

**PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE UN BIOMATERIAL AGLOMERADO ENRIQUECIDO PARA
SIEMBRA EN VIVERO**

I. CAMPO TÉCNICO

[001] La presente divulgación se desarrolla en el campo de biomateriales empleados en la industria agrícola. En particular se refiere a un proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido, adecuado como sustituto de sustratos de siembra en vivero.

II. DESCRIPCION DEL ESTADO DE LA TECNICA

[002] Para la propagación vegetal en vivero ya sea para el sector forestal, ornamental y hortofrutícola, se utilizan diferentes matrices sólidas de tipo orgánico, inorgánico o combinado. Estos materiales permiten la germinación de semillas y crecimiento de plantas, por un periodo de tiempo determinado. Una vez el material vegetal tiene las condiciones requeridas para el trasplante como altura, peso, desarrollo de raíces y brotes, entre otros, se procede a su comercialización y siembra en sitio definitivo. Una práctica agronómica frecuente para propagar material vegetal es el uso de grandes cantidades de suelo de la capa arable o fértil, turba y materiales lignocelulósicos, con diferente grado de transformación. De acuerdo con el tipo de material vegetal, se utilizan sobre el material productos de síntesis química como fitohormonas o enraizadores y en los sustratos de siembra, fertilizantes minerales y productos biológicos para promover el crecimiento vegetal y mejorar la calidad fitosanitaria. Esto incrementa los costos de producción por planta y puede generar un impacto ambiental elevado dado que algunos productos se lixivian del sustrato y generan contaminación de aguas superficiales.

[003] En este sentido, el impacto de las actividades agrícolas sobre el suelo incluye la contaminación con diferentes productos químicos empleados en los cultivos, con la consecuente disminución de la biodiversidad edáfica, la degradación del suelo y a corto, mediano y largo plazo la pérdida de fertilidad. Lo anterior, ocasiona una disminución o pérdida en la productividad de los

sistemas agrícolas. Sumando a lo anterior, el uso de suelo como sustrato en los viveros, genera la remoción de la capa arable o fértil de los ecosistemas naturales, lo que produce erosión, pérdida de carbono, de nutrientes y de diversidad biológica entre otros. Para mitigar este impacto en el campo técnico se emplea como sustituto la turba, sola o en mezcla con suelo. Este material orgánico ha dado una solución al problema mencionado, sin embargo, su uso masificado también genera un impacto ambiental por la remoción de una forma de carbono estable y de lenta renovación.

[004] Por otra parte, en Colombia, a pesar de tener variedad de climas y zonas geográficas con amplia diversidad forestal, solamente el 0.2% del producto interno bruto (PIB) del país corresponde al desarrollo de este sector agroindustrial. Una de las razones que incide en esta condición se relaciona con el bajo nivel de desarrollo tecnológico en la primera fase del sistema productivo, la propagación del material vegetal. La propagación de plantas de interés agrícola y forestal ha sido ampliamente reconocida como una práctica fundamental en el campo de las ciencias agrícolas ya que de la calidad de la semilla botánica o material vegetativo que se utilice, va a depender gran parte del proceso productivo.

[005] Otros factores que limitan el éxito en el establecimiento de cultivos forestales, ornamentales y hortofrutícolas a mediano y largo plazo son el acceso a suelos con condiciones de fertilidad adecuadas para las diferentes especies y las prácticas a nivel de vivero que determinan que un elevado porcentaje de las plantas propagadas presenten limitaciones en su crecimiento y desarrollo en esta etapa. La siembra en vivero se realiza convencionalmente en sustratos de alto costo ambiental y económico que incluyen la capa arable de suelos fértiles y los sustratos orgánicos como la turba anteriormente descrita o la fibra de coco los cuales traen desventajas como: el alto costo por importación, la sobre explotación de un recurso natural de lenta regeneración como la turba, concentraciones bajas de nutrientes, ausencia de microorganismos benéficos, compactación y en ocasiones baja calidad fitosanitaria. Adicionalmente, este tipo de sustratos requieren correcciones agronómicas como el ajuste del pH y la adición de dosis altas de fertilizantes minerales que al llegar al suelo en el momento del trasplante a sitio definitivo

incrementan el impacto ambiental asociado con el uso excesivo de productos químicos en suelo y aguas.

[006] Con base en todo lo anterior, se identifica en la técnica la necesidad de desarrollar un biomaterial que permita reducir en cierto porcentaje el empleo de matrices sólidas (turba y/o suelo) que son de lenta regeneración en la naturaleza y el uso excesivo de fertilizantes altamente solubles o reactivos que alteran el pH de los sustratos con un costo de producción reducido y menor impacto ambiental. Además, que tenga las condiciones físicas, químicas y microbiológicas para promover el crecimiento vegetal en la matriz de siembra.

[007] De igual manera, se evidencia la necesidad de un proceso de obtención que provea este tipo de biomateriales, que puedan convertirse en sustratos, con agentes biológicos benéficos para el crecimiento vegetal, donde además se manejen bajas dosis de nutrientes minerales que favorecen la estabilidad de los componentes del sustrato y la actividad promotora del crecimiento vegetal hasta cuatro meses con elevada estabilidad. Adicionalmente, en la técnica también se buscan biomateriales que ayuden a retener agua manteniendo a su vez la actividad biológica de los microorganismos promoviendo así el crecimiento vegetal

III. BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

[008] La presente divulgación corresponde a un proceso de obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero, el cual tiene materiales eficientes y amigables con el medio ambiente y que puedan ser empleados como sustratos de siembra en la propagación de diferentes materiales vegetales. En el contexto del presente desarrollo, se revela aquí el proceso de obtención de un biomaterial aglomerado a base de material lignocelulósico transformado, desinfectado y enriquecido con bio inoculantes, bajas dosis de fertilizantes químicos y opcionalmente un polímero orgánico que actúa como hidrorretenedor para utilizarlo como sustituto de sustratos de siembra en vivero.

[009] Particularmente, el presente desarrollo se refiere a un proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero que comprende: a) transformar el residuo sólido o la biomasa lignocelulósica de origen forestal con la inoculación, aplicación o incorporación de microorganismos seleccionados del grupo que comprende: hongos de podredumbre blanca solos, en co-cultivo o consorcio, b) disminuir las poblaciones de microorganismos fitopatógenos en el material obtenido de la etapa a) por medio de fotocátalisis con TiO_2 /luz ultravioleta y proceso foto Fenton, con los que se obtiene el sustrato desinfectado; y c) mezclar el sustrato desinfectado de la etapa b) con microorganismos promotores de crecimiento vegetal (MPCV) y un fertilizante para obtener un sustrato de siembra enriquecido.

[010] Una modalidad de la invención se refiere a un proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero en donde el pH de la etapa de degradación se encuentra en un rango de 6.0 a 7.0 y el tiempo de transformación se da en un periodo de 3 a 4 meses.

[011] En otra modalidad de la presente divulgación se proporciona un proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero en donde el sustrato desinfectado adicionalmente es mezclado con un polímero orgánico biodegradable hidroretenedor.

[012] Otra realización de la presente invención se refiere a un proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero en donde el polímero orgánico biodegradable hidroretenedor adicionado es seleccionado de un grupo que comprende: Carboximetil celulosa, goma xantana, alginato, goma guar o una combinación de los mismos.

[013] En una modalidad de la invención, el proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero además comprende una etapa que consiste en d) refrigerar el sustrato de siembra enriquecido de la etapa c) a una temperatura entre 3°C-10°C.

[014] En una modalidad adicional, el sustrato de siembra enriquecido obtenido de la etapa de mezcla del proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero se refrigera a 7°C.

[015] En una modalidad adicional, la presente divulgación proporciona un proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero en donde la transformación del material lignocelulósico de origen forestal se hace en presencia de una solución de nutrientes organominerales y microorganismos.

[016] Otra modalidad de la invención se refiere a un proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero en donde el material lignocelulósico es seleccionado del grupo que comprende residuos de aserrinaje de árboles maderables, corteza obtenida del proceso de aprovechamiento de plantaciones forestales preferiblemente *Pinus* sp.

