

SUSTRATEC: Nuevos sustratos tecnológicos con capacidad auto-fertilizante y de captación de contaminantes atmosféricos

Autor Principal: Silvia Gómez Valle (CARTIF); **Otros autores:** Raquel Marijuán (CARTIF), José María Sanz (CARTIF), Jose Feroso (CARTIF), Esther San José (CARTIF), Raúl Sánchez (CARTIF), María González (CARTIF), Jorge Calvo (CARTIF).

Los sustratos tecnológicos con capacidad auto-fertilizante y de captación de contaminantes atmosféricos, fueron diseñados con la adición de bacterias fijadoras de nitrógeno encapsuladas. Estas bacterias son capaces de modificar el ciclo del nitrógeno del suelo resultando en la transformación de los NOx de la atmosfera en nitratos, dejando un excedente de nitrógeno que permitirá reducir la fertilización mineral en años posteriores. La encapsulación de las bacterias se realizó para cumplir varios objetivos. Por un lado, proteger de manera temporal a los microorganismos de las condiciones ambientales del suelo y de la competencia microbiana y, por otro lado, permitir su liberación gradual, de manera que colonicen eficientemente la rizosfera.

Se investigaron varias metodologías de encapsulación, resultando la más adecuada para la implantación en los tecnosuelos la técnica de gelificación iónica externa. Esta tecnología consiste en hacer gotear sobre una disolución de cloruro cálcico una suspensión de bacterias en alginato sódico. En el momento que entran en contacto ambas soluciones, se produce un intercambio iónico entre los iones de Ca^{2+} y Na^+ , y se forman microcápsulas de alginato cálcico donde las bacterias quedan retenidas. Posteriormente se evaluó el efecto de la adición de estas microcápsulas en diferentes tipos de tecnosuelos, donde se hicieron pruebas de crecimiento en varios cultivos tanto a nivel de cámara climática como de invernadero. Los resultados demostraron que, de forma mayoritaria, la adición de este tipo de agentes microencapsulantes favorece un incremento generalizado del crecimiento de la planta.

Para evaluar el funcionamiento y viabilidad de las bacterias encapsuladas, se realizaron diferentes ensayos:



