

## Título: “Evaluación de la fitotoxicidad de biorresiduos y sus biocarbones: bioensayo de germinación”

Maldonado Hermán <sup>a</sup>, Álvarez Ángel <sup>a</sup>, Román Celia <sup>a</sup>, Sánchez Eliana <sup>a</sup>, Zabaleta Romina <sup>a</sup>  
<sup>a</sup> Instituto de Ing. Química-Grupo Vinculado al PROBIEN (CONICET-UNCO), Facultad de Ingeniería, UNSJ.

rzabaleta@unsj.edu.ar

### Resumen

Este estudio investiga la fitotoxicidad de subproductos agroindustriales (cáscaras de almendras, nueces, pistachos y maní, descarte de espárragos, bagazo de cerveza) y sus biocarbones mediante bioensayos de germinación en arveja, lechuga, rábano y rúcula. Los biocarbones se obtuvieron por pirólisis en condiciones controladas de las biomásas mencionadas. Se expusieron semillas a extractos acuosos (0%, 50%, 100%) de biomásas y biocarbones, evaluando porcentaje de germinación, vigor de las plántulas, índice de germinación y largo de raíz y parte aérea para determinar los posibles efectos fitotóxicos. Los resultados preliminares indican que la fitotoxicidad de los residuos difiere significativamente comparados con sus respectivos biocarbones. Los biocarbones, debido a sus propiedades fisicoquímicas alteradas (pH  $9\pm 2,5$ ; cenizas  $8,2\pm 7,1$ ; carbono fijo  $63,7\pm 8$ ; contenido de carbono  $73,6\pm 7$  mostrando diferencias significativas), demostraron efectos variables sobre la germinación y el crecimiento de las plántulas en comparación con los residuos originales ( $4,47\pm 2,37$  para largo de raíz;  $110,08\pm 80,4$  para índice de germinación, MANOVA,  $p < 0.0001$ ). Además, la respuesta de diferentes especies hortícolas tanto a las biomásas como a los biocarbones reveló una sensibilidad específica de cada especie, destacando la importancia de considerar la diversidad de plantas en las evaluaciones de fitotoxicidad. Fue evidente que las semillas de lechuga y rúcula eran más sensibles a los extractos acuosos que las de rábano y arveja. Este estudio demuestra la viabilidad de utilizar biorresiduos regionales y sus biocarbones como enmiendas del suelo y constituyentes de sustrato, promoviendo así a la sostenibilidad agrícola y la gestión eficiente de los residuos orgánicos a nivel regional.

**Palabras clave:** biorresiduos, inhibición, vegetales, emergencia

### INTRODUCCIÓN

El aumento de los residuos agrícolas e industriales plantea preocupaciones ambientales globales<sup>[1]</sup>, aunque se promueve su visión como recursos por agencias ambientales y gobiernos<sup>[2]</sup>. La pirólisis, que convierte materiales orgánicos en biocarbón a altas temperaturas y en ausencia de oxígeno<sup>[3]</sup>, se utiliza para gestionar estos desechos y mejorar la calidad del suelo<sup>[4, 5]</sup>, además de ser un sumidero de carbono y neutralizar toxinas<sup>[6]</sup>. Sin embargo, el uso de residuos para biocarbón conlleva riesgos de toxicidad debido a contaminantes<sup>[7]</sup>, lo cual limita su adopción<sup>[8]</sup>. La evaluación de riesgos mediante ensayos eco toxicológicos, incluyendo pruebas de fitotoxicidad, es crucial para garantizar la seguridad de estos residuos en la agricultura<sup>[9]</sup>. Aunque algunos estudios reportan efectos fitotóxicos del biocarbón en la germinación<sup>[10]</sup> hay poca investigación sobre su impacto en las primeras etapas de crecimiento de las plantas. La

variabilidad en estos efectos depende de la materia prima y las condiciones de la pirólisis<sup>[11]</sup>, señalando la necesidad de más estudios para optimizar su uso agrícola.