[017] En una modalidad adicional, la presente divulgación proporciona un proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero en donde el material lignocelulósico adicionalmente comprende turba.

[018] Una modalidad de la invención se refiere a un proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero en donde los hongos de podredumbre blanca de la etapa de degradación son seleccionados del grupo que comprende: *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus* sp, *Lentinula edodes*, *Phebia radiata* y combinación de los mismos.

[019] Otra modalidad de la presente divulgación se refiere a un proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero en donde los MPCV adicionados después de la desinfección son seleccionados del grupo que comprende: hongos de micorriza, hongos solubilizadores de fósforo u hongos controladores de enfermedades, bacterias fijadoras de nitrógeno, bacterias solubilizadoras de fósforo, bacterias productoras de derivados indólicos, bacterias productoras de sideróforos y combinaciones de los mismos.

[020] Una modalidad de la invención proporciona un proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero en donde el fertilizante para obtener un sustrato de siembra enriquecido es seleccionado un grupo que comprende fertilizante mineral, con nitrógeno amoniacal fósforo asimilable $P-P_2O_5$, sustancias húmicas o una mezcla de ellos.

[021] En una modalidad adicional, la presente divulgación se refiere a un proceso para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero en donde los fertilizantes en bajas dosis adicionados en la etapa de acondicionamiento o formulación son seleccionados del grupo que comprende nitrógeno y fósforo en formas disponibles para la planta y sustancias húmicas o combinación de los mismos.

[022] La presente divulgación también reclama un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero que comprende: un material lignocelulósico transformado, la desinfección empleando fotocátalisis y proceso foto Fenton, la adición de microorganismos promotores de crecimiento vegetal, la adición de un fertilizante.

[023] En una realización adicional el biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero comprende además un polímero orgánico biodegradable seleccionado de un grupo que comprende: Carboximetil celulosa, goma xantana, alginato, goma guar o una combinación de los mismos.

[024] Finalmente, la presente solicitud divulga un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero en donde el fertilizante es seleccionado de un grupo que comprende fertilizante mineral, con nitrógeno amoniacal fósforo asimilable $P-P_2O_5$, sustancias húmicas o una mezcla de ellos, preferiblemente fertilizante mineral.

IV. BREVE DESCRPCIÓN DE FIGURAS

[025] La Figura 1 enseña los diferentes lotes de corteza de *Pinus sp.* sin transformar. Relación carbono/nitrógeno (C/N). Materia orgánica (MO) en (%). Nitrógeno como amonio en ppm ($N-NH_4$).

Nitratos en ppm (NO_3). Fosfatos en ppm ($\text{P-H}_2\text{PO}_4^-$). Potasio en ppm (K^+). pH (unidades). Aditivos: urea, agua, harina de soya y hongos ligninolíticos.

[026] La Figura 2 se refiere a los resultados de las características de la corteza de *Pinus* sp. antes y después de la transformación por un periodo de 3 a 4 meses empleando hongos ligninolíticos y aditivos como urea, harina de soya y agua, bajo condiciones de campo o in vivo. (A) Cambios en la relación C/N, producción de CO_2 (mg/g), actividad lacasa U/g (Iac), actividad manganeso peroxidasa U/g (MnP), actividad endoglucanasa U/g (Endo glu) y actividad endoxilanas U/g (Endo-xil). (B) Microscopías electrónicas de barrido de la corteza de *Pinus* sp. Inicial con un aumento de 1000 X. (C) Microscopías electrónicas de barrido de la corteza de *Pinus* sp. colonizada con micelio de hongos ligninolíticos con un aumento de 1000 X.

[027] La Figura 3 presenta el proceso de desinfección de la corteza transformada después de 4 meses, empleando fotocátalisis con TiO_2/UV y proceso Foto fenton. (A) Tratamientos evaluados para la selección de las condiciones de fotocátalisis con TiO_2/UV y proceso Foto fenton, que generan la mayor inactivación de bacterias, hongos totales y cambios en la relación de madurez. (B) Disminución de la concentración de taninos asociados con efecto fitotóxico. Tx₁: Corteza cruda y sin suplementos. Tx₂: Corteza pila 55 transformada por 4 meses. Tx₃: Corteza pila 55 transformada por 4 meses. Tx₄: Corteza pila 60 transformada por 4 meses empleando hongos ligninolíticos. Tx₅: Corteza pila 62 transformada por 4 meses empleando hongos ligninolíticos. Tx₆: Corteza pila 60 transformada por 4 meses empleando hongos ligninolíticos desinfectada empleando fotocátalisis con TiO_2/UV y proceso Foto Fenton.

[028] La Figura 4 enseña las pruebas de estabilidad de las poblaciones de los microorganismos promotores de crecimiento vegetal-MPCV inoculadas en la corteza de *Pinus* sp. y efecto de la temperatura. (A) Efecto de la temperatura sobre la viabilidad de los MPCV mezcladas con el polímero orgánico biodegradable goma guar. Polímero orgánico biodegradable con MPCV refrigerado a 4°C (T1). Polímero orgánico biodegradable sólo refrigerado a 4°C (T2). Polímero orgánico biodegradable con MPCV sin refrigerar (T3). Polímero orgánico biodegradable sólo sin refrigerar (T4). MPCV solos (5). (B) Polímero orgánico biodegradable como fuente de carbono y

nitrógeno para los MPCV. Concentración inicial de MPCV (T1). Concentración inicial de MPCV mezcladas con el polímero orgánico biodegradable (T2). Concentración final de MPCV mezclados con el polímero orgánico biodegradable (T3). (C) Efecto del fertilizante sobre la viabilidad de los MPCV. MPCV mezclados con fertilizante (T1), MPCV sin fertilizante (T2).

[029] La Figura 5 muestra los resultados de germinación de semillas y enraizamiento de esquejes sembrados con el sustrato para siembra de la presente invención y en sustratos utilizados como control. (A) En el eje X: (a) el sustrato para siembra de la presente invención como sustrato para germinar semillas de pimentón (b) Control con corteza de pino cruda para pimentón. (c) el sustrato para siembra de la presente invención como sustrato para germinar semillas de pino diseño experimental No 1. (d) Corteza como control para semillas de pino diseño No 1. (e) el sustrato para siembra de la presente invención para germinar semillas de pino diseño experimental No 2. (f) Corteza como control para semillas de pino diseño No 1. (g) el sustrato para siembra de la presente invención para enraizamiento de plántulas de pino. (h) Corteza como control para enraizamiento de plántulas de pino. (i) el sustrato para siembra de la presente invención para enraizamiento de esquejes de clavel. (j) Sustrato control para enraizamiento de esquejes de clavel. (B) se presentan los resultados de los ensayos de crecimiento para estacas de Eucalipto (*Eucalyptus* sp. y *Eucalyptus pellita*). En el eje X: (a) el sustrato para siembra de la presente invención como sustrato para *Eucalytus* sp. (b) Corteza de pino fertilizada como sustrato control para *Eucalytus* sp. (c) el sustrato para siembra de la presente invención como sustrato para *Eucalytus pellita*. (d) Corteza de pino fertilizada como sustrato control para *Eucalytus pellita*.

[030] La Figura 6 enseña las curvas de desinfestación por fotólisis. (A) Con 100 g de sustrato. (B) Con 500 g. (C) Con 12 Kg de sustrato en campo.

[031] La Figura 7 presenta un análisis de varianza anidado para peso seco aéreo de clavel (A) Factor Sustrato. (B) Sustrato: Fertilizante.

[032] La Figura 8 muestra un análisis de varianza anidado para peso seco radical de clavel (A) Factor Sustrato (B) Sustrato: Fertilizante.

[033] La Figura 9 presenta un análisis de varianza anidado para amonio (A) Factor Sustrato (B) Sustrato: Fertilizante.

[034] La Figura 10 revela un análisis de varianza anidado para nitrato (A) Factor Sustrato (B) Sustrato: Fertilizante.

[035] La Figura 11 muestra un análisis de varianza anidado para fósforo (A) Factor Sustrato (B) Sustrato: Fertilizante.

V. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION.

