



Biohidroretenedor a base de biomasa de *Chlorella* sp. con microorganismos benéficos co-inoculados: Evaluación del crecimiento del *Raphanus sativus*

Gabriela Garzón Jirón

Directora

Aura Marina Pedroza Rodríguez, Bacterióloga., M. Sc, Ph. D

Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias

Codirectora

Claudia Marcela Rivera Hoyos., Bióloga, M. Sc, Ph. D

Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias

Departamento de Microbiología

Facultad de Ciencias

Trabajo de Grado

Bogotá D.C., 27 mayo de 2024

**Biohidroretenedor a base de biomasa de *Chlorella* sp. con microorganismos benéficos co-
inoculados: Evaluación del crecimiento del *Raphanus sativus***

Gabriela Garzón Jirón

Aura Marina Pedroza Rodríguez

Bacterióloga, M.Sc., Ph.D.

Directora

Claudia Marcela Rivera Hoyos

Bióloga, M.Sc., Ph.D.

Codirectora

Gina Pilar López Ramírez

Microbióloga Industrial, Ph.D.

Jurado

Biohidroretenedor a base de biomasa de *Chlorella* sp. con microorganismos benéficos co-inoculados: Evaluación del crecimiento del *Raphanus sativus*

Gabriela Garzón Jirón

Alba Alicia Trespacios R., Ph. D

Decana Académica

Facultad de Ciencias

José Salvador Montaña Lara., Ph. D

Director de Carrera

Carrera de Microbiología Industrial

Artículo 23 de la Resolución No. 13 de Julio de 1946

“La universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque la tesis no contenga ataques personales contra persona alguna, antes bien se ve en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”

Agradecimientos

Muchas gracias a todas las personas, incluyéndome, que contribuyeron al desarrollo de este trabajo.

A mi familia, agradezco su esfuerzo y apoyo incondicional a lo largo de mi trayectoria académica. Gracias por recordarme que, incluso en momentos de duda, su respaldo, guía y oportunidades han sido fundamental para trazar el camino que deseaba seguir, permitiéndome desempeñarme de la mejor manera posible. Además, valoro el tiempo que se tomaron para corregir, acompañar y opinar sobre el desarrollo del proyecto de manera constructiva. Me gustaría agregar a mis mascotas por siempre ser una compañía y alivio emocional.

A mis docentes, quienes han sido fundamentales en mi formación proporcionándome los conocimientos y habilidades esenciales para mi desarrollo profesional. Agradezco especialmente a la profesora Aura Marina Pedroza por explorar un nuevo campo de conocimiento y por su acompañamiento y paciencia al compartir experiencias y habilidades en el ámbito personal y profesional. A la profesora Claudia Marcela Rivera, mi cotutora, por su valiosa orientación y por compartir sus experiencias como aprendizajes. Agradezco también a Shirley Rojas por mostrarme la diversidad y validez de los procesos de aprendizaje, subrayando la importancia de la paciencia en la construcción de mi camino académico y personal.

A mis amistades, presentes siempre en todo el proceso, ofreciendo su apoyo y destinando parte de su tiempo para ayudarme. Su compañía, palabras de aliento y buen ánimo fueron un grato respiro en momento de estrés. Gracias por su generosidad y amistad.

Al personal de monitoria, especialmente Liz, Sebastián y Sergio; cuya dedicación y labor hicieron que todo lo necesario para el desarrollo experimental de este proyecto estuviera al alcance. Su arduo trabajo y disposición para ir más allá con su apoyo fueron fundamentales.

A mis colegas de laboratorio, quienes sentaron las bases para el desarrollo de este proyecto con sus valiosas contribuciones, y me brindaron instrucción y apoyo a lo largo de las diversas actividades realizadas.

El presente trabajo de grado fue financiado por el proyecto: “*Transformación de aguas residuales domésticas y borra de café, para obtención de bio-productos de alto valor agregado con fines de re-uso ornamental*”. Investigar PUJ: 20288. Apoyo para proyectos interdisciplinarios. 2021. Vicerrectoría de Investigación. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá Colombia. Gracias a la colección de microorganismos de la Pontificia Universidad Javeriana (CMPUJ) por la transferencia de cepas con fines de investigación.

Tabla de Contenido

Resumen	11
1. Introducción	12
1.1 Planteamiento y Justificación del problema.....	14
1.1.1 Planteamiento del problema.....	14
1.1.2 Justificación.....	16
1.2 Pregunta de Investigación.....	17
1.3 Hipótesis.....	17
2. Marco teórico	18
2.1 Hidroretenedores y biohidroretenedor en la agricultura	18
2.1.1 Hidroretenedor.....	18
2.1.2 Biohidroretenedor.....	19
2.2 <i>Chlorella</i> sp.	21
2.2.1 Generalidades de <i>Chlorella</i> sp.....	21
2.2.2 Morfología y Taxonomía	22
Morfología.....	22
Taxonomía.....	22
2.2.3 Condiciones de cultivo y crecimiento.....	22
2.2.4 Características metabólicas de <i>Chlorella</i> sp.	23
2.2.5 Importancia <i>Chlorella</i> sp. en la agricultura.....	24
2.3 Biohidroretenedor a partir de biomasa algal de <i>Chlorella</i> sp.....	25
2.3.1 Biomasa algal.....	25
Biomasa algal e importancia	25
Obtención de lodo algal	26
2.3.2 Carboximetil celulosa.....	27
2.3.3 Biochar.....	28
Biochar a partir de borra de café, salvado de trigo y celulosa comercial.....	29
2.3.4 Microorganismos benéficos	29
Bacterias promotoras del crecimiento vegetal.....	29
Bacterias Solubilizadoras de Fósforo	30

Bacterias Fijadoras de Nitrógeno.....	31
2.4 <i>Raphanus sativus</i>	31
2.4.1 Generalidades del cultivo de <i>R. sativus</i>	31
2.4.2 Importancia del cultivo de <i>R. sativus</i>	31
2.4.3 Impacto del cambio climático en el cultivo de <i>R. sativus</i>	32
3. Objetivos.....	33
3.1 Objetivo general.....	33
3.2 Objetivos específicos.....	33
4. Metodología.....	34
4.1 Microorganismo, reactivación, preservación y propagación.....	34
4.1.1 Reactivación.....	34
4.1.2 Preservación y preparación de bancos.....	34
4.2. Obtención de la biomasa algal como componente del biohidroretenedor.....	35
4.2.1 Reactor terciario de la planta de tratamiento de aguas residuales no domésticas	35
4.2.2 Recuperación de biomasa.....	35
4.3 Producción y caracterización de biochar como componente del biohidroretenedor.....	36
4.4 Producción de la solución de microorganismos benéficos co-inoculados como aditivos del biohidroretenedor.....	37
4.4.1 Reactivación de las cepas	37
4.4.2 Cultivo discontinuo.....	37
4.4.3 Producción	38
4.5 Mejora de la formulación del biohidroretenedor desarrollado por Chávez, (2023).....	38
4.5.1 Planteamiento del experimento.....	38
4.5.1 Formulación de los tratamientos.....	39
4.5.2 Pruebas de adsorción (mL/g) y humedad (%).....	40
4.5.3 Recuentos bacterianos	41
4.5.4 Análisis estadístico.....	41
4.6 Evaluación del BHR en la retención de agua y crecimiento de <i>Raphanus sativus</i> en sistema in vitro de fotoperíodo.....	42
4.6.1 Germinación.....	42

4.6.2	Pretratamiento y caracterización del suelo	42
4.6.3	Montaje experimental.....	43
4.6.4	Cultivo en condiciones controladas de sistema in vitro de fotoperíodo	44
4.6.5	Variables de la planta	45
4.6.6	Variables del suelo	45
4.6.7	Variables microbiológicas.....	46
4.6.8	Análisis estadístico.....	46
5.	Resultados y Discusión.....	47
5.1	Obtención de la biomasa algal	47
5.2	Producción y caracterización de biochar.....	48
5.2.1	<i>Caracterización de las materias primas o materiales crudos</i>	48
5.3	Producción de la solución de microorganismos benéficos co-inoculados como aditivos del biohidroretenedor.....	52
5.3.1	<i>Solución mezcla de microorganismos</i>	52
5.3.2	<i>Comportamiento de la solución mezcla en la formulación de cada tratamiento</i>	53
5.4	Mejora de la formulación del biohidroretenedor desarrollado por Chávez (2023)	56
5.4.1	<i>Análisis de la capacidad de adsorción y humedad para el Diseño Experimental 2²</i>	56
5.4.2	<i>Análisis microbiológico para el Diseño Experimental 2²</i>	58
5.4.3	<i>Parámetros fisicoquímicos adicionales</i>	60
5.4.4	<i>Efecto de los factores evaluados en las variables respuesta</i>	62
5.5	Evaluación del BHR en la retención de agua y crecimiento de <i>Raphanus sativus</i> en sistema in vitro de fotoperíodo.....	62
5.5.1	<i>Evaluación de parámetros fisicoquímicos del suelo</i>	62
5.5.2	<i>Evaluación parámetros de crecimiento vegetal</i>	66
6.	Conclusiones.....	73
7.	Recomendaciones.....	74
8.	Bibliografía.....	75

Índice de Figuras

Figura 1. Modo acción hidrogel.....	18
Figura 2. Estructura poliacrilamida parcialmente hidrolizada.....	18
Figura 3. Morfología de <i>Chlorella</i> sp	22
Figura 4. Condiciones de crecimiento de microalga.....	23
Figura 5. Rutas metabólicas principales de <i>Chlorella</i> sp.....	24
Figura 6. Estructura y componentes pared celular microalgas	26
Figura 7. Estructura de la carboximetil celulosa	¡Error! Marcador no definido.
Figura 8. Proceso coagulación-floculación	36
Figura 9. Materias primas, mezcla y biochar al estereoscopio	37
Figura 10. Formulación del biohidroretenedor.....	40
Figura 11. Distribución del experimento en bandeja de germinación.....	43
Figura 12. Montaje y germinación.....	44
Figura 13. Crecimiento plantas en tratamientos y controles.....	45
Figura 14. Resultados de la producción de la solución de microorganismos benéficos en mezcla y en la formulación.....	53
Figura 15. Morfología de los microorganismos utilizados observados en el microscopio	53
Figura 16. Efecto del proceso de secado en la concentración de la solución mezcla de microorganismos entre el tratamiento húmedo (H) y seco (S).....	55
Figura 17. Diagramas de Pareto para los 4 tratamientos como variable de respuesta Capacidad de adsorción de agua (mL/g) y Porcentaje de humedad (%).....	57
Figura 18. Resultados de capacidad de adsorción (mL) y porcentaje de humedad (%) para cada tratamiento	58
Figura 19. Resultados para cada tratamiento de recuentos bacterianos específicos.....	60
Figura 20. Crecimiento de las bacterias en Agar Nutritivo, Agar King B, Agar NFB y Agar SRSM1.....	60
Figura 21. Resultados humedad (%) en suelo al inicio del montaje, a las 24 h y 144 h de la extracción.....	65
Figura 22. Resultados evaluación de parámetros de crecimiento vegetal según	68
Figura 23. Plántulas de <i>Raphanus sativus</i> tras 22 días	69
Figura 24. Resultados parámetros microbiológicos del suelos iniciales y finales para recuento en unidades logarítmicas de UFC/g para	72

Índice de Tablas

Tabla 1. Polímeros naturales empleados en el desarrollo de hidrogeles	20
Tabla 2. Diseño factorial 2 ² de la capacidad de adsorción.....	38
Tabla 3. Diseño dosis de BHR e Hidrokeeper en modelo de planta.....	42
Tabla 4. Análisis próximo de las materias primas, mezcla cruda y biochar.	52
Tabla 5. Resultados análisis de varianza ANOVA para el diseño experimental como variable de respuesta la capacidad de adsorción de agua y porcentaje de humedad	56
Tabla 6. Resultados análisis de varianza ANOVA para el diseño experimental como variable de respuesta la capacidad de adsorción de agua y porcentaje de humedad	59
Tabla 7. Caracterización fisicoquímica tratamientos	61
Tabla 8. Caracterización inicial Suelo Comercial Tierra Orgánica Anasac ®.....	63
Tabla 9. Resultados de pH para cada tratamiento y control	65
Tabla 10. Concentración en log (UFC/g) de recuentos al inicio y al final del montaje de la siembra	72

Resumen

En la actualidad se emplean diversos métodos para aumentar la eficiencia del uso del agua, destacándose los hidrorretenedores sólidos y semisólidos que, permiten almacenar grandes volúmenes de agua y mejorar el rendimiento agrícola. Recientemente, han surgido los biohidrorretenedores como alternativa sostenible a los hidrogeles sintéticos, fabricados a partir de polímeros naturales como celulosa y alginato de algas. La biomasa algal, particularmente de *Chlorella* sp., se utiliza en la producción de bioproductos agrícolas como biofertilizantes y biochar, para promover la fertilidad del suelo y el crecimiento de las plantas. Estos bioproductos pueden complementarse y mejorar sus propiedades y funciones con la adición de microorganismos benéficos que, mejoran la disponibilidad de nutrientes que promueven el crecimiento y ayudan a la resistencia al estrés hídrico en cultivos como el rábano (*Raphanus sativus*). Por eso, el objetivo del presente trabajo de grado fue determinar la proporción de biomasa algal de *Chlorella* sp. y carboximetil celulosa comercial necesaria para una nueva formulación de un biohidrorretenedor con microorganismos benéficos co-inoculos que favorezca la capacidad de adsorción de agua y el crecimiento vegetal del *Raphanus sativus* en suelo.

Primero, se realizó la selección mediante un diseño factorial 2² de la cantidad de biomasa algal y carboximetil celulosa comercial que, mejorara la capacidad de adsorción de agua del biohidrotenedor. Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y comparación entre medias, donde se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) y se determinó que, la combinación óptima de biomasa algal y carboximetil celulosa comercial con mayor capacidad de adsorción de agua contenía la mayor cantidad de biomasa algal. En laboratorio, el Tratamiento 4 demostró la mayor capacidad de adsorción de agua y fue seleccionado para evaluar la retención de agua en suelo. Adicionalmente, se consideró el efecto de las bacterias benéficas, por lo que se evidenció que el Tratamiento 2 tenía la mayor concentración de microorganismos benéficos co-inoculados. Por otra parte, se estudió el efecto del biohidrotenedor mejorado y co-inoculado sobre el crecimiento de *Raphanus sativus* y en la retención de agua en suelo escala de invernadero utilizando un diseño a dos niveles de dosis. Se evaluaron factores fisicoquímicos, microbiológicos y de crecimiento vegetal. A partir de los resultados del análisis comparado de medias, se determinó que los tratamientos 4 (2 % p/p) y 2 (1 % p/p) evidenciaron un mayor crecimiento de raíz y altura de planta comparado con los controles, aunque el peso húmedo fue menor que el del control comercial. En relación con la evaluación sobre la retención de agua, los Tratamiento 4 y Tratamiento 2 mostraron una capacidad de retención y liberación de agua, que si bien no superó la obtenida por el Hidrokeeper® al 2% (p/p) evidenció un aumento significativo respecto al control de suelo. Por último, la viabilidad de las bacterias benéficas se mantuvo mínimo en 10⁶ UFC/g, especialmente en el Tratamiento 2 al 2% (p/p).

En resumen, el Tratamiento 4 al 2% (p/p) se destacó por su capacidad de retención de humedad y promoción del crecimiento vegetal, siendo el más adecuado para estos fines y garantizando ser soporte para bacterias co-inoculadas.

1. Introducción

Actualmente, debido a las problemáticas de estrés hídrico en el sector agrícola se emplean diversos métodos para aumentar la eficiencia del uso del agua ([Thombare et al., 2018](#)). Entre esos métodos, se destaca el desarrollo y uso de hidrotenedores (HR) sólidos y semisólidos ([Varghese et al., 2020](#)). Los hidrotenedores o hidrogeles de aplicación agrícola, son estructuras poliméricas tridimensionales hidrofílicas que permiten la disponibilidad de agua en condiciones de escasez. Estos aumentan la productividad del suelo al almacenar grandes volúmenes de agua en su estructura, favoreciendo el crecimiento de las plantas y mejorando el rendimiento agrícola de los cultivos ([Saini & Malve, 2023](#); [Neethu et al., 2018](#); [Gomma & Aldaby, 2023](#)).

El creciente desarrollo de hidrotenedores biobasados o biohidrotenedores (BHR) como una alternativa a los HR sintéticos en la agricultura ([Kaur et al., 2023](#)). Sus propiedades incluyen biodegradabilidad, baja o nula toxicidad para los cultivos y producción a partir de polímeros naturales como celulosa, quitosano, almidón, residuos lignocelulósicos, pectina, formulaciones con compuestos húmicos, y/o compuestos derivados de biomasa algal como el alginato obtenido de las algas café ([Qu & Luo, 2020](#); [Kaur et al., 2023](#); [Nuzzo et al., 2020](#); [Gomma & Aldaby, 2023](#)).

Para el desarrollo de BHR como alternativa a los de origen sintético, se podría considerar la formulación de BHR derivado a partir de biomasa algal y de material lignocelulósico condensado como el biochar, debido a su sostenibilidad y biodegradabilidad. ([Lin et al., 2022](#); [Durpekova et al., 2020](#); [Gomaa & Aldaby, 2023](#)) Adicionalmente, el uso de polímeros crudos o estabilizados por métodos físicos, químicos o biológicos puede complementarse con la adición de microorganismos benéficos en suelos, como bacterias promotoras de crecimiento vegetal que producen sustancias como las fitohormonas, bacterias fijadoras de nitrógeno y bacterias solubilizadoras de fosfatos, mejorando la disponibilidad de nutrientes esenciales ([Plaza-Roja et al., 2023](#); [Blanco-Vargas et al., 2022](#); [Castillo-Toro et al., 2021](#); [Chávez, 2023](#)).

La biomasa algal, es un recurso potencial como biomaterial crudo para la producción de bioproductos, y se pueden cultivar bajo condiciones fototróficas, heterotróficas y mixotróficas, siendo la mixotrofia la más utilizada a nivel industrial ([Suparmaniam et al., 2019](#)). Los sistemas de cultivo incluyen los abiertos en tanque o reservorio y los cerrados controlados en fotobiorreactores (FBR), aunque también se han implementado sistemas de cultivo a partir de residuos sólidos y líquidos provenientes de las plantas de tratamiento y de la industria agrícola y alimentaria ([Benedetti et al., 2018](#); [Ríos-Pinto et al., 2021](#)); si bien, este cultivo requiere pretratamiento depurativo de los residuos, las plantas de tratamiento de aguas residuales pueden producir lodos sólidos y semisólidos que permiten la obtención de nuevos bioproductos y una aplicación en el sistema de economía circular. ([Singh & Panday, 2019](#); [Plaza-Roja et al., 2023](#); [Costa et al., 2023](#); [De Lima Barizao et al., 2023](#)).

La biomasa algal como bioproducto puede emplearse en el desarrollo de aplicaciones agrícolas como biofertilizantes, bioadsorbentes o acondicionadores de suelo; para mejorar la fertilidad y la

productividad de las plantas ([Yu et al., 2018](#); [Ammar et al., 2022](#); [Udayan et al., 2022](#)). En este contexto se entiende por acondicionador de suelo una sustancia cuya función permite la mejora de al menos una característica física, química o biológica del suelo ([NTC 1927:2019](#)). Se han empleado diferentes géneros y especies de microalgas para estas aplicaciones, siendo *Chlorella* sp. el género modelo debido a su elevada velocidad de crecimiento, adaptabilidad a distintas condiciones y versatilidad metabólica ([De Lima Barizao et al., 2023](#)).

Chlorella sp. es una microalga unicelular perteneciente al filo Chlorophyta compuesta celularmente por polisacáridos, proteínas y lípidos, y sus condiciones de crecimiento y metabolismo se dan bajo distintas condiciones metabólicas utilizando fuentes de carbono orgánico e inorgánico y de luz solar o artificial ([Bansal, 2019](#); [Y.Wang et al., 2023](#)). Además, la incorporación de microalgas en combinación con otros compuestos orgánicos biocompatibles, como el biocarbón o biochar, no solo optimiza la funcionalidad del producto, sino que también potencia su capacidad de biodegradación ([Mojiri et al., 2022](#)). Asimismo, la biomasa algal se revela como una fuente idónea para la producción de biochar, aprovechando su naturaleza sostenible y renovable ([Yu et al., 2018](#)).

El biochar, es un producto sólido con carbono condensado derivado de biomásas o materias con alto contenido de carbono que se obtiene mediante pirólisis lenta ([Ullah et al., 2019](#)). Las aplicaciones del biochar en la actividad agrícola permite el incremento de la fertilidad del suelo, promueve el crecimiento vegetal, funciona como sustrato de siembra, mejora la capacidad de retención de agua y nutrientes y puede actuar como sustrato inmovilizador de microorganismos benéficos del suelo ([Plaza-Roja et al., 2023](#)). Este producto se puede obtener a partir de diferentes residuos agroindustriales y de suelo como lo es el salvado de trigo, la borra de café y la celulosa. El uso de estas materias primas permite adoptar modelos de economía circular de bajo costo de producción y que no tengan un impacto negativo adicional sobre el medioambiente ([Y. Wang et al., 2023](#); [Mishra & Mohanty, 2023](#); [Plaza-Roja et al., 2023](#)).

Los microorganismos benéficos del suelo promueven el crecimiento de las plantas, mejora en la absorción de nutrientes del suelo y resistencia frente al estrés biótico y abiótico ([Ferreira et al., 2019](#); [Jat et al., 2021](#)). Específicamente, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) tienen capacidades bioestimulantes, biofertilizantes y reguladoras del estrés. Los principales mecanismos utilizados son la solubilización de fósforo, la producción de fitohormonas, la captura de carbono y la fijación de nitrógeno ([Vats et al., 2021](#); [Sarfranz et al., 2019](#)).

En este contexto, este trabajo de grado tuvo como objetivo principal determinar la cantidad de biomasa algal de *Chlorella* sp. y carboximetil celulosa comercial con un a solución de microorganismo benéficos co-inoculados, necesaria para la formulación de un biohidroretenedor que ofrezca una alternativa a los hidrogeles sintéticos, aprovechando así mismo el uso de biochar para abordar los desafíos de la escasez de agua en la agricultura y el crecimiento vegetal en cultivos como el rábano (*Raphanus sativus*).

1.1 Planteamiento y Justificación del problema

1.1.1 Planteamiento del problema

En la actualidad, el sector agrícola se enfrenta a desafíos significativos debido a la creciente demanda mundial de agua y los impactos del cambio climático, especialmente en áreas áridas y semiáridas, donde la escasez de agua representa un obstáculo considerable para la actividad agrícola ([Abobatta, 2018](#)). Las temporadas de sequía intensifican la desertificación de los suelos, lo que se observa en la reducción de la disponibilidad y calidad de agua para actividades de riego, generando una condición de estrés hídrico ([Grigorieva et al., 2023](#)). El estrés hídrico, es uno de los factores limitantes que tienen un efecto sobre el crecimiento y la productividad de cultivos al provocar daños fisiológicos tanto en el suelo como en las plantas ([Matiz-Sarmiento, 2018](#)).

En Colombia, se ha reportado un área alrededor de 200.000 km² de zonas áridas o semiáridas y 59.000 km² expuesta a condiciones de sequía debido a fenómenos de variación climática, reducción de precipitación e incremento de las temperaturas que reducen el contenido volumétrico de agua en suelo hasta en un 10% afectando distintos cultivos ([Sánchez-Reinoso et al., 2020](#); [Pabón-Caicedo & Alarcón-Hincapié, 2017](#)). Adicionalmente, en Colombia se ha proyectado que la temperatura promedio anual aumente en un 0.9 °C para 2040 y que disminuyan aún más los niveles de precipitación, lo que tendría un impacto mayor sobre diferentes cultivos del sector agrícola ([Terán-Chaves et al., 2023](#)). Específicamente para el cultivo de rábano (*Raphanus sativus*), el rendimiento y la calidad de las raíces se ven influenciados por los períodos de sequía o por riego inadecuado, ya que la variación de temperatura y humedad del suelo afecta el crecimiento ([Zomerfeld et al., 2021](#)).

Una estrategia implementada en regiones caracterizadas por suelos áridos y semiáridos es el uso de tecnologías destinadas a mejorar la eficiencia en el uso del agua y facilitar la absorción de nutrientes por parte de las plantas ([Abobatta, 2018](#)). Entre esas tecnologías se encuentra el uso de polímeros o hidrogeles, los cuales mejoran la eficiencia del uso del agua ya que mejoran la disponibilidad de agua para las plantas, al aumentar las propiedades de retención de agua del suelo ([Fang et al., 2019](#)). Así mismo, otra estrategia implementada es el uso de biochar como acondicionador de suelo que permite mejorar la calidad del suelo y la fertilidad ([Osman et al., 2022](#)). Para cultivos de rábano se ha reportado que el uso de hidrogeles permite un uso más eficiente del agua ([Zomerfeld et al., 2021](#)), mientras que la adición de biochar mejora la capacidad de retención de agua y la disponibilidad de nutrientes ([Amin, 2023](#); [Adekiya et al., 2019](#); [Sousa & Figueredo, 2015](#); [Kumar et al., 2021](#)).

Los hidrogeles o hidrotenedores comúnmente empleados en la agricultura, de manera comercial, son polímeros fabricados a partir de monómeros derivados de fuentes petroquímicas o elaborados con polisacáridos y derivados del petróleo como, por ejemplo, el hidrogel de alginato de sodio-poliacrilamida ([Mallik et al., 2019](#); [Mondal & Haque, 2019](#); [B. Song et al., 2020](#)). De manera general, los hidrotenedores sintéticos son productos a base de acrilato, poliácridamidas reticuladas o copolímeros de acrilamida-acrilato

([Gomaa & Aldaby, 2023](#); [Neethu et al., 2018](#)). Se ha reportado que estos polímeros sintéticos pueden degradarse en subproductos o monómeros potencialmente tóxicos, y se destaca como subproducto monomérico y su desafiante proceso de biodegradación ([Braun et al., 2021](#); [Thombare et al., 2018](#); [Kernosenko et al., 2023](#)). Por otro lado, se ha planteado evaluar el efecto de persistencia de los monómeros que pueden permanecer sin reaccionar, acumulándose en el suelo afectando tanto la fisiología de las plantas como el microbioma de la rizosfera o la conformación de los poros del suelo debido a su alto peso molecular y su densidad ([Duperkova et al., 2020](#); [Skrzypczak et al., 2020](#); [Thombare et al., 2018](#); [Fang et al., 2019](#)).

En la búsqueda de estrategias que mitiguen el impacto del cambio climático, se ha intensificado la investigación en torno al desarrollo de alternativas que permitan la obtención de polímeros sin depender de compuestos derivados del petróleo, enfocándose en los biopolímeros como potenciales reemplazos de los materiales sintéticos para la producción de hidrogeles amigables con el medioambiente ([Pascual et al., 2022](#); [Tomadoni et al., 2020](#); [Duperkova et al., 2022](#)). Actualmente, se siguen desarrollados copolímeros orgánico-inorgánico que pueden tener propiedades de biodegradación, las crecientes preocupaciones medioambientales estimulan el uso de polímeros libres de derivados del petróleo empleando como alternativa los polímeros naturales ([Gomaa & Aldaby, 2023](#); [Skrzypczak et al., 2020](#); [Guilherme et al., 2015](#)). Los polímeros naturales, en particular desarrollados a partir de polisacáridos como el quitosano, la pectina, el alginato de sodio, gomas, el almidón y la celulosa, son considerados como materiales potenciales que poseen la estructura para el desarrollo de hidrogeles biocompatibles, biodegradables, renovables, de baja o nula toxicidad y de bajo costo de producción ([Sadat-Hosseini et al., 2016](#); [Qu & Luo, 2020](#) ; [Fang et al., 2019](#)).

La biomasa algal es un material y recurso natural, con una amplia aplicación en productos agrícolas debido a que celularmente contiene polisacáridos, proteínas, lípidos y otros compuestos de valor agregado ([Yap et al., 2021](#)). Estos compuestos pueden estar involucrados en la promoción del crecimiento de las plantas al mejorar la disponibilidad de nutrientes, producir sustancias bioactivas, aplicarlas como biofertilizantes o acondicionadores físicos del suelo, y para la formulación de biomateriales de aplicación para el suelo ([Álvarez et al., 2021](#); [Ammar et al., 2022](#); [Udayan et al., 2022](#)). Considerando los componentes celulares, la pared celular de las microalgas se compone de celulosa, hemicelulosa, quitina, β -glucanos, pectina, proteínas y lípidos que contienen grupos funcionales hidrofílicos que pueden formar enlaces de hidrógeno con otros compuestos como el agua ya que tiene propiedad semipermeable que permite acumulación o retención de agua que puede aprovecharse en aplicaciones como hidroretenedores ([H. Li et al., 2022](#)).

Debido a la facilidad de los requerimientos nutricionales de los cultivos de microalgas para la obtención de biomasa algal, se ha utilizado como materia prima para el desarrollo de productos de alto valor en el sector agrícola ([Álvarez et al., 2021](#); [Ammar et al., 2022](#); [Udayan et al., 2022](#)). Una aproximación reportada de estas aplicaciones es el desarrollo de BHR en forma de perlas ecológicas de quitosano y *Chlorella* sp. para su uso en la agricultura o la producción de biochar a partir de biomasa de algal, y biochar

a partir de *Chlorella* sp. con otros residuos agroindustriales como soporte de microorganismos benéficos empleado como acondicionador de suelo ([Plaza-Rojas et al., 2023](#); [H. Li et al., 2022](#) ; [Bi & He, 2022](#)).

Implementar biochar a partir de residuos agroindustriales y biomasa algal como materiales soporte de microorganismos benéficos permite la aplicación o adición de microorganismos benéficos al suelo ([Blanco-Vargas et al., 2022](#); [Moreno-Bayona et al., 2019](#)). Los beneficios principales de la adición incluyen la promoción del crecimiento de las plantas, la resistencia frente a estrés biótico y abiótico, y la obtención de macro y micronutrientes esenciales y escasos en los cultivos genera un alto valor agregado para acondicionadores de suelo ([Ferreira et al., 2019](#); [Jat et al., 2021](#); [Ammar et al., 2022](#)).

Por lo anterior, el uso de microalgas en la agricultura puede contribuir al desarrollo de productos que mejoren la disponibilidad de agua ([Plaza-Roja et al., 2023](#)). Complementar la biomasa algal con otros polisacáridos como la carboximetil celulosa (CMC) podría potenciar la funcionalidad de retención para el desarrollo de BHR debido a sus propiedades estructurales y físicas ([Kundu et al., 2022](#)). Se ha tenido una aproximación preliminar de BHR a partir de biomasa algal y CMC, donde se obtuvo que la capacidad de adsorción de agua evaluada únicamente en laboratorio fue menor a la determinada con control comercial sintético (Hidrokeeper®) ([Chávez, 2023](#)). Mejorar la formulación podría permitir evaluar la aplicación del producto en cultivos vegetales. A partir de esto, se plantea que la evaluación en el modelo de cultivo de *Raphanus sativus* permitiría estudiar el impacto del cambio climático bajo condiciones de estrés hídrico debido a su tamaño y su corto período de crecimiento que facilita la investigación ([Botyanszka et al., 2024](#)).

Considerando todo lo anterior, el objetivo de este proyecto fue determinar la proporción de biomasa algal de *Chlorella* sp. y carboximetil celulosa comercial necesaria para una nueva formulación de un BHR con microorganismos benéficos co-inoculados que favorezca la capacidad de adsorción de agua y el crecimiento vegetal del *Raphanus sativus* en suelo.

1.1.2 Justificación

Determinar la concentración de biomasa algal y carboximetil celulosa comercial permitirá obtener una formulación de BHR con una capacidad de adsorción de agua mayor a las previamente formuladas. A partir de esto, se desarrollará un BHR como alternativa al uso de hidroretenedores de síntesis química. Adicionalmente, al agregar en la formulación un consorcio de microorganismos benéficos promoverá la disponibilidad de nutrientes y estimulará el crecimiento de las plantas mientras se mejora la disponibilidad de agua.

A largo plazo, estos resultados pueden contribuir al desarrollo y adopción de BHR s base de microalgas y biomateriales como acondicionador del suelo que favorezcan el crecimiento de los cultivos agrícolas. Además, aportará en la transición hacia una práctica agrícola más ecológica y con una mayor calidad en los cultivos. En síntesis, beneficiar el crecimiento vegetal tanto del modelo *Raphanus sativus*, como de otros modelos de interés agrícola u ornamental en Colombia.

1.2 Pregunta de Investigación

¿Cuál es la proporción de biomasa algal de *Chlorella* sp. y carboximetil celulosa comercial con microorganismos benéficos co-inoculados necesaria para una nueva formulación de un biohidroretenedor que promueva el crecimiento vegetal de *Raphanus sativus*?

1.3 Hipótesis

Se espera que, una proporción óptima de biomasa algal de *Chlorella* sp. y carboximetil celulosa comercial con microorganismos benéficos co-inoculado en la formulación de un biohidroretenedor, promueva un crecimiento vegetal significativamente mejor de *Raphanus sativus*, comparado con las formulaciones previas y un suelo sin aplicación.

2. Marco teórico

2.1 Hidroretenedores y biohidroretenedor en la agricultura

2.1.1 Hidroretenedor

Un hidroretenedor o hidrogel es una matriz polimérica tridimensional formada por grupos hidrofílicos unidos por enlaces físico-entrecruzados con la capacidad de ser altamente hidratada al inmovilizar agua en su interior. La capacidad de absorción de agua del hidrogel se debe a la presencia de grupos funcionales hidrofílicos como carboxilo (-C=O), hidroxilo(-OH) y amida(-CONH₂) en la matriz polimérica (Kaur et al., 2023).

El funcionamiento de los hidroretenedores se basa en el almacenamiento de agua que se libera a la raíz debido a la presión osmótica. Mientras se reduce el volumen por la liberación de agua, se crean poros en el suelo, permitiendo un mayor espacio para el crecimiento de las raíces y el almacenamiento de nutrientes (Figura 1) (Abobatta, 2018). Además, del tipo de polímero y su grosor, este proceso está determinado por el volumen libre del hidrogel o su porosidad y efectos de obstrucción de la matriz polimérica, que consiste en tres etapas, la primera, migración del agua de lluvia del suelo al hidrogel, la segunda, aumento de la presión en el interior de la cápsula debido al almacenamiento de agua y, la tercera, liberación de agua en el suelo (Skrzypczak et al., 2020).

