestión anaerobia, como después de la respirometría para conocer si el digestato necesitaba alguna estabilización previa a su empleo agrícola. Para ello se utilizaron semillas de “pepino Ashley” y “rabanito medio-largo rojo punta blanca-cumbre” (Barrena y col., 2009).

Para la segunda línea de tratamiento de digestión aerobia, en la respirometría no se realizó ningún centrifugado al lodo, al tratarse de muestra fresca y no ser muy líquida, aunque fue necesario la adición de un agente estructurante (trozos de bayeta de 4x2 cm) para darle porosidad. El ensayo se realizó por triplicado y se operó de la misma manera que anteriormente se ha descrito para el digestato.

3. Resultados y discusión

En la Figura 1 se presenta el volumen acumulado de biogás producido en cada ensayo, expresándose el valor medio de las réplicas en l biogás/kg SV, habiéndoles restado el valor del blanco. A pesar de que, para cada relación, cada una de las réplicas siguió una evolución diferente, como muestran las barras de error entre los 20 y los 40 días de proceso, al final del proceso todas llegaron al mismo punto, produciendo la misma cantidad de biogás acumulado. El valor global de producción media de biogás entre ambas relaciones fue de 535 ± 10 l biogás/ kg SV, con un contenido de metano de 77,98 ± 0,30 %. Al comparar los valores obtenidos para nuestra muestra, con los valores de producción de otros residuos orgánicos se observa que los valores son semejantes a los de otros lodos (Sánchez y col., 2014) y superior al de otras deyecciones que provienen de animales cuyos valores oscilan entre 220 l biogás/kg SV (terneros y vacas) y los 450 l biogás/kg SV en el caso de las gallinas (Elías, 2005). Por tanto, estos resultados indican que la muestra tiene suficiente potencial para degradarse anaeróbicamente.

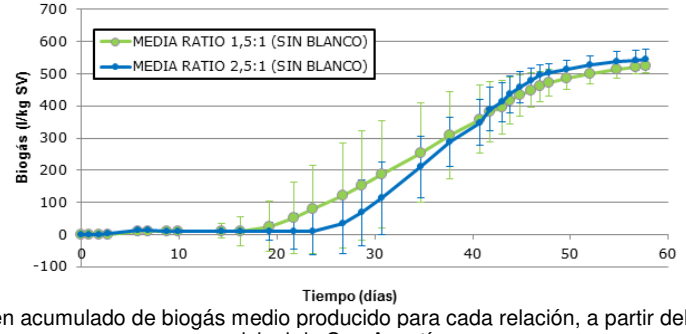


Figura 1 Volumen acumulado de biogás medio producido para cada relación, a partir del lodo séptico municipal de San Agustín.

Los valores de IRD (MO) obtenidos (4,4 ± 0,3 g O_2 kg^{-1}MO h^{-1}) y AT_4 (MO) (317 ± 29 g O_2 kg^{-1}MO) para muestra fresca indican que el lodo de San Agustín se caracterizó por presentar biodegradabilidad moderada-alta (Sánchez y col., 2014), situando dicho potencial del lodo séptico entre el de lodos frescos y lodos digeridos (Sánchez y col., 2014). Además, estos valores

indicaron también que el material fresco no era estable, al presentar un pico de consumo sobre las 10h, manteniéndose elevado durante todo el ensayo, lo que indicó que era necesario un tratamiento previo a su disposición final (datos no mostrados). Sin embargo, en el caso del digestato el IRD se redujo en un 75% y el AT_4 en un 74%. A pesar de ello, el IRD fue ligeramente superior de 1 mg g O_2 kg^{-1}MO h^{-1}, reconocido como límite de estabilidad para métodos respirométricos dinámicos (Barrena, 2006). Aunque este valor se encuentra en el límite, y podría considerarse prácticamente un material estable, sería conveniente alargar la fase de degradación porque aún puede contener materia orgánica susceptible de degradarse biológicamente.

Por otra parte, la Tabla 2 muestra que el índice de germinación (IG) del digestato tras la digestión anaerobia es prácticamente 0%, tanto para el pepino como para el rábano, lo que indica la presencia de sustancia fitotóxicas, haciéndose patente la necesidad de someter el digestato a un tratamiento adicional de estabilización. Tras realizar una respirometría, el IG aumentó considerablemente, produciéndose la germinación de más del 90% de las semillas, cuyo crecimiento, sin embargo, no fue adecuado. En ningún caso, el IG superó el 50%, lo que indicó una fuerte presencia de sustancias fitotóxicas (Varnero y col., 2007). Para conseguir la estabilidad del digestato estudiado sería necesario alargar el tiempo de maduración del mismo durante el proceso de compostaje, ya que una respirometría de 4 días de duración no es suficiente para simular un proceso de degradación aerobia completa con su consiguiente etapa de maduración.

Tabla 2. Valores del índice de germinación (IG), porcentaje de germinación de semillas relativo (G) y porcentaje de elongación de raíz relativa (E).

Semilla	Antes de la respirometría			Después de la respirometría		
	%G	% E	%IG	%G	% E	%IG
Pepino	0	0	0	90,8 ± 7,9	22, 6 ± 2,4	20,4 ± 0,4
Rábano	2,3	2,4	0,1	90,7 ± 0,1	43,9 ± 0,6	39,8 ± 0,5

4. Conclusiones

De los resultados obtenidos se puede concluir que, el lodo residual procedente de la fosa séptica de San Agustín (Teruel), tiene suficiente potencial para degradarse tanto aeróbica como anaeróbicamente. La digestión anaerobia del lodo produjo un volumen similar de biogás al producido por otros lodos e incluso mayor que el producido por residuos ganaderos encontrado en otros trabajos. También, se observó que tanto el lodo fresco como el digestato son materiales con potencial de biodegradabilidad aerobia, siendo el lodo fresco un material más biodegradable e inestable que el digestato, tal y como se pudo observar en las respirometrías dinámicas realizadas. Finalmente, la estabilización aerobia del digestato redujo notablemente la fitotoxicidad de este material, pero no se alcanzaron los valores establecidos del test de germinación para la aplicación de este material al suelo sin producir efectos negativos sobre las plantas.

5. Bibliografía

Alidadi H., Parvaresh A.R., Shamansouri M.R., Pourmoghodas H., Najafpoor A.A., 2005. Combined compost and vermicomposting process in the bioconversion of sludge. *Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering* 2, 251-254.

Angelidaki I., Alves M., Bolzonella D., Borzacconi L., Campos J. L., Guwy A.J., Van Lier J. B., 2009. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science and Technology* 59(5), 927-934.

Barrena R., 2006. *Compostaje de residuos sólidos orgánicos. Aplicación de técnicas respirométricas en el seguimiento del proceso*. Tesis doctoral. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona.

Barrena R., Casals E., Colón J., Font X., Sánchez A., Puntes V., 2009. Evaluation of the ecotoxicity of model nanoparticles. *Chemosphere 75*(7), 850-857.

Cofie O.O., Kranjac-Berisavljevic G.,Drechsel P., 2005.The use of human waste for peri-urban agriculture in Northern Ghana. *Renewable Agriculture and Food Systems* 20(2), 73-80.

Elías X., 2005. *Tratamiento y valorización energética de residuos*. Madrid. Ediciones Díaz de Santos.

Gobierno de Aragón, 2009. Plan de Gestión Integral de Residuos 2009-2015. (Boletín Oficial de Aragón, nº 94, de 20 de mayo de 2009).

Instituto Aragonés de Estadística (IAEST), 2016. Estadística local de Aragón. En línea: http://www.aragon.es/DepartamentosOrganismosPublicos/Institutos/InstitutoAragonesEstadistica/AreasGenericas/ci.EstadisticaLocal.detalleDepartamento (fecha de consulta: 21/06/2016).

Koné D., Cofie O., Zurbrugg C., Gallizzi K., Moser D., Drescher S., Strauss M., 2007. Helminth eggs inactivation efficiency by faecal sludge dewatering and co-composting in tropical climates. *Water Research* 41(19), 4397-4402.

Nguyen H.D., 2010. *Decomposition of organic wastes and fecal sludge by black soldier fly larvae*. School of Environment, Resources and Development. Asian Institute of Technology, Thailand. 75pp.

Rodríguez N.H., Granados R.J., Blanco-Varela M.T., Cortina J.L., Martínez-Ramírez S., Marsal M., Guillem M., Puig J., Fos C., Larrotcha E., Flores J., 2011. Evaluation of a lime-mediated sewage sludge stabilisation process. Product characterisation and technological validation for its use in the cement industry. *Waste Management* 32(3), 550-60.

Sánchez A., Artola A., Barrena A., Dios M., García-Gil J.C., López R., Pérez-Murcia,M.D., Puig I., Soto M., Gea T., 2014. *De residuo a recurso. El camino hacia la sostenibilidad. I. Recursos orgánicos. 4. Residuos urbanos*. (Ed.) Moreno J., Moral R., García-Morales J.L., Pascual J.A., Bernal M.P. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 356 pp.

Varnero M. T., Rojas C., Orellana, R., 2007. Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal* 7(1), 28-37.

CARACTERIZACIÓN DEL ENDOCARPIO DE *Acrocomia aculeata* COMO SUSTRATO DE CULTIVOS

Regina León Ovelar[1], M. Elena Fernández-Boy[2], Heike Knicker[3]

[1]Laboratorio de Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Asunción, Campus de la UNA, 2169, San Lorenzo-Paraguay. [2]Departamento de Cristalografía, Mineralogía y QuímicaAgrícola, Universidad de Sevilla, Profesor García González nº 1, 41012, Sevilla. [3]Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC). Avenida Reina Mercedes, 10, 41012 Sevilla. rleon@ing.una.py

Resumen

Se ha estudiado el residuo de *Acrocomia aculeata* (coco paraguayo) para su uso potencial como sustrato y en enmiendas de suelos; se ha realizado la caracterización fisicoquímica de este residuo al natural y en forma pirolizada (Biochar) a tres temperaturas, 200º, 325º y 450ºC. El estudio se ha realizado con muestras molidas siendo el tamaño de partícula menor de 1 mm. El contenido de nitrógeno aumenta en los biochars respecto a la muestra cruda y entre los biochars aumenta al aumentar la temperatura, igual que ocurre con el P asimilable. Este aumento puede ser debido al incremento de compuestos heterociclos. Mediante el estudio de resonancia magnética nuclear en estado sólido se ha podido confirmar la presencia de lignina y celulosa en la muestra cruda. También se comprueba que después de una pirolisis a 200ºC o no hay cambios de composición o si los hay son tan sutiles que no se detectan. Los espectros de las muestras pirolizadas a 325 y 450ºC muestran cambios químicos significativos, las señales en los espectros indican degradación de la lignina y la celulosa. Con el análisis de las muestras mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido se han observado diferencias significativas en la morfología y tamaño de poros de la muestra cruda respecto a las pirolizadas. Las isotermas de adsorción obtenidas muestran el aumento del área superficial en las muestras pirolizadas.

Palabras claves: residuos, hidropónico, biochar, enmienda

1. Introducción.

La implementación de modos de cultivo alternativos (cultivo sin suelo o cultivo hidropónico) al cultivo tradicional en suelo se vuelve indispensable en zonas con déficit de agua, problemas de fertilidad de los suelos o cuando es necesario aumentar el rendimiento de productos de consumo básico como es el caso del tomate en Paraguay. En el Paraguay, el tomate es una de las hortalizas más consumidas y a su vez la más cultivada, principalmente porque la rentabilidad que se estima es de un 90%.La superficie total cultivada es de 800 a 1000 hectáreas, con un alto rendimiento. Sin embargo, la producción actual, sólo alcanza para abastecer el 45% del consumo nacional, el resto debe ser importado (Estigarribia G., 2012).

Esta investigación se basa en la caracterización física y química del endocarpio del fruto de *Acrocomia aculeata* con el objetivo de valorar su utilización como sustrato en alguna forma de cultivo alternativo. Para estudiar la factibilidad de su utilización como enmienda de suelos, se han obtenido biochars a distintas temperaturas. *A. aculeata* es una planta nativa de Paraguay que se comercializa por sus propiedades medicinales y el aceite de coco es bien cotizado en cosmética. El endocarpio del fruto es un residuo fácilmente disponible que actualmente tiene escaso o nulo aprovechamiento, mayoritariamente es utilizado como combustible en industrias.

2. Material y Métodos.

2.1. ***Muestras y obtención de sus biochars***

El residuo (endocarpio) de *Acrocomia aculeata* en estado natural o crudo estudiado proviene del Paraguay, originalmente posee un tamaño aproximado de 10 mm. Las muestras analizadas en este trabajo fueron molidas hasta obtener las granulometría fina (<1 mm).

El biochar proveniente del endocarpio se ha obtenido mediante pirolisis y diferentes temperaturas, las condiciones de pirolisis se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Condiciones de producción de los biochars de *Acrocomia aculeata*

Muestra	Temperatura de pirolisis (ºC)	Codificación	Tiempo de pirolisis (min)
Cruda	--	AC_f	--
Biochar 1	200	AC_f200	120
Biochar 2	325	AC_f325	120
Biochar 3	450	AC_f450	15

2.2. Caracterización fisicoquímica del endocarpio de A. aculeata.

2.2.1. Determinación del contenido de fosforo y Análisis Elemental

Para la determinación del P asimilable en las muestras, tanto cruda como biochars, se ha utilizado una disolución extractora Olsen y posteriormente se ha determinado el fosfato extraído espectroscópicamente mediante la formación de un complejo fosfomolíbdico. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

Para determinar la composición elemental se ha utilizado el Analizador elemental LECO TRUSPEC CHNS MICRO. Se utiliza una combinación de flujo continuo de gas portador He, detector de infrarrojos y detector de conductividad térmica para la detección simultánea de CHN.

2.2.2. Determinación del área superficial especifica

Mediante fisisorción se ha determinado la isoterma de adsorción correspondiente con la teoría BET. El equipo utilizado es ASAP 2420 de 6 puertos para muestras desgasificadas. El análisis se ha realizado utilizando CO_2 como gas de adsorción sobre las muestras, con masa aproximada de 0,5 g. Previamente las muestras han sido desgasificadas, las condiciones de desgasificación han sido de 180ºC durante 6 horas, y el vacío de 5mmHg/s.

2.3. Análisis de espectroscopía ^{13}CRMN en estado sólido

Se han realizado los espectros de la muestra cruda y de los biochars. El espectro se ha obtenido con el equipo, HD Bruker Avance III HD 400 MHz a frecuencia de 100.63MHz usando rotores de zirconio de 4 mm de diámetro exterior. La técnica de giro del ángulo mágico-polarización cruzada se ha aplicado con frecuencia de 14 kHz. Un pulso de ^{1}H en rampa se utiliza durante un tiempo de contacto con el fin de eludir la modulación de giro durante el contacto de Hartmann-Hahn. Un tiempo de contacto de 1 ms y una anchura de pulso de ^{1}H a 90 ° de 3,5 µs fueron utilizados para todos los espectros. Los desplazamientos de ^{13}C-químicos fueron referidos a tetrametilsilano (= 0 ppm) y se calibraron con glicina (176,04 ppm). Las intensidades relativas de los picos se obtuvieron por integración de los rangos de desplazamiento químico específico según Knicker (2011) por una rutina de integración con MESTRE NOVA.