### OBJETIVOS

El estudio evaluó la fitotoxicidad de biocarbones obtenidos por pirólisis de seis residuos agroindustriales (cáscaras de almendra, nuez, maní y pistacho, descarte de espárrago y bagazo de cerveza) y sus materias primas sin pirólisis (biomásas) en la germinación y crecimiento de plántulas de arvejas (*Pisum sativum*, L.), lechuga (*Lactuca sativa*, L.), rábano (*Raphanus sativus*, L.) y rúcula (*Eruca sativa*, M). Se utilizaron extractos acuosos con diferentes concentraciones de biocarbón (0%, 50% y 100%) en bioensayos de laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Preparación y caracterización de biorresiduos.*

Las cáscaras de almendras (A), nueces (N), maní (M), pistachos (P) y residuo de turión de espárrago (E) fueron recolectadas de fincas en San Juan, Argentina y el bagazo (B) de la cervecera "Cumbre". Estos biorresiduos se caracterizaron fisicoquímicamente mediante análisis realizados por triplicado<sup>[12]</sup>, siguiendo normativas ASTM. Los biocarbones derivados de estos biorresiduos también fueron caracterizados de manera similar.

### *Ensayo de germinación y crecimiento de plántulas.*

Las muestras de A, N, M, P, E y B, y sus respectivos biocarbones (BA, BN, BM, BP, BE y BB) fueron acondicionadas para establecer los diferentes extractos en las proporciones: 0%, 50% y 100%. Se sembraron cinco semillas de cada especie en placas de Petri sobre papel de filtro humedecido con el extracto de los tratamientos mencionados. Luego, se midió y calculó el porcentaje de germinación (PG; %), y se midieron la longitud aérea (LA; cm) y la longitud radicular (LR; cm) de las plántulas. El valor medio de la longitud de la raíz de cada caja de Petri se utilizó para calcular el índice de germinación (IG). Además, se calcularon el porcentaje de germinación de las semillas (PG) y el vigor de las semillas (VS). Según ISTA<sup>[15]</sup>, se utilizaron 4 días y 7 días como recuentos iniciales y finales para semillas de rúcula y lechuga, 4 y 10 días para semillas de rábano y 5 y 8 días para arvejas, respectivamente. Para medir LA y LR de las plantas, se utilizó el software ImageJ.

### *Análisis estadístico*

Se empleó un diseño factorial simple para caracterizar los biocarbones. Se realizó un ANOVA para el efecto significativo en las variables estudiadas, utilizando la prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). Se utilizó el software Infostat, versión 1.1. Se aplicó el análisis discriminante lineal (LDA) y MANOVA, para explorar las relaciones entre los tipos de semillas, los tipos de extractos y las variables discriminatorias potenciales y sus interacciones, respectivamente. Se utilizó el programa SPSS Statistics v17.

## RESULTADOS Y DISCUSION

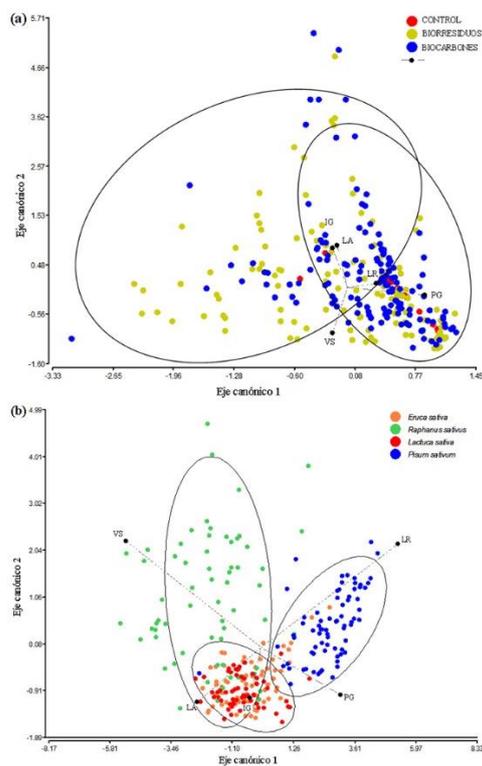
### *Caracterización de biorresiduos y biocarbones.*