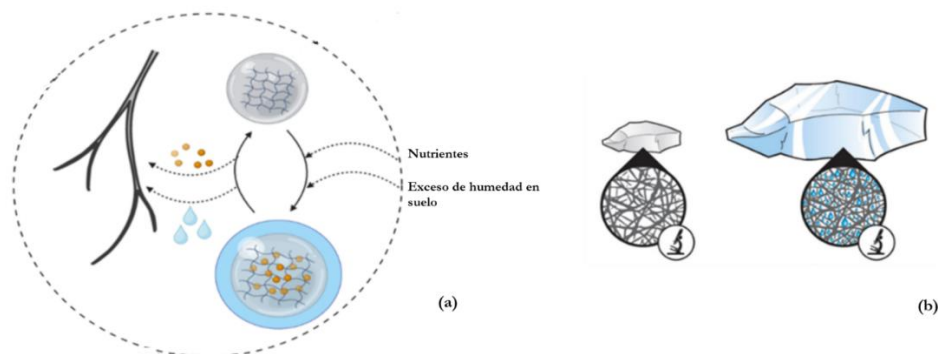


Figura 1. Modo acción hidrogel. Modificado de Braun et al., 2021 y Kaur et al., 2023

De manera general, los hidrogeles que pueden ser aplicados como hidroretenedores son sintéticos o naturales según la fuente, varían según su composición polimérica y configuración amorfa/cristalina y el tipo de enlace entrecruzado puede ser físico o químico. Los principales grupos de hidroretenedores actualmente son: 1) Copolímeros de almidón, 2) Polímeros de alcohol polivinílico y 3) Poliacrilamidas (Figura 2) (Abobatta, 2018; Skrzypczak et al., 2020).

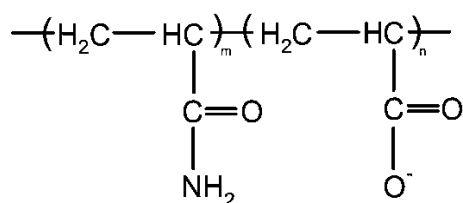


Figura 2. Estructura poliacrilamida parcialmente hidrolizada (Fuente: Rock et al., 2020)

La acrilamida resulta de la reacción de hidratación de acrilonitrilo, el cual se obtiene a partir de la amoxidación catalítica del propeno, un subproducto derivado del petróleo ([Mack et al., 2020](#); [Braun et al., 2021](#)). El ácido acrílico, otro monómero empleado, se obtiene a partir del propileno y la oxidación catalítica heterogénea, el propileno se obtiene durante el proceso de refinamiento de la gasolina ([Braun et al., 2021](#); [NCBI, 2024](#)).

2.1.2 Biohidroretenedor

Las crecientes preocupaciones medioambientales estimulan actualmente el uso de polímeros libres de derivados petroquímicos. Los polímeros naturales, basados en polisacáridos, se han utilizado en gran medida para reemplazar o combinarse como copolímeros con los hidroretenedores actuales ([Guilherme et al., 2015](#)). Un BHR es un hidroretenedor fabricado a partir de polímeros naturales que permiten su degradación total. Adicionalmente, representan ventajas como el bajo costo, la abundancia de materias primas, la renovabilidad y la biocompatibilidad ([Guilherme et al., 2015](#); [Sarmah et al., 2019](#)).

Los polisacáridos aplicados actualmente para BHR se pueden obtener de plantas, microorganismos u organismos marinos, entre los más empleados se destaca el almidón, pectina, goma guar, celulosa, hemicelulosa, agar, goma xantana, alginato, quitina, quitosano y ácido hialurónico ([Azeem et al., 2023](#)). En la **Tabla 1** se presentan las estructuras de los principales polímeros naturales empleados en el desarrollo de hidrogeles, estructuras que favorecen su biodegradabilidad y biocompatibilidad.

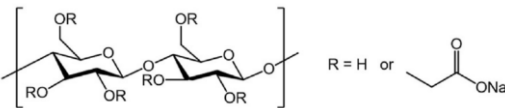
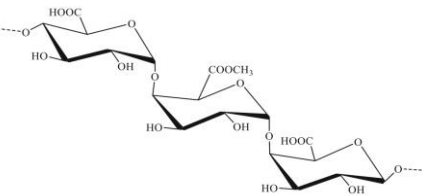
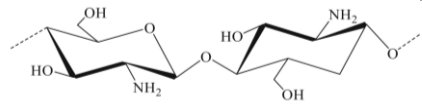
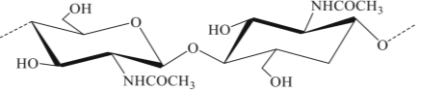
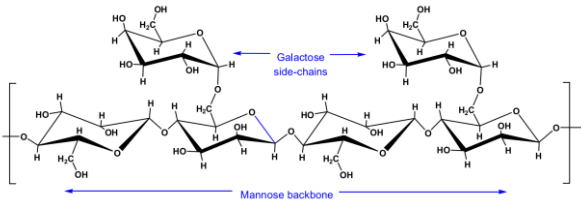
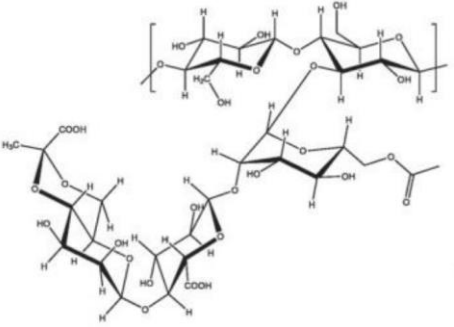
Dentro de los más utilizados se resalta:

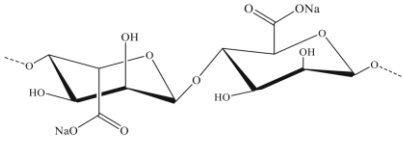
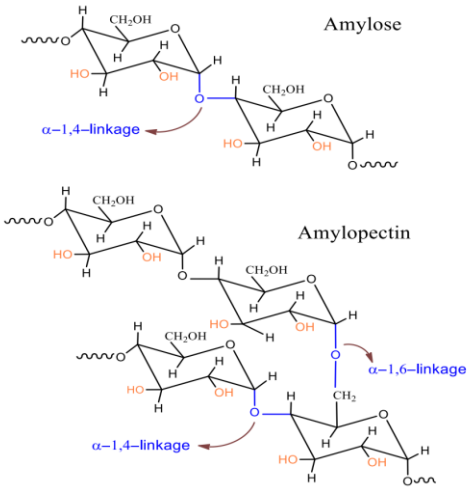
- **Celulosa:** Presente en distintas fuentes naturales, es uno de los materiales orgánicos más utilizados para sintetizar hidrogeles debido a su composición de grupos -OH, que pueden formar enlaces de hidrógeno, creando redes tridimensionales aplicables en la elaboración de hidrogeles ([A. Sharma et al., 2019](#) ; [Kundu et al., 2022](#)). Los grupos hidroxilo (-OH) y carboxilo (-COOH) permiten que la celulosa sea relativamente biodegradable debido a que proporcionan sitios para la actividad enzimática ([Adjuik & Montross , 2023](#)). Se han reportado aplicaciones de hidrogeles basados en celulosa que permiten contrarrestar el efecto del estrés abiótico mejorando la productividad, el crecimiento vegetal y la germinación debido a la disponibilidad de nutrientes y la retención de agua para cultivos como el frijol, maíz, pepino, mostaza de la india y lechuga ([Abou-Baker et al., 2019](#); [Sasmal & Patra, 2020](#); [Montesano et al., 2015](#) ; [Palanivelu et al., 2023](#))
- **Almidón:** Se puede extraer de diferentes fuentes, principalmente de maíz, papá, arroz, trigo, entre otros. Se caracteriza por tener un gran número de grupos polares con los cuales pueden generarse interacciones intermoleculares con el agua ([Adjuik & Montross , 2023](#)). Se han realizado aproximaciones para la aplicación de biohidroretenedores basados en almidón donde se promovió la germinación de semillas, permitieron la retención de agua en periodos de sequía, potenciaron la longitud de raíz y el contenido de clorofila en cultivos de melón, girasol y maíz ([De Vasconcelos](#)

[et al., 2019](#); [Ghobashy et al., 2021](#); [Pathak & Ambrose, 2019](#)).

- **Alginato:** Es un biopolímero recuperado de las algas café. Se caracteriza por tener grupos funcionales -OH y -COOH en su estructura y tienen altas tasas de degradación por la presencia de grupos -COOH y enlaces -COC- susceptibles a la actividad enzimática microbiana ([Adjuik & Montross, 2023](#)). En relación con aplicaciones de hidrogeles basados en alginato se ha reportado su impacto significativo en el incremento de la humedad en suelo, promoción de crecimiento bajo condiciones de estrés hídrico, mejora en la abundancia microbiana, mejora la disponibilidad de nutrientes y mejora la tolerancia ante estrés hídrico para cultivos de lechuga y tomate ([Tomadoni et al., 2020](#) ; [El-Idrissi et al., 2023](#); [Pascual et al., 2022](#)).

Tabla 1. Polímeros naturales empleados en el desarrollo de hidrogeles

Polímero natural	Estructura química	Fuente
Celulosa		(Kundu et al., 2022)
Pectina		(Azeem et al., 2023)
Quitosano		(Azeem et al., 2023)
Quitina		(Azeem et al., 2023)
Goma Guar		(Thombare et al., 2016)
Goma Xantana		(Sorze et al., 2023)

Polímero natural	Estructura química	Fuente
Alginato de Sodio		(Azeem et al., 2023)
Almidón		(Qamruzzaman et al., 2021)

2.2 *Chlorella* sp.

2.2.1 Generalidades de *Chlorella* sp.

Las microalgas son microorganismos eucariotas unicelulares fotosintéticos con una alta tasa de crecimiento que crecen en estanques, arroyos, océanos e incluso en aguas residuales con diferentes intensidades de luz (Ma et al., 2022). Tienen la capacidad metabólica de convertir la energía solar en energía química por medio de la fijación de dióxido de carbono (CO₂) (Queiroz et al., 2017). Estos microorganismos son fundamentales en el ciclo global del carbono donde, a través de la fotosíntesis, asimilan aproximadamente el 50 % del CO₂ generando O₂ y materia orgánica (MO) (G. Li et al., 2023).

Chlorella sp. se reproduce a través de la producción asexual de esporas que maduran y se liberan simultáneamente mediante la ruptura de la pared celular materna. El número de esporas derivadas de una sola célula madre puede variar considerablemente, desde 2 hasta 16. Las estructuras celulares incluyen el cloroplasto, núcleo, mitocondrias, vacuola, almidón y cuerpos lipídicos (Chisti, 2020). Adicionalmente, la biomasa de *Chlorella* se compone de polisacáridos, proteínas, lípidos y otros compuestos orgánicos (Y. Wang et al., 2023). Cabe agregar que, el desarrollo de aplicaciones a partir de biomasa de *Chlorella* sp. se basa en la extracción o uso directo de polisacáridos, lípidos, pigmentos, proteínas, vitaminas, compuestos bioactivos y antioxidantes (Ma et al., 2022).

2.2.2 Morfología y Taxonomía

Morfología

Chlorella es un alga verde unicelular y no móvil. Las células tienen forma esférica a elipsoidal, son de color verde, y miden entre 2-15 μ m de diámetro ([Safi et al., 2014](#)). Los principales componentes celulares, incluyendo clorofila *a* y *b*, carotenoides (α -, β -, γ -Caroteno, astaxantina, luteína, neoxantina, violaxantina), reserva de carbohidratos principal de almidón, pared celular que se compone de celulosa y polisacáridos no celulósicos ([Leliaert, 2019](#)) y poseen cloroplastos en forma de copa ([Kaliyamurthi et al., 2019](#)). En la **Figura 3** se presenta la morfología característica observada por microscopía de luz.

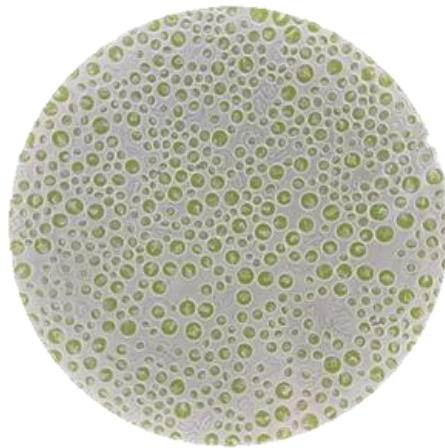


Figura 3. Morfología de *Chlorella* sp (Fuente: Garzón-Jirón).

Taxonomía

Chlorella sp. (TaxID: 3071) es un organismo celular del superreino Eukaryota, reino Viridiplantae, filo Chlorophyta, clase Trebouxiophyceae, orden Chlorellales, familia Chlorellaceae y género *Chlorella* ([NCBI, s.f](#)). Cabe aclarar, que la evolución independiente de *Chlorella* a partir de dos clases diferentes: Trebouxiophyceae y Chlorophyceae, y su distribución en diferentes clados (Clado-Chlorella) permite separar este género de otros distintos a nivel morfológico. Se han asignado 14 especies al género ([Champenois et al., 2015](#)) de las cuales, las más ampliamente utilizadas en la biotecnología incluyen a *C. protothecoides* y *C. vulgaris* ([Bansal, 2019](#)).

2.2.3 Condiciones de cultivo y crecimiento

Las especies de *Chlorella* son microorganismos que pueden crecer bajo diferentes condiciones. Es un microorganismo cuyo crecimiento y acumulación de componentes celulares varían según las condiciones del medio de cultivo, controladas por factores nutricionales y ambientales como fuentes de carbono, nitrógeno, macro y micronutrientes, temperatura, pH, salinidad, velocidad de agitación y aireación ([Bansal, 2019](#)).

La luz juega un papel crucial en la fotosíntesis de las microalgas, afectando su tasa de crecimiento. Se ha demostrado que el uso de iluminación continua mediante diodos emisores de luz (LED), con una longitud de onda específica para *Chlorella* sp., puede aumentar su crecimiento ([Kim et al., 2014](#)). El pH

influye en la actividad enzimática y la absorción de iones, siendo generalmente neutro el pH óptimo (pH ≈ 7.0), aunque varía entre especies ([L. Zhu et al., 2015](#)). La temperatura óptima para el crecimiento se sitúa entre 20 °C y 30 °C, mientras que nutrientes esenciales como carbono, nitrógeno, fósforo, azufre y metales traza son necesarios para la síntesis de biomasa (**Figura 4**), ([Ebeling et al., 2006](#); [G. Li et al., 2023](#)).

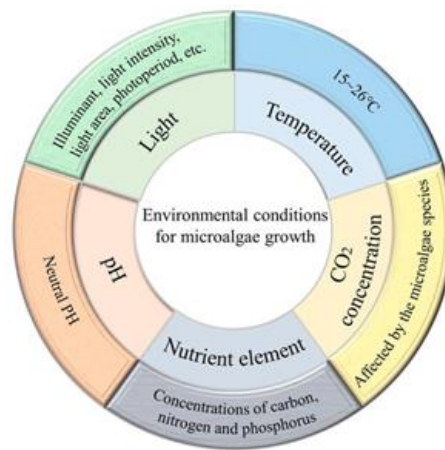
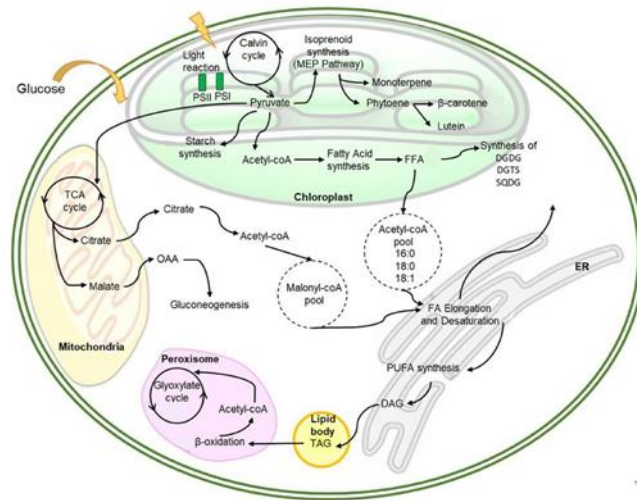


Figura 4. Condiciones de crecimiento de microalgas ([G. Li et al., 2023](#))

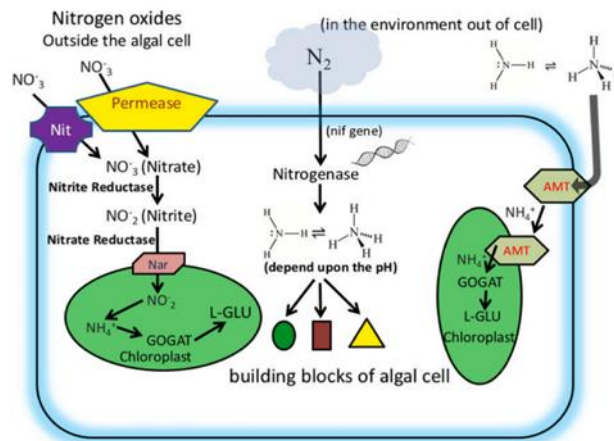
2.2.4 Características metabólicas de *Chlorella* sp.

El cultivo *Chlorella* sp. debe considerar el crecimiento fotoautótrofo, heterótrofo y mixotrófico ([Chisti, 2020](#)). Bajo condiciones de fotoautotofía, crece al convertir la energía solar en química a través de la fotosíntesis eficiente que se basa en una serie de reacciones dependientes de la luz y fijación de dióxido de carbono para la producción de ATP y NADPH, que se utilizan en el ciclo de Calvin-Benson (**Figura 5a**). Utiliza CO₂ principalmente en forma no disociada o como bicarbonato. Niveles más altos de CO₂ pueden causar una disminución en el pH del medio y así inhibir el crecimiento de las algas. Sin embargo, también se ha reportado que puede haber tolerancia a altas concentraciones de CO₂ de hasta un 40 % pero su crecimiento óptimo es a concentraciones más bajas ([Azaman et al., 2020](#)). Bajo condiciones mixotróficas las microalgas realizan el proceso de fotosíntesis y respiración aeróbica a expensas de fuentes de carbono orgánico, como azúcares. Entre estos monosacáridos y disacáridos se destaca la glucosa, fructosa, manos y sacarosa, mientras que en condiciones de heterotofía la fuente de energía es el sol ([Abreu et al., 2022](#)).

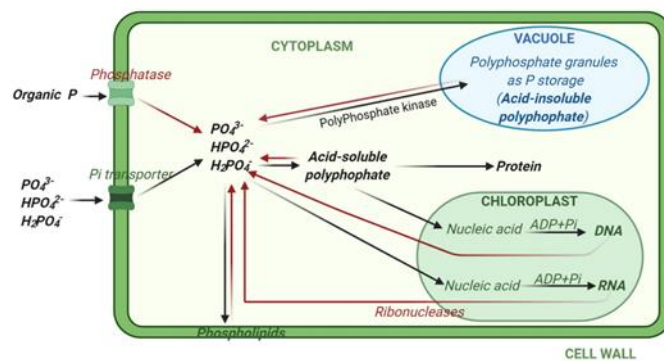
El segundo elemento más importante es el Nitrógeno (N). Sus principales fuentes de nitrógeno inorgánico pueden ser el nitrato (NO₃⁻), nitrito (NO₂⁻), y/o amoníaco (NH₄⁺) y como fuentes orgánicas puede usar urea, glicina y aminoácidos ([Liu et al., 2013](#)) (**Figura 5b**). Por último, el fósforo (P) es un macronutriente para las microalgas, fundamental para la síntesis de ácidos nucleicos (p. ej., ARN y ADN), obtención de ATP y fosfolípidos como principal componente de la membrana (**Figura 5c**) ([Su, 2021](#)).



(a) Metabolismo del Carbono (Fuente: Azaman et al., 2020)



(b) Metabolismo del Nitrógeno (Fuente: Kumar & Bera, 2020)



(c) Metabolismo del Fósforo (Fuente: Su, 2021)

Figura 5. Rutas metabólicas principales de *Chlorella sp*

2.2.5 Importancia *Chlorella sp.* en la agricultura

Como aplicación en la biotecnología las microalgas pueden ser utilizadas en procesos de biorremediación y para la producción de subproductos de alto valor agregado, productos biobasados como biocombustibles bioplásticos y/o productos para el sector agrícola (Udayan et al., 2022). En el contexto del sector agrícola, las microalgas son plataformas para el potencial desarrollo de productos que aportan a la

mejora del suelo y la producción de cultivos. Estos productos incluyen biofertilizantes, bioestimulantes, agentes de biocontrol y acondicionadores del suelo ([Garrido-Cárdenas et al., 2018](#); [Álvarez et al., 2021](#)).

Lo anterior se debe a que las microalgas tienen actividad promotora de crecimiento y pesticida por las sustancias que contienen o producen y que influyen en el crecimiento. Estas moléculas pueden ser promotoras del crecimiento, vitaminas, aminoácidos, polipéptidos y polímeros como exopolisacáridos que aceleran la productividad de las plantas o por su actividad fijadora de nitrógeno ([Álvarez et al., 2021](#); [Safi et al., 2014](#)). La actividad bioestimulante producida por las microalgas mejora el crecimiento de las plantas y el rendimiento de los cultivos junto con la mejora en la fertilidad y estructura del suelo. Adicionalmente, las microalgas pueden interactuar simbióticamente con bacterias, hongos o micorrizas, generando un mayor crecimiento a partir de las interacciones con especies benéficas ([Gautam et al., 2021](#)).

2.3 Biohidroretenedor a partir de biomasa algal de *Chlorella* sp.

2.3.1 Biomasa algal

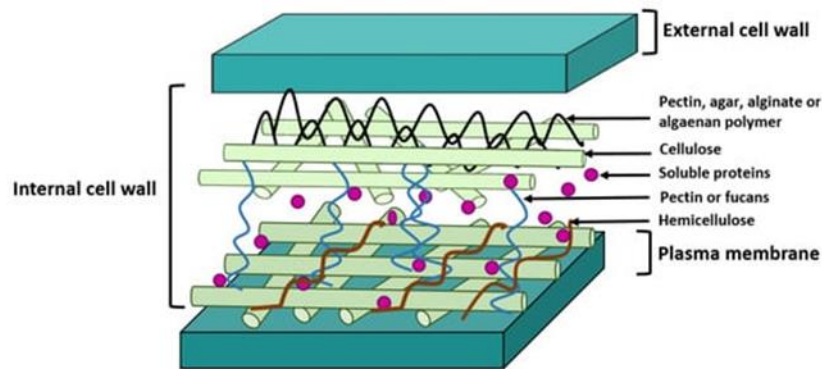
Biomasa algal e importancia

La biomasa algal posee un potencial prometedor para la generación de bioproductos y puede ser cultivada o recuperada bajo condiciones fototróficas, heterotróficas y mixotróficas, siendo las fototróficas las más comúnmente empleadas a nivel industrial ([Suparmaniam et al., 2019](#); [Udayan et al., 2022](#)). Los métodos de cultivo abarcan sistemas abiertos en tanques o reservorios, así como sistemas cerrados en FBRs donde se controlan las condiciones de pH, temperatura, oxigenación, entre otros ([Benedetti et al., 2018](#)). Por otro lado, se han implementado sistemas de cultivo aprovechando residuos sólidos y líquidos provenientes de plantas de tratamiento o de residuos agroindustriales de los cuales se pueden recuperar y generar lodos sólidos y semisólidos que permiten la producción de nuevos bioproductos, contribuyendo así a la aplicación de principios de economía circular ([Singh & Panday, 2019](#); [Plaza-Roja et al., 2023](#); [Costa et al., 2023](#); [De Lima Barizao et al., 2023](#); [Ríos-Pinto et al., 2021](#)).

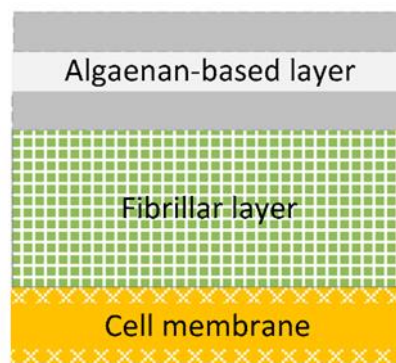
La biomasa algal es entonces un biosólido recuperable de un cultivo de sistema o de la recuperación del tratamiento de aguas residuales, que puede ser procesable y recuperada mediante operaciones unitarias de coagulación-floculación, sedimentación, entre otros ([Hawrot-Paw & Sasiadek, 2023](#); [Koutra et al., 2023](#)).

Su aplicación en bioproductos como biohidroretenedores se debe a las propiedades de su pared celular (**Figura 6a**). La pared celular de *Chlorella* sp. (**Figura 6b**) se compone por polisacáridos fibrilares (celulosa/hemicelulosa/pectina) y glucosamina, proteínas y lípidos con grupos funcionales hidrofílicos hidroxilo (-OH), carboxilo (-COOH), amino (-NH₂) y amida (-CONH), que forman enlaces de tipo puente de hidrógeno generando enlaces químicos con otras sustancias orgánicas. Además, la pared celular es semipermeable, permitiendo que moléculas de agua permeen y se almacenen dentro de su estructura ([G. Li et al., 2023](#)). Por otro lado, el algaenano o esporopolenina es una capa exterior altamente resistente ya que

es un biopolímero hidrocarbonado no hidrolizable trilaminar que forma una monocapa delgada y homogénea ([Kröger et al., 2018](#)).



(a) Estructura general pared celular microalgas ([Pojo et al., 2021](#))



(b) Vista esquemática de la estructura de la pared celular de *Chlorella* sp. ([Kröger et al., 2018](#))

Figura 6. Estructura y componentes pared celular microalgas

Obtención de lodo algal.

La recuperación de microalgas a partir de un medio de crecimiento comprende el 20 % del costo total de producción de biomasa de microalgas para producir productos de alto valor. Sin embargo, reducir el costo de la recuperación de microalgas sigue siendo un desafío debido a su tamaño y la proximidad con el agua, por lo cual la remoción de medios líquidos se dificulta ([Shashank et al., 2023](#)).

Dentro de las operaciones de recuperación o cosecha se encuentra la centrifugación, la flotación, la floculación o coagulación, la sedimentación o la filtración. Posteriormente, la biomasa, puede emplearse húmeda o pasar por un procesamiento mediante secado o por pretratamiento según su aplicación como biomaterial o bioproducto ([Udayan et al., 2021](#); [Céspedes et al 2020](#); [Plazas-Rojas et al., 2023](#)).

La floculación-coagulación es el proceso más efectivo y de bajo costo. Es un proceso que consiste en la formación de agregados densos de las células de microalgas suspendidas en medio líquido mediante atracción de carga de partículas. Este proceso de agregación de partículas en forma de flóculos se puede lograr por técnicas químicas, biológicas o por métodos de electro floculación. La floculación química emplea agentes floculantes o coagulantes, entre esos agentes, el coagulante catiónico es empleado en la floculación

de microalgas que actúa mediante un mecanismo de neutralización de cargas y unión de partículas ([Udayan et al., 2021](#); [Shashank et al., 2023](#)).

La floculación de microalgas puede ocurrir en cuatro mecanismos actuando solos o en combinación ([Mubarak et al., 2019](#)): 1) Fenómeno de neutralización de carga en el que iones, polímeros o coloides cargados se absorben fuertemente en la superficie cargada opuesta de las microalgas; 2) El mecanismo de parche electrostático en el que un polímero cargado se une a las microalgas con carga opuesta formando parches de carga opuesta en la superficie de las microalgas. Las microalgas se conectan entre sí a través de parches de carga opuesta que causan floculación; 3) El fenómeno de puenteo en el que polímeros o coloides cargados se unen simultáneamente a la superficie de dos células diferentes para formar un puente entre ambas, uniéndolas entre sí y 4) La precipitación masiva de minerales presentes en los medios de cultivo haciendo que las microalgas queden atrapadas, lo que se conoce como floculación de barrido.

Los coagulantes pueden ser de tipo catiónico, aniónico y sin carga. Entre los coagulantes catiónicos más utilizados en la floculación y coagulación de microalgas se encuentran el cloruro de polidialildimetilamonio (PDADMAC) y la poliacrilamida catiónica (CPAM), pues estos coagulantes en especial ayudan a mejorar la eficiencia del proceso de floculación y facilitan la separación de las microalgas del medio acuoso ([Mubarak et al., 2019](#)).

2.3.2 Carboximetil celulosa

La Carboximetil Celulosa (CMC) o Carmelosa ($C_8H_{16}O_8$), es un polímero natural ampliamente disponible, con una estructura similar a una larga cadena lineal compuesta por unidades de glucopiranosilo enlazadas en una disposición β -D-1,4 (**Figura 7**) Estas unidades se organizan en estructuras microfibrilares jerárquicas que ofrecen una excelente resistencia y rigidez. La celulosa se utiliza en una variedad de aplicaciones, tanto en entornos domésticos como en la producción industrial. La celulosa es el biopolímero más abundante y se puede obtener a partir de diferentes residuos y derivados ([Varghese et al., 2020](#)).

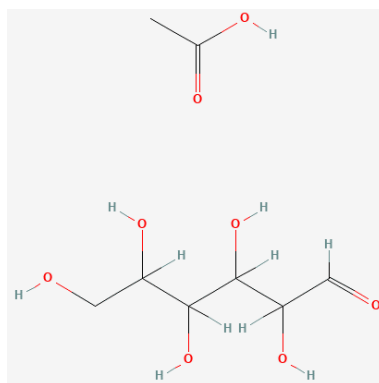


Figura 7. Estructura de la carboximetil celulosa (abajo) y la unidad glucopiranosilo (arriba),
PubChem CID: 24748 (Fuente: [NCBI, 2024](#))

Además, los compuestos poliméricos reforzados con fibra de celulosa ganan interés en la investigación debido a sus propiedades que, incluyen baja densidad, no es abrasivo, combustibilidad, no toxicidad, biodegradabilidad y su asequibilidad. La capacidad de la celulosa comercial para adsorber agua es particularmente importante, lo que la convierte en un material fundamental en aplicaciones como biomateriales e hidrogeles ([A. Sharma et al., 2019](#)). Su uso como hidrogel para la producción de fertilizantes y acondicionadores de suelos se debe a la abundante presencia de grupos hidrófilos que permiten la liberación lenta o controlada de herbicidas, nutrientes, fertilizantes y agua basada en el mecanismo de difusión ([Kassem et al., 2022](#); [Kabir et al., 2018](#)).

2.3.3 Biochar

El biochar o biocarbón es un material sólido basado en carbono condensado derivado a partir del tratamiento termoquímico (pirólisis: 400-600 °C) de diferentes clases de biomásas en presencia o condiciones reducidas de oxígeno. Sus características principales son su fácil elaboración, su alto contenido de carbono, su porosidad, su estructura, su capacidad de intercambio catiónico, su contenido de elementos inorgánicos (N, P K, Mg, Ca, entre otros), su elevada área superficial de contacto y la capacidad de retención de humedad en suelo; debido a la formación de una matriz polimérica de su estructura porosa y el área superficial ([Ullah et al., 2019](#); [Goldschmidt & Buffam, 2023](#)).

La producción de biochar se puede dar por pirólisis simple de un tipo de biomasa biogénica o por mezcla de diferentes subproductos agroindustriales ([Fakayode et al. 2020](#)). Lo anterior, permite obtener un biocarbón con un alto grado de condensación y estabilidad con presencia de distintos grupos funcionales con funciones asociadas a la adsorción de compuestos (nutrientes, contaminantes, agua, microorganismos entre otros) ([Plaza-Rojas et al., 2023](#)). Es decir que, aprovechando esas funciones se puede aplicar el biochar para la inmovilización de células viables de microorganismos benéficos del suelo debido a sus características absorbentes, pero dependiendo de las propiedades de los microorganismos y el tipo de portadores utilizados para conformar el biochar ([Ajeng et al., 2020](#)).

El biochar es ampliamente utilizado como fertilizante para cultivos ([Y. Wang et al., 2023](#); [Mishra & Mohanty, 2023](#)). Dentro de las propiedades más importantes se encuentran ([Enaime & Lübken, 2021](#); [Y. Wang et al., 2023](#); [Fawzy et al., 2021](#) ; [Osman et al., 2022](#); [Antonangelo et al., 2024](#)): 1) Incrementa la fertilidad del suelo y el acceso a nutrientes; 2) Mejora la capacidad de retención de agua y reduce el estrés hídrico; 3) Soporta el concepto de economía circular al ser producido a partir de biomasa residual de diferentes industrias; 4) Captura y almacenamiento de carbono. La potencial materia prima para la producción de biochar es a partir de biomasa lignocelulósica que puede provenir de residuos agroindustriales principalmente; 5) Capacidad de retención de agua debido a la composición y porosidad y 6) Capacidad de intercambio catiónico debido a su estructura porosa y su amplia área de superficie que proporciona amplios sitios de unión para cationes.

Biochar a partir de borra de café, salvado de trigo y celulosa comercial

El biochar se produce a partir de biomasa que se compone principalmente de celulosa, hemicelulosa y lignina, los cuales pueden estar presentes en diferentes cantidades de distintos residuos agroindustriales ([Fawzy et al., 2021](#); [Mishra & Mohanty, 2023](#)).

En promedio la composición de la biomasa lignocelulósica es 10-20 % de lignina, 35-40 % de celulosa y 25-40 % de hemicelulosa. El salvado de trigo se compone de celulosa 35-45 %, hemicelulosa 22-30 % y lignina 8-16 % y la borra de café está compuesta por celulosa 40-50 %, hemicelulosa 15-30 % y lignina 15-30 % ([Gupta et al., 2022](#); [Tapangnoi et al., 2022](#)). Los residuos de la industria papelera se componen por un alto contenido de celulosa (60-70%) y uno bajo de hemicelulosa y lignina (30 %) debido al proceso de blanqueamiento ([Huang et al., 2021](#)); también se ha reportado que puede contener alta concentración de carbonatos, hidróxidos, óxidos de Na, Ca o Mg, ([Haile et al., 2021](#); [Cherian & Siddiqua, 2019](#); [Gibril et al., 2018](#)). Su alto pH se debe a que el tratamiento en el proceso de fabricación del papel se utiliza NaOH y Na₂SO₃ a altas temperaturas y blanqueamiento con NaClO para la remoción de lignina ([Huang et al., 2021](#)).

2.3.4 Microorganismos benéficos

Bacterias promotoras del crecimiento vegetal

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal son bacterias que tienen la capacidad de producir sustancias bioestimulantes, biofertilizantes o reguladora del estrés vegetal ([Sook-Kuan et al., 2020](#)).

Dentro de estas sustancias se destacan las fitohormonas que son sustancias orgánicas que funcionan como coordinadores de la actividad metabólica relacionadas con el crecimiento debido a que tienen funciones de señalización en respuesta a distintos factores ambientales ([Kumar & Ral., 2020](#); [Vejan et al., 2016](#)). Las bacterias promotoras del crecimiento (PGPB) pueden producir auxinas, giberelinas, citoquinas y ácido abscísico ([Fiodor et al., 2021](#)). Las auxinas como el ácido indol acético (AIA) estimulan el crecimiento radicular, promueven la elongación del tallo y aumentan la proliferación celular, y se ha reportado para géneros como *Serratia*, *Azospirillum*, *Bacillus*. y *Azotobacter*, entre otros ([Ferreira et al., 2019](#) ; [Fiodor et al., 2021](#); [Sah et al., 2021](#); [Rawat et al., 2020](#)).