2.4. Microscopía electrónica de barrido

Se ha utilizado un microscopio electrónico de barrido convencional (JEOL 6460LV) trabajando en alto vacío, de cañón tipo, emisión termoiónica y filamento de Tungsteno. El software con el cual se ha trabajado es el INCAEnergy. Previo al estudio las muestras han sido bombardeadas con oro para otorgar la necesaria naturaleza conductora a la muestra. Se han

analizado la muestra cruda y todos los Biochar obtenidos. Las micrografías obtenidas así como sus respectivos microanálisis han sido registradas indicando el aumento utilizado.

3. Resultados y Discusión.

En la Tabla 2se observan los valores de contenido en fósforo asimilable y los de N, H y C obtenidos en el análisis elemental.

El contenido de P asimilable en los biochars aumenta respecto a la muestra cruda y entre los biochars aumenta con la temperatura de pirolisis. Muchos estudios previos han señalado que los biochar constituyen por si mismos fuentes de P asimilable para las plantas (Brewer et al. 2009, Silber et al. 2010, Cao and Harris, 2010 Angst y Sohi, 2013 y Mukherjee y Zimmerman, 2013).

Tabla 2. Contenido de fosforo asimilable y relación del contenido de CHN en muestras de *A. aculeata* cruda y en biochars producidos a diferentes temperaturas

Muestra	P asimilable $mgP \cdot Kg^{-1}$ (media $\pm$ $\boldsymbol{D.S}$)	%C	%H	%N	H/C	C/N
AC_f	39,55$\pm$2,43	48,7	5,5	0,1	0,11	264
AC_f200	53,73$\pm$1,12	51,7	5,7	0,1	0,11	318
AC_f325	68,80$\pm$6,99	71,4	4,1	0,4	0,06	167
AC_f450	81,29$\pm$5,03	74,6	3,4	0,4	0,05	180

El contenido de nitrógeno aumenta en los biochars respecto a la muestra cruda y entre los biochars aumenta al aumentar la temperatura, igual que ocurre con el P asimilable. Este aumento puede ser debido a la incorporación del N en heterociclos(Knicker, 2010).

El area superficial aumenta respecto a la muestra cruda y entre los biochars es mayor cuando mayor esla temperatura. Siendo el valor en la muestra cruda de 42,2489 ± 1,0631$m^2 \cdot g^{-1}$ y en los biochars 30,4811 ± 0,3368, 105,3086 ± 2,8451 y 176,0177 ± 0,1314$m^2 \cdot g^{-1}$ respectivamente. Estos resultados indican que se incrementa la porosidad y el tamaño de los poros con la temperatura, siendo los valores obtenidos del mismo orden de magnitud que los encontrados por Zhao J. et al., (2016), en el cual determinan la superficie de carbones utilizando adsorción de CO_2 y N_2.

En la Figura 1 se pueden observar los espectros de ^{13}C RMN en estado sólido de la muestracruda y de los biochars.En la AC_f se observan señalescaracteristicas de Carbonos provenientesde la lignina y la celulosa (0-200 ppm).

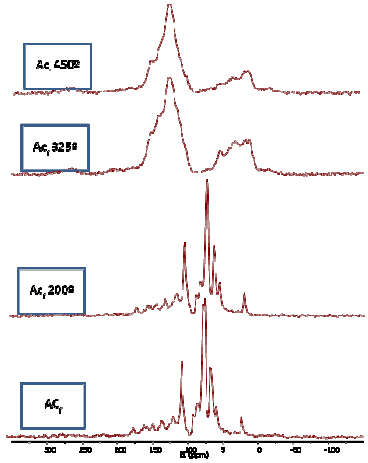


Figura 2. Espectros ^{13}C RMN en estado sólido de *A. aculeata*

Con la pirolisis estas macromoleculas se degradan, pero a 200ºC, la degradación no parece ser suficiente pueslas señales siguen apareciendo. En los biochar producidos a 325ºC hay claras diferencias, entre 220 y 160 ppm donde se observan señales que corresponderían a carbonos carboxilicos y entre 160 y 140 las que corresponderían a O-arilos pertenecientes a la lignina. La parte arilo da señales entre 140 y 110 ppm. Entre 110 y 60 ppm aparecen las señales de O-alcilo, normalmente asignado a los carbonos de la celulosa y la hemicelulosa y la senal a 23 ppm procede de actetil. Con el aumento de la temperatura, la intensidad de la region O-alcilo disminuye y la de los arilos aumenta. Todas estas observaciones indican la formacion de compuestos aromaticos en el residuo sometido a pirólisis a 325ºC y a 450 ºC.

En las imágenes obtenidas del estudio SEM (Figura 2) se observa la porosidad en la muestra cruda y en sus biochars, en la muestra cruda los poros existentes son más pequeños y de forma tipo circular, a medida se incrementa la temperatura crece el tamaño y la cantidad.

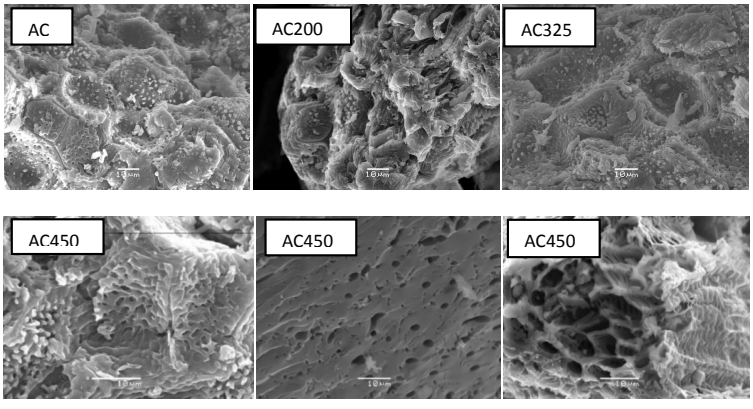


*Figura 3**. Micrografías del endocarpio, izq. sup. muestra natural de granulometría fina (AC), der. med. Muestra pirolizada a 200º (AC200), der. med. Muestra pirolizada a 325º (AC325), Inferiores Muestra pirolizada a 450º (AC450).***

4. Conclusiones.

El residuo de *A. aculeata* parece ser un producto adecuado para ser utilizado como enmienda de suelo especialmente, previamente pirolizado y convertido en biochar. Es adecuado porque es rico en P asimilable para las plantas y en N y, además, tiene una elevada porosidad y capacidad de adsorción. La formación de compuestos de C estables en el biochar contribuye al secuestro de C y a la mitigación de los efectos de emisiones de CO_2 antropogénico (Biederman y Harpole, 2013).

5. Bibliografía.

Angst T.E., Sohi S.P., 2013. Establishing release dynamics for plant nutrients from biochar. Glob. Change Biol. Bioenergy, 5, 221–226.

Biederman L.A., Harpole S., 2013. Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: a meta-analysis. Glob. Change Biol., 5, 202–214

Brewer C.E., Schmidt-Rohr K., Satrio J.A., 2009. Brown R.C. Characterization of biochar from fast pyrolysis and gasification systems.Environ. Prog. Sustain. Energy, 28, 386–396.

Cao X., Harris W., 2010. Properties of dairy-manure-derived biochar pertinent to its potential use in remediation. Bioresour. Technol., 101, 5222–5228.

De la rosa J., Paneque M., Miller, A.Z., Knicker, H. y col., 2014. Relating physical and chemical properties of four different biochars and their application rate to biomass production of Loliumperenne on a Calcic Cambisol during a pot experiment of 79 days. Science of the Total Environment. 499, 175-184.

Estigarribia, G., 2012. Guía Técnica de Cultivos hortícolas: producción de tomate. MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería), San Lorenzo, Paraguay, página 98.

Hale S.E., Alling V., Martinsen V., Mulder J., Breedveld G.D., Cornellisen G., 2013. The sorption and desorption of phosphate-P, ammonium-N and nitrate-N in cacao shell and corn cob biochars. Chemosphere, 91, 1612–1619.

Knicker H., 2011. Solid state CPMAS-13C and ^{15}N-NMR spectroscopy in organic geochemistry and how spin dynamics can either aggravate or improve spectra interpretation. Organic Geochemistry. 42, 867-890.

Mukherjee A., Zimmerman A.R., 2013. Organic carbon and nutrient release from a range of laboratory-produced biochars and biochar-soil mixtures. Geoderma, 193–194, 122–130.

Silber A., Levkovitch I., Graber E.R., 2010. pH-dependent mineral release and surface properties of cornstraw biochar: agronomic implications. Environ. Sci. Technol., 44, 9318–9323.

Zhao J., Xu H., Tang D., Mathews J.P., Li S., Tao S. 2016. A comparative evaluation of coal specific surface area by CO_2 and N_2 adsorption and its influence on CH_4 adsorption capacity at different pore sizes. Fuel. 183, 420-431.

Knicker, H., 2010. "Black nitrogen" - an important fraction in determining the recalcitrance of charcoal. Organic Geochemistry, 41, 947-950.

6. Agradecimientos

Ministerio de Economía y competetividad (CGL2015-64811-P)
CITIUS – UNIVERSIDAD DE SEVILLA

LOS BIOSÓLIDOS PIROLIZADOS COMO ENMIENDA ORGÁNICA: ¿QUÉ CONDICIONES DE PIRÓLISIS OBTIENEN MEJORES RESULTADOS AGRONÓMICOS? EL CASO DE ESTUDIO DE *Lolium perenne*

Marina Paneque[1] José María de la Rosa[1], Carlos Aragón[2], Heike Knicker[1]

(1) Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC). Av. Reina Mercedes 10, Sevilla., (2) Centro de las Nuevas Tecnologías del Agua (CENTA). Autovía A-49, km 28. Carrión de los Céspedes, Sevilla. Email: mpaneque@irnas.csic.es

Resumen

Los biosólidos, residuos orgánicos sólidos, semisólidos o líquidos que resultan del tratamiento de las aguas residuales, se emplean en agricultura con un doble propósito, por una parte disminuir la cantidad de residuos orgánicos depositados en vertederos y por otra parte aportar nutrientes y mejorar las condiciones agronómicas del suelo. El biochar es un producto sólido rico en carbono que resulta de la degradación térmica de biomasa en ausencia de oxígeno mediante un proceso conocido como pirólisis. En los últimos años se han estudiado los efectos de transformar los residuos orgánicos en biochar mediante distintas técnicas pirolíticas. En relación a los biosólidos, la pirólisis húmeda se ha considerado como un tratamiento alternativo a los ya establecidos para higienizar y estabilizar este material. Sin embargo, es necesario evaluar si los biosólidos pirolizados tienen propiedades beneficiosas para el suelo y los cultivos y es posible utilizarlos como enmienda efectiva en suelos. El objetivo principal de este estudio fue determinar los cambios que experimentan los biosólidos, relacionados con su potencial agronómico, al someterlos a pirólisis húmeda. Para ello, lodos procedentes de la planta experimental de tratamiento de aguas residuales de Carrión de los Céspedes (Sevilla) se pirolizaron mediante pirólisis húmeda. Se aplicaron dos tiempos de residencia en el reactor (30 min y 1 h) y dos temperaturas (200 y 260°C) diferentes. Posteriormente se caracterizaron los lodos pirolizados usando diversas técnicas de análisis. Se midió su contenido en Carbono, Nitrógeno, pH, contenido en materia orgánica, nutrientes disponibles, contenido en metales pesados e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs). Por último, este estudio evaluó la germinación y crecimiento de *Lolium perenne* en un suelo típico del área Mediterránea (Cambisol) enmendado con estos lodos pirolizados mediante un experimento de incubación. Los lodos pirolizados a menor temperatura presentaron características más adecuadas para su uso como enmienda orgánica en el Cambisol estudiado que aquellos pirolizados a 260°C. La aplicación de lodos pirolizados en el suelo disminuyó la tasa de germinación de *Lolium perenne* en comparación con el control, pero aumentó significativamente la producción de biomasa total por maceta.

Palabras clave: lodo de depuradora, hidrochar, pirochar, experimento de incubación

1. Introducción

Los biosólidos son residuos orgánicos sólidos, semisólidos o líquidos que resultan del tratamiento de las aguas residuales. La implementación de la Directiva de Tratamiento de Aguas Residuales Urbanas (91/1271/EC) ha forzado a los países de la Unión Europea (UE) a mejorar sus sistemas de recogida y tratamiento de aguas residuales, lo que ha provocado un incremento en la producción anual de biosólidos de casi un 50% desde 1992 a 2005 (Kelessidis y Stasinakis, 2012). Además, la implementación de esta Directiva en los nuevos países miembros hace que esta cifra siga aumentando y se estima que exceda los 13 millones de toneladas en peso seco por año en 2020 (Kelessidis y Stasinakis, 2012). Por otro lado, la necesidad de reducir los residuos

biodegradables en vertederos ha favorecido la transformación de residuos orgánicos en productos de valor añadido útiles en agricultura. Los biosólidos no han quedado exentos de esta tendencia y la UE ha promovido y regulado su uso como enmienda agrícola (Directiva UE 86/278/EEC y Working Document on Sludge, UE, 2000). Esta regulación prohíbe la aplicación directa de los lodos al suelo e indica los posibles tratamientos que deben aplicarse dependiendo del uso final del lodo (pastos, forraje, fruticultura, horticultura, etc). En este sentido, la pirólisis se ha considerado recientemente como un posible tratamiento que permite higienizar y estabilizar el lodo. La pirólisis es un tratamiento térmico que se caracteriza por la ausencia de oxígeno durante el proceso de carbonización. Cuando la pirólisis de la materia orgánica se hace en presencia de agua se denomina pirólisis húmeda y el producto resultante varía en sus propiedades físico-químicas al obtenido mediante pirólisis seca (pirólisis en ausencia de agua).

Los beneficios del uso de biosólidos como enmienda orgánica en suelos agrícolas radican en que tienen un contenido relativamente alto en nitrógeno (N) y fósforo (P). El contenido de N oscila entre <0,1 y 18% con una media de 3,3%, mientras que el contenido de fósforo puede variar desde un 0,1% a un 14%, según la naturaleza del lodo y el tratamiento al que haya sido sometido (Sommers, 1997). Además, la adición de biosólidos al suelo permite aumentar el contenido de materia orgánica de los mismos, contribuyendo a la restauración de sus propiedades químicas y físicas (Werther y Ogada, 1999). Por otro lado, hay que tener en cuenta la posible presencia de metales pesados y contaminantes orgánicos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en este residuo antes de aplicarlo al suelo. Además, la pirolización de biosólidos va a producir cambios en las características físico-químicas de los mismos, modificando su potencial agronómico y sus posibles efectos nocivos. Estos cambios deben estudiarse para poder determinar cuáles son las condiciones de pirólisis que permiten obtener un biosólido pirolizado con las propiedades físico-químicas más adecuadas para su uso como enmienda orgánica en agricultura. Por tanto, el objetivo de este trabajo es estudiar los cambios ocurridos tras la pirólisis de biosólidos, bajo diferentes condiciones de tiempo y temperatura, en relación a sus propiedades agronómicas (contenido en materia orgánica, pH, nutrientes y contaminantes orgánicos) así como evaluar el efecto de su uso como enmienda orgánica en un Cambisol típico del área mediterránea mediante un experimento de invernadero con *Lolium perenne*.