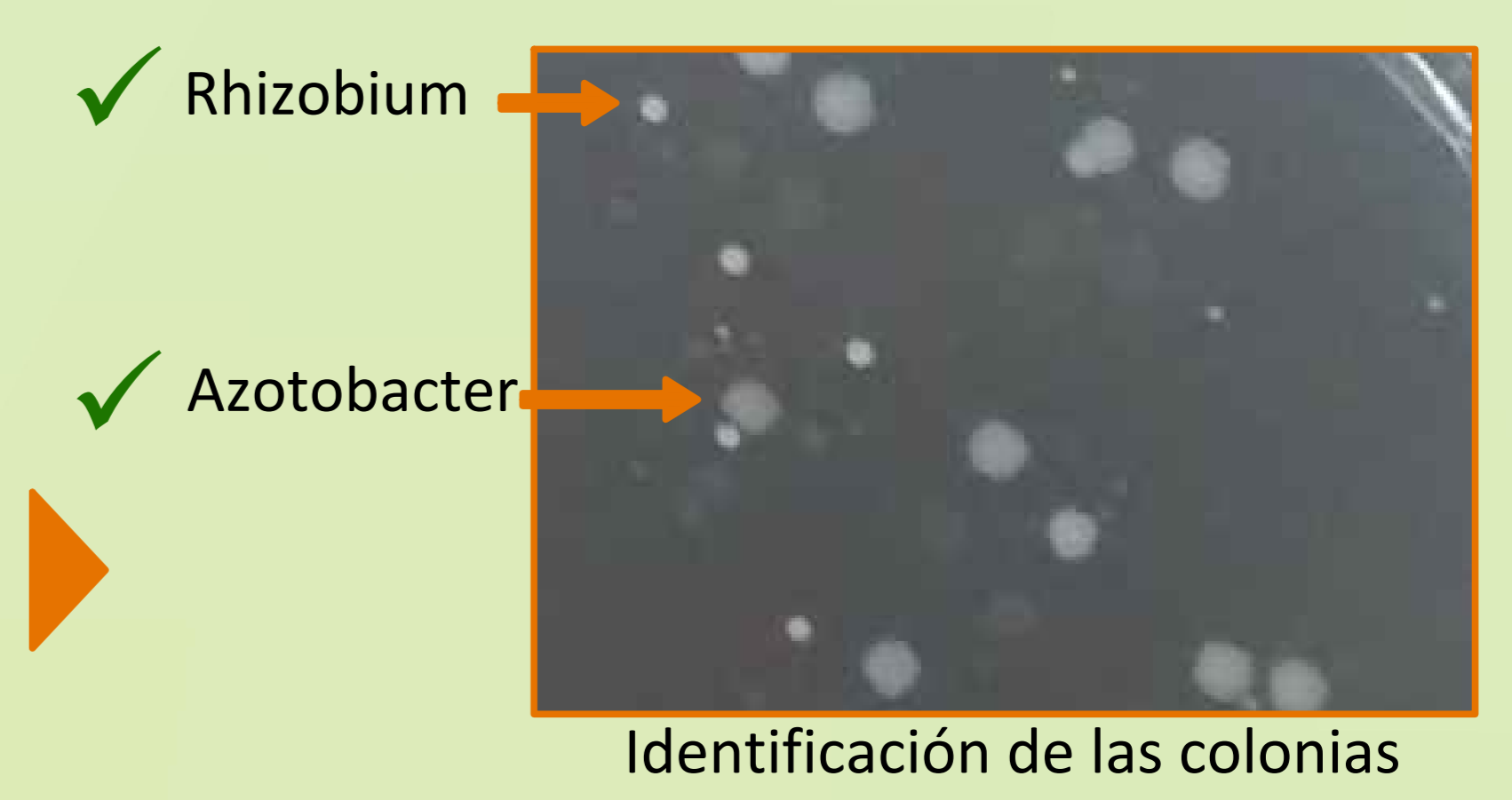
Formación de cápsulas de bacterias

Lavado de cápsulas

Supervivencia de bacterias encapsuladas

Se incubaron 10 cápsulas en un medio líquido en la que las bacterias no se reproducen y posteriormente se realizó la siembra en un medio de crecimiento general en el que se identificaron y contaron las colonias formadas.

- ✓ Número de células viables en 10 cápsulas: $1,24E+08$ UFC/mL



Identificación de las colonias



Placas AN con diluciones seriadas para recuento de células viables en 10 cápsulas: $1,24E+08$ UFC/mL

Liberación lenta de bacterias encapsuladas

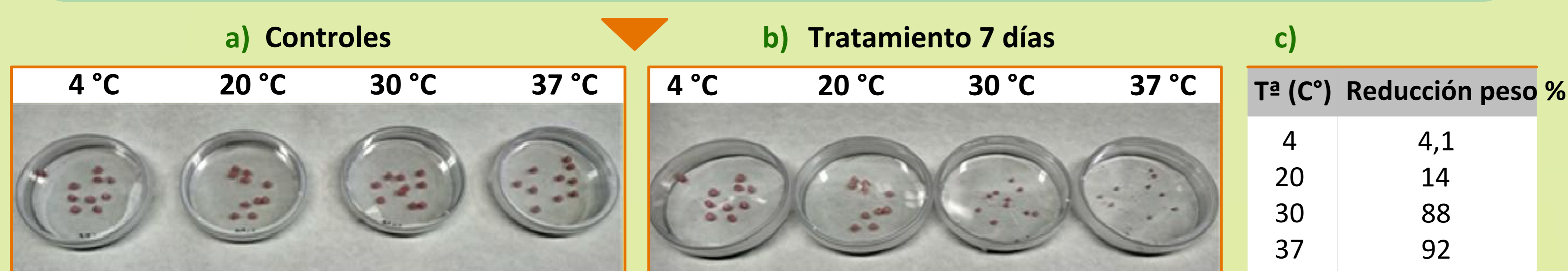
Recuento del nº de células viables de 10 cápsulas a 3 pH diferentes durante 4 días.

	pH6	pH7	pH8
24 horas	1,50E+07	1,75E+07	4,80E+06
48 horas	2,80E+07	3,30E+07	6,50E+06
72 horas	6,50E+06	3,50E+06	4,00E+06
96 horas	2,70E+06	2,85E+06	3,10E+06