Las citoquinas y giberelinas promueven la división celular, ralentizan procesos de envejecimiento de la planta y aumentan la división de cloroplastos, y se han reportado para los géneros *Azospirillum* y las especies productoras de pigmento fluorescente de *Pseudomonas* ([Ferreira et al., 2019](#) ; [Backer et al., 2018](#), [Vejan et al., 2016](#)). Actualmente se emplean como bioinoculantes de PGPB a los géneros *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Azospirillum*, *Burkholderia* y *Streptomyces* ([Fiodor et al., 2021](#)).

Cuando las plantas son sometidas a condiciones de estrés (alta salinidad, escasez de agua, limitaciones nutricionales, etc.) se pueden dar efectos de disminución de producción de hormonas (IAA,

citoquinas, ácido salicílico, ácido jasmónico), por lo que al suplementar cultivos con bacterias promotoras se podría aumentar la tolerancia al factor causante de estrés ([Wu et al., 2017](#); [Kumar & Ral., 2020](#)).

El género *Pseudomonas* es uno de los más abundantes entre las rizobacterias benéficas, destacado por su capacidad para promover el crecimiento de las plantas. Se ha reportado que estas bacterias favorecen tanto el alargamiento de las raíces como el desarrollo de los brotes, proporcionando diversos fitobeneficios ([Ghadamgahi et al., 2022](#)). Además, producen el pigmento pioverdina la cual se asocia a las diferentes vías de captación de Fe^{3+} del grupo hemo a través de pioquelina, pioverdina y sideróforos ([Seth et al., 2023](#)). También se ha documentado su capacidad para producir antibióticos, sideróforos y lactonas N-acil-homoserinas, compuestos que desempeñan funciones protectoras y de promoción del crecimiento vegetal ([Sah et al., 2021](#)). Por otro lado, se ha reportado sobre el uso de *Pseudomonas fluorescens* como control biológico contra patógenos, debido a la producción de metabolitos secundarios con propiedades biocontroladoras como β -glucanasas, celulasas y proteasas o compuestos volátiles ([Olenska et al., 2020](#); [Fiodor et al., 2021](#); [Saikia et al., 2018](#)).

Bacterias Solubilizadoras de Fósforo

Los microorganismos solubilizadoras de fosforo, son bacterias que a través de diferentes mecanismos de mineralización-fijación, asimilación, solubilización y precipitación-dilución, que permiten aumentar la cantidad de fosforo (PO_4^{3-}) disponible en suelo ([Gross et al., 2020](#); [Liang et al., 2020](#)). De manera general, los mecanismos más frecuentes son mineralización por secreción de enzimas (fitasas, fosfatasas), producción de ácidos orgánicos y la quelación de Ca^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} por acción de sideróforos y exopolisacáridos ([Liang et al., 2020](#); [Neal et al., 2018](#); [Maharana et al., 2021](#)).

Mediante el mecanismo de producción de ácidos orgánicos, se destaca la producción de ácido málico, ácidos succínicos, ácido fumárico, ácidos acéticos, ácido tartárico, ácido malónico, ácido glutámico, ácido láctico y ácido oxálico, los cuales son producidos por diferentes bacterias y varían según su capacidad de adsorción ([Dinesh et al., 2022](#); [Patel et al., 2021](#)). Estos ácidos pueden reemplazar al fosfato que se encuentran en formas insolubles en suelo con los iones metálicos del suelo (Fe^{3+} , Al^{3+} y Ca^{2+}) (ej. CaHPO_4 , $\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$), por lo cual ocupan esos sitios de unión en el suelo, dejando los iones PO_4^{3-} disponibles ([Etesami et al., 2021](#); [Billah et al., 2019](#); [Wei et al., 2018](#)).

La mineralización se basa en la transformación de compuestos organofosforados por acción enzimática de desfosforilación por parte de enzimas tipo fosfatasas (EC 3.1.3) (alcalinas, ácidas y neutras), fitasas (EC 3.1.3.8) y fosfonasas o enzimas catalizadoras de la ruptura de enlaces C-P ([Khourchi et al., 2022](#); [H. Zhang et al., 2023](#); [Rawat et al., 2020](#); [Billah et al., 2019](#)).

La formación de quelatos y complejos se basa en la naturaleza del grupo funcional que se une a los cationes metálicos presentes en el suelo. Este efecto se da por la producción de sideróforos o exopolisacáridos (EPS). Los sideróforos son moléculas con bajo peso molecular que bajo limitada

concentración de iones de hierro quelan los metales Fe^{3+} , Al^{3+} y Ca^{2+} liberando iones fosfato ([Etesami et al., 2021](#); [Feng et al., 2021](#); [Elhaissofi et al., 2022](#)). Los EPS secretados son polisacáridos de alto peso molecular que tienen grupos funcionales PO_4^{3-} , $-\text{COOH}$, y $-(\text{COOH})_2$, $-\text{OH}$ que pueden formar complejos con metales pesados presentes en el suelo ([Yi et al., 2008](#); [Pan & Cai, 2023](#)).

Bacterias Fijadoras de Nitrógeno

La fijación de nitrógeno es un proceso por el cual el nitrógeno atmosférico (N_2) es convertido en una forma utilizable de nitrógeno (NH_4^+) evitando o reduciendo el uso de fertilizantes químicos con fuente de N. Los compuestos asimilables por las plantas están en formas reducidas de nitratos (NO_3^-) o amonio (NH_4^+). Dentro de los géneros se destaca *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp., y *Pseudomonas* sp. ([Siddharth et al., 2020](#); [P. Sharma et al., 2023](#); [Sah et al., 2021](#)). También se ha reportado que *Kosakonia* sp. puede fijar biológicamente el nitrógeno atmosférico, producir hormonas y solubilizar fosfatos ([Brock et al., 2018](#)).

El proceso metabólico se da bajo condiciones aeróbicas y se basa en la acción de la enzima nitrogenasa (EC 1.18.6.1), la cual es una oxidorreductasa que actúa como donadora de electrones en proteínas Fe-S y dinitrógeno (N_2) como aceptor. Su cofactor es Mg^{2+} y es un proceso respaldado energéticamente por la hidrólisis del ATP ([Aasfar et al., 2021](#)). El complejo enzimático es un heterotetramero que consiste en dos subunidades (1) dinitrógeno reductasa que permite la transferencia de electrones al componente (2) dinitrogenasa que reduce el dinitrógeno a dos moléculas de amoníaco (NH_3 / NH_4^+) en tres reducciones sucesivas de dos electrones a través de diazeno ($\text{R}_2\text{C}=\text{N}_2$) e hidracina (N_2H_4) ([Sippel & Einsle, 2017](#)).

2.4 *Raphanus sativus*

2.4.1 Generalidades del cultivo de *R. sativus*

Taxonomía

Perteneciente al filo Streptophyta, clase Magnoliopsida, orden Brassicales, familia Brassicaceae y género *Raphanus* (TaxID: 3726) ([NCBI, 2020](#)).

Generalidades

Raphanus sativus es uno de los vegetales de la familia Brassicaceae compuesta por hojas, raíz, bulbos estacionales y semillas. El rábano se considera una raíz ya que su estructura especializada (hipocótilo) tiene un hábitat subterráneo total o parcial. Además, su forma es similar a las raíces verdaderas y puede almacenar almidón y otros compuestos bioquímicos ([Gamba et al., 2021](#)).

2.4.2 Importancia del cultivo de *R. sativus*

El rábano es ampliamente cultivado y consumido en todo el mundo por sus raíces y hojas comestibles, que forman parte de una dieta equilibrada y saludable ([Sinyavina et al., 2023](#)). En Colombia, el

cultivo de hortalizas de raíz (rábano, remolacha y nabo) ocupan 3241 ha de cultivo y 98 207 toneladas de producción anual ([DANE, 2019](#)).

Además de la importancia económica, las raíces de *R. sativus* tienen un alto potencial antioxidante y contienen una cantidad significativa de compuestos biológicamente activos: vitaminas, polifenoles, terpenoides, glucosinolatos (GLS) y productos de descomposición de los GLS, así como elementos minerales, por lo que puede ser aplicado como materias primas para la producción de nutraceuticos ([Sinyavina et al., 2023](#)).

Por otro lado, *R. sativus* se ha implementado como modelo de estudio vegetal en el estudio de la respuesta medio ambiental a contaminantes o bioensayos de toxicidad ([Lukatkin et al., 2014](#)). También ha permitido estudiar el impacto del cambio climático bajo condiciones de estrés hídrico debido a su tamaño y su corto período de crecimiento que permiten facilitar las investigaciones ([Botyanszka et al., 2024](#)).

2.4.3 Impacto del cambio climático en el cultivo de *R. sativus*

A pesar de su adaptabilidad a diversas condiciones climáticas y tipos de suelos, la producción de rábanos se puede ver limitada por el rendimiento afectado por raíces deformes o mal formadas, debido al efecto de factores abióticos no patógenos como el estrés ambiental (estrés hídrico, humedad, temperatura, contaminantes del aire), condiciones desfavorables del suelo (pobre drenaje del suelo y cambios extremos en el pH del suelo), productos químicos (pesticidas, herbicidas) y concentración inadecuada de reguladores del crecimiento, exceso o deficiencia de nutrientes ([Manzoor et al., 2021](#)).

En relación con el estrés ambiental de tipo hídrico. Las condiciones de sequía y las inundaciones intermitentes también son un factor relevante para los cultivos de rábanos ya que, la disponibilidad de nutrientes afecta directamente su productividad a una baja biomasa ([Stagnari et al., 2017](#)). Por lo cual, los aumentos de temperatura afectan negativamente al cultivo junto con el estrés hídrico influyen en el crecimiento de los rábanos afectando la biomasa aérea como subterránea ([Morgan, 2018](#)).

3. Objetivos

3.1 *Objetivo general*

Determinar la proporción de biomasa algal de *Chlorella* sp. y carboximetil celulosa comercial necesaria para una nueva formulación de un biohidrotenedor con microorganismos benéficos co-inoculos que favorezca la capacidad de adsorción de agua y el crecimiento vegetal del *Raphanus sativus* en suelo

3.2 *Objetivos específicos*

1. Determinar mediante un diseño factorial 2^2 la cantidad de biomasa algal y carboximetil celulosa comercial, que mejore la capacidad de adsorción de agua del biohidrotenedor co-inoculado.
2. Estudiar el efecto del biohidrotenedor mejorado y co-inoculado sobre el crecimiento de *Raphanus sativus* en suelo escala de invernadero utilizando un diseño a dos niveles de dosis.

4. Metodología

El presente trabajo de grado fue financiado por el proyecto titulado: *Transformación de aguas residuales domésticas y borra de café, para obtención de bio-productos de alto valor agregado con fines de uso ornamental*. Código investigar PUJ No. 20288. Apoyo a proyectos interdisciplinarios de investigación (VRI06-2020).

4.1 Microorganismo, reactivación, preservación y propagación

4.1.1 Reactivación

En el estudio se utilizó *Chlorella* sp., aislada por Céspedes y Regal (2018), y se reactivó mediante aislamiento por agotamiento en agar Bold suplementado con sales de Blair (Glucosa 1 g/L, CaCl₂ 0.025 g/L, NaCl 0.025 g/L, NaNO₃ 0.25 g/L, MgSO₄ 0.075 g/L, KH₂PO₄ 0.105 g/L, K₂HPO₄ 0.075 g/L, elementos traza 3 mL/L composición: FeCl₃ 0.194 g/L, MnCl₂ 0.082 g/L, CoCl₂ 0.16 g/L, Na₂MoO₄*2H₂O 0.008 g/L, ZnCl₂ 0.005 g/L) a pH de 7.0. Las cajas Petri con las colonias se mantuvieron en cabina de flujo suministrada con lámparas Led-SOLE por 8-10 días a 21 ± °C medido con un termómetro de mercurio (Céspedes et al., 2021).

Posteriormente, a partir de colonias aisladas se produjeron inóculos en Erlenmeyer de 100 mL con un volumen efectivo de trabajo (VET) de 50 mL de caldo Bold estándar con sales de Blair. Las condiciones de cultivo fueron 130 rpm y 575 ± 7 lx a 25 °C por 8 días hasta alcanzar una absorbancia superior a 1 unidad (680 nm contra blanco de medio Bold) o una concentración celular de 10⁵ colonias/mL. Se confirmó la pureza del cultivo por tinción de Gram y montaje en fresco. Si alguna de las réplicas presentaba contaminación, se eligió la que garantizara pureza y el mejor crecimiento para inocular nuevamente según las condiciones descritas.

4.1.2 Preservación y preparación de bancos

Para la preparación de bancos de *Chlorella* sp., se midió la absorbancia inicial del cultivo de la reactivación (sección 4.1.1) a 680 nm contra blanco de medio Bold. Luego se confirmó la morfología y pureza. Garantizando lo anterior, se mezclaron 15 mL de glicerol al 99.8 % (v/v) con 35 mL de cultivo de *Chlorella* sp., para obtener 50 mL del cultivo con la adición del crioprotectante a una concentración final del 30 % (v/v). El cultivo se mezcló en vortex por 5 minutos y se distribuyó a tubos Eppendorf con 1 mL. El almacenamiento se realizó a -20 °C y se realizaron controles de calidad y estabilidad mediante la verificación de la pureza por coloración de Gram y viabilidad del banco periódicamente por recuento. Inicialmente la estabilidad se evaluó antes de agregar el glicerol (Sin Glicerol: SG), posterior a agregar el glicerol (Con Glicerol Sin Congelar: CGSC) y a las 24 horas de la congelación ya habiendo añadido el crioprotectante (24 h). La evaluación del banco duró 4 meses y se determinó cada 30 días realizando diluciones decimales y siembra en superficie en agar Bold, suplementado con 1 g/L de glucosa y se incubó por 8-10 días a 30 °C con bajo luz blanca (Meza et al., 2004; Pedroza-Camacho et al., 2024).

4.2. Obtención de la biomasa algal como componente del biohidroretenedor

4.2.1 Reactor terciario de la planta de tratamiento de aguas residuales no domésticas

Se recuperó el lodo del reactor terciario de la planta de tratamiento de aguas residuales no domésticas (ARnD) del laboratorio de Microbiología Ambiental y Suelos, empleada para realizar el tratamiento de ARnD generadas en los laboratorios de investigación y docencia en la asignatura de Microbiología Ambiental semestre 2330. El efluente terciario se recuperó en un tanque de 20 L.

4.2.2 Recuperación de biomasa

La recuperación del lodo algal se realizó mediante el proceso de coagulación-floculación. El efluente terciario recuperado se obtuvo por lotes. A cada lote se le evaluó la adición del coagulante catiónico a partir de un stock de 1000 mg/L para obtener una concentración final de 100 mg/L ([Plazas-Rojas et al., 2023](#)) a diferentes valores de pH, para ajustar o determinar el pH de mayor eficiencia en la coagulación.

El procedimiento inicial fue estandarizado por Plazas et al. (2023), pero en este trabajo se modificaron por la edad del lodo terciario. Consistió en adicionar la primera mitad del volumen de coagulante catiónico calculado realizando una mezcla rápida a 200 rpm por un minuto, luego se adicionó la otra mitad del volumen y se realizó una mezcla lenta por 5 minutos y se sedimentó sin agitación *over night* para estabilizar el lodo algal (**Figura 8a**). El lodo se recuperó descartando el sobrenadante y dejando evaporar en un horno HACEB ® hasta obtener el coagulo sin presencia de agua (**Figura 8b**).

La eficiencia de recuperación se determinó en las pruebas de pH empleando la **Ecuación 1** para 10 réplicas de los lotes de producción ([Plaza-Rojas et al., 2023](#)).

$$E = \frac{Abs\ i - Abs\ f}{Abs\ i} \times 100 \quad (1)$$

Donde E: Eficiencia de recuperación de la biomasa algal o eficiencia de coagulación, Abs_i: Absorbancia antes de coagular y Abs_f: Absorbancia posterior a la coagulación.

Para eliminar los residuos de coagulante catiónico el lodo algal coagulado-floculado se lavó con agua destilada por 5 minutos, se reservó y se esterilizó por 3 ciclos a 121 °C durante 30 minutos. El material se mantuvo en refrigeración a 5 °C en nevera.

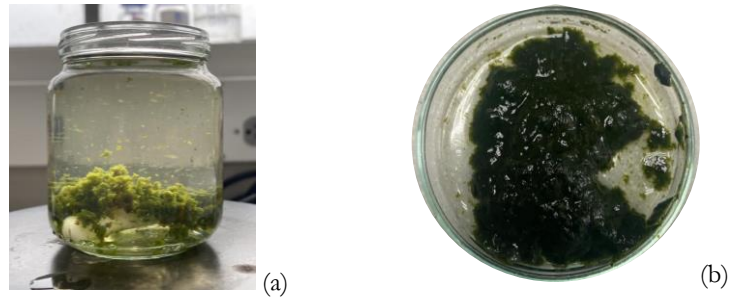


Figura 8. Proceso coagulación-floculación (a) Floculación (b) Biomasa recuperada

4.3 Producción y caracterización de biochar como componente del biohidroretenedor

El biochar se produjo a partir de la mezcla de tres biomásas lignocelulósicas: (1) Borra de café recolectada de las cafeteras de la cafetería de la Facultad de Ciencias (**Figura 9c**). (2) Celulosa residual de la industria papelerá recuperada del proceso de producción del papel blanco (**Figura 9a**). (3) Salvado de trigo recuperado del Laboratorio de Monitoria de Docencia de la Facultad de Ciencias producto de la elaboración del medio salvado de trigo (**Figura 9b**). La formulación de los materiales crudos (MC) se realizó con borra de café (100 g), celulosa residual de industria papelerá (500 g) y salvado de trigo (50 g). y la mezcla se secó en horno HACEB ® a 60 °C por 12 h.

Posteriormente, se caracterizó el material crudo por separado, determinando (Anexo 1) el pH ([NTC 5167, 2022](#)), la densidad (g/cm³) ([Chacón-Buitrago, 2018](#); [NTC 5167, 2022](#)), la humedad (%) ([NTC 5167, 2022](#)), el porcentaje de carbono orgánico total (% COT) ([Moreno-Bayona et al., 2019](#); [AASHTO, 2013](#)), el porcentaje de carbono volátil (% CV) ([Moreno-Bayona et al., 2019](#); [ASTM D1762-84, 2013](#)) el porcentaje de cenizas ([Moreno-Bayona et al., 2019](#); [ASTM D1762-84, 2013](#)), y el porcentaje de carbono fijo (% CF) ([Moreno-Bayona et al., 2019](#); [ASTM D1762-84, 2013](#)), por triplicado. Adicionalmente, se realizaron observaciones en estereoscopio a 40X de las características morfológicas de los materiales crudos por separado.

Se produjeron lotes de biochar con 100 g de la mezcla de los materiales crudos previamente descritos, y se realizó el tratamiento termoquímico o pirólisis lenta por 1 h a 300 ± 2 °C en una mufla LabTech ®. A partir del material tratado, se determinaron las variables nombradas previamente para la mezcla de material crudo por triplicado. Considerando lo anterior, se calculó el rendimiento en biochar empleando la **Ecuación 4** ([Yang et al., 2017](#))

$$Y = \frac{M2}{M1} * 100 \quad (2)$$

Donde Y: rendimiento del biochar. M1: peso material crudo (g). M2: peso biochar (g).

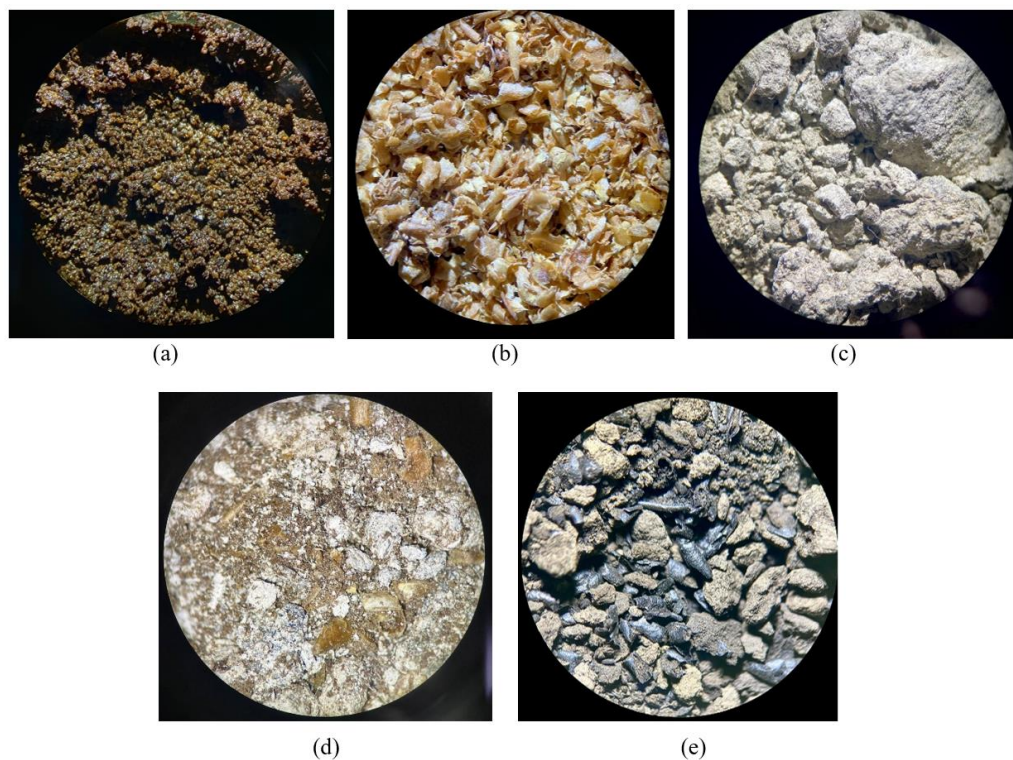


Figura 9. Materias primas, mezcla y biochar al estereoscopio 40x (a) Celulosa Comercial (b) Salvado de trigo (c) Borra de Café (d) Mezcla Cruda de las Materias (e) Biochar

4.4 Producción de la solución de microorganismos benéficos co-inoculados como aditivos del biohidroretenedor

Se preparó una solución de un consorcio de microorganismos benéficos co-inoculados para su aplicación en la mezcla de lodo algal, biochar y celulosa comercial. Este consorcio incluye bacterias solubilizadoras de fósforo, bacterias fijadoras de nitrógeno y bacterias productoras de pigmentos fluorescentes.

4.4.1 Reactivación de las cepas

Se reactivaron por agotamiento las cepas de *Azotobacter chroococcum* Beijerinck ATCC 9043, *Pseudomonas* sp. (CMPUJ489), *Pseudomonas fluorescens* (CMPUJ375), *Kosakonia* sp. (CMPUJ487), *Serratia* sp., y una bacteria fijadora de nitrógeno (NN) en Agar Nutritivo (Base caldo nutritivo Scharlau® 13 g/L, Agar 20 g/L, pH 7.2) por 12 h a 30 °C.

4.4.2 Cultivo discontinuo

Se inocularon 2 mL (concentración 10 % v/v) de suspensión bacteriana en Erlenmeyer de 100 mL (VET de 20 mL) con Caldo Nutritivo (Base caldo nutritivo Scharlau® 13 g/L, pH 7.2) y las condiciones de cultivo durante 12 h a 120 rpm y 30 °C.

4.4.3 Producción

Se cuantificó la absorbancia de cada cultivo hasta alcanzar mínimo una unidad de absorbancia, y para cada cultivo se realizaron diluciones desde 10^{-1} – 10^{-9} sembrando las últimas 4 diluciones, para conocer la concentración por separado de las unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL).

Se adicionaron 20 mL de cada inóculo bacteriano en un frasco Schott de 500 mL para establecer la solución de mezcla de bacterias de 120 mL con una concentración inicial de unidades formadoras de colonia (UFC/mL) en el orden 10^{10} para las bacterias totales. A partir de la solución se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-1} – 10^{-11} y recuento en placa sembrando las últimas 5 diluciones, para conocer la concentración por separado (Chávez, 2023).

4.5 Mejora de la formulación del biohidroretenedor desarrollado por Chávez (2023)

4.5.1 Planteamiento del experimento

Se estableció un diseño factorial 2^2 con tres puntos centrales, para evaluar incrementos en las concentraciones de lodo algal (Factor A) y carboximetil celulosa (Factor B) alimentaria, para evaluar su efecto sobre la capacidad de adsorción de agua. Adicionalmente, se tomó como referencia la formulación realizada por Chávez, (2023) y el control comercial Hidrokeeper®. Los factores y niveles establecidos se presentan en la **Tabla 2**. El diseño generó 4 tratamientos, 3 puntos centrales y 2 controles para un total de 6 formulaciones del biohidroretenedor según las combinaciones presentadas.

Tabla 2. Diseño factorial 2^2 de la capacidad de adsorción

Tratamientos	Factor A: biomasa algal expandido (g)	Factor B: Celulosa alimentaria (g)	Biochar (g)	Solución microorganismos mL	Formulación por tratamiento
1	60	10	30	100	60 g biomasa, 10 g celulosa preparada en 100 mL de inóculo y 30 g biochar
2	90	10	30	100	90 g biomasa, 10 g celulosa preparada en 100 mL de inóculo y 30 g biochar
3	60	20	30	150	60 g biomasa, 20 g celulosa preparada en 100 mL de inóculo y 30 g biochar
4	90	20	30	150	90 g biomasa, 20 g celulosa preparada en 100 mL de inóculo y 30 g biochar
PC	75	15	30	120	75 g biomasa, 15 g celulosa preparada en 100 mL de inóculo y 30 g biochar

Control Chávez	50	5	30	100	50 g lodo, 5 g celulosa preparada en 100 mL de inoculo y 30 g biochar
Control comercial Hidrokeeper	0	0	0	0	0

4.5.1 Formulación de los tratamientos

Por un lado, para aumentar la cantidad de lodo algal como elemento o como lodo algal expandido, se licuaron los gramos del lodo algal y con celulosa comercial previamente esterilizada a un ciclo normal, para obtener una proporción de 66 % (p/p) de lodo algal y 34 % (p/p) de celulosa comercial (**Figura 10b**).

Adicionalmente, se licuaron los gramos correspondientes de celulosa (Factor B) con 100 y 150 mL (para 10 y 20 g correspondientemente) de solución de microorganismos benéficos (**Figura 10a**). Para el tratamiento 3, 4 y PC se realizó una corrección de pH, adicionando 5 mL de solución acuosa de ácido fosfórico al 1% (v/v).

En una bandeja de aluminio de 32 cm × 22 cm × 4 cm y previamente esterilizadas se colocó el biochar (**Figura 10c**), el lodo algal expandido y la celulosa hidratada con la solución de microorganismos (**Figura 10d**). Todos los aditivos se homogenizaron manualmente hasta conseguir una consistencia uniforme (**Figura 10e**).

Se tomaron contramuestras de 20 g para la caracterización del BHR húmedo (previo al proceso de secado) y el producto restante se secó a 40 ± 2 °C por 2 días en horno HACEB® hasta alcanzar un porcentaje de humedad inferior a 10 % (BHR seco). La caracterización en húmedo incluyó pH, conductividad, humedad (%), recuento de bacterias totales (UFC/mL) por triplicado. Adicionalmente, a los tratamientos BHR (T1, T2, T3 y T4) se les determinaron como variables de respuesta en seco (después del secado en horno) el pH, conductividad (mS/cm), humedad (%), humedad al finalizar prueba de adsorción de agua (%) y adsorción de agua (mL/g). Además, se realizaron diluciones y recuentos de bacterias totales y en medios específicos para evaluar la viabilidad después del proceso de secado. A partir de los resultados del diseño experimental se determinaron caracterizaciones de análisis próximo de COT (%), MOT (%) y densidad aparente para los mejores tratamientos seleccionados. Por otro lado, como control de referencia se realizó prueba de capacidad de adsorción de agua (mL/g) para el control comercial Hidrokeeper®.

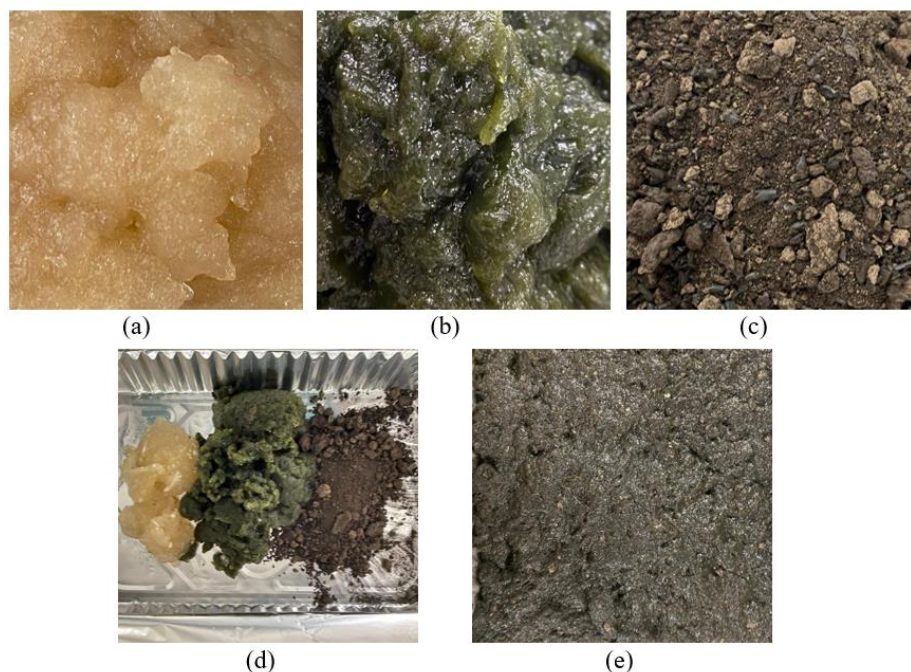


Figura 10. Formulación del biohidroretenedor. (a) Carboximetil Celulosa (CMC) (b) Biomasa algal expandida con CMC (c) Biochar (d) Componentes principales en bandeja de aluminio (e) Biohidroretenedor húmedo

4.5.2 Pruebas de adsorción (mL/g) y humedad (%)

Después del secado, como variables de respuesta se realizó la prueba de adsorción de agua para cada tratamiento. Para eso se pesó 1 g del material previamente molido y se colocó en un recipiente de aluminio de 15 cm × 4 cm × 10 cm. Se adicionaron 100 mL de agua con una probeta, posterior a los 180 minutos se midió con una probeta la cantidad de líquido no retenido de 3 horas se filtró el agua restante y se registró el volumen final. La capacidad de adsorción se determinó mediante la Ecuación 3 ([Rivera & Mesías, 2018](#)).

$$CA = \frac{V_i - V_f}{g_{BHR}} \quad (3)$$

Donde CA: Capacidad de adsorción (mL/g), V_i : volumen inicial = 100 mL, V_f : volumen final restante (mL) y g BHR: gramos de BHR (g).

A partir del producto húmedo recuperado de la prueba de capacidad de adsorción, se pesaron de 0.5 a 1 g de material y se registró el peso inicial húmedo. Posteriormente, se secó la muestra en termobalanza EM 120-HR® hasta obtener un peso constante a 105 °C y se dejó enfriar para luego determinar el peso seco final y el porcentaje de humedad (%) empleando la **Ecuación 4** ([NTC 5167, 2022](#)). Se realizó la medición por triplicado y se presentó el promedio con su respectiva desviación estándar.

$$Humedad (\%) = \frac{M_h - M_s}{M_h} (100\%) \quad (4)$$

Donde Humedad (%) es el porcentaje de humedad, Mh: peso inicial húmedo (g) y Ms: peso seco (g).

4.5.3 Recuentos bacterianos

Tanto para la evaluación en húmedo como seco del BHR formulado en 4 tratamientos y controles, se tomó 1.0 g de material y se diluyó en 9 mL de agua destilada, se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-10} .

- a) Para *Bacterias solubilizadora de P* se sembraron por triplicado las diluciones 10^{-4} y 10^{-5} en agar SMRS1 con indicador modificado (Paul & Sundara, 1971). Composición: sulfato de amonio 0.5 g/L, cloruro de potasio 0.2 g/L, sulfato de magnesio hidratado 0.3 g/L, sulfato de manganeso hidratado 0.004 g/L, glucosa 10 g/L, extracto de levadura 0.5 g/L, fosfato de calcio 5.0 g/L, púrpura de bromocresol 0.1 g/L, agar-agar 20 g/L, agua destilada 1000 mL, a pH de 7.2).
- b) Para *Bacterias fijadoras de N* se sembraron por triplicado las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} en agar NFB. Composición: ácido D-málico (5 g/L), solución 10 % (m/v) de fosfato dibásico de potasio (5 mL), solución 10 % (m/v) de sulfato de magnesio (2 mL), solución 10 % (m/v) de cloruro de sodio (1 mL), solución 1 % (m/v) de cloruro de calcio (2 mL), solución 0.5 % (m/v) de azul de bromotimol en 0.2 N de hidróxido de potasio (2 mL) solución de micronutrientes (2 mL), solución 1.64 % (m/v) de hierro EDTA preparado en agua a pH 7.2 (4 mL), solución de vitaminas (1 mL), agar (20 g/L), extracto de levadura (20 g/L) a un pH de 6.8 en el medio (Baldani et al., 2014)
- c) Para *Bacterias productoras de pigmentos fluorescentes* se sembraron por triplicado las diluciones 10^{-4} y 10^{-5} en agar King B. Composición: peptona (20 g/L), sulfato de magnesio (1.5 g/L), fosfato dipotásico (1.8 g/L), glicerol (10 mL), agar (20 g/L) a pH 7.2 (King et al., 1954)
- d) Para *Bacterias totales* en agar Nutritivo y se sembraron las diluciones 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} .

4.5.4 Análisis estadístico

Inicialmente, se llevó a cabo una prueba t de Student para muestras emparejadas o relacionadas con un intervalo de confianza del 95% en el programa IBM SPSS. Con la prueba se evaluó la diferencia entre los recuentos para cada tratamiento antes (húmedo) y después del secado (seco). Se determinó si había diferencias estadísticamente significativas entre los valores iniciales y finales ($p < 0.05$). A partir de los resultados obtenidos se evaluó el efecto de secado sobre la viabilidad de la mezcla en cada tratamiento.

Por otro lado, considerando las variables obtenidas de capacidad de adsorción (g/mL), recuentos totales (BT), recuento de bacterias fosfato solubilizadoras (BPS), recuento de bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN), bacterias productoras de pigmentos fluorescentes (BPP) y pH se realizó un análisis de varianza ANOVA en el programa DesingExpert y comparación de medias con el programa SAS. A partir de los resultados se seleccionaron el o los mejores tratamientos y los factores principalmente influyentes sobre la capacidad de adsorción y sobre la concentración de bacterias benéficas.