[036] Durante el procesamiento industrial de la madera se producen residuos en diferentes etapas: En primer lugar, en el descortezado o eliminación de la corteza del tronco o tallo, generando residuos de corteza; en segundo lugar, en el aserrado, donde se realizan cortes longitudinales de la troza produciendo aserrín y finalmente, en el cepillado, donde se eliminan excesos en el espesor de las piezas aserradas generando virutas. Durante la producción de madera rolliza, en el descortezado, se genera el subproducto que actualmente se utiliza como materia prima para la obtención del sustrato de siembra de la presente invención.

[037] El presente desarrollo muestra como la corteza obtenida de los procesos anteriormente mencionados es transformada y desinfectada para convertirse en un sustrato de siembra novedoso que al enriquecerlo con bajas dosis de fertilizante y con MPCV da como resultado un excelente sustrato para siembra en vivero, dicho sustrato de siembra también puede incluir un polímero biodegradable con propiedades polímero orgánico biodegradables y retenedor de humedad, dando como resultado un biomaterial aglomerado. El biomaterial es un producto de la industria forestal con un diferencial en el mercado que podría ayudar al incrementar el éxito de propagación durante la etapa de vivero. Adicionalmente, el proceso aquí descrito para la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero provee un biomaterial con concentraciones de fertilizantes bajas lo que mitiga el impacto ambiental asociado con el uso excesivo de productos químicos en suelo y su posible lixiviación a aguas. La presencia de

MPCV en la matriz de siembra promueve el enraizamiento de las plantas y aumenta el área de absorción de nutrientes optimizando el efecto nutricional del sustrato. La adición opcional de un polímero biodegradable con capacidad para retener agua favorece la viabilidad de los microorganismos por largos periodos de tiempo y promueve el crecimiento vegetal a la etapa de vivero, disminuyendo el uso de agua para riego en las camas de propagación material.

[038] En una realización preferida, antes de degradar un material lignocelulósico de origen forestal con microorganismos, etapa a) del proceso aquí reclamado, se hace la selección de materias primas para su posterior transformación, inicialmente se realiza una caracterización química de los residuos de aserrinaje producidos en el proceso de aserrado de las especies forestales *Pinus caribaea* y *Eucaliptus pellita*, tal y como se muestra en la sección experimental.

[039] De acuerdo con los resultados obtenidos y que se presentan en la Tabla 6 del Ejemplo 1 se observó que los residuos de aserrín de *P. caribaea* presentan el mayor porcentaje de lignina 30,9 %, en comparación con el residuo de aserrín de *E. pellita* que presentó un menor porcentaje de lignina 10,9 % y mayores porcentajes de celulosa 68.1 % y hemicelulosa 17,4 % los cuales pueden favorecer el proceso de transformación por hongos de podredumbre blanca. Adicionalmente, también se realizó una caracterización de los residuos de pino provenientes de diferentes etapas del procesamiento de la madera: Corteza verde, aserrín fresco viruta seca y corteza con madera.

[040] Los resultados del Ejemplo 1 indicaron que el residuo constituido por la corteza molida proveniente del proceso de aprovechamiento es el que tiene una de las menores relaciones carbono-nitrógeno C/N y altos contenidos de celulosa y hemicelulosa, factores que también facilitarían el crecimiento de los hongos de podredumbre blanca.

[041] En una modalidad adicional el material lignocelulósico puede ser una mezcla de corteza:turba o corteza:cascarilla de arroz en un porcentaje: 80%:20%; 70%:30%; 60%:40% y 50%-50%.

- *Etapas a): transformación de un material lignocelulósico a partir de microorganismos*

[042] Una vez seleccionado el material lignocelulósico de partida, se busca su transformación de acuerdo con la etapa a) del proceso la obtención de un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero.

[043] *Alistamiento del material lignocelulósico:* En este proceso se muele el material lignocelulósico empleando molinos mecánicos para obtener un tamaño de partícula de un tamaño entre 20 y 10 mm.

[044] *Preparación de aditivos para transformar entre 50-60 m³ de material lignocelulósico:* En un tanque de dosificación y distribución adicionar entre 2200 -2500 L de agua de llave o de reservorio, 6-7 Kg/m³ de urea, 0,2-0,24 Kg/m³ de harina de soya o salvado de trigo, 20-30 L de inoculante en proporción 10:10 v/v de *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor*. Mezclar de forma manual o mecánica todos los aditivos de transformación.

[045] *Montaje e hidratación de las pilas de transformación para tratar entre 50-60 m³ de material lignocelulósico:* Colocar de forma gradual o formando capas de 20-30 cm de alto, de material lignocelulósico en la zona de transformación. El material apilado debe tener una forma de prisma triangular ligeramente aplanado en la parte superior con unas dimensiones que pueden oscilar entre 1,5 – 1,2 m de alto, 2,0-2,5 m de ancho y 14 - 15 m de largo. Humectar por aspersión la totalidad de la pila con un volumen de agua entre 2200-2500 L.

[046] *Adición de aditivos de transformación:* Después de humectar la pila con solo agua, incorporar los aditivos de transformación compuestos en 2200 -2500 L de agua, 6-7 Kg/m³ de urea, entre 0,2-0,24 Kg/ m³ de harina de soya o salvado de trigo y 20-30 L de inoculante. Mezclar de forma manual o mecánica todos los aditivos de transformación con el material lignocelulósico seleccionado.

[047] *Monitoreo del proceso:* Registrar la temperatura, concentración de CO₂ inicial y tomar las muestras para caracterización física, química y microbiológica. Realizar volteos del material de forma manual o mecánica, cada ocho días y registrar temperatura y CO₂.

[048] *Re inoculación de la pila y humectación semanal:* A los 15-20 días de iniciado el proceso, adicionar entre 2200-2500 L de agua la cual contiene disuelto el inoculante entre 20-30 L. Hidratar la pila por aspersión mecánica o manual. A los 8 días de la re inoculación adicionar 1000 L de agua una vez por semana hasta completar entre 3 a 4 meses.

[049] *Condiciones de proceso para que se realice la transformación del material lignocelulósico:* Durante la transformación de la biomasa lignocelulósica se mantienen una serie de condiciones físicas y químicas, para garantizar la transformación. En relación con la temperatura en la primera fase o fase mesofílica (dos semanas) la temperatura puede estar entre un rango de 15-30°C. En la segunda fase o termofílica (un mes a tres meses) la temperatura debe oscilar entre 35- 65°C. En la fase tres o de enfriamiento (20 días a 1 mes) la temperatura debe bajar entre 25- 19°C. La fase 4 o maduración, la cual puede ser complementaria, puede durar un mes más y la temperatura oscila entre 15-20°C.

[050] En cuanto al pH del proceso de transformación del material lignocelulósico, este debe oscila entre 5,5-6,5. A medida que transcurre el tiempo puede presentarse una ligera acidificación y posteriormente incrementar su valor para finalizar en un rango que oscila entre 6,5-7,0. Del mismo modo, la relación carbono-nitrógeno inicial (C/N) es determinante para que se lleve a cabo la transformación del material de partida. Al inicio del proceso de transformación puede estar en un rango que oscila entre 26/1 a 100/1 y finaliza en un rango entre 22/1 a 35/1.

- *Etapas b): Disminución de la carga microbiana o microorganismos patógenos del material lignocelulósico previamente transformado a partir de microorganismos*

[051] En una modalidad de la invención, el material lignocelulósico transformado a partir de microorganismos se somete a un proceso de reducción o desinfección de la carga microbiana, etapa b). Para los ensayos de desinfección a través de fotocátalisis con TiO₂/UV y proceso foto

Fenton se emplea el material lignocelulósico transformado previamente inoculado con hongos de podredumbre blanca.

[052] *Preparación de los catalizadores para desinfectar 5 Kg de material lignocelulósico transformado:* Mezclar entre 0,1-0,5 g de dióxido de Titanio y 5-10 mL de peróxido de Hidrógeno al 30% (v/v). En un recipiente aspersor adicionar 950-1000 mL de agua y 5-10 mL de los catalizadores. Homogenizar por inversión el mismo día de la preparación.

