

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



REYES PAREJA ARIEL ALEJANDRO

Capítulo I : Introducción



Capítulo I: Introducción

Planteamiento del problema

- Manejo de residuos en Ecuador, 59000 ton.
 - Tratamiento: 20%
 - Recicla 14%
 - Incinera, vertederos o al medio ambiente
- Calidad del biol
 - Naturaleza de producción
 - pH

Justificación

- Codigestión anaerobia
- Materia prima son desechos orgánicos:
 - Plátano maduro
 - Efluentes piscícolas de tilapia roja
 - Estiércol bovino
- Biol es un biofertilizante versátil aplicable en suelo, sistemas acuapónicos y cultivos vegetales *in vitro*

Capítulo I: Introducción

Hipótesis: nulas y alternativas

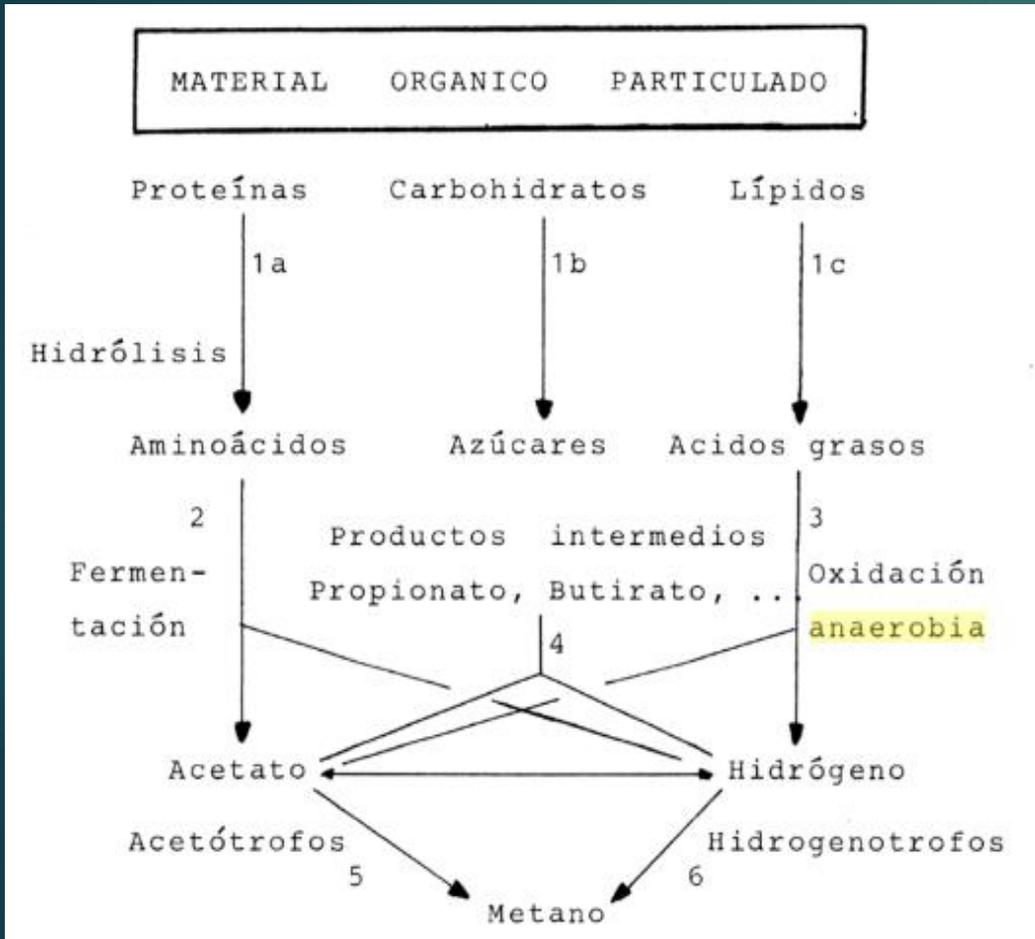
- El proceso de digestión anaerobia es óptimo o no
- El biol producido es de calidad o no lo es y en concentraciones adecuadas cumple los requerimientos mínimos de macronutrientes, micronutrientes y compuestos orgánicos necesarios para el desarrollo vegetal *in vitro* de *Zea mays* o no los cumple
- El biol mejora la calidad de la tierra negra, roja y arcillosa o no lo mejora