4.6 Evaluación del BHR en la retención de agua y crecimiento de *Raphanus sativus* en sistema in vitro de fotoperiodo.

A partir de los resultados obtenido del diseño experimental de la evaluación de los 4 tratamientos de BHR en función de la capacidad de adsorción y la concentración de bacterias benéficas se utilizó el mejor o mejores tratamientos para evaluar en el modelo de *Raphanus sativus* a dos dosis diferentes (dos niveles). El tratamiento o tratamientos y el control de Hidrokeeper se evaluó a dos niveles de dosis, 1.0 g y 2.0 g de tratamiento o control por cada 100 g de suelo o 1% y 2 % (p/p) (Rivera & Mesías, 2018) y el control negativo no contenía hidroretenedor. El planteamiento se muestra en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Diseño dosis de BHR e Hidrokeeper en modelo de planta

Producto	Tratamiento	Dosis% (p/p)	Modelo
BHR	1	1	<i>Raphanus sativus</i>
	2	1	
	1	2	
	2	2	
Hidrokeeper	1	1	
		2	
Control (Suelo)		0	

Para el modelo se realizaron siembras de 12 plantas por cada tratamiento y nivel.

4.6.1 Germinación

Para el montaje se utilizaron semillas de hortalizas de rábano de la marca ANASAC Jardín®. Se colocaron con una distribución homogénea 3.0 g de semillas en una bandeja de germinación de 55 cm x 25 cm x 7 cm con sustrato Malky Growth (**Figura 12a**) previamente esterilizado por 3 ciclos cubriendo la semilla con una delgada capa de sustrato fino. Las condiciones de germinación fueron 22 ± 2 °C y un promedio de 515 lux durante 4 días (**Figura 12b**).

4.6.2 Pretratamiento y caracterización del suelo

Se empleó el suelo comercial “Tierra Orgánica” de la marca ANASAC Jardín®. Se realizó tamizaje con un tamiz standard N°2 (tamaño de partícula 4.750 mm) y posteriormente se secó a 70 °C durante 12 h en un horno HACEB®. Se determinó la humedad inicial, el pH, la conductividad y la densidad aparente. Por último, se esterilizó durante 3 ciclos con intermedios de un día.

Adicionalmente, se realizaron pruebas de retención o capacidad de campo a partir de 100 g de suelo y añadiendo pequeños volúmenes de agua destilada hasta llegar a un punto de equilibrio o punto de saturación cuando se forma una pasta semilíquida con un brillo metálico. Se dejó en reposo durante 2 h y se registró el volumen de agua añadido y se calculó el porcentaje de saturación (%) mediante la **Ecuación 5** (INCONTEC, 2022).

$$S\% = \left(\frac{V_a * 100}{W_m} \right) \left(\frac{100 - \% h}{100} \right) \quad (5)$$

Donde S%: porcentaje de saturación (%), Va: volumen de agua utilizado para el punto de saturación (mL), Wm: peso de la muestra seca (g), % h: porcentaje de humedad (%)

Posterior a la esterilización se hicieron lotes de 400 g de suelo de mezcla que contenían 1% (p/p) y 2% (p/p) de BHR o hidrotretenedor según el tratamiento a evaluar. Ni el BHR ni el Hidrokeeper® fueron rehidratados al momento de la producción de lotes, únicamente se hidrataron posterior a la siembra.

4.6.3 Montaje experimental

Posterior a la germinación y pretratamiento del suelo se transfirieron las plántulas cuya raíz y tallo no estuvieran dañadas (**Figura 12c**). Se llenaron las cavidades de una bandeja de 55 cm × 26 cm × 6 cm con 72 cavidades (4 cm × 4 cm × 6 cm) de siembra con 30 g de la mezcla correspondiente para cada tratamiento y nivel de dosis. Las plántulas se sembraron aproximadamente a 4-5 cm de profundidad y se sembró una unidad por cavidad. La distribución de las unidades de plántulas y las cantidades para cada tratamiento se muestran en la **Figura 11** y **Figura 12d**.

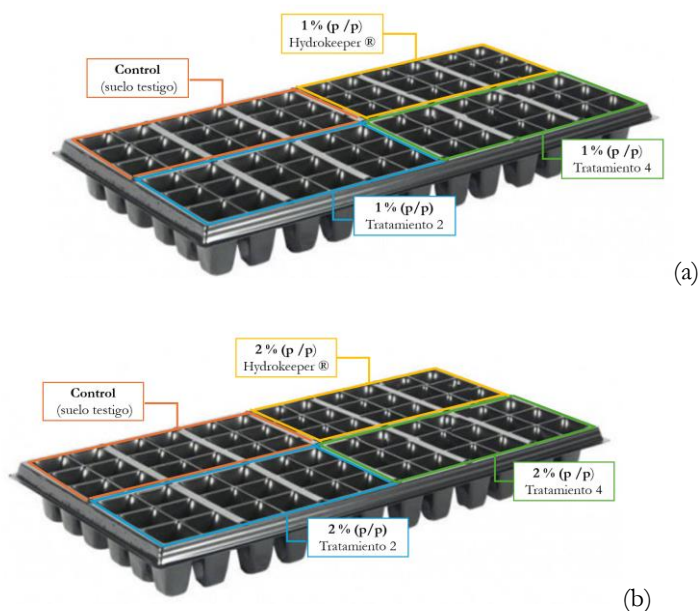


Figura 11. Distribución del experimento en bandeja de germinación. (a) Montaje para dosis al 1% (p/p) (b) Montaje para dosis 2% (p/p)

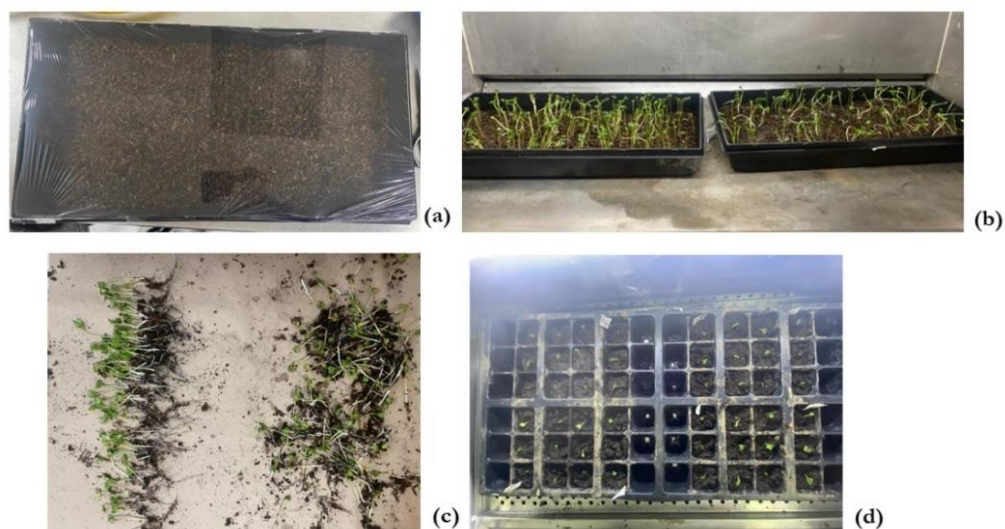


Figura 12. Montaje y germinación. (a) Sustrato Malky Growth con semillas (b) Germinación después de 4 días (c) Selección de plántulas (d) Trasplante según la Figura 11

4.6.4 Cultivo en condiciones controladas de sistema in vitro de fotoperíodo

Tras la germinación cada cavidad de la bandeja se llenó con 30 g de la mezcla correspondiente para el tratamiento, se realizó la siembra de la plántula a una profundidad de 4-5 cm y basado en la saturación de agua se regó inicialmente el suelo mezclado con el hidrotretenedor y el suelo solo.

Las condiciones se mantuvieron controladas. El montaje se llevó a cabo en una cabina de flujo laminar. La iluminación se mantuvo en promedio a 1000 ± 40 lux con un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. Adicionalmente la temperatura se mantuvo a 22 ± 2 °C día y $18 \text{ °C} \pm 2$ °C noche (Sinyavina et al., 2023; Al-Hugail et al., 2022). El riego se realizó cada 5 días, para inducir una condición de estrés, ajustando el suelo a su capacidad de campo (17 mL agua / 30 g suelo). Además de cada control y tratamiento por dosis, se le determinó el porcentaje de humedad (%) inicial tras regarse a capacidad de campo.

El cultivo duró 22 días, y se analizó el efecto de la dosis en el crecimiento (**Figura 13**). Se comparó la acción del biohidrotretenedor contra el hidrotretenedor sintético y contra el control en función de variables respuesta sobre el suelo y sobre la planta. A partir de eso se escogió la dosis más adecuada que permitió obtener el mayor crecimiento.

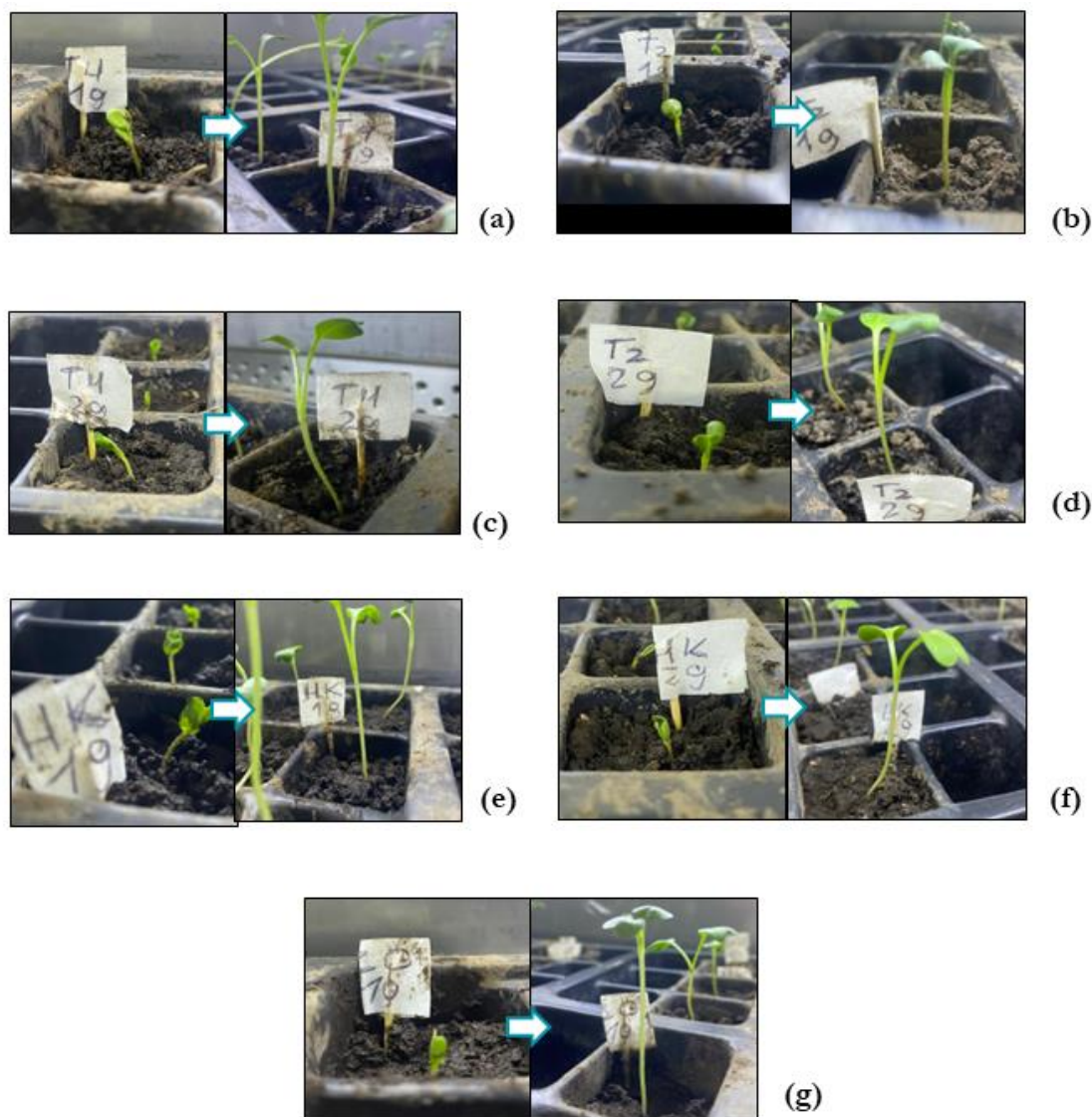


Figura 13. Crecimiento plantas en tratamientos y controles (a) Control (b) Tratamiento 4 -1 % (p/p) (c) Tratamiento 4 -2 % (p/p) (d) Tratamiento 2 -1 % (p/p) (e) Tratamiento 2 -2 % (p/p) (f) Hidrokeeper® - 2% (p/p) (g) Hidrokeeper® - 1 % (p/p)

4.6.5 Variables de la planta

Después de los días del cultivo, las plantas se retiraron con cuidado sobre láminas de aluminio. Se retiraron las agregaciones de suelo y se lavaron con abundante agua destilada. A cada planta se le evaluó altura del tallo (mm), longitud de la raíz (mm), longitud total de la planta (mm), peso húmedo o fresco (g), peso seco (g) y cantidad de hojas ([Ali et al., 2023](#) ; [Al-Huqail et al., 2022](#))

4.6.6 Variables del suelo

Para las condiciones iniciales y finales del cultivo se realizó una mezcla de las contramuestras de suelo por tratamiento y dosis. Se obtuvieron tres replicas significativas de porciones del suelo, y se determinaron parámetros fisicoquímicos de pH, conductividad, densidad aparente (g/cm^3) y humedad (%) (**Ecuación 4**). Con respecto a parámetros microbiológicos se evaluó bacterias totales, bacterias fosfato solubilizadoras, bacterias fijadoras de nitrógeno y bacterias formadora de pigmentos ([Plaza-Rojas et al.,](#)

[2023](#); [Blanco-Vargas et al., 2022](#)) Adicionalmente, se conservaron contramuestras del suelo en sobres de aluminio para cada tratamiento y control a las diferentes dosis, a cada contramuestra se le determinó el porcentaje de humedad (%) (**Ecuación 4**) a las 24 y 144 h de la extracción de las plántulas ([Andrada & Di Barbaro, 2018](#)).

4.6.7 Variables microbiológicas

Para las condiciones iniciales y finales del cultivo se realizó una mezcla de las contramuestras de suelo por tratamiento y dosis. Se obtuvieron tres replicas significativas de porciones del suelo, y se determinó el recuento de bacterias totales (BT) para ambos tratamientos y control comercial a ambas dosis, y el control suelo. Adicionalmente, se determinaron los recuentos de bacterias fosfato solubilizadoras (BPS) en agar SRSM1, recuento de bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN) en agar NFB y bacterias productoras de pigmentos fluorescentes (BPP) en agar King B.

4.6.8 Análisis estadístico

Se consideraron tres parámetros con diferentes variables. Primero, uno microbiológico del suelo, considerando el recuento de bacterias totales (BT), recuento de bacterias fosfato solubilizadoras (BPS), recuento de bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN), bacterias productoras de pigmentos fluorescentes (BPP). Segundo, parámetros fisicoquímicos del suelo de pH y humedad (%) evaluada a 24 h y 144 h. Y tercero, la caracterización de las plantas con las mediciones de altura del tallo (cm), longitud de la raíz (cm), peso húmedo o fresco (g), peso seco (g) y cantidad de hojas. Se realizó comparación de medias con el programa SPSS. A partir de los resultados se seleccionaron el o los mejores tratamientos y los factores principalmente influyentes sobre la retención de agua y sobre la concentración de bacterias benéficas.

Por último, complementario se llevó a cabo una prueba t de Student para muestras emparejadas o relacionadas con un intervalo de confianza del 95 % en el programa IBM SPSS para comparar los recuentos iniciales y finales del cultivo.

5 Resultados y Discusión

5.1 Obtención de la biomasa algal

A partir de aproximadamente 25 L de efluente terciario se recuperaron 295 g de biomasa algal coagulada con una eficiencia de porcentaje de recuperación del $80 \% \pm 1$ y un rendimiento aproximado de 12 g Biomasa Algal/L efluente. Se ha reportado que la coagulación de biomasa algal con coagulantes catiónicos basados en poliacrilamida puede alcanzar porcentajes de eficiencia superiores al 90 % ([Plaza-Rojas et al., 2023](#); [Bleeke et al., 2015](#); [Musa et al., 2020](#)). La disminución en la eficiencia se puede deber a que la eficiencia del proceso de coagulación-floculación depende de factores como la carga del coagulante, las características de compactación de los flocúlos formados, la fase de crecimiento y la densidad celular de las microalgas, el pH y la neutralización de cargas superficiales de la biomasa algal ([Plaza-Rojas et al., 2023](#); [Shaikh et al., 2021](#))

Es importante señalar que, en el proceso de estandarización del pH, se observó una variación en el pH inicial de las microalgas durante el tiempo de floculación-coagulación. Los primeros lotes de algas presentaron un pH inicial de 6.54 ± 0.02 , mientras que los últimos lotes alcanzaron un pH de 8.68 ± 0.09 . Esta variación puede atribuirse a varios factores. En primer lugar, en la planta de tratamiento terciario, durante la actividad fotosintética, se consume CO_2 , lo que reduce la concentración de iones carbonatos (HCO_3^-) e incrementa la concentración de OH^- . Además, el metabolismo del nitrógeno, relacionado con la asimilación de óxidos de nitrógeno (NO_2^- , NO_3^-) a través de procesos de reducción por nitrificación/desnitrificación, libera iones OH^- en el efluente, lo que contribuye al aumento del pH ([Kumar et al., 2020](#)). Establecer el pH óptimo para la floculación de biomasa algal puede variar con de acuerdo con los parámetros, como las propiedades de la composición del efluente, la concentración de biomasa, la superficie de las células de las algas, el tipo de floculante y el tiempo de sedimentación ([Nayak et al., 2019](#)). En relación con la composición del efluente, se han planteado interrogantes en relación con la influencia sobre la eficiencia del efluente de las plantas de tratamiento de aguas, debido a que las aguas residuales son una matriz compleja que contiene diversos sólidos y compuestos orgánicos e inorgánicos que podrían interferir con las células de las microalgas y el coagulante, afectando en consecuencia la eficiencia de la recolección ([Souza-Leite et al., 2019](#)).

A pesar de que se ha reportado que bajo condiciones e pH 6-9 los grupos carboxílicos e hidroxilo de la pared celular de las microalgas se carga negativamente debido a la adsorción de OH^- y la pérdida de protones, permitiendo una adsorción con coagulantes catiónicos más eficiente, mediante la neutralización de cargas y la promoción de la floculación por generación de puentes entre células, no se observaron porcentajes de eficiencia superiores ([Ardila-Leal et al., 2020](#), [Shaikh et al., 2021](#)) Esto sugiere que otros factores también podrían haber influido en este resultado. Un factor que se ha estudiado es el comportamiento de los coagulantes a diferentes pH, mientras que las cargas negativas en las superficies de las células de las microalgas se conservan en condiciones de pH alto, las cadenas de polímeros se pueden

hidrolizar, afectando negativamente su comportamiento de floculación ([Uduman et al., 2010](#)). Por otro lado, otro efecto del pH alto y de las cargas negativas, es que las células generan repulsión entre ellas, por lo tanto, si la neutralización no es óptima, no se reducirá esta repulsión, lo que dificultará la formación de agregados y, por ende, la eficiencia del proceso de floculación ([Mubarak et al., 2019](#)). Este mecanismo depende tanto de la concentración de las microalgas como del pH ([Plaza-Rojas et al., 2023](#)).

Otro factor importante que se ha estudiado es la etapa de crecimiento, la cual determina la morfología celular, la composición y estructura de la pared celular, y las cargas superficiales debido a la presencia de sustancias poliméricas extracelulares unidas a las superficies celulares, lo que puede interferir en la interacción con los coagulantes ([Labeeuw et al., 2021](#)). La superficie de las células de las microalgas contiene componentes como polisacáridos y proteínas que cambian las propiedades superficiales y pueden llegar a afectar la exposición de las células a la adsorción de polímeros ([C. Wang et al., 2014](#)). Por otro lado, también se ha analizado el efecto sobre los flóculos al variar las velocidades de agitación, la cual tiene un efecto sobre el tamaño del flóculo y la superficie de contacto que afecta mecanismos de puenteo. Se observaron efectos en donde la reducción de velocidad de agitación de 200 rpm a 50 rpm permitió observar tendencias de rebrote en los flóculos, sin embargo, no permitió formar un floculo estabilizado ([You et al., 2019](#); [Sun et al., 2015](#)). Este efecto se observó en el proceso de obtención de biomasa, lo que pudo haber afectado también la eficiencia.

Por último, para *Chlorella* sp. se ha reportado que su recuperación puede ser difícil debido a su tamaño y su carga negativa. Esta combinación dificulta las técnicas de separación normales como la filtración y la sedimentación por lo cual la coagulación si es una alternativa que permite una alta recuperación en comparación con la implementación de los otros dos métodos únicamente ([Mohd-Udaiyappan et al., 2017](#)).

5.2 Producción y caracterización de biochar

La caracterización del análisis próximo de las materias primas por separado de celulosa residual (CR), salvado de trigo (ST), borra de café (BC), material crudo mezclado (MCM) y el biochar producido a 300 °C se muestran en la **Tabla 4**. El análisis próximo incluyó pH, conductividad (mS/cm²), densidad (g/cm³), humedad (%), carbono orgánico total (COT %), materia orgánica total (MOT %), carbono volátil (CV %), carbono fijo (CF %), cenizas (%) y rendimiento (Y) de biochar.

5.2.1 Caracterización de las materias primas o materiales crudos

La caracterización inicial de CR fue pH de 7.60 ± 0.03 , conductividad de 1.23 ± 0.02 mS/cm² y densidad de 0.455 ± 0.004 g/cm³. Para ST se obtuvo pH de 6.12 ± 0.02 , conductividad de 2.67 ± 0.01 mS/cm² y densidad de 0.160 ± 0.002 g/cm³. Por último, para BC el pH fue de 5.50 ± 0.01 , conductividad de 1.47 ± 0.01 mS/cm² y la densidad de 0.419 ± 0.002 g/cm³. El pH fue mayor en la CR, ya que su composición es alta en minerales e hidroxilos, al igual, la naturaleza del residuo es alcalina debido a que en

el proceso de pulpeo y blanqueamiento para la producción de papel se emplea NaOH y Na₂S que contiene trazas residuales en la CR ([Antonkiewicz et al., 2018](#)). Respecto a la humedad, la materia con mayor porcentaje fue la BC con 27.06 ± 1.44 %, seguido del ST (8.17 ± 0.12 %) y la CR (4.51 ± 0.24 %). La BC presentó una mayor humedad por ser un producto agroindustrial cuyo proceso utiliza agua. La borra puede retener hasta 50 % de contenido de agua después de la elución ([Mabona et al., 2018](#)). Dado que el alto contenido de humedad reduce la eficiencia de pirólisis, fue necesario reducir la humedad hasta al menos 10 % ([Lee et al., 2023](#)).

La caracterización de COT (%) y MOT (%) mostró que la BC y el ST presentaron un mayor porcentaje respectivamente de 37.63 ± 0.63 % y 39.95 ± 1.32 % para COT y 68.88 ± 2.27 % y 64.87 ± 1.08 % para MOT en comparación con la celulosa residual cuyo contenido fue de 10.25 ± 1.32 % COT y 17.68 ± 0.80 MOT. Lo anterior se debe a que tanto la BC como el ST se componen principalmente por polisacáridos con alto contenido de carbono como la celulosa (ST= 35-45 % y BC= 20-30 %), hemicelulosa (ST= 22-30 % y BC= 40-70 %) y lignina (ST= 8-16 % y BC= 10 % - 30 %) ([Gupta et al., 2022](#) ; [Tapagoni et al., 2022](#); [Taleb et al., 2020](#)). En el caso de la CR, aunque su composición depende de su origen, de manera general contiene principalmente celulosa como compuesto orgánico, contienen calcio (Ca) y magnesio (Mg) en formas carbonatadas, óxidos y de silicatos como compuestos inorgánicos ([Assis & Chirwa, 2021](#); [Lee et al., 2023](#)).

Las cenizas son una medida de materia no volátil y componentes no combustibles, y se relaciona con la disminución de sustancias volátiles, el incremento de metales alcalinos y/o la reducción de elementos como el C, N, H y O ([Usevičiūtė & Baltreinaite-Gedienė, 2020](#); [Kalina et al., 2022](#)). Al determinar CV % se determinó que la composición para CR, ST y BC fue de 32.47 ± 0.45 %, 88.36 ± 0.68 % y 98.23 ± 0.29 %, respectivamente, siendo mayor para BC. En relación con CF %, respectivamente se determinó como 0.57 ± 0.03 %, 11.61 ± 0.68 % y 0.41 ± 0.10 %, siendo mayor para ST. Por último, el porcentaje de cenizas (%) para CR, ST y BC fue de 66.96 ± 0.44 %, 6.46 ± 0.36 % y 1.36 ± 0.26 %, observándose la mayor cantidad para CR. La CR obtuvo la mayor concentración de cenizas debido a que contiene una alta concentración de carbonatos, hidróxidos, óxidos de Na, Ca o Mg, y otros minerales que incrementan el porcentaje de ceniza, lo que le da a la CR la cualidad de ser aplicada como sustrato para el acondicionamiento del suelo ([Haile et al., 2021](#); [Cherian & Siddiqua, 2019](#) ; [Gibril et al., 2018](#)). Por su parte, el alto contenido de CV % para la BC respecto a los demás componentes se puede explicar por su alto contenido de compuestos orgánicos volátiles como furanos, pirroles, fenoles, cetonas, entre otros y el contenido en relación con las cenizas es similar a lo que se ha reportado de 1.6 % de contenido en cenizas de minerales ([Campos-Vega et al., 2015](#); [Plaza-Rojas et al., 2023](#); [Basile et al., 2024](#)). Por su parte el ST fue la materia con mayor contenido de COT % y MOT %, se ha reportado que un mayor contenido de carbono con alto grado de polimerización puede generar más estructuras de carbono condensado en estructuras aromáticas, lo que se observó en su alto contenido de CF %. Así mismo, materias primas con alto contenido de lignina,

promueven la carbonización obteniendo valores altos de CF % y contenido de cenizas, es por eso por lo que su contenido de cenizas (6.46 ± 0.36 %) fue el segundo más alto ([Tomczyk et al., 2020](#)).

5.2.2 Caracterización del material crudo mezclado y el biochar

Como se observa en la **Tabla 4**, la caracterización de la mezcla cruda de materias primas (MCM) obtuvo una mezcla de pH 7.80 ± 0.02 , conductividad 1.25 ± 0.02 mS/cm² y densidad 0.414 ± 0.003 g/cm³. Después del proceso de pirólisis lenta, se caracterizó el biochar, y se observó un aumento del pH a 8.42 ± 0.03 , una disminución de la conductividad a 1.25 ± 0.02 mS/cm² y una densidad de 0.425 ± 0.008 g/cm³.

De manera general, el carácter alcalino del biochar depende tanto del proceso de pirólisis como de las materias primas del cual se obtiene. Un biochar que contiene materias no derivadas de la madera, en este caso la CR, se relaciona con la presencia de sales, carbonatos, óxidos y calcio en las cenizas ([Bartoli et al., 2022](#)). Por lo tanto, el aumento del pH podría atribuirse a la concentración de elementos inorgánicos no pirolizados asociado al aumento en la cantidad de cenizas alcalinas que contienen formas de óxido de Na⁺, Ca²⁺, K⁺ y Mg²⁺ ([Han et al., 2020](#)). En relación con las materias derivadas de la madera o con alto contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina (ST y BC), el aumento del pH se le atribuye principalmente a la descomposición de la matriz orgánica, la hidrólisis de sales alcalinas orgánicas, deprotonación de grupos de carácter ácidos (-COOH) o de grupos hidroxilo (-OH) por reacciones de polimerización/condensación de compuestos alifáticos y reacciones de deshidratación ([Biliani et al., 2022](#); [S. Song et al., 2023](#); [Han et al., 2020](#)). Por su parte, la disminución en la conductividad se debe a que el proceso de pirólisis lenta a bajas temperaturas (hasta 400 °C), genera una mayor descomposición de los grupos funcionales orgánicos polares ([Bartoli et al., 2022](#)).

Como se muestra, al determinar el porcentaje de humedad se obtuvo que la humedad de MCM fue de 4.08 ± 0.44 % y la del biochar de 2.22 ± 0.36 %. La disminución en el porcentaje de humedad se da directamente por efecto del tratamiento térmico, que también promueve la hidrofobicidad debido a la deshidratación y a la liberación de grupos funcionales hidrofílicos con oxígeno (-OH, -C-O, -C=O) y/o el incremento de grupos aromáticos que reducen la relación O:C ([Jiang et al., 2021](#); [Usevičiūtė & Baltreinaite-Gedienė, 2020](#)).

En relación con el porcentaje de COT, para la MCM el porcentaje fue de 13.78 ± 1.37 % y para el biochar fue de 6.19 ± 1.00 %, siendo mayor para la MCM. En el caso de MOT (%) se obtuvo 23.75 ± 2.36 % para MCM y 10.68 ± 1.72 % para el biochar. Se ha explicado que la disminución del contenido de carbono y materia orgánica se puede deber a la descomposición térmica a 300 °C que puede generar una despolimerización principalmente de la celulosa y hemicelulosa generando cambios en la fracción de CV ([Plaza-Rojas et al., 2023](#); [Blanco-Vargas et al., 2022](#)). Por otro lado, se ha evidenciado que la pirólisis y las temperaturas influyen significativamente en la cantidad de carbono orgánico, una condición de limitación de aire puede resultar en un mayor contenido de carbono orgánico ([H. Zhang et al., 2023](#)).

Al comparar los porcentajes de CV %, CF % y cenizas %) entre la materia cruda MCM y el biochar, se encontró que, para la MCM, se observó una mayor concentración de CV % (58.06 ± 1.23 %), seguida por cenizas % (41.11 ± 1.25 %), y una menor cantidad de CF % (0.83 ± 0.06 %). En contraste, para el biochar, el orden fue cenizas % (50.33 ± 0.70 %), CV % (47.15 ± 0.75 %), y CF % (2.51 ± 0.05 %). El aumento de CF en el biochar respecto a la MCM se puede atribuir al aumento de la concentración de lignina. La lignina se compone a partir de subunidades de fenilpropano unidas por enlaces éter, por lo cual, debido al proceso de carbonización, los anillos aromáticos de las subunidades se pueden reorganizar y condensar ([Plaza-Rojas et al., 2023](#); [Venkatesh et al., 2022](#)).

Aunque se ha mencionado que la pirolisis a 300 °C permite una menor pérdida de carbono en fracciones volátiles y se concentra más en forma de carbono condensado en formas aromáticas, también se ha descrito que el CF puede disminuir si la producción del biochar se realiza en condiciones de bajo oxígeno ya que el O_2 puede favorecer la combustión de las materias primas hasta CO_2 disminuyendo la fracción CF recuperada ([Plaza-Rojas et al., 2023](#)). En cuanto al CV se observó una disminución en el biochar, lo que se debe a reacciones de deshidratación, deshidrogenación y descarboxilación, que reducen compuestos como H_2O , CO , CO_2 , H_2 , y permiten que los compuestos de carbono condensados se encuentren en una forma estable o la cantidad de minerales en forma de ceniza aumenten ([Chen et al., 2018](#) ; [Venkatesh et al., 2022](#); [Blanco-Vargas et al., 2022](#)). Al analizar las cenizas (%) se evidenció un aumento en la concentración en el biochar respecto al MCM, esto se debe a que durante el proceso de pirolisis los compuestos volátiles de grupos funcionales que contienen O, H y S se volatilizan dando paso a la acumulación de elementos no volátiles como C condensado, y minerales que contienen N, P, K, Ca, Mg, Fe. Se ha señalado que, una mayor cantidad de cenizas tiende a aportar más nutrientes minerales al suelo ([Usevičiūtė & Baltrėnaitė-Gedienė, 2020](#); [Chang et al., 2016](#)). Como se observó, para el biochar el porcentaje de cenizas fue mayor que el de carbono fijo, por lo cual el biochar obtenido a partir de la MCM puede ser una mejor fuente de minerales. A partir de esto, el biochar obtenido se puede considerar con un contenido alto de cenizas (>13%) ([Singh-Yadav et al., 2023](#)).

Por último, se obtuvo un rendimiento de biochar (Y_{Biochar}) de 75.69 ± 1.01 % que fue menor al reportado por [Chávez \(2023\)](#) donde se obtuvo un Y_{Biochar} de 81.45 ± 1.81 % empleando las mismas materias primas. El rendimiento de biochar depende y varía en función de la abundancia relativa de celulosa, hemicelulosa y lignina proveniente de las diferentes biomásas primas, lo que varía las cinéticas de descomposición ([Yang et al., 2017](#)). Otros factores que puede influir es el tamaño de la partícula, el cual retarda el flujo de calor promoviendo formas de biochar sólido e incrementando su rendimiento, sin embargo, partículas de gran tamaño también se asocian con reducidos contenidos de carbono ([Al-Rumaihi et al., 2022](#)).

Tabla 4. Análisis próximo de las materias primas, mezcla cruda y biochar.

Variable	Unidades	CR	ST	BC	MCM	Biochar
pH		7.60 ± 0.03	6.12 ± 0.02	5.50 ± 0.01	7.80 ± 0.02	8.42 ± 0.03
Conductividad	mS/cm ²	1.23 ± 0.02	2.67 ± 0.01	1.47 ± 0.01	1.25 ± 0.02	1.16 ± 0.03
Densidad	g/cm ³	0.455 ± 0.004	0.160 ± 0.002	0.419 ± 0.002	0.414 ± 0.003	0.425 ± 0.008
Humedad	%	4.51 ± 0.24	8.17 ± 0.12	27.06 ± 1.44	4.08 ± 0.44	2.22 ± 0.36
COT	%	10.25 ± 1.32	39.95 ± 1.32	37.63 ± 0.63	13.78 ± 1.37	6.19 ± 1.00
MOT	%	17.68 ± 0.80	68.88 ± 2.27	64.87 ± 1.08	23.75 ± 2.36	10.68 ± 1.72
CV	%	32.47 ± 0.45	88.36 ± 0.68	98.23 ± 0.29	58.06 ± 1.23	47.15 ± 0.75
CF	%	0.57 ± 0.03	11.61 ± 0.68	0.41 ± 0.10	0.83 ± 0.06	2.51 ± 0.05
Cenizas	%	66.96 ± 0.44	6.46 ± 0.36	1.36 ± 0.26	41.11 ± 1.25	50.33 ± 0.70
Y Biochar	%	-	-	-	-	75.69 ± 1.01

Los valores presentados es el promedio ± la desviación estándar

5.3 Producción de la solución de microorganismos benéficos co-inoculados como aditivos del biohidroretenedor

5.3.1 Solución mezcla de microorganismos

En primer lugar, a partir de la evaluación por separado de cada cultivo se determinó una concentración inicial de 6.8×10^{12} UFC/mL para *Pseudomonas* sp., 2.3×10^{12} UFC/mL para *Kosakonia* sp., 8.9×10^{14} UFC/mL para *Pseudomonas fluorescens*, 9.0×10^{12} UFC/mL para *Serratia* sp. 5.9×10^{12} UFC/mL para *Azotobacter chroococcum*, y 9.1×10^{12} UFC/mL para la Fijadora de nitrógeno (NN). Al realizar la mezcla en solución se determinó que la concentración final fue 9.1×10^9 UFC/mL. En la **Figura 14** se presentan las unidades logarítmicas del crecimiento para cada bacteria benéfica y la mezcla en solución. Además, en la **Figura 15** se pueden observar las morfologías de las bacterias utilizadas, todas las morfologías correspondieron a bacilos cortos Gram negativos.

