

# UNIVERSIDAD DE BURGOS

## ESCUELA DE DOCTORADO

### TESIS DOCTORALES

**TITULO:** RECUBRIMIENTO DE SEMILLAS CON ENZIMAS INMOVILIZADAS PARA MEJORAR LA BIODISPONIBILIDAD VEGETAL DE N Y P

**AUTOR:** MVILA BIABATANTOU, BEAUFRAY GILAIME

**FECHA LECTURA:** 17/10/2013

**HORA:** 11:30

**CENTRO LECTURA:** FCULTAD DE CIENCIAS. SALON ACTOS

**DIRECTOR/ES:** NATIVIDAD ORTEGA SANTAMARÍA Y MARÍA CONCEPCIÓN PILAR IZQUIERDO

**TRIBUNAL:** MANUEL PÉREZ MATEOS

MARÍA DOLORES BUSTO NÚÑEZ

CARLOS GARCÍA IZQUIERDO

MARÍA TERESA AGAPITO SERRANO

JOSÉ MANUEL RODRÍGUEZ NOGALES

#### RESÚMEN:

El excesivo uso de fertilizantes nitrogenados y fosfatados plantea no sólo un importante problema económico, como consecuencia de su elevado coste, y de desequilibrios en el suelo que perjudican su fertilidad, sino también graves problemas medioambientales. En este contexto, el objetivo principal de este trabajo se centra en el recubrimiento de semillas de cebada con amidohidrolasas y/o fosfatasa libres e inmovilizadas en soportes húmicos poliaromáticos para promover una mejor asimilación del nitrógeno y fósforo edáfico, y por tanto conseguir mejorar el desarrollo de la planta.

En este trabajo se procedió a la inmovilización de ureasa de *C. ensiformis* y de *A. niger* en soportes polifenólicos, mediante su asociación a soportes húmicos poliaromáticos (humatos) y mediante copolimerización fenólica con resorcinol, obteniéndose los mejores rendimientos de actividad enzimática para la enzima vegetal inmovilizada en humatos. Seleccionado el biocatalizador, se estudiaron las condiciones óptimas de inmovilización (concentración de soporte, pH, temperatura y tiempo de inmovilización) utilizando la metodología de superficies de respuesta (diseño central compuesto centrado en las caras) y se caracterizaron las enzimas amidohidrolasas (ureasa, amidasa, L-asparaginasa, aspartasa, l-glutaminasa) solubles e inmovilizadas (características cinéticas, perfiles temperatura-actividad, curvas pH-actividad, estabilidad térmica y estabilidad en medios edáficos). Finalmente se evaluó la coinmovilización de amidohidrolasas y fosfatasa alcalina de *E. coli*.

En la siguiente etapa se procedió al recubrimiento de semillas de cebada con ureasa y/o fosfatasa libre e inmovilizada en soportes húmicos mediante su encapsulación en perlas huecas o "hollow beads". Se estudió el efecto de la relación enzima-agente de encapsulación sobre la actividad retenida y sobre el porcentaje de germinación de las semillas. Seleccionadas las condiciones que rendían semilla viables con elevados niveles de actividad enzimática (ureasa y/o fosfatasa) retenida en la capa de recubrimiento se evaluó su efecto sobre los niveles de actividad ureasa y fosfatasa edáfica y sobre el desarrollo de la planta. De los resultados obtenidos destacar todas las plantas procedentes de semillas recubiertas presentaban un contenido en fósforo por encima del umbral crítico de este elemento, mientras que sólo las plantas de semillas encapsuladas con ureasa y fosfatasa inmovilizada poseían un contenido en nitrógeno superior al umbral crítico establecido para este nutriente.