Objetivos

- **Objetivo general**
 - Determinar los efectos de diferentes concentraciones de biol sobre el desarrollo vegetal de plantas de maíz (*Zea mays*) cultivadas *in vitro* en medios de cultivo MS con modificaciones.
- **Objetivos específicos**
 - Caracterización físico química (nitrógeno, AGV, pH, ST, STV, DQO, OD, y CE) de: inóculo, sustratos, mezcla de alimentación y biol obtenido.
 - Determinación de la relación fitohormonal del biol.
 - Determinación de los efectos del biol en diferentes tipos de tierra.

Capítulo II: Marco teórico

Esquema de digestión anaerobia



Codigestión anaerobia: mejora la calidad de los subproductos

- Proceso en general:
- hidrólisis
 - acidogénesis
 - acetogénesis
 - metanogénesis

Capítulo II: Marco teórico

Subproductos digestión anaerobia

Biogás

mezcla de gases inflamables:
metano y dióxido de carbono

Biol

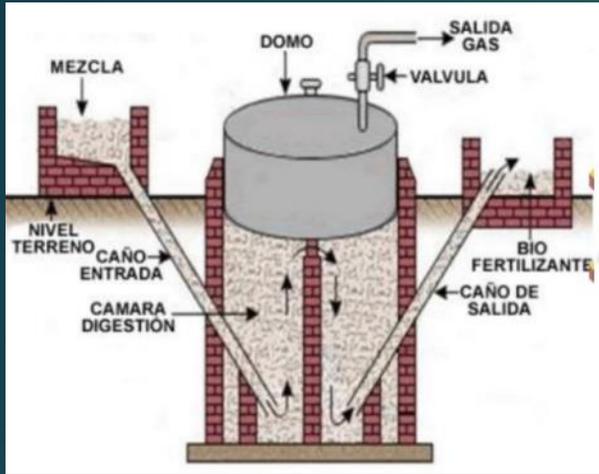
mezcla del influente digerido con la
biomasa microbiana generada
durante el proceso de digestión

Componente	Rellenos sanitarios	Residuos agrícolas
Metano	30-65 %	50-80%
Dióxido de carbono	20-40 %	20-50%
Nitrógeno	5-40 %	0-1%
Hidrógeno	1-3 %	0-2%
Oxígeno	0-5 %	0-1%
Sulfuro de hidrógeno	0-0.01 %	100 - 70 ppm

Componente	Estiércol vacuno	Estiércol vacuno y restos de comida casera
pH	7.96	8.1
Materia seca	4.18%	4.2%
Nitrógeno total	2.63g/kg	2.4 g/Kg
Nh4	1.27 g/Kg	1.08 g/Kg
Fósforo	0.43 g/Kg	1.01 g/Kg
Potasio	2.66 g/Kg.	2.94 g/Kg

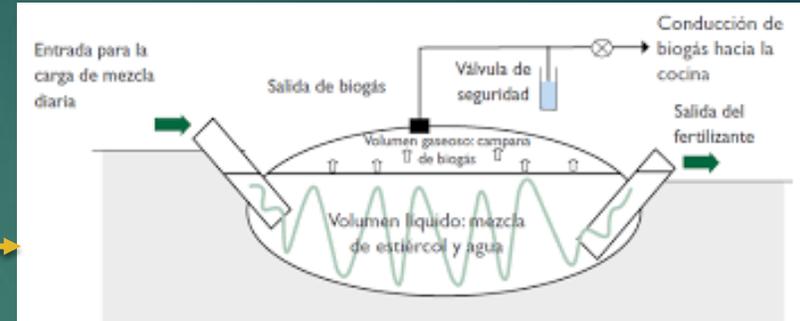
Componentes	Cantidad (ng/g)
Ácido indol acético	9.0
Giberelina	8.4
Purinas	9.3
Tiamina (Vit B1)	259.0
Riboflavina (Vit B2)	56.4
Ácido fólico	6.7
Ácido pantoténico	142.0
Triptofano	26
Cianocobalamina	4.4