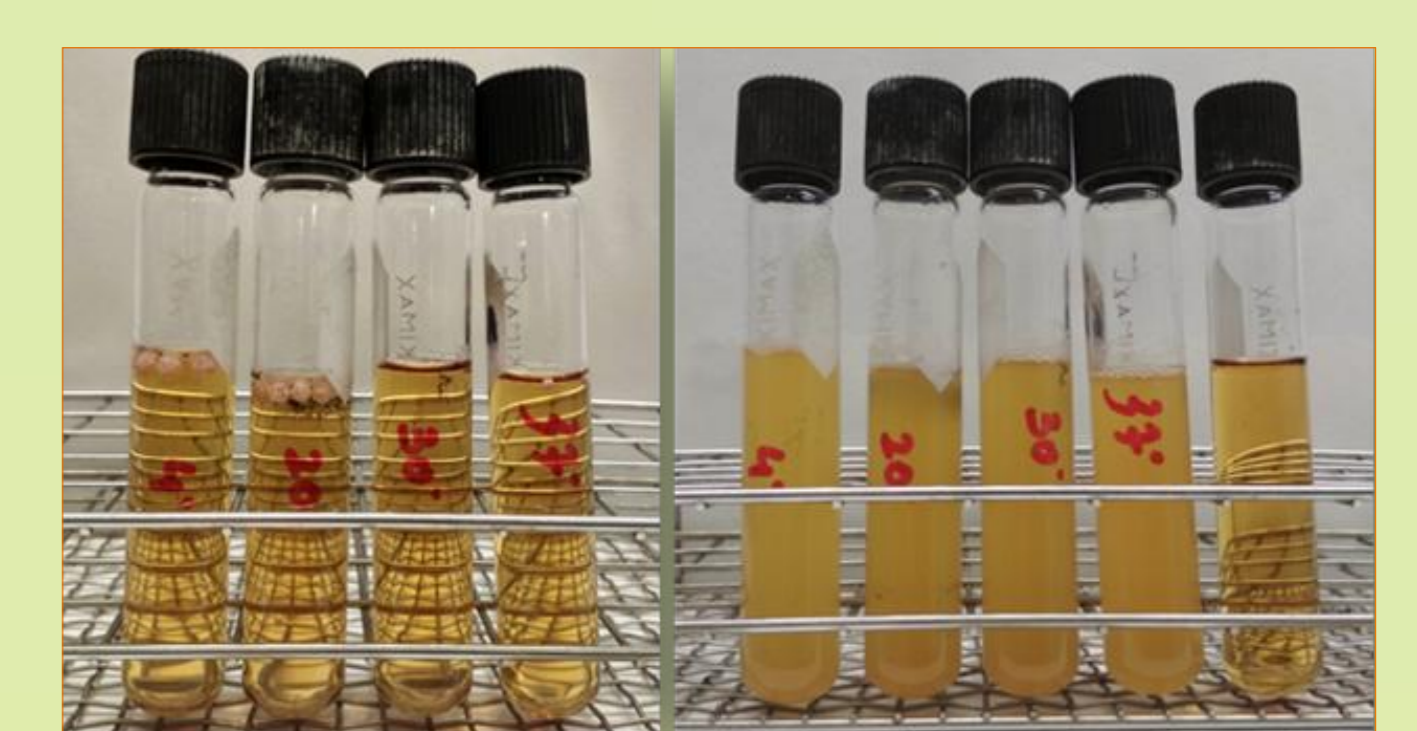
Número de UFC viables por mL a diferentes tiempos y pH

Viabilidad de las cápsulas frente a las temperaturas

- ✓ **Células viables en capsulas sometidas a varias temperaturas:** evaluación de la viabilidad de las bacterias sometidas a estrés térmico. Se tomaron las cápsulas tras la incubación durante 7 días y se crecieron durante 12 horas, y se realizó el conteo de UFC
- ✓ **Peso de las capsulas a diferentes temperaturas:** Influencia de la temperatura en el peso de las cápsulas. Se sometió a 10 capsulas a 4 temperaturas diferentes durante 7 días. Se enfrentó frente a controles no sometidos a estrés térmico.