2. Material y Métodos

2.1 Biosólido

El biosólido usado en este estudio es un lodo secundario procedente de un sistema de aireación prolongada, que posteriormente se ha acumulado en un espesador para reducir el contenido de agua. El material procede de la Fundación Centro de las Nuevas Tecnologías del Agua (CENTA) que depura las aguas de Carrión de los céspedes, una localidad de 3000 habitantes. El biosólido recolectado se secó a temperatura ambiente y se homogeneizó antes de comenzar con los experimentos.

2.2 Pirólisis

La pirolización del biosólido se llevó a cabo en el Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V.,Alemania). Parte del biosólido recolectado se pirolizó mediante pirólisis húmeda (PirH) en un reactor de 1 L de capacidad (Parr reactor series 452, IL, USA) provisto de una resistencia externa y sensores internos para medir la presión y la temperatura. Se aplicaron dos tiempos de residencia (30 min y 1 h) y dos temperaturas (200 y 260°C). Para cada temperatura y tiempo, 250 gramos de biosólido seco se mezclaron con 450 g de agua destilada. Durante la pirólisis se agitó la mezcla a una velocidad constante de 90 rpm. Una vez concluido el tiempo de pirólisis se dejó

enfriar el reactor 15 horas y posteriormente se filtró la mezcla y se secó el biosólido pirolizado obtenido a 60°C durante 48h. También se pirolizó otra parte del biosólido mediante pirólisis seca (PirS) en un horno vertical de cerámica a 600□C durante 1 hora.

2.3 Caracterización de los materiales producidos

La determinación del contenido total de C y N se realizó usando un analizador elemental modelo Elementar Vario EL microanalyzer (Elementar Analysen systeme GmbH, Hanau, Germany). El contenido de materia orgánica se determinó con se indica en la norma A5TM D 2974-8. El pH se midió en agua destilada, usando un ratio muestra:agua de 1:10. La extracción y determinación de los hidrocarburos aromáticos policícliclos (HAPs) se realizó como se describe en De la Rosa y col., 2016.

2.4 Experimento de incubación en invernadero

Los biosólidos pirolizados (pirobiosólidos) obtenidos y el biosólido sin tratar se aplicaron como enmienda orgánica en un Cambisol cálcico típico del área Mediterránea. Se prepararon macetas con 150 gramos de suelo y una cantidad de enmienda equivalente a 5 y 25 t ha^{-1}. Se prepararon 4 réplicas para cada tratamiento y dosis. También se prepararon macetas control, sin adición de enmienda (n=4). En cada maceta se sembraron 25 semillas de *Lolium perenne* y se añadió agua para ajustar la humedad del suelo a un 60% de la capacidad de campo. Las macetas se trasladaron a un invernadero durante 80 días. La cantidad de agua añadida durante los 80 días fue de 166 L m^{-2} que es equivalente a 760 L m^{-2} por año. Los parámetros evaluados durante el experimento fueron la tasa de germinación y supervivencia, contando el número de plantas vivas periódicamente, y la producción de biomasa, cortando, secando y pesando las hojas producidas cada 15 días. Para el análisis estadístico se usó el programa SPSS versión 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). Se aplicó el test no-paramétrico Kolmogorov-Smirnov para estudiar la normalidad de los datos obtenidos en relación al número de plantas activas y la producción de biomasa. Dado que las dos variables fueron no normales se usó el test U de Mann-Whitney para evaluar las diferencias entre los diferentes tratamientos ($P \leq 0.05$).

3. Resultados y Discusión.

3.1 Caracterización

El biosólido sin tratar contiene un 44% de materia orgánica (MO). Este parámetro, al igual que el contenido de carbono (C), disminuyó tras la PirH en mayor grado conforme se aumentó el tiempo y la temperatura. Sin embargo, la mayor pérdida de MO y de porcentaje de C se observó con el tratamiento de PirS (18,1 % de MO; 16,8 % de C). En relación al pH, la PirH disminuyó el pH del BS desde 7,5 hasta 6,2 (PirH_200_0.5). La PirS, sin embargo, aumentó el pH del biosólido hasta 10,0.

La pérdida de nitrógeno (N) tras ambos tipos de pirólisis fue mayor que la de C. La cantidad de NH_4^+, NO_2 y NO_3 aumentó en todos los casos tras la PirH, sugiriendo un potencial fertilizante. Durante la PirS, sin embargo, se perdió todo el NO_2 y NO_3, y también la mayor parte del NH_4^+. El aumento de amonio durante la pirólisis húmeda está en consonancia con los resultados obtenidos por otros autores (Sohn y Ho, 1995). Por otro lado, la disponibilidad de P disminuyó tras la PirH, para todas las condiciones de temperatura y tiempo, mientras que este parámetro aumentó más del doble tras la PirS.

Tabla 1. Caracterización del biosólido sin tratar y de los pirobiosólidos

Muestra	Materia orgánica % PS[1]	pH	C (%)	N (%)	NH_4-N mg kg^{-1}	NO_2-N mg kg^{-1}	NO_3-N mg kg^{-1}	PO_4-P mg kg^{-1}	Σ13 EPA HAPs[2] µg kg^{-1}
BS	44,8	7,5	24,5	3,2	122,5	0,04	0,57	338	14976
PirH_200_0.5	36,9	6,7	23,3	2,5	542,1	0,76	1,26	177	15197
PirH_200_3	35,3	6,2	23,3	2,4	341,0	0,36	0,44	232	23337
PirH_260_0.5	32,0	6,3	22,5	2,0	238,9	0,09	0,47	349	24374
PirH_260_3	29,0	6,4	22,4	1,9	256,4	0,04	-	305	29215
PirS_600_1	18,1	10,0	16,8	1,6	0,3	-	-	733	11386

*1PS: peso seco

*2 HAPs (Hidrocarburos aromáticos policíclicos): NAP, ANY, ANA, FLU, PHE, ANT, FLT, PYR, BaA, CHR, BbF, BaP, IPY.

En cuanto a los HAPs, su contenido total es relativamente elevado (De la Rosa y col., 2016) y se incrementa con el tiempo de reaccion en la PirH. Bajo las condiciones de este ensayo, la PirS ha sido más favorable para reducir la presencia de estos contaminantes persistentes, probablemente debido a que la mayor temperatura de pirólisis permite la descomposición de los HAPs mas volátiles.

3.2 Experimento de incubación en invernadero

En relación al experimento de incubación en invernadero, se observó una disminución en la tasa de germinación en las macetas enmendadas con los biosólidos sometidos a PirH, mientras que aquellas enmendadas con el biosólido tratado con PirS presentaron una tasa de germinación igual al control. Este hecho puede deberse a un efecto tóxico de los HAPs (Tabla 1). Sin embargo, a pesar de la disminución en la tasa de germinación, la PirH produjo una mayor producción de biomasa por maceta que la PirS, siendo los biosólidos tratados a 200°C los que presentaron mejores resultados, independientemente del tiempo de residencia. Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en función de la dosis aplicada.

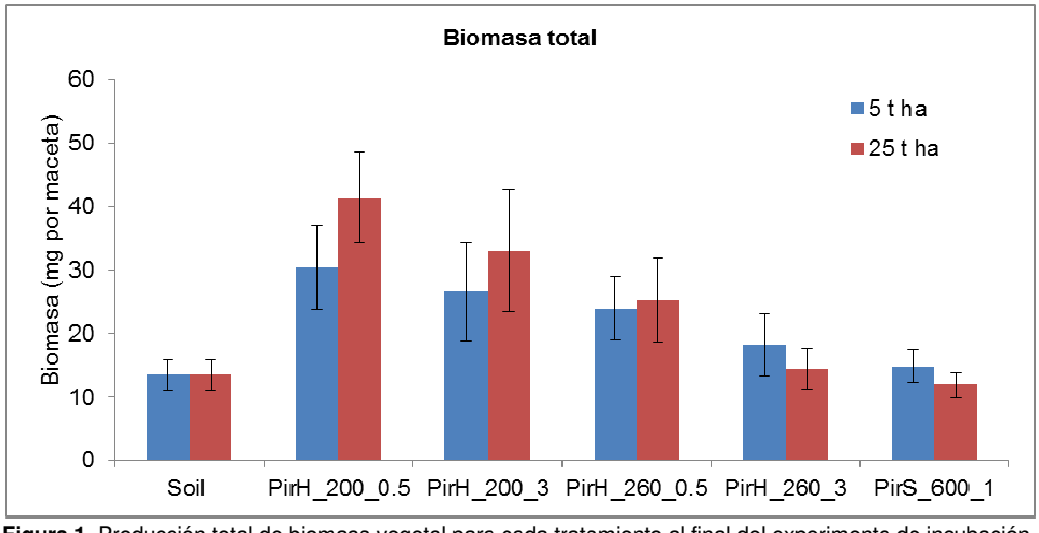


Figura 1. Producción total de biomasa vegetal para cada tratamiento al final del experimento de incubación.

4. Conclusiones.

Los pirobiosólidos resultantes de la pirólisis húmeda (PirH) presentaron un mayor contenido en MO, un menor pH y un mayor contenido de nitrógeno biodisponible que el material tratado con PirS. Sin embargo la presencia de HAPs se incrementó durante la pirólisis en vía húmeda. La PirH a 200□C, independientemente del tiempo de residencia, parece ser el tratamiento más adecuado para el crecimiento de *Lolium perenne*. Siendo conscientes de que este estudio se trata de un ensayo a corto plazo en invernadero y por tanto que no es posible extrapolar de una manera directa estos resultados a las condiciones de campo. En cualquier caso, considerando que los suelos agrícolas de la región Mediterránea son generalmente neutros o alcalinos, en muchos casos pobres en nutrientes y con un bajo contenido de MO, los resultados de este estudio indican que la PirH sería más recomendable que la PirS.

5. Bibliografía.

De la Rosa J.M., Paneque M., Hilber I., Blum F., Knicker H., Bucheli T.D., 2016. Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in biochar and biochar-amended agricultural soil from Southern Spain. J. Soils Sediments 16, 557-565.

Kelessidis A., Stasinakis A.S., 2012. Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. Waste Management 32, 1186–1195.

Sohn M., Ho C.T., 1995. Ammonia Generation during Thermal Degradation of Amino Acids. J. Agric. Food Chem. 43, 3001-3003.

Sommers L.E.,1977. Chemical composition of sewage sludges and analysis of their potential use as fertilizers. J. Environ. Qua. 6, 225-232.

Werther J., Ogada T., 1999. Sewage sludge combustion. Prog. Energ. Combust., 25, 55-116.

6. Agradecimientos

Los autores agradecen al Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO, Gobierno de España) y al programa Marie Curie Intregration Fellowships de la Unión Europea por la financiación de los proyectos PCGL2012-37041 y PCIG12-GA-2012-333784 respectivamente. Se agradece al Ministerio de Educación y Cultura (Gobierno de España) la financiación de la beca FPU (FPU 13/05831) de Dña. Marina Paneque.

LA PILA DE COMPOSTAJE COMO FUENTE DE MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE CELULASAS

Enrique Mellado-Cubillas, Maria José López, Macarena del Mar Jurado, Juan Antonio López-González, Maria del Carmen Vargas-García, Francisca Suárez-Estrella, Joaquín Moreno

Dpto. Biología y Geología, CITE II-B, Universidad de Almería, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, 04120, Almería.

Resumen: El estudio de los microorganismos asociados al compostaje, además de contribuir a un mayor conocimiento del proceso, permite caracterizar nuevos microorganismos útiles para mejorar el compostaje y para ser aplicados en procedimientos biotecnológicos. En este trabajo se investigó la presencia de microorganismos productores de celulasas durante el compostaje de restos vegetales y se cuantificó la producción de la enzima para seleccionar las cepas con mayor potencial de aplicación en industrias alimentaria, textil, papelera, agrícola y bioenergética. Para determinar la presencia de microorganismos celulolíticos durante el compostaje se empleó una colección de 1457 cepas aisladas a partir de un proceso de compostaje de restos vegetales. En dichos aislados se analizó la expresión de actividad celulasa y, en las cepas celulolíticas, se cuantificó la producción de la enzima. Los microorganismos celulolíticos estuvieron presentes principalmente en la fase bio-oxidativa, e incluyeron 55 cepas pertenecientes a 25 especies (23 hongos y 2 bacterias). La producción de celulasa alcanzó un máximo de 3,67 µg mL^{-1} min^{-1}. Los microorganismos de interés biotecnológico de acuerdo con su producción de celulasa fueron *Penicillium spinulosum* 4268, *Galactomyces candidum* 4278 y *Fusarium equiseti* 4439 y los hongos termófilos *Aspergillus fumigatus* 5731 y *Thermomyces lanuginosus* 5722, por sus posibles enzimas termoestables.

Palabras clave: Celulolíticos, *Bacillus, Aspergillus, Thermomyces*.

1. Introducción

Las celulasas son complejos enzmáticos que escinden enlaces glucosídicos de la celulosa, principal componente de la pared celular en las plantas. Esta actividad es decisiva en ambientes como la pila de compost de restos vegetales, en la que los microorganismos productores juegan un papel clave en la transformación de la materia orgánica (Jurado y col., 2014). Adicionalmente, estas enzimas tienen gran potencial biotecnológico en varias industrias, entre las que se incluyen la alimentaria, la cervecera y vinícola, la agrícola, la papelera y textil, la de detergentes y, más recientemente y con gran auge, la de los biocombustibles (Schneider y col., 2012). Por tanto, el conocimiento de las actividades de estos microorganismos durante el compostaje, así como la búsqueda de microorganismos celulolíticos tiene una relevancia notable, tanto para la mejora del proceso, como por las múltiples aplicaciones que las celulasas presentan. De acuerdo con ello, el compostaje puede contemplarse, además de como un proceso de aprovechamiento de la materia orgánica, como una fuente de microorganismos de interés para su aplicación en procedimientos biotecnológicos.

El objetivo principal de este trabajo de investigación fue determinar la idoneidad del ecosistema pila de compost como fuente de microorganismos productores de celulasas, así como establecer la fase más adecuada para su aislamiento, y seleccionar e identificar microorganismos productores de celulasas, de acuerdo con su capacidad para producir las enzimas.