Capítulo II: Marco teórico



largos tubos creados con membranas de PVC o PDA

Biodigestor taiwanés o tubular



Generalmente están contruidos en acero

Biodigestor tipo hindú

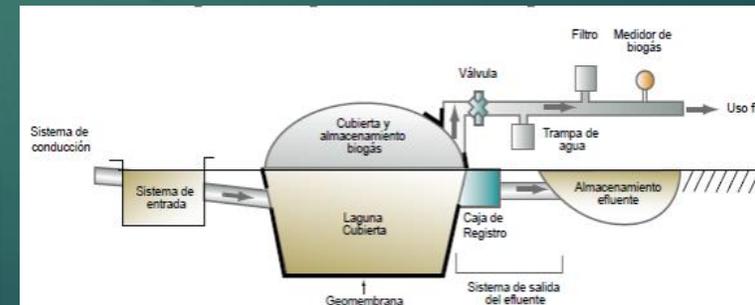
Diseño de biodigestores

Biodigestor de laguna cubierta

creadas con diferentes membranas sin calefacción

Biodigestor tipo chino o de domo fijo

Construido a partir de hormigón, piedras, cementos o ladrillos que habitualmente se entierra en el suelo



Capítulo II: Marco teórico

pH	oscile entre 6,5 y 7,5 para mejorar el rendimiento
DQO	Mide la susceptibilidad del sustrato a oxidarse por enzimas bacteriolíticas.
Sólidos Totales	forman parte de una muestra líquida pero que no son líquidos y son el residuo que se obtiene al evaporar la muestra bruta hasta peso constante
Sólidos Totales Volátiles	Corresponden a los compuestos de naturaleza orgánica en una muestra líquida
AGV	Son el resultado del metabolismo acetogénico
Nitrógeno	El nitrógeno puede presentarse en varias formas a lo largo del tratamiento anaeróbico lo que sugiere que no se encontrará únicamente en el biol como amonio o nitratos
Oxígeno disuelto	la presencia de oxígeno en la rizosfera es de vital importancia para el crecimiento adecuado de las plantas
Conductividad	representa la movilidad de los iones dentro del sustrato y está relacionada principalmente con la presencia de sales minerales que complementan el mismo

Capítulo II: Marco teórico

Sustratos

Materia orgánica animal.-

soluciona un problema grande la industria pecuaria relacionado con los requerimientos de energía

- Estiércol bovino aporta microorganismos anaerobios
- Efluentes piscícolas debido a su cantidad de agua favorecen la hidrólisis

Materia orgánica vegetal.-

confieren a la mezcla de digestión los nutrientes necesarios para que las bacterias puedan subsistir y generar los productos de digestión correspondientes

- Plátano maduro rico en azúcares de fácil asimilación

Capítulo II: Marco teórico

Cultivo in vitro

- Producción de metabolitos vegetales
- Cultivo de células vegetales indiferenciadas
- Micro propagación
- Medio de cultivo MS: representación muy aproximada de los medios naturales en los que las plantas crecen normalmente (macronutrientes, micronutrientes, compuestos férricos y orgánicos)
- Zea mays o maíz es uno de los cultivos vegetales más importantes

Cultivo en suelo

- Se usa tradicionalmente con fertilizantes de diferentes tipos
- Producción en masa de plantas
- Suelo negro rico en materia orgánica y nutrientes como el Ca, Mg, K y Na
- Suelos rojizos rico en sesquióxidos de hierro con una gran filtración de agua
- Suelo arcilloso conformado por partículas de silicato de aluminio hidratado