[053] *Aplicación de catalizadores al material lignocelulósico transformado:* Aspersar de 50-60 mL de los catalizadores en 1,0-1,5 Kg del material lignocelulósico transformado por los hongos de podredumbre blanca solos, en co-cultivo o consorcio en un periodo entre 3 y 4 meses. El procedimiento se repite hasta emplear entre 5-6 Kg de material lignocelulósico transformado.

[054] *Exposición a radiación ultravioleta:* el material lignocelulósico transformado con catalizadores se coloca dentro del cuarto de desinfección con luz ultravioleta de 254 nm por un periodo entre 12-48 h para que se realice el proceso de desinfección e inactivación de microorganismos. Finalizado el tiempo, se continua con el proceso de enriquecimiento del sustrato desinfectado obtenido.

[055] *Condiciones de proceso para que realice la desinfección:* Durante la desinfección del material lignocelulósico se mantienen una serie de condiciones físicas y químicas, para garantizar la transformación. En relación con la temperatura dentro del cuarto de desinfección con luz ultravioleta (12 a 48 horas) la temperatura puede estar entre un rango de 25-40°C.

[056] Asociado con el pH debe iniciar entre un rango que oscila entre 6,0-6,5. A medida que transcurre el tiempo, el pH incrementa para terminar en un rango que oscila entre 6,5-7,0.

- *Etapas c): Enriquecimiento del material lignocelulósico previamente transformado y desinfectado con MPCV, fertilizante y en presencia de un polímero orgánico biodegradable*

[057] En otra modalidad de la invención, el sustrato desinfectado obtenido de la etapa b) es mezclado con microorganismos promotores de crecimiento vegetal, un fertilizante y un polímero orgánico biodegradable hidroretenedor para obtener un sustrato de siembra enriquecido. Etapa c). En donde los MPCV son seleccionados del grupo que comprende: hongos de micorriza, hongos solubilizadores de fósforo u hongos controladores de enfermedades, bacterias fijadoras de nitrógeno, bacterias solubilizadoras de fósforo, bacterias productoras de derivados indólicos, bacterias productoras de sideróforos y combinaciones de los mismos.

[058] En cuanto a los MPCV seleccionados se encuentran bacterias productoras de derivados indólicos con una producción entre 60-195 mg/L (género *Stenotrophomonas* y género *Enterobacter*), bacterias solubilizadoras de fósforo con aproximadamente 37 mg/L de ortofosfatos producidos a partir de fosfato tricálcico y 8 mm de halo de solubilización en agar Pikovskaya (género *Enterobacter*), bacterias fijadoras de nitrógeno con una tasa de fijación de N₂ de 742,60 nmoles de etileno/mg de proteína (género *Serratia*) y bacterias productoras de sideróforos con una producción de hidroxamatos de aproximadamente 446 uM (género *Enterobacter*).

[059] *Preparación de los cultivos de MPCV para enriquecer 1 Kg de sustrato desinfectado:* Medir en un recipiente limpio y estéril entre 25-30 mL del cultivo del consorcio de MPCV al 100 % o concentrado (10⁶-10⁸ UFC/mL). En donde los MPCV son seleccionados del grupo que comprende: hongos de micorriza, hongos solubilizadores de fósforo u hongos controladores de enfermedades, bacterias fijadoras de nitrógeno, bacterias solubilizadoras de fósforo, bacterias productoras de derivados indólicos, bacterias productoras de sideróforos y combinaciones de los mismos.

[060] *Preparación del fertilizante para 1 Kg de sustrato:* Medir entre 0,013- 0,020 mL de fertilizante mineral líquido concentrado, el cual para 1 Kg de sustrato desinfectado, aporta 1,32 mg de nitrógeno amoniacal, 1,76 mg de P-P₂O₅ y 1,21 mg de ácidos húmicos.

[061] En una modalidad de la invención el sustrato transformado y desinfectado se mezcla con un polímero orgánico biodegradable hidroretenedor, el cual puede ser seleccionado del grupo que

comprende: carboximetil celulosa de alta densidad, goma xantana, goma guar y combinaciones de los mismos

[062] *Preparación del polímero biodegradable para 1 Kg de sustrato desinfectado:* Pesar entre 5-7 g de goma guar para 1 Kg de sustrato.

[063] *Mezcla de los aditivos de enriquecimiento o formulación:* Mezclar entre 25-30 mL del cultivo de MPCV concentrado, entre 0,013-0,020 mL del fertilizante y entre 5-7 g de polímero.

[064] *Mezclar material lignocelulósico y los aditivos de enriquecimiento para producir 1 Kg de sustrato transformado y desinfectado:* Colocar entre 0,5-0,7 Kg de corteza y entre 0,5-0,7 Kg de turba dentro de un mezclador mecánico y homogenizar por un periodo de entre 3-5 minutos. Adicionar entre 974,9 -1000 mL de agua y entre 25,013- 27 mL de la solución de aditivos (MPCV, fertilizante químico y goma guar), a la mezcla de corteza y turba. Mezclar por entre 5-10 minutos.

[065] Finalmente, luego de obtener el sustrato de siembra producto de la corteza de pino transformada y desinfectada (sustrato de la etapa b)) mezclada con MPCV, fertilizantes químicos y un polímero orgánico biodegradable hidroretenedor, pasa a la etapa de enfriamiento y estabilización, etapa d), en donde, una vez las bolsas o bandejas son empacadas con el sustrato de siembra enriquecido se colocan en el cuarto frío por un periodo de 12 horas a una temperatura entre 3°C-10°C, preferiblemente entre 4°C y 7°C, para favorecer la estabilización del polímero biodegradable polímero orgánico biodegradables y la adhesión de los MPCV. Al finalizar las 12 horas se obtiene un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero el cual está listo para ser empleado en viveros de pino o en las zonas de enraizamiento de clavel.

[066] En una modalidad de la presente invención, se obtiene un biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero que comprende: un material lignocelulósico, microorganismos promotores de crecimiento vegetal, un fertilizante y opcionalmente un polímero orgánico biodegradable. En donde para 1 kg de material lignocelulósico, se emplean entre 50 y 60 mL de MPCV concentrado a 10^6 - 10^8 UFC/mL.

[067] De acuerdo con lo anterior a continuación se muestran los componentes y sus correspondientes cantidades para las etapas c) y d) del proceso aquí reclamado:

Tabla 1: Componentes y concentraciones para 1 Kg de sustrato obtenido del material lignocelulósico previamente transformado y desinfectado, sustrato obtenido de la etapa b).

Componentes	Formulación para 1 Kg de sustrato de la etapa b).
Microorganismos promotores de crecimiento vegetal MPCV	25-30 mL de bio inoculante concentrado (10^6 - 10^8 UFC/mL)
Fertilizante químico	1,32 mg de nitrógeno asimilable, 1,76 mg de P-P ₂ O ₅ (fósforo asimilable) y 1,21 mg de ácidos húmicos
Polímero biodegradable	5-7 g de polímero o goma guar
Agua de llave	974,9 -1000 mL
Material lignocelulósico: 50:50 corteza turba	0,5 Kg de corteza y 0,5 Kg de turba

EJEMPLOS

EJEMPLO 1: ETAPA A) TRANSFORMACIÓN DE CORTEZA DE PINO

[068] Con el fin de evaluar la capacidad de los hongos ligninolíticos para transformar la corteza de pino cruda se realizaron en campo varios montajes para analizar los cambios químicos y físicos, al inicio y a los 4 meses de transformación. La caracterización de la corteza de pino transformada por compostaje tradicional en diferentes pilas experimentales: pila 55, 59, 60, 62 y 74 sin adición de hongos ligninolíticos mostró los siguientes resultados.

Tabla 2. Caracterización corteza de pino transformada por compostaje tradicional sin adición de hongos ligninolíticos pila 55 y 59.