Las diferencias en el crecimiento dependen de muchos factores como el metabolismo, la densidad óptica inicial del inóculo, el medio de cultivo, la viabilidad de las células y producción de metabolitos es por eso por lo que se ha reportado que durante el proceso de producción se deben considerar aspectos como el medio de cultivo asociado a la fuente de carbono (C), nitrógeno (N) y fósforo (P) ([Castillo-Toro et al., 2021](#)).

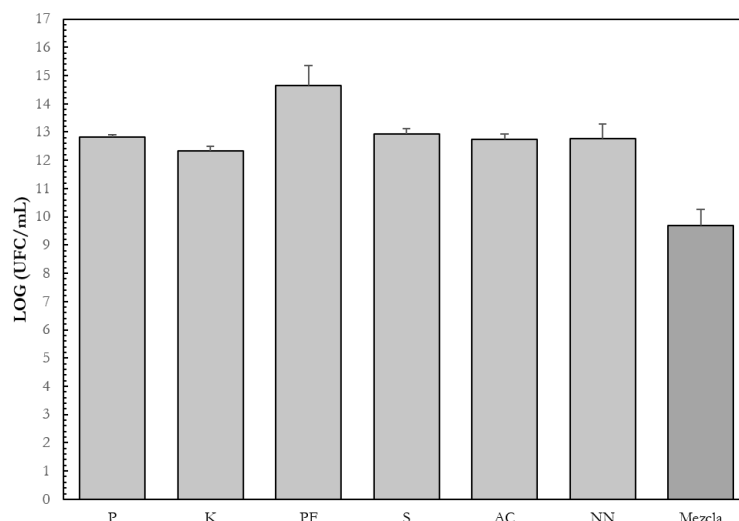


Figura 14. Resultados de la producción de la solución de microorganismos benéficos en mezcla y en la formulación Unidades logarítmicas del crecimiento de *Pseudomonas* sp. (P), *Kosakonia* sp. (K), *Pseudomonas fluorescens* (PF), *Serratia* sp. (S), *Azotobacter chroococcum* (AC), Bacteria Fijadora de Nitrógeno (NN) y mezcla de los cultivos.

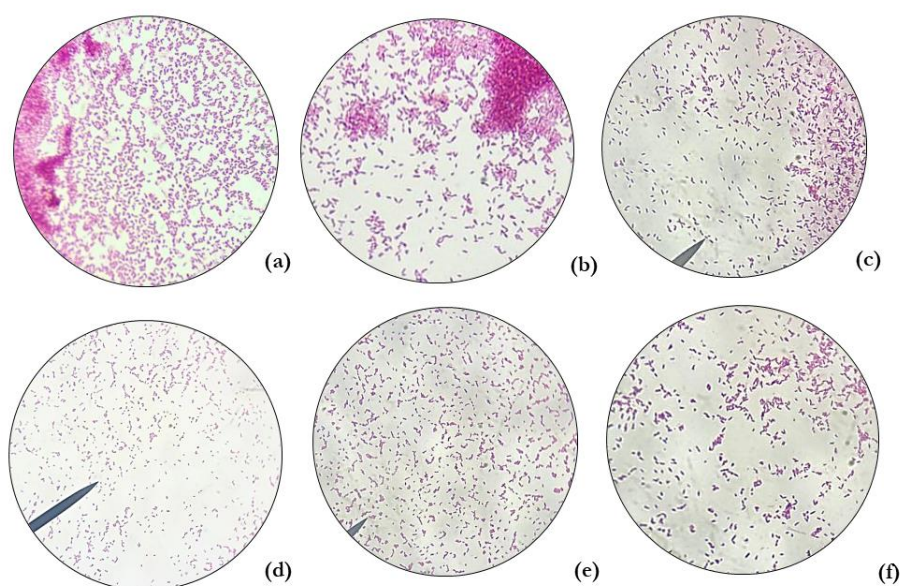


Figura 15. Morfología de los microorganismos utilizados observados en el microscopio a 100x (a) *Kosakonia* sp. (b) *Azotobacter chroococcum* (c) *Pseudomonas* sp. (d) *Pseudomonas fluorescens* (e) *Serratia* sp. y la (f) Bacteria Fijadora de Nitrógeno (NN)

5.3.2 Comportamiento de la solución mezcla en la formulación de cada tratamiento

La solución mezcla se adicionó según lo establecido en la **Tabla 2** para cada uno de los tratamientos (T1: Tratamiento 1, T2: Tratamiento 2, T3: Tratamiento 3 y T4: Tratamiento 4). El proceso de secado fue necesario para garantizar un porcentaje de humedad inferior al 10 % en el producto terminado. A partir de cada tratamiento se determinó la concentración celular (\log_{10} UFC/g) para el producto húmedo (H) y producto seco (S) después del proceso de secado a 40 °C para determinar el efecto del secado en la viabilidad, los resultados se presentan en la **Figura 16**. Según lo obtenido por la prueba t-Student al

comparar la condición pre y post secado, se observaron disminuciones significativas ($p < 0.05$) en las unidades logarítmicas de T1 y T3, sin embargo, para T4 no se observaron diferencias significativas en el proceso de secado. Se obtuvieron concentraciones finales en el producto seco para los tratamientos del diseño experimental respectivamente para T1, T2, T3 y T4 de 2.7×10^7 UFC/g, 1.9×10^8 UFC/g, 4.7×10^7 UFC/g y 9.8×10^7 UFC/g.

A partir de estos análisis de viabilidad se demostró que el proceso de secado a 40°C durante 48 h permite disminuir la humedad de los 4 biohidroretenedores sin que se afecte sustancialmente la viabilidad de las bacterias, lo que puede representar una ventaja para el proceso y mantener la viabilidad de las bacterias benéficas ya que, a pesar de disminuir significativamente, la concentración final se mantuvo en un rango de 10^7 - 10^8 UFC/g. Los resultados fueron similares a los obtenidos en estudios que también emplean biochar y biomasa algal con bacterias benéficas, en los cuales se han reportado concentraciones de *Serratia* sp. *Pseudomonas* sp, y *Kosakonia* sp. en el orden de 10^7 UFC/g inmovilizadas en biochar a base de material lignocelulósico y de *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus licheniformis* y *Azotobacter* sp. en el orden de 10^8 UFC/g inmovilizadas en biochar a base de material lignocelulósico y biomasa algal ([Blanco-Vargas et al., 2022](#); [Plaza-Rojas et al., 2023](#)). Otra aplicación similar reportada, demostró que un biohidroretenedor elaborado a partir de quitosano y almidón permitió la inmovilización de bacterias benéficas *A. brasilense* y *P. fluorescens* evidenció una concentración de 10^9 UFC/g inmovilizadas, sin embargo, durante el proceso de formulación se obtuvo una disminución en una unidad logarítmica después del proceso de secado, el cual se considera un punto crítico en la producción de hidrogeles con microorganismos ([Pérez et al., 2018](#)).

Por lo anterior, las características físicas del biohidroretenedor permitieron la estabilidad e inmovilización de concentraciones de bacterias benéficas y su actividad biológica funcional específica ([Plaza-Rojas et al., 2023](#)). Entre sus características se destaca su alta porosidad y área de superficie, que puede proporcionar espacio para almacenar agua y microorganismos ([Egamberdieva et al., 2018](#)). Se han planteado mecanismos de la influencia del biochar en la viabilidad, entre esas se destaca que permite la protección contra factores ambientales del suelo, suministra nutrientes para su crecimiento, modifica las condiciones de aireación, contenido y pH para el crecimiento microbiano, y reduce su biodisponibilidad de agentes tóxicos ([X. Zhu et al., 2017](#)). En relación con la mejora en la disponibilidad de nutrientes, se ha mencionado que a través de la adsorción de cationes y aniones de nutrientes con sus grupos funcionales superficiales (capacidad de intercambio iónico), le permite retener y suministrar nutrientes (Egamberdieva et al., 2018; [Xiang et al., 2022](#)). Adicionalmente, se ha mencionado que las bacterias benéficas pueden adherirse a las partículas de biochar mediante adsorción superficial, entrecruzamiento y atrapamiento ([Waqar et al., 2022](#)).

La adición de compuestos orgánicos como compuestos húmicos, fertilizantes o microorganismos benéficos en la formulación de hidroretenedores o hidrogeles con aplicación en suelo puede proporcionar beneficios ([Kratochvilova et al., 2020](#); [Waqar et al., 2022](#)). Estudios han mostrado que la adición de ácido

húmico (AH) como complemento a hidroretenedores elaborados a partir de polialcohol vinílico permite proporcionar nutrientes y promover el crecimiento vegetal sin presentar toxicidad (Torres-Figueroa et al., 2023), y de manera similar un hidrogel de quitosano con *Chlorella* sp. también permitió la liberación lenta de AH (H. Li et al., 2022). Así mismo, un hidroretenedor elaborado a partir de goma guar y amonio cuaternario evidenció la liberación controlada de AH mejorando el crecimiento de las plantas (Cui et al., 2024). También se ha reportado que hidroretenedores de copolímeros de ácido poliacrílico con almidón permiten la liberación controlada de fertilizantes favoreciendo la germinación (Sarmah & Karak, 2019). Por otro lado, se han realizado aproximaciones por separado de hidrogeles de ácido poliacrílico y biochar producido a partir de hojas residuales de árbol utilizados como soporte para bacterias promotoras del crecimiento (*P. putida* y *P. chinensis*), en donde se evidenciaron efectos positivos frente al estrés hídrico y una promoción en el crecimiento de la planta y la calidad del suelo, respectivamente (Waqar et al., 2022). En una aplicación similar de un biohidroretenedor de quitosano y almidón permitió la inmovilización de bacterias benéficas (*A. brasilense* y *P. fluorescens*), donde se evidenció una liberación en suelo de las bacterias (Pérez et al., 2018).

Aunque trabajos similares han demostrado la viabilidad de la co-inoculación con diferentes bacterias benéficas, en el presente trabajo se observó dicha viabilidad para 6 tipos de bacterias benéficas diferentes, ampliando el rango de organismos estudiados y su aporte beneficioso al BHR obtenido basado en su funcionalidad. Por otro lado, como se ha desarrollado, la adición tanto de compuestos orgánicos como de microorganismos benéficos en la formulación de HR y BHR genera un valor agregado en el aporte nutricional y en el crecimiento vegetal. Por lo cual, el BHR formulado permite una alternativa biodegradable con un amplio rango de microorganismos benéficos garantizando su viabilidad en un soporte de biochar.

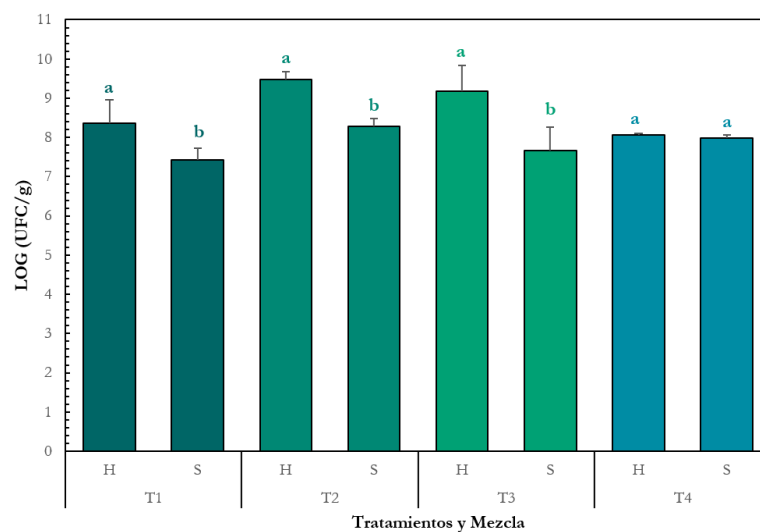


Figura 16. Efecto del proceso de secado en la concentración de la solución mezcla de microorganismos entre el tratamiento húmedo (H) y seco (S) para T1 (■), T2 (■), T3 (■) y T4 (■). Las barras de error representan la desviación estándar. Las letras diferentes identifican diferencias significativas entre húmedo y seco ($p < 0.05$) siendo la letra a una mayor concentración log (UFC/g).

5.4 Mejora de la formulación del biohidroretenedor desarrollado por Chávez (2023)

5.4.1 Análisis de la capacidad de adsorción y humedad para el Diseño Experimental 2²

En la **Tabla 5** se presentan los resultados del análisis de varianza basadas en ANOVA para el diseño experimental como variables de respuesta de adsorción de agua y porcentaje de humedad considerando factores negativos y positivos. De acuerdo con el análisis tanto para la adsorción de agua como el porcentaje de humedad, el modelo fue significativo ($p < 0.05$). En el caso de la variable adsorción de agua, el modelo presentó un coeficiente de correlación $R^2 = 0.8135$, un coeficiente de variación del 7.07 % y una precisión de 10.759, mientras que para la variable humedad (%) el R^2 fue de 0.8591, un CV de 0.88 % y una precisión de 10.754, la precisión en este caso permitió inferir que el modelo fue analizable bajo las condiciones experimentales evaluadas. Para la adsorción el Factor A (Biomasa algal expandida) y la interacción AB (Biomasa algal expandida-CMC) tuvieron un efecto significativo ya que presentaron valores p de 0.0027 y 0.0005 respectivamente, siendo el factor AB el más influyente sobre la adsorción. Por su parte, el porcentaje de humedad tanto el Factor A como el Factor B (CMC) tuvieron un efecto significativo sobre la humedad (%), siendo mayor por parte del FA.

Tabla 5. Resultados análisis de varianza ANOVA para el diseño experimental como variable de respuesta la capacidad de adsorción de agua y porcentaje de humedad

Factor	Adsorción de agua (mL/g)			Humedad (%)		
	Valor p	Contribución (%)	Efecto estándar	Valor p	Contribución (%)	Efecto estándar
Modelo	0.0006		+36.05	0.0001		+93.62
FA	0.0027	20.2548	+2.78	<0.0001	54.9688	+1.48
FB	0.1066	4.08524	+1.25	0.0011	28.4247	+1.07
AB	0.0005	32.334	+3.25	0.2345	2.24844	+0.30
R ²	0.8135	30.3359		0.8591	0.31228	
DS	2.44			0.82		
CV	7.07			0.88		
PA	10.759			10.754		

FA: Factor A, **FB:** Factor B, **DS:** Desviación Estándar **R²:** Coeficiente de Correlación **CV:** Coeficiente de Variación
PA: Precisión Adecuada. Valores p resaltados con **negrilla** representan efectos significativos sobre las variables

Complementario a lo anterior, en la **Figura 17** se presentan los gráficos de Pareto que evalúan el efecto de los estadísticos de la prueba t-Student. Con estos gráficos se definió el ranking o escala de efecto de cada factor sobre las variables respuesta, donde valores que superaran el límite de Bonferroni y el valor t límite presentaban efectos significativos sobre las variables. Para la capacidad de adsorción, se evidenció que tanto el Factor AB y Factor A tuvieron efectos positivos (color anaranjado) siendo el AB el más influyente (más alto en el ranking) sobre la adsorción. En relación con el porcentaje de humedad, se

evidenció que tanto el Factor A y como el Factor B tuvieron efectos positivos siendo el Factor A el más influyente (más alto en el ranking) sobre la humedad de los tratamientos.

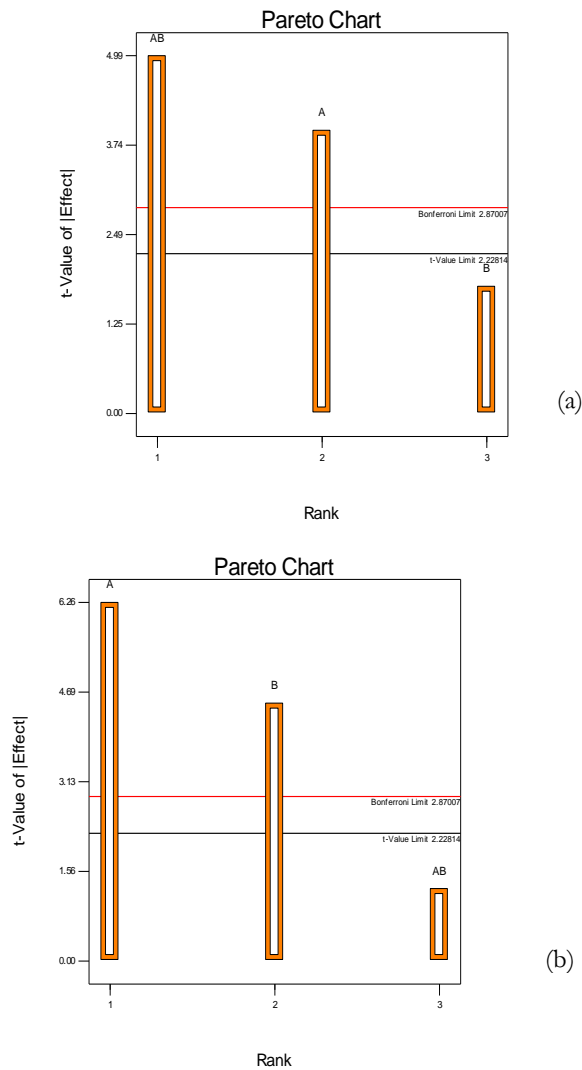


Figura 17. Diagramas de Pareto para los 4 tratamientos como variable de respuesta (a) Capacidad de adsorción de agua (mL/g) y (b) Porcentaje de humedad (%)

Por otro lado, cuando se realizó la comparación de medias entre tratamientos se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos para ambas variables de respuesta. Los resultados de la prueba Tukey para las variables y tratamientos se muestra en la **Figura 18**.

Para la capacidad de adsorción se observó que el mejor tratamiento fue T4 con una capacidad de adsorción de 43.50 ± 2.84 mL/g ($p < 0.05$), seguido del T1 (35.52 ± 1.89 mL/g), T2 (34.06 ± 0.77 mL/g) y T3 (31.00 ± 0.77 mL/g). Para el tratamiento T2 y T3 no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$). En cuanto a la humedad (%) se evidenció el mayor porcentaje con T4 (96.47 ± 0.98 %), seguido del T2 (93.76 ± 1.02 %), se observaron diferencias significativas entre todos los tratamientos, pero no entre T1 y T3.

Por último, respecto a los controles evaluados, el comercial Hydrokeeper® y el Control Chávez, se observó una capacidad de adsorción de 80.07 ± 0.14 mL/g y 14.77 ± 0.87 mL/g respectivamente. En relación con el producto sintético se evidenció una capacidad aproximadamente mayor casi el doble respecto al mayor tratamiento. Sin embargo, respecto a la formulación previa realizada por Chávez (2023), se evidenció que hubo una mayor adsorción por parte de la formulación de T1, T2, T3 y T4.

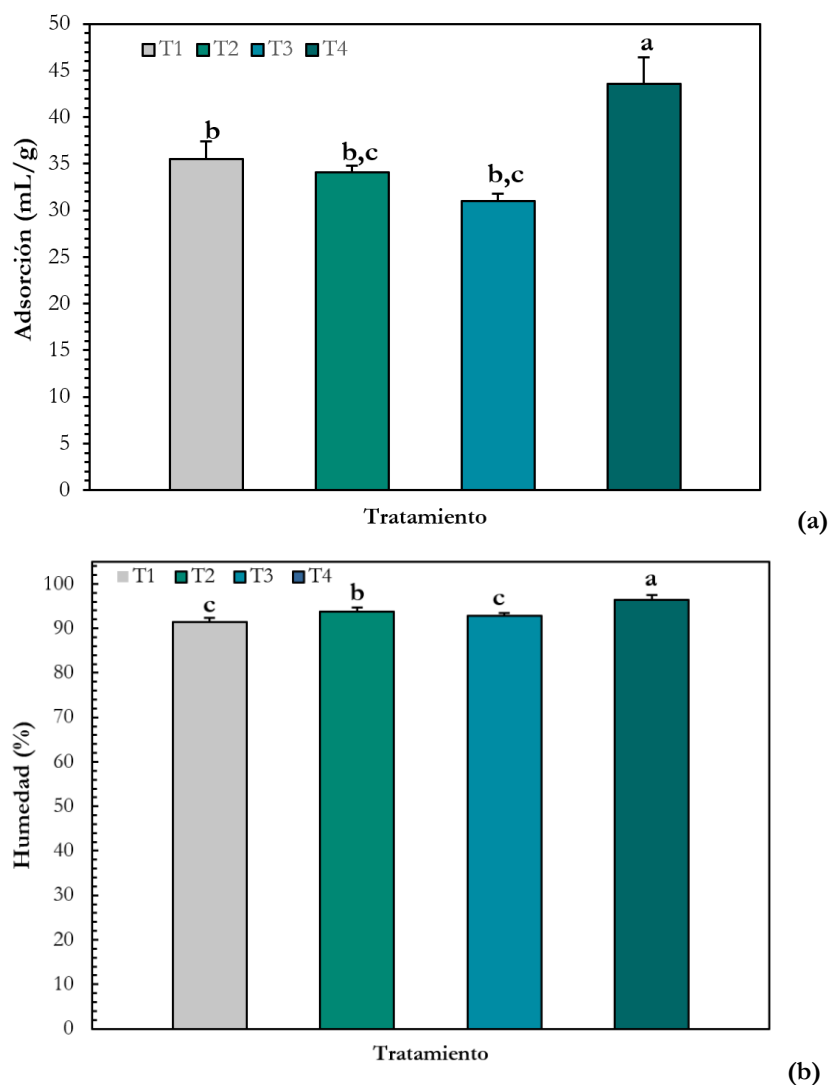


Figura 18. Resultados de (a) capacidad de adsorción (mL) y (b) porcentaje de humedad (%) para cada tratamiento. T1: Tratamiento 1 (■), T2: Tratamiento 2 (■), T3: Tratamiento 3 (■) y T4: Tratamiento 4(■). Las barras de error representan la desviación estándar a partir de 3 réplicas. Las letras identifican diferencias significativas ($p < 0.05$; ANOVA; prueba de Tukey) donde la letra a indica el tratamiento con mejor variable evaluada.

5.4.2 Análisis microbiológico para el Diseño Experimental 2²

Por otro lado, en la **Tabla 6** se presentan los resultados del análisis de varianza basadas en ANOVA para el diseño experimental como variables de respuesta de la concentración de bacterias totales (BT), bacterias productoras de pigmentos (BPP), bacterias fosfatos solubilizadoras (BPS) y bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN). Para todos los recuentos específicos el modelo fue significativo ($p < 0.0001$). Los modelos

presentaron R^2 de 0.9457 para BT, 0.9954 para BPP, 0.9940 para BPS y 0.9450 para BFN. Para todos los modelos el CV fue menor a 1.5 % y la precisión mayor a 15. Para todos los modelos los tres factores (A, B y AB) tuvieron influencias significativas sobre los recuentos, excepto en BT donde el Factor B (CMC) no tuvo influencias significativas ($p > 0.05$).

Tabla 6. Resultados análisis de varianza ANOVA para el diseño experimental como variable de respuesta la capacidad de adsorción de agua y porcentaje de humedad

Factor	BT			BPP			BPS			BFN		
	Valor p	Contribución (%)	Efecto estándar	Valor p	Contribución (%)	Efecto estándar	Valor p	Contribución (%)	Efecto estándar	Valor p	Contribución (%)	Efecto estándar
Modelo	<0.0001		7.84	<0.0001		6.98	<0.0001			<0.0001		6.33
FA	<0.0001	57.291	0.29	0.0002	1.2529	-0.047	<0.0001	21.5156		<0.0001	29.1749	0.21
FB	0.6929	0.06583	-0.01	<0.0001	79.1374	-0.38	<0.0001	53.1304		0.0029	5.1878	0.087
AB	0.0003	11.998	-0.13	<0.0001	1.5302	-0.053	0.0009	0.9879		<0.0001	23.8218	-0.19
R^2	0.9457			0.9954			0.994			0.945		
DS	0.085			0.029			0.022			0.077		
CV	1.07			0.41			0.32			1.24		
PA	17.685			52.812			55.771			18.783		

FA: Factor A, **FB:** Factor B, **DS:** Desviación Estándar **R^2 :** Coeficiente de Correlación **CV:** Coeficiente de Variación **PA:** Precisión Adecuada. Valores p resaltados con **negrilla** representan efectos significativos sobre las variables

Adicionalmente, los resultados obtenidos al realizar el análisis comparativo de medias para cada uno de los tratamientos se presentan en la **Figura 19**. Se evidenciaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los 4 tratamientos para los distintos recuentos evaluados. El T2 obtuvo un número más alto de unidades logarítmicas de UFC/g para BT, BPS y BPP ($p < 0.05$), con concentraciones 1.9×10^8 UFC/mL, 1.4×10^8 UFC/mL y 2.3×10^7 UFC/mL, respectivamente. En relación con las BFN el T1 tuvo una mayor concentración ($p < 0.05$) seguido por T2. Por su parte, el T4 presentó la menor concentración de BPS y BFN, mientras que T1 presentó la menor para BT y BPP.

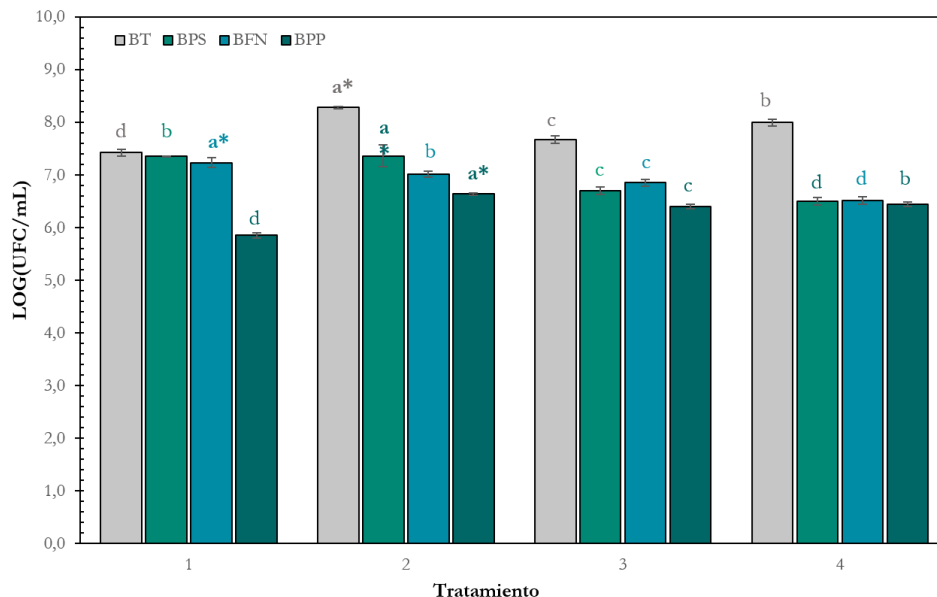


Figura 19. Resultados para cada tratamiento de recuentos bacterianos específicos BT: Bacterias Totales (■), BPS: Bacterias Fosfato Solubilizadoras (■), BFN: Bacterias Fijadoras de Nitrógeno (■) y BPP: Bacterias Productoras de Pigmento fluorescente (■). Las barras de error representan la desviación estándar a partir de 3 réplicas. Las letras identifican diferencias significativas ($p < 0.05$; ANOVA; prueba de Tukey) donde la letra a indica el tratamiento con mayor concentración de bacteria específicas.

Adicionalmente, en la **Figura 20** se observan las características del crecimiento de las bacterias en los diferentes medios de cultivo para BT en Agar Nutritivo (**Figura 20a**), BPP en Agar King B (**Figura 20b**), BFN en Agar NFB (**Figura 20c**) y BPS en Agar SRSM1 con indicador Azul Bromotimol (**Figura 20d**). En el agar BPP se identificaron las bacterias productoras de pigmentos que podrían ser *Pseudomonas* sp. y *Pseudomonas fluorescens* mediante la emisión de fluorescencia bajo luz UV de onda larga, debido a la respuesta de la producción de pioverdina. Para las BPS la identificación de las solubilizadoras se distinguió por la formación de colonias amarillas debido a la producción de ácidos orgánicos que modifican el pH y producen viraje del indicador del medio junto con la formación de halos de solubilización del $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ presente en el medio. Por último, para las bacterias BFN se identificaron las colonias con coloración azul que se forma debido a la formación de NH_4^+ asociada al a fijación de N_2 , que modifica el pH y respuesta del indicador.

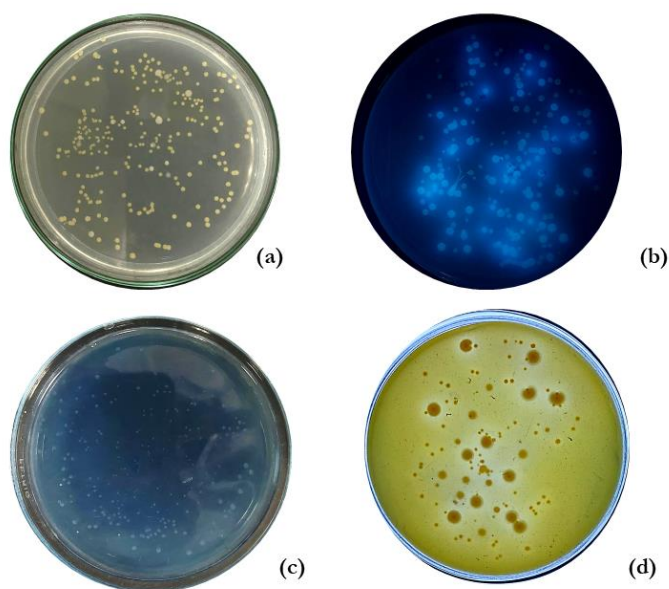


Figura 20. Crecimiento de las bacterias en (a) Agar Nutritivo. (b) Agar King B (c) Agar NFB y (d) Agar SRSM1.

5.4.3 Parámetros fisicoquímicos adicionales

Para poder comparar la capacidad de adsorción de los tratamientos con el control comercial, se realizó la prueba de adsorción al Hidrokeeper®, donde se obtuvo una capacidad de 80.07 ± 0.14 mL/g, la cual fue mayor en comparación con los tratamientos. Dado que estructuralmente los hidroretenedores de poliácridamida son matrices poliméricas tridimensionales formadas de un solo monómero, predominan y funcionan a su máxima capacidad las interacciones de los grupos hidrofílicos carboxilo ($-\text{C}=\text{O}$), hidroxilo($-\text{OH}$) y amida($-\text{CONH}_2$) de manera directa con las moléculas del agua ([Rock et al., 2020](#); [Kaur et al., 2023](#)).

Por otro lado, se evaluaron parámetros fisicoquímicos adicionales para caracterizar los tratamientos en relación con el pH y la conductividad. La diferencia en el pH entre T1 y T2 respecto a T3 y T4 se debe a la acidificación de la solución al momento de realizar la solución mezcla de los microorganismos, los valores se presentan en la **Tabla 7**.

Teniendo en cuenta que tanto T2 y T4 fueron los mejores tratamientos según el análisis de las variables, se les realizó la cuantificación de COT (%) y MOT (%). Se observó (**Tabla 7**) que para T2 estos valores fueron 17.87 ± 3.57 % y 30.80 ± 6.15 % respectivamente, mientras para T4 fueron 18.33 ± 2.88 % y 31.60 ± 2.88 %. Comparando estos valores con los obtenidos para el biochar (COT % = 6.19 ± 1.00 y MOT% = 10.68 ± 1.72), se evidenció un incremento en los porcentajes. Lo anterior se pudo deber a la presencia de la CMC y la biomasa algal. Por su parte, la CMC es un derivado de la celulosa que contiene grupos carboximetil y es fuente de carbono orgánico, por lo que pudo haber influido en el incremento ([Fu et al., 2023](#)). En relación con la biomasa algal, a pesar de contener celularmente polisacáridos, proteínas y carbohidratos pudo haber contribuido menos al aumento de carbono y materia orgánica debido a que su composición química varía en composición C: N ([Plaza-Rojas et al., 2023](#)).

Además, un alto contenido de carbono y materia orgánica está estrechamente relacionado con la facilidad de biodegradabilidad. Los polisacáridos y la biomasa algal contribuyeron al COT y MOT, lo que puede facilitar la degradación de estos compuestos en comparación con los hidrogeles sintéticos. La composición orgánica de estos materiales promueve la actividad microbiana, minimizando así el riesgo de acumulación de componentes no biodegradables. Por otro lado, tanto el BHR como sus productos de descomposición pueden agregar materia orgánica al suelo, mejorando su estructura y contenido nutricional ([Sarmah & Karak, 2019](#)). También se ha reportado para condicionadores de suelo que la materia orgánica proporciona capacidad de retención de agua al alterar la agregación de partículas y la distribución de los tamaños de poro del suelo ([Miller & Naeth, 2019](#)). En relación con el biochar como factor en la formulación, se ha sugerido que el biochar como acondicionador de suelo permite almacenar carbono en el suelo, mejorando la captura de carbono y funcionando como reservorio de liberación lenta de carbono, mejorando las condiciones del suelo y aumentando la productividad de los cultivos ([Singh-Yadav et al., 2023](#)).

Tabla 7. Caracterización fisicoquímica tratamientos

Variable	Unidades	Tratamiento			
		1	2	3	4
pH	-	8.35 ± 0.02	8.34 ± 0.01	7.77 ± 0.06	7.77 ± 0.05
Conductividad	mS/cm ²	0.530 ± 0.006	0.545 ± 0.002	0.561 ± 0.003	0.562 ± 0.016
Humedad	%	-	6.27 ± 0.82	-	5.96 ± 0.51
COT	%	-	17.87 ± 3.57	-	18.33 ± 2.88
MOT	%	-	30.80 ± 6.15	-	31.60 ± 2.88

Los valores presentados es el promedio \pm la desviación estándar de tres réplicas

5.4.4 Efecto de los factores evaluados en las variables respuesta

Como se observó en la capacidad de adsorción la interacción AB y el factor A fueron los más influyentes, lo que podría indicar que la biomasa algal tiene la capacidad de interactuar con la celulosa con la cual fue mezclada, y esa interacción afecta significativamente como interactúan ambos componentes con el agua. En el caso del porcentaje de humedad, el factor A fue el más influyente seguido del factor B, por lo que tanto la biomasa como la CMC tienen propiedades con capacidad de retención de agua.