Capítulo III: Materiales y métodos



Fase I: biodigestor anaerobio

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



Fasell biodigestor anaerobio

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

Capítulo III: Materiales y métodos

Recolección de materia prima



Puestos de venta de plátano maduro vía a Quevedo



Efluente piscícola de tilapias rojas



Lugar de recolección de excremento de vaca

Operación del biodigestor

ECUACIONES

$$V_{\text{total}} = V_{\text{reactor}} / t$$

$$m_{\text{DQO}} = CO * V_{\text{reactor}}$$

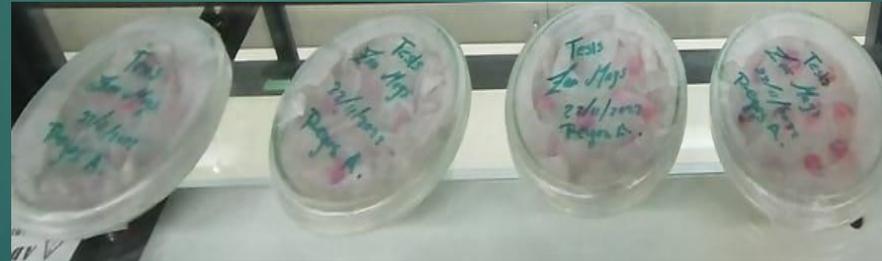
$$V_{\text{MO}} = m_{\text{DQO}} / C_{\text{DQO MO}}$$

$$V_{\text{agua}} = V_{\text{total}} - V_{\text{MO}}$$

Capítulo III: Materiales y métodos

Crecimiento vegetal *in vitro*

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



Preparación de los medios MS:
Diseño experimental y síntesis

Germinación aséptica semillas

Siembra bajo condiciones
estériles

Capítulo III: Materiales y métodos

Crecimiento vegetal en suelos

Preparación y diseño experimental del ensayo en suelo

Recolección y disposición del sustrato

Germinación y crecimiento

Factor A: tipos de sustrato

a0 Tierra negra

a1 Tierra roja

a2 Tierra arcillosa

Factor B: variación del medio

b0 5 %

b1 1 %

b2 0.1 %



Capítulo IV: Resultados y discusión

Caracterización de la materia prima; volúmenes de mezcla alimentación.

Parámetro	Media Plátano maduro	Media teórica Plátano maduro (CIESIQA, 2017)	Media efluentes piscícolas tilapia roja	Media teórica efluentes piscícolas de tilapia roja(Luna, 2011)	Media estiércol bovino	Promedio teórico estiércol bovino(Pereyra , 2022)	Agua destilada
ST (g/L)	28.8	226.0	3.92	30.0	11,73	3.2	-
STV (g/L)	24.56	169.0	2.72	10.0	9,33	2.2	-
DQO(g/L)	79.03	139.0	14.97	25.0	16,26	21.2	-
Volúmen de alimentación (L)	0.40	-	2.14	-	0.98	0.40	4.08