Los biocarbones, comparados con los biorresiduos, exhibieron diferencias significativas en varios parámetros fisicoquímicos. BA, BN, BM, BE, BB, BP

mostraron valores más altos de pH ( $9 \pm 2,5$ ), cenizas ( $8,2 \pm 7,1\%$ ), carbono fijo ( $63,7 \pm 8\%$ ), y contenido de carbono ( $73,6 \pm 7\%$ ), siendo BA, BN, BM y BE básicos, BB neutro, y BP ácido. En contraste, los biorresiduos tuvieron valores de pH ácidos (entre 4,8 y 6,1). La CE varió sin diferencias significativas, indicando bajos contenidos de sales solubles, adecuados como sustratos en zonas semiáridas<sup>[17]</sup>. Un alto contenido de cenizas fue observado en BE y bajo en BP (0,3% a 12,1%), puede afectar la capacidad de retención de nutrientes del biocarbón. El contenido de carbono fijo varió entre 46,9% y 69,6%, siendo BP el más alto y BE el más bajo. Los biorresiduos mostraron valores superiores de materia orgánica, carbono orgánico, humedad, materia volátil, hidrógeno y oxígeno. En general, los biocarbones presentan propiedades fisicoquímicas que pueden influir positivamente en la calidad del suelo y la germinación de semillas, aunque los biocarbones como BE y A muestran alta fitotoxicidad.

### *Bioensayo de germinación*

Los biocarbones y los controles se comportaron de manera similar en la mayoría de las variables, excepto en PG. Los biocarbones mostraron valores más altos en LR e IG, mientras que los controles obtuvieron mejores resultados en PG, LA y VS. Los biorresiduos mostraron los valores más bajos en todas las variables, indicando un efecto menos favorable en el crecimiento y desarrollo de las plantas comparado con los biocarbones y los controles. El análisis discriminante reveló que el PG es la variable más importante para diferenciar entre biocarbón y biorresiduos, con una tasa de error de clasificación del 35% (Figura 1a). Los diferentes extractos influyeron de manera distinta en las semillas, las semillas de rábano y arveja mostrando menos sensibilidad a los tratamientos en comparación con lechuga y rúcula (Figura 1b). Los tratamientos con BN y BP fueron más beneficiosos para las variables de crecimiento en algunas semillas, mientras que BE y BA mostraron efectos negativos debido a sus propiedades fisicoquímicas. Las semillas de arveja fueron las menos sensibles a los tratamientos, mientras que las de rábano y lechuga, seguidos de la rúcula, presentaron inhibiciones en la germinación. Los extractos de BN y BP generaron los mejores resultados para las variables de crecimiento en las semillas de lechuga y rúcula, mientras que BE mostraron los mayores efectos negativos.



**Figura 1.** Relaciones entre biorresiduos, biocarbones y control (a), entre diferentes tipos de semillas (b) y la influencia de variables con potencial discriminatorio a través de un procedimiento estadístico multivariado, como el análisis discriminante lineal (LDA).