Parámetro	Corteza cruda sin transformar	Pila 55 final	Pila 59 replica 1 final	Pila 59 réplica 2 final
C	32,2	34,7	33,7	37,3
N	0,26	0,97	1,72	1,69
C/N	123,8	35,77	19,59	22,07
Materia Orgánica	55,38	59,684	57,964	64,156
pH	3,46	6,02	7,58	7,44
Conductividad Eléctrica (dS/m)	0,12	0,16	0,27	0,28
% de Saturación	262	310	310	292

ELEMENTOS	ppm	me/L	ppm	me/L	ppm	me/L	ppm	me/L
Potasio (K ⁺)	9,4	0,24	1	0,03	1	0,03	1,4	0,04
Calcio (Ca ²⁺)	5,4	0,27	2,6	0,13	4,9	0,25	4,1	0,2
Magnesio (Mg ²⁺)	1,6	0,13	0,5	0,04	0,8	0,07	0,7	0,06
Sodio (Na ⁺)	5	0,22	0,5	0,02	1	0,04	1	0,04
Amonios (N-NH ₄ ⁺)*	2,5	0,18	18	1,29	30	2,14	29	2,07
Aluminio (Al ₃ ⁺)	1,7	0,19	0,69	0,08	1,1	0,12	2,6	0,29
SUMA CATIONES			1,23	1,59		2,65	0,18	2,7
Bicarbonatos (HCO ₃ ⁻)	0	0	22	0,35	82	1,32	74	1,19
Cloruros (Cl ⁻)	16	0,47	<	0,73	29	0,83	36	1,04
Fosfatos (P-H ₂ PO ₄ ⁻)	9,5	0,31	4,3	0,14	7,3	0,24	7,4	0,24
Sulfatos (S-SO ₄ ⁼)*	3,7	0,23	5,9	0,37	3,5	0,22	3,2	0,2
Nitratos (N-NO ₃ ⁻)*	3,3	0,24	0,96	0,07	1,4	0,1	2	0,14
SUMA ANIONES			1,25	1,66		2,71		2,81
Boro (B)	0,29		0,96		1,7		1,5	
Hierro (pH Real)	0,3		0,8		0,8		1,2	
Hierro (pH 2.0)	0,3		0,8		0,9		1,3	
Manganeso (Mn)	0,06		0,03		0,03		0,02	
Cobre (Cu)	0,04		0,03		0,02		0,02	
Zinc (Zn)	0,03		0,04		0,06		0,05	
Microbiológicos	Nutritivo	PDA	Nutritivo	PDA	Nutritivo	PDA	Nutritivo	PDA
UFC/g	3X10 ⁶	15X10 ⁷	65x10 ⁷	56X10 ⁶	14X10 ⁸	4X10 ⁸	26x10 ⁷	11X10 ⁸

Tabla 3. Caracterización nutricional inicial y final de la corteza de pino transformada por compostaje tradicional con y sin adición de hongos ligninolíticos pila 60.

Parámetro	Pila 60 sin urea ni hongos ligninolíticos PUJ		Pila 60 con urea y hongos ligninolíticos PUJ inicial		Pila 60 con urea y hongos ligninolíticos PUJ final	
C	32,2		29,3		35,7	
N	0,26		0,64		1,58	
C/N	123,84		45,78		22,59	
Materia Orgánica	55,38		50,4		61,40	
pH	3,46		6,5		6,79	
Conductividad Eléctrica (dS/m)	0,12		0,22		0,38	
% de Saturación	262		235		305	
ELEMENTOS	ppm	me/L	ppm	me/L	ppm	me/L
Potasio (K ⁺)	9,4	0,24	3,4	0,09	2,8	0,07
Calcio (Ca ²⁺)	5,4	0,27	6,3	0,32	6,7	0,34
Magnesio (Mg ²⁺)	1,6	0,13	0,95	0,08	1,1	0,09
Sodio (Na ⁺)	5	0,22	2,5	0,11	3	0,13

Amonios ($N-NH_4^+$)*	2,5	0,18	22	1,57	45	3,21
Aluminio (Al_3^+)	1,7	0,19	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
SUMA CATIONES		1,23		0,18		3,84
Bicarbonatos (HCO_3^-)	0	0	11	0,16	123	1,98
Cloruros (Cl^-)	16	0,47	5,6	0,35	16	0,47
Fosfatos ($P-H_2PO_4^-$)*	9,5	0,31	11	1,12	12	0,39
Sulfatos ($S-SO_4^-$)*	3,7	0,23	18	0,49	11	0,69
Nitratos ($N-NO_3^-$)*	3,3	0,24	6,8	2,3	3,4	0,24
SUMA ANIONES		1,25				3,77
Boro (B)	0,29		2,9		0,71	
Hierro (pH Real)	0,3		0,9		3,3	
Hierro (pH 2.0)	0,3		1,1		3,4	
Manganeso (Mn)	0,06		0,09		0,05	
Cobre (Cu)	0,04		0,03		0,03	
Zinc (Zn)	0,03		0,02		0,02	

Tabla 4. Caracterización nutricional inicial y final de la corteza de pino transformada por compostaje tradicional sin adición de hongos ligninolíticos pila 62.

Identificación	62 inicial		62 final	
C	32,9		30,8	
N	1,26		0,88	
C/N	26,11		35	
Materia Orgánica	56,588		52,976	
pH	6,71		6,83	
Conductividad Eléctrica (dS/m)	0,63		0,25	
% de Saturación	308		242	
ELEMENTOS	ppm	me/L	ppm	me/L
Potasio (K^+)	4,9	0,13	1,7	0,04
Calcio (Ca_2^+)	5,7	0,29	6,1	0,3
Magnesio (Mg_2^+)	0,8	0,07	1	0,08
Sodio (Na^+)	3,5	0,15	3,5	0,15
Amonios ($N-NH_4^+$) *	84	6	28	2
Aluminio (Al_3^+)	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
SUMA CATIONES		6,64		2,57
Bicarbonatos (HCO_3^-)	246	3,96	76	1,23
Cloruros (Cl^-)	26	0,73	18	0,52
Fosfatos ($P-H_2PO_4^-$) *	23	0,74	5,3	0,17
Sulfatos ($S-SO_4^-$) *	7,5	0,47	8,5	0,53

Nitratos (N-NO ₃ ⁻) *	5,2	0,37	1,9	0,14
SUMA ANIONES		6,27		2,59
Boro (B)	0,73		0,49	
Hierro (pH Real)	1,8		4,7	
Hierro (pH 2.0)	1,9		4,9	
Manganeso (Mn)	0,05		0,05	
Cobre (Cu)	0,02		0,02	
Zinc (Zn)	0,08		0,1	

Tabla 5. Caracterización nutricional y final de la corteza de pino transformada por compostaje tradicional sin adición de hongos ligninolíticos pila 74.

Identificación	Pila 74 control		Pila 74 PUJ inicial		Pila 74 PUJ final	
C	53,93		45,82		44,8	
N	0,126		0,567		0,609	
Materia Orgánica	93,00		79,00		77,23	
C/N	428,10		80,81		73,56	
pH	4,12		6,92		6,57	
Conductividad Eléctrica (dS/m)	0,13		0,83		0,32	
% de Saturación	268		244		230	
ELEMENTOS	ppm	me/L	ppm	me/L	ppm	me/L
Potasio (K ⁺)	8,9	0,23	3,5	0,09	2	0,05
Calcio (Ca ₂ ⁺)	7,9	0,4	17	0,85	6,2	0,31
Magnesio (Mg ₂ ⁺)	1,7	0,14	2,1	0,17	1,2	0,1
Sodio (Na ⁺)	1,2	0,05	0,9	0,04	3	0,13
Amonios (N-NH ₄ ⁺)*	6,2	0,44	100	7,14	35	2,5
Aluminio (Al ₃ ⁺)	1,3	0,14	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
SUMA CATIONES		1,4		8,29		3,09
Bicarbonatos (HCO ₃ ⁻)	0	0	286	4,62	27	0,44
Cloruros (Cl ⁻)	15	0,42	36	1,04	44	1,25
Fosfatos (P-H ₂ PO ₄ ⁻)*	15	0,48	13	0,42	16	0,52
Sulfatos (S-SO ₄ ⁼)*	5,7	0,36	27	1,69	9,8	0,61
Nitratos (N-NO ₃ ⁻)*	1,4	0,1	7,8	0,56	6	0,43
SUMA ANIONES		1,36		8,33		3,25
Boro (B)	0,38		0,72		2,7	
Hierro (pH Real)	0,64		13		3,6	
Hierro (pH 2.0)	0,64		15		3,6	
Manganeso (Mn)	0,04		0,01		0,01	
Cobre (Cu)	0,02		0,03		0,04	
Zinc (Zn)	0,01		0,06		0,05	

[069] Adicionalmente, se muestra a continuación la caracterización fisicoquímica de los residuos de aserrín y los residuos de pino provenientes de diferentes etapas del procesamiento de la madera: Corteza verde, aserrín fresco, viruta seca y corteza con madera.