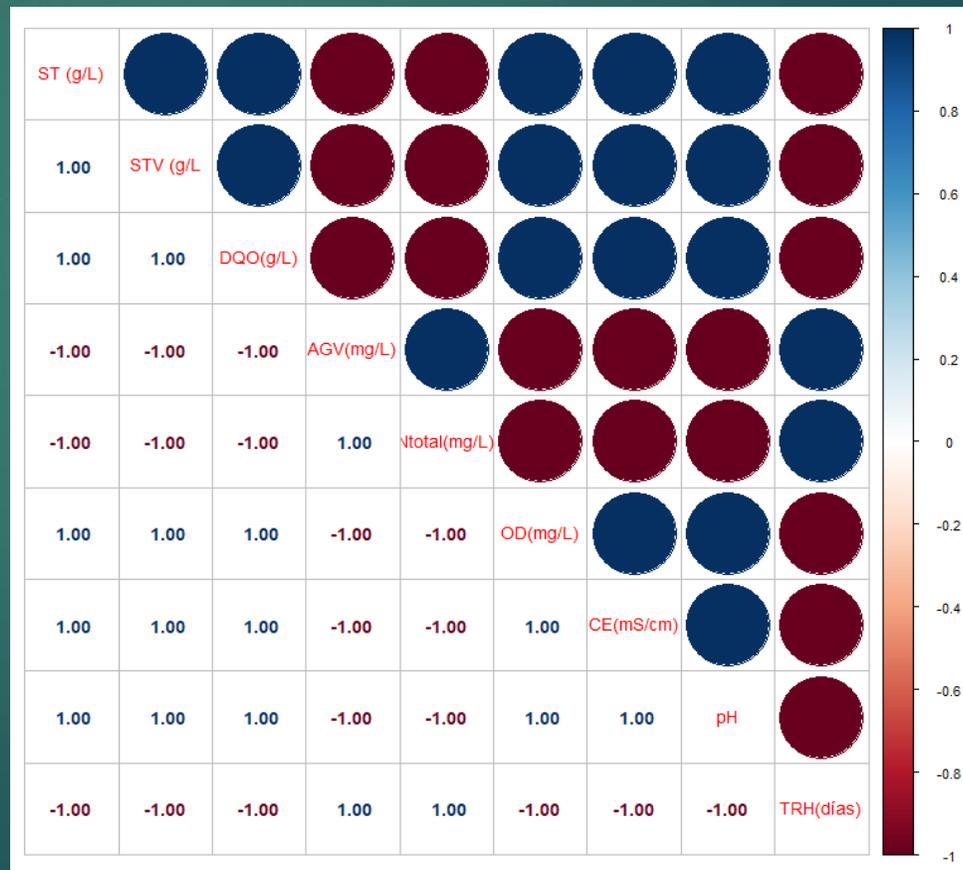
Capítulo IV: Resultados y discusión

Estudio del proceso de codigestión

Parámetros de evaluación

Parámetros	Media para mezcla alimentación	Media para biol
ST (g/L)	803.0	323.2
STV (g/L)	401.0	162.7
DQO (g/L)	11.94	3.10
AGV (mg/L)	210	1660
Nitrógeno(mg/L)	186.8	653.8
OD (mg/L)	3.9	3.4
CE(mS/cm)	3.7	3.5
pH	6.9	3.5

Análisis de correlación (Pearson)



Capítulo IV: Resultados y discusión

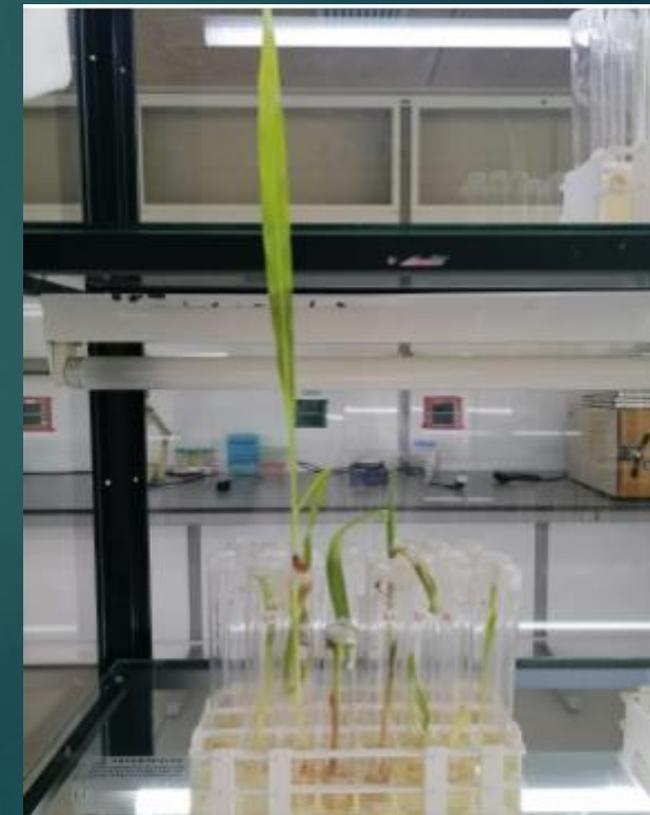
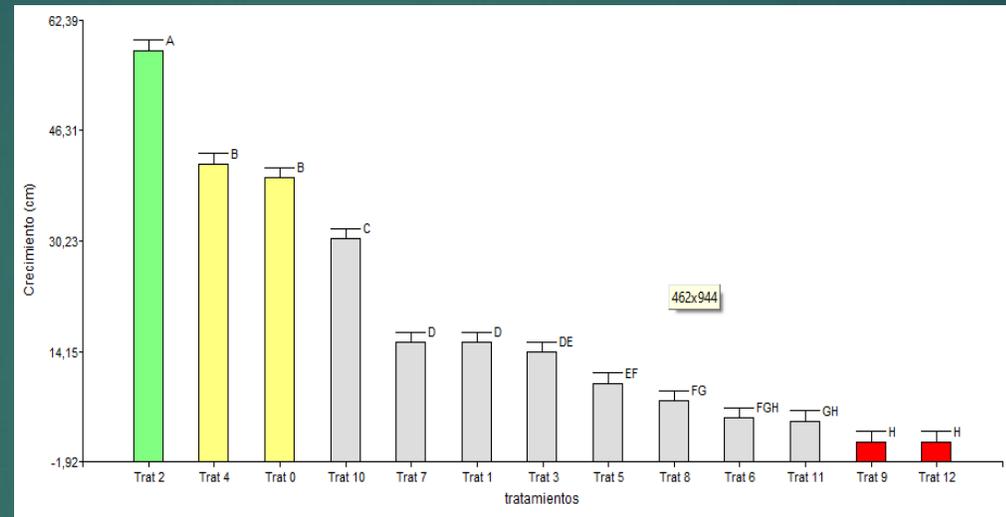
Análisis crecimiento *in vitro*