2. Material y Métodos

2.1. Aislamiento e identificación de microorganismos celulolíticos

El aislamiento de los microorganismos celulolíticos se realizó a partir de material vegetal (restos de plantas de tomate y astillas de pino, 1:1, p/p) sometido a compostaje en pilas trapezoidales (1,5 m x 3 m x 1 m; ancho, largo, alto). Las pilas se sometieron a aireación forzada y volteos durante la fase bio-oxidativa (42 días) y a enfriamiento y maduración durante 147 días. En las distintas fases críticas del proceso se tomaron un total de 19 muestras representativas (9 puntos de muestreo), incluyendo: materias primas (MPR), mesófilas en ascenso (MESA) y descenso (MESD), termófilas (TER), enfriamiento (MES), maduración (MAD) y producto final (PRF). Las muestras se procesaron en fresco según método descrito por Jurado y col. (2014) para el recuento de colonias por morfotipos singulares, empleando 6 protocolos según el grupo microbiano y termofilia: bacterias (BM, BT), actinobacterias (AM, AT), y hongos (HM y HT) mesófilos y termófilos, respectivamente. Las placas de recuento se emplearon para el posterior aislamiento de morfotipos de cada programa. En cada uno de los aislados, catalogados según fase del compostaje, grupo microbiano y termofilia, se analizó la actividad celulolítica mediante detección de decoloración alrededor de colonias cultivadas en medio sólido con 0,5% de celulosa adicionada de 0,005% Anilina Blue-Black (Kauri y Kushner, 1988). Las cepas que mostraron actividad celulolítica fueron identificadas mediante secuenciación del gen 16S ADNr (27F/1492R) en bacterias, y la región 5.8S-ITS (ITS1/ITS4) en hongos. Las secuencias fueron comparadas en la base de datos BLAST del NCBI (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi).

2.2. Producción de celulasa

Para cuantificar la producción enzimática, las cepas celulolíticas fueron cultivadas en medios líquidos con carboximetilcelulosa (CMC) al 1% como única fuente de carbono, suplementado con extracto de levadura 10 gL^{-1} y Sales de Janshekar 1:10 (v/v) (Janshekar y col., 1982). Tras incubación durante 7 días a 30 °C (mesófilos) o 50 °C (termófilos), el extracto acelular obtenido mediante centrifugación (4 ºC/10.000 rpm/10 min) se utilizó para medir la actividad celulasa (250µL) empleando como sustrato una solución (250µL) al 1% de CMC (pH 5). La reacción enzimática se desarrolló a 40 □C o 50 □C (mesófilos o termófilos) en agitación durante 2h. La glucosa liberada se cuantificó espectrofotométricamente mediante el reactivo DNS (Miller, 1959). Una unidad de actividad celulasa (U) se define como cantidad de enzima capaz de liberar 1 µg de glucosa por minuto en las condiciones de reacción. Los resultados se expresaron en U por mL de medio de cultivo (U mL^{-1}).

3. Resultados y Discusión

El análisis de actividad celulolítica en todas las cepas aisladas (1457), junto con el recuento independiente por morfotipos singulares permitió cuantificar la proporción de microorganismos con dicha actividad respecto al total de población microbiana en cada uno de los programas de recuento (BM, BT, AM, AT, HM y HT). En la Figura 1 se muestran los resultados de este análisis junto con el perfil térmico obtenido en el proceso. Sólo se detectó actividad celulolítica en bacterias mesófilas (BM), hongos termófilos (HT) y mesófilos (HM). Estos últimos estuvieron presentes prácticamente en todas las muestras analizadas, constituyendo entre un 2 y un 30% del total de la población de HM, y con una marcada abundancia en la fase bio-oxidativa. Las bacterias

mesófilas se detectaron en dos muestras (MESD1 y TER2A); mientras que los hongos termófilos sólo estuvieron presentes en la fase de maduración, pero con un claro predominio al inicio de la fase (MAD1), contabilizando más del 40% de la población de HT.

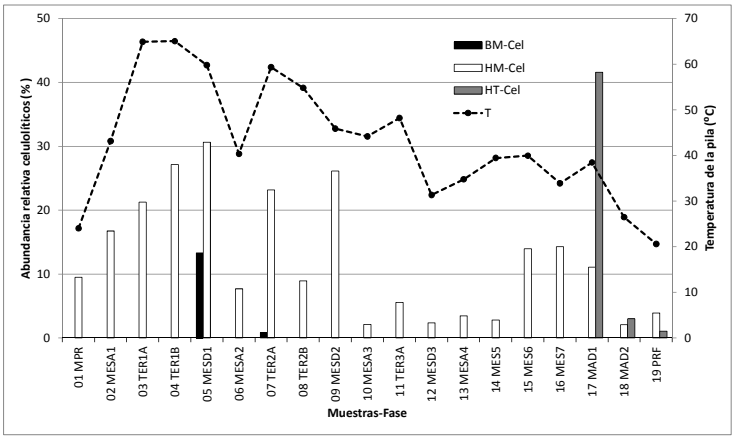


Figura 1. Abundancia relativa (%) de microorganismos celulolíticos respecto al total de población microbiana en cada programa de recuento. Se muestra la temperatura de la pila (línea punteada).

Las cepas celulolíticas incluyeron 55 morfotipos singulares cuyo análisis de secuencias reveló que pertenecían a 25 especies únicas, incluyendo dos bacterias (*Pseudomonas stutzeri* y *Bacillus subtilis*), 21 hongos mesófilos (tres de ellos sin identificar), con predominio de especies del género *Fusarium* y 2 hongos termófilos, de los géneros *Thermomyces* y *Aspergillus* (Tabla 1). Los representantes de estos géneros han sido previamente descritos como celulolíticos (Wilson, 2011).

Tabla 1. Identificación de los aislados celulolíticos

Id Cepa	Identidad	% Similitud	Nº acceso
Bacterias			
2196	*Pseudomonas stutzeri*	100	KC894856.1
2265	*Bacillus subtilis*	100	KJ920929.1
Hongos mesófilos			
4197	*Alternaria brassicae*	99	HQ674659.1
4268	*Penicillium spinulosum*	99	KF646101.1
4278	*Galactomyces candidum*	99	KJ817904.1
4303	No identificada		
4305	*Rhodotorula glutinis*	99	FJ345357.1
4316	*Pyrenochaeta sp.*	99	EU750693.1
4331	*Nakazawaea holstii*	100	AB449811.1
4360	*Fusarium domesticum*	96	JQ434584.1
4415	*Fusarium brochygibbosun*	99	KJ541487.1
4437	*Gibellulopsis nigrescens*	99	HE972037.1
4439	*Fusarium equiseti*	98	HQ332532.1
4473	No identificada		
4482	No identificada		
4496	*Emericella rugulosa*	99	EU289912.1
4521	*Pyrenochaeta unguis-hominis*	99	JX966641.1
4535	*Fusarium oxysporum*	99	GU566301.1
4615	*Scopulariopsis brevicaulis*	99	EU436681.1
4674	*Plectosphaerella cucumerina*	99	AB469880.1
4779	*Stemphylium solani*	99	KJ957784.1
4993	*Fusarium delphinoides*	99	KJ690090.1
5089	*Scedosporium prolificans*	99	FJ713089.1
Hongos termófilos			
5722	*Thermomyces lanuginosus*	99	AB85929.1
5731	*Aspergillus fumigatus*	98	JQ946408.1

La producción de celulasa por las cepas celulolíticas identificadas (Tabla 1) se muestra en la Figura 2. En general, las bacterias (cepas 2196 y 2265) y los hongos termófilos (cepas 5722 y 5731) produjeron mucha menor cantidad de enzima que los hongos mesófilos. Entre estos últimos destacaron por sus niveles de producción (superior a 2 U mL^{-1}) *Alternaria brassicae* 4197, *Penicillium spinulosum* 4268, *Galactomyces candidum* 4278, *Rhodotorula glutinis* 4305, *Fusarium oxysporum* 4535 y *Fusarium equiseti* 4439, siendo este último el mejor productor con un máximo de 3,67 U mL^{-1}. Por otra parte, los hongos termófilos evaluados, *Aspergillus fumigatus* 5731 y *Thermomyces lanuginosus* 5722, aunque no fueron buenos productores, merecen especial atención por las potencialidades que pueden ofrecer sus enzimas termoestables. En general los niveles de producción obtenidos son inferiores a los descritos por otros autores (Visser y col., 2013). No obstante, debe tenerse en cuenta que este estudio constituye un rastreo preliminar para la selección de cepas, para lo cual se han fijado unas condiciones estándar tanto de producción como de reacción enzimática. Por ello, es necesario realizar estudios posteriores orientados a establecer las condiciones idóneas para la producción de enzima así como para su actividad de cara a sus posibles aplicaciones biotecnológicas.

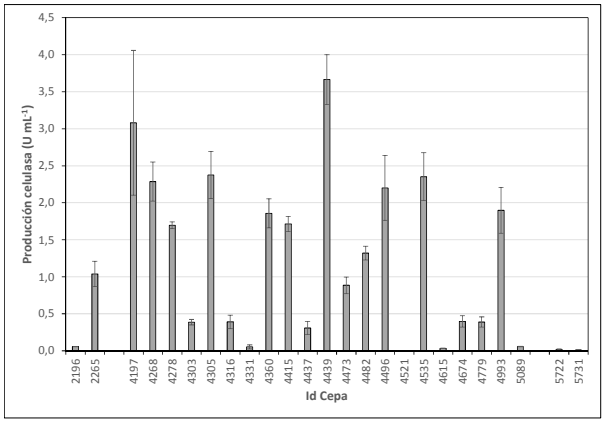


Figura 2. Producción de celulasa por bacterias y hongos celulolíticos aislados a partir de material vegetal sometido a compostaje. Los resultados son la media de tres repeticiones (*n*=3) y las barras de error indican la desviación estándar.

4. Conclusiones

La pila de compostaje de material vegetal constituye un ecosistema idóneo para el desarrollo y aislamiento de microorganismos celulolíticos, sobre todo en la fase bio-oxidativa, estando dominada principalmente por hongos mesófilos. Las bacterias celulolíticas de este ambiente pertenecen a los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* mientras que los hongos incluyen representantes de diversos géneros con predominio de especies de los géneros *Aspergillus* y *Fusarium*. Varias cepas mesófilas y termófilas, principalmente hongos, producen celulasas en condiciones de laboratorio en unos niveles idóneos para su potencial aplicación biotecnológica. Dos de estos hongos son termófilos, por lo que sus enzimas podrían ser más robustas, termoestables y con mayor eficiencia catalítica, lo que les confiere un especial interés.

5. Bibliografía

Janshekar M., Haltmeier T., Brown C., 1982. Fungal degradation of pine and straw alkali lignins. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 14, 174-181.

Jurado M., López M.J., Suárez-Estrella F., Vargas-García M.C., López-González J.A., Moreno J., 2014. Exploiting composting biodiversity: Study of the persistent and biotechnologically relevant microorganisms from lignocellulose-based composting. *Bioresour. Technol.* 162, 283-293.

Kauri T., Kushner D.J., 1988. Detection of cellulolytic activity of bacteria and fungi growing on agar surfaces. *Biotechnol. Tech.* 2, 149-152.

Miller G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugars. *Anal. Chem.* 31, 426-428.

Schneider T., Keiblinger K.M., Schmid E., Sterflinger-Gleixner K., Ellersdorfer G., Roschitzki B., Riedel K., 2012. Who is who in litter decomposition quest; metaproteomics reveals major microbial players and their biogeochemical functions. *ISME J.* 6, 1749-1762.

Visser E.M., Falkoski D.L., de Almeida M.N., Maitan-Alfenas G.P., Guimarães V.M., 2013. Production and application of an enzyme blend from *Chrysoporthe cubensis* and *Penicillium pinophilum* with potential for hydrolysis of sugarcane bagasse. *Bioresour. Technol.* 144, 587-594.

Wilson D.B., 2011. Microbial diversity of cellulose hydrolysis. *Curr. Opin. Microbiol.* 14, 259–263.

6. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través del proyecto AGL2012-36434.

COMPOSTAJE DE LODOS DE EDAR EN PRESENCIA DE ZEOLITAS SINTETIZADAS A PARTIR DE CENIZAS VOLANTES

Santiago López-Camacho, Christian Antequera, Emilia Otal, Constantino Fernández-Pereira

Departamento de Ingeniería Química y Ambiental. Escuela Técnica Superior de Ingeniería (ETSI), Universidad de Sevilla. Camino de los Descubrimientos s/n, 41092 Sevilla, España, S. López Camacho: santiagolopezcamacho@gmail.com. C. Antequera: cantzam@gmail.com. E. Otal: eotal@us.es. C. Fernández-Pereira: pereira@us.es

Resumen: Los lodos de estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) pueden ser utilizados como fuente de materia orgánica en la obtención de compost. Sin embargo, suelen contener altos niveles de metales pesados lo que produce problemas en el proceso biológico de compostaje. Las zeolitas naturales y sintéticas han sido utilizadas para resolver numerosos problemas ambientales debido a su capacidad de intercambio catiónico. Por un lado, se han utilizado en la eliminación de metales, generalmente en aguas residuales y, por otro, como agente para mejorar la eficiencia del abonado del suelo, debido a su capacidad para retener amonio, el cual puede ser liberado posteriormente. Debido a estas propiedades, se han utilizado en este trabajo zeolitas sintetizadas a partir de cenizas volantes de la combustión de carbón (CV-Z), lo que supone, además, un beneficio ambiental ya que se consigue valorizar un residuo de centrales térmicas. El objetivo principal ha sido determinar la influencia de la adición de CV-Z, a lodos de EDAR, poda de ciprés (material estructurante) y cáscara de naranja, en un proceso de compostaje en reactores cerrados y aislados. Para ello se ha llevado a cabo el seguimiento de los parámetros de control y de calidad del producto (Aireación, Temperatura, Humedad, Conductividad Eléctrica, Materia Orgánica Total, relación C/N y Concentración de metales). Los resultados indicaron que la adición de residuo de cítricos mejoró la estabilidad del pH durante el proceso. Mientras que la incorporación de CV-Z produjo una reducción en la disponibilidad de Cu, Pb y Zn en el producto final.

Palabras clave: Compost, metales, zeolitas sintéticas.

1. Introducción.

En las últimas décadas, la producción de lodos en las estaciones depuradoras ha incrementado significativamente debido, principalmente, al desarrollo demográfico que ha sufrido nuestro país, a la legislación ambiental actual y a las mejoras tecnológicas en la depuración de aguas residuales. La Directiva 91/271/CEE sobre el tratamiento de aguas residuales urbanas obliga a los estados miembros a que sus aguas residuales urbanas sean objeto de un tratamiento de depuración biológico antes de su vertido a cauces naturales. Este hecho provocó que desde 1990 la producción de lodos aumentara de manera significativa a causa de la construcción de nuevas estaciones depuradoras con un sistema de depuración secundario para cumplir con la normativa vigente. Estas importantes cantidades de lodos producidos, junto con la variabilidad de alternativas para su destino final, obligan a plantear la difícil gestión de estos residuos como un reto tecnológico.