Tabla 6: Caracterización fisicoquímica de los residuos de aserrín.

Parámetros	<i>P. caribaea</i>	<i>E. pellita</i>	Mezcla
COT* (%)	48,1	45,2	46
NT (%)	0,28	0,23	0,27
C/N	172	197	170
Lignina (%)	30,9	10,9	42,8
Celulosa (%)	49,6	68,1	33,9
Hemicelulosa (%)	15,4	17,4	14,6
pH	4,24	3,64	4,0
Tamaño de partícula (µm)	150-425	150-425	150-425
Humedad (%)	10	16,1	16
Saturación (mL)	60	70	72

*COT Carbono orgánico total; NT Nitrógeno total Resultados expresados en base seca; C/N relación carbono nitrógeno.

Tabla 7: Caracterización fisicoquímica de los residuos de pino.

Parámetro	Corteza verde	Aserrín fresco	Viruta seca	Corteza con madera
COT* (%)	51,2	47,8	48,7	49,0
NT (%)	0,47	0,31	0,32	0,42
C/N	110	156	152	116
Lignina (%)	57,1	31,1	30,2	43,3
Celulosa (%)	29,5	54,4	54,5	43,7
Hemicelulosa (%)	4,96	11,7	10,8	9,34
pH	3,6	4,40	4,38	4,56
Tamaño de partícula (mm)	125	0,15-0,425	180	0,84
Humedad (%)	18,6	44,1	7,05	26,7
Saturación (mL/20g)	16	11	12	10

*COT Carbono orgánico total; NT Nitrógeno total resultados expresados en base seca C/N relación carbono nitrógeno.

EJEMPLO 2: ETAPA B) DESINFECCIÓN DE LA CORTEZA

[070] Se presentan en la Figura 6, las curvas de desinfestación con sólo fotólisis. A) Con 100 g de sustrato. B) Con 500 g de sustrato. C). Con 12 Kg en campo. Adicionalmente, se presenta en la Tabla 8 la optimización del proceso de desinfestación al incluir fotocátalisis con TiO₂/UV y proceso foto Fenton, si se compara con sólo fotólisis UV.

Tabla 8: porcentaje de desinfestación al incluir fotocátalisis con TiO₂/UV y proceso foto Fenton.

	PORCENTAJE DE DESINFESTACIÓN	
	Fotólisis con luz ultravioleta	
CANTIDAD DE SUSTRATO	BACTERIAS	HONGOS
100 g	29,69% (48 horas)	8,10% (48 horas)
500 g	20,35% (48 horas)	20,61% (48 horas)
12 Kg	25,30% (24 horas)	17,24% (24 horas)
	Fotocatálisis con luz ultravioleta/TiO₂ y fotofenton	
CANTIDAD DE SUSTRATO	BACTERIAS	HONGOS
100 g	80 % (12 horas)	70 % (12 horas)
500 g	74 % (12 horas)	63 % (12 horas)
12 Kg	67 % (12 horas)	60 % (12 horas)

EJEMPLO 3: ETAPA C) ENRIQUECIMIENTO CON FERTILIZANTES Y EFICIENCIA EN DIFERENTES MODELOS VEGETALES.

[071] *Evaluación de sustratos y fertilizantes en clavel del biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero en invernadero PUJ.* Se evaluar el desarrollo de esquejes de clavel, sobre dos mezclas a base de corteza de pino transformada y cinco diferentes fertilizantes.

[072] *Metodología:* Se dispusieron 0.1 kg de los diferentes tratamientos (Tabla 9), en los cuales se sembró un esqueje de clavel por tratamiento. El esquema de fertilización se trabajó en base a la dosis recomendada del producto, en donde se hizo un fraccionamiento de dieciséis aplicaciones, dos veces por semana. La concentración de fertilizante que se aplicó se puede observar en la Tabla 10, el cual se adicionó a capacidad de campo del sustrato.

Tabla 9. Tratamientos clavel en invernadero

Tratamiento	Descripción Tratamiento
1	corteza-turba 1:1 (p/p) mezcla 1 (tabla 10)
2	corteza-turba 1:1 (p/p) mezcla 2 (tabla 10)
3	corteza-turba 1:1 (p/p) mezcla 3 (tabla 10)
4	corteza-turba 1:1 (p/p) mezcla 4 (tabla 10)
5	corteza-turba 1:1 (p/p) mezcla 5 (tabla 10)
6	corteza-suelo 1:1 (p/p) mezcla 1 (tabla 10)
7	corteza-suelo 1:1 (p/p) mezcla 2 (tabla 10)
8	corteza-suelo 1:1 (p/p) mezcla 3 (tabla 10)
9	corteza-suelo 1:1 (p/p) mezcla 4 (tabla 10)
10	corteza-suelo 1:1 (p/p) mezcla 5 (tabla 10)

Tabla 10. Concentración de mezclas de nutrientes o bioinoculantes en cada aplicación

Número de mezcla	Concentración de nutrientes o bioinoculante utilizada	CT	CS
		mL/0,1Kg	
1	N- NO ₃ 40.3 g/L; N- NH ₄ 4 g/L; P ₂ O ₅ 20.4 g/L; K ₂ O 50.6 g/L; Calcio 28.8 g/L; Magnesio 11.4 g/L; Azufre 1 g/L; Hierro 1.1 g/L; Manganeso 0.11 g/L; Cobre 0.012 g/L; Zinc 0.026 g/L; Boro 0.10 g/L; Molibdeno 0.0012 g/L; Cobalto 0.036 g/L .	10.6	11.5
2	N- NH ₄ 104.0 g/L; P ₂ O ₅ 312.0 g/L; Carbono del Extracto Húmico Total 29.3 g/L; Carbono de Ácidos Húmicos 21 g/L; Carbono de Ácidos Fúlvicos 8.3 g/L	10.6	11.5
3	15% N-NH ₄ , 15 % de P ₂ O ₅ y 15 % de K ₂ O	3.25	3.4
4	Fosfato diamónico	32.6	34
5	Composición bioinoculante de tipo bioestimulante y biofertilizante para aplicación agrícola a base de papa Solución concentrada (L)*	10	10

*La aplicación de MPCV se realizó 1 vez durante el tiempo del ensayo, posterior a este, se hicieron riegos a capacidad de campo del sustrato con agua destilada, en el mismo periodo de fertilización de los demás tratamientos.

[073] *Diseño experimental:* El ensayo tuvo 10 tratamientos, cada tratamiento con 5 réplicas, para un total de 50 esquejes de clavel evaluados. Factor: Sustrato y mezcla de nutrientes Niveles: CS (corteza suelo) y CT (corteza turba) 1:1 con mezclas 1-5; Variables de respuesta: Peso seco aéreo y radical, amonio, nitratos y fósforo en solución.

[074] *Resultados:* Los datos se analizaron con el programa R plataforma R Wizard versión 2.3. Se utilizó diseño factorial anidado, en donde el factor fertilizante está anidado en el factor sustrato. En la Figura 7, se presentan los resultados de peso seco aéreo para el factor sustrato en la Figura 7A se encontraron diferencias significativas entre la mezcla CT y la CS ($p=0,0442$). En la Figura 7B, no se encontraron diferencias significativas entre fertilizantes, sin embargo, las plantas fertilizadas con la mezcla 2 (tabla 10) presentaron mayor biomasa aérea que las de los demás tratamientos.