ANOVA

Histograma de crecimiento



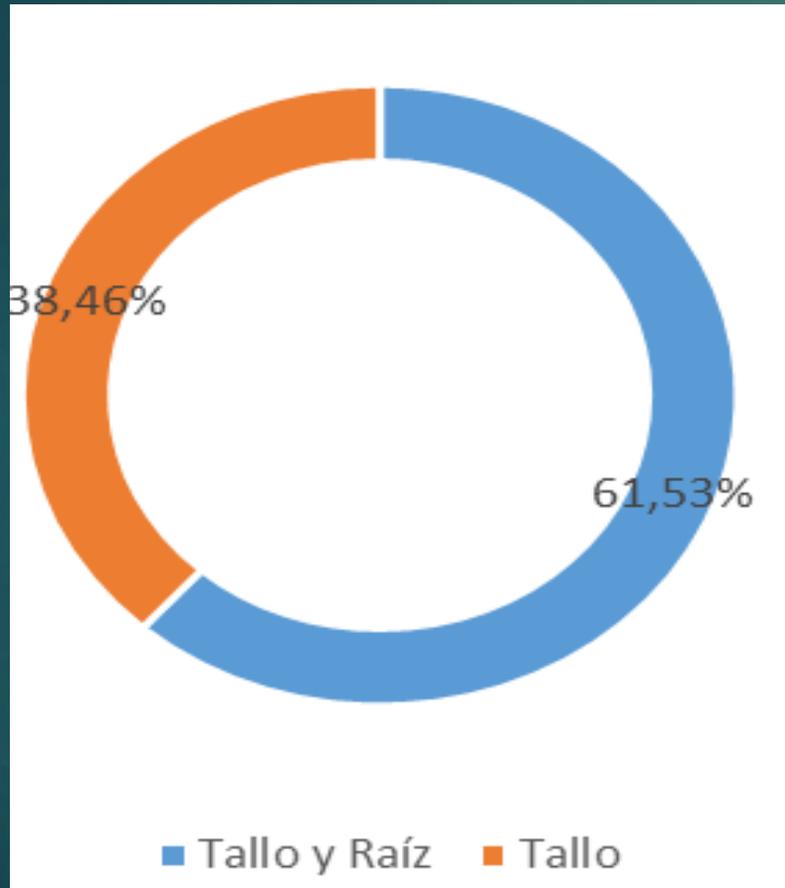
Fuente de variación	Valor-F	Valor P
Modelo	339.31	<0.0001
Tratamiento	333,61	<0.0001
Medio	351.40	<0.0001
Biol	501.85	<0.0001
Bloque	0.02	0.8858
Contraste (0: 1,2,3)	89.56	<0.0001
Contraste (0: 456)	235.26	<0.0001
Contraste (0: 789)	443.85	<0.0001
Contraste (0:10,11,12)	530.35	<0.001