Cápsulas sometidas a varias temperaturas y resultados de reducción de peso



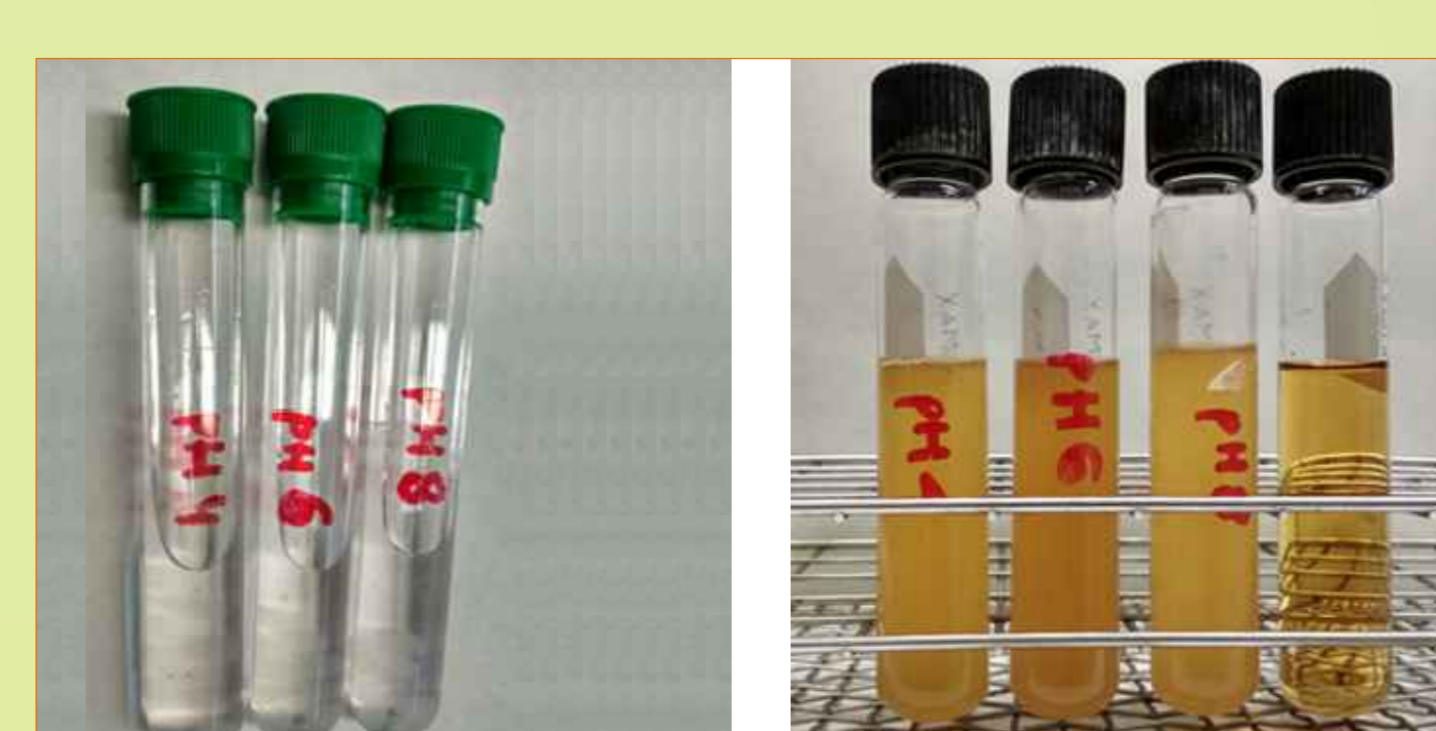
Crecimiento de las cápsulas

Tª (°C)	UFC/mL
4°	$2,3 \times 10^{10}$
20°	$3,99 \times 10^{10}$
30°	$4,18 \times 10^{10}$
37°	$2,4 \times 10^9$

Número de UFC viables por mL a diferentes temperaturas

Viabilidad de las cápsulas frente al pH

Incubación de las capsulas en agua a diferentes pH y posterior evaluación de la viabilidad.