[075] En la Figura 8, se presentan los resultados para el peso seco radical. Se presentaron diferencias entre los sustratos tipo A) CS ($p= 0,0461$), la mezcla CT presenta los valores mayores de PSR. No se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las mezclas de nutrientes o bioinoculante (tabla 10). Por otra parte, los resultados cambian cuando se analizan los nutrientes en el sustrato. En este caso la mezcla CS es la que presenta los mayores valores de PSR. La concentración de amonio en el sustrato de siembra al final del ensayo (Figura 9A) fue mayor en CS (hasta 40ppm) ($p= 0,00362$). Sin embargo, con respecto a los fertilizantes no se encontraron diferencias significativas, pero los sustratos fertilizados con las mezclas 2 y 4 (tabla 10) alcanzaron los mayores valores en promedio.

[076] El mismo comportamiento se presentó en la concentración de nitratos (Figura 10), la mezcla CS presentó mayor concentración de este nutriente ($p=4.21e-08$). En el factor sustrato: fertilizante (B) no se encontraron diferencias significativas. Adicionalmente, también se encontró que el fósforo disponible en el sustrato fue mayor en CS que en CT (Figura 11) ($p= 9.76e-05$). En el factor fertilizante, también se encontraron diferencias altamente significativas con un $p=2.77e-12$ en donde los sustratos fertilizados con la mezcla 4 (tabla 10) presentaron mayor concentración de fósforo disponible.

[077] De acuerdo con el análisis estadístico presentado anteriormente, se establece que el sustrato es el que determina el crecimiento del clavel, independientemente de la mezcla de fertilizante o bioinoculante empleada. Del mismo modo, los resultados muestran que el mejor sustrato de siembra en este ensayo fue la mezcla CT 1:1 p/p, reflejado en mayor biomasa de las plantas, tanto aérea como radical.

[078] En estas primeras etapas de cultivo, la textura y consistencia de los materiales de siembra permiten el crecimiento de las raíces, su ramificación y el desarrollo de raíces de absorción que, al encontrar nutrientes en las formas disponibles para la planta, favorecen a su vez el crecimiento de la parte aérea.

[079] La mezcla CS presenta concentraciones de nitratos hasta de 121 mM que afectan el desarrollo de las plantas de clavel y aumentan la conductividad eléctrica del sustrato. Se observa de igual forma que al aplicar fosfato diamónico en la mezcla 4, la concentración de fósforo disponible aumenta hasta 48 mM.

EJEMPLO 4: EVALUACIÓN DEL BIOMATERIAL AGLOMERADO ENRIQUECIDO PARA SIEMBRA EN VIVERO EN CLAVEL BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO EN CAMPO

[080] Con el fin de evaluar la eficiencia del biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero, se analizó el enraizamiento y desarrollo de esquejes de clavel, en cultivo bajo las condiciones del mismo tratados con y sin el sustrato para siembra en vivero de la presente invención.

[081] En bandejas con capacidad de 128 alveolos, se colocaron tres sustratos diferentes de siembra; el biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero tal y como se describe en la presente invención, el biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero sin polímero orgánico biodegradable, corteza-cascarilla 1:1 (v/v) y control con cascarilla. En los cuales se sembraron esquejes de la variedad *Pradomint* tratados con Ácido Indol butírico (IBA) en proporción 1:3 en agua, sumergidos en el momento de la siembra y esquejes sin hormona, una bandeja de cada uno por tratamiento, para un total de 6 bandejas. En el día 7 de crecimiento, se realizó una reinoculación con composición bioinoculante de tipo bioestimulante y biofertilizante para aplicación agrícola a base de papa a los tratamientos que contenían este inoculante. En el día 28 se hizo el trasplante de los esquejes enraizados a plantación definitiva y se evaluaron los parámetros: Vigor, Daño (moteado o amarillamiento) en la parte aérea y longitud, color y abundancia, en la parte radical.

[082] En cuanto a los resultados obtenidos, se analizó en primera estancia el Enraizamiento de los esquejes de Clavel. En la siguiente imagen se observa que el biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención que puede ser utilizado como sustrato de siembra, las raíces de los esquejes de clavel presentan mayor abundancia, vellosidades

y mejor color de raíz, mostrando un color blanco, indicando que no hay oxidación de la raíz, en comparación con la prueba de control.



Imagen 1: Enraizamiento en los sustratos A) biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención B) biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención + IBA C) Control.



Imagen 2: Enraizamiento en los sustratos A) biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención B) biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención + IBA C) biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención sin polímero orgánico biodegradable y D) biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención sin polímero orgánico biodegradable +IBA

[083] En la Imagen 2, se observa que los tratamientos con el biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención, el biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención + IBA y el biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención sin polímero orgánico biodegradable, presentan mayor altura y vigor en la parte aérea, en comparación con el biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención sin polímero orgánico biodegradable + IBA. Al igual que en la Imagen 1 se observa que en el sustrato de la presente invención presenta mejores resultados de enraizamiento con respecto a los demás.

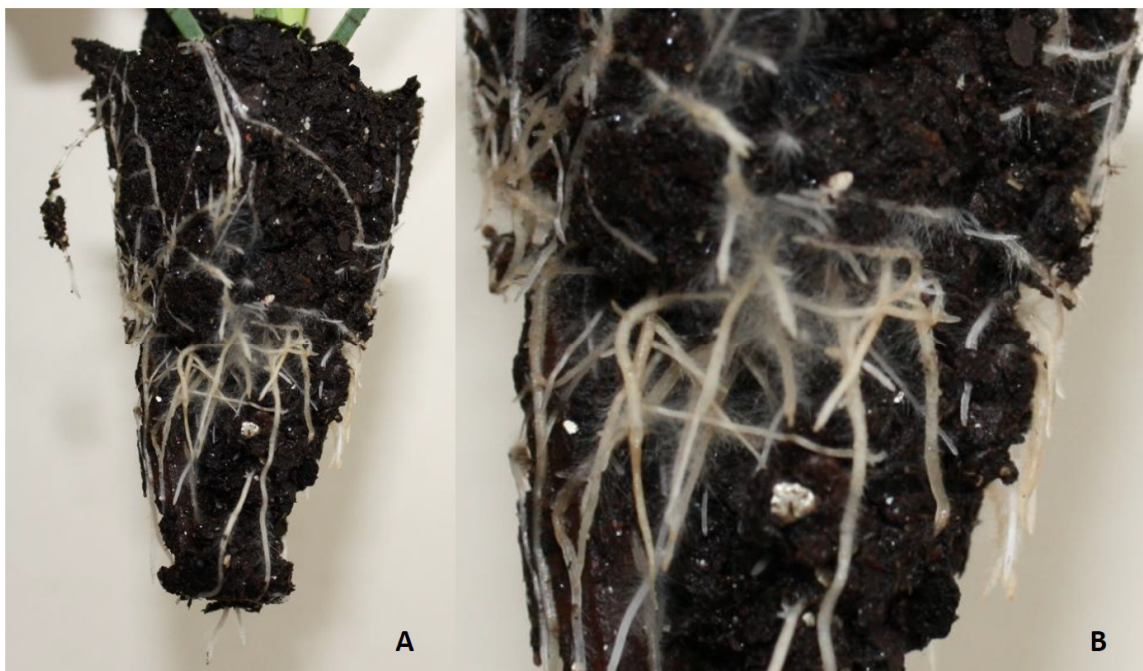


Imagen 3: biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención A) abundancia de raíz, B) vellosidades en la raíz del esqueje tratado con el sustrato de la presente invención.

[084] En la Imagen 3, se puede observar como en el sustrato para siembra de la presente invención se obtiene mayor abundancia de raíz en comparación con los demás tratamientos y adicionalmente, se observa el desarrollo de vellosidades finas en la raíz. De acuerdo con estos resultados se puede establecer que después de la siembra de esquejes de clavel en diferentes sustratos, y bajo una evaluación cualitativa, el enraizamiento con el biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención presentó mejores resultados en

ramificación y longitud total de raíces, grosor de las mismas, color (blancas). No se evidenciaron daños en el follaje de las plantas, no se presentó moteado ni pudrición y el porcentaje de pérdida fue menor al 0.5 %. Como observación en el proceso, el biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención presentó mayor retención de humedad, lo cual podría representar una ventaja en estos sistemas en donde la humedad relativa es alta y se mantiene riego constante por aspersión.