## CONCLUSIONES

Este trabajo exploró el uso de biorresiduos regionales y sus biocarbones como potenciales sustratos mediante ensayos de fitotoxicidad en semillas hortícolas. Los resultados sugieren que estos materiales pueden mejorar la germinación. La caracterización detallada reveló que las propiedades fisicoquímicas de los biorresiduos y biocarbones influyen significativamente en la fitotoxicidad de los extractos. Los biorresiduos y biocarbones de E y A mostraron alta fitotoxicidad, mientras que BB, BN y BP son recomendables para uso agrícola. Las semillas de lechuga y rúcula fueron las más afectadas por los extractos, seguidas por rábano y arveja. En resumen, el estudio demuestra que los biorresiduos regionales y sus biocarbones pueden ser valiosos en la agricultura sostenible, mejorando el rendimiento de cultivos, reduciendo la dependencia de fertilizantes químicos y gestionando los desechos orgánicos.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Oh, T. K.; Shinogi, Y.; Chikushi, J.; Lee, Y. H.; Choi, B. S. Effect of Aqueous Extract of Biochar on Germination and Seedling Growth of Lettuce [*Lactuca Sativa* L. *J. Fac. Agric. Kyushu Univ.*, **2012**, *57* (1), 55–60. <https://doi.org/10.5109/22048>.
- [2] Lencioni, G.; Imperiale, D.; Cavirani, N.; Marmiroli, N.; Marmiroli, M. Environmental Application and Phytotoxicity of Anaerobic Digestate from Pig Farming by in Vitro and in Vivo Trials. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, **2016**, *13* (11), 2549–2560. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1088-y>.
- [3] Antal, M. J.; Grønli, M. The Art, Science, and Technology of Charcoal Production. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2003**, *42* (8), 1619–1640. <https://doi.org/10.1021/ie0207919>.
- [4] Zabaleta, R.; Sánchez, E.; Fabani, P.; Mazza, G.; Rodríguez, R. Almond Shell Biochar: Characterization and Application in Soilless Cultivation of *Eruca Sativa*. *Biomass Convers. Biorefinery*, **2023**. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04002-5>.
- [5] Sánchez, E.; Zabaleta, R.; Fabani, M. P.; Rodríguez, R.; Mazza, G. Effects of the Amendment with Almond Shell, Bio-Waste and Almond Shell-Based Biochar on the Quality of Saline-Alkali Soils. *J. Environ. Manage.*, **2022**, *318*, 115604. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115604>.
- [6] Jones, D. L.; Edwards-Jones, G.; Murphy, D. V. Biochar Mediated Alterations in Herbicide Breakdown and Leaching in Soil. *Soil Biol. Biochem.*, **2011**, *43* (4), 804–813. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.12.015>.
- [7] Mañas, P.; De las Heras, J. Phytotoxicity Test Applied to Sewage Sludge Using *Lactuca Sativa* L. and *Lepidium Sativum* L. Seeds. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, **2018**, *15* (2), 273–280. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1386-z>.
- [8] Shea, E.; Wang, Z.; Allison, B.; Simmons, C. Alleviating Phytotoxicity of Soils Biosolarized with Almond Processing Residues. *Environ. Technol. Innov.*, **2021**, *23*, 101662. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101662>.
- [9] Luo, Y. Evaluation of Tetracycline Phytotoxicity by Seed Germination Stage and Radicle Elongation Stage Tests: A Comparison of Two Typical Methods. **2019**, *251*, 257–263.
- [10] Rogovska, N.; Laird, D.; Cruse, R. M.; Trabue, S.; Heaton, E. Germination Tests for Assessing Biochar Quality. *J. Environ. Qual.*, **2012**, *41* (4), 1014–1022. <https://doi.org/10.2134/jeq2011.0103>.
- [11] Solaiman, Z. M.; Murphy, D. V.; Abbott, L. K. Biochars Influence Seed Germination and Early Growth of Seedlings. *Plant Soil*, **2012**, *353* (1–2), 273–287. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-1031-4>.
- [12] AOAC. *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists*, 18th Edition; Washington, DC, 2010.
- [13] Belda, R. M.; Lidón, A.; Fornes, F. Biochars and Hydrochars as Substrate Constituents for Soilless Growth of Myrtle and Mastic. *Ind. Crops Prod.*, **2016**, *94*, 132–142. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.024>.
- [14] Bu, X.; Ji, H.; Ma, W.; Mu, C.; Xian, T.; Zhou, Z.; Wang, F.; Xue, J. Effects of Biochar as a Peat-Based Substrate Component on Morphological, Photosynthetic and Biochemical Characteristics of *Rhododendron Delavayi* Franch. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*, **2022**, *302* (August 2021), 111148. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111148>.
- [15] ISTA. Reglas Internacionales Para El Análisis de Las Semillas. *Int. Rules Seed Test.*, **2016**, *2016* (1), 1–384.
- [16] Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., R. C. W. InfoStat Versión 2018. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 2018.
- [17] George, E.; Horst, W. J.; Neumann, E. *Adaptation of Plants to Adverse Chemical Soil Conditions*; Elsevier Ltd, 2011. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00017-0>.
- [18] Sun, X.; Shan, R.; Li, X.; Pan, J.; Liu, X.; Deng, R.; Song, J. Characterization of 60 Types of Chinese Biomass Waste and Resultant Biochars in Terms of Their Candidacy for Soil Application. *GCB Bioenergy*, **2017**, *9* (9), 1423–1435. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12435>.