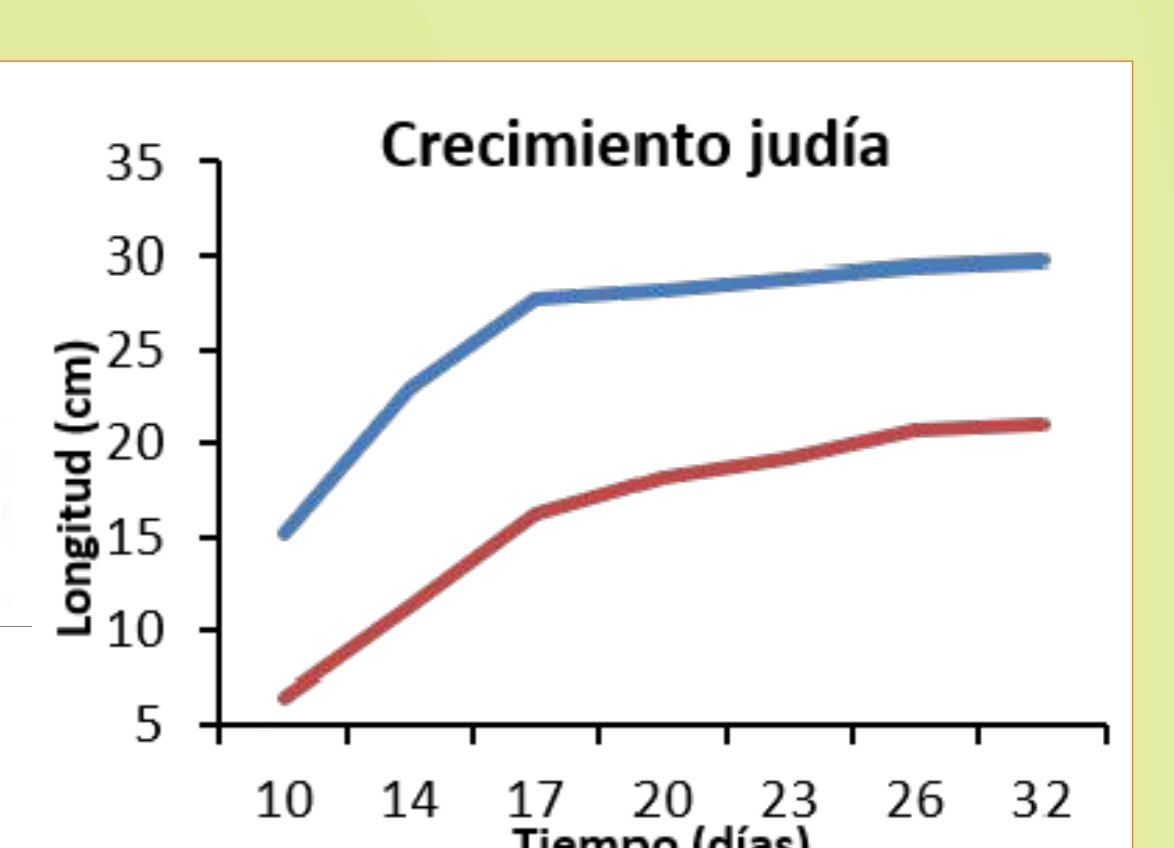
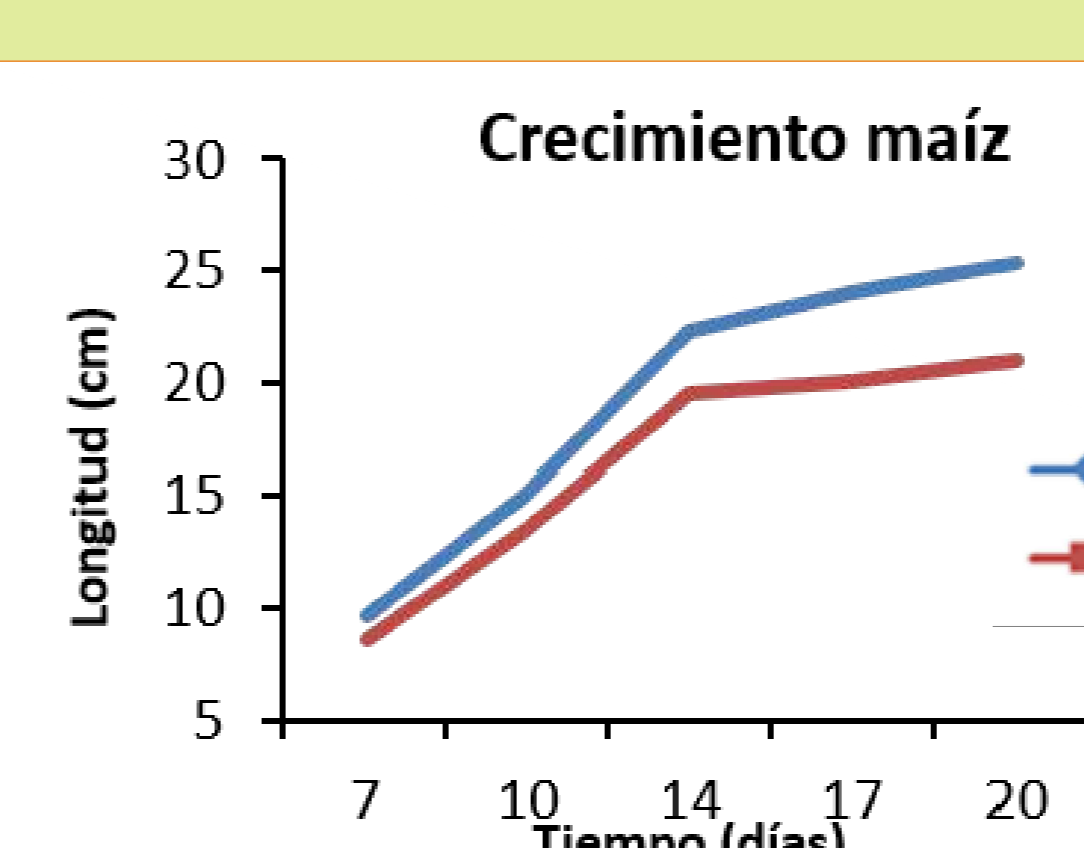
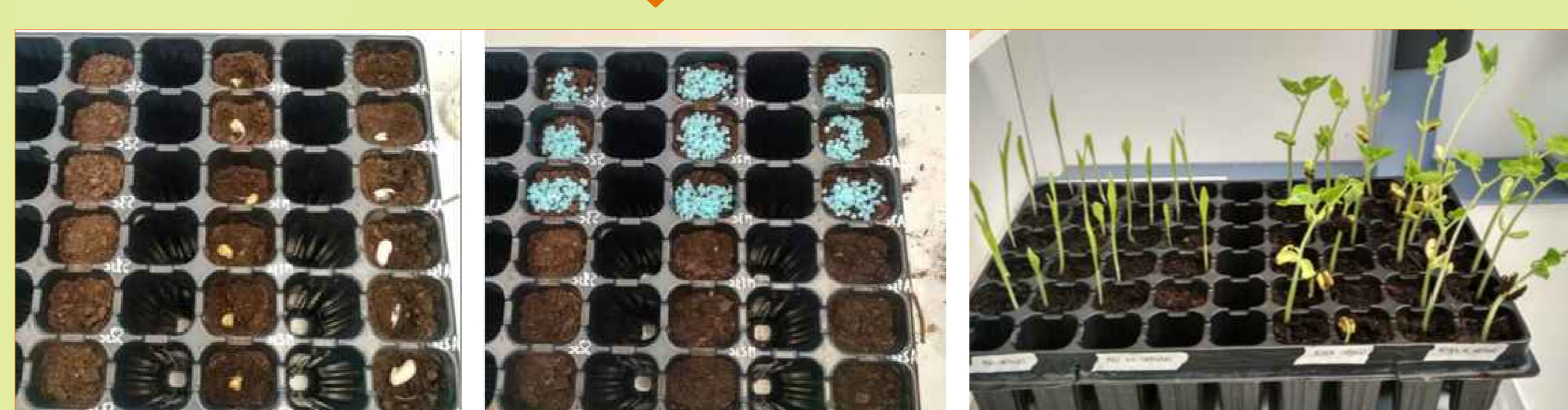
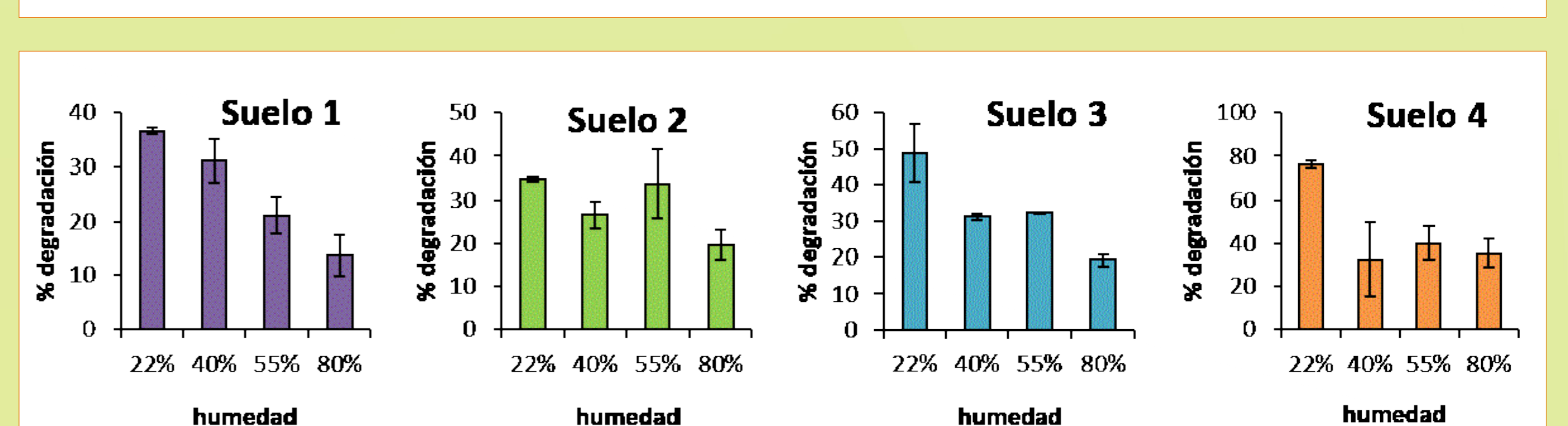
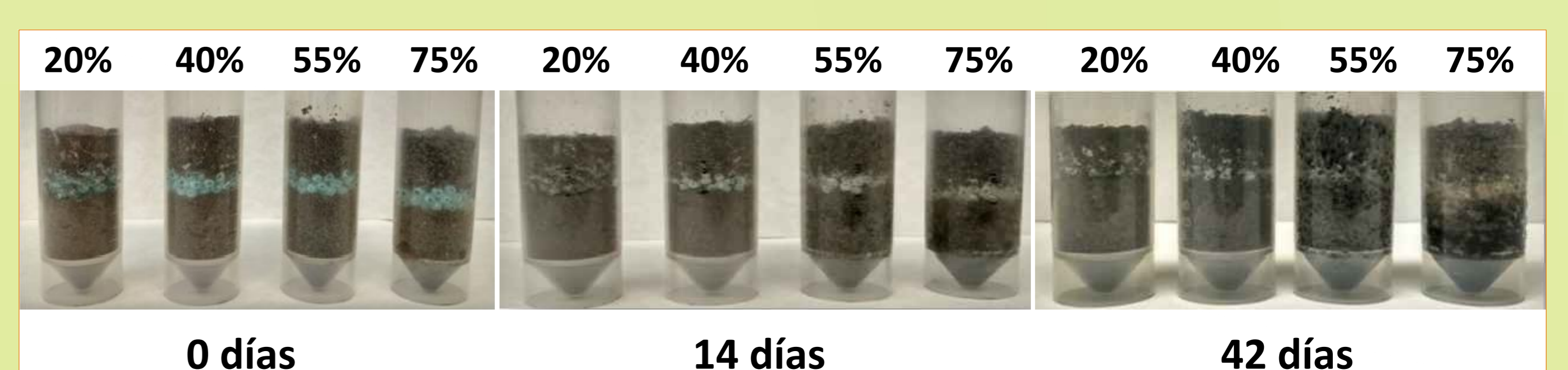
Crecimiento de las cápsulas a diferentes pH

pH	UFC/mL
4	$2,5 \times 10^9$
6	$7,6 \times 10^9$
8	$1,28 \times 10^{10}$

Número de UFC viables por mL a diferentes pH

Biodegradación y viabilidad de cápsulas en suelo

- ✓ **Sin planta:** ensayos de comportamiento sobre sustratos con diferentes humedades para calcular la tasa de degradación de las capsulas en entorno real controlado.
- ✓ **Con planta:** ensayos de comportamiento de las plantas en sustratos con bacterias. Evaluando la diferencia de crecimiento con y sin inoculación de microorganismos.



Tras todos estos ensayos, se comprobó que las dos bacterias eran viables tras la encapsulación, que se liberaban de forma progresiva a pH habituales en el suelo, que el peso de las cápsulas se reducía según se incrementaba la temperatura, pero que las bacterias resisten un amplio rango de temperatura sin influir de forma drástica en el número de células viables, que el pH no afecta a la supervivencia por lo que podrían inocularse en suelos a diferentes pH, siendo estables en la mayoría de suelos, aunque la humedad afecta a la conservación de las mismas.

Todo esto unido al mayor crecimiento de las plantas, concluye que los sustratos desarrollados son viables, funcionales y efectivos.