[085] Finalmente, la evaluación de la tecnología del biomaterial aglomerado enriquecido para siembra en vivero de la presente invención sin fertilizante durante el enraizamiento de dos variedades de clavel *Dianthus caryophyllus* 24 días después de la siembra de los esquejes de clavel en diferentes sustratos, y bajo una evaluación cualitativa, el enraizamiento con el sustrato para vivero aquí reclamado presentó mejores resultados en ramificación y longitud total de raíces, grosor de las mismas, color (blancas). No se evidenciaron daños en el follaje de las plantas, no se presentó moteado ni pudrición y el porcentaje de pérdida fue menor al 0.5 %. Como observación en el proceso, el sustrato para siembra de la presente tecnología muestra mayor retención de humedad, lo cual podría representar una ventaja en estos sistemas en donde la humedad relativa es alta y se mantiene riego constante por aspersión.

EJEMPLO 5: EVALUACIÓN DEL BIOMATERIAL AGLOMERADO ENRIQUECIDO PARA SIEMBRA EN VIVERO EN EUCALIPTO.

[086] Con el fin de validar el efecto del biomaterial aglomerado enriquecido para siembra de eucalipto en viveros se presenta el siguiente ejemplo experimental:

[087] *Metodología Producción del sustrato:* La producción de los 60 kilos se realizó siguiendo el procedimiento aquí reclamado. Adicionalmente, se sembraron 896 estacas de Eucalipto en un vivero de Villanueva Casanare. Las 896 estacas se dividieron en 448 estacas para tratamiento y testigo (Corteza transformada sin hongos). A su vez se evaluaron 224 estacas para réplica 1 y 224 para réplica 2. El riego de las cámaras estaba programado cada 15 minutos durante 20 segundos.

[088] *Monitoreo.* El proceso operativo estándar del vivero para propagación material en vivero empleando Eucalipto, incluye las siguientes etapas: Cámara húmeda (25-30 días), zona de aclimatación (8-10 días) y zona de rustificación (tres meses y cinco días para este experimento). En un tiempo no superior a dos meses. En cámara húmeda y zona de aclimatación, se estimaron el número de estacas que iniciaron y pasaron a la siguiente etapa. Con estos valores se determinó el porcentaje de supervivencia asumiendo como el 100 % el número de estacas que entra a cada etapa.

[089] En la zona de rustificación las plantas estuvieron tres meses y cuatro días, tiempo superior al promedio que realiza la empresa bajo unas condiciones normales. Al finalizar el periodo en zona de rustificación, se tomaron fotos, midieron la altura de los tallos y diámetro de tallos, para todos los clones en el tratamiento y el control.

[090] *Resultados:* El experimento inició con 244 estacas por duplicado para el tratamiento del sustrato para siembra de la presente invención y el testigo, valorando el clon 56-19. En cámara húmeda las estacas estuvieron 21 días y se observó una ligera disminución en el porcentaje de supervivencia en esta zona.

[091] Una vez termina la fase en cámara húmeda las plantas fueron transferidas a la zona de aclimatación y en ella estuvieron 10 días. Se observó recuperación obteniendo porcentajes del 99 % para plantas sembradas con el sustrato para siembra de la presente invención y para aquellas sembradas en la corteza testigo.

[092] *Análisis para el clon 56-19.* En la Imagen 4 se presenta la gráfica de altura en cm y las fotos relacionadas para el clon 56-19 con el cual se obtuvieron los resultados satisfactorios para el sustrato para siembra de la presente invención a los tres meses y cuatro días. Las plantas sembradas con el sustrato para siembra de la presente invención fueron ligeramente más altas (35 cm) que el testigo (31 cm). En relación con el diámetro de tallo los valores fueron de 4,8 mm y 4,6 mm, para el sustrato para siembra de la presente invención y el testigo (Imagen 4A). Las Imágenes 4B y 4C, presentan el aspecto de las plantas sembradas con el sustrato para siembra de la

presente invención, en las cuales se observan hojas verdes con algunas zonas rojas. Las raíces en la parte del sustrato que da a las paredes del contenedor son menos abundantes y más delgadas que en el testigo (Imagen 4C y 4E). Las plantas del testigo también presentaron color verde y unas zonas rojas, lo que podría relacionarse con el tipo de clon o alguna deficiencia de nutrientes presentes tanto en el tratamiento como en el testigo (Imagen 4D).

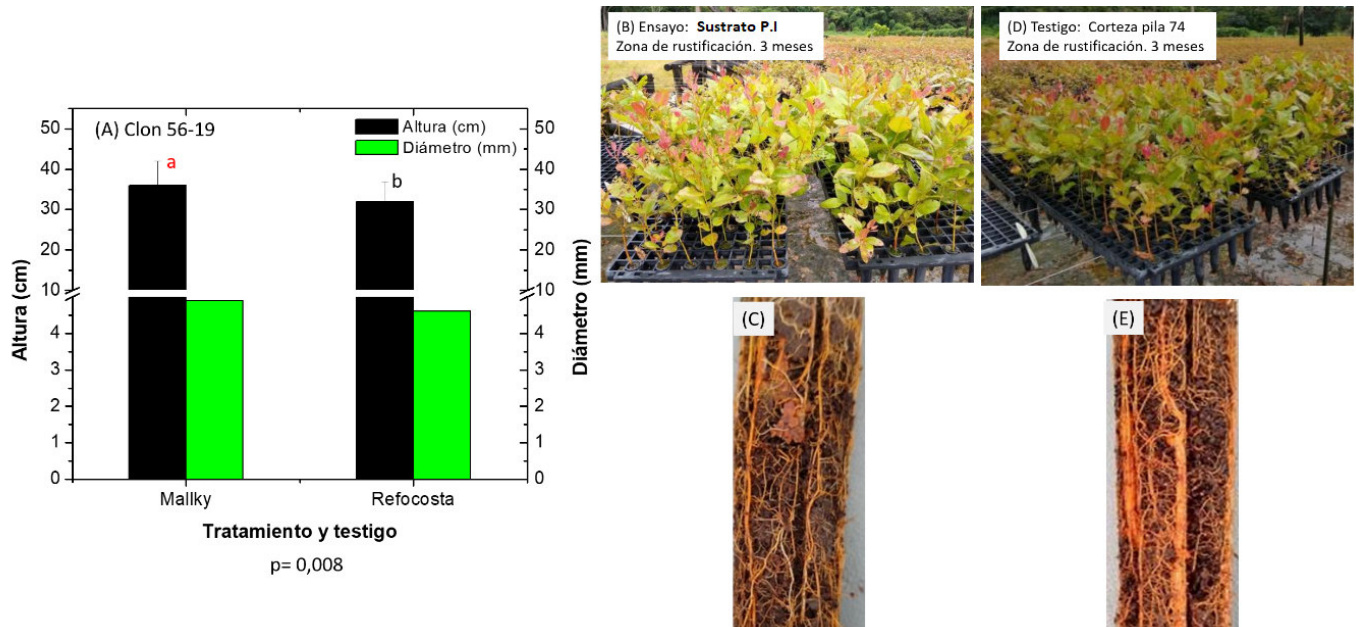


Imagen 4. Clon 56-19. Determinación de la altura de la planta en cm (A). Aspecto de las plantas con el sustrato para siembra de la presente invención a los cuatro meses y cuatro días (B). Aspecto de las raíces con el sustrato para siembra de la presente invención a los meses y cuatro días (C). Aspecto de las plantas en el sustrato testigo a los meses y cuatro días (D). Aspecto de las raíces en el sustrato testigo a los meses y cuatro días (E)

[093] Se debe entender que la presente invención no se halla limitada a las modalidades descritas, ilustradas y probadas, ni limitadas a métodos de obtención de sustratos para siembra, pues como será evidente para una persona versada en el arte, existen variaciones y modificaciones posibles que no se apartan del espíritu de la invención, el cual solo se encuentra definido por las siguientes reivindicaciones.