Entre las principales alternativas para la gestión de lodos de depuradora destacan: el uso agrario de lodos tratados, la valorización energética y el depósito en vertederos controlados, dispuestas en orden de prioridad según la Ley 22/2011, de residuos y suelos contaminados. La aplicación de lodos tratados en la agricultura supone un remedio eficaz para la pérdida de materia orgánica que sufren los suelos del área mediterránea, que han conducido a las tasas de

degradación y erosión más altas de Europa. Entre los distintos tratamientos aplicados a los lodos, el compostaje es el único que consigue producir un material con importantes beneficios en la agricultura.

El compostaje es un proceso de descomposición biológico aerobio de materiales biodegradables. En este proceso los microorganismos son los encargados de degradar la materia orgánica en presencia de oxígeno para producir dióxido de carbono, agua y energía en forma de calor, alcanzándose altas temperaturas a lo largo del proceso (Arcos y col., 2008). El producto obtenido, denominado compost, es un material totalmente estabilizado y libre de agentes patógenos semejante al humus, con un contenido suficiente de nutrientes para su aplicación al suelo.

Sin embargo, los lodos presentan grandes cantidades de metales pesados, lo que supone un problema de toxicidad para la mayoría de los procesos bioquímicos de los organismos vivos (Dios, 2008). La movilidad es el factor más importante para gestionar la peligrosidad de estos elementos, que depende de las características del suelo, el pH, la humedad y la temperatura. De modo que el efecto contaminante de los metales puede ser doble, por un lado la presencia de agentes solubilizantes en el suelo, y por otro, el exceso de cantidades perjudiciales de metales pesados en los lodos de depuradora (Delgado, 2012). El producto final del compostaje directo de lodos de EDAR no es aplicable en agricultura debido a la alta concentración de metales, superior al permitido por la legislación (RD 506/2013).

Las zeolitas naturales han sido utilizadas en multitud de ocasiones para la eliminación de metales pesados y otras sustancias tóxicas en la depuración de aguas residuales y, desde hace poco tiempo, también en el compostaje. Su estructura porosa y su gran capacidad de intercambio catiónico contribuye a reducir la biodisponibilidad de metales pesados en el suelo. Las zeolitas están constituidas por aluminosilicatos de estructura cristalina, con una composición similar a la que presentan las cenizas volantes de la combustión del carbón, por lo que pueden ser utilizadas fácilmente como precursores para la síntesis de zeolitas, constituyendo una oportunidad de valorización de un residuo procedente de las centrales térmicas de carbón (Moreno, 2001).

El objetivo principal de este trabajo ha sido mejorar el proceso de compostaje de lodos de EDAR, así como la calidad del producto final para adaptarla a la normativa vigente. Para ello se ha reducido la biodisponibilidad de metales pesados a lo largo del proceso, mediante la incorporación de zeolitas sintetizadas a partir de cenizas volantes en distintas proporciones. Otro objetivo ha sido determinar el efecto de la dosificación de zeolitas y mostrar las posibles sinergias con otras materias primas.

2. Material y Métodos.

Las materias primas utilizadas han sido las siguientes: Lodos de la EDAR de Tablada (Sevilla), zeolitas sintetizadas a partir de cenizas volantes (CV-Z) de la central térmica de Narcea, residuos de poda de ciprés, cáscaras de naranja y compost maduro.

Para la correcta formación de las mezclas es necesario llevar a cabo el acondicionamiento de materias primas (troceado y tamizado con luz de malla de 40 mm), el mezclado y el ajuste de humedad y pH, previo al llenado de los reactores.

Los reactores cilíndricos utilizados de PVC, tienen una capacidad de 7 L. Para el correcto funcionamiento del proceso de compostaje, los reactores fueron perforados en la parte inferior y fueron aislados térmicamente con lana de roca Rockwool.

Se realizó una matriz de ensayos de 12 reactores con distintas proporciones de materias primas. Cada reactor se llenó con 3 kg de mezcla. El contenido en lodo de EDAR y de compost maduro fue constante en todos los reactores 50% p/p y 10% p/p, respectivamente. Las

proporciones de cáscara de naranja y CV-Z fueron 0%, 5% y 15% p/p. Mientras que a cantidad restante hasta completar el 100% se realizó con poda de ciprés 20%, 25%, 30%, 35% p/p.

Durante el proceso se controlaron los parámetros operacionales: La temperatura (se midió diariamente), la humedad (cada dos semanas) se determinó por gravimetría tras secado a 103 ºC, el control de pH y la conductividad eléctrica (CE) (se determinaron cada dos semanas) con un pH-metro y un conductivímetro, respectivamente.

Por otro lado, la determinación de las características del compost y su madurez se realizó mediante la determinación de parámetros de calidad de muestras tomadas al azar al inicio, al final y en un periodo intermedio. El contenido en materia orgánica total se determinó mediante la calcinación a 540 ºC de 2-3 g de muestra. El contenido en carbono y nitrógeno total fue determinado mediante un analizador LECO CHN-600, previamente calibrado con el patrón EDTA AR, donde las muestras se calcinaron a 950 ºC durante 5 min, obteniéndose su porcentaje en masa de Carbono y Nitrógeno.

Para el análisis de la cantidad de metales pesados (Cd, Cu, Ni, Zn, Hg, Cr) se realizó una extracción de elementos solubles en solución (HCl-HNO_3) en proporción 3:1 y se midió con un equipo ICP-OES AGILENT 5100.

3. Resultados y Discusión.

Las composiciones de materias primas, se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización de las materias primas.

	Lodo	Poda de ciprés	Cáscaras de naranja	Compost	CV-Z
Cadmio (mg kg^{-1})	1,69	0,00	0,19	0,77	1,29
Cobre (mg kg^{-1})	320,99	11,12	24,08	59,66	68,38
Níquel (mg kg^{-1})	23,34	0,42	7,40	31,17	43,14
Plomo (mg kg^{-1})	145,48	2,00	4,99	26,78	21,35
Cinc (mg kg^{-1})	1336,17	20,93	90,73	159,73	90,33
Mercurio (mg kg^{-1})	<5,00	<5,00	<5,00	<5,00	<5,00
Cromo (mg kg^{-1})	47,42	3,10	6,46	70,28	78,47
Materia orgánica (%)	59,1	93,4	85,2	48,8	-
C Total (%)	34,4	54,3	49,5	28,4	-
N Total (%)	4,9	1	2,2	1,3	-
Humedad (%)	74,2	12,6	77,6	53,5	9,9
pH	8,08	5,45	3,96	8,14	10,45
CE (mS cm^{-1})	2,57	0,23	1,10	0,36	5,64

En este trabajo se muestran los resultados del grupo de 4 reactores con una composición de naranja del (5%) debido a que fueron los reactores que presentaron mejores características y mayor grado de madurez. Las proporciones de CV-Z y de ciprés, así como la concentración inicial y final de metales pesados en los reactores 1 a 4 se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Concentración de metales pesados en los reactores (R).

R	CV-Z %	ciprés	Cd mg kg^{-1}		Cu mg kg^{-1}		Ni mg kg^{-1}		Pb mg kg^{-1}		Zn mg kg^{-1}		Hg mg kg^{-1}		Cr mg kg^{-1}	
			I[a]	F[b]	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F
1	0	35	0,5	0,79	163	187	14	39	72	81	670	751	<5	<5	37	93
2	5	30	0,6	0,85	151	166	19	73	62	69	591	641	<5	<5	43	167
3	10	25	0,56	1,18	121	154	20	42	52	61	480	539	<5	<5	41	65
4	15	20	1,34	1,09	123	136	30	35	55	52	431	491	<5	<5	59	61

[a] I: Inicio del proceso de compostaje. [b] F: Final del proceso de compostaje.

Se observa una disminución de la biodisponibilidad de Cu, Pb y Zn a medida que aumenta la concentración de CV-Z. La diferencia entre las concentraciones iniciales y finales es debida a la descomposición y mineralización de la materia orgánica. Con respecto al lodo de EDAR, todas las mezclas iniciales presentaron niveles más bajos de metales, excepto el Ni y Cr en el reactor 4, debido probablemente al aporte de la CV-Z. Estos resultados coinciden parcialmente con los de otros autores que compararon la inmovilización de metales por parte de las zeolitas naturales y las cenizas volantes de carbón durante el compostaje de lodos de depuradora, mostrando que, salvo en el caso de Ni, todos los metales sufrían una reducción de su movilidad (Chiang y col., 2007).

La evolución de los parámetros de control (temperatura, humedad, pH y CE) a lo largo del tiempo se muestra en la Figura 1. La temperatura ascendió al inicio del proceso a causa de la actividad microbiológica, lo que fue acompañado de un descenso de la humedad, obteniéndose estabilidad a partir de la cuarta semana.

El pH, condicionado por la alcalinidad de CV-Z, aumentó en las 4 primeras semanas, sin sobrepasar en ningún caso el valor de 8. La CE aumentó a lo largo del proceso a causa de la mineralización de la materia orgánica, alcanzando valores más altos los reactores con mayor contenido en CV-Z.

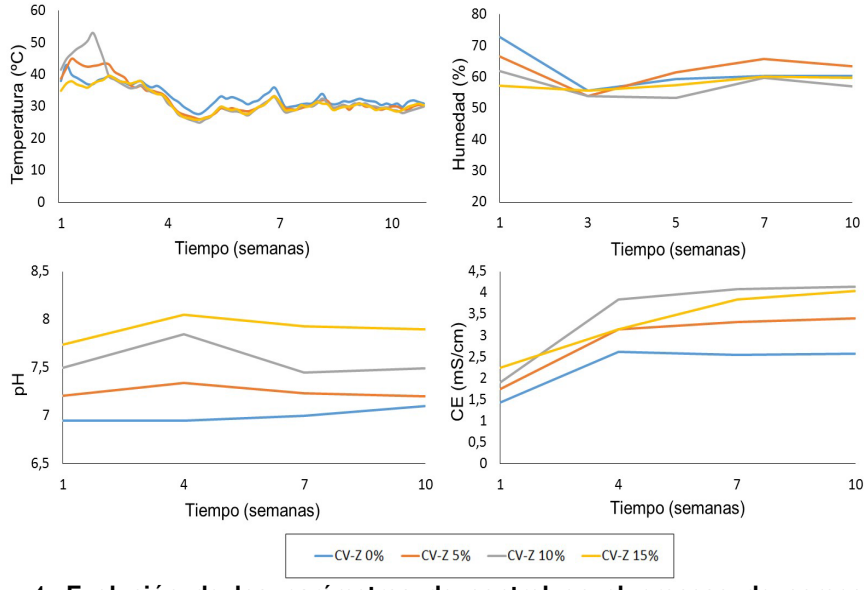


Figura 4. **Evolución de los parámetros de control en el proceso de compostaje: a) Temperatura, b) Humedad, c) pH, d) CE.**

4. Conclusiones.

- La adición de CV-Z ha propiciado que, en la mayoría de los casos, los parámetros de humedad y pH se sitúen más cercanos a los valores óptimos. También propicia un mayor aumento de la CE, generando un compost con una salinidad ligeramente elevada.
- El residuo de naranja en un 5% mejora las características y el grado de madurez del compost por su carácter neutralizador del pH en el caso de los reactores con CV-Z, situándolo próximo al pH óptimo de 7,5.
- Además de la reducción de la biodisponibilidad de Cu, Pb y Zn, ninguno de los compost obtenidos se encuentra fuera de los límites máximos recogidos en el RD 506/2013 sobre Productos Fertilizantes.

5. Bibliografía.

Arcos, M.A.; Rosal, A.; Dios, M., 2008. Estudios del compostaje de residuos sólidos urbanos en sistemas de alta eficiencia. Ed. UNIA.

Chiang, K. Y.; Huang, H. J.; Chang, C. N., 2007. Enhancement of heavy metal stabilization by different amendments during sewage sludge composting process. J. Environ. Eng. Manage, 17, pp. 249-256.

Delgado, M.R, 2012. Optimización de las variables implicadas en el proceso de Compostaje de RSU para minimizar la emisión de compuestos orgánicos volátiles. Ed. UNIA.

Dios, M, 2008. Estudio y desarrollo de técnicas respirométricas para el control de la estabilidad del compost, Tesis doctoral. Universidad de Córdoba.

Moreno, N, 2001. Tesis Doc. Valorización de cenizas volantes para la síntesis de zeolitas mediante extracción de sílice y conversión directa. Aplicaciones ambientales. Universidad Politécnica de Cataluña.

Ley 22/2011, de 28 de julio, de Residuos y suelos contaminados. BOE nº 66.

RD 506/2013, de 28 de junio, sobre Productos Fertilizantes. BOE nº 164.

MICROORGANISMOS LIGNINOLÍTICOS DEL PROCESO DE COMPOSTAJE

María José López, Macarena del Mar Jurado, Juan Antonio López-González, María del Carmen Vargas-García, Francisca Suárez-Estrella, Joaquín Moreno

Dpto. Biología y Geología, CITE II-B, Universidad de Almería, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, 04120, Almería

Resumen: La biodegradación de la lignina es una actividad clave durante el compostaje debido a su implicación en el proceso de humificación y en la liberación de nutrientes para los microorganismos. Este polímero se une covalentemente a la hemicelulosa y la celulosa dificultando su biodegradación, y por ello, constituye una etapa limitante del compostaje. Su biodegradación requiere de un sistema enzimático en el que intervienen varias enzimas: lignina peroxidasa (LiP), lacasa, manganeso peroxidasa (MnP). En este trabajo se investigó la producción de ligninasas por parte de una colección de 1457 aislados obtenidos a partir de material vegetal sometido a compostaje. En una primera fase se seleccionaron cepas con capacidad para expresar dicha actividad, la cual fue cuantificada posteriormente. Actualmente no existe una prueba cualitativa única que permita discriminar la actividad ligninolítica de forma concluyente. Por ello, para la fase preliminar se aplicaron 7 pruebas cualitativas relacionadas con el metabolismo de la lignina. De acuerdo con ello se seleccionaron 49 cepas (4 bacterias y 45 hongos) en las que se cuantificó la producción de tres enzimas ligninolíticas: lacasa, LiP y MnP. *Rhodotorula glutinis* 4305 resultó la cepa más eficiente para la producción de lacasa y LiP, mientras que *Galactomyces geotrichum* 4210 fue la máxima productora de MnP. Como consecuencia de estos análisis se han detectado diversas cepas que pueden resultar de interés para la mejora del proceso de compostaje y para otras aplicaciones biotecnológicas.