Por parte del factor A, la interacción con el agua y la biomasa algal, se puede deber a que la estructura de la pared celular de las microalgas contiene polisacáridos, proteínas y/ o lípidos con grupos funcionales como carboxilo (-COOH), hidroxilo (-OH), carbonilo (-COH), amida (-CONH₂) y amino (-NH₂, -NH), los cuales permiten la interacción tanto con el agua como con la celulosa mediante la formación de enlaces de tipo puentes de hidrógeno (Soto-Ramírez et al., 2021). Por otro lado, la biomasa algal tiene características semipermeables celulares les permiten a las moléculas de agua ingresar y acumularse intracelularmente, lo que puede relacionarse al observar por el contenido de humedad después del proceso de adsorción en los tratamientos con mayor composición de biomasa (H.Li et al., 2022). Por su parte el factor B de CMC, se caracteriza por contener en su mayoría grupos funcionales -OH y -COOH hidrofílicos que componen la red de BHR y permiten la afinidad con el agua, las cuales se pueden difundir en la matriz del aumentando el volumen del BHR e interactuar con los grupos hidrofílicos para establecer puentes de hidrógeno con las moléculas del agua (Omer et al., 2023).

En relación con la interacción de los factores (AB), se ha reportado en estudios similares acerca la interacción entre biomasa de *Chlorella* sp. y quitosano para la formación de esferas de hidrogel, en donde se muestra que la interacción entre el polisacárido y la biomasa genera una red reticulada formada a partir de formación de puentes de hidrógenos con grupos -OH y -NH₂, por la cual las moléculas de agua ingresan por ósmosis y después interactúan e ingresan a las células de la biomasa (H.Li et al., 2022). Considerando la interacción entre ambos factores (biomasa algal y carboximetil celulosa) y la similitud estructural de la celulosa y el quitosano en términos de los grupos funcionales podría decirse que también se dan interacciones entre la celulosa y la biomasa algal.

5.5 Evaluación del BHR en la retención de agua y crecimiento de *Raphanus sativus* en sistema in vitro de fotoperíodo

5.5.1 Evaluación de parámetros fisicoquímicos del suelo

La caracterización del suelo comercial previo al montaje experimental se presenta en la **Tabla 8**. El suelo tenía condiciones de pH neutro (7.2 ± 1.8) y un porcentaje de humedad de 27.0 ± 6.8 %.

Después de la mezcla y la dosificación del suelo con los tratamientos y controles correspondientes, se llevó a capacidad de campo (57.5 ± 2.6 mL por cada 100 g) y se determinaron los porcentajes de humedad para cada lote. El porcentaje de humedad en suelo con el Tratamiento 2 al 2 % (2 g Tratamiento /100 g suelo) (T22) fue de 34.49 ± 0.86 % mientras que a dosis del 1 % (p/p) T21 fue de 32.78 ± 0.38 %. Por su parte con el Tratamiento 4 al 2 % (p/p) la humedad inicial fue de 34.70 ± 0.30 % mientras que a dosis 1 % (p/p) T41 fue de 33.56 ± 0.31 %. Para los controles de Hidrokeeper® al 1 % (p/p) y 2 % (p/p) los valores fueron de 33.21 ± 1.25 % y 34.37 ± 1.33 % respectivamente. Por último, las condiciones de humedad para el suelo control (Sin tratamiento) fue de 32.26 ± 0.62 % (**Figura 21**).

Tabla 8. Caracterización inicial Suelo Comercial Tierra Orgánica Anasac®

Variable	Unidad	Suelo
Humedad	%	27.0 ± 6.8
Densidad	g/cm ³	0.71 ± 1.01
pH		7.2 ± 1.8
COT	%	17.15 ± 0.75
MOT	%	29.57 ± 1.29
CC (100 g)	mL	57.5 ± 2.6
Saturación Agua	%	42.5 ± 2.6

Los valores presentados es el promedio \pm la desviación estándar de tres réplicas. CC: Capacidad e Campo

Posterior al cultivo y extracción de las plántulas del cultivo, se evaluaron los parámetros de pH y porcentaje de humedad. En relación con el pH en la **Tabla 9** se presentan las determinaciones para cada tratamiento y control. Como se observa, los valores de pH estuvieron en un rango entre 7.4-7.8, por lo que el rango solo aumentó 0.2-0.4 unidades respecto al pH inicial del suelo y las condiciones se mantuvieron en condiciones de neutralidad. Se ha reportado que un valor promedio de pH para acondicionadores de suelo puede variar entre 6.2 y 9.4, aunque de manera general, mantener el pH correcto del suelo es muy importante para los cultivos ya que determina la actividad de la fijación de los nutrientes de los fertilizantes, la funcionalidad de absorción de la planta y la actividad microbiana ([Garbowski et al., 2023](#)).

Se debe tener en cuenta que el riego empleado cada 5 días se consideró como una ligera inducción de estrés dado que las condiciones de cultivo para *Raphanus sativus* se han reportado como riego hasta una cantidad de humedad de suelo aproximadamente al 35 % ([Mielcarz-Skalkska et al., 2021](#)) y con una frecuencia de riego diario ([Kochetov & Sinyavina, 2019](#); [Sinyavina et al., 2023](#); [Zha & Liu, 2018](#)). Por lo cual la condición inicial del cultivo fue óptima para su crecimiento, y aunque el riego mantuviera esta humedad, la frecuencia fue con intervalos mayores induciendo estrés para poder evaluar el efecto de los BHR y el control.

La evaluación del efecto de cada tratamiento y dosis en el porcentaje de humedad del suelo después de las 24 h y 144 h de se muestran en la **Figura 21**. Según la evaluación por comparación de medias entre tratamientos y controles, se observó que a las 24 h la humedad del suelo control fue de $(13.6 \pm 0.1 \%)$ y se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos y el control, donde se obtuvo una mayor humedad (%) para los tratamientos T22, T41 y T42 con valores de $24.3 \pm 1.2 \%$, $25.2 \pm 0.2 \%$ y $25.3 \pm 0.2 \%$ respectivamente, seguido por T21 ($23.1 \pm 1.0 \%$) y HK2 ($22.6 \pm 1.6 \%$) que no presentaron diferencias estadísticas entre sí ($p > 0.05$), y por último HK1 ($19.4 \pm 0.3 \%$). A las 144 h los valores más alto se observaron en HK2 con un valor de $32.1 \pm 1.5 \%$. No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos T22 ($28.4 \pm 0.5 \%$), T41 ($27.4 \pm 0.5 \%$) y T42 ($27.2 \pm 0.7 \%$) que fueron los tratamientos con el segundo porcentaje más alto, seguido por HK1 ($20.6 \pm 1.5 \%$) y T21 ($19.1 \pm 1.9 \%$). A las 144 h se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) para todos los tratamientos respecto al suelo control, el cual tuvo una humedad de $16.0 \pm 1.3 \%$.

Las condiciones del montaje experimental no incluyeron la pre-hidratación ni de los tratamientos ni del Hidrokeeper®, lo por cual los porcentajes evaluados en suelo podrían diferir según el modo de aplicación de los productos. Lo anterior se puede observar ya que, al realiza la evaluación directa con agua de la capacidad de retención del HK se obtuvo una capacidad de retención de $80.07 \pm 0.14 \text{ mL/g}$ sin embargo el porcentaje de hidratación en suelo únicamente llegó a su máximo a $32.1 \pm 1.5 \%$. Se ha mencionado que según el tipo de aplicación e hidratación de los productos se podría afectar su capacidad de retención y liberación de agua (reflejado en el porcentaje de humedad). Para lo anterior, se explica que al no prehidratar el producto antes de su adición el suelo, este puede generar resistencia evitando la total expansión del volumen del hidrotenedor, provocando que no absorba y retenga agua a su máxima capacidad, por lo cual se debe tener en cuenta que al pre-hidratar el producto se debería evaluar la capacidad de hidratar el suelo específico en función de la capacidad de disponibilidad de agua para el modelo vegetal evaluado para evitar daños por exceso de riego ([Fernández et al., 2021](#) ; [Elshafie & Camele, 2021](#) ; [B. Song et al., 2020](#)). Lo anterior, podría considerar así mismo para los BHR, por lo que posteriores estudios evaluando el modo de hidratación podrían llevarse a cabo para evaluar el efecto en el porcentaje de humedad en el suelo postcosecha y en maximizar la capacidad de retención aplicado en suelo.

Una de las características más importantes de un hidrotenedor es su habilidad de absorber, retener y liberar agua, lo que se denomina capacidad de hinchamiento. Esta capacidad depende de la natural del hidrotenedor y las condiciones ambientales, de hecho, se ha mencionado que en diversos estudios los resultados en campo y en suelo pueden variar debido a las condiciones no controladas pueden reducir la eficiencia de biohidrotenedores ([Adjuik et al., 2022](#)). Otro factor que puede afectar la capacidad de hinchamiento es la concentración de cationes en el ambiente, ya que pueden formar complejos con los grupos OH y COOH de los hidrotenedores disminuyendo la atracción con las moléculas de agua ([Rizwan et al., 2021](#); [J. Zhang et al., 2016](#)). También se ha mencionado que el efecto

y eficiencia de hidrogeles puede variar según la textura del suelo evaluada (Fernández et al., 2021; Adjuik et al., 2022). Según esto, pruebas adicionales evaluando diferentes tipos de suelo y condiciones se pueden llevar a cabo para evaluar el comportamiento del biohidroretenedor y determinar su influencia en su eficiencia.

Tabla 9. Resultados de pH para cada tratamiento y control. Los resultados se muestran \pm la desviación estándar

Tratamiento	pH
T2 1	7.79 \pm 0.08
T2 2	7.77 \pm 0.19
T4 1	7.66 \pm 0.15
T4 2	7.72 \pm 0.03
HK 1	7.64 \pm 0.21
HK2	7.84 \pm 0.05
CO	7.44 \pm 0.04

Los valores presentados es el promedio \pm la desviación estándar de tres réplicas

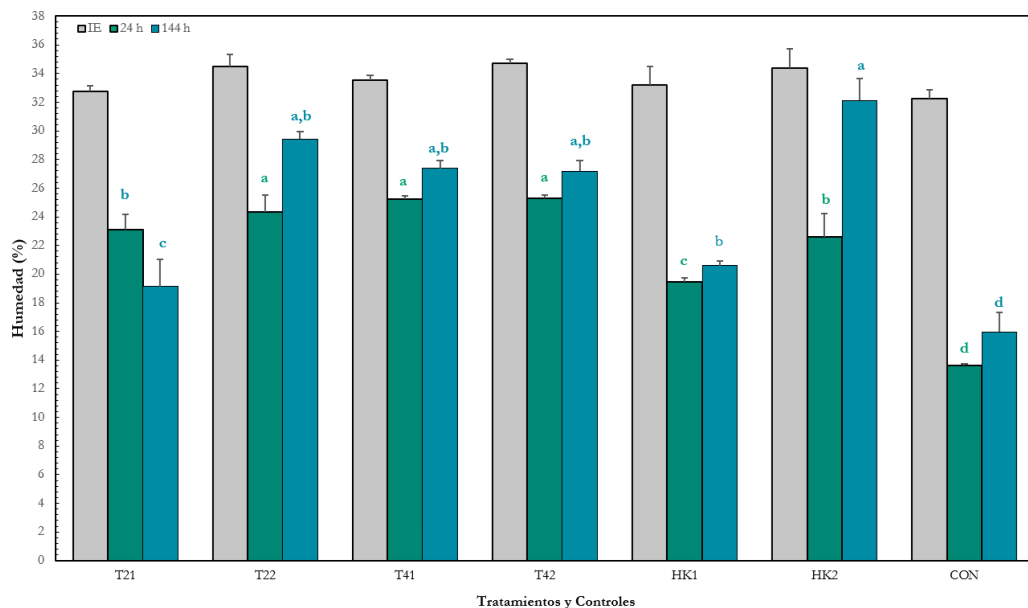


Figura 21. Resultados humedad (%) en suelo al inicio del montaje (■) y a las 24 h (■) y 144 h (■) de la extracción de plántulas del cultivo. Las barras de error representan la desviación estándar a partir de 3 réplicas. Las letras identifican diferencias significativas ($p < 0.05$; ANOVA; prueba de Tukey) donde la letra a indica el tratamiento con mayor porcentaje de humedad a la hora evaluada.

En cuanto al biohidroretenedor, se ha reportado acerca del potencial uso de la celulosa CMC como elemento base para el desarrollo de biohidroretenedores debido a sus propiedades estructurales y físicas (Kundu et al., 2022). Así mismo se conocen las propiedades de la aplicación de biochar para mejorar la capacidad de retención de agua y la disponibilidad de nutrientes (Amin, 2023; Kumar et al., 2021). Por su parte, se ha mencionado acerca del desarrollo de hidrogeles en forma de perlas ecológicas de quitosano y *Chlorella* sp. para aplicaciones en la agricultura (H.Li et al., 2022). Por otro lado, en relación con el biochar y la biomasa algal, se han hecho aproximaciones para el desarrollo de biochar implementando biomasa algal (Bi & He, 2022; Yu et al., 2017), biochar con biomasa de *Chlorella* sp. como soporte de microorganismos

benéficos ([Plaza-Rojas et al., 2023](#)) y biochar a partir de residuos agroindustriales como soporte de microorganismos benéficos ([Blanco-Vargas et al., 2022](#); [Moreno-Bayona et al., 2019](#)). Sin embargo, aún se debe profundizar en el planteamiento de la mezcla de biochar a partir de residuos agroindustriales, biomasa algal y CMC co-inoculado con microorganismos benéficos como alternativa para el desarrollo de hidrogeles estudiando su comportamiento en distintos tipos de suelos y cultivos.

5.5.2 Evaluación parámetros de crecimiento vegetal

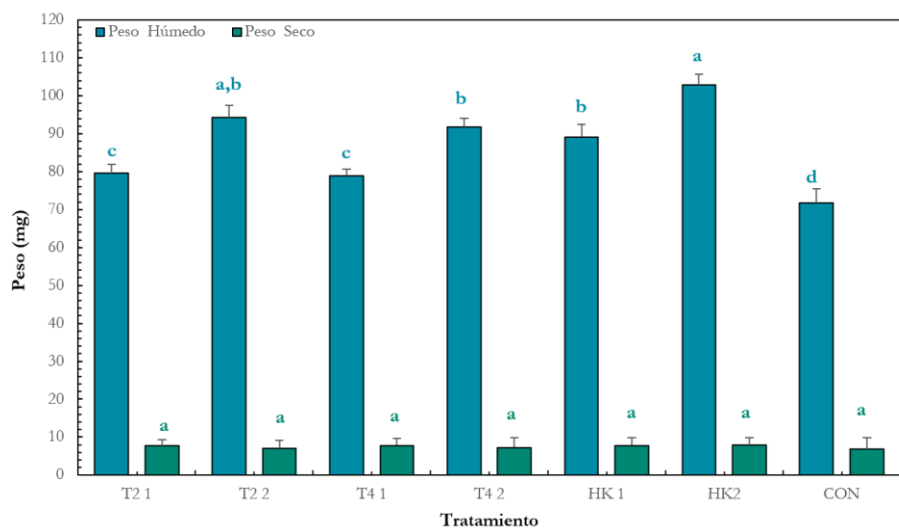
Considerando los resultados del análisis de varianza para la comparación de medias entre tratamientos se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para cada variable. Para la variable peso húmedo (mg) (**Figura 22a**) se obtuvo el mayor peso ($p < 0.05$) con el HK2 (102.82 ± 2.21 mg), seguido por T22 (94.27 ± 3.25 mg), y luego T42 y HK1 que no presentaron diferencias estadísticas significativas entre sí ($p > 0.05$). Todos los tratamientos (T41, T42, T21 y T22) tuvieron valores mayores ($p < 0.05$) respecto al control (71.70 ± 3.72 mg). En el caso de la variable peso seco no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ninguno de los tratamientos y los controles. Sin embargo, las diferencias entre peso húmedo y seco permitieron ver el efecto de la hidratación en la planta ([Montesano et al., 2015](#)). Aun así, el efecto beneficioso del control comercial (HK) se debe a que su alta capacidad de retención de agua permite liberar controladamente las moléculas de agua hacia la raíz influyendo - directamente en el peso seco, peso fresco y número de hojas, según lo reportado de su aplicación para diferentes cultivos ([Kumar et al., 2021](#)).

En el caso de las variables de longitud de tallo (mm), longitud de raíz (mm) y altura total de la plántula (mm) los resultados se presentan en la **Figura 22b**. Para altura total se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) siendo los mejores tratamientos T42 (132.7 ± 26.1 mm), T22 (127.4 ± 18.3 mm) y T21 (126.6 ± 25.5 mm), los cuales fueron superiores a T4, HK1 y HK2, que no presentaron diferencias entre sí ($p > 0.05$), y todos los tratamientos y controles fueron más altos ($p < 0.05$) respecto al control. Al evaluar la altura del tallo los mejores tratamientos ($p < 0.05$) fueron T42, T21 y T22 que fueron superiores a los controles y los demás tratamientos. Por último, para la longitud de raíz se observaron diferencias significativas siendo el mejor T42 (54.8 ± 1.89 mm), seguido por T21 y T22, luego T41 HK2 y HK2, aunque todos los tratamientos y controles fueron más altos ($p < 0.05$) respecto al control.

Adicionalmente en la **Figura 23a** y **Figura 23b** se presentan las plántulas de *Rapbanus sativus* tras la siembra con cada tratamiento y control en dosis 1 % (p/p) y 2 % (p/p). Donde se pueden observar las diferencias tanto de la altura de la planta y la raíz, junto con la calidad y cantidad de las hojas. Como se muestra, los tratamientos y controles asociados con un mayor peso o crecimiento presentaron un mayor tamaño y número de hojas, mientras que, en el caso del control, estos fueron menores. Además, aunque no se evaluó formalmente, se pueden observar diferencias en el número de ramificaciones secundarias de la raíz, las cuales aumentaron en cantidad al aplicar los tratamientos en comparación con el control (**Figura 23a** y **Figura 23b**).

Como se observó, el Tratamiento 2 y el Tratamiento 4 evidenciaron los efectos más positivos sobre la promoción del crecimiento de la planta y la raíz. En el caso de T2, esto se observó con ambas dosis, 1 % y 2 % (p/p), mientras que para T4 solo fue efectivo con la dosis del 2 % (p/p). De manera general se conocen los efectos positivos de la aplicación de biohidroretenedores en cultivos vegetales, donde se ha evidenciado un favorecimiento en la longitud, peso fresco y seco, y germinación bajo condiciones de escasez de agua en presencia de los hidrogeles ([Gooma & Aldaby, 2023](#); [Sarmah & Karak et al., 2020](#)). Se han reportado efectos del uso de hidrogeles sintéticos, biodegradables o copolímeros sintético-derivados de productos naturales en *Raphanus sativus*, dentro de los efectos incluye aumento en la germinación de semillas sin efectos fitotóxicos ([Rychter et al., 2019](#)) y un crecimiento total de la planta hasta 20 mm más que los controles ([Duperkova et al., 2022](#)). Por lo cual, hidroretenedores derivados o elaborados a partir de polisacáridos tienen un efecto positivo en el crecimiento debido a la mejora en la retención de agua de la planta. Por otro lado, también se han reportado efectos del uso de biochar en los cultivos de *R. sativus*, donde se ha evidenciado que puede haber efectos sobre los bulbos, siendo estos más grandes al aplicar biochar que en el control, debido a que es un parámetro que se ve afectado por propiedades fisicoquímicas como la capacidad de retención de agua, porosidad y materia orgánica, por lo que las capacidades de retención del biochar puede influenciar dichas propiedades ([Nyambo et al., 2023](#); [Botyanszka et al., 2024](#)).

Considerando los resultados de T2 y T4 sobre el crecimiento, se puede observar que la aplicación del BHR (biochar-biomasa algal-CMC) debido a su composición biobasada en polisacáridos y la aplicación de biochar permite obtener una nueva alternativa que combina la funcionalidad de retención de agua de los polisacáridos y las propiedades fisicoquímicas del biochar para la retención de agua y disponibilidad de nutrientes para potenciar el crecimiento de las plantas.



(a)

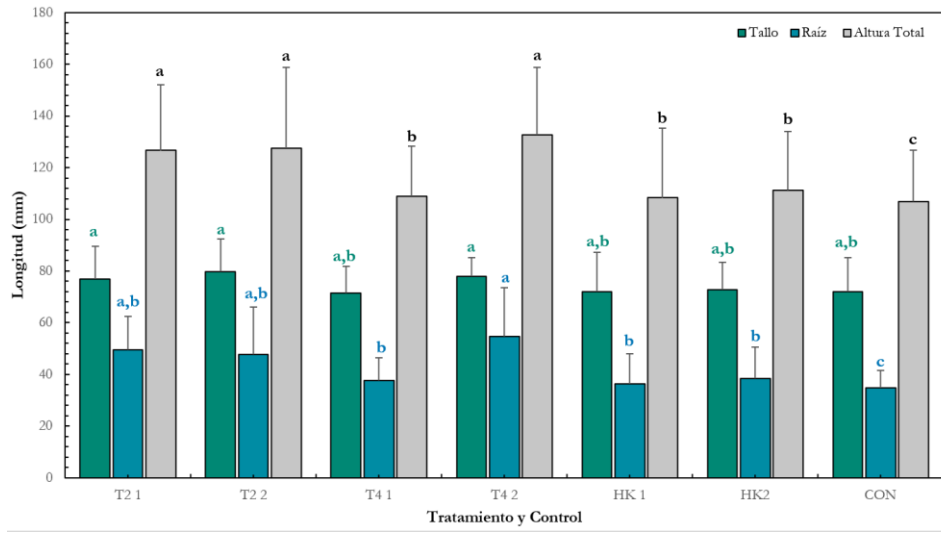


Figura 22. Resultados evaluación de parámetros de crecimiento vegetal según (a) Peso seco (mg) (■) y Peso húmedo (■). (mg) (b) Longitud de tallo (mm) (■), longitud de raíz (■) y longitud total de la planta (mm) (■). Las barras de error representan la desviación estándar a partir de 3 réplicas. Las letras identifican diferencias significativas ($p < 0.05$; ANOVA; prueba de Tukey) donde la letra a indica el tratamiento con mayor porcentaje de humedad a la hora evaluada.



Figura 23. Plántulas de *Raphanus sativus* tras 22 días desde la siembra con cada tratamiento para las dosis (a) 1 % (p/p) y (b) 2 % (p/p)

5.5.3 Evaluación parámetros microbiológicos del suelo

Se evaluó y comparó recuento de bacterias totales (BT) entre los tratamientos y controles (**Figura 24a**), mientras que la evaluación específica de bacterias productoras de pigmento (BPP), fosfato solubilizadoras (BPS) y bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN) se determinó únicamente entre el tratamiento 2 y 4 a los dos niveles de dosis (**Figura 24b**).

En relación con las BT, se evidenciaron concentraciones tanto con el control Hidrokeeper® como en el suelo control, a pesar de no estar inoculadas, la manipulación del montaje y condiciones del cultivo podrían explicar su presencia al final del montaje. Se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos, siendo mayor la concentración en el Tratamiento 2 en ambas dosis (5.8×10^8 UFC/g y 5.0×10^8 UFC/g), seguido por el Tratamiento 4 para ambas dosis (2.4×10^8 UFC/g y 2.3×10^8 UFC/g). La concentración en el suelo control fue mayor ($p < 0.05$) que en los tratamientos con HK.

Por otro lado, para los recuentos específicos se evidenciaron diferencias significativas en los recuentos de BPP, siendo mayor para el T2 a ambas dosis (1.8×10^6 UFC/g y 2.6×10^6 UFC/g) y T4 (2.48×10^6 UFC/g) en la dosis más alta (2% p/p), y siendo menor para el T4 en la dosis más baja (2% p/p). Para las BPS, se encontraron diferencias estadísticamente significativas, siendo mayor la concentración en el tratamiento T22 (1.4×10^6 UFC/g) seguido de T21 y T42. Por último, para el recuento de BFN no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$) obteniendo concentraciones en el orden de 10^6 UFC/g.

Adicionalmente, en la **Tabla 10** se muestran los recuentos para cada tratamiento al inicio y al final del montaje. Se evidenció que para todos los tratamientos hubo un aumento de BT y BPP ($p < 0.05$). En cambio, se notó una disminución significativa ($p < 0.05$) de las BFN en todos los tratamientos excepto para el T42, que no varió ($p > 0.05$). En relación con las BPS, el comportamiento aumentó significativamente para todos los tratamientos excepto para T21. El aumento para BT se pudo deber por la manipulación del experimento y el crecimiento de las bacterias específicas. En relación con la disminución de BFN se puede deber a que se ha mencionado que los parámetros fisicoquímicos del suelo pueden afectar el crecimiento de BFN como *Azotobacter* sp. estos parámetros incluyen Materia Orgánica, profundidad del suelo, humedad del suelo, salinidad del suelo y pH, de hecho se ha reportado que la aplicación de esta especie como bioinoculantes en suelo necesita un pH óptimo entre 7.0–7.5, y aun así el número de población puede caer entre 10^2 y 10^4 UFC/g suelo ([Aasfar et al., 2021](#)). Por su parte, para las BPS se ha reportado que suelos ácidos tienen a favorecer la liberación de fósforo insoluble y las comunidades de BPS tienden a no cambiar, mientras que en ambientes alcalinos debido a la cantidad de fósforo residual inmovilizado la abundancia de BPS tiende a aumentar ([Zheng et al., 2019](#)) también se ha reportado que la adición de biochar en suelo

puede promover la abundancia de BPS en suelo ([Tian et al., 2021](#); [Kumar & Ral, 2020](#); [Kaur & Sudhakara, 2014](#))

De manera general, como se observó el Tratamiento 2 obtuvo los recuentos en suelo más altos para BT, BPS, BPP y BFN, especialmente al aplicarlo a una dosis de 2 % (p/p). Lo anterior, concuerda con los resultados que se muestran en la **Figura 19**, donde la mayor concentración de bacterias benéficas evaluada en los tratamientos de BHR se obtuvo significativamente con el T2.

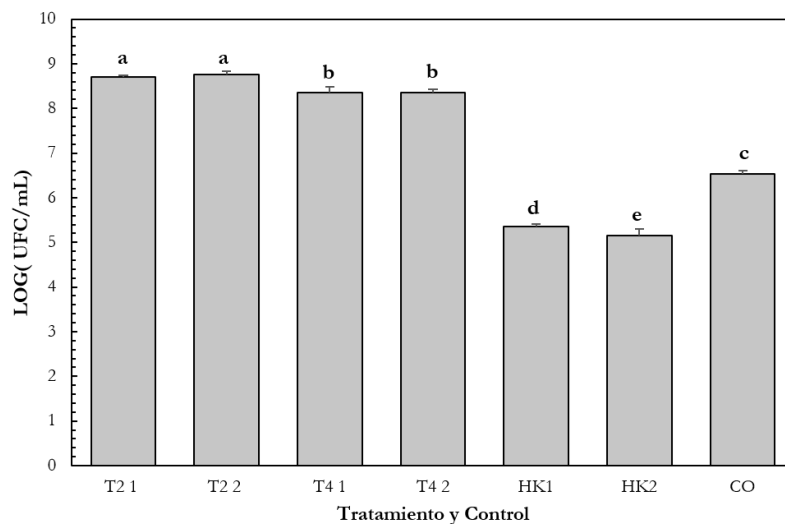
Los siguientes tratamientos con mayor concentración fue también el tratamiento 2 pero con una menor dosis (1 % (p/p)), la cual tuvo el mismo comportamiento ($p < 0.05$) que el tratamiento 4 al implementarlo a una dosis del 2 % (p/p). Relacionando lo anterior con los resultados expuestos en la **Figura 22** donde el T2 (1 y 2 % (p/p)) y el T4 (2 % (p/p)) evidenciaron los efectos más positivos sobre la promoción del crecimiento tanto de la planta como la raíz superior a los controles. Es decir, los tratamientos que tuvieron un efecto significativamente mayor sobre el crecimiento corresponden a los tratamientos con mayor concentración de bacterias benéficas, por lo que se demostró el efecto diferencial de la co-inoculación de las bacterias benéficas.

Bajo condiciones de estrés hídrico, se induce el estrés osmótico afectando el balance nutricional e hídrico que afecta la actividad enzimática de las plantas ([C. Wang et al. 2021](#)). Los mecanismos de las bacterias benéficas confieren una tolerancia a la sequía al mejorar la actividad enzimática antioxidante para reducir el estrés oxidativo y promoviendo el uso eficiente de agua, a través de la producción de EPS como agente osmorregulador, produciendo antioxidantes y enzimas degradadoras de especies reactivas de oxígeno (ROS) ([Vries et al., 2020](#)). Las bacterias promotoras de crecimiento que bajo estas condiciones pueden mitigar el efecto negativo mediante la producción de hormonas y osmoprotectores e ha relacionado principalmente con *Pseudomonas* sp. ([Wu et al., 2017](#), [Fiodor et al., 2021](#)). Estas hormonas, donde se destaca la AIA y la deaminasa ACC han permitido la elongación de raíces bajo condiciones de estrés hídrico, mientras que la síntesis de prolina permite osmoprotección y mejora la acumulación de enzimas antioxidantes ([Vurukonda et al., 2016](#); [Fiodor et al., 2021](#)).

Resaltando los beneficios de las bacterias específicas, por parte de las bacterias promotoras de crecimiento se ha reportado acerca del efecto sobre la longitud de la raíz y los brotes junto con el número de ramificaciones por la producción de deaminasa debido a la producción de citoquinas, auxinas y AIA producida por *P. fluorescens*, por lo que un efecto similar podría haberse dado, pues los tratamientos con mayor concentración de BPP, productoras de ploverdina y asociadas a la producción de sideróforos, coincidieron con las plantas que obtuvieron raíces más largas y ramificadas (**Figura 22** y **Figura 23**) ([Fiodor et al., 2021](#); [Ghadamgahi et al., 2022](#)). Considerando el efecto específico de las bacterias fosfato solubilizadoras, se ha reportado que entre las BPS se destaca *Serratia* sp., *Kosakonia* sp., *Pseudomonas* sp., y *Pseudomonas fluorescens*, las cuales tienen la capacidad metabólica de solubilizar H_3PO_4 vegetal y mejorar la absorción de fósforo en raíces y brotes, en la biomasa vegetal generando un incremento en la altura de las

plantas, el contenido de carotenoides y clorofila en las hojas (Sah et al., 2021; Rawat et al., 2020). Por su parte, los efectos que aportan las BFN son la mejora en el desarrollo de las raíces y el aumento en la absorción de minerales. Por su parte, *Azotobacter* sp. puede sintetizar y secretar sustancias activas como vitaminas del grupo B, ácido nicotínico, ácido pantoténico, biotina, auxinas y giberelinas que ayudan a mejorar el crecimiento de las raíces de las plantas (Patil et al., 2020; Aasfar et al., 2021).

Por último, como se evidenció, la viabilidad de los recuentos totales y específicos no se determinó por debajo del orden de 10^6 UFC/g. En Colombia se han registrado bioinsumos con *Azotobacter vielandii* 10^5 UFC/mL (Terravita S.A.S), *P. fluorescens* 10^8 UFC/mL (Foforiz®), *Azotobacter chroococcum* & *Azospirillum* sp. 10^8 UFC/mL (DIMAZOS SC®), *Azospirillum brasilense* + *Azotobacter chroococcum* + *Lactobacillus acidophilus* & *S. cerevisiae* 10^4 UFC/mL (BACTOSOIL SC®) entre otros. Respecto a los reportados a nivel comercial la cantidad viable obtenida podía mejorarse y estudiarse en diferentes escalamientos y cultivos para evaluar su estabilidad como producto biológico. Por otro lado, se evidenció que las materias primas empleadas pueden servir como soporte para las bacterias. La aplicación de bacterias benéficas en el suelo requiere soportes resistentes que aseguren su supervivencia y capacidad de colonización (Fiodor et al., 2021; Lobo et al., 2019). En cuanto al producto obtenido, se ha planteado el uso de hidrogeles como estrategias para inmovilizar o cargar microorganismos como bioinoculantes (Piccoli et al., 2024). Por lo tanto, la biomasa algal, el biochar y la CMC funcionan como soportes adecuados, aunque se necesitan estudios adicionales para observar la interacción mediante microscopía electrónica de barrido (Moreno-Bayona et al., 2019).



(a)

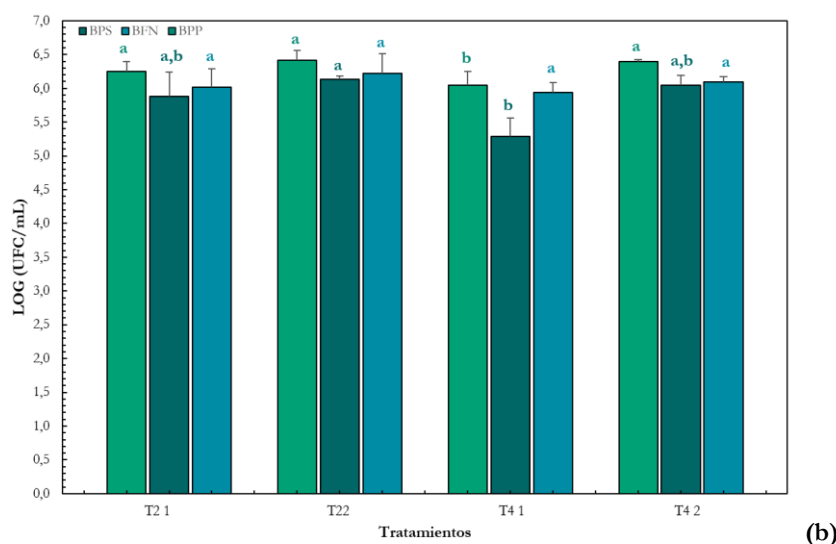


Figura 24. Resultados parámetros microbiológicos del suelo finales para recuento en unidades logarítmicas de UFC/g para (a) Bacterias totales y (b) BPS: Bacterias Fosfato Solubilizadoras (■), BFN: Bacterias Fijadoras de Nitrógeno (■) y BPP: Bacterias Productoras de Pigmento fluorescente (■). Donde HK1: Hidrokeeper ® 1%(p/p), HK2: Hidrokeeper ® 2%(p/p), CO: Control, T41: Tratamiento 4 1%(p/p), T42: Tratamiento 4 2%(p/p), T21: Tratamiento 2 1%(p/p) y T22: Tratamiento 2 2%(p/p). Las barras de error representan la desviación estándar a partir de 3 réplicas. Las letras identifican diferencias significativas ($p < 0.05$; ANOVA; prueba de Tukey) donde la letra a indica el tratamiento con mayor concentración (Log (UFC/g)) de para cada tipo de recuento específico evaluado.