Capítulo IV: Resultados y discusión

Análisis crecimiento *in vitro*

Gráfico circular sobre relación fitohormonal



Histograma de crecimiento y relación fitohormonal

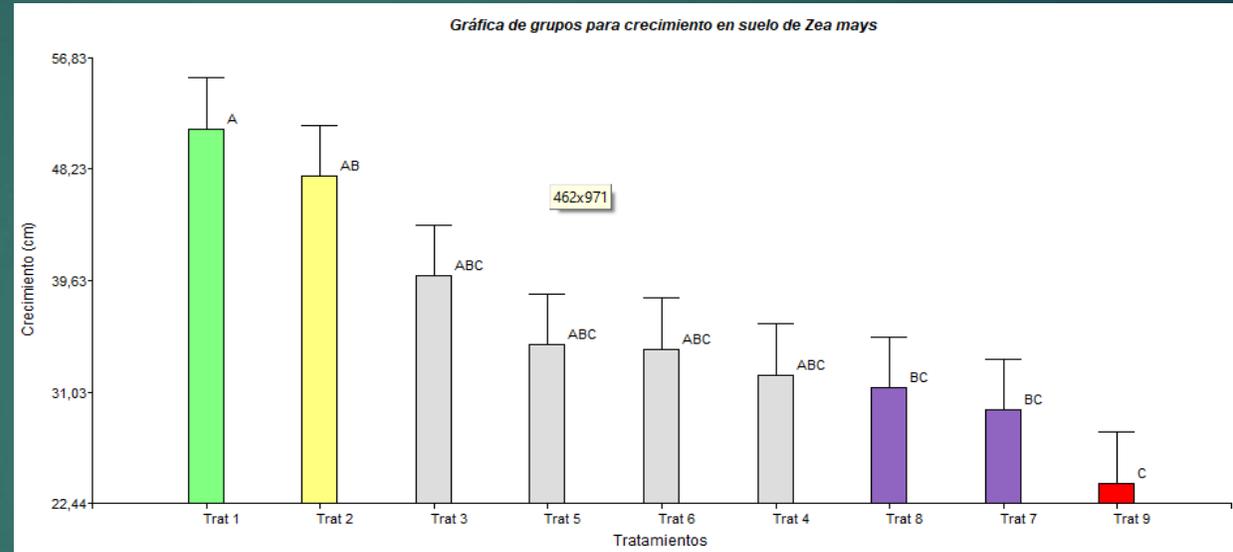


Capítulo IV: Resultados y discusión

ANOVA

Fuente de variación	Valor-F	Valor P
Modelo	3.96	0.0072
Tratamiento	0.78	0,0032
Suelo	16.54	0.0001
Biol	1.65	0.2222
Bloque	0.01	0.9897

Histograma de crecimiento en suelo



Capítulo V: Conclusiones

Mezcla de alimentación es estable y homogénea

- ST, STV y DQO no presentan SD alta

El biol producido es de calidad

- Actividad biológica óptima debido al pH, [AGV] y [nitrógeno]

El biol en cultivos in vitro

- Para potenciar el crecimiento vegetal aplicar dosis de 0.1 mL del biofertilizante en un medio de cultivo MS estándar (tratamiento 2).
- Para sustituir macronutrientes y micronutrientes se usa 1 mL de biol como suplemento a un medio de cultivo sin estos compuestos (Tratamiento 4).
- biol no satisface adecuadamente la demanda de compuestos orgánicos y sacarosa
- La relación fitohormonal del biol está principalmente equilibrada
- la relación entre auxinas y citoquininas, o compuestos análogos, es de 1 a 1.

El biol en suelo

- interactúa con la tierra negra mejorando significativamente sus propiedades
- No interactúa adecuadamente con tierras rojizas y arcillosas.

Los datos experimentales presentan normalidad y reflejan uniformidad en el muestreo

Capítulo VI: Recomendaciones

Materia prima

- Muestrear hasta obtener valores constantes

Biol

- Esterilizarse para guardado
- Guardarse fuera de la luz a temperatura ambiente

Cultivo in vitro

- El material vegetal debe ser estrictamente esterilizado antes de la germinación y la siembra

Cultivo en suelo

- Regar con la misma cantidad de agua para no incrementar el error experimental