Palabras clave: Lacasa, lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa, lignina

1. Introducción

La lignina es un polímero insoluble e irregular constituido por unidades derivadas del fenilpropano enlazadas al azar, debido a lo cual, su biodegradación requiere de un complejo sistema enzimático inespecífico. El sistema ligninolítico más conocido es el de los hongos de la podredumbre blanca de la madera, que implica la intervención de varias enzimas: lignina peroxidasa (LiP), lacasa, manganeso peroxidasa (MnP) y oxidasas productoras de hidrógeno (Pollegioni y col., 2015). Estas funcionalidades deben estar presentes en los microorganismos asociados al proceso de compostaje de materiales vegetales, ya que dicho polímero es uno de los principales constituyentes de los tejidos vegetales (lignocelulosa). La biodegradación de la lignina es una actividad clave durante el compostaje debido a su implicación en el proceso de humificación y en la liberación de nutrientes para los microorganismos. Este polímero reduce la biodisponibilidad de otros constituyentes de la lignocelulosa, ya que se une covalentemente a los carbohidratos que la componen (hemicelulosa y celulosa) dificultando su biodegradación y por ello, constituye una etapa limitante del compostaje (López y col., 2006). Por otra parte, se reconoce que la formación de la fracción poliaromática de las sustancias húmicas está asociada a la degradación de la lignina (Tuomela y col., 2000). De acuerdo con lo expuesto, las actividades de los microorganismos ligninolíticos pueden considerarse importantes índices de biodegradación durante el compostaje y por ello, aportan una valiosa información sobre el desarrollo del mismo.

Por otra parte, los microorganismos ligninolíticos y sus enzimas tienen capacidad para degradar otros compuestos recalcitrantes además de la lignina, tales como los colorantes sintéticos o pesticidas. Por este motivo, cabe considerar su posible aplicación en procesos de

biorremediación. Adicionalmente, estos microorganismos y sus enzimas encuentran aplicaciones en biorefinería para la conversión de residuos lignocelulósicos en biocombustibles, productos químicos y nuevos materiales (ej. plásticos), así como en otras aplicaciones tales como clarificación de vinos y zumos, tratamiento de aguas residuales, teñido denim, diversos bioensayos y biosensores (Beckham y col., 2016). Por tanto, el interés de estos microorganismos va más allá de su aportación al proceso de compostaje, por lo que resulta novedoso aportar nuevos recursos biológicos al pool de microorganismos con tales actividades actualmente conocidos. En este sentido, el material vegetal sometido a compostaje constituye una valiosa fuente de tales recursos.

En este trabajo se investigaron las capacidades relacionadas con el metabolismo de la lignina de una colección de microorganismos asociados al compostaje de restos vegetales, al objeto de seleccionar las cepas ligninolíticas más adecuadas de acuerdo con su producción de ligninasas para su potencial aplicación en el propio proceso de compostaje y en biotecnología.

2. Material y Métodos

2.1. Colección de aislados del proceso de compostaje

Para la realización de este trabajo se empleó una colección de 284 actinobacterias, 910 bacterias y 263 hongos aislados a partir de material vegetal (restos de plantas de tomate y astillas de pino en proporción 1:1 p/p) sometido a compostaje. Todos estos microorganismos fueron aislados en las distintas fases críticas del proceso (materias primas, mesófila, termófila, enfriamiento, maduración y producto final) e identificados por técnicas moleculares en estudios previos (Jurado y col., 2014).

2.2. Selección de cepas ligninolíticas

Para la selección de los microorganismos con actividad ligninolítica, a cada uno de los aislados se aplicaron 7 pruebas cualitativas relacionadas con el metabolismo de la lignina: Test de Sundman o fenoloxidasa-Fen, Polifenoloxidasa-Pol; Lacasa 1-Lac 1; Lacasa 2-Lac 2; Oxidasa-Oxi; Tirosinasa-Tir y Peroxidasa-Per. Estos ensayos se realizaron en medios sólidos selectivos en placa de acuerdo con la metodología descrita por Guisado y col. (2012).

2.3. Producción de ligninasas

En la colección de microorganismos ligninolíticos seleccionados se cuantificó la producción de tres enzimas ligninolíticas: lacasa (Lac), Lignina Peroxidasa (LiP) y Manganeso Peroxidasa (MnP). Para ello, las cepas se cultivaron en el medio líquido de Kirk y col. (1986) durante 7 días. La producción de las enzimas se analizó en los sobrenadantes obtenidos tras centrifugación (13,000g/5min/4 ºC). Lignina peroxidasa se determinó mediante la oxidación dependiente de peróxido de alcohol veratrílico (2 mM) a veratraldehído en 25 mM tampón tartrato (pH 2,5) con 0,4 mM H_2O_2 (Orth y col., 1993). Manganeso peroxidasa se ensayó mediante oxidación de Mn^{2+} a Mn^{3+} y la formación del complejo Mn^{3+}–tartrato a partir de 0,1 mM $MnSO_4$ en 100 mM tampón tartrato (pH 5) con 0,1 mM H_2O_2 (Camarero y col., 1999). Lacasa se analizó monitorizando la oxidación de 0,02 mM siringaldazina en 100 mM tampón citrato-fosfato (pH 4,2) según método modificado de Fakoussa y Frost (1999).

3. Resultados y Discusión

Actualmente no existe una prueba cualitativa única que permita discriminar la actividad ligninolítica de forma determinante. Por ello se aplicaron 7 pruebas cualitativas diferentes relacionadas con el metabolismo de la lignina para la selección de cepas ligninolíticas entre la

colección de 1457 aislados obtenidos a partir de material vegetal sometido a compostaje. En la Figura 1a se indica el número de cepas que dieron positivas cada una de las pruebas realizadas diferenciadas por grupos (hongos, bacterias y actinobacterias). Las pruebas más selectivas fueron las correspondientes a la Fenoloxidasa y la Tirosinasa, sólo un 3% de las cepas analizadas dieron positivas estas pruebas, y además, las cepas positivas para Fenoloxidasa presentaron también varias de las otras actividades, incluyendo en todos los casos la actividad Lacasa. La actividad peroxidasa fue la más frecuentemente encontrada en todos los aislados, seguida de las lacasas y oxidasa. De acuerdo con ello se escogieron aquellas cepas que presentaron actividad en el test de Fenoloxidasa o de Sundman, además de mostrar, al menos, otra prueba positiva entre el resto de las empleadas para verificar la actividad ligninolítica. Con este mayor número de test cualitativos relacionados con la degradación de la lignina, se intentó asegurar la eficiencia de las cepas seleccionadas en dicho proceso, ya que actualmente no existen marcadores fisiológicos o bioquímicos sencillos exclusivamente asociados a la degradación de esta macromolécula (Bugg y Rahmanpour, 2015). En la Figura 1b se representa la distribución de las cepas fenoloxidasa positivas por géneros, que reveló la presencia de una elevada proporción de representantes de género *Fusarium*. Las cepas que se seleccionaron en este rastreo fueron 49, que incluyeron 4 bacterias y 45 hongos. En general, las bacterias a diferencia de los hongos, parecen poseer una capacidad más limitada para la degradación de la lignina (Tuomela y col., 2000) y sus mecanismos degradativos no han sido tan ampliamente estudiados como los pertenecientes a especies fúngicas. Esta circunstancia puede explicar el reducido número de bacterias seleccionadas. Los hongos capaces de degradar la lignina, con pocas excepciones, producen polifenoloxidasas extracelulares (Orth y col., 1993).

a) b)

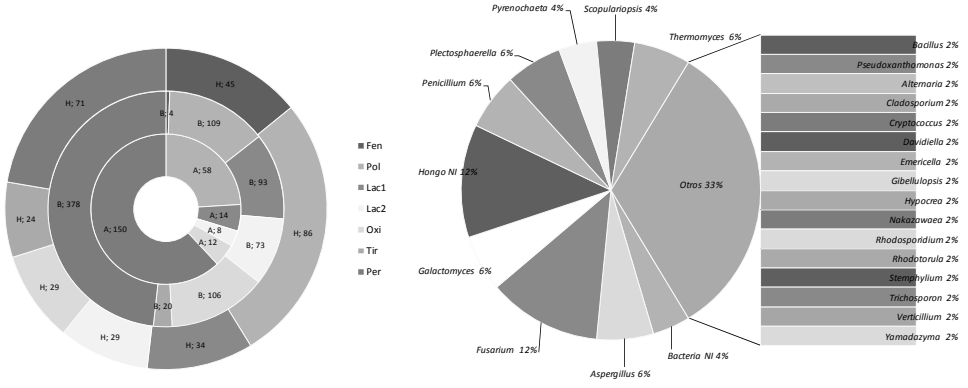


Figura 1. a) Número de bacterias (B), actinobacterias (A) y hongos (H) con resultado positivo para las pruebas cualitativas de actividad ligninolítica: Test de Sundman o fenoloxidasa-Fen, Polifenoloxidasa-Pol; Lacasa 1-Lac 1; Lacasa 2-Lac 2; Oxidasa-Oxi; Tirosinasa-Tir y Peroxidasa-Per; b) Distribución por géneros de cepas positivas para la actividad Fenoloxidasa o test de Sundman (NI: cepa no identificada).

En la colección de 49 cepas ligninolíticas se cuantificó la producción de tres enzimas relacionadas con el metabolismo de la lignina: lacasa, lignina peroxidasa (LiP) y Manganeso peroxidasa (MnP) (Figura 2). Sólo 9 cepas produjeron cantidades significativas de lacasa, mientras que dicho número se incrementó a 24 y 34 cepas para LiP y MnP, respectivamente. En la Figura 2 se muestran las cepas que produjeron varias de estas enzimas en cantidades significativas. *Rhodotorula glutinis* 4305 resultó la cepa más eficiente para la producción de lacasa

y LiP, mientras que *Galactomyces geotrichum* 4210 fue la máxima productora de MnP, aunque ambas produjeron también las otras enzimas.

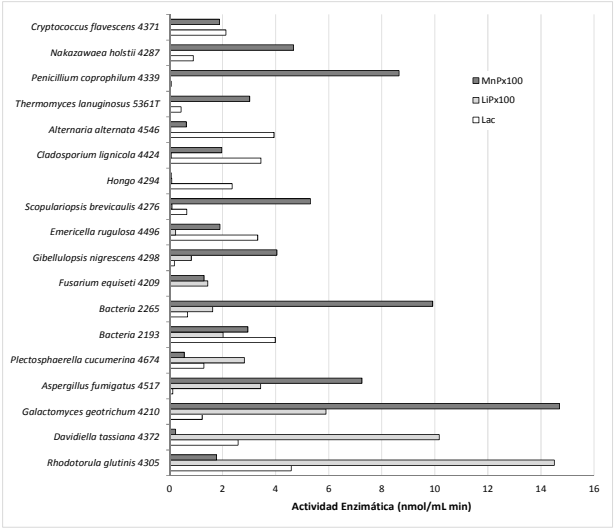


Figura 2. Producción de enzimas ligninolíticas; lacasa (Lac), Lignina Peroxidasa (LiP) y Manganeso Peroxidasa (MnP) por cepas ligninolíticas procedentes de material sometido a compostaje.

4. Conclusiones

El material vegetal sometido a compostaje constituye una excelente fuente de microorganismos degradadores de la lignina. La selección de estos microorganismos constituye una tarea complicada que requiere de la aplicación de diversas pruebas selectivas, resultando de especial interés la que pone de manifiesto la actividad fenoloxidasa o prueba de Sundman. Los microorganismos ligninolíticos asociados al compostaje de restos vegetales están dominados por especies del género Fusarium pero incluyen una amplia diversidad de hongos y son escasas las bacterias. Las cepas ligninolíticas asociadas al compostaje producen unos niveles de ligninasas aceptables para su potencial aplicación biotecnológica.

5. Bibliografía

Beckham G.T., Johnson C.W., Karp E.M., Salvachúa D., Vardon D.R., 2016. Opportunities and challenges in biological lignin valorization. *Curr. Opin. Biotechnol.* 42, 40-53.

Bugg T.D., Rahmanpour R., 2015. Enzymatic conversion of lignin into renewable chemicals. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 29, 10-17.

Camarero S., Sarkar S., Ruiz D.F., Martínez M.J., Martínez A.T., 1999. Description of a versatile peroxidase involved in the natural degradation of lignin that has both manganese peroxidase and lignin peroxidase substrate interaction sites. *J. Biol. Chem*. 274, 10324-10330.

Fakoussa R.M., Frost P.J., 1999. In vivo-decolorization of coal-derived humic acids by laccase-excreting fungus *Trametes versicolor*. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 52, 60–65.

Guisado G., López M.J., Vargas-García M.C., Suárez-Estrella F., Moreno J., 2011. *Pseudallescheria angusta*, a ligninolytic microorganism for wood fibres biomodification. *BioResources* 7, 464-474.

Jurado M., López M.J., Suárez-Estrella F., Vargas-García M.C., López-González J. A., Moreno J., 2014. Exploiting composting biodiversity: Study of the persistent and biotechnologically relevant microorganisms from lignocellulose-based composting. *Bioresour. Technol.* 162, 283-293.

Kirk T.K., Croan S., Tien M., Murtagh K.E., Farrell R.L., 1986. Production of a multiple ligninase by *Phanerochaete chrysosporium*: Effect of selected growth conditions and use of a mutant strain. *Enzyme Microb. Technol.* 8, 27-32.

López M.J., Elorrieta M.A., Vargas-Garcçia M.C., Suárez-Estrella F., Moreno J., 2002. The effect of aeration on the biotransformation of lignocellulosic wastes by white-rot fungi. *Bioresour. Technol.* 81, 123-129.

Orth A.B., Royse D.J., Tien M., 1993. Ubiquity of lignin-degrading peroxidases among various wood-degrading fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 4017-4023.

Pollegioni L., Tonin F., Rosini E., 2015. Lignin-degrading enzymes. *FEBS J.* 282, 1190-1213.

Tuomela M., Vikman M., Hatakka A., Itävaara M., 2000. Biodegradation of lignin in the compost environment: a review. *Bioresour. Technol.* 72, 169-183.

6. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través del proyecto AGL2012-36434.

ASPECTOS CLAVES EN LA PRODUCCIÓN BIOLÓGICA DE HIDRÓGENO: CO-DIGESTIÓN DE SUSTRATOS

Karen Andrea Díaz Espitia[1], Camila Andrea Ramírez Toloza[1], Adriana Marcela Castro Marroquín[1], Iván Orlando Cabeza Rojas[1] y Mario Andrés Hernández Pardo[2]

[1]Facultad de Ingeniería Ambiental. Universidad Santo Tomás (USTA), Carrera 9 No. 51-11, Bogotá, Colombia
[2]Facultad de Ingeniería. Universidad EAN, Calle 79 No. 11-45, Bogotá, Colombia

Resumen
En este estudio se evaluó la producción de biohidrógeno a partir de tres sustratos provenientes del sector agropecuario del departamento de Cundinamarca mediante proceso de co-digestión anaerobia. A partir de la relación C/N de cada uno de ellos, se plantearon las diferentes mezclas garantizando las condiciones mínimas del proceso convenientes para la producción de biohidrógeno lo cual promueve el crecimiento de la población microbiológica necesaria para el proceso destacándose así la población de *Clostridium.* La producción de biohidrógeno para los tres sustratos, estiércol de cerdo, mucílago de café y almidón de papa fue considerable mostrando la versatilidad de los mismos para este tipo de aprovechamiento. Las mezclas de sustratos que mostraron una mejor respuesta fueron aquellas que contenían agua residual del procesamiento de la papa. Sin embargo las mezclas en general de los tres sustratos evidenciaron unas condiciones de complementariedad adecuadas para la producción de hidrógeno con tasas de generación del orden de los 200 mL/h y producciones acumuladas de hidrógeno del orden de los 700 mL. Esto confirmó la viabilidad de las mezclas y de los procesos de co-digestión planteados a lo largo de la investigación.