Tabla 10. Concentración en log (UFC/g) de recuentos al inicio y al final del montaje de la siembra

Tratamiento	Recuento	LOG (UFC/g)	
		Inicial	Final
T21	BT	8.43 ± 0.11 ^b	8.70 ± 0.04 ^a
	BPP	5.98 ± 0.07 ^b	6.25 ± 0.15 ^a
	BFN	6.50 ± 0.09 ^a	6.02 ± 0.28 ^b
	BPS	6.97 ± 0.07 ^a	5.88 ± 0.36 ^b
T22	BT	8.76 ± 0.08 ^a	8.76 ± 0.07 ^a
	BPP	6.12 ± 0.02 ^b	6.41 ± 0.15 ^a
	BFN	6.51 ± 0.07 ^a	6.22 ± 0.29 ^b
	BPS	6.11 ± 0.07 ^a	6.14 ± 0.05 ^a
T41	BT	8.08 ± 0.03 ^b	8.36 ± 0.12 ^a
	BPP	5.74 ± 0.06 ^b	6.05 ± 0.21 ^a
	BFN	6.20 ± 0.08 ^a	5.93 ± 0.16 ^b
	BPS	5.88 ± 0.09 ^a	5.29 ± 0.28 ^a
T42	BT	8.16 ± 0.06 ^b	8.35 ± 0.08 ^a
	BPP	6.26 ± 0.04 ^b	6.39 ± 0.03 ^a
	BFN	6.23 ± 0.08 ^a	6.10 ± 0.07 ^a
	BPS	6.10 ± 0.09 ^a	6.11 ± 0.14 ^a

Los valores presentados es el promedio ± la desviación estándar de tres réplicas. Las letras diferentes identifican diferencias significativas entre húmedo y seco ($p < 0.05$) siendo la letra a una mayor concentración log (UFC/g).

6. Conclusiones

Los resultados del diseño factorial 2² indicaron que la combinación óptima de biomasa algal y carboximetil celulosa comercial con mayor capacidad de adsorción de agua contenía la mayor cantidad de biomasa algal (90 g), siendo este el factor más influyente. En las pruebas de laboratorio, el Tratamiento 4 demostró la mayor capacidad de adsorción de agua (43.50 ± 2.84 mL/g) y fue seleccionado para evaluar la retención de agua en el suelo. Adicionalmente, se encontró que el Tratamiento 2 tenía la mayor concentración de microorganismos benéficos co-inoculados, siendo importante para evaluar su efecto en el crecimiento vegetal.

El estudio del biohidroretenedor mejorado y co-inoculado en el crecimiento de *Raphanus sativus* mostró que los tratamientos T4 (2% p/p) y T2 (1% y 2% p/p) promovieron un mayor crecimiento de raíz y altura de planta en comparación con los controles, aunque el peso húmedo fue menor que el del control comercial. En la retención de agua, aunque tras 144 horas no se superó el efecto del Hidrokeeper® al 2% (p/p), los Tratamientos 4 y 2 mostraron una liberación de agua sin diferencias significativas con este. Además, la viabilidad de las bacterias benéficas en el suelo se mantuvo con una concentración mínima de 10⁶ UFC/g, siendo mayor en el Tratamiento 2 al 2% (p/p).

En resumen, el diseño experimental permitió identificar que la combinación de biomasa algal y CMC del Tratamiento 4 fue la más efectiva en retención de agua. La co-inoculación de microorganismos benéficos fue viable y efectiva, especialmente en el Tratamiento 2. Ambos tratamientos (2 y 4) demostraron notables efectos en el crecimiento vegetal a dosis del 2% (p/p), con el Tratamiento 4 destacándose por su capacidad de retención de humedad y promoción del crecimiento radicular y de la planta. Por lo tanto, el Tratamiento 4 al 2% (p/p) sería el más adecuado para promover el crecimiento vegetal y la retención de agua mientras permite ser soporte para bacterias benéficas co-inoculadas.

Este trabajo es innovador, desarrolla un biohidroretenedor, de bajo costo y ecológico como alternativa a productos sintéticos (Hidrokeeper®) a base de biomasa algal de *Chlorella sp.* recuperada de una planta de tratamiento de agua residual, carboximetil celulosa y biochar de residuos agroindustriales. Una formulación que permite la retención de agua en el suelo y la promoción del crecimiento vegetal por acción de los microorganismos benéficos co-inoculados adicionales.

7. Recomendaciones

- Para la evaluación del efluente en la eficiencia de la coagulación se recomienda una caracterización del efluente de nutrientes y parámetros físicos.
- Para el planteamiento experimental se recomienda evaluar sin expandir la biomasa algal y evaluar el efecto por sí solo de la biomasa.
- Para la producción del biochar se recomienda añadir una materia prima adicional que incremente el porcentaje de COT y MOT en el producto final.
- Para la evaluación del efecto del biohidroretenedor en suelo se recomienda evaluar diferentes tipos de suelos y texturas.
- Para la aplicación del biohidroretenedor y el hidroretenedor comercial se recomienda la evaluación pre hidratando el producto antes de aplicarlo en la mezcla con suelo para evaluar el efecto en la máxima capacidad de adsorción.
- Para complementar el entendimiento sobre la interacción entre las materias primas, las bacterias y el agua se recomienda realizar estudios adicionales de espectroscopia y microscopia de barrido adicionales.
- Para complementar el efecto de la adición de bacterias benéficas se recomienda realizar estudios cuantitativos sobre componentes nutricionales (C, N, P y minerales).

8. Bibliografía

- Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., & Meftah Kadmiri, I. (2021). Nitrogen Fixing *Azotobacter* Species as Potential Soil Biological Enhancers for Crop Nutrition and Yield Stability. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628379>
- Abobatta, W. (2018). Impact of hydrogel polymer in agricultural sector. *Adv Agr Environ Sci*, 1(2), 59–64. DOI: 10.30881/aeoa.00011
- Abou-Baker, N. H., Ouis, M., Abd-Eladl, M., & Ibrahim, M. M. (2019). Transformation of Lignocellulosic Biomass to Cellulose-Based Hydrogel and Agriglass to Improve Beans Yield. *Waste and Biomass Valorization*, 11(7), 3537–3551. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00699-6>
- Abreu, A.P., Morais, R.C., Teixeira, J.A., & Nunes J. (2022). A comparison between microalgal autotrophic growth and metabolite accumulation with heterotrophic, mixotrophic and photoheterotrophic cultivation modes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 159, 112247. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112247>
- Adekiya, A. O., Agbede, T. M., Aboyeji, C. M., Dunsin, O., & Simeon, V. T. (2018). Biochar and poultry manure effects on soil properties and radish (*Raphanus sativus*) yield. *Biological Agriculture & Horticulture*, 35(1), 33–45. <https://doi.org/10.1080/01448765.2018.1500306>
- Adjuik, T. A., Nokes, S. E., Montross, M. D., & Wendroth, O. (2022). The Impacts of Bio-Based and Synthetic Hydrogels on Soil Hydraulic Properties: A Review. *Polymers*, 14(21), 4721. <https://doi.org/10.3390/polym14214721>
- Adjuik, T. A., Nokes, S. E., & Montross, M. D. (2023). Biodegradability of bio-based and synthetic hydrogels as sustainable soil amendments: A review. *Journal of Applied Polymer Science*, 140, e53655. <https://doi.org/10.1002/app.53655>
- Ajeng, A. A., Abdullah, R., Ling, T. C., Ismail, S., Lau, B. F., Ong, H. C., Chew, K. W., Show, P. L., & Chang, J.S. (2020). Bioformulation of biochar as a potential inoculant carrier for sustainable agriculture. *Environmental Technology & Innovation*, 20, 101168. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101168>
- Al-Huqail, A. A., Kumar, V., Kumar, R., Eid, E. M., Taher, M. A., Adelodun, B., Abou Fayssal, S., Mioč, B., Držaić, V., Goala, M., Kumar, P., & Širić, I. (2022). Sustainable Valorization of Four Types of Fruit Peel Waste for Biogas Recovery and Use of Digestate for Radish (*Raphanus sativus* L. cv. *Pusa Himani*) Cultivation. *Sustainability*, 14(16), 10224. <https://doi.org/10.3390/su141610224>
- Ali, M. S., Zahid, Z. H., Siddike, M. N., Bappi, Z. H., Payel, N. A., Islam, T., Rahman, M. J., & Mohsin, G. M. (2023). Effect of different levels of organic fertilizer on growth, yield and economic benefits of radish (*Raphanus sativus* L.). *Journal of Bioscience and Agriculture Research*, 30(02), 2533–2540. <https://doi.org/10.18801/jbar.300223.306>
- Al-Rumaihi, A., Shahbaz, M., McKay, G., Mackey, H., & Al-Ansari, T. (2022). A review of pyrolysis technologies and feedstock: A blending approach for plastic and biomass towards optimum biochar yield. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 167, 112715. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112715>
- Alvarez, A. L., Weyers, S. L., Goemann, H. M., Peyton, B. M., & Gardner, R. D. (2021). Microalgae, soil, and plants: A critical review of microalgae as renewable resources for agriculture. *Algal Research*, 54, 102200. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102200>
- American Association of State Highway and Transportation Officials [AASHTO]. (2013). T 267–86: Determination of Organic Content in Soils by Loss on Ignition. *Standar Specifications for Transportation Materials and Methods of Sampling and Testing*. Ed. 33rd
- American Society for Testing and Materials [ASTM]. (2013). Standard test method for chemical analysis of wood charcoal (D1762–1784). West Conshohocken: ASTM International
- Amin, A. E. A. Z. (2023). Effects of saline water on soil properties and red radish growth in saline soil as a function of co-applying wood chips biochar with chemical fertilizers. *BMC Plant Biology*, 23(1), 382. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04397-3>
- Ammar, E.E., Aioub, A.A., Elesawy, A.E., Karkour, A.M., Mouhamed, M.S., Amer, A.A., & El-Shershaby, N.A (2022). Algae as bio-fertilizer: between current situation and future prospective. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3083–3096. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.020>
- Andrada, H. & Di Barbaro, G. (2018). Efecto de la aplicación de copolímeros sobre el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Revista de Ciencias Agrícolas*, 35(2), 27–35. <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.183502.89>
- Antonangelo, J. A., Culman, S., & Zhang, H. (2024). Comparative analysis and prediction of cation exchange capacity via summation: influence of biochar type and nutrient ratios. *Frontiers in Soil Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fsoil.2024.1371777>

- Antonkiewicz, J., Pelka, R., Bik-Malodzińska, M., Żukowska, G., & Gleń-Karolczyk, K. (2018). The effect of cellulose production waste and municipal sewage sludge on biomass and heavy metal uptake by a plant mixture. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(31), 31101–31112. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3109-5>
- Ardila-Leal, L. D., Hernández-Rojas, V., Céspedes-Bernal, D. N., Mateus-Maldonado, J. F., Rivera-Hoyos, C. M., Pedroza-Camacho, L. D., Poutou-Piñales, R. A., Pedroza-Rodríguez, A. M., Pérez-Florez, A., & Quevedo-Hidalgo, B. E. (2020). Tertiary treatment (*Chlorella* sp.) of a mixed effluent from two secondary treatments (immobilized recombinant *P. pastori* and rPOXA 1B concentrate) of coloured laboratory wastewater (CLWW). *3 Biotech*, 10(5). <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02232-2>
- Assis, E.I., & Chirwa, E.M. (2021). Physicochemical characteristics of different pulp and paper mill waste streams for hydrothermal conversion, *Chemical Engineering Transactions*, 86, 607-612. <https://doi.org/10.3303/CET2186102>
- Azaman, S. N. A., Wong, D. C. J., Tan, S. W., Yusoff, F. M., Nagao, N., & Yeap, S. K. (2020). De novo transcriptome analysis of *Chlorella sorokiniana*: effect of glucose assimilation, and moderate light intensity. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74410-4>
- Azeem, M. K., Islam, A., Khan, R. U., Rasool, A., Qureshi, M. A. u. R., Rizwan, M., Sher, F., & Rasheed, T. (2023). Eco-friendly three-dimensional hydrogels for sustainable agricultural applications: Current and future scenarios. *Polym Adv Technol*, 34, 3046–3062. <https://doi.org/10.1002/pat.6122>
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., & Smith, D. L. (2018). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
- Baldani, J. I., Reis, V. M., Videira, S. S., Boddey, L. H., & Baldani, V. L. D. (2014). The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists. *Plant and Soil*, 384(1-2), 413–431. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2186-6>
- Bansal, S. (2019). Mixotrophic Growth of *Chlorella* Sp. Using Glycerol for the Production of Biodiesel: A Review. *Mapana - Journal of Sciences*, 18(2), 1–12. <https://doi.org/10.12723/mjs.49.1>
- Bartoli, M., Troiano, M., Giudicianni, P., Amato, D., Giorcelli, M., Solimene, R., & Tagliaferro, A. (2022). Effect of heating rate and feedstock nature on electrical conductivity of biochar and biochar-based composites. *Applications in Energy and Combustion Science*, 100089. <https://doi.org/10.1016/j.jaecs.2022.100089>
- Basile, G., De Luca, L., Calabrese, M., Lambiase, G., Pizzolongo, F., & Romano, R. (2024). The Lipidic and Volatile Components of Coffee Pods and Capsules Packaged in an Alternative Multilayer Film. *Foods*, 13(5), 759. <https://doi.org/10.3390/foods13050759>
- Benedetti, M., Vecchi, V., Barera, S., & Dall'Osto, L. (2018). Biomass from microalgae: the potential of domestication towards sustainable biofactories. *Microb Cell Fact*, 17, 173. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-1019-3>
- Bi, Z., & He, B. B. (2022). Biochar from microalgae. *3rd Generation Biofuels*, Elsevier, 613–637. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-90971-6.00025-5>
- Biliani, S. E., Vakros, J., & Manariotis, I. D. (2022). Screening of Raw and Modified Biochars from Food Processing Wastes for the Removal of Phosphates, Nitrates, and Ammonia from Water. *Sustainability*, 14(24), 16483. <https://doi.org/10.3390/su142416483>
- Billah, M., Khan, M., Bano, A., Hassan, T. U., Munir, A., & Gurmani, A. R. (2019). Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. *Geomicrobiology Journal*, 36(10), 904–916. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1654043>
- Blanco-Vargas, A., Chacón-Buitrago, M. A., Quintero-Duque, M. C., Poutou-Piñales, R. A., Díaz-Ariza, L. A., Devia-Castillo, C. A., Castillo-Carvajal, L. C., Toledo-Aranda, D., da Conceição de Matos, C., Olaya-González, W., Ramos-Monroy, O., & Pedroza-Rodríguez, A. M. (2022). Production of pine sawdust biochar supporting phosphate-solubilizing bacteria as an alternative bioinoculant in *Allium cepa* L., culture. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17106-1>
- Bleeke, F., Milas, M., Winkelmann, D., Kloeck, G. (2015). Optimization of freshwater microalgal biomass harvest using polymeric flocculants. *Int. Aquat. Res*, 7, 1–10, <https://doi.org/10.1007/s40071-015-0108-8>.
- Botyanszká, L., Vitková, J., Botková, N., Toková, L., & Gaduš, J. (2024). The effects of biochar grain size on radish plants under low water availability. *Plant, Soil and Environment*, 70(4), 203–209. <https://doi.org/10.17221/414/2023-pse>
- Braun, O., Coquery, C., Kieffer, J., Blondel, F., Favero, C., Besset, C., Mesnager, J., Voelker, F., Delorme, C., & Matioszek, D. (2021). Spotlight on the Life Cycle of Acrylamide-Based Polymers Supporting Reductions in Environmental Footprint: Review and Recent Advances. *Molecules*, 27(1), 42. <https://doi.org/10.3390/molecules27010042>

- Brock, A. K., Berger, B., Schreiner, M., Ruppel, S., & Mewis, I. (2018). Plant growth-promoting bacteria *Kosakonia radicincitans* mediate anti-herbivore defense in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 248(6), 1383–1392. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2964-0>
- Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., Vergara-Castañeda, H. A., & Oomah, B. D. (2015). Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), 24–36. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.012>
- Castillo-Toro, A., Mateus-Maldonado, J.F., Céspedes-Bernal, D.N., et al. (2021) Evaluation of two microcosm systems for co-treatment of LDPEoxo and lignocellulosic biomass for biochar production. *Biomater Res*, 25 (21). <https://doi.org/10.1186/s40824-021-00222-w>
- Céspedes-Bernal, D.N., Mateus-Maldonado, J.F., Rengel-Bustamante, J.A. et al. (2021) Non-domestic wastewater treatment with fungal/bacterial consortium followed by *Chlorella* sp., and thermal conversion of the generated sludge. *3 Biotech* 11, 227. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02780-1>
- Chacón-Buitrago, M.A. (2018). Producción y evaluación de un biochar a base de aserrín de pino caribe como soporte orgánico para inmovilizar bacterias fosfato solubilizadoras. Proyecto de grado, Pontificia Universidad Javeriana
- Champenois, J., Marfaing, H., & Pierre, R. (2014). Review of the taxonomic revision of *Chlorella* and consequences for its food uses in Europe. *Journal of Applied Phycology*, 27(5), 1845–1851. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0431-2>
- Chang, G., Huang, Y., Xie, J., Yang, H., Liu, H., Yin, X., & Wu, C. (2016). The lignin pyrolysis composition and pyrolysis products of palm kernel shell, wheat straw, and pine sawdust. *Energy Conversion and Management*, 124, 587–597. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2016.07.038>
- Chavéz, I. (2023). Selección de las condiciones de cultivo mixotrófico para *Chlorella* sp. y aprovechamiento de biomasa algal. Proyecto de grado, Pontificia Universidad Javeriana.
- Chen, Y.D., Lin, Y.C., Ho, S.H., Zhou, Y., & Ren, N.Q. (2018). Highly efficient adsorption of dyes by biochar derived from pigments-extracted macroalgae pyrolyzed at different temperatures. *Bioresource Technology*, 259, 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.094>
- Cherian, C., & Siddiqua, S. (2019). Pulp and Paper Mill Fly Ash: A Review. *Sustainability*, 11(16), 4394. <https://doi.org/10.3390/su11164394>
- Chisti, Y. (2020). Chapter 1 -Microalgae biotechnology: A brief introduction. Handbook of Microalgae-Based Processes and Products, *Academic Press*, 3-23. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818536-0.00001-4>.
- Costa, J. A. V., Zapparoli, M., Cassuriaga, A. P. A., Cardias, B. B., Vaz, B. D. S., Morais, M. G. D., & Moreira, J. B. (2023). Biochar production from microalgae: a new sustainable approach to wastewater treatment based on a circular economy. *Enzyme and Microbial Technology*, 169, 110281. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2023.110281>
- Cui, S., Li, P., Ji, L., Wang, T., Liu, Y., Lan, Y., & Jiang, J. (2024). Superabsorbent quaternary ammonium guar gum hydrogel with controlled release of humic acid for soil improvement and plant growth. *Carbohydrate Polymers*, 337, 122188. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122188>
- De Lima Barizão, A. C., De Oliveira Gomes, L. E., Brandão, L. L., Sampaio, I. C. F., de Moura, I. V. L., Gonçalves, R. F., De Oliveira, J. P., & Cassini, S. T. (2023). Microalgae as tertiary wastewater treatment: Energy production, carbon neutrality, and high-value products. *Algal Research*, 103113. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103113>
- De Vasconcelos, M. C., Gomes, R. F., Sousa, A. A. L., Moreira, F. J. C., Rodrigues, F. H. A., Fajardo, A. R., & Neto, L. G. P. (2019). Superabsorbent Hydrogel Composite Based on Starch/Rice Husk Ash as a Soil Conditioner in Melon (*Cucumis melo* L.) Seedling Culture. *Journal of Polymers and the Environment*, 28(1), 131–140. <https://doi.org/10.1007/s10924-019-01593-x>
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). (2020). Encuesta Nacional Agropecuaria. Boletín Técnico. Recuperado de https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/enda/ena/2019/boletin_ena_2019.pdf
- Dinesh, R., Srinivasan, V., Praveena, R., Subila, K., George, P., Das, A., Shajina, O., Anees, N.K., & Leela, P. (2022). Exploring the potential of P solubilizing rhizobacteria for enhanced yield and quality in turmeric (*Curcuma longa* L.). *Ind. Crops Prod*, 189, 115826.
- Durpekova, S., Bergerova, E. D., Hanusova, D., Dusankova, M., & Sedlarik, V. (2022). Eco-friendly whey/polysaccharide-based hydrogel with poly (lactic acid) for improvement of agricultural soil quality and plant growth. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.053>

- Durpekova, S., Filatova, K., Cisar, J., Ronzova, A., Kutalkova, E., & Sedlarik, V. (2020). A Novel Hydrogel Based on Renewable Materials for Agricultural Application. *International Journal of Polymer Science*, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2020/8363418>
- Ebeling, J.M., Timmons, M.B., & Bisogni J.J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257 (1–4), 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>.
- Egamberdieva, D., Hua, M., Reckling, M., Wirth, S., & Bellingrath-Kimura, S. D. (2018). Potential effects of biochar-based microbial inoculants in agriculture. *Environmental Sustainability*, 1(1), 19–24. <https://doi.org/10.1007/s42398-018-0010-6>
- Elhaisoufi, W., Ghoulam, C., Barakat, A., Zeroual, Y., & Bargaz, A. (2022). Phosphate bacterial solubilization: A key rhizosphere driving force enabling higher P use efficiency and crop productivity. *J. Adv. Res*, 38, 13–28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.08.014>
- El-Idrissi, A., Dardari, O., Metomo, F. N. N. N., Essamlali, Y., Akil, A., Amadine, O., Aboulhrouz, S., & Zahouily, M. (2023). Effect of sodium alginate-based superabsorbent hydrogel on tomato growth under different water deficit conditions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 127229. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127229>
- Elshafie, H.S., & Camele, I. (2021). Applications of Absorbent Polymers for Sustainable Plant Protection and Crop Yield. *Sustainability*, 13, 3253. <https://doi.org/10.3390/su13063253>
- Enaïme, G., & Lübken, M. (2021). Agricultural Waste-Based Biochar for Agronomic Applications. *Applied Sciences*, 11(19), 8914. <https://doi.org/10.3390/app11198914>
- Etesami, H., Jeong, B., & Glick, B. (2021). Contribution of Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Phosphate-Solubilizing Bacteria, and Silicon to P Uptake by Plant. *Front. Plant Sci*, 12, 699618. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.699618>
- Fakayode, O.A., Aboagarib, E.A.A., Zhou, C., & Ma H. (2020) Co-pyrolysis of lignocellulosic and macroalgae biomasses for the production of biochar—a review. *Bioresour Technol*, 297, 122408. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122408>
- Fang, S., Wang, G., Xing, R., Chen, X., Liu, S., Qin, Y., Li, K., Wang, X., Li, R., & Li, P. (2019). Synthesis of superabsorbent polymers based on chitosan derivative graft acrylic acid-co-acrylamide and its property testing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 575–584. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.176>
- Fawzy, S., Osman, A.I., Yang, H. *et al.* (2021) Industrial biochar systems for atmospheric carbon removal: a review. *Environ Chem Lett*, 19, 3023-3055. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01210-1>
- Feng, Q., Guo, W., Wang, T., Cristina, M.A.L., Luo, M., Ge, R., Zhou, C., Zhang, Q., & Luo, J. (2021). Iron coupling with carbon fiber to stimulate biofilms formation in aerobic biological film systems for improved decentralized wastewater treatment: Performance, mechanisms, and implications. *Bioresour. Technol.*, 319, 124151. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124151>
- Fernández, R. D., Mora Muekay, C., Moreira Saltos, J. R., & Mendoza Intriago, D. A. (2021). Volumen de humedecimiento por la aplicación de hidrogel en suelos de diferentes texturas. *La Granja*, 33(1), 67–75. <https://doi.org/10.17163/lgr.n33.2021.06>
- Ferreira, C. M. H., Soares, H. M. V. M., & Soares, E. V. (2019). Promising bacterial genera for agricultural practices: An insight on plant growth-promoting properties and microbial safety aspects. *Science of The Total Environment*, 682, 779–799. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.225>
- Fiodor A., Singh, S., & Pranaw, K. (2021). The contrivance of plant growth promoting microbes to mitigate climate change impact in agriculture. *Microorganisms*, 9(9),1841 <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091841>
- Fu, X., Wu, X., Wang, H., Chen, Y., Wang, R., & Wang, Y. (2023). Effects of fertigation with carboxymethyl cellulose potassium on water conservation, salt suppression, and maize growth in salt-affected soil. *Agricultural Water Management*, 287, 108436. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2023.108436>
- Gamba, M., Asllanaj, E., Raguindin, P. F., Glisic, M., Franco, O. H., Minder, B., Bussler, W., Metzger, B., Kern, H., & Muka, T. (2021). Nutritional and phytochemical characterization of radish (*Raphanus sativus*): A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 113, 205–218. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.045>
- Garbowski, T., Bar-Michalczuk, D., Charazińska, S., Grabowska-Polanowska, B., Kowalczyk, A., & Lochyński, P. (2023). An overview of natural soil amendments in agriculture. *Soil and Tillage Research*, 225, 105462. <https://doi.org/10.1016/j.still.2022.105462>
- Garrido-Cardenas, J.A., Manzano-Agugliaro, F., Acien-Fernandez, F.G., & Molina-Grima, E. (2018) Microalgae research worldwide. *Algal Research*, 35, 50-60. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.005>.

- Gautam, K., Rajvanshi, M., Chugh, N., Dixit, R. B., Kumar, G. R. K., Kumar, C., Sagaram, U. S., & Dasgupta, S. (2021). Microalgal applications toward agricultural sustainability: Recent trends and future prospects. *Microalgae*, Elsevier, 339–379. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821218-9.00011-6>
- Ghadamgahi, F., Tarighi, S., Taheri, P., Saripella, G. V., Anzalone, A., Kalyandurg, P. B., Catara, V., Ortiz, R., & Vetukuri, R. R. (2022). Plant Growth-Promoting Activity of *Pseudomonas aeruginosa* FG106 and Its Ability to Act as a Biocontrol Agent against Potato, Tomato and Taro Pathogens. *Biology*, 11(1), 140. <https://doi.org/10.3390/biology11010140>
- Ghobashy, M. M., Amin, M. A., Nady, N., Meganid, A. S., Alkhursani, S. A., Alshangiti, D. M., Madani, M., Al-Gahtany, S. A., & Zaher, A. A. (2021). Improving Impact of Poly (Starch/Acrylic Acid) Superabsorbent Hydrogel on Growth and Biochemical Traits of Sunflower Under Drought Stress. *Journal of Polymers and the Environment*, 30(5), 1973–1983. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02322-z>
- Gibril, M. E., Lekha, P., Andrew, J., Sithole, B., Tesfaye, T., & Ramjugernath, D. (2018). Beneficiation of pulp and paper mill sludge: production and characterisation of functionalised crystalline nanocellulose. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 20(8), 1835–1845. <https://doi.org/10.1007/s10098-018-1578-3>
- Goldschmidt, A., & Buffam, I. (2023). Biochar-amended substrate improves nutrient retention in green roof plots. *Nature-Based Solutions*, 100066. <https://doi.org/10.1016/j.nbsj.2023.100066>
- Gomaa, M., & Aldaby, E. S. E. (2023). Macroalgal-derived alginate/wastepaper hydrogel to alleviate sunflower drought stress. *Planta*, 257(6). <https://doi.org/10.1007/s00425-023-04152-w>
- Grigorieva, E., Livenets, A., & Stelmakh, E. (2023). Adaptation of Agriculture to Climate Change: A Scoping Review. *Climate*, 11(10), 202. <https://doi.org/10.3390/cli11100202>
- Gross, A., Lin, Y., Weber, P.K., Pett-Ridge, J., & Silver, W.L. (2020). The role of soil redox conditions in microbial phosphorus cycling in humid tropical forests. *Ecology*, 101(2), e02928. doi: 10.1002/ecy.2928.
- Guilherme, M. R., Aouada, F. A., Fajardo, A. R., Martins, A. F., Paulino, A. T., Davi, M. F. T., Rubira, A. F., & Muniz, E. C. (2015). Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: A review. *European Polymer Journal*, 72, 365–385. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.04.017>
- Gupta, M., Savla, N., Pandit, C., Pandit, S., Gupta, P. K., Pant, M., Khilari, S., Kumar, Y., Agarwal, D., Nair, R. R., Thomas, D., & Thakur, V. K. (2022). Use of biomass-derived biochar in wastewater treatment and power production: A promising solution for a sustainable environment. *Science of The Total Environment*, 825, 153892. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153892>
- Haile, A., Gelebo, G. G., Tesfaye, T., Mengie, W., Mebrate, M. A., Abuhay, A., & Limeneh, D. Y. (2021). Pulp and paper mill wastes: utilizations and prospects for high value-added biomaterials. *Bioresources and Bioprocessing*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40643-021-00385-3>
- Han, L., Sun, K., Yang, Y., Xia, X., Li, F., Yang, Z. and Xing, B. (2020). Biochar's stability and effect on the content, composition and turnover of soil organic carbon. *Geoderma*, 364, 114-184. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114184>
- Hawrot-Paw, M., & Sasiadek, M. (2023). Optimization of Microalgal Biomass Production in Vertical Tubular Photobioreactors. *Energies*, 16(5), 2429. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/en16052429>
- Huang, D., Hong, H., Huang, W., Zhang, H., & Hong, X. (2021). Scalable Preparation of Cellulose Nanofibers from Office Waste Paper by an Environment-Friendly Method. *Polymers*, 13(18), 3119. <https://doi.org/10.3390/polym13183119>
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [INCONTEC]. (2019). NTC 1927: Fertilizantes y acondicionadores de suelos.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [INCONTEC]. (2022). NTC 5167: Productos para la industria agrícola. Productos orgánicos usados como abono o fertilizante y enmiendas de suelo o acondicionadores de suelo.
- Jat, S.L., Suby, S.B., Parihar, C.M. *et al.* (2021) Microbiome for sustainable agriculture: a review with special reference to the corn production system. *Arch Microbiol* 203, 2771–2793. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02320-8>
- Jiang, H., Ye, Y., Lu, P., Zhao, M., Xu, G., Chen, D., & Song, T. (2021). Effects of torrefaction conditions on the hygroscopicity of biochars. *Journal of the Energy Institute*, 96, 260–268. <https://doi.org/10.1016/j.joei.2021.03.018>
- Kabir, S. M. F., Sikdar, P. P., Haque, B., Bhuiyan, M. A. R., Ali, A., & Islam, M. N. (2018). Cellulose-based hydrogel materials: chemistry, properties, and their prospective applications. *Progress in Biomaterials*, 7(3), 153–174. <https://doi.org/10.1007/s40204-018-0095-0>

- Kaliamurthi, S., Selvaraj, G., Cakmak, Z.E., Korkmaz, A.D., & Cakmak, T. (2019). The relationship between *Chlorella* sp. and zinc oxide nanoparticles: Changes in biochemical, oxygen evolution, and lipid production ability. *Process Biochemistry*, 85, 43-50. [doi: 10.1016/j.procbio.2019.06.005](https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.06.005)
- Kalina, M., Sovova, S., Hajzler, J., Kubikova, L., Trudicova, M., Smilek, J., & Enev, V. (2022). Biochar Texture—A Parameter Influencing Physicochemical Properties, Morphology, and Agronomical Potential. *Agronomy*, 12(8), 1768. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081768>
- Kassem, I., Ablouh, E.-H., El Bouchtaoui, F.-Z., Kassab, Z., Hannache, H., Sehaoui, H., & El Achaby, M. (2022). Biodegradable all-cellulose composite hydrogel as eco-friendly and efficient coating material for slow-release MAP fertilizer. *Progress in Organic Coatings*, 162, 106575. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2021.106575>
- Kaur, G., & Sudhakara, M. (2014). Influence of P-solubilizing bacteria on crop yield and soil fertility at multilocational sites. *Eur. J. Soil Biol*, 61, 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2013.12.009>
- Kaur, P., Agrawal, R., Pfeffer, F. M., Williams, R., & Bohidar, H. B. (2023). Hydrogels in Agriculture: Prospects and Challenges. *Journal of Polymers and the Environment*, 31, 3701-3718. <https://doi.org/10.1007/s10924-023-02859-1>
- Kernosenko, L., Samchenko, K., Goncharuk, O., Pasmurtseva, N., Poltoratska, T., Siryk, O., Dziuba, O., Mironov, O., & Szwecuk-Karpisz, K. (2023). Polyacrylamide Hydrogel Enriched with Amber for In Vitro Plant Rooting. *Plants*, 12(5), 1196. <https://doi.org/10.3390/plants12051196>
- Khouchi, S., Elhassoufi, W., Loum, M., Ibnayasser, A., Haddine, M., Ghani, R., Barakat, A., Zeroual, Y., Rchiad, Z., & Delaplace, P. (2022). Phosphate solubilizing bacteria can significantly contribute to enhance P availability from polyphosphates and their use efficiency in wheat. *Microbiol. Res*, 262, 127094. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127094>
- Kim, D.G., Lee, C., Park, S.M., & Choi, Y.E. (2014). Manipulation of light wavelength at appropriate growth stage to enhance biomass productivity and fatty acid methyl ester yield using *Chlorella vulgaris*. *Bioresour. Technol*, 159, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.078>
- King, E.O., Ward, M.K., & Raney, D.E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med*, 44(2), 301.
- Kochetov, A. A., & Sinyavina, N. G. (2019). Strategy for Creating Highly Productive Forms of Small Radish Adapted for Cultivation under Artificial Light Conditions. *Russian Agricultural Sciences*, 45(2), 142–146. <https://doi.org/10.3103/s1068367419020113>
- Koutra, E., Zagklis, DP., Tsigkou, K., Samir, A., & Kornaros, M., (2023). Valorization of microalgal biomass for biofuels. Valorization of Microalgal Biomass and Wastewater Treatment. *Elsevier*, 53-79. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91869-5.00011-9>.
- Kratochvilova, R., Sedlacek, P., Porizka, J., & Klucakova, M. (2020). Composite materials for controlled release of mineral nutrients and humic substances for agricultural application. *Soil Use and Management*. <https://doi.org/10.1111/sum.12613>
- Kröger, M., Klemm, M., & Nelles, M. (2018). Hydrothermal Disintegration and Extraction of Different Microalgae Species. *Energies*, 11(2), 450. <https://doi.org/10.3390/en11020450>
- Kumar, A., & Ral, L. (2020). Soil organic carbon and phosphorus availability regulate abundance of culturable phosphate-solubilizing bacteria in paddy fields. *Pedosphere*, 30, 405–413. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60403-X](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60403-X)
- Kumar, K., Sikarwar, P. S., Vikram, B., & Singh, A. (2021). Effects of different types of organic fertilizers on growth performance and yield attributes of radish (*Raphanus sativus* L.) cv. *Mino early long*. *Pharma Innovation*, 10(11), 954-956. DOI:10.18801/jbar.300223.306
- Kumar, A., & Bera, S. (2020). Revisiting nitrogen utilization in algae: A review on the process of regulation and assimilation. *Bioresource Technology Reports*, 12, 100584. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100584>
- Kundu, R., Mahada, P., Chhirang, B., & Das, B. (2022). Cellulose hydrogels: Green and sustainable soft biomaterials. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 5, 100252. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2021.100252>
- Labeeuw, L., Commault, A.S., Kuzhiumparambil, U., Emmerton, B., Nguyen, L.N., Nghiem, L. D., & Ralph, P.J. (2021). A comprehensive analysis of an effective flocculation method for high quality microalgal biomass harvesting, *Sci. Total Environ*, 752, 141708, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141708>.
- Lee, K.T., Shih, Y.T., Rajendran, S., Park, Y.K., & Chen, W.-H. (2023). Spent coffee ground torrefaction for waste remediation and valorization. *Environmental Pollution*, 121330. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121330>