Palabras clave: Biohidrógeno, co-digestión, estiércol cerdo, mucílago de café y almidón de papa.

1. Introducción

En la actualidad tan solo el 2,2% de la energía que se consume a nivel mundial proviene de fuentes renovables mientras que el 79,5% proviene del uso de combustibles fósiles (Goldenberg & Johansson, 2004). En Colombia hay diferentes grupos de investigación (alrededor de 30) que adelantan estudios en temas relacionados con los biocombustibles, con un enfoque al uso de biomasa para la generación de bioetanol y biodiesel. En el caso de Europa, un reporte de la Comisión Europea plantea la conversión de la economía actual, asociada a combustibles fósiles, hacia una economía dependiente del hidrógeno (European Commission, 2003). La generación de hidrógeno, mediante la fermentación oscura se obtiene utilizando diversos recursos de biomasa, a través de la degradación anaerobia de los hidratos de carbono, liberando ácidos orgánicos como producto final del proceso. La utilización de sustratos, tales como biomasa agrícola, desechos agroindustriales y pecuarios, que se caracterizan por ser abundantes, de bajo costo y altamente biodegradables (Gomez-Romero, Gonzalez-Garcia, Chairez, Torres, & García-Peña, 2014). El objetivo principal de este trabajo es establecer los aspectos claves para la producción de hidrógeno a través de la co-digestión de residuos orgánicos generados en el departamento de Cundinamarca utilizando la fermentación oscura. Inicialmente se realiza una determinación de parámetros y complementariedad de sustratos para posteriormente la identificación de residuos y pruebas experimentales de la producción de hidrógeno para las mezclas.

2. Material y Métodos.

Para el estudio se realizó una revisión teórica como parte inicial de la metodología, en la cual se identificaron las características fisicoquímicas y microbiológicas necesarias para el proceso biológico de producción de biohidrógeno. La selección final de los residuos se realizó a través de la disponibilidad de estos en el departamento de Cundinamarca, obteniendo así los sustratos a emplear: mucílago de café, almidón del procesamiento de la papa y estiércol de cerdo. Para establecer la complementariedad se realizó una revisión bibliográfica para determinar las mejores mezclas.

2.1 Inoculo

El inóculo usado en el estudio fue lodo semilla obtenido de un reactor anaerobio utilizado en la producción de biogás y para el tratamiento de residuos lácteos. Se aclimato al proceso por medio de la alimentación con glucosa y estiércol de cerdo, se utilizaron como microorganismos *Bacteroides, Eubacterium y Clostridium,* a condiciones de temperatura (35°C) y pH (5,8).

2.2 Sustratos

Los sustratos utilizados fueron el estiércol de cerdo, mucílago de café y almidón del procesamiento de la papa. Fueron divididos en bolsas de 1 L y se mantuvieron refrigeradas.

2.3 Diseño experimental

El estudio se desarrolló en tres etapas:

2.3.1 Etapa 1

Se realizó la adecuación del inóculo para la producción de hidrogeno, se preparó una botella con 1L de agua a pH 9, conectada por mangueras a otra botella que contenía el inóculo (1200 mL de agua por 200 gr de estiércol de cerdo), para atrapar el gas, además diariamente se inyecto 50 mL de una solución de sacarosa (10g de sacarosa en 250 mL de agua) se mantuvo en una plancha de calentamiento y agitación constante a 35°C, se realizó la medición diaria del volumen de biogás desplazado *(*Ilustración 1*)*.

Ilustración 1. Montaje experimental

2.3.2 Etapa 2

Se establecieron mezclas según las caracteristicas de complementariedad, se ajusto el pH en un rango mayor o igual a 7,0; se realizaron 7 mezclas con sus correspondientes repeticiones y el blanco. Cada mezcla, se introdujo en un baño de agua a una temperatura de 35°C, durante 2 dias consecutivos se midio el volumen desplazado cada 30 minutos, en cada una de las mezclas (Ilustración 2*)*.

Ilustración 2. Montaje experimental de las diferentes mezclas

2.3.3 Etapa 3

Se realizaron las últimas mediciones en cuento al volumen desplazado y pH final de la mezcla, se procesaron los datos obtenidos para determinar si ya había finalizado la producción y posteriormente se desmontaron las mezclas y se tuvo en cuenta los niveles máximos de producción de biogás.

3. Resultados y Discusión.

3.1 Potencial biológico de hidrogeno

3.1.1 Teórico

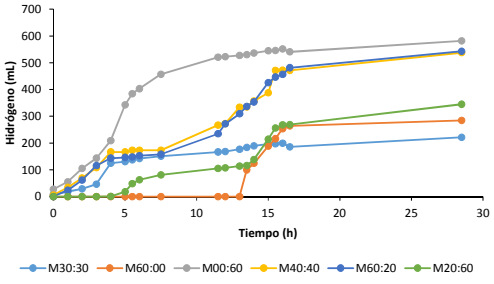
Papa: El promedio del potencial teórico de hidrógeno es de 941,8mL H_2/ g VSS-d (Ghimire et al., 2015; Xie et al., 2008).

Café: Para el mucilago de café, el potencial de hidrógeno es de 557,8 NmL H_2/ Lwd y para las aguas residuales es de 3,21 mol H_2/mol de hexosa (Jung, Kim, Lee, & Shin, 2012; Jung, Kim, & Shin, 2010).

Estiércol: La producción de hidrogeno, para un pH de 5,5, es de 31,8 mL de H_2 / h, por el contrario, si se varia el tiempo de retención y carga orgánica se obtiene una tasa de 102,1 mL de H_2 / h (Hernández & Rodríguez, 2013).

3.2 Experimental

El estudio genero resultados positivos para la producción de hidrógeno (Gráfica 2). La mezcla entre estiércol de cerdo y los sustratos ricos en hidratos de carbono demostró una respuesta positiva para la producción de hidrógeno, confirmando que la relación de complementariedad planteada fue efectiva para el proceso. Los mejores resultados contaron con la presencia de todos los sustratos, sin embargo, la mezcla del estiércol de cerdo y el almidón reporto el mejor comportamiento de producción de hidrógeno, debido a la excelente relación C/N. Niveles similares de producción se alcanzaron con la reducción de la proporción de estiércol en la mezcla 4 y a la par en la mezcla 5 que tenía predominancia de mucílago de café.



Gráfica 1. Producción acumulada de hidrógeno para las diferentes condiciones de mezcla.

Se encontró que la máxima tasa de producción de hidrógeno fue de 200mL/h asociada con la presencia de mucilago de café (Tabla 2), cuando está en función del volumen del residuo (mucílago de café o almidón) las mezclas 2 y 3 mostraron los mejores resultados confirmando la capacidad de los dos residuos ricos en carbohidratos para la producción de hidrógeno.

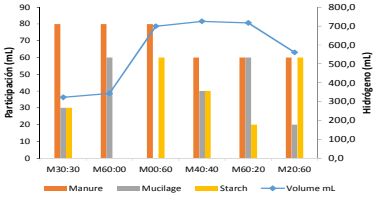
Tabla 3. Parámetros de la producción de hidrógeno para las diferentes mezclas.

#	ES:MU :AL	mL/h	mL/h/ mLw	mL
1	80:30:30	78,3	1,31	322,8
2	80:60:00	200,0	3,33	343,0
3	80:00:60	133,3	2,22	699,3
4	60:40:40	167,3	2,09	725,3
5	60:60:20	74,0	1,23	716,3
6	60:20:60	83,0	1,38	560,5

En la Gráfica 2, se puede observar que el almidon presente en las diferentes mezclas se muestra como el componente que mejores resultados reporta para la producción de hidrógeno ya que está presente en todas las mezclas que alcanzan producciones de hidrógeno que rondan los 700 mL.

4. Conclusiones.

- El agua residual del procesamiento de la papa no ha sido ampliamente utilizado para la obtención de nuevos productos, identificando también una deficiencia y una nueva oportunidad de aprovechamiento dando entonces un buen uso de dicho residuo industrial siendo ampliamente rico en carbohidratos. Estos residuos son adecuados por su nivel de carbohidratos para el proceso de co-digestión.



Gráfica 2. Relación entre la producción de hidrógeno y la composición de las mezclas.

- El estiércol de cerdo por su parte contiene una cantidad considerable de especies microbiológicas importantes en este caso para el rendimiento del proceso, conteniendo especies como *Clostridium*, conocidas por ser organismos anaerobios y productores de hidrógeno, entre otras especies las cuales a través de su interacción pueden generar condiciones favorables dentro del proceso.

- La producción de biohidrógeno para los tres sustratos fue considerable mostrando la versatilidad de los mismos para este tipo de aprovechamiento. Las mezclas de sustratos que mostraron una mejor respuesta fueron aquellas que contenían agua residual del procesamiento de la papa. Sin embargo las mezclas en general de los tres sustratos evidenciaron unas condiciones de complementariedad adecuadas para la producción de hidrógeno con tasas de generación del orden de los 200 mL/h y producciones acumuladas de hidrógeno del orden de los 700 mL. Esto confirmó la viabilidad de las mezclas y de los procesos de co-digestión planteados a lo largo de la investigación.

5. Bibliografía.

European Commission. (2003). *Hydrogen Energy and Fuel Cells*. *Directorate-General for Research 2003 Directorate-General for Energy and Transport*.

Ghimire, A., Frunzo, L., Pontoni, L., d'Antonio, G., Lens, P. N. L., Esposito, G., & Pirozzi, F. (2015). Dark fermentation of complex waste biomass for biohydrogen production by pretreated thermophilic anaerobic digestate. *Journal of Environmental Management*, *152*, 43–8. http://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.12.049

Goldenberg, J., & Johansson, T. B. (2004). *World Energy Assesment Overview 2004*. *Energy*.

Gomez-Romero, J., Gonzalez-Garcia, A., Chairez, I., Torres, L., & García-Peña, E. I. (2014). Selective adaptation of an anaerobic microbial community: Biohydrogen production by co-digestion of cheese whey and vegetables fruit waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, *39*(24), 12541–12550. http://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.06.050

Hernández, M., & Rodríguez, M. (2013). Hydrogen production by anaerobic digestion of pig manure: Effect of operating conditions. *Renewable Energy*, *53*, 187–192. http://doi.org/10.1016/j.renene.2012.11.024

Jung, K.-W., Kim, D.-H., Lee, M.-Y., & Shin, H.-S. (2012). Two-stage UASB reactor converting coffee drink manufacturing wastewater to hydrogen and methane. *International Journal of Hydrogen Energy*, *37*(9), 7473–7481. http://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.01.150

Jung, K.-W., Kim, D.-H., & Shin, H.-S. (2010). Continuous fermentative hydrogen production from coffee drink manufacturing wastewater by applying UASB reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, *35*(24), 13370–13378. http://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.11.120

Xie, B., Cheng, J., Zhou, J., Song, W., Liu, J., & Cen, K. (2008). Production of hydrogen and methane from potatoes by two-phase anaerobic fermentation. *Bioresource Technology*, *99*(13), 5942–6. http://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.10.048

6. Agradecimientos.

El presente trabajo de investigación fue realizado con el financiamiento de Fodein, por lo cual agradecemos su apoyo para el desarrollo teórico y experimental del estudio, a la Universidad Santo Tomas por la prestación de instalaciones y equipos para la obtención de nuevos conocimientos, a los docentes quienes brindaron un acompañamiento y su experiencia para el aprendizaje y fortalecimiento de actividades de investigación.

EVALUACIÓN DEL ÁCIDO L-LÁCTICO OBTENIDO POR UN PROCESO DE BIORREFINERIA DE SUERO DE LECHE COMO BIOESTIMULANTE EDÁFICO: EFECTO EN LAS PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL SUELO

Bruno Rodríguez-Morgado[1], Pablo Caballero Jiménez[1], Manuel Tejada Moral[2], Juan Parrado Rubio[1]

[1]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, c/ Profesor García González, 2. Universidad de Sevilla, España.
[2]Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola, E.T.S.I.A., Crta. de Utrera km.1, 41013,Sevilla, Universidad de Sevilla, España
bromo@us.es

Resumen
Se ha realizado un estudio para evaluar el efecto del ácido L-láctico sobre las propiedades biológicas del suelo. Este ácido láctico se ha obtenido mediante un proceso de biorrefinería del suero de leche, subproducto de la industria alimentaria. Su aplicación conduce a una solubilización de fosfato, siendo este comportamiento reversible tras la completa degradación del ácido láctico, que es utilizado por los microorganismos del suelo como fuente de carbono y energía, dando lugar a una fuerte estimulación biológica del suelo. La calidad del suelo vinculada a actividades enzimáticas tales como las actividades deshidrogenasa (ADH) y fosfatasa (APA) se estimularon positivamente. También se produjo un ligero cambio en la biodiversidad bacteriana del suelo hacia microorganismos capaces de utilizar el ácido láctico como fuente de carbono (*Rhizobium*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, etc.). Estas bacterias han demostrado tener interés agronómico ya que pertenecen al grupo de las denominadas bacterias PGPb, ya que tienen la capacidad de fijar nitrógeno, solubilizar fósforo o reducir el estrés. Estos resultados muestran el potencial papel del uso del ácido láctico tanto en términos agronómicos como ecológicos, aumentando la biodisponibilidad del fósforo, induciendo la actividad biológica o enriqueciendo selectivamente las bacterias implicadas en la fertilidad del suelo.

Palabras clave: fósforo, enzimas, bacterias PGPb,

1. Introducción

Muchos organismos del suelo, principalmente las plantas, producen grandes cantidades de exudados como parte de sus mecanismos para la adquisición de nutrientes, estos consisten principalmente en hidratos de carbono, ácidos carboxílicos y aminoácidos. Estos compuestos se asimilan fácilmente y representan una fuente de carbono y energía que favorece el rápido crecimiento de microorganismos en la rizosfera (Baudoin et al. 2003).

Estos exudados de las raíces de las plantas se componen principalmente de Ácidos Orgánicos de Bajo Peso Molecular o LMWOAs (siglas en inglés). Estos LMWOAS comprenden ácidos mono, di y tricarboxílicos (Strobel, 2001) y juegan un papel importante en la liberación de cationes a partir de minerales, aumentando su disponibilidad en la rizosfera. Además, son conocidos por su capacidad de aumentar la solubilidad del fósforo y servir como fuente de carbono para los microorganismos de la rizosfera (Haoliang et al. 2007).

Varios autores han sugerido que la producción de LMWOAs por rizobacterias es uno de los mecanismos más conocidos para la solubilización de fosfato del suelo. Esto es debido a la acidificación de la rizosfera, así como a su capacidad para formar complejos con algunos metales, como Al y Fe (Paredes-Mendoza et al. 2010).

En este caso, el ácido L-láctico, uno de los LMWOAs que componen los exudados radiculares, se obtuvo por vía fermentativa con altos rendimientos a partir de un subproducto, como es el suero de leche, producidos durante la fabricación del queso. Este subproducto tiene un alto impacto ambiental debido a su alta DQO y la recalcitrancia de algunos de sus componentes.

Es necesario indicar que no existen casos documentados de aplicación directa de ácido láctico al suelo por lo que el objetivo de este trabajo será evaluar la evolución de la biodisponibilidad de fósforo, así como el comportamiento de la comunidad microbiana del suelo y su actividad bioquímica.

2. Materiales y métodos

2.1. Producción de ácido L-láctico

El suero de leche se fermentó bajo condiciones controladas usando *Lactobacillus rhamnosus* y se sometió a varias etapas de filtración y esterificación-destilación, hasta obtener un ácido L-láctico química y ópticamente puro.

2.1.1 Análisis ácido Láctico

La pureza del ácido L-láctico y la concentración en el suelo se determinó mediante cromatografía de fase reversa y las propiedades ópticas por un kit enzimático comercial.

2.2. Procedimiento de incubación

El suelo utilizado en este experimento es un Antrosol Plágico. Doscientos gramos de suelo se incubaron a 25 ºC durante 28 días al 60% de su capacidad de retención de agua. Las muestras de suelo se mezclaron con ácido L-láctico a tres concentraciones diferentes: L1 (0,1% p/p), L2 (0,5% p/p) y L3 (1% p/p). Se utilizó como control (L0) un suelo sin ácido L-láctico.

2.3. Análisis de suelos

2.3.1. Análisis químicos de suelos

El pH del suelo se determinó según los Métodos Oficiales de Análisis (1986). El ácido L-láctico se extrajo con una solución de extracción compuesta por H_2SO_4 0,001 N, determinándose a continuación por HPLC (Buglass y Lee (2001). El fósforo disponible se determinó según el método de Olsen y col, 1954.

2.3.2. Actividades enzimáticas del suelo

La actividad deshidrogenasa se determinó mediante una modificación del ensayo INT (Tabatabai, 1994). Las actividades fosfatasa y β-glucosidasa del suelo se midieron usando p-nitrofenil fosfato y p-nitrofenil-β-D-glucopiranósido como sustratos respectivamente (Tabatabai, 1994).

2.3.3. Análisis microbiológico del suelo: extracción del DNA y análisis por electroforésis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE)

El ADN del suelo se extrajo usando un kit comercial (UltraCleanTM, MoBio Laboratories). Se amplificaron mediante PCR las regiones variables V3-V5 del ADNr 16S. Los productos de PCR se cargaron en un gel de poliacrilamida con un gradiente desnaturalizante desde el 40 al 60%.

Para cada tratamiento, las bandas dominantes del DGGE se extrajeron de los geles y se secuenciaron usando el software ABI PRISM-377 DNA Sequencer (PerkinElmer). Las secuencias obtenidas se compararon con las secuencias del rRNA 16S disponibles en la base de datos del NCBI, utilizando el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

3. Resultados y Discusión

3.1. Caracterización del ácido L-láctico.

El ácido L-láctico utilizado se obtuvo por un proceso de biorrefinería del suero de leche que permite obtener ácido láctico puro (35-40 g por litro de suero). Además de su pureza, es altamente

biodisponible al estar compuesto sólo por el isómero L de dicho ácido, el cual es el único isómero producido por *L. rhamnosus*.

3.2. Evolución de las propiedades químicas del suelo

Después de la aplicación de ácido L-láctico al suelo, hubo una disminución significativa en los valores de pH (Figura 1), estando esta disminución directamente relacionada con la dosis de ácido láctico aplicada. Durante el período de incubación, los valores de pH del suelo tienden a alcanzar el valor control (aproximadamente 7,9 a 8,0), alcanzándolo el tratamiento al 0,1% tras 12 días, mientras que el tratamiento al 0,5% lo hizo en el día 21. El tratamiento al 1% no alcanzó el valor control al final del experimento.

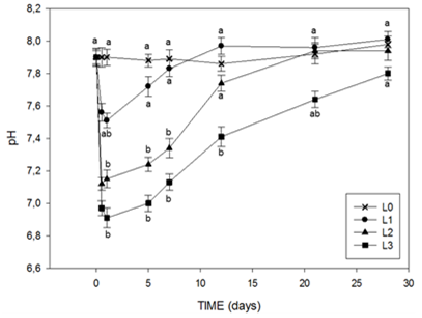


Figura 1. Evolución del pH del suelo.

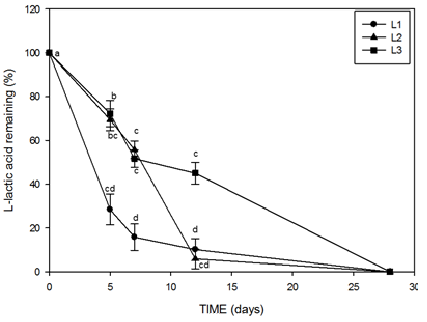


Figura 2. Evolución del ácido L-láctico.

El contenido de ácido L-láctico comienza a desaparecer inmediatamente después de su aplicación al suelo (Figura 2). Al día 7 de incubación, la concentración de ácido L-láctico en L1 había disminuido en aproximadamente un 85%, mientras que los valores de L2 y L3 permanecieron por encima del 50%. Tras 12 días, el ácido L - láctico en L2 había disminuido hasta el 10%. Finalmente, no se detectó ácido L-láctico en ninguna muestra tras el día 28.

Esta disminución puede atribuirse a su degradación por los microorganismos del suelo, similar a lo descrito por Siotto (2012), desapareciendo completamente en 25-30 días. Esto sugiere que el ácido láctico se metaboliza rápidamente en el suelo, de forma similar a la de la glucosa. Esta hipótesis se refuerza por nuestros resultados de DGGE, que muestran un cambio en las poblaciones microbianas en favor de aquellos microorganismos que pueden utilizar el ácido láctico como fuente de carbono.

Los valores de fósforo Olsen determinados en el suelo muestran un incremento en su biodisponibildad, obteniéndose los valores más altos el día 5 y a la dosis más alta de ácido láctico. Al final del mismo, los valores fueron similares al tratamiento L0. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Chen et al., 2006; Hwangbo et al., 2003; y Strobel, 2001, quienes concluyeron que esta acidificación del medio facilita la solubilización del fósforo.

3.3. Actividades enzimáticas del suelo

Desde el punto de vista de las propiedades bioquímicas del suelo, la aplicación de ácido L-láctico provocó un aumento de la actividad microbiana, donde la actividad deshidrogenasa, indicadora de la actividad global del suelo (Nannipieri et al. 1990) se estimuló por la adición de ácido láctico (Figura 4a), siendo este aumento dependiente de la concentración aplicada. Comparada con el tratamiento control, la actividad deshidrogenasa aumentó significativamente en un factor de 6,8, 65,4 y 66,6 para L1, L2 y L3 respectivamente. A partir del día 12 en adelante, la actividad deshidrogenasa comenzó a disminuir progresivamente.

De manera similar, la aplicación de ácido L-láctico también provocó una estimulación de la actividad fosfatasa (Figura 4b). Comparado con el tratamiento control, la actividad fosfatasa aumentó significativamente 1,4, 1,4 y 2,1 veces para los tratamientos L1, L2 y L3 y los días 7, 5 y

12, respectivamente. A partir del día 12 en adelante, la actividad fosfatasa comenzó a disminuir. Esta estimulación de la fosfatasa se debe a una mayor demanda de fósforo para apoyar el crecimiento microbiano observado.

Por el contrario, la Figura 4c muestra que el ácido L-láctico no afecta de ninguna manera a la actividad β-glucosidasa. Una posible hipótesis de esta falta de expresión de dicha enzima es que el ácido L-láctico proporciona una fuente de carbono en el suelo, por lo que no se inducen hidrolasas de hidratos de carbono.

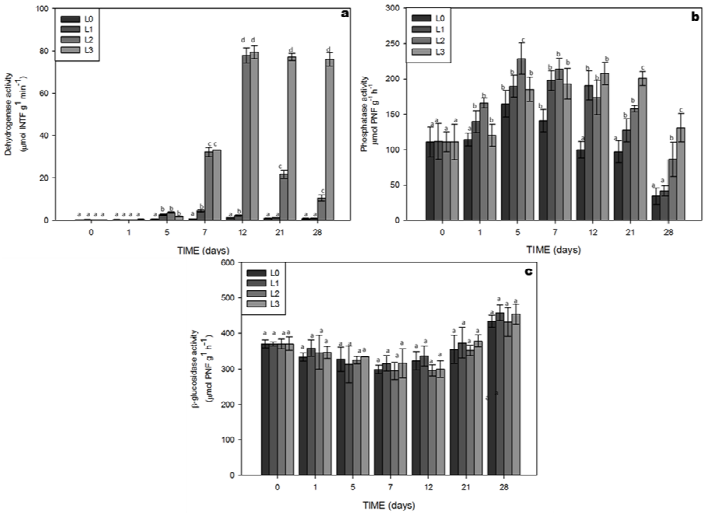


Figura 4. Actividades deshidrogenasa, fosfatasa y β-glucosidasa (figuras a, b y c respectivamente) en suelos.

3.4. Evolución de la comunidad bacteriana del suelo

El estudio de la biodiversidad microbiana muestra un gran cambio tras la aplicación del L-láctico, incrementándose especies que pertenecen a géneros para los que se ha descrito ampliamente el uso del lactato como fuente de carbono para crecer: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacter* y *Rhizobium* (Gao y col, 2012; Chai y col., 2009; Iswaran y col, 1973). Estos resultados indican la posible importancia del ácido láctico añadido al suelo para influir en la dinámica de las comunidades microbianas.

Por otra parte, muchas de las especies favorecidas por la adición de ácido láctico se consideran bacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPb) por su capacidad para estimular el crecimiento de las plantas, aumentar su rendimiento, reducir las infecciones patogénicas, así como reducir el estrés biótico y abiótico de las plantas (Lugtenberg y col 2009). Esto, junto con el hecho de que *Rhizobium* y *Azotobacter* son géneros implicados en la fijación biológica de nitrógeno nos lleva a pensar que el ácido láctico aplicado al suelo podría tener un importante rol en el mismo.

4. Conclusiones

El ácido L-láctico obtenido a partir de residuos de suero de leche conduce a una fuerte estimulación biológica del suelo y a la liberación de fosfato biodisponible. Además, está implicado en la conformación de la estructura de las comunidades microbianas en el suelo, estimulando las bacterias PGPB.

Estos resultados podrían tener gran importancia tanto en términos agronómicos como ecológicos, ya que la aplicación de ácido láctico al suelo podría ayudar a minimizar la aplicación de fertilizantes, reducir la contaminación ambiental y promover una agricultura sostenible.

5. Bibliografía

Baudoin E, Benizri E, Guckert A (2003). Impact of artificial root exudates on the bacterial community structure in bulk soil and maize rhizosphere. Soil Biol. Biochem. 35:1183-1192.

Buglass AJ, Lee SH (2001).Sequential analysis of malic acid and both enantiomers of lactic acid in wine using a high-performance liquid chromatographic column-switching procedure. J. Chromatogr. Sci. 39:453-458.

Chai Y, Kolter R, Losick R (2009). A widely conserved gene cluster required for lactate utilization in *Bacillus subtilis* and its involvement in biofilm formation. J. Bacteriol. 191:2423-2430.

Chen YP, Rekha PD, Arun AB, Shen FT, Lai W, Young CC (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. Appl. Soil Ecol. 34:33–41.

Drouillon M, Merckx R (2003). The role of citric acid as a phosphorus mobilization mechanism in highly P-fixing soils. Gayana Bot. 60:55–62.

Gao C, Hu C, Ma C, Su F, Yu H, Jiang T, Dou P, Wang Y, Qin T, Lv M, Xu P (2012). Genome sequence of the lactate-utilizing *Pseudomonas aeruginosa* strain XMG. J. Bacteriol. 194:4751-4752.

Haoliang L, Chongling Y, Jingchun L (2007). Low-molecular-weight organic acids exuded by Mangrove (*Kandelia candel* (L.) Druce) roots and their effect on cadmium species change in the rhizosphere. Environ. Exp. Bot. 61:159–166.

Hwangbo H, Park RD, Kim YW, Rim YS, Park KH, Kim TH, Kim KY (2003). 2-ketogluconic acid production and phosphate solubilization by *Enterobacter intermedium*. Curr. Microbiol. 47:87–92.

Iswaran V, Apte R, Sen A (1973). Use of sodium lactate for culture of *Rhizobium spp*. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. 128:240-242.

Lugtenberg B, Kamilova F (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. Annu. Rev. Microbiol. 63:541-556.

Métodos Oficiales de Análisis (1986). Secretaria General Técnica del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Nannipieri P, Grego S, Ceccanti C (1990). Ecological significance of the biological avtivity in soil. En: Bollag, J.M., Stotzky, G. (Eds.). Soil Biochemistry, 6. marcel Dekker, NY, 293-355.

Olsen SR, Cole CV, Watanabe FS, Dean LA (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circular 939:1–19.

Paredes-Mendoza M, Espinosa-Victoria D (2010). Organic acids produced by phosphate solubilizing rhizobacteria : A critical review. Terra Latinoamericana 28:61–70.

Siotto M, Sezenna E, Saponaro S, Degli Innocenti F, Tosin M, Bonomo L, Mezzanotte V (2012). Kinetics of monomer biodegradation in soil. J. Environ. Manage. 93:31-37.

Tabatabai MA (1994). Soil Enzymes. In Methods of soil analysis. Part 2: microbial and biochemical properties. Soil Science Society of America, pp. 775–833

6. Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (España), Plan Nacional I+D CTM2007-60210 / TECNO y la Consejería de Economía, Innovación, Ciencia y Empleo de la Junta de Andalucía (RNM-2011-7887).

PATROCINADORES

EMASESA metropolitana

FCC Servicios Ciudadanos

ABORGASE

FERTIORMONT

AMC CHEMICAL

Trichodex

COLABORADORES

CaixaBank

RETEMA Revista Técnica de Medio Ambiente

Enviro

AGRO SEVILLA

COAMBA

VIAJES El Corte Inglés CONGRESOS

FORO QUIMICA y SOCIEDAD www.quimicaysociedad.org