- Leliaert, F. (2019). Green algae: Chlorophyta and Streptophyta. In T. M. Schmidt (Ed.), *Encyclopedia of microbiology* (4th ed., pp. 457–468). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809633-8.20890-x>
- Li, H., Wang, J., Luo, Y., Bai, B., & Cao, F. (2022). pH-Responsive Eco-Friendly Chitosan–Chlorella Hydrogel Beads for Water Retention and Controlled Release of Humic Acid. *Water*, 14(8), 1190. <https://doi.org/10.3390/w14081190>
- Li, G., Xiao, W., Yang, T., & Lyu, T. (2023). Optimization and Process Effect for Microalgae Carbon Dioxide Fixation Technology Applications Based on Carbon Capture: A Comprehensive Review. *C*, 9(1), 35. <https://doi.org/10.3390/c9010035>
- Liang, J. L., Liu, J., Jia, P., Yang, T. T., Zeng, Q. W., Zhang, S. C., Liao, B., Shu, W. S., & Li, J. T. (2020). Novel phosphate-solubilizing bacteria enhance soil phosphorus cycling following ecological restoration of land degraded by mining. *The ISME journal*, 14(6), 1600–1613. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0632-4>
- Lin, J., Jiao, G., & Kermanshahi-Pour, A. (2022). Algal Polysaccharides-Based Hydrogels: Extraction, Synthesis, Characterization, and Applications. *Marine Drugs*, 20(5), 306. <https://doi.org/10.3390/md20050306>
- Liu, J., Sun, Z., Zhong, Y., Gerken, H., Huang, J., & Chen F. (2013) Utilization of cane molasses towards cost-saving astaxanthin production by a Chlorella zofingiensis mutant. *J Appl Phycol*, 25, 1447–1456. doi:[10.1007/s10811-013-9974-x](https://doi.org/10.1007/s10811-013-9974-x)
- Lobo, C.B., Tomás, M.S.J., Viruel, E., Ferrero, M.A., & Lucca, M.E. (2019). Development of low-cost formulations of plant growth-promoting bacteria to be used as inoculants in beneficial agricultural technologies. *Microbiol. Res.*, 219, 12–25. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.012>
- Lukatkin, A., Egorova, I., Michailova, I., Malec, P., & Strzalka, K. (2014). Effect of copper on pro- and antioxidative reactions in radish (*Raphanus sativus* L.) in vitro and in vivo. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(1), 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2013.11.002>
- Ma, Y., Liu, S., Wang, Y., & Wang, Y. (2022). Chapter 8 - Direct utilization of lipid and starch from wet microalgae (*Chlorella vulgaris*). *Algal Biotechnology*, 149-163. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90476-6.00018-2>.
- Mabona, N., Aboyade, W., Mollagee, M., & Mguni, L. L. (2018). Effect of moisture content on oil extraction from spent coffee grounds. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 40(5), 501–509. <https://doi.org/10.1080/15567036.2014.915361>
- Mack, D., Berthold, L.-S., Traa, Y., & Klemm, E. (2020). New two-step pathway for the production of acrylonitrile from propionic acid. *Catalysis Communications*, 136, 105891. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2019.105891>
- Maharana, R., Das, S., Dhal, N. K., Dinda, S., & Singh, B. S. M. (2021). Characterization and Mechanisms of Biosolubilization of Rock Phosphate by Microbes Isolated from Mahanadi Estuary, Odisha, India. *International Journal of Environmental Research*, 15(2), 335–348. <https://doi.org/10.1007/s41742-021-00320-6>
- Mallik, A. K., Shahrzaman, M., Sakib, M. N., Zaman, A., Rahman, M. S., Islam, M. M., Islam, M. S., Haque, P., & Rahman, M. M. (2019). Benefits of Renewable Hydrogels over Acrylate- and Acrylamide-Based Hydrogels. *Polymers and Polymeric Composites: A Reference Series*, 197–243. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77830-3_10
- Manzoor, A., Bashir, M.A., Naveed, M.S., Cheema, K.L., & Cardarelli, M. (2021). Role of Different Abiotic Factors in Inducing Pre-Harvest Physiological Disorders in Radish (*Raphanus sativus*). *Plants*, 10, 2003. <https://doi.org/10.3390/plants10102003>
- Matiz-Sarmiento, H. (2018). Manejo del agua en cultivos de ajo y cebolla. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-AGROSAVIA. Recuperado de: <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/1570>
- Meza, R.A., Monroy, A.F., Mercado, M., Poutou, R.P., Rodríguez, P., & Pedroza, A.M. (2004). Study of the stability in real time of cryopreserved strain banks. *Universitas Scientiarum*, 9(2), 35-42.
- Mielcarz-Skalska, L., Smolinska, B., & Włodarczyk, K. (2021) Nanoparticles as Potential Improvement for Conventional Fertilisation in the Cultivation of *Raphanus sativus* var. *sativus*. *Agriculture*, 11, 1067. <https://doi.org/10.3390/agriculture11111067>
- Miller, V. S., & Naeth, M. A. (2019). Hydrogel and Organic Amendments to Increase Water Retention in Anthroposols for Land Reclamation. *Applied and Environmental Soil Science*, 2019, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2019/4768091>
- Mishra, R. K., & Mohanty, K. (2023). A review of the next-generation biochar production from waste biomass for material applications. *Science of The Total Environment*, 167171. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167171>
- Mohd-Udaiyappan, A. F., Abu-Hasan, H., Takriff, M. S., & Sheikh Abdullah, S. R. (2017). A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment. *Journal of Water Process Engineering*, 20, 8–21. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.09.006>

- Mojiri, A., Zhou, J. L., Nazari V, M., Rezaia, S., Farraji, H., & Vakili, M. (2022). Biochar enhanced the performance of microalgae/bacteria consortium for insecticides removal from synthetic wastewater. *Process Safety and Environmental Protection*, 157, 284–296. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.11.012>
- Mondal, M. I. H., & Haque, M. O. (2019). Cellulosic Hydrogels: A Greener Solution of Sustainability. En *Polymers and Polymeric Composites: A Reference Series*, 3–35. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77830-3_4
- Montesano, F. F., Parente, A., Santamaria, P., Sannino, A., & Serio, F. (2015). Biodegradable Superabsorbent Hydrogel Increases Water Retention Properties of Growing Media and Plant Growth. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 4, 451–458. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2015.03.052>
- Moreno-Bayona DA, Gómez-Méndez LD, Blanco-Vargas A, Castillo-Toro A, Herrera- Carlosama L, Poutou-Piñales RA, *et al.* (2019) Simultaneous bioconversion of lignocellulosic residues and oxodegradable polyethylene by *Pleurotus ostreatus* for biochar production, enriched with phosphate solubilizing bacteria for agricultural use. *PLoS ONE*, 14(5), e0217100. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217100>.
- Morgan, A. (2018). A comparison of radish (*Raphanus sativus*) growth in possible future climate change conditions and in current conditions. University of Michigan Biological Station.
- Mubarak, M., Shaija, A., & Suchithra, T. V. (2019). Flocculation: An effective way to harvest microalgae for biodiesel production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(4), 103221. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103221>
- Musa, M., Wolf, J., Stephens, E., Hankamer, B., Brown, R., & Rainey, T.J. (2020). Cationic polyacrylamide induced flocculation and turbulent dewatering of microalgae on a Britt Dynamic Drainage Jar, *Sep. Purif. Technol*, 233, 116004. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116004>
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (2024). PubChem Compound Summary for CID 8252, Propylene. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Propylene>.
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (2024). PubChem Compound Summary for CID 24748, 7H. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7h>.
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (2024). *Taxonomy browser (Chlorella)*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=3071&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>
- Nayak, M., Rashid, N., Suh, W. I., Lee, B., & Chang, Y. K. (2019). Performance evaluation of different cationic flocculants through pH modulation for efficient harvesting of *Chlorella* sp. HS2 and their impact on water reusability. *Renewable Energy*, 136, 819–827. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.01.050>
- Neal, A., Blackwell, M., Akkari, E., Guyomar, C., Clark, I., & Hirsch, P. (2018). Phylogenetic distribution, biogeography, and the effects of land management upon bacterial non-specific acid phosphatase gene diversity and abundance. *Plant Soil*, 427, 175–189.
- Neethu, T.M., Dubey, P.K., & Kaswala, A.R. (2018). Prospects and Applications of Hydrogel Technology in Agriculture. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, doi: 10.20546/IJCMAS.2018.705.369
- Nuzzo, A., Mazzei, P., Savy, D., Di Meo, V., & Piccolo, A. (2020). Bio-Based Hydrogels Composed of Humic Matter and Pectins of Different Degree of Methyl-Esterification. *Molecules*, 25(12), 2936. <https://doi.org/10.3390/molecules25122936>
- Nyambo, P., Motsi, H., Chiduza, C., & Malobane, M.E. (2023). Biochar ageing improves soil properties, growth, and yield of red radish (*Raphanus sativus*) in a Haplic Cambisol. *PLoS ONE*, 18(7), e0288709. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0288709>
- Ogbonna, J.C.; & Tanaka, H. (2000). Light requirement and photosynthetic cell cultivation—Development of processes for efficient light utilization in photobioreactors. *Environ. Biol. Fishes*, 12, 207–218.
- Oleńska, E., Malek, W., Wójcik, M., Swiecicka, I., Thijs, S., & Vangronsveld, J. (2020). Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. *Sci. Total Environ*, 743, 140682. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140682>
- Omer, A.M., Tamer, T.M., Hassan, M.E. *et al.* (2023). Fabrication of Grafted Carboxymethyl Cellulose Superabsorbent Hydrogel for Water Retention and Sustained Release of Ethephon in Sandy Soil. *Arab J Sci Eng* 48, 561–572. <https://doi.org/10.1007/s13369-022-07352-w>
- Osman, A. I., Fawzy, S., Farghali, M., El-Azazy, M., Elgarahy, A. M., Fahim, R. A., Maksoud, M. I. A. A., Ajlan, A. A., Yousry, M., Saleem, Y., & Rooney, D. W. (2022). Biochar for agronomy, animal farming, anaerobic digestion, composting, water treatment, soil remediation, construction, energy storage, and carbon sequestration: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 20, 2385-2485. <https://doi.org/10.1007/s10311-022-01424-x>

- Pabón-Caicedo, D.D., & Alarcón-Hincapié, J.C. (2016). The Effects of Climate Change On Arid And Semi-Arid Areas Of Colombia. Proceedings of the International conference “InterCarto/InterGIS”, 1(22), 56–62. <https://doi.org/10.24057/2414-9179-2016-1-22-56-62>
- Palanivelu, S. D., Gan, S., Salleh, K. M., Lindsey, K., Sairi, F., Che-Othman, M. H., & Zakaria, S. (2023). Assessment of bio-based hydrogel as an alternative growth medium for seed germination and seedling growth in urban farming. *Cellulose*. <https://doi.org/10.1007/s10570-023-05334-1>
- Pan, L.; & Cai, B. (2023). Phosphate-Solubilizing Bacteria: Advances in Their Physiology, Molecular Mechanisms and Microbial Community Effects. *Microorganisms*, 11, 2904. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122904>
- Pascual, M., Salcedo, M. F., Sanchez, L. M., Mansilla, A. Y., Alvarez, V. A., Casalongué, C., & Tomadoni, B. (2022). Development and Characterization of Biobased Superabsorbent Materials for Agricultural Applications: Study in Lettuce (*Lactuca sativa* L.) under Drought Stress. *Polymer Science, Series A*, 64(6), 744–754. <https://doi.org/10.1134/s0965545x22700456>
- Patel, D., Murawala, P., Archana, G., & Naresh Kumar, G. (2021). Repression of mineral phosphate solubilizing phenotype in the presence of weak organic acids in plant growth promoting fluorescent pseudomonads. *Bioresour. Technol*, 102, 3055–3061.
- Pathak, V., & Ambrose, R. P. K. (2019). Starch-based biodegradable hydrogel as seed coating for corn to improve early growth under water shortage. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(14), 48523. <https://doi.org/10.1002/app.48523>
- Patil, S. V., Mohite, B. V., Patil, C. D., Koli, S. H., & Borase, H. P. (2020). “*Azotobacter*,” in Beneficial Microbes in Agro-Ecology, ed. Academic Press (Berlin: Springer), 397–426
- Paul, N.B., & Sundara-Rao, W.V.B. (1971). Phosphate-dissolving bacteria in the rhizosphere of some cultivated legumes, *Plant Soil*, 35 (1-3), 127-132. <http://doi.org/10.1007/BF01372637>
- Pedroza-Camacho, L. D., Ospina-Sánchez, P. A., Romero-Perdomo, F. A., Infante-González, N. G., Paredes-Céspedes, D. M., Quevedo-Hidalgo, B., Gutiérrez-Romero, V., Rivera-Hoyos, C. M., & Pedroza-Rodríguez, A. M. (2024). Wastewater treatment from a science faculty during the COVID-19 pandemic by using ammonium-oxidising and heterotrophic bacteria. *3 Biotech*, 14(5). <https://doi.org/10.1007/s13205-024-03961-4>
- Perez, J. J., Francois, N. J., Maroniche, G. A., Borrajo, M. P., Pereyra, M. A., & Creus, C. M. (2018). A novel, green, low-cost chitosan-starch hydrogel as potential delivery system for plant growth-promoting bacteria. *Carbohydrate Polymers*, 202, 409–417. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.084>
- Piccoli, I., Camarotto, C., Squartini, A. *et al.* (2024). Hydrogels for agronomical application: from soil characteristics to crop growth: a review. *Agron. Sustain. Dev.*, 44, 22. <https://doi.org/10.1007/s13593-024-00958-4>
- Plaza-Rojas, C.A., Amaya-Orozco, N.A., Rivera-Hoyos, C.M. *et al.* (2023). Use of biochar and a post-coagulation effluent as an adsorbent of malachite green, beneficial bacteria carrier, and seedling substrate for plants belonging to the poaceae family. *3 Biotech*, 13, 386. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03766-x>
- Pójo, V., Tavares, T., & Malcata, F. X. (2021). Processing Methodologies of Wet Microalga Biomass Toward Oil Separation: An Overview. *Molecules*, 26(3), 641. <https://doi.org/10.3390/molecules26030641>
- Qamruzzaman, M., Ahmed, F., & Mondal, M. I. H. (2021). An Overview on Starch-Based Sustainable Hydrogels: Potential Applications and Aspects. *Journal of Polymers and the Environment*, 30, 19-50. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02180-9>
- Qu, B., & Luo, Y. (2020). Chitosan-based hydrogel beads: Preparations, modifications and applications in food and agriculture sectors – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 437–448. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.240>
- Queiroz, M.I., Zepka, L.Q., Jacob-Lopes, E., 2017. Micro-organismos fotossintéticos: microalgas. In: Nascimento, R.P., Ribeiro, B.D., Pereira, K.S., Coelho, M.A.Z. (Eds.), *Microbiologia Industrial*. Elsevier, 217–276.
- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., & Shankhdhar, S. C. (2020). Phosphate-Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00342-7>
- Rios-Pinto, L. F., Ferreira, G. F., & Tasic, M. (2021). Cultivation techniques. *Microalgae*, Elsevier, 1–33. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821218-9.00001-3>
- Rivera-Fernández, R.D., & Gallo, F. M. (2018). Absorción de agua de hidrogel de uso agrícola y su humedecimiento de tres tipos de suelo. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cayo*, 50(2), 15-21. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1853-86652018000200002&lng=es&tlng=es

- Rizwan, M., Gilani, S.R., Durani, A.I., & Naseem, S. (2021). Materials diversity of Hydrogel: Synthesis, polymerization process and soil conditioning properties in agricultural field. *J. Adv. Res*, 33, 15–40. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.03.007>
- Rock, A., Hincapie, R. E., Tahir, M., Langanke, N., & Ganzer, L. (2020). On the Role of Polymer Viscoelasticity in Enhanced Oil Recovery: Extensive Laboratory Data and Review. *Polymers*, 12(10), 2276. <https://doi.org/10.3390/polym12102276>
- Rychter, P., Rogacz, D., Lewicka, K., Kollár, J., Kawalec, M., & Mosnáček, J. (2019). Ecotoxicological Properties of Tulipalin A-Based Superabsorbents versus Conventional Superabsorbent Hydrogels. *Advances in Polymer Technology*, 2019, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2019/2947152>
- Sadat-Hosseini, M., Hemmati, K., & Ghaemy, M. (2016). Synthesis of nanohydrogels based on tragacanth gum biopolymer and investigation of swelling and drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 806–815. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.09.067>
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., & Vaca-Garcia, C., (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: a review. *Renew. Sust. Energy Rev.* 35, 265–278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>.
- Sah, S., Krishnani, S., & Singh, R. (2021). *Pseudomonas* mediated nutritional and growth promotional activities for sustainable food security. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 100084. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100084>
- Sahrma, A., Thankur, M., Bhattacharya, M., Mandal, T., Goswami, S. (2019). Commercial application of cellulose Nano-composites- a review. *Biotechnology Reports*, 21, e00316. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00316>
- Saikia, J., Sarma, R.K., Dhandia, R., Yadav, A., Bharali, R., Gupta, V.K., & Saikia, R. (2018). Alleviation of drought stress in pulse crops with ACC deaminase producing rhizobacteria isolated from acidic soil of northeast India. *Sci. Rep.*, 8, 3560. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21921-w>
- Saini, A.K. & Malve, S. (2022). Impact of Hydrogel on Agriculture – A review. *Ecology, Environment and Conservation*, 29, 36-47. [doi: 10.53550/eec.2023.v29i01s.007](https://doi.org/10.53550/eec.2023.v29i01s.007)
- Sánchez-Reinso, A. D., Ligarreto-Moreno, G. A., Restrepo-Díaz, H. (2020). Evaluation of drought indices to identify tolerant genotypes in common bean bush (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 19(1), 99–107. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(19\)62620-1](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(19)62620-1)
- Sarfraz, R., Hussain, A., Sabir, A., Ben Fekih, I., Ditta, A., & Xing, S. (2019). Role of biochar and plant growth promoting rhizobacteria to enhance soil carbon sequestration—a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(4). <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7400-9>
- Sarmah, D., & Karak, N. (2019). Biodegradable superabsorbent hydrogel for water holding in soil and controlled-release fertilizer. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(13), 48495. <https://doi.org/10.1002/app.48495>
- Sasmal, P. K., & Patra, S. (2020). Effect in Growth of Corn Plant from Cellulose-Based Hydrogel Derived from Wheat Straw. *Journal of The Institution of Engineers (India): Series E*. <https://doi.org/10.1007/s40034-020-00180-3>
- Schoch CL, et al. (2020). *NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools*. *Database (Oxford)*: [baaa062](https://doi.org/10.1093/database/baaa062). PubMed: [32761142](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32761142/) PMC: [PMC7408187](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC7408187/).
- Seth, K., Vyas, P., Deora, S., Gupta, A. K., Meena, M., Swapnil, P., & Harish. (2023). Understanding plant-plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) interactions for inducing plant defense. *En Plant-Microbe Interaction - Recent Advances in Molecular and Biochemical Approaches*, 201–226. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91876-3.00010-5>
- Shaikh, S. M. R., Hassan, M. K., Nasser, M. S., Sayadi, S., Ayesb, A. I., & Vasagar, V. (2021). A comprehensive review on harvesting of microalgae using Polyacrylamide-Based Flocculants: Potentials and challenges. *Separation and Purification Technology*, 277, 119508. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.119508>
- Sharma, A., Thankur, M., Bhattacharya, M., Mandal, T., Goswami, S. (2019). Commercial application of cellulose Nano-composites- a review. *Biotechnology Reports*, 21, e00316. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00316>
- Sharma, P., Sangwan, S., Kaur, H., Patra, A., Anamika & Mehta, S. (2023). Diversity and Evolution of Nitrogen Fixing Bacteria. *En Sustainable Agriculture Reviews 60* (pp. 95–120). Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-24181-9_5
- Shashank, Singh., Yatender, Kumar., Soumya, Sasmal. (2023). Perspectives of HMF and LA from microalgal biomass. *Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts*, doi: 10.1016/j.algal.2023.103133

- Singh, A.K., & Panday, A.K. (2019). Potential Biotechnological Applications of Microalgae Grown in Wastewater: A Holistic Approach. In: Gupta, S., Bux, F. (eds) Application of Microalgae in Wastewater Treatment. Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-13909-4>
- Singh-Yadav, S. P., Bhandari, S., Bhatta, D., Poudel, A., Bhattarai, S., Yadav, P., Ghimire, N., Paudel, P., Paudel, P., Shrestha, J., & Oli, B. (2023). Biochar application: A sustainable approach to improve soil health. *Journal of Agriculture and Food Research*, 100498. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100498>
- Sinyavina, N.G., Kochetov, A.A., Kocherina, N.V., Egorova, K.V., Kurina, A.B., Panova, G.G., Chesnokov, Y.V. (2023). Breeding Approaches for Controlled Conditions of Artificial Light Culture for Small Radish and Radish (*Raphanus sativus* L.). *Horticulturae*, 9, 678. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9060678>
- Sippel, D., & Einsle, O. (2017). The structure of vanadium nitrogenase reveals an unusual bridging ligand. *Nature Chemical Biology*, 13(9), 956–960. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2428>
- Skrzypczak, D., Mikula, K., Kosińska, N., Widera, B., Warchol, J., Moustakas, K., Chojnacka, K., & Witek-Krowiak, A. (2020). Biodegradable hydrogel materials for water storage in agriculture - review of recent research. *Desalination And Water Treatment*, 194, 324–332. <https://doi.org/10.5004/dwt.2020.25436>
- Song, B., Liang, H., Sun, R., Peng, P., Jiang, Y., & She, D. (2020). Hydrogel synthesis based on lignin/sodium alginate and application in agriculture. *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 219–230. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.082>
- Song, S., Cong, P., Wang, C., Li, P., Liu, S., He, Z., Zhou, C., Liu, Y., & Yang, Z. (2023). Properties of Biochar Obtained from Tropical Crop Wastes Under Different Pyrolysis Temperatures and Its Application on Acidic Soil. *Agronomy*, 13(3), 921. <https://doi.org/10.3390/agronomy13030921>
- Sorze, A., Valentini, F., Dorigato, A., & Pegoretti, A. (2023). Development of a Xanthan Gum Based Superabsorbent and Water Retaining Composites for Agricultural and Forestry Applications. *Molecules*, 28(4), 1952. <https://doi.org/10.3390/molecules28041952>
- Soto-Ramírez, R., Lobos, M.-G., Córdova, O., Poirrier, P., & Chamy, R. (2021). Effect of growth conditions on cell wall composition and cadmium adsorption in *Chlorella vulgaris*: A new approach to biosorption research. *Journal of Hazardous Materials*, 411, 125059. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125059>
- Sousa, A. A. T. C., & Figueiredo, C. C. (2015). Sewage sludge biochar: effects on soil fertility and growth of radish. *Biological Agriculture & Horticulture*, 32(2), 127–138. <https://doi.org/10.1080/01448765.2015.1093545>
- Souza-Leite, L. d. S., Hoffmann, M. T., & Daniel, L. A. (2019). Coagulation and dissolved air flotation as a harvesting method for microalgae cultivated in wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 32, 100947. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100947>
- Stagnari, F., Galieni, A., D'Egidio, S., Pagnani, G., & Pisante, M. (2017). Responses of radish (*Raphanus sativus*) to drought stress. *Annals of Applied Biology*, 172(2), 170–186. <https://doi.org/10.1111/aab.12409>
- Su, Y. (2021). Revisiting carbon, nitrogen, and phosphorus metabolisms in microalgae for wastewater treatment. *Science of The Total Environment*, 762, 144590. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144590>
- Sun, Y., H. Zheng, Z., Xiong, Y., Wang, X., Tang, W., & Chen, Y. (2015). Ding, Algae removal from raw water by flocculation and the fractal characteristics of flocs, *Desalin. Water Treat.*, 56, 894–904. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.944586>.
- Suparmaniam, U., Lam, M. K., Uemura, Y., Lim, J. W., Lee, K. T., & Shuit, S. H. (2019). Insights into the microalgae cultivation technology and harvesting process for biofuel production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 115, 109361. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109361>.
- Taleb, F., Ammar, M., Mosbah, M. b., Salem, R. b., & Moussaoui, Y. (2020). Chemical modification of lignin derived from spent coffee grounds for methylene blue adsorption. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68047-6>
- Tapangnoi, P., Sae-Oui, P., Naebpetch, W., & Siriwong, C. (2022). Preparation of purified spent coffee ground and its reinforcement in natural rubber composite. *Arabian Journal of Chemistry*, 103917. <https://doi.org/10.1016/j.arabic.2022.103917>
- Terán-Chaves, C.A., Duarte-Carvajalino, J.M., Ipaz-Cuastumal, C., Vega-Amante, A., Polo-Murcia, S.M. (2023) Assessing the Vulnerability of Maize Crop Productivity to Precipitation Anomalies: A Case Study in the Semiarid Region of Cesar, Colombia. *Water*, 15, 2108. <https://doi.org/10.3390/w15112108>

- Thombare, N. Mishra, S., & Siddiqui, M.Z. (2018). Design and development of guar gum-based novel, superabsorbent and moisture retaining hydrogels for agricultural applications. *Carbohydrate Polymers*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.01.018>
- Thombare, N., Jha, U., Mishra, S., & Siddiqui, M. Z. (2016). Guar gum as a promising starting material for diverse applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 88, 361–372. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.001>
- Tian, J., Kuang, X., Tang, M., Chen, X., Huang, F., Cai, Y., & Cai, K. (2021). Biochar application under low phosphorus input promotes soil organic phosphorus mineralization by shifting bacterial phoD gene community composition. *Science of The Total Environment*, 779, 146556. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146556>
- Tomadoni, B., Salcedo, M. F., Mansilla, A. Y., Casalougué, C. A., & Alvarez, V. A. (2020). Macroporous alginate-based hydrogels to control soil substrate moisture: Effect on lettuce plants under drought stress. *European Polymer Journal*, 137, 109953. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109953>
- Tomczyk, A., Sokolowska, Z., & Boguta, P. (2020). Biochar physicochemical properties: pyrolysis temperature and feedstock kind effects. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 19(1), 191–215. <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09523-3>
- Torres-Figueroa, A. V., de los Santos-Villalobos, S., Rodríguez-Félix, D. E., Moreno-Salazar, S. F., Pérez-Martínez, C. J., Chan-Chan, L. H., Ochoa-Meza, A., & del Castillo-Castro, T. (2023). Physically and Chemically Cross-Linked Poly(vinyl alcohol) /Humic Acid Hydrogels for Agricultural Applications. *ACS Omega*. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05868>
- Udayan, A., Sirohi, R., Sreekumar, N., Sang, B.-I., & Sim, S. J. (2022). Mass cultivation and harvesting of microalgal biomass: Current trends and future perspectives. *Bioresource Technology*, 344, 126406. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126406>
- Uduman, N., Qi, Y., Danquah, M.K., & Hoadley, A.M.A. (2010). Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement, *Chem. Eng. J.* 162, 935–940, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.06.046>
- Ullah, N., Ditta, A., Khalid, A., Mehmood, S., Rizwan, M. S., Ashraf, M., Mubeen, F., Imtiaz, M., & Iqbal, M. M. (2019). Integrated Effect of Algal Biochar and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Physiology and Growth of Maize Under Deficit Irrigations. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20(2), 346–356. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00112-0>
- Usevičiūtė, L., & Baltrėnaitė-Gedienė, E. (2020). Dependence of pyrolysis temperature and lignocellulosic physical-chemical properties of biochar on its wettability. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11, 2775–2793. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00711-3>
- Varghese, S.A., Rangappa, S.M., Siengchin, S., & Parameswaranpillai, J. (2020). Natural polymers and the hydrogels prepared from them. *Hydrogels Based on Natural Polymers*, 17–47. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816421-1.00002-1>.
- Vats, S., Srivastava, P., Saxena, S., Mudgil, B., & Kumar, N. (2021). Beneficial Effects of Nitrogen-Fixing Bacteria for Agriculture of the Future. *En Soil Biology* (pp. 305–325). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-71206-8_15
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrullah Boyce, A. (2016). Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability—A Review. *Molecules*, 21(5), 573. <https://doi.org/10.3390/molecules21050573>
- Venkatesh, G., Gopinath, K. A., Reddy, K. S., Reddy, B. S., Prabhakar, M., Srinivasarao, C., Visha Kumari, V., & Singh, V. K. (2022). Characterization of Biochar Derived from Crop Residues for Soil Amendment, Carbon Sequestration and Energy Use. *Sustainability*, 14(4), 2295. <https://doi.org/10.3390/su14042295>
- Vries F., Griffiths R., Knight C., Nicolitch O. & Williams A. (2020). Harnessing rhizosphere microbiomes for drought-resilient crop production. *Science*, 368(6488), 270–274. DOI: [10.1126/science.aaz5192](https://doi.org/10.1126/science.aaz5192)
- Vurukonda, S.S.K.P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., & SkZ, A. (2016). Enhancement of Drought Stress Tolerance in Crops by Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Microbiol. Res*, 184, 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.12.003>
- Wang, C., Wang, H., Li, Y., Li, Q., Yan, W., Zhang, Y., Wu, Z., & Zhou, Q. (2021). Plant growth-promoting rhizobacteria isolation from rhizosphere of submerged macrophytes and their growth-promoting effect on *Vallisneria spiralis* under high sediment organic matter load. *Microbial Biotechnology*, 14(2), 726–736. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13756>
- Wang, S.K., Wang, F., Hu, Y.R., Stiles, A.R., Guo, C., Liu, C.Z. (2014). Magnetic Flocculant for High Efficiency Harvesting of Microalgal Cells, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 6, 109–115, <https://doi.org/10.1021/am404764n>.
- Wang, Y., Ma, C., Kong, D., Lian, L., & Liu, Y. (2023). Review on Application of Algae-based Biochars in Environmental Remediation: Progress, Challenge and Perspectives. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 111263. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111263>

- Waqar, A., Bano, A., & Ajmal, M. (2022) Effects of PGPR Bioinoculants, Hydrogel and Biochar on Growth and Physiology of Soybean under Drought Stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 53(7), 826-847. <https://doi.org/10.1080/00103624.2022.2028818>
- Wei, Y., Zhao, Y., Shi, M., Cao, Z., Lu, Q., Yang, T., Fang, Y., & Wei, Z. (2018). Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresour. Technol*, 247, 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.092>
- Wu, W., Zhang, Q., Ervin, E. H., Yang, Z., & Zhang, X. (2017). Physiological Mechanism of Enhancing Salt Stress Tolerance of Perennial Ryegrass by 24-Epibrassinolide. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01017>
- Xiang, L., Harindintwali, J. D., Wang, F., Redmile-Gordon, M., Chang, S. X., Fu, Y., He, C., Muhoza, B., Brahushi, F., Bolan, N., Jiang, X., Ok, Y. S., Rinklebe, J., Schaeffer, A., Zhu, Y. G., Tiedje, J. M., & Xing, B. (2022). Integrating Biochar, Bacteria, and Plants for Sustainable Remediation of Soils Contaminated with Organic Pollutants. *Environmental science & technology*, 56(23), 16546–16566. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c02976>
- Yang, X., Wang, H., Strong, P., Xu, S., Liu, S., Lu, K., Sheng, K., Guo, J., Che, L., He, L., Ok, Y., Yuan, G., Shen, Y., & Chen, X. (2017). Thermal Properties of Biochars Derived from Waste Biomass Generated by Agricultural and Forestry Sectors. *Energies*, 10(4), 469. <https://doi.org/10.3390/en10040469>
- Yap, J. K., Sankaran, R., Chew, K. W., Halimatul Munawaroh, H. S., Ho, S.-H., Rajesh Banu, J., & Show, P. L. (2021). Advancement of green technologies: A comprehensive review on the potential application of microalgae biomass. *Chemosphere*, 281, 130886. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130886>
- Yi, Y., Huang, W., & Ge, Y. (2008). Exopolysaccharide: A novel important factor in the microbial dissolution of tricalcium phosphate. *World J. Microbiol. Biotechnol*, 24, 1059–1065.
- You, Y.X., Sun, W., Yang, L., Dai, L., He, H., Wang, J., Zhang, W., & Xiang. (2019). A highperformance and low-cost strategy to harvest saltwater *Chlorella vulgaris* using cationic polyacrylamide coupled with bentonite, *Algal. Res.*, 41, 101579, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101579>.
- Yu, K. L., Show, P. L., Ong, H. C., Ling, T. C., Chen, W.-H., & Salleh, M. A. M. (2018). Biochar production from microalgae cultivation through pyrolysis as a sustainable carbon sequestration and biorefinery approach. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 20(9), 2047–2055. <https://doi.org/10.1007/s10098-018-1521-7>
- Zha, L., & Liu, W. (2018). Effects of light quality, light intensity, and photoperiod on growth and yield of cherry radish grown under red plus blue LEDs. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 59(4), 511–518. <https://doi.org/10.1007/s13580-018-0048-5>
- Zhang, J., Liu, R., Li, A., & Wang, A. (2016). Preparation, swelling behaviors and application of polyacrylamide/attapulgite superabsorbent composites. *Polym. Adv. Technol*, 17, 12–19. <https://doi.org/10.1002/pat.676>
- Zhang, H., Ni, J., Qian, W., Yu, S., Xiang, Y., Yang, L., & Chen, W. (2023). Pyrolysis Atmospheres and Temperatures Co-Mediated Spectral Variations of Biochar-Derived Dissolved Organic Carbon: Quantitative Prediction and Self-Organizing Maps Analysis. *Molecules*, 28(5), 2247. <https://doi.org/10.3390/molecules28052247>
- Zheng, B. X., Zhang, D. P., Wang, Y., Hao, X. L., Wadaan, M. A. M., Hozzein, W. N., Peñuelas, J., Zhu, Y. G., & Yang, X. R. (2019). Responses to soil pH gradients of inorganic phosphate solubilizing bacteria community. *Scientific reports*, 9(1), 25. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37003-w>
- Zhou, J.Y., Li, X., Zhao, D., *et al.* (2016) Reactive oxygen species and hormone signaling cascades in endophytic bacterium induced essential oil accumulation in *Atractylodes lancea*. *Planta*, 244, 699–712. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2536-0>
- Zhu, L. (2015). Microalgal culture strategies for biofuel production: A review. *Biofuels, Bioprod. Biorefining*. 9, 801-814. doi:10.1002/bbb.1576
- Zhu, X., Chen, B., Zhu, L., & Xing, B. (2017). Effects and mechanisms of biochar-microbe interactions in soil improvement and pollution remediation: A review. *Environmental Pollution*, 227, 98-115. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.032>
- Zomerfeld, P. d. S., Lima, N. B., Biscaro, G. A., Motomiya, A. V. d. A., Borelli, A. B., Monaco Mello, K. d. A., & Pagliarini, M. K. (2021). Radish cultivation with hydrogel doses combined with different water slides in drip irrigation system. *Research, Society and Development*, 10(4), e54810414394